



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

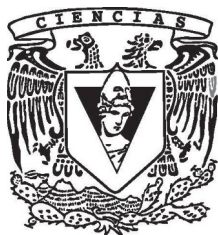
**Variación de terpenoides y compuestos fenólicos
de *Salvia semiatrata* colectada en diferentes
localidades de Oaxaca, México**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
BIÓLOGA**

P R E S E N T A:

FRIDA SOFÍA NIETO AMBRIZ



**DIRECTOR DE TESIS:
DRA. EVA AGUIRRE HERNÁNDEZ
Cd. Mx. 2024**



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.

AGRADECIMIENTOS ACADÉMICOS

Al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica DGAPA, UNAM. PAPIIT-IN221221 por el otorgamiento de la beca, que permitieron la realización de la presente tesis.

A Lizeth Mariel Zavala Ocampo, Verónica Muñoz Ocotero y Nancy Ortiz Mendoza les agradezco por su apoyo técnico y académico fundamental para la realización de este trabajo.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

Agradezco de corazón a mi padre, Gregorio, por su apoyo incondicional en cada paso de mi camino, utilizando sus conocimientos y recursos en todo lo que estuvo a su alcance. Aunque mi madre, Micaela, ya no está con nosotros, su amor y enseñanzas siguen siendo una guía en mi vida. Lamento profundamente que no haya podido ver este logro, pero sé que estaría orgullosa de lo que he alcanzado.

A mis hermanos, Maru y Carlos, les agradezco por ser ejemplos constantes de superación y por las experiencias compartidas que han sido mi fuente de inspiración para mejorar cada día.

Quiero dedicar un agradecimiento especial a mis queridas mascotas: Shorty, Magnolia, Vela, Luna, Mora y Chris. Aunque no comprenderán la complejidad de esto, su presencia y juguetona compañía han sido un bálsamo para mi estrés, brindándome consuelo durante los momentos difíciles.

Agradezco sinceramente a mis familiares, especialmente a mis tías Inés, Esther, Margarita y a mi abuela Guadalupe, que ya no está. Su apoyo constante y valioso ha sido fundamental en mi formación académica. También agradezco a mi tío Francisco por sus preguntas clave y a mi tío Juan por sus discursos y ejemplo de vida.

Agradezco a mi pequeño círculo de amigos, Ana, Araceli, Ariana, Diana, Lisset, Víctor, el grupo M y a todas aquellas personas que en algún momento me brindaron palabras de apoyo, tanto en mi carrera como en lo personal.

Mi reconocimiento especial a los profesores que tuvieron paciencia en mis procesos de aprendizaje, con un agradecimiento especial a mi asesora, la Dra. Eva Aguirre, quien compartió generosamente sus conocimientos académicos y personales.

Finalmente, agradezco a Lorena, mi terapeuta, por su apoyo invaluable en la gestión de mis emociones. Su intervención ha hecho que este proceso sea más llevadero, y estoy agradecida por su contribución a mi bienestar emocional.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	ix
ANTECEDENTES	2
Metabolitos secundarios	2
Función de los metabolitos secundarios en las plantas	3
Función de los terpenos en las plantas	3
Función de los flavonoides en las plantas	5
Familia Lamiaceae	7
Género <i>Salvia</i> L.	7
Distribución del género <i>Salvia</i>	8
Fitoquímica del género <i>Salvia</i>	9
Terpenos	9
Compuestos fenólicos	11
<i>Salvia semiatrata</i> Zucc. (Lamiaceae)	12
Fitoquímica de <i>Salvia semiatrata</i>	13
Influencia de factores ambientales en el metabolismo secundario	14
JUSTIFICACIÓN	16
OBJETIVOS	17
Objetivo general	17
Objetivos particulares	17
HIPÓTESIS	17
MATERIALES Y MÉTODOS	18
Sitios de recolecta del material vegetal	18
Obtención de extractos de acetato de etilo de <i>S. semiatrata</i>	19
Identificación por cromatografía de capa fina (CCF) de terpenoides y flavonoides presentes en los extractos de acetato de etilo de <i>S. semiatrata</i>	20
Análisis por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR) de los extractos de acetato de etilo de <i>S. semiatrata</i>	20
Elaboración de las curvas patrón	21
Identificación y cuantificación de terpenoides	21
Identificación y cuantificación de flavonoides	21

Análisis estadístico	22
RESULTADOS	23
Rendimiento de los extractos de <i>S. semiatrata</i> obtenidos con acetato de etilo.	23
Identificación por CCF de terpenoides y flavonoides presentes en los extractos de <i>S. semiatrata</i> con acetato de etilo	23
Cuantificación de terpenos y flavonoides de <i>S. semiatrata</i> por CLAR	25
Terpenoides	25
Flavonoides	26
Análisis de Componentes Principales (PCA) del contenido de metabolitos secundarios	27
Análisis de Correlación Canónica (CCA) entre concentraciones de los metabolitos y las variables climáticas	29
DISCUSIÓN	30
CONCLUSIÓN	33
REFERENCIAS	34

ÍNDICE DE FIGURAS Y CUADROS

Figuras

- Figura 1.** Estructura química del isopreno (o 2-metil-1,3-butadieno). Esta estructura es básica en la composición de terpenos. 9
- Figura 2.** Ejemplo de diterpenos de tipo clerodano y abietano identificados en especies de *Salvia* 10
- Figura 3.** Triterpenos aislados de especies de *Salvia*. 11
- Figura 4.** Estructuras de algunos flavonoides comunes en el género *Salvia* 12
- Figura 5.** Ejemplares de *Salvia semiatrata*. 13
- Figura 6.** Localización de los sitios de colecta de *S. semiatrata* en Oaxaca, México. 18
- Figura 7.** Identificación de terpenos y flavonoides en los extractos de acetato de etilo de *S. semiatrata*. 24
- Figura 8.** Determinación de terpenoides en extractos de *S. semiatrata* de cinco localidades de Oaxaca. 26
- Figura 9.** Flavonoides identificados en extractos de *S. semiatrata* de cinco localidades de Oaxaca. 27
- Figura 10.** PCA de la concentración de terpenoides y compuestos fenólicos de las diferentes muestras de *S. semiatrata*. 28
- Figura 11.** CCA entre variables climáticas y contenido de metabolitos secundarios. 29

Cuadros

- Cuadro 1.** Factores climáticos de las localidades de colecta de *S. semiatrata* en Oaxaca. 19
- Cuadro 2.** Rendimiento de la extracción de muestras de *S. semiatrata* con acetato de etilo de diferentes sitios de colecta. 23

RESUMEN

La síntesis de los constituyentes activos en plantas está influenciada por los factores ambientales prevalecientes en los sitios donde se desarrollan, los cuales pueden cambiar dependiendo del tipo de vegetación y variables como altitud, temperatura y precipitación. *Salvia semiatrata* Zucc. (Lamiaceae) es una especie endémica del estado de Oaxaca, México, ampliamente distribuida en bosques de pino-encino, selvas bajas, matorral xerófilo, entre otros. Esta especie se emplea por sus propiedades analgésicas. A partir de esta planta se han aislado y caracterizado terpenoides y compuestos fenólicos, destacando el diterpeno neoclerodano 7-ceto-neoclerodano-3,13-dien-18,19:15,16-diólida (7-ceto) con potente actividad ansiolítica y antinociceptiva. El objetivo de esta investigación fue determinar la variación de terpenoides y flavonoides de *S. semiatrata* colectada en cinco localidades de Oaxaca con diferencias en la altitud, temperatura y precipitación. La identificación y cuantificación de los compuestos extraídos de muestras de *S. semiatrata* fue realizada por medio de HPLC, mientras que la determinación de las localidades con mayor variabilidad en su contenido de terpenoides y flavonoides fue realizada mediante un análisis de componentes principales. Con respecto a los terpenoides, fueron identificados el ácido oleanólico, el 7-ceto, el β -sitosterol y el carnosol en los extractos de todas las localidades, destacando el ácido oleanólico por ser el más abundante, con concentraciones que oscilan entre los 89.58 – 56.11 $\mu\text{g}/\text{mg}$. Por otro lado, el carnosol fue el metabolito de menor concentración (0.44 – 0.03 $\mu\text{g}/\text{mg}$). El estigmasterol mostró la mayor variación cuantitativa entre los extractos de las cinco localidades (14.81 – 4.92 $\mu\text{g}/\text{mg}$). En cuanto al contenido de flavonoides, la apigenina, naringenina, catequina, quercetina fueron identificados en los extractos de todas las localidades, siendo la apigenina la que se encontró en menor concentración. Por otro lado, la quercetina fue el flavonoide que presentó la mayor variación cuantitativa, con altas concentraciones en las muestras recolectadas en Asunción Nochixtlán y Santiago Huaucuililla (28.98 y 20.66 $\mu\text{g}/\text{mg}$, respectivamente) y bajas cantidades en Hierve el Agua (0.9 $\mu\text{g}/\text{mg}$). La catequina fue el segundo

compuesto con mayor concentración y menor variación entre las localidades sondeadas (14.68 - 9.30 $\mu\text{g}/\text{mg}$). El análisis de componentes principales permitió la formación de tres grupos en cuanto al contenido de metabolitos. Uno de ellos contiene a Santo Domingo Ozolotepec y San Juan Sosola; el segundo grupo lo conforma Santiago Huaucilla y Nochixtlán, mientras que el tercero lo constituye Hierve el Agua, demostrando que tanto el tipo y la concentración de los metabolitos secundarios varían de acuerdo con el entorno físico. Aunque el análisis de correlación canónica no revela una asociación estadísticamente significativa ($p = 0.52$) entre la altitud, precipitación y temperatura, sí sugiere la influencia de estos factores abióticos en la composición de terpenoides y flavonoides. Se puede concluir que existe variación en la composición de terpenoides y flavonoides de *S. semiatrata* dependiente de la localidad de recolecta, con cierta influencia de la altitud, la precipitación y la temperatura.

INTRODUCCIÓN

Las plantas como organismos sésiles han desarrollado mecanismos de supervivencia en respuesta a factores externos que limitan su crecimiento, que van desde adaptaciones anatómicas, hasta defensa química, como la producción de sustancias que se conocen como metabolitos secundarios (Wink, 2003; Ojito y Portal, 2017).

A diferencia de los metabolitos primarios, sustancias esenciales para el crecimiento, desarrollo y reproducción, la ausencia de metabolitos secundarios no resulta en una muerte inmediata, sino en un deterioro a largo plazo de la capacidad de supervivencia, ya que desempeñan un papel crucial en la comunicación de las plantas con su entorno (Tiwari y Rana, 2015). Los niveles basales de estos metabolitos para cada órgano, tejido o tipo de célula dependen de la etapa de desarrollo de la planta y pueden modificarse como respuesta al estrés biótico y/o abiótico (Valares-Masa, et al., 2016).

Estos productos naturales juegan un papel importante en las siguientes funciones en las plantas: defensa contra herbívoros, hongos, virus, bacterias y otras plantas, mensajeros químicos en la atracción de animales polinizadores, dispersores de semillas y asociaciones benéficas con plantas, bacterias y hongos, protección contra luz ultravioleta, entre otros (Wink, 2010; Mithofer y Wilherm, 2012).

Los metabolitos secundarios también poseen un significativo potencial farmacéutico e industrial. En plantas consideradas medicinales, la obtención de éstos sigue siendo un desafío debido a su bajo rendimiento ya estos se producen a través de vías coordinadas ajustadas, que involucran muchos pasos regulados espacial y temporalmente, así como por factores ambientales en los que se desarrollan las plantas (Zhao et al., 2023).

La calidad de las plantas medicinales depende de la concentración y perfil de sus compuestos bioactivos (Liu et al., 2016) afectados por diversos factores físicos, químicos y ambientales. Investigaciones han demostrado que la luz, la temperatura, el agua, el suelo y otros elementos ecológicos inciden significativamente en la acumulación de metabolitos secundarios. Son precisamente esta variedad de factores los que rigen la composición de ingredientes activos de plantas medicinales (Zhang et al., 2019).

Dentro de la familia Lamiaceae, el género *Salvia* destaca como uno de los más diversos, conteniendo entre 900 y 1000 especies a nivel mundial (Standley y Williams, 1973; Harley et al., 2004), pues una gran cantidad de especies de salvia son de interés para la industria alimentaria y la medicinal, entre otras. Por ello, existe un creciente interés en el estudio de la fitoquímica y farmacología de estas plantas. Los metabolitos secundarios más característicos en el género *Salvia* son los diterpenoides, principalmente de tipo abietano y clerodano (Ortiz-Mendoza et al., 2022).

Salvia semiatrata Zucc., es un arbusto que alcanza entre 1 a 2 metros de altura, presenta flores moradas y es endémica del estado de Oaxaca, México (Turner, 2009; Martínez-Gordillo et al., 2019). En 2015, Nambo documentó las aplicaciones medicinales en la comunidad de Santiago Huaucilla, donde ha sido empleada con fines desinflamatorios y analgésicos, utilizándose, además, para tratar golpes y aliviar molestias estomacales. También, se le atribuyen propiedades cicatrizantes, para mitigar la tensión, los nervios y utilizarse en baños posparto.

Los terpenoides y compuestos fenólicos son los principales metabolitos bioactivos identificados en colectas de *S. semiatrata* en diez localidades de Oaxaca, destacando el ácido oleanólico, la quercetina, la catequina y el 7-ceto-neoclerodan-3,13-dien-18,19:15,16-diolida (7-ceto) (Ortiz-Mendoza et al., 2023). Por lo tanto, este trabajo tiene como objetivo ampliar la información sobre la influencia de diferentes factores ambientales abióticos en el perfil químico de *S. semiatrata*, recolectadas en cinco localidades de Oaxaca.

ANTECEDENTES

Metabolitos secundarios

Los metabolitos secundarios son moléculas orgánicas estructural y funcionalmente diversas que no están involucradas en las funciones metabólicas primarias de las plantas. Ejercen una amplia gama de efectos tanto en la planta como en otros organismos vivos. Se producen y se generan en momentos específicos, usualmente en concentraciones bajas, durante el ciclo de vida del organismo (Kariño-Betancourt, 2018; Johnson, et al., 2021). La mayoría se caracteriza por tener una distribución restringida en el reino vegetal, es decir, un metabolito secundario determinado se encuentra con frecuencia en una sola especie o en un grupo de especies relacionadas taxonómicamente, mientras que los metabolitos primarios se encuentran en todo el reino vegetal (Taiz y Zeiger, 2006).

Se ha estimado la existencia de aproximadamente 300,000 metabolitos secundarios o productos naturales sintetizados por vegetales y microorganismos (Anaya, 2003). Estos compuestos de acuerdo con su origen biosintético se dividen en terpenoides y esteroides, alcaloides y compuestos fenólicos. De acuerdo con Anaya (2003), existen tres precursores principales de los metabolitos secundarios:

1. El ácido shikímico, precursor de muchos compuestos aromáticos, incluyendo los aminoácidos aromáticos, los ácidos cinámicos y ciertos polifenoles.
2. Los aminoácidos, que dan origen a los alcaloides y antibióticos peptídicos, incluyendo, penicilinas y cefalosporinas.
3. El acetato, precursor de poliacetilenos, prostaglandinas, antibióticos macrocíclicos, polifenoles e isoprenoides (terpenos, esteroides y carotenoides), a través de dos caminos biosintéticos totalmente separados.

Los metabolitos secundarios se agrupan en cuatro grupos principales (Anaya, 2003):

1. Terpenos: entre los que se encuentran hormonas, pigmentos o aceites esenciales.
2. Compuestos fenólicos: Cumarinas, flavonoides, ligninas y taninos.
3. Glicósidos: Saponinas, glicósidos cardiotónicos, glicósidos cianogénicos y glucosinolatos.
4. Alcaloides.

Función de los metabolitos secundarios en las plantas

Las plantas, por ser el primer nivel trófico de los ecosistemas se encuentran expuestas al ataque por parte de los herbívoros o consumidores primarios. Por otro lado, por ser organismos sésiles, también son afectadas por los factores climáticos. La presión de selección ejercida por los factores bióticos y abióticos favoreció la aparición de diversos mecanismos de defensa en las plantas. Entre ellos, la estrategia química, basada en la producción de una gran diversidad de metabolitos secundarios como compuestos defensivos que aumentan la aptitud reproductiva de las plantas al ahuyentar hongos, bacterias y herbívoros, también pueden hacerlas menos deseables como alimento para los humanos, así como contrarrestar el daño de factores ambientales como la luz o efectos de las plantas vecinas (Taiz y Zeiger, 2006; Wink, 2010; Mithofer y Wilherm, 2012)

Función de los terpenos en las plantas

Los terpenos son los metabolitos secundarios mayormente distribuidos en plantas superiores de las que se han registrado alrededor de 55,000 con significativa variación estructural. Estos compuestos son utilizados por las plantas para interacciones antagónicas y mutualistas, así como para contrarrestar tensiones bióticas y abióticas (Ninkuu et al., 2021). Entre las funciones asociadas a los terpenos se encuentran:

1. Fotosíntesis: La captación de luz durante la fotosíntesis se realiza gracias a la clorofila, cuya cadena hidrófoba de fitol, compuesta por unidades de isopreno es esencial para absorber la energía lumínica de manera eficiente. Además, la transferencia de electrones, fundamental para la generación de energía en forma de ATP, cuenta con la participación de la plastoquinona, un derivado de terpenoides. Asimismo, los carotenoides, otros derivados de terpenoides, desempeñan un papel destacado al absorber y transmitir energía lumínica, contribuyendo directamente a la eficiencia de la fotosíntesis. Por último, ciertos terpenos actúan como antioxidantes, protegiendo a las plantas del estrés oxidativo inducido por la intensa exposición solar.
2. Crecimiento y desarrollo de las plantas: Algunas hormonas importantes en las plantas como el ácido abscísico y la giberelina son derivados de terpenoides, los cuales influyen en su crecimiento y desarrollo.
3. Factores abióticos estresantes: La mayoría de las plantas que producen terpenos los almacenan en estructuras especializadas. Por ejemplo, las coníferas los concentran en conductos de resina, y plantas de hoja ancha en glándulas y tricomas. La emisión de terpenos proviene directamente de las reservas almacenadas en estas estructuras y está controlada por la temperatura del tejido. La concentración en los tejidos puede verse fuertemente influenciada por cambios de temperatura, estrés térmico e hídrico (Singsaas, 2000). En otro estudio, en *Arabidopsis Atcyp710a1* (mutante), demuestran que el estrés a bajas y altas temperaturas produce en la membrana plasmática de las células vegetales una mayor producción de estigmasterol, alterando la fluidez y permeabilidad de ésta, lo que reduce la fuga de solutos del citoplasma a la región apoplástica para mantener la actividad metabólica celular, permitiendo la termotolerancia (Senthil-Kumar, et al., 2013).

4. Polinización: Algunos terpenoides actúan como señales químicas para atraer polinizadores como insectos, aves, mamíferos y demás animales a través de la emisión de olores y/o sabores agradables para ellos, así como colores vibrantes que logran captar su atención, lo cual favorece a la planta para poder reproducirse.
5. Protección contra otros organismos: Ésta puede manifestarse de diversas maneras. Por ejemplo, las plantas pueden generar compuestos orgánicos volátiles basados en terpenos, con el fin de atraer depredadores que se alimentan de los herbívoros que las atacan. Además, pueden producir compuestos que alteran la palatabilidad de la planta para los herbívoros, volviéndolas tóxicas o evitando su consumo excesivo. En el caso de ataques por patógenos, las plantas pueden sintetizar terpenoides que repelen plagas o afectan la digestión de los organismos patógenos. También pueden producir terpenoides como agentes alelopáticos para inhibir el crecimiento de otras plantas circundantes, así como aumentar sus concentraciones para lograr efectos antimicrobianos o antifúngicos (Velikova y Loreto, 2005; Singh y Sharma, 2015; Ninkuu, et al., 2021; Bathla y Lai, 2023; Li et al., 2023).

Función de los flavonoides en las plantas

Existe una estrecha relación en la síntesis de flavonoides y el estrés en plantas. Los factores estresantes pueden ser bióticos y abióticos, tales como animales herbívoros, hongos, virus, bacterias, temperaturas extremas, alta incidencia de luz, radiación ultravioleta, desbalance de nutrientes minerales, sequía, salinidad, anoxia, exposición a herbicidas. Los flavonoides están involucrados en las siguientes funciones:

1. Absorción de luz ultravioleta. Presencia de flavonoides en altas concentraciones en células de la epidermis, tricomas y ceras epicuticulares para proteger tejidos fotosintéticos y evitar daños al DNA.

2. Propiedades antioxidantes. Los flavonoides en el citoplasma neutralizan el pH del citosol y en la vacuola disipan el exceso de energía absorbida por luz ultravioleta y actúan como atrapadores de radicales libres.

3. Reproducción sexual de las plantas. Algunos flavonoides se acumulan en el gameto masculino y femenino y actúan como reguladores en el desarrollo del tubo polínico y reducción de los efectos del estrés por calor durante la fertilización. En las semillas los flavonoides contribuyen a mantener en latencia al embrión y evitar daños por hongos, virus y bacterias.

4. Mensajeros químicos. Los flavonoides actúan como señales químicas para atraer microorganismos para la nodulación (asociación con micorrizas y *Rhizobium*). La síntesis de glucósidos de kaenferol, quercetina, luteolina, naringenina y glicósidos de apigenina están involucrados en la nodulación. Estos mismos compuestos pueden ser inductores en algunas especies o inhibitorios dependiendo de la especie y el ambiente.

5. Defensa de las plantas contra herbívoros. Propiedades antimicrobianas, insecticidas, antifúngicas. Forman barreras en las hojas como respuesta a la infección por microbios.

6. Contribuyen en la coloración de las plantas y actúan como atrayentes químicos para animales polinizadores (Gould y Lister, 2006; Agati et al., 2012).

El hombre ha utilizado estos metabolitos secundarios provenientes en su mayoría por las plantas, para curar o aliviar las alteraciones que afectan su salud. Tal es el caso de *Salvia*, género con el mayor número de especies dentro de la familia Lamiaceae.

Familia Lamiaceae

Lamiaceae es una familia de plantas con una distribución cosmopolita, representada por alrededor de 236 géneros, con aproximadamente 7,200 especies (Tamoku et al., 2017). Esta familia se encuentra en casi todos los ecosistemas terrestres, aunque es más abundante en bosques de clima templado y zonas montañosas. En México, Lamiaceae presenta una riqueza con un total de 610 especies (González-Gallegos et al., 2021), que se han adaptado muy bien a regiones con climas templados y húmedos. No obstante, existen especies que han prosperado en zonas secas con temperaturas relativamente altas. Algunos de sus linajes son endémicos del país o se han diversificado en este (Martínez-Gordillo et al., 2017).

Género *Salvia* L.

El género *Salvia* es uno de los más extensos dentro de la familia Lamiaceae, contando con un registro de entre 900 y 1000 especies a nivel global (Harley et al., 2004). Sus principales centros de diversificación se encuentran en la cuenca del Mediterráneo, China, Medio Oriente y México (Harley et al., 2004; Walker et al., 2004). El género es tan complejo que se divide en cinco subgéneros: *Audibertia* (Benth.) Epling, *Salvia* (Benth.) Epling, *Sclarea* (Benth.) Epling, *Leonia* (Benth.) Epling y *Calosphace* (Benth.) Epling, siendo este último el más diverso con aproximadamente 500 especies en el continente americano (Olvera et al., 2017).

Los integrantes del género *Salvia* son hierbas o arbustos anuales o perennes, frecuentemente aromáticos, con tricomas simples o ramificados; las hojas son simples, dentadas, lobadas, pinnatífidas o pinnatisectas, raramente espinulosas (Harley et al., 2004).

Las inflorescencias crecen en pares o grupos y están arregladas en verticilos, que a su vez se agrupan en racimos paniculados (racimos que van decreciendo hacia el ápice). Su arreglo consiste en una cima reducida, con una flor (por el aborto de

los dos brotes laterales), o de varias flores (si cada brote lateral termina en una flor y a su vez desarrolla sus propios brotes laterales). Las brácteas son inconspicuas o grandes y algunas veces coloridas, caducas o persistentes, raramente espinulosas; el cáliz es relativamente uniforme, aunque a menudo bilabiado. La corola es bilabiada y puede ser blanca, amarilla, morada, rosa, roja o azul; con un tubo recto, algunas veces invaginado o ventricoso; en ocasiones con un par de papilas dentro, o con un anillo de tricomas cerca de la base del tubo. El labio superior está formado por dos pétalos fusionados, puede ser recto o arqueado en forma de casco (gálea) envolviendo los estambres y el estilo; el labio inferior es trilobado y está formado por tres pétalos fusionados, a veces es reflejo y puede actuar como una plataforma de aterrizaje para los polinizadores. El androceo está formado por dos estambres fértiles, el conectivo alargado, generalmente se encuentra articulado en la unión con el filamento; con el par posterior de anteras vestigial o ausente, el par anterior es ascendente, situándose bajo el labio superior de la corola, incluido o exerto; los filamentos a menudo son más cortos que el conectivo (Harley et al., 2004; Barrera-Aveleida, 2017).

Distribución del género *Salvia*

En México, este género compone el 51.2% de la riqueza de las especies de Lamiaceae, es decir se han descrito 306 especies de las cuales 236 son endémicas y 102 microendémicas (Martínez-Gordillo et al., 2017). La mayor diversidad de especies del género *Salvia* se presenta en las zonas montañosas de México, 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 de *Salvia* (Ramamoorthy y Lorence, 1987). No obstante, también se encuentran en los bosques tropicales caducifolios y subcaducifolios, zonas áridas y desérticas. Los estados con mayor riqueza de salvias son Oaxaca (63 especies), Guerrero (51), Puebla (50), Jalisco (49) y Michoacán (48) (Cornejo-Tenorio e Ibarra-Manríquez, 2011).

Fitoquímica del género *Salvia*

Los terpenoides y compuestos fenólicos son los grupos de metabolitos secundarios identificados con mayor frecuencia en *Salvia*. Los diterpenos, en particular, son los mayormente distribuidos con alrededor de 500 estructuras conocidas, por lo que se caracterizan como marcadores quimiotaxonómicos dentro del género. Respecto a los polifenoles, se han aislado aproximadamente 100 estructuras que se clasifican en ácidos fenólicos y flavonoides (Ortiz-Mendoza et al., 2022; Ortiz-Mendoza et al., 2023).

Terpenos

El término “terpeno” se refiere a todos los grupos de metabolitos secundarios de origen vegetal que se derivan de la unión entre las unidades de isopreno, un compuesto de cinco carbonos (Figura 1). Estos compuestos se clasifican según el número de unidades de isopreno que contengan: por ejemplo, dos unidades isoprénicas forman los monoterpenos, tres unidades resultan en sesquiterpenos, cuatro moléculas de isopreno conforman los diterpenos, cinco unidades conforman los sesterterpenos, seis unidades de isopreno son triterpenos y a ocho unidades se les conoce como tetraterpenos (Wink, 2010). Cuando los terpenos experimentan alguna modificación química como oxigenación, hidrogenación o deshidrogenación se forman los terpenoides (Ninkuu et al., 2021)

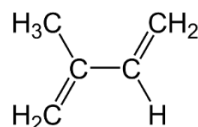


Figura 1. Estructura química del isopreno (o 2-metil-1,3-butadieno). Esta estructura es básica en la composición de terpenos.

Los terpenos se distribuyen ampliamente en el género *Salvia*, siendo los diterpenos y triterpenos los más estudiados por su actividad biológica (Janicsák et

al., 2015). Los diterpenos se dividen en dos grandes categorías. La primera incluye diterpenos monocíclicos y bicíclicos, que son los labdanos, clerodanos, neoclerodanos y demás derivados de clerodanos. La segunda categoría incluye diterpenos tricíclicos y tetracíclicos como abietanos, tachinonas y otros derivados de abietanos (Figura 2). Usualmente las salvias europeas y asiáticas sintetizan primordialmente diterpenos del tipo abietano mientras que las salvias americanas lo hacen del tipo clerodano. Sin embargo, lo que caracteriza a las salvias mexicanas es la síntesis mayoritaria de diterpenos derivados del esqueleto neo-clerodano (Esquivel, 2008; Bautista, 2012; Janicsák et al., 2015; Ortiz-Mendoza et al., 2022).

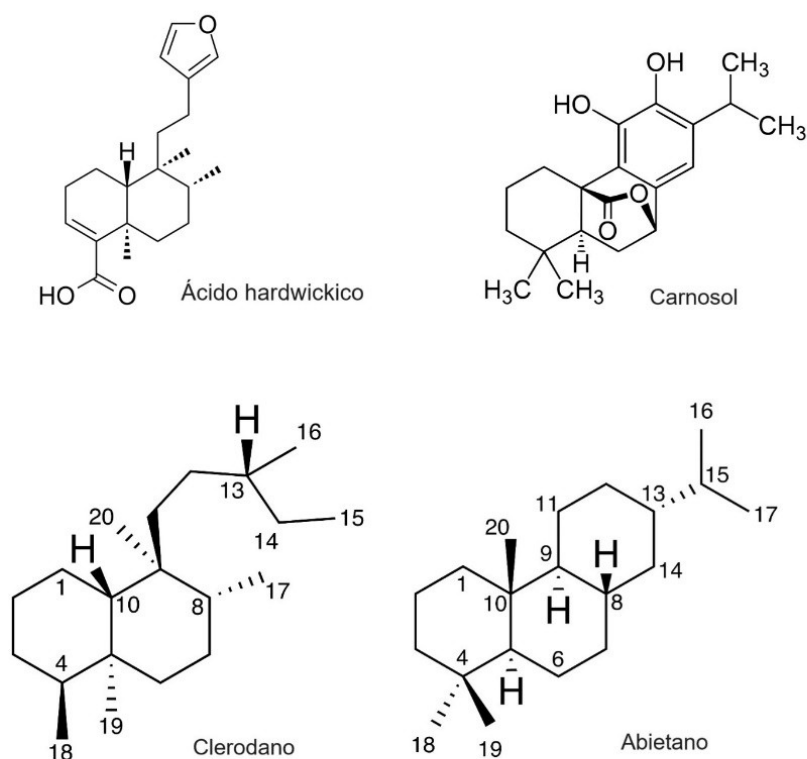


Figura 2. Ejemplo de diterpenos de tipo clerodano y abietano identificados en especies de *Salvia*.

Los triterpenos más comunes en este género son los derivados de esqueletos como ursano, oleanano y lupano (Ortiz-Mendoza et al., 2020). Las salvias

sintetizan triterpenos como el ácido oleanólico y el ácido ursólico (Figura 3) (Topçu, 2006; Wu et al., 2012).

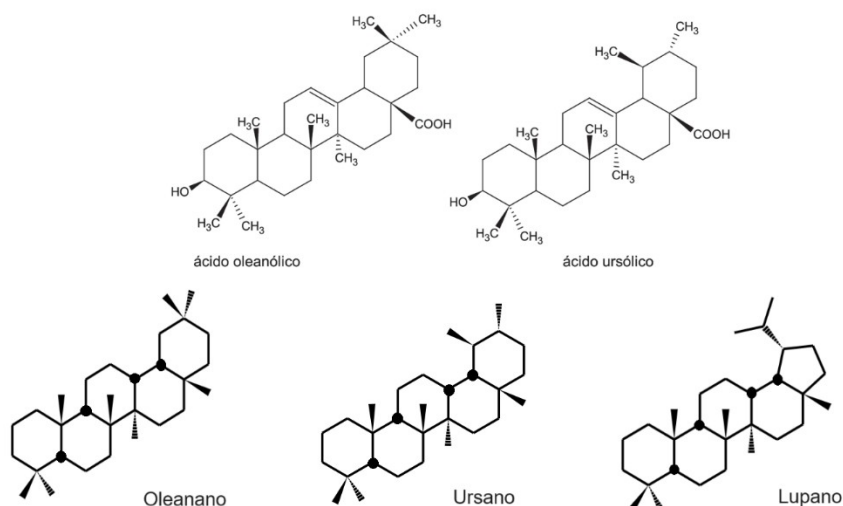


Figura 3. Triterpenos aislados de especies de *Salvia*. Se muestran los esqueletos base como el ursano, lupano y oleanano y las estructuras de los ácidos ursólico y oleanólico.

Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos se caracterizan por tener grupos hidroxilos unidos a un anillo aromático. Su clasificación está basada precisamente en el número de anillos que poseen y el tipo sustituyente unido a estos anillos fenólicos (Peñarrieta et al., 2014). Los principales grupos son: ácidos fenólicos (derivados del ácido hidroxibenzoico o del ácido hidroxicinámico), flavonoides, estilbenos y lignanos, siendo los flavonoides la subclase de compuestos fenólicos más abundante dentro del reino vegetal (Manach et al., 2004; Quiñones et al., 2012). Los ácidos fenólicos más comunes en el género *Salvia* son el ácido cafeico, felúrico, cumárico, rosmarínico y los principales flavonoides son la apigenina, luteolina, quercetina, canferol y rutina (Ortiz-Mendoza et al., 2022, Ortiz-Mendoza et al., 2023).

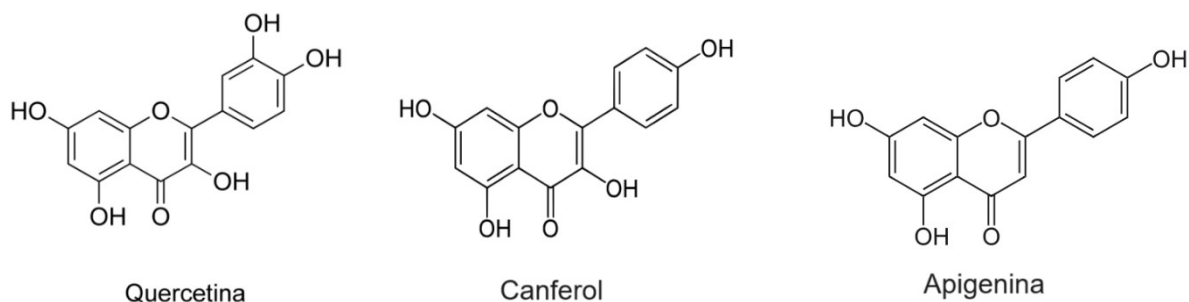


Figura 4. Estructuras de algunos flavonoides comunes en el género *Salvia*.

Salvia semiatrata Zucc. (Lamiaceae)

Salvia semiatrata es endémica del estado de Oaxaca. Suele habitar bosques de *Pinus*, *Pinus-Quercus*, bosque de *Quercus*, matorral xerófilo y vegetación secundaria de los mismos, en elevaciones entre los 200-2500 m. La floración y fructificación ocurre de junio a diciembre (Turner, 2009; Martínez-Gordillo et al., 2017).

Según Turner (2009), esta especie pertenece a la sección *Scorodonia*, donde se encuentran hierbas perennes, arbustos y subarbustos. *S. semiatrata* es un arbusto entre 0.6 - 2.0 m de alto, con tallos erectos ramificados y con indumento hirsuto, pubescente, con tricomas simples. Hojas opuestas, deltoide-ovadas, base cordata, ligeramente cuneada, ápice agudo a redondeado, margen crenulado, de consistencia cartácea, haz ampuloso y con indumento puberulento, con tricomas simples. El envés de la hoja es de indumento viloso, de tricomas simples y, glándulas transparentes. Inflorescencias terminales, racemiformes, de 6.0 - 9.5 cm de largo, verticilastros con 2 a 6 flores por nudo; brácteas deciduas, hasta 3.0 mm de largo, lanceoladas con ápice agudo a acuminado; pedicelos de 0.4 - 1.6 cm de largo. Sus flores son de color morado oscuro, con un cáliz de 1.0 - 1.4 cm de largo, ligeramente campanulado, de color rosado a morado, externamente hirsuto y labio superior entero, 7 nervado, de 1.5 - 4.4 mm, labio inferior de 0.9-3.8 mm. Corola incluida en el cáliz, que forma un tubo de 1.3 -1.4 cm de largo, de forma ventricosa, con 4 pliegues en su interior; labio superior galeado, entero y lóbulo

inferior curvado, 3-lobulado y con estambres filamentosos, con el ápice agudo, oblicuo, conectivo hirsuto, estilo exerto, pubescente; estigma, con rama superior refleja y curva, más larga que la inferior.



Figura 5. Ejemplares de *Salvia semiatrata*. Fotos tomadas en Nochixtlán, Oaxaca.

En 2015, Nambo llevó a cabo un estudio etnobotánico en Santiago Huaucilla, Oaxaca, y documentó los usos medicinales de *S. semiatrata*, conocida comúnmente como mirto morado en esa comunidad. Los hallazgos revelaron una variedad de tratamientos vinculados al alivio del dolor, malestar estomacal, inflamación del oído, cuidados postparto, uso como analgésico para golpes, efectividad en procesos de cicatrización, así como para controlar los trastornos nerviosos.

Fitoquímica de *Salvia semiatrata*

En 1986, Esquivel et al., describieron dos metabolitos de tipo diterpeno neoclerodano, obtenidos de la purificación del extracto de acetona de la parte aérea de *S. semiatrata*: el 7 α -hidroxi-neoclerodan-3,13-dien-18,19:15,16-diolida y

la semiatrina. En 2020, Ortiz-Mendoza mediante un análisis por CLAR, identificó la presencia de seis terpenos, destacando la abundancia del ácido oleanólico y el α -amirina. También, encontró siete flavonoides, siendo la quercetina la más abundante. Por otro lado, aisló y determinó la estructura del diterpeno neoclerodano 7-ceto-neoclerodan-3,13-dien-18,19:15,16-diólido. Actualmente, se reporta la presencia de los terpenoides ácido oleanólico, ácido ursólico, estigmasterol, α -amirina, β -sitosterol, carnosol y 7-ceto-neoclerodan-3,13-dien-18,19:15,16-diólido, y de los flavonoides quercetina, apigenina y narigenina en *S. semiatrata* colectada en diez localidades de Oaxaca (Ortiz-Mendoza et al., 2023).

Influencia de factores ambientales en el metabolismo secundario

Los metabolitos secundarios son sustancias que las plantas producen para competir exitosamente en su entorno, generando una gama diversa de efectos tanto dentro de la propia planta como en otros organismos, lo que en última instancia contribuye al crecimiento y desarrollo óptimos de la planta (Teoh, 2016).

La composición y concentración de estos compuestos se ve afectada por el clima, los cambios estacionales y diversas condiciones externas, como la luz, temperatura y humedad (Ramakrishna y Ravishankar, 2011; Valares, 2011). Las plantas pueden usar estos metabolitos para las interacciones ecológicas con su entorno, por ejemplo, los terpenos volátiles pueden liberarse para evitar el ataque de los herbívoros, o para atraer polinizadores (Turlings et al., 1993). Por ejemplo, varios terpenos pentacíclicos como la β -amirina, el ácido ursólico y el ácido oleanólico han demostrado poseer actividad insecticida (González-Coloma et al., 2010).

También pueden jugar un papel en la fisiología de la planta. Por ejemplo, la síntesis de los flavonoides varía y está inducida por factores como la radiación, estrés hídrico y el calor. El aumento de la radiación UV produce una disminución de la biomasa de la planta, provocando un aumento en la cantidad de flavonoides

en la parte superficial de la planta, con efecto de filtración y fotoprotección de rayos UV (Cuadra et al., 1997; Panche et al., 2016).

La calidad de las plantas medicinales está determinada por la concentración y los perfiles de sus compuestos bioactivos (Liu et al. 2015a). Aunque la biosíntesis de éstos está codificada por genes, su concentración varía ampliamente en respuesta a factores bióticos y abióticos del entorno circundante (Peñuelas y Llusà, 1997; Rahimmalek et al., 2009; Liu et al., 2016). Al respecto, se han reportado en especies de *Salvia*, cambios en la composición de polifenoles y diferencias en las actividades antioxidantes de los extractos de metanol de flores, frutos inmaduros y maduros de *S. verbenaca* L. (Ben et al., 2015; Mouna et al., 2019). Por otro lado, se probó la capacidad antioxidante y la actividad antibacteriana de extractos de hojas de *S. officinalis* L. con alto contenido de compuestos fenólicos, recolectadas en diferentes periodos del año (febrero, mayo, agosto, noviembre). Los resultados muestran que el extracto de mayo es el que tiene una mayor concentración de compuestos fenólicos, y mejores propiedades antioxidantes y antimicrobianas (Generalic et al., 2012). Igualmente, se han reportado diferencias significativas en el contenido de aceites esenciales y compuestos fenólicos de *S. officinalis* recolectada en diversas regiones (Sarrou et al., 2017).

JUSTIFICACIÓN

Estudios previos mencionan que los perfiles químicos de terpenoides y fenoles sintetizados por la salvia europeas y asiáticas varían de acuerdo con su etapa fenológica, factores ambientales donde se desarrollan (altitud, clima, precipitación), estrés por sequía, radiación UV, salinidad, disponibilidad de nutrientes, temporada de cosecha y procesamiento de materia prima (Zhong et al., 2009; Sarrou et al., 2017). Al respecto, existen pocos estudios que investiguen la influencia de los factores ambientales abióticos en la composición química de salvia mexicanas, por lo que en este trabajo se busca comparar la concentración de terpenoides y flavonoides presentes en los extractos de mediana polaridad de *S. semiatrata* recolectada en cinco localidades de Oaxaca con diferentes condiciones ambientales con la finalidad de seleccionar material vegetal con mayor potencial farmacológico.

OBJETIVOS

Objetivo general

Identificar y cuantificar terpenoides y flavonoides presentes en extractos de acetato de etilo de *S. semiatrata* colectada en cinco localidades de Oaxaca.

Objetivos particulares

- Obtener los extractos orgánicos de *S. semiatrata*.
- Caracterizar los metabolitos secundarios de tipo terpenoide y flavonoide mediante técnicas cromatográficas.
- Comparar los perfiles químicos de *S. semiatrata* recolectada en cinco localidades de Oaxaca.

HIPÓTESIS

La composición química de los extractos de *S. semiatrata* será diferente dependiendo de las condiciones ambientales del sitio de recolecta.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitios de recolecta del material vegetal

S. semiatrata es una especie endémica del estado de Oaxaca, cuyo periodo de floración es de junio a diciembre. Los sitios de colecta fueron seleccionados mediante una revisión en el herbario MEXU, considerando las diferencias entre altitud, precipitación y temperatura. Las muestras se recolectaron en julio de 2019 en las siguientes localidades: **1)** Herve el Agua 16° 52' 58.2" N, 96° 16' 35.5" O; **2)** San Juan Sosola 17° 33' 21.4" N, 96° 56' 45.9" O; **3)** Nochixtlán 17° 27' 12.7" N, 97° 12' 29.1" O; **4)** Santiago Huauclilla 17° 27' 9.4" N, 97° 04' 38.4" O y **5)** Santo Domingo Ozolotepec 16°07' 51.4" N, 96° 17' 19.3" O (Figura 6, Cuadro 1). La identificación taxonómica de la especie fue realizada por la Dra. Martha Juana Martínez Gordillo. Los ejemplares de herbario fueron depositados en el Herbario de la Facultad de Ciencias de la UNAM.

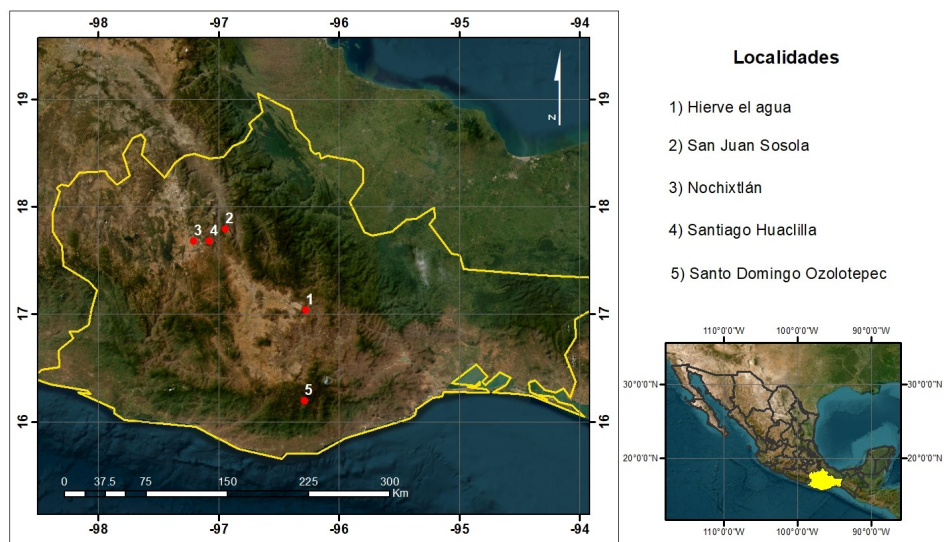


Figura 6. Localización de los sitios de colecta de *S. semiatrata* en Oaxaca, México. Los círculos rojos representan las coordenadas de cada lugar. El mapa se realizó con QGIS Desktop 3.32.2.

Cuadro 1. Factores climáticos de las localidades de colecta de *S. semiatrata* en Oaxaca. Datos obtenidos del INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía).

Clave	Nombre de la localidad	Número de registro FCME	Tipo de vegetación	Precipitación anual (mm)	Altitud (m)	Temperatura media anual (°C)
ALB	Hierve el Agua	181858	MX	570.4	1749	23.3
NOX	Nochistlán	181859	BQ	689.4	2130	20.9
SAN	Santiago Huaucilla	181860	BTC	597.8	2168	15.7
SOS	San Juan Sosola	181861	BPQ	1104.8	1920	18.6
DOM	Santo Domingo Ozolotepec	181862	BTC	816.5	2371	17.5

Abreviaciones de los tipos de vegetación: MX) Matorral xerófilo, BQ) Bosque de *Quercus*, BTC) Bosque tropical caducifolio, BPQ) Bosque de *Pinus-Quercus*.

Obtención de extractos de acetato de etilo de *S. semiatrata*

En cada localidad se colectaron tres ramas de cinco individuos de *S. semiatrata*. Posteriormente, en el laboratorio el material vegetal se secó a temperatura ambiente y se molió. De cada una de las muestras se pesaron 70 g, se vertió el triturado a recipientes y se les adicionó acetato de etilo. Las muestras se dejaron en reposo 24 horas. Al cabo de este tiempo éstas se filtraron y se eliminó parcialmente el disolvente mediante un rotaevaporador (Büchi bath B-490) y el extracto se colocó en viales dentro de una campana con vacío hasta secarse. Los extractos secos de cada muestra se pesaron para calcular su rendimiento.

Identificación por cromatografía de capa fina (CCF) de terpenoides y flavonoides presentes en los extractos de acetato de etilo de *S. semiatrata*

Los metabolitos secundarios presentes en los extractos fueron identificados de manera preliminar por medio de CCF. Se utilizaron placas de sílica gel (Merck). Las muestras de cada extracto, así como algunos estándares de referencia de terpenoides y flavonoides se aplicaron en las placas cromatográficas.

Terpenoides

En la primera placa cromatográfica se aplicaron los extractos de acetato de etilo de cada una de las muestras de los diferentes sitios de colecta y los estándares de terpenoides ácido ursólico y oleanólico. El eluyente fue una mezcla de hexano/acetato de etilo 7:3. La placa se asperjó con anisaldehído y luego se calentó a 100°C por 5 min (Wagner y Bladt, 1996).

Flavonoides

En la segunda placa se aplicaron los extractos y el estándar del flavonoide quercetina. La fase móvil utilizada fue una mezcla de cloroformo/acetona/ácido fórmico (8:1:1). La placa fue asperjada con el reactivo de productos naturales y observadas en una cámara de luz UV a una longitud de onda de 365 nm (Wagner y Bladt, 1996).

Análisis por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR) de los extractos de acetato de etilo de *S. semiatrata*

La identificación y concentración de terpenoides y compuestos fenólicos presentes en las cinco muestras de *S. semiatrata* se realizó en un cromatógrafo marca Agilent serie 1100 equipado con un detector de arreglo de diodos. Los extractos se prepararon a una concentración de 50 mg/mL en acetato de etilo grado CLAR. Las

impurezas sólidas se eliminaron mediante acrodiscos con membrana de nylon con una apertura de poro de 0.45µm. Finalmente, se inyectaron 20 µL de cada una de las disoluciones de los extractos.

Elaboración de las curvas patrón

Para la cuantificación de los terpenoides y flavonoides en *S. semiatrata* se realizaron curvas de calibración para cada uno de los doce estándares siguientes: β-sitosterol, estigmasterol, α-amirina, ácido ursólico, ácido oleanólico, carnosol, 7-ceto-neoclerodan-3,13-dien-18,19:15,16-diólida, quercetina, catequina, apigenina, naringenina y fletina. Las curvas patrón se construyeron utilizando cinco concentraciones distintas de cada compuesto en el intervalo 0.048 - 0.4 µg. Las interpolaciones se hicieron con el programa ChemStation de Agilent Co. Para determinar la concentración de cada compuesto en los extractos, se comparó la variación del área bajo la curva respecto a las unidades de absorbancia y su tiempo de retención de cada inyección (empleando el modelo matemático de regresión lineal con la fórmula $y=mx+b$) con los extractos.

Identificación y cuantificación de terpenoides

La identificación y cuantificación de terpenoides se realizó en una columna Zorbax Eclipse XDB-C8 (125 x 4.0 mm de diámetro interno y 5 µm de tamaño de partícula). La fase móvil fue acetonitrilo-agua 80:20 (condiciones isocráticas). El flujo y la temperatura fueron 1 mL/min y 40 °C, respectivamente. Se calibró el equipo a una longitud de onda de 215 y 220 nm y el tiempo de análisis fue de 30 minutos.

Identificación y cuantificación de flavonoides

La identificación y cuantificación de flavonoides se realizó con una columna C18 Hypersil ODS (125 mm x 4 mm de diámetro interno y 5 µm de tamaño de partícula). El flujo de la fase móvil se mantuvo en 1 mL/min y consistió en un

gradiente de agua a pH=2.5, ácido trifluoroacético y acetonitrilo (85:15). La temperatura fue de 30 °C. El tiempo de análisis para este método fue de 25 minutos.

Análisis estadístico

Se realizó mediante un análisis de varianza (ANADEVA) seguida de la prueba post hoc de Tukey. Posteriormente para conocer la variación entre las localidades de acuerdo con su contenido de metabolitos secundarios se llevó a cabo un análisis de componentes principales (por sus siglas en inglés, PCA). También se realizó un análisis de correlación canónica (por sus siglas en inglés, CCA) para saber la variación entre el contenido de metabolitos secundarios y variables ambientales. Se utilizaron las interfaces de GraphPad 9.0, Metaboanalyst 5.0 y RStudio.2023.09.1.

RESULTADOS

Rendimiento de los extractos de *S. semiatrata* obtenidos con acetato de etilo

El rendimiento de cada extracto de acetato de etilo se calculó en función del peso del extracto obtenido con relación al peso de la materia vegetal seca de *S. semiatrata*. Los resultados se detallan en la Cuadro 2. Se indican los pesos del extracto crudo y rendimiento porcentual. En particular, la muestra de Santo Domingo Ozolotepec registró el mayor rendimiento de extracción (5.1 %), mientras que la de Nochixtlán dio el rendimiento más bajo (2.5%).

Cuadro 2. Rendimiento de la extracción de muestras de *S. semiatrata* con acetato de etilo de diferentes sitios de colecta.

	Localidad (Clave)	Peso del extracto crudo (g)	Rendimiento (%)
Material vegetal seco y molido (70 g)	ALB	2.42	3.4
	NOX	1.75	2.5
	SAN	3.55	5.0
	SOS	2.02	2.8
	DOM	3.59	5.1

Identificación por CCF de terpenoides y flavonoides presentes en los extractos de *S. semiatrata* con acetato de etilo

El perfil cromatográfico permitió identificar la presencia de dos terpenoides, ácido ursólico y ácido oleanólico (Figura 7a) en las cinco localidades muestreadas. Asimismo, se identificó la presencia del flavonoide quercetina (Figura 7b).

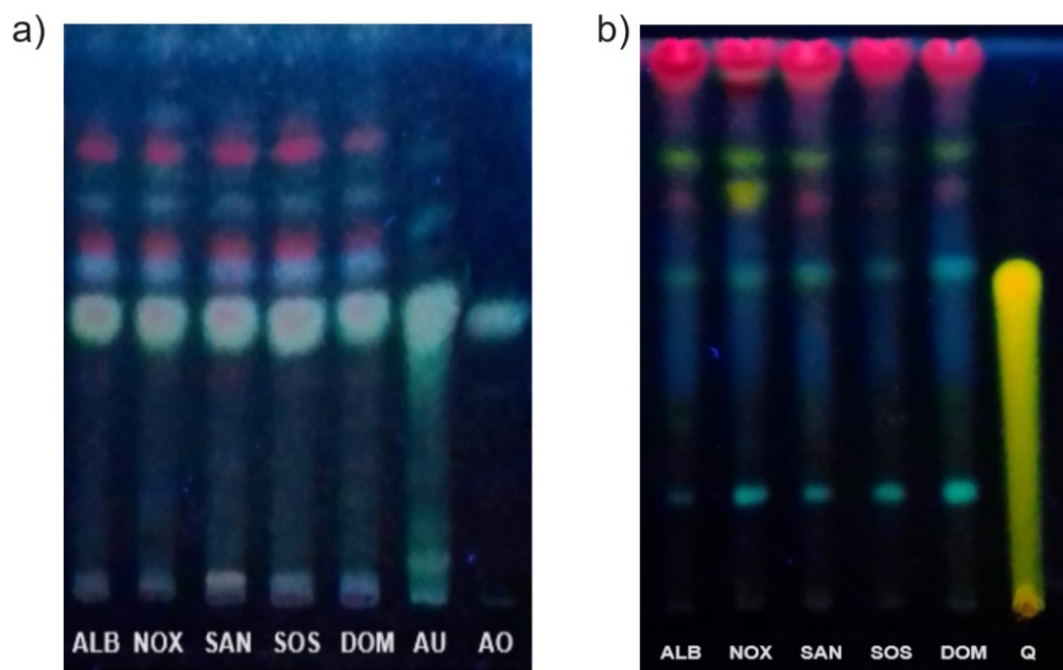


Figura 7. Identificación de terpenos y flavonoides en los extractos de acetato de etilo de *S. semiatrata*. Placa a) ácido ursólico (AU) y ácido oleanólico (AO); b) quercetina (Q).

Cuantificación de terpenos y flavonoides de *S. semiatrata* por CLAR

Por CLAR se identificaron siete terpenoides y cinco flavonoides. Los terpenoides encontrados fueron el ácido oleanólico, estigmasterol, 7-ceto neoclerodan-3,13-dien-18,19:15,16-diólida, α -amirina, β -sitosterol, ácido ursólico y carnosol (Figura 8); mientras que los flavonoides detectados fueron la quercetina, catequina, apigenina, naringenina y floretina (Figura 9).

Terpenoides

En los extractos de las cinco localidades se encontró ácido oleanólico, ácido ursólico, 7-ceto, β -sitosterol y carnosol. En contraste, el estigmasterol y la α -amirina no se observan en todos. Específicamente, el estigmasterol estuvo ausente en NOX y SAN y la α -amirina no se detectó en los extractos de SAN, SOS y DOM. En ALB, caracterizada por una vegetación de matorral xerófilo, se identificaron los siete terpenos, con la mayor abundancia del 7-ceto (8.01 $\mu\text{g}/\text{mg}$) en comparación con las otras cuatro localidades. SAN muestra abundancia en ácido oleanólico (89.58 $\mu\text{g}/\text{mg}$) pero, carece de estigmasterol y α -amirina. Según el análisis de Tukey, se mostraron variaciones en las concentraciones de los metabolitos entre las cinco localidades. El ácido oleanólico (89.58 – 56.11 $\mu\text{g}/\text{mg}$) y el 7-ceto (8.01 – 4.76 $\mu\text{g}/\text{mg}$) se identificaron en las cinco localidades, en alta concentración. El β -sitosterol mostró una variabilidad cuantitativa marcada (9.80 – 0.73 $\mu\text{g}/\text{mg}$). Respecto al ácido ursólico (3.87 – 0.91 $\mu\text{g}/\text{mg}$) y el carnosol (0.44 – 0.03 $\mu\text{g}/\text{mg}$), ambos estuvieron presentes en todas las localidades, en baja concentración. El estigmasterol estuvo presente solo en extractos de tres localidades, con mayor concentración en SOS (14.81 $\mu\text{g}/\text{mg}$), seguido por DOM (8.33 $\mu\text{g}/\text{mg}$) y ALB (4.92 $\mu\text{g}/\text{mg}$), observándose una diferencia significativa entre ellas. Con respecto a la α -amirina, sólo se identificó en extractos de dos

localidades en concentraciones casi similares: NOX (6.04 $\mu\text{g}/\text{mg}$) y ALB (6.86 $\mu\text{g}/\text{mg}$) (Figura 8).

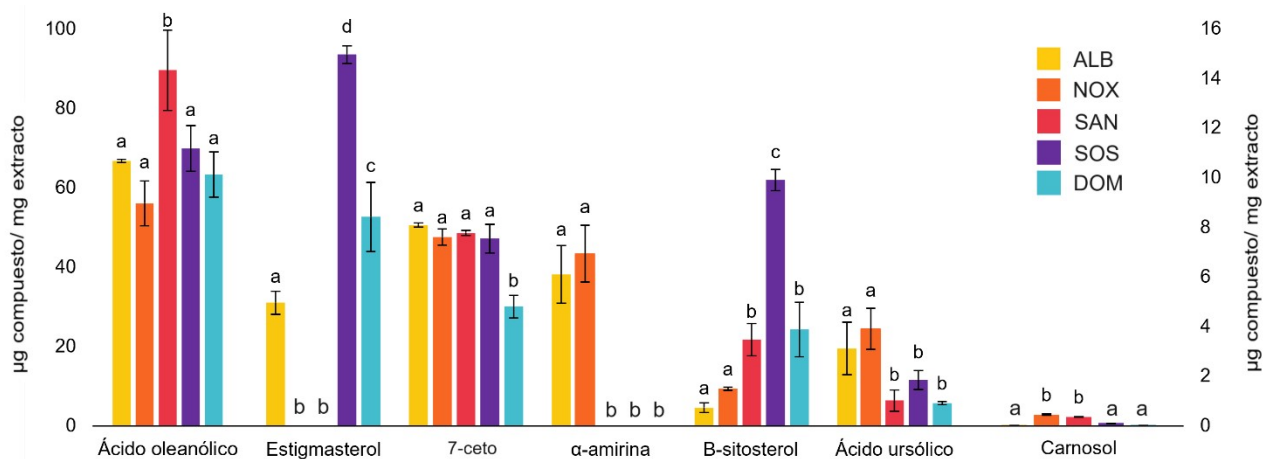


Figura 8. Determinación de terpenoides en extractos de *S. semiatrata* de cinco localidades de Oaxaca. Las barras representan la media $\pm$ la desviación estándar de tres réplicas. La concentración de ácido oleanólico se indica en el eje Y izquierdo, mientras que para los demás compuestos se indica en el eje Y derecho. Para cada una de las localidades, los valores con diferentes letras son significativamente diferentes, según la prueba de Tukey $p < 0.05$.

Flavonoides

Los flavonoides quercetina, catequina, apigenina y naringenina fueron identificados en los extractos de las cinco localidades. Por su parte, la floretina, no se identificó en SOS y DOM. Quercetina y catequina fueron los de mayor concentración, sobresaliendo en la localidad de NOX con 28.98 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de quercetina y 9.30 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de catequina. Por otro lado, SAN exhibe concentraciones elevadas de quercetina (20.66 $\mu\text{g}/\text{mg}$), catequina (14.68 $\mu\text{g}/\text{mg}$), naringenina (0.70 $\mu\text{g}/\text{mg}$) y apigenina (0.30 $\mu\text{g}/\text{mg}$). El análisis de Tukey reveló diferencias en las concentraciones de estos metabolitos entre las cinco localidades. La quercetina y la catequina fueron los flavonoides con mayores concentraciones. Sin embargo, mientras la catequina mantuvo una consistencia en su contenido en las

localidades (14.68 - 9.30 $\mu\text{g}/\text{mg}$), la quercetina mostró una notable variabilidad (28.98 - 0.94 $\mu\text{g}/\text{mg}$). Por otro lado, tanto la apigenina (0.30 - 0.11 $\mu\text{g}/\text{mg}$) como la naringina (0.70 - 0.19 $\mu\text{g}/\text{mg}$) presentaron cantidades menores, estando por debajo de 1.00 $\mu\text{g}/\text{mg}$. Respecto a la floretina, aunque solo se encontró en ALB, NOX y SAN, no se observaron diferencias significativas entre ellas. Es relevante mencionar que existe poca variación en las concentraciones de los flavonoides en las localidades SOS y DOM, incluso compartiendo la ausencia de la floretina. Ambas localidades comparten semejanzas en cuanto a su contenido de quercetina con ALB y con catequina, apigenina y naringenina con ALB y NOX. En ALB se observa poca variación en el contenido de los flavonoides, en contraste con NOX y SAN (Figura 9).

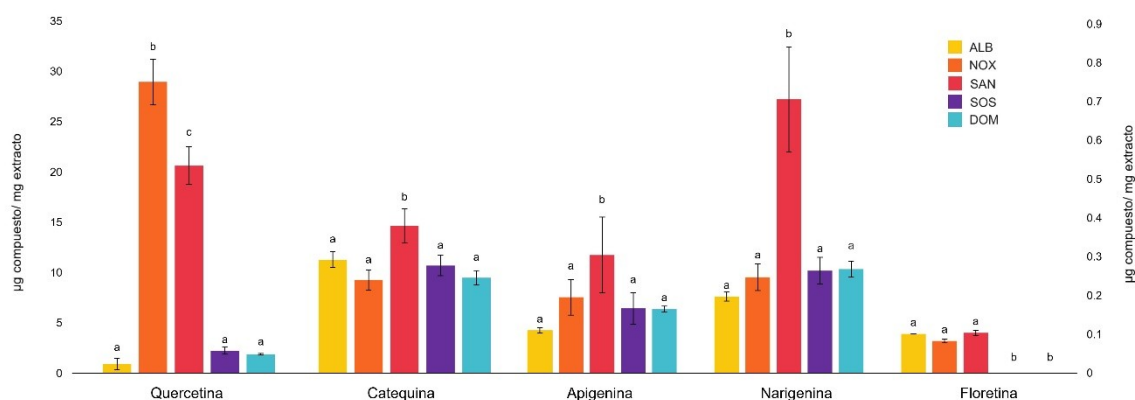


Figura 9. Flavonoides identificados en extractos de *S. semiatrata* de cinco localidades de Oaxaca. Las barras representan la media $\pm$ de la desviación estándar de tres réplicas. La concentración de quercetina y catequina se indica en el eje Y izquierdo, y los otros flavonoides se indican en el eje Y derecho. Para cada una de las localidades, los valores con diferentes letras son significativamente diferentes, según la prueba de Tukey $p < 0.05$.

Análisis de Componentes Principales (PCA) del contenido de metabolitos secundarios

El análisis de PCA explica el 87% de la variabilidad total de los datos. Se observa que el primer componente principal (PC1) tiene una contribución significativa,

capturando el 58% de la variabilidad y está influenciado principalmente por la quercetina, el carnosol y la floretina. Por otro lado, el PC2 está fuertemente asociado con la α -amirina, la floretina y el ácido ursólico, contribuyendo con un 29% de variación en los datos. Las localidades DOM y SOS son semejantes con base a su composición de terpenoides y flavonoides, formando un grupo, mientras que SAN y NOX también muestran características químicas similares entre sí, generando un segundo grupo. Por otro lado, la localidad ALB es contrastante con las demás (Figura 10).

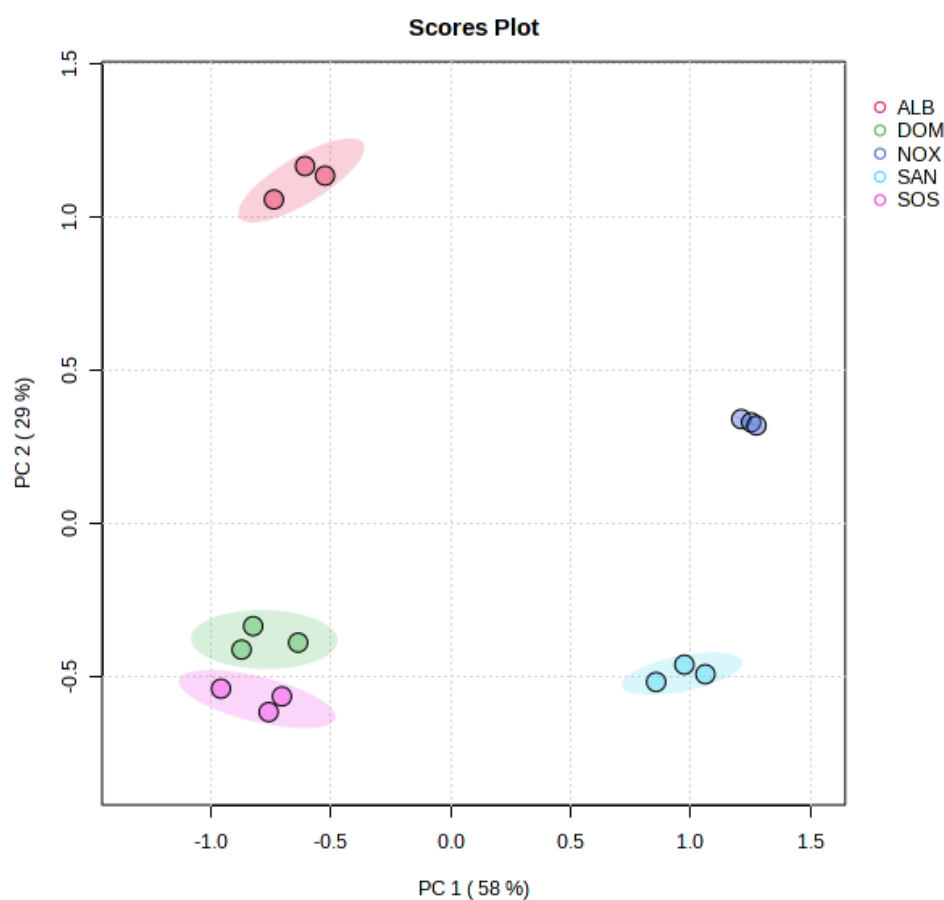


Figura 10. PCA de la concentración de terpenoides y compuestos fenólicos de las diferentes muestras de *S. semiatrata*. El PCA desglosa la variabilidad de los datos, donde el primer componente (PC1) explica el 58% y el segundo componente (PC2) el 29% de la variabilidad total de los datos (87%). La figura se generó utilizando Metaboanalyst 5.0.

Análisis de Correlación Canónica (CCA) entre concentraciones de los metabolitos y las variables climáticas

El CCA refleja que la temperatura media anual (TMA) es antagónica con la altitud (A). Por otra parte, la TMA influye en la presencia y concentración de α -amirina y ácido ursólico en ALB. Las localidades SOS y DOM se ven influenciadas por la precipitación anual (P) en cuanto a contenido de β -sitosterol y estigmasterol. Además, la muestra de *S. semiatrata* de la localidad SAN presenta una mayor cantidad de naringenina, catequina, apigenina, ácido oleanólico, carnosol y quercetina, influenciada por la altitud. El valor obtenido de $p=0.52$ en este análisis demuestra que existe una baja correlación entre las variables ambientales como la A, TMA, y P y el contenido de terpenoides y flavonoides.

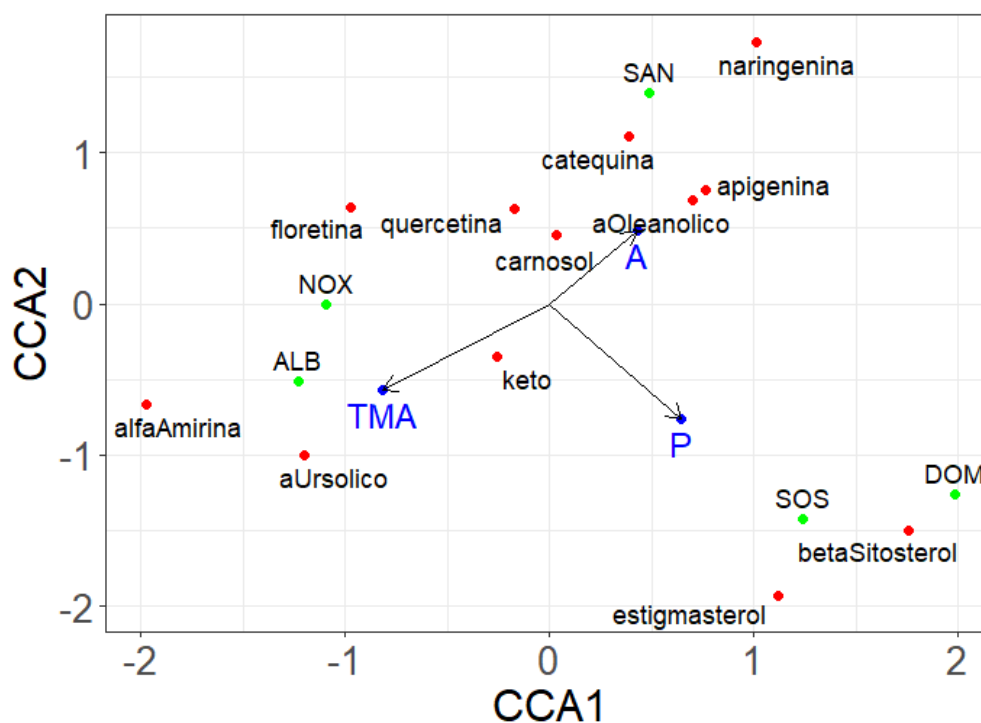


Figura 11. CCA entre variables climáticas y contenido de metabolitos secundarios. El valor de varianza total de la matriz de respuesta (contenido de metabolitos secundarios) es 0.52 y el valor de varianza explicado en función de la matriz de respuesta (variables ambientales) es 0.39.

DISCUSIÓN

Desde que colonizaron los ecosistemas terrestres, las plantas han desarrollado numerosas estrategias para hacer frente a los diversos retos bióticos y abióticos, destacando entre ellos la producción de metabolitos secundarios. Estos metabolitos, cuya evolución ha sido impulsada por diversas presiones ecológicas, comprenden más de 200,000 moléculas identificadas hasta la fecha (Wink, 2010; Li et al., 2020).

Los resultados obtenidos en este trabajo muestran la variación en la composición química de *S. semiatrata* de acuerdo con los diferentes sitios de recolecta, con cierta influencia de la altitud, la temperatura y la precipitación. Esto concuerda con otros trabajos realizados en otras especies, donde se describe que las plantas bajo condiciones de estrés inducidas por factores climáticos como sequía, altas temperaturas, congelación, amplia amplitud térmica, altos niveles de radiación solar, precipitación, pH del suelo y cantidad de materia orgánica muestran cambios en la producción de diferentes clases de metabolitos (Liu et al., 2015b; Valares et al., 2016; Deng et al., 2019; Piasecka et al., 2019).

El análisis por HPLC mostró un mayor contenido de terpenoides respecto de flavonoides. El ácido oleanólico fue el terpenoide de mayor concentración. Al respecto, en estudios de salvias se menciona que los ácidos oleanólico y ursólico, así como diterpenos de tipo abietano y clerodano son los más abundantes en especies de *Salvia* (Ortiz-Mendoza et al., 2022, Ortiz-Mendoza et al., 2023). Por otro lado, se sabe que los ácidos ursólico y oleanólico son metabolitos secundarios involucrados en el sistema de defensa de la planta contra la pérdida de agua y patógenos (Gudoityte et al., 2021).

Los flavonoides identificados en las cinco localidades fueron quercetina, catequina, apigenina y naringina, siendo los dos primeros los de mayor

concentración. Estudios previos reportan que la producción de flavonoides contribuye a la absorción y/o disipación de la energía solar, brindando protección contra los efectos nocivos de la radiación UV, como daño tisular inducido directamente por UV-B o formación de radicales libres y otras especies oxidativas (Liu et al., 2015).

El análisis de componentes principales (PCA) reveló que las localidades se reúnen en tres grupos según el contenido de terpenoides y flavonoides, siendo la más contrastante ALB, lo cual coincide, en que es la única área con tipo de vegetación de matorral xerófilo, caracterizada por una temperatura de 23.3 °C, una precipitación de 570.4 mm y una altitud de 1749 msnm. Esta localidad presenta concentraciones notables de ácido oleanólico, 7-ceto-neoclerodan-3,13-dien-18,19:15,16-diólida y α -amirina. Es posible que la abundancia de los terpenoides sea para mejorar la resistencia de las plantas al estrés hídrico de acuerdo con lo reportado en la literatura (Dufourc, 2008; Aboobucker y Suza, 2019; Cabianca et al., 2021; Gudoityte et al., 2021; Hiba y Puthur, 2021; Shahzad et al., 2021). Asimismo, Ortiz-Mendoza et al. (2023), menciona que la producción de metabolitos secundarios en *S. semiatrata* varía en función del tipo de vegetación.

A pesar de que el análisis de correlación canónica no mostró una relación significativa entre variables de altitud, precipitación, temperatura y la concentración de terpenoides y flavonoides entre las diferentes muestras de *S. semiatrata* ($p=0.52$), estas variables sí influyen en algunas localidades. Por ejemplo, la temperatura interviene en la concentración de α -amirina y ácido ursólico en ALB; la precipitación en la presencia de β -sitosterol y estigmasterol en SOS y DOM y la altitud en la síntesis de quercetina, naringenina, catequina, apigenina, ácido oleanólico y carnosol en SAN. Lo anterior se relaciona con estudios previos señalando que la variabilidad en la proporción entre el β -sitosterol y el estigmasterol se debe a la genética de cada especie, relacionada a las variaciones térmicas, resistencia al estrés hídrico y en respuesta al estrés generado por patógenos (Dufourc, 2008; Aboobucker y Suza, 2019; Shahzad, et al., 2021). La α -

amirina se sintetiza como respuesta a altas temperaturas y estrés hídrico (Hiba y Puthur, 2021). Además, el ácido ursólico, se produce para prevenir la pérdida de agua, protección contra patógenos y herbívoros, y efectos alelopáticos (Gudoityte et al., 2021). La alta concentración de flavonoides en las plantas se asocia con el incremento de luz y radiación UV-B en el ambiente donde se desarrollan, porque estos compuestos ofrecen filtración y protección contra la radiación (Cuadra et al., 1997; Panche et al., 2016; Agati et al., 2020; Qaderi et al., 2023). Además, contribuyen a mitigar el estrés oxidativo al actuar como antioxidantes y realizar la quelación de iones metálicos (Singh et al., 2021).

Los resultados obtenidos en este trabajo muestran la variación en la composición química de *S. semiatrata* de acuerdo con los diferentes sitios de recolecta, con cierta influencia de la altitud, la temperatura y la precipitación. Esto concuerda con otros trabajos realizados en otras especies, donde se describe que las plantas bajo condiciones de estrés inducidas por factores climáticos como sequía, altas temperaturas, congelación, amplia amplitud térmica, altos niveles de radiación solar, precipitación, pH del suelo y cantidad de materia orgánica muestran cambios en la producción de diferentes clases de metabolitos (Liu et al., 2015b; Valares et al., 2016; Deng et al., 2019; Piasecka et al., 2019). Estudios en *Salvia*, como *S. verbenaca* se encontró que la altitud y la composición del suelo influyen sobre la producción de monoterpenos y sesquiterpenos. En *S. limbata* C.A.Mey. el incremento en la altitud promueve mayores concentraciones de sesquiterpenos (Mannu et al., 2022; Saffariha et al., 2021; Ben-Farhat et al., 2019). La variación de terpenos en *S. officinalis* es debido a la temperatura y estrés hídrico. En *S. officinalis* subsp. *lavandulifolia* (Vahl) Gams el aumento de temperatura afecta la proporción entre monoterpenos y sesquiterpenos. (Karalija et al., 2022; Laftouhi et al., 2023) Por otro lado, En *S. miltiorrhiza* Bunge el contenido de ácidos fenólicos está principalmente influenciado por la concentración de nitrógeno y potasio en suelo (Zhang et al., 2018).

CONCLUSIÓN

S. semiatrata muestra variaciones en sus perfiles químicos en función de la localidad de recolecta, con cierta influencia de algunos factores abióticos como la altitud, la precipitación y la temperatura.

REFERENCIAS

- Aboobucker, S. I. y Suza, W. P. (2019). Why do plants convert sitosterol to stigmasterol? *Frontiers in Plant Science*, 10, 354. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00354>
- Agati, G., Azzarello, E., Pollastri, S. y Tattini, M. (2012). Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance. *Plant science: an international journal of experimental plant biology*, 196, 67–76. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2012.07.014>
- Agati, G., Brunetti, C., Fini, A., Gori, A., Guidi, L., Landi, M., Sebastiani, F. y Tattini, M. (2020). Are flavonoids effective antioxidants in plants? Twenty years of our investigation. *Antioxidants*, 9, 1098. <https://doi.org/10.3390/antiox9111098>
- Anaya, A. L. (2003). Ecología Química. Ciudad de México, México: Plaza y Valdés, S.A.
- Barrera-Aveleida, G. B. (2017). *Morfología del androceo de Salvia subgénero Calosphace (Lamiaceae) con relación a su filogenia*. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Bautista, F. (2012). *Elucidación estructural y evaluación de la actividad biológica de diterpenos tipo neo-clerodano aislados de Salvia herbacea, S. shannoni y S. microphylla*. Tesis de doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Ben Farhat, M., Sotomayor, J. A., y Jordán, M. J. (2019). *Salvia verbenaca* L. essential oil: Variation of yield and composition according to collection site

- and phenophase. *Biochemical Systematics and Ecology*, 82, 35-43. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2018.12.002>
- Bhatla, S.C. y Lai, M.A. (2023). Secondary Metabolites. In: *Plant Physiology, Development and Metabolism*. Springer, Singapore. https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1007/978-981-99-5736-1_33
- Cabianca, A., Müller, L., Pawlowski, K. y Dahlin, P. (2021). Changes in the plant β -Sitosterol/Stigmasterol ratio caused by the plant parasitic nematode *Meloidogyne incognita*. *Plants*, 10(2), 292. <https://doi.org/10.3390/plants10020292>
- Cornejo-Tenorio, G., Ibarra-Manríquez, G. (2011). Diversidad y distribución del género *Salvia* (Lamiaceae) en Michoacán, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 82(4), 1279-1296. Recuperado en 30 de enero de 2023, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-34532011000400022&lng=es&tlng=es.
- Cuadra, P., Harborne, J. B. y Waterman, P. G. (1997). Increases in surface flavonols and photosynthetic pigments in *Gnaphalium luteo-album* in response to UV-B radiation. *Phytochemistry*, 45(7), 1377–1383. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(97\)00183-0](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(97)00183-0)
- Deng, B., Fang, S., Shang, X., Fu, X. y Yang, W. (2019). Influence of genotypes and environmental factors on leaf triterpenoid content and growth of *Cyclocarya paliurus*. *Journal of Forestry Research*, 30(3), 789–798. <https://doi.org/10.1007/s11676-018-0680-z>
- Dufourc, E. J. (2008). Sterols and membrane dynamics. *Journal of Chemical Biology*, 1(1-4), 63–77. <https://doi.org/10.1007/s12154-008-0010-6>

- Esquivel, B. (2008). Rearranged clerodane and abietane derived diterpenoids from american *Salvia* species. *Natural Product Communications*, 3(6), 989-1002. <https://doi.org/10.1177/1934578X0800300628>
- Esquivel, B., Hernández, M., Ramamoorthy, J., Cardenas, J., Rodríguez-Hahn, L. (1986). Semiatriin, a neo-clerodane diterpenoid from *Salvia semiatrata*. *Phytochemistry*, 25, 1484-1486. 10.1016/s0031-9422(00)81317-5
- Generalčić, I., Skroza, D., Surjak, J., Možina, S.S., Ljubenković, I., Katalinić, A., Simat, V. y Katalinić, V. (2012). Variaciones estacionales de compuestos fenólicos y propiedades biológicas en salvia (*Salvia officinalis* L.). *Chemistry & Biodiversity*, 9, 441-457.
- Gonzalez-Coloma, A., Reina, M., Diaz, C. E., & Fraga, B. M. (2010). Natural product-based biopesticides for insect control. In L. Mander y W. Liu (Eds.), *Comprehensive natural products II: Chemistry and biology* (pp. 237-268). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.02770-0>
- Gould, K. S. y Lister, C. (2006). Flavonoid functions in plants. En *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications* (pp. 397-441). O.M. Andersen y K.R. Markham (Eds.), *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications*.
- Gudoityte, E., Arandarcikaite, O., Mazeikiene, I., Bendokas, V. y Liobikas, J. (2021). Ursolic and oleanolic acids: Plant metabolites with neuroprotective potential. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 4599. <https://doi.org/10.3390/ijms22094599>

- González-Gallegos, J. G., Castro-Castro, A., González-Elizondo, M., López-Enríquez, I. L., Ruacho-González, L. y Retana-Rentería, F. I. (2021). Riqueza y distribución de Lamiaceae en el estado de Durango, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 93, 2022. <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2022.93.3838>
- Harley, R. M., S. Atkins, A. L. Budanste, P. D. Cantino, B. J. Conn, R. Grayer, M. M. Harley., R. de Kok, T. Krestovskaja y R. Morales. (2004). Labiatae. En: Kadereit J. W. (Ed.). *The families and genera of vascular plants*. 167-275. New York: Springer.
- Hiba, H., Janeeshma, E. y Puthur, J.T. (2021). Dynamic alterations of metabolites in *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. to encounter drought and Zn toxicity. *Brazilian Journal of Botany*, 44, 587–599. <https://doi.org/10.1007/s40415-021-00738-4>
- Janicsák, G., Veres, K., Kakasy, A. Z., y Máthé, I. (2015). Study of the oleanolic and ursolic acid contents of some species of the Lamiaceae. *Biochemical systematic and ecology*, 34, 392-396. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2005.12.004>
- Johnson, L. J., Bastías, D. A., Caradus, J. R., Chettri, P., Forester, N. T., Mace, W. J., Miller, T. A., Moon, C. D., Voisey, C. R., Zhang, W., y Card, S. D. (2021). The dynamic mechanisms underpinning symbiotic *Epichloë*–grass interactions: Implications for sustainable and resilient agriculture. In J. White, A. Kumar, & S. Droby (Eds.), *Microbiome stimulants for crops* (pp. 73–108). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822122-8.00008-X>
- Karalija, E., Dahija, S., Tarkowski, P. y Zeljković, S. Č. (2022). Influence of climate-related environmental stresses on economically important essential oils of

mediterranean *Salvia* sp. *Frontiers in Plant Science* 13.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2022.864807>

Kariñho-Betancourt, E. (2018). Plant-herbivore interactions and secondary metabolites of plants: Ecological and evolutionary perspectives. *Botanical Sciences*, 96(1), 35-51. <https://doi.org/10.17129/botsci.1860>

Laftouhi, A., Eloutassi, N., Ech-Chihbi, E., Kara, M., Assouguem, A., Ali, E., Fidan, H., Rais, Z., Taleb, A., Beniken, M. y Taleb, M. (2023). Impact of climatic disturbances on the chemical compositions and metabolites of *Salvia officinalis*. *Open Chemistry*, 21(1), 2023-0115. <https://doi.org/10.1515/chem-2023-0115>

Li, C., Zha, W., Li, W., Wang, J. y You, A. (2023). Advances in the biosynthesis of terpenoids and their ecological functions in plant resistance. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(14), 11561. <https://doi.org/10.3390/ijms241411561>

Li, Y., Kong, D., Fu, Y., Sussman, M. R. y Wu, H. (2020). The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 148, 80-89. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.01.006>

Liu, W., Liu, J., Yin, D., y Zhao, X. (2015a). Influence of ecological factors on the production of active substances in the anti-cancer plant *Sinopodophyllum hexandrum* (Royle) T.S. Ying. *PLoS One*, 10(4), e0122981. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122981>

Liu, A., Cai, G., Wei, Y., Yu, J., Chen, J., Yang, J., Wang, X., Che, Y., Chen J. y Wu, S. (2015b). Anxiolytic effect of essential oils of *Salvia miltiorrhiza* in rats.

International Journal of Clinical and Experimental Medicine, 8, 756-764.
12756-64. PMID: 26550189; PMCID: PMC4612874.

Liu, Y., Feng, Y., Zhao, Z., Zhang, Q., y Su, S. (2016). Socioeconomic drivers of forest loss and fragmentation: A comparison between different land use planning schemes and policy implications. *Land Use Policy*, 54, 58-68. <https://doi.org/10.1016/j.landusepol.2016.01.016>

Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C., y Jimenez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79(5), 727-747. <https://doi.org/10.1093/ajcn/79.5.727>

Mannu, A., Melito, S., Petretto, G. L., Manconi, P., Pintore, G. M., y Chessa, M. (2022). Geographical variation of the chemical composition in essential oils extracted from Sardinian *Salvia verbenaca*. *Natural Product Research*, 36(1). 367–370. <https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1788021>

Martínez-Gordillo, M. J., Bedolla-García, B., Cornejo-Tenorio, G., Fragoso-Martínez, I., García-Peña, M. R., González-Gallegos, J. G., Lara-Cabrera, S. I., Zamudio, S. (2017). *Lamiaceae of México. Botanical Sciences*, 95(4), 780-806. <https://doi.org/10.17129/botsci.1871>

Martínez-Gordillo, M. J., Martínez-Ambríz, E., García-Peña, M. R., Cantú-Morón, E. A., y Fragoso-Martínez, I. (2019). Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán (Vol. Lamiaceae). Ciudad de México: Departamento de Botánica del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México.

Mithofer, A., y Wilherm, B. (2012). Plant defense against herbivores: chemical aspects. *Annual Review of Plant Biology*, 63, 431-450.

- Mouna, B. F., Sotomayor, J. A., y Jordán, M. J. (2019). *Salvia verbenaca* L. essential oil: variation of yield and composition according to collection site and phenophase. *Biochemical Systematics and Ecology*, 82, 35-43. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2018.12.002>
- Nambo, C. A. (2015). Etnobotánica de Santiago Huaucilla, Oaxaca y evaluación farmacológica de *Zinnia peruviana*. Tesis de licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Ninkuu, V., Zhang, L., Yan, J., Fu, Z., Yang, T., y Zeng, H. (2021). Biochemistry of terpenes and recent advances in plant protection. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(11), 5710. <https://doi.org/10.3390/ijms22115710>
- Ojito Ramos, K., y Portal, O. (2017). *Metabolitos secundarios de las Plantas, una alternativa para el manejo de enfermedades en cultivos de interés económico*. Cuba. Editorial Académica Española.
- Olvera Mendoza, E. I., Bedolla García, B. Y., y Lara-Cabrera, S. I. (2017). Revisión taxonómica de *Salvia* subgénero *Calosphace* sección *Scorodoniae* (Lamiaceae), endémica de México. *Acta Botánica Mexicana*, 118, 7-39. <http://dx.doi.org/10.21829/abm118.2017.1198>
- Ortiz-Mendoza, N., Aguirre-Hernández, E., Fragoso-Martínez, I., González-Trujano, M. E., Basurto-Peña, F. A. y Martínez-Gordillo, M. J. (2022). A Review on the Ethnopharmacology and Phytochemistry of the Neotropical Sages (*Salvia* Subgenus *Calosphace*; Lamiaceae) Emphasizing Mexican Species. *Frontiers in Pharmacology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.867892>
- Ortiz-Mendoza, N., San Miguel-Chávez, R., Martínez-Gordillo, M. J., Basurto-Peña, F. A., Palma-Tenango, M. y Aguirre-Hernández, E. (2023). Variation

in Terpenoid and Flavonoid Content in Different Samples of *Salvia semiatrata* Collected from Oaxaca, Mexico, and Its Effects on Antinociceptive Activity. *Metabolites*, 13(7), 866. <https://doi.org/10.3390/metabo13070866>

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

Panche, A., Diwan, A. y Chandra, S. (2016). Flavonoids: An overview. *Journal of Nutritional Science* 5, E47. doi:10.1017/jns.2016.41

Peñarrieta, J. M., Tejeda, L., Mollinedo, P., Vila, J. L. y Bravo, J. A. (2014). Phenolic compounds in food. *Revista Boliviana de Química*, 31(2), 68-81. Recuperado en 15 de marzo de 2024, de http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S025054602014000200006&lng=es&tlng=es

Peñuelas, J. y Llusià, J. (1997). Effects of carbon dioxide, water supply, and seasonality on terpene content and emission by *Rosmarinus officinalis*. *Journal of Chemical Ecology*, 23(4), 979-993. <https://doi.org/10.1023/B:JOEC.00000006383.29650.d7>

Piasecka, A., Kachlicki, P. y Stobiecki, M. (2019). Analytical Methods for Detection of Plant Metabolomes Changes in Response to Biotic and Abiotic Stresses. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(2), 379. <https://doi.org/10.3390/ijms20020379>

- Qaderi, M. M., Martel, A. B. y Strugnell, C. A. (2023). Environmental Factors Regulate Plant Secondary Metabolites. *Plants (Basel, Switzerland)*, 12(3), 447. <https://doi.org/10.3390/plants12030447>
- Quiñones, M., Miguel, M. y Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, 27(1), 76-89.
- Rahimmalek, M., Sayed Tabatabaei, B. E., Etemadi, N., Goli, S. A. H., Arzani, A. y Zeinali, H. (2009). Essential oil variation among and within six *Achillea* species transferred from different ecological regions in Iran to the field conditions. *Industrial Crops and Products*, 29(2–3), 348-355. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2008.07.001>
- Ramakrishna, A. y Ravishankar, G. A. (2011). Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling & Behavior*, 6(11), 1720–1731. <https://doi.org/10.4161/psb.6.11.17613>
- Ramamoorthy, T. P. y Lorence, D. H. (1987). Species vicariance in the Mexican Flora and a description of a new species of *Salvia* (Lamiaceae). *Adansonia*, 2, 167-175.
- Saffariha, M., Azarnivand, H., Zare Chahouki, M. A., Tavili, A., Nejad Ebrahimi, S., Jahani, R. y Potter, D. (2021). Changes in the essential oil content and composition of *Salvia limbata* C.A. Mey at different growth stages and altitudes. *Biomedical Chromatography* 35(8). <https://doi.org/10.1002/bmc.5127>
- Sarrou, E, Ganopoulos, I., Xanthopoulou, A., Masuero, D., Martens, S., Madesis, P., Mavromatis, A., Chatzopoulou, P. (2017). Genetic diversity and

metabolic profile of *Salvia officinalis* populations: implications for advanced breeding strategies. *Planta*, 246, 201-215.

Senthil-Kumar, M., Wang, K., y Mysore, K. S. (2013). AtCYP710A1 gene-mediated stigmasterol production plays a role in imparting temperature stress tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant signaling & behavior*, 8(2), e23142. <https://doi.org/10.4161/psb.23142>

Shahzad, R., Ewas, M., Harlina, P. W., Khan, S. U., Zhenyuan, P., Nie, X., Nishawy, E. (2021). β -Sitosterol differentially regulates key metabolites for growth improvement and stress tolerance in rice plants during prolonged UV-B stress. *Journal Genetic, Engineering & biotechnology*, 19(1), 79. <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00183-6>

Singh, B., Sharma, R. A. (2015). Plant terpenes: defense responses, phylogenetic analysis, regulation and clinical applications. *Biotech*, 5(2), 129–151. <https://doi.org/10.1007/s13205-014-0220-2>

Singh, P., Arif, Y., Bajguz, A., Hayat, S. (2021). The role of quercetin in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 166, 10-19. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.05.023>

Singsaas, E. L. (2000). Terpenes and the thermotolerance of photosynthesis. *New Phytologist*, 146, 1–2. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2000.00626.x>

Standley, P. C. Williams, L. O. (1973). Labiatae. *Flora of Guatemala*, 24(9), 237-317.

Taiz, L., y Zeiger, E. (2006). *Plant physiology* (4th ed.). Sinauer Associates.

- Tamokou, J. D. D., Mbaveng, A. T., Kuete, V. (2017). Antimicrobial Activities of African Medicinal Spices and Vegetables. En *Medicinal Spices and Vegetables from Africa*, 207–237. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809286-6.00008-X>
- Teoh E. S. (2016). Secondary Metabolites of Plants. *Medicinal Orchids of Asia*, 59–73. Springer Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-24274-3_5
- Tiwari, R. y Rana, C. (2015). Plant secondary metabolites: a review. *International Journal of Environmental Research and Green Solutions*, 3, 661-670.
- Topçu, G. (2006). Bioactive triterpenoids from *Salvia* species. *Journal of Natural Products*, 69(3), 482–487. <https://doi.org/10.1021/np0600402>
- Turlings, T. C. J., McCall, P. J., Alborn, H. T. y Tumlinson, J. H. (1993). An elicitor in caterpillar oral secretions that induces corn seedlings to emit chemical signals attractive to parasitic wasps. *Journal of Chemical Ecology*, 19(3), 411–425. <http://doi.org/10.1007/BF00994314>
- Turner, B. (2009). Recension of the Mexican species of *Salvia* (Lamiaceae), section Scorodonia. *Phytologia*, 92, 256-269.
- Valares, M. C. (2011). *Variación del metabolismo secundario en plantas debido al genotipo y al ambiente*. Tesis de Doctorado. Universidad de Extremadura.
- Valares-Masa, C., Sosa-Díaz, T., Alías-Gallego, J. C. y Chaves-Lobón, N. (2016). Quantitative variation of flavonoids and diterpenes in leaves and stems of *Cistus ladanifer* L. at different ages. *Molecules*, 21(3), 275. <https://doi.org/10.3390/molecules21030275>

- Velikova, V. y Loreto, F. (2005). On the relationship between isoprene emission and thermotolerance in *Phragmites australis* leaves exposed to high temperatures and during the recovery from a heat stress. *Plant, Cell and Environment*, 28(3), 318–327. <https://doi.org/10.1111/j.13653040.2004.01314.x>
- Walker, J. B., Sytsma, K. J., Treutlein, J. y Wink, M. (2004). *Salvia* (Lamiaceae) is not monophyletic: Implications for the systematics, radiation, and ecological specializations of *Salvia* and tribe Mentheae. *American journal of botany*, 91(7), 1115–1125. <https://doi.org/10.3732/ajb.91.7.1115>
- Wink M. (2003). Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry*, 64(1), 3–19. [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(03\)00300-5](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(03)00300-5)
- Wink, M. (2010). Introduction: Biochemistry, Physiology and Ecological Functions of Secondary Metabolites. In *Annual Plant Reviews Volume 40: Biochemistry of Plant Secondary Metabolism*, M. Wink (Ed.). <https://doi.org/10.1002/9781444320503.ch1>
- Wu, Y. B., Ni, Z. Y., Shi, Q. W., Dong, M., Kiyota, H., Gu, Y. C. y Cong, B. (2012). Constituents from *Salvia* species and their biological activities. *Chemical Reviews*, 112(11), 5967–6026. <https://doi.org/10.1021/cr200058f>
- Zhang, C., Yang, D., Liang, Z., Liu, J., Yan, K., Zhu, Y., Yang, S. (2019). Climatic factors control the geospatial distribution of active ingredients in *Salvia miltiorrhiza* Bunge in China. *Scientific Reports*, 9(1), 904. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36729-x>
- Zhang, X.D., Yu, Y.G., Yang, D.F., Qi, Z.C., Liu, R.Z., Deng, F.T., Cai, Z.X., Li, Y., Sun, Y.F., Liang, Z.S. (2018). Chemotaxonomic variation in secondary

metabolites contents and their correlation between environmental factors in *Salvia miltiorrhiza* Bunge from natural habitat of China. *Industrial Crops and Products*, 113, 335-347. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.01.043>

Zhao, Y., Liu, G., Yang, F., Liang, Y., Gao, Q., Xiang, C., Li, X., Yang, R., Zhang, G., Jiang, H., Yu, L. y Yang, S. (2023). Multilayered regulation of secondary metabolism in medicinal plants. *Molecular Horticulture*, 3(1), 11. <https://doi.org/10.1186/s43897-023-00059-y>

Zhong G. X., Li, P., Zeng, L.J., Guan, J., Li, D.Q. y Li, S.P. (2009). Chemical characteristics of *Salvia miltiorrhiza* (Danshen) collected from different locations in China. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(15), 6879-6887. <https://doi.org/10.1021/jf901462s>