



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA**

CARRERA DE BIOLOGÍA

**UNIDAD MULTIDISCIPLINARIA DE INVESTIGACIÓN EXPERIMENTAL
ZARAGOZA
LABORATORIO DE TERAPIA MOLECULAR**

Efecto antiinflamatorio de *Nectandra salicifolia* (Kunth) Ness en un modelo murino.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADO EN BIOLOGÍA
P R E S E N T A
BENITO DANIEL BARBOSA BARTOLO

JURADO DE EXAMEN
DIRECTORA: M. en C. Catalina Machuca Rodríguez
ASESOR: M en C. Ernesto Mendoza Vallejo
ASESOR: M en C. Genaro Montaña Arias
SINODAL: M. en C. Guadalupe Bribiesca Escutia
SINODAL: Lic. Carlos Alberto Santana Martínez



Ciudad de México, marzo 2025



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.

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Terapia molecular, L-7 P.A. de la Unidad Multidisciplinaria de Investigación Experimental (UMIEZ) FES-Zaragoza, UNA; bajo la dirección de la M. en C. Catalina Machuca Rodríguez.

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza por darme la oportunidad de formarme como profesionista de calidad.

A los miembros de mi jurado:

M. en C. Ernesto Mendoza vallejo, M. en C. Catalina Machuca Rodríguez, M. en C. Genaro Montaña Arias, Lic. Santana Martínez Carlos Alberto y M. en C. Guadalupe Bribiesca Escutia, por invertir su tiempo en la revisión de este trabajo.

A mi asesora, la M. en C. Catalina Machuca Rodríguez, por aceptarme en el laboratorio de Terapia molecular y poder ser parte del trabajo de su proyecto. Así mismo brindarme diversas enseñanzas, darme distintas oportunidades formativas, tenerme paciencia y darme palabras de motivación cuando lo necesite, Todo esto me sirvió para poder completar este trabajo.

Al M. en C. Ernesto Mendoza Vallejo, que siempre me apoyo hasta en mis momentos con mayor adversidad en el laboratorio, por siempre impulsarme para seguir avanzando formativamente y poder culminar este trabajo.

A la comunidad del Ejido de Limón chiquito, peculiarmente a la señora Verónica Rodríguez que me facilitó mi trabajo en campo.

A todos mis compañeros del laboratorio de Terapia molecular, por siempre tener un buen ambiente de trabajo, por la ayuda que me llegaron a brindar y compartir nuestros aprendizajes, particularmente a Ángel Alejandro Silva Muñoz, Maricela Lizbeth Saucedo Bello, Alejandra Sofia Álvarez Marquina, Flor Cecilia Martínez Reyes y Joshua Alejandro Domínguez Andrade que son unas grandes amistades que formé durante mi estancia en el laboratorio.

Dedicatorias

Para mi madre y mi hermano:

El trabajo de esta tesis va principalmente dedicado a mi madre Ma Guadalupe Bartolo Silvestre, porque siempre me dio la oportunidad de estudiar, siempre me apoyo ya sea económica o emocionalmente y ha sacrificado demasiado para que yo pudiera haber llegado hasta aquí, no hay palabras para poder expresar mi profundo agradecimiento hacia ti, eres la mejor mamá que pude haber tenido, no hay mejor ejemplo de perseverancia al que yo pueda seguir que no sea el tuyo, eres la mejor persona que puede existir, te amo.

A mi hermano Juan Antonio Barbosa Bartolo, a pesar de que tengamos muchas diferencias siempre has estado para mí, este trabajo representa un gran crecimiento y quiero que seas parte de esto, gracias por ser esa figura paterna que necesite en gran parte mi vida, por brindarme muchas enseñanzas de la vida, apoyarme económicamente las veces que lo necesite y ser un ejemplo de resiliencia, te quiero.

A mis Amigos:

A mis diversos amigos cercanos que he formado a lo largo de mi vida, gracias por todo su apoyo y consejos.

- A ti Ángel Alejandro Silva Muñoz, por ser mi equipo en distintos trabajos en el laboratorio, además de estar en los momentos difíciles, por aconsejarme y alentarme, eres un gran amigo.
- A ti Maricela Lizbeth Saucedo Bello, por todas las veces que me ayudaste a manejar a los ratones, por todos esos consejos que me diste y el apoyo que siempre estuviste dispuesta a darme, te quiero amiga.
- A ti Sayuri López Lozano, por los ánimos que me diste desde que nos conocimos, por ofrecerme tu ayuda cada vez que la necesite, por brindarme tu confianza, eres una gran amiga, te quiero.
- A ti Citlally Ortiz Vázquez, por ser la amiga que estuvo presente desde el inicio la carrera, por escucharme cada vez que necesitaba hablar contigo, te quiero.
- A ti Margarita Lugo Bessies, por ser mi mejor amiga desde la prepa, gracias por toda la confianza que me has dado, tus consejos, las risas y nuestras aventuras, te quiero.
- A ti Sergio Chavarría Cruz, por ser un gran amigo desde la primaria, por inculcarme tu disciplina y ser un ejemplo de perseverancia.
- A la familia de Cholula Hernández, que siempre me abrieron las puertas de su casa y me trataron como un miembro más de su familia, en especial a Francisco Emmanuel Cholula y Fernando Cholula que más que amigos los considero como mis hermanos mayores.
- A ti Felipe Olvera Pineda, por brindarme una gran ayuda cuando lo necesite, por siempre confiar en mí, abrirme las puertas de su casa y brindarme todos sus ánimos para que acabe la carrera, es una gran persona.

Índice de contenido

Resumen.....	1
Introducción	2
Marco teórico.....	2
Inflamación.....	2
Mediadores inflamatorios	3
• Mediadores derivados de lípidos.....	4
• Citocinas	4
• Mediadores vasoactivos.....	4
• Enzimas hidrolíticas	5
• Factores de transcripción	5
• Sistema de complemento	5
• Especies reactivas	5
Relación estrés oxidativo e inflamación.....	6
Sistema vascular	6
Permeabilidad Vascular	7
Mediadores de la permeabilidad	8
• Histamina	8
• Trombina	9
• El factor de crecimiento vascular endotelial	9
• Leucocitos.....	9
Tratamiento de inflamación	9
Etnobotánica	11
Metabolitos secundarios.....	11
• Alcaloides.....	12
• Compuestos fenólicos	12
• Taninos.....	13
• Flavonoides.....	13

• Quinonas.....	14
• Cumarinas.....	14
• Terpenos	14
• Lactonas sesquiterpénicas	15
• Glicósidos cardiotónicos	15
• Saponinas	16
Familia Lauraceae.....	16
Género Nectandra.....	17
Clasificación cladista de <i>N. salicifolia</i>	17
Nombres vernáculos	17
Descripción morfológica.....	17
Hábitat	18
Distribución en México	18
Etnobotánica y antropología	19
Antecedentes.....	19
Planteamiento del problema	19
Hipótesis.....	20
Objetivos	20
General	20
Particulares	20
Método.....	20
Localidad de recolecta	20
Registro de información etnobotánico	20
Procesamiento de material vegetal.....	20
Preparación de extractos hidroalcohólicos y secado	21
Identificación y cuantificación de metabolitos secundarios	21
• Alcaloides.....	22
• Compuestos fenólicos	22
• Taninos.....	23
• Flavonoides.....	23

• Quinonas	24
• Cumarinas	25
• Glicósidos cardiotónicos	25
• Saponinas	26
• Esteroides	26
• Sesquiterpenlactonas.....	27
Cuantificación de metabolitos primarios	28
• Carbohidratos	28
• Lípidos	28
• Proteínas	29
Actividad antioxidante por medio del radical DPPH.....	29
Evaluación de efecto antiinflamatorio	29
Ensayo de permeabilidad vascular	30
Análisis estadístico	32
Resultados.....	32
Estudio etnobotánico	32
Recolecta del ejemplar.....	33
Rendimiento del extracto seco de <i>Nectandra salicifolia</i>	34
Análisis fitoquímico preliminar de los extractos de <i>Nectandra salicifolia</i>	34
Cuantificación de metabolitos primarios y secundarios	38
Actividad antioxidante de <i>Nectandra salicifolia</i>	43
Evaluación de efecto antiinflamatorio por inducción de edema	44
Evaluación del ensayo de permeabilidad vascular	45
Análisis de resultados	47
Conclusiones.....	60
Referencias.....	61
Anexo 1. Formato de entrevista etnobotánica	72
Anexo 2. Figuras de la extravasación de azul de Evans en ratones.	73

Indicie de figuras

Figura 1. Estructuras de <i>Nectandra salicifolia</i> . A). Fotos tomadas del ejido de Limón chiquito (20°40'49.3"N; 97°16'55.3"W) B). Ilustración recuperada de Van der Werff <i>et al.</i> , 1997.....	18
Figura 2. Estructuras de <i>Nectandra salicifolia</i> . A) Planta completa. B) Hojas. C) Flor. D) Fruto. Fotos tomadas del ejido de Limón chiquito (20°40'49.3"N; 97°16'55.3"W).	21
Figura 3. Gráfica de porcentajes de usos etnobotánicos de <i>Nectandra salicifolia</i> en Limón chiquito, Veracruz.	32
Figura 4. Ficha descriptiva con datos generales de <i>Nectandra salicifolia</i> en Limón chiquito Veracruz.	33
Figura 5. Estructuras de <i>Nectandra salicifolia</i> (hoja, tallo, flor, fruto y raíz) herborizados para micro-herbario.....	33
Figura 6. Identificación de alcaloides utilizando la prueba de Mayer, la presencia de un precipitado crema indica la reacción positiva. A) Extracto de hoja. B) Extracto de tallo. C) Extracto de flor. D) Extracto de fruto. E) Extracto de raíz.	35
Figura 7. Identificación de alcaloides utilizando la prueba Wagner, la presencia de un precipitado marrón indica la reacción positiva. A) Extracto de hoja. B) Extracto de tallo. C) Extracto de flor. D) Extracto de fruto. E) Extracto de raíz.....	35
Figura 8. Identificación de alcaloides utilizando la prueba Dragendorff, la presencia de un precipitado naranja marrón indica la reacción positiva. A) Extracto de hoja. B) Extracto de tallo. C) Extracto de flor. D) Extracto de fruto. E) Extracto de raíz.	35
Figura 9. Identificación de flavonoides utilizando la prueba Shinoda, la presencia de una coloración naranja, rojo y amarillo. A) Extracto de hoja. B) Extracto de tallo. C) Extracto de flor. D) Extracto de fruto. E) Extracto de raíz.....	36
Figura 10. Identificación de fenoles y taninos utilizando la prueba de cloruro férrico, la presencia de color verde, marrón y precipitado indica una reacción positiva. A) Extracto de hoja. B) Extracto de tallo. C) Extracto de flor. D) Extracto de fruto. E) Extracto de raíz.	36
Figura 11. Identificación de cumarinas y glicósidos cardiotónicos utilizando la prueba de Baljet, la presencia de una coloración rojo o naranja indica una reacción positiva. A) Extracto de hoja. B) Extracto de tallo. C) Extracto de flor. D) Extracto de fruto. E) Extracto de raíz.....	36
Figura 12. Identificación de carbohidratos utilizando la prueba de Molisch, la presencia de un anillo color violeta indica la reacción positiva. A) Extracto de hoja. B) Extracto de tallo. C) Extracto de flor. D) Extracto de fruto. E) Extracto de raíz.	36
Figura 13. Identificación de saponinas utilizando la prueba afro simétrica, la presencia de espuma indica una reacción positiva. A) Extracto de hoja. B) Extracto de tallo. C) Extracto de flor. D) Extracto de fruto. E) Extracto de raíz.	37
Figura 14. Identificación de esteroides utilizando la prueba Salkowski, la presencia de una coloración naranja reacción positiva. A) Extracto de hoja. B) Extracto de tallo. C) Extracto de flor. D) Extracto de fruto. E) Extracto de raíz.....	37
Figura 15. Identificación de esteroides utilizando la prueba Lieberman-Burchard, la presencia de una coloración azul o naranja indica una reacción positiva. A) Extracto de hoja. B) Extracto de tallo. C) Extracto de flor. D) Extracto de fruto. E) Extracto de raíz.	37
Figura 16. Identificación de quinonas utilizando la prueba Borntrager, la presencia de una coloración roja o rosa indica una reacción positiva. A) Extracto de hoja. B) Extracto de tallo. C) Extracto de flor. D) Extracto de fruto. E) Extracto de raíz.	37

Figura 17. Identificación de lactonas sesquiterpénicas utilizando la prueba hidroxamato férrico, la presencia de un precipitado marrón indica una reacción positiva. A) Extracto de hoja. B) Extracto de tallo. C) Extracto de flor. D) Extracto de fruto. E) Extracto de raíz.	38
Figura 18. Identificación de lactonas sesquiterpénicas utilizando la prueba Lieberman-Bouchard, la presencia de una coloración violeta oscura indica una reacción positiva. A) Extracto de hoja. B) Extracto de tallo. C) Extracto de flor. D) Extracto de fruto. E) Extracto de raíz.....	38
Figura 19. Cuantificación de carbohidratos en extractos de <i>N. salicifolia</i> . A) Tallo; B) Hoja; C) Raíz; D) Flor; E) Fruto.....	39
Figura 20. Cuantificación de lípidos en extractos de <i>N. salicifolia</i> . A) Tallo; B) Hoja; C) Raíz; D) Flor; E) Fruto.....	39
Figura 21. Cuantificación de proteínas en extractos de <i>N. salicifolia</i> . A) Tallo; B) Hoja; C) Raíz; D) Flor; E) Fruto.	39
Figura 22. Cuantificación de alcaloides en extractos de <i>N. salicifolia</i> . A) Tallo; B) Hoja; C) Raíz; D) Flor; E) Fruto.	41
Figura 23. Cuantificación de compuestos fenólicos en extractos de <i>N. salicifolia</i> . A) Tallo; B) Hoja; C) Raíz; D) Flor; E) Fruto.	41
Figura 24. Cuantificación de taninos en extractos de <i>N. salicifolia</i> . A) Tallo; B) Hoja; C) Raíz; D) Flor; E) Fruto.....	41
Figura 25. Cuantificación de flavonoides en extractos de <i>N. salicifolia</i> . A) Tallo; B) Hoja; C) Raíz; D) Flor; E) Fruto.	42
Figura 26. Cuantificación de quinonas en extractos de <i>N. salicifolia</i> . A) Tallo; B) Hoja; C) Raíz; D) Flor; E) Fruto.	42
Figura 27. Cuantificación de glicósidos cardiotónicos en extractos de <i>N. salicifolia</i> . A) Tallo; B) Hoja; C) Raíz; D) Flor; E) Fruto.	42
Figura 28. Cuantificación indirecta de saponinas (azúcares reductores) en extractos de <i>N. salicifolia</i> . A) Tallo; B) Hoja; C) Raíz; D) Flor; E) Fruto.	42
Figura 29. Cuantificación de esteroides en extractos de <i>N. salicifolia</i> . A) Tallo; B) Hoja; C) Raíz; D) Flor; E) Fruto.	43
Figura 30. Cuantificación de sesquiterpenlactonas en extractos de <i>N. salicifolia</i> . A) Tallo; B) Hoja; C) Raíz; D) Flor; E) Fruto.	43
Figura 31. Determinación de actividad antioxidante por DPPH. A) Reactivo de DPPH; B) Extracto de tallo; C) Extracto de hoja; D) Extracto de raíz; E) Extracto de flor; F) Extracto de fruto; G) Ácido ascórbico.	44
Figura 32. Gráfica de efecto antiinflamatorio de los extractos hidroalcohólicos de <i>Nectandra salicifolia</i>	44
Figura 33. Gráfica de concentración de azul de Evans extravasado en bazo en ratones CD-1.	46
Figura 34. Gráfica de concentración de azul de Evans extravasado en riñones en ratones CD-1.	46
Figura 35. Gráfica de concentración de azul de Evans extravasado en hígado en ratones CD-1.	47
Figura 36. Extravasación del azul de Evans en órganos vasculares de ratones CD-1: A) Ratón del grupo sin edema plantar sin extravasación vascular del colorante B) Ratón del grupo con edema de solución salina con poca extravasación vascular del colorante.	73
Figura 37. Extravasación del azul de Evans en órganos vasculares de ratones CD-1: A) Ratón del grupo con edema plantar con mucha extravasación vascular del colorante B) Ratón del grupo	

con edema plantar y con tratamiento de indometacina con moderada extravasación vascular del colorante.....73

Figura 38. Extravasación del azul de Evans en órganos vasculares de ratones CD-1 con tratamiento del extracto de hoja de *N. salicifolia*: A) Ratón del grupo sin edema con mucha extravasación vascular del colorante B) Ratón del grupo con edema plantar con moderada extravasación vascular del colorante.74

Figura 39. Extravasación del azul de Evans en órganos vasculares de ratones CD-1 con tratamiento del extracto de tallo de *N. salicifolia*: A) Ratón del grupo sin edema con alta extravasación vascular del colorante B) Ratón del grupo con edema plantar con moderada extravasación vascular del colorante.74

Figura 40. Extravasación del azul de Evans en órganos vasculares de ratones CD-1 con tratamiento del extracto de fruto de *N. salicifolia*: A) Ratón del grupo sin edema con poca extravasación vascular del colorante B) Ratón del grupo con edema plantar con alta extravasación vascular del colorante.75

Figura 41. Extravasación del azul de Evans en órganos vasculares de ratones CD-1 con tratamiento del extracto de flor de *N. salicifolia*: A) Ratón del grupo sin edema con poca o nula extravasación vascular del colorante B) Ratón del grupo con edema plantar con alta extravasación vascular del colorante.75

Índice de tablas

Tabla 1. Diseño experimental para evaluar el efecto inflamatorio de extractos de <i>N. salicifolia</i> en grupos de ratones CD-1.....	31
Tabla 2. Actividad entofarmacológica de <i>Nectandra salicifolia</i>	32
Tabla 3. Rendimiento de la extracción de <i>Nectandra salicifolia</i>	34
Tabla 4. Resultados de pruebas de identificación de metabolitos secundarios de <i>Nectandra salicifolia</i>	34
Tabla 5. Cuantificación de metabolitos primarios en extractos hidroalcohólicos de <i>Nectandra salicifolia</i>	38
Tabla 6. Cuantificación de metabolitos secundarios en extractos hidroalcoholicos <i>Nectandra salicifolia</i>	40
Tabla 7. Actividad antioxidante de extractos hidroalcohólicos de <i>Nectandra salicifolia</i> por el ensayo de eliminación de radicales libres de DPPH.	43
Tabla 8. Efecto de los extractos de <i>N. salicifolia</i> sobre edema inducido por albúmina de huevo (n=6, media $\pm$ error estándar de la media).	45
Tabla 9. Concentración de azul de Evans extravasado en cada tejido (n=6, media $\pm$ error estándar de la media).....	47

Resumen

La inflamación es un proceso fisiológico inmunitario crucial ante una alteración de la homeostasis tisular causado por distintos agentes físicos, químicos y biológicos. Se caracteriza por tener síntomas clínicos, como el dolor, la hinchazón, el calor, enrojecimiento y pérdida de función del tejido dañado, además de desencadenar una gran variedad de procesos moleculares y celulares, como la vasodilatación, aumento de la permeabilidad vascular y aumento del flujo sanguíneo, esto con el objetivo de eliminar el agente causante de la inflamación, reparar el daño ocasionado y restablecer la homeostasis tisular. Esta respuesta biológica ha sido la base para distintas investigaciones biomédicas, donde destaca la búsqueda de alternativas naturales antiinflamatorias, que tengan menos efectos secundarios en el organismo. Una fuente de estudio han sido las plantas con propiedades medicinales, ya que estas presentan gran variedad de grupos de metabolitos secundarios que han demostrado tener propiedades biológicas ante distintas patologías relacionadas a la respuesta inflamatoria. En este trabajo se evaluó el efecto antiinflamatorio de extractos hidroalcohólicos de diferentes estructuras (hoja, tallo, flor, fruto y raíz) de *Nectandra salicifolia* en ratones de la cepa CD-1. Se llevo a cabo el estudio etnofarmacológico de la planta en la comunidad de limón chiquito donde se hicieron 50 entrevistas etnobotánicas a los habitantes de este ejido, así como la identificación fitoquímica preliminar *in situ* de las distintas partes de la especie, posteriormente se elaboraron extractos hidroalcohólicos en donde se cuantificaron los metabolitos secundarios presentes por espectrofotometría UV-Visible. Se determinó la actividad antioxidante de los extractos hidroalcohólicos mediante el ensayo del radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH). Finalmente se valoró la participación de los extractos de *Nectandra salicifolia* en el proceso inflamatorio en un modelo murino, mediante la inducción de edema plantar y evaluación de la permeabilidad vascular por medio de la cuantificación de azul de Evans extravasado en órganos vascularizados como el hígado, el bazo y los riñones. El estudio etnobotánico de *Nectandra salicifolia* en la comunidad de limón chiquito nos indicó que la mayoría de las personas entrevistadas no conoce alguna propiedad medicinal, sin embargo, nueve personas nos indicaron que la usan para aliviar el dolor de estómago y cinco habitantes mencionaron que agilizaba partos, en ambos tratamientos se emplean las hojas para preparar una infusión. En las cuantificaciones de metabolitos el extracto de flor presento mayor concentración de lactonas sesquiterpénicas (2.934 mg/ml), glicósidos cardiotónicos (4.136 mg/ml) y compuestos fenólicos (3.202 mg/ml), mientras que en el ensayo del radical DPPH, se obtuvo mayor porcentaje reducción de radicales libres en los extractos de hoja (95.851%), tallo (93.971%) y flor (91.760%). En la valoración del efecto antiinflamatorio se determinó que los extractos de tallo y flor inhiben el edema plantar de una forma similar que la indometacina. Esto se ve reflejado al evaluar la permeabilidad vascular como marcador inflamatorio, con la extravasación de azul de Evans en órganos vascularizados (bazo, hígado y riñones). Se concluye que la disminución de la inflamación del extracto de flor puede atribuirse a las lactonas sesquiterpénicas y glicósidos, y en tallo por la presencia de saponinas y compuestos fenólicos.

Introducción

La respuesta inflamatoria es un proceso fisiológico importante que ha sido base de investigación para diversas áreas biomédicas. Este es un proceso complejo que lleva consigo una serie de reacciones moleculares, celulares y vasculares, con el propósito de lidiar con agentes nocivos endógenos o exógenos, ya sean físicos, químicos o biológicos, además de reparar el daño en los tejidos por medio de mediadores inflamatorios (Arulselvan *et al.*, 2016). Este procedimiento se ve caracterizado por algunas manifestaciones clínicas como enrojecimiento, calor, hinchazón, dolor y pérdida de función. Algunos de estos signos se deben a alteraciones vasculares, como la dilatación de vénulas y arteriolas, el aumento de permeabilidad vascular, la migración y acumulación de células inmunitarias en el área inflamada. Dependiendo de la duración del proceso inflamatorio se pueden clasificar como aguda o crónica. Una respuesta inflamatoria aguda puede durar horas o días, mientras que una inflamación crónica puede durar semanas, meses, hasta años debido a que no se puede lidiar con el daño o el agente nocivo. Este estado crónico tiene un riesgo de consecuencias secundarias en respuestas biológicas asociadas a enfermedades crónicas como diabetes, cáncer, artritis, obesidad, enfermedades cardiovasculares y autoinmunes (Ravipati *et al.*, 2012).

La organización Mundial de la salud (OMS), estima que el 80 % de la población mundial llega a recurrir a diversas plantas medicinales para tratar distintos padecimientos, esta tendencia hacia el interés de agentes terapéuticos alternativos naturales, ha llevado a la investigación de las propiedades fitoquímicas de especies vegetales, cuyos usos farmacológicos sean benéficos para la salud (Arulselvan *et al.*, 2016), en este sentido, pueden ser una alternativa natural como agentes terapéuticos ante padecimientos o trastornos relacionados a la inflamación aguda o crónica. Ante esto las plantas medicinales representan una fuente importante de componentes químicos que ayuden al desarrollo de fármacos más eficientes y con menos efectos secundarios, además de generar conocimiento científico para dar validez a remedios tradicionales o empíricos.

Nectandra salicifolia es una especie perteneciente a la familia Lauraceae, estudios realizados en esta planta reportan actividad antiplasmodial, vasoactiva, antidepresiva, anticancerígena, antiulcerogénica y antipalúdica, atribuidas a la presencia de alcaloides en extractos de hoja, tallo, corteza y raíz. Bajo este contexto en el presente trabajo se realizó el estudio etnobotánico de *N. salicifolia* en la localidad de Limón Chiquito, Veracruz, también se hizo el análisis fitoquímico de los extractos hidroalcohólicos de hoja, tallo, flor, fruto y raíz, así mismo se determinó la actividad antioxidante de estos, por último, se valoró el efecto antiinflamatorio de los extractos *in vivo*.

Marco teórico

Inflamación

La respuesta inflamatoria es un proceso fisiológico crucial ante una alteración de la homeostasis tisular (Medzhitov, 2008). Esta generalmente se suele vincular con agentes

infecciosos, sin embargo, lesiones o traumatismos y la exposición a partículas extrañas, irritantes o contaminantes también son potentes activadores de la inflamación, esto sugiere que la inflamación es una respuesta biológica que evolucionó como una adaptación general para hacer frente al mal funcionamiento de tejidos dañados (Medzhitov 2008).

Una respuesta inflamatoria aguda comienza por el reclutamiento de componentes sanguíneos como proteínas plasmáticas, fluidos y leucocitos al lugar del tejido dañado, estos son responsables principalmente de síntomas clínicos como la hinchazón, enrojecimiento, dolor, calor y pérdida de la función (Arulselvan *et al.*, 2016). Cuando llegan al lugar del tejido dañado, los leucocitos reconocen al agente patológico o lesivo esto conduce la producción de mediadores inflamatorios como quimiocinas, citocinas, aminas vasoactivas, eicosanoides y productos de cascada proteolíticas (Arulselvan *et al.*, 2016). Estos productos inflamatorios reaccionan con los tejidos diana, como los vasos sanguíneos locales, seguidamente se estimula la vasodilatación, posteriormente comienza un proceso de extravasación de neutrófilos y fuga de plasma hacia el sitio perjudicado por el aumento de la permeabilidad vascular (Arulselvan *et al.*, 2016).

Los neutrófilos que migraron al lugar de la lesión intentan eliminar a los agentes nocivos, estos van a liberar contenido citotóxico de sus gránulos que incluyen especies reactivas de oxígeno (ROS) y especies reactivas de nitrógeno, proteinasa 3, catepsina G y elastasa (Medzhitov, 2008). Estos efectores no distinguen entre objetivos patógenos y huéspedes, por lo que se producen daños colaterales del tejido del huésped. La respuesta inflamatoria aguda es satisfactoria cuando se eliminó el agente infeccioso o lesivo, seguida por una fase de resolución y reparación del tejido (Arulselvan *et al.*, 2016).

Una vez que se ha eliminado el agente infeccioso hay un cambio de marcadores lipídicos de prostaglandinas proinflamatorias a lipoxinas que tienen efecto antiinflamatorio y es vital para dar paso a la resolución de la inflamación. Así mismo las lipoxinas inhiben la función de los neutrófilos, los monocitos van a eliminar las células muertas y van a desencadenar una remodelación y/o reparación de tejidos, que son mediados por otra clase de marcadores lipídicos como las protectinas, resolvinas y factores de crecimiento generados por macrófagos (Serhan, 2007).

Cuando no se regula adecuadamente la respuesta inflamatoria, ya sea porque no se pudo eliminar el agente lesivo o infeccioso por mecanismos endógenos, o por resistencia contra las defensas del huésped, se desencadena una respuesta inflamatoria crónica, lo cual genera efectos devastadores que conducen a la instalación de enfermedades como la diabetes, gota, artritis, cáncer, etc. (Arulselvan *et al.*, 2016).

Mediadores inflamatorios

Agentes microbianos y proteínas del huésped, como proteínas del complemento, las cininas y el sistema de coagulación, activan la producción de mediadores inflamatorios. Estos se originan en el plasma como las proteínas del complemento y las cininas, mientras que la histamina, las prostaglandinas y citocinas se originan en las células.

También hay mediadores derivados de lípidos, siendo el ácido araquidónico el precursor principal de los eicosanoides como prostaglandinas, tromboxano, leucotrienos y lipoxinas. Otros elementos activados por respuesta inflamatoria son citocinas, quinasas, factores de transcripción y las metaloproteinasas de matriz (Patil *et al.*, 2019).

- **Mediadores derivados de lípidos**

El ácido araquidónico es el precursor principal de los eicosanoides y un componente básico en todas las células del cuerpo. La activación de enzimas como la fosfolipasa A2 (PLA2), provoca la liberación del ácido araquidónico de los fosfolípidos de la membrana, esta se metaboliza a través de diferentes vías y forma productos oxigenados llamados eicosanoides (prostaglandinas, tromboxano, leucotrienos y lipoxinas) (Patil *et al.*, 2019).

La ciclooxigenasa (COX) es la responsable de formar a los eicosanoides, existen dos isoformas de esta enzima; COX-1 constitutiva, esta se encuentra en la mayoría de los tejidos del organismo y participa en la conversión del ácido araquidónico en prostaglandinas E2 e I2 y tromboxano A2, se caracteriza por una actividad citoprotectora hacia el sistema digestivo, además de tener un efecto positivo en el flujo sanguíneo en los riñones y regular la actividad de las plaquetas. La COX-2 inducida, se expresa por el resultado de una lesión o inflamación, ya que es inducida por mediadores inflamatorios (endotoxinas, IL-1, TNF- α), es responsable de la formación de prostaglandinas que inducen el aumento de permeabilidad vascular, vasodilatación, broncoconstricción, edema y dolor (Gliszczńska & Nowaczyk, 2021).

- **Citocinas**

Las citocinas son mediadores que regulan las respuestas inmunes y el proceso inflamatorio, a estas se incluyen los factores de necrosis tumoral, interferones, interleucinas y factores estimuladores. Estas regulan la expresión de moléculas de adhesión, crecimiento celular, división celular, apoptosis, producción de inmunoglobulina y la quimiotaxis en células diana. La estimulación de monocitos y macrófagos libera citocinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral- α (TNF- α), IL-1 β e IL-6. Estos son los responsables de regular la expresión de moléculas de adhesión y también capturan a leucocitos circundantes (Patil *et al.*, 2019).

- **Mediadores vasoactivos**

La histamina es uno de los mediadores vasoactivos, es almacenada en los mastocitos y los basófilos, está ampliamente distribuido y preformado. La liberación de la histamina provoca un aumento transitorio de la permeabilidad tras una lesión tisular, la formación de edemas y mejora la secreción de ácido gástrico, la concentración alta de la histamina provoca la hinchazón de las células endoteliales y la adherencia de los leucocitos (Patil *et al.*, 2019).

La serotonina otra amina vasoactiva, se encuentra principalmente en los tejidos del intestino, el cerebro y las plaquetas, que provoca un aumento de la permeabilidad

vascular y la contracción de los músculos lisos, también provoca la constricción venosa y en concentraciones más altas retarda el flujo capilar. La bradicina conduce a la separación de células endoteliales, la formación de espacio en las vénulas posca pilares y al aumento de permeabilidad vascular (Patil *et al.*, 2019).

- **Enzimas hidrolíticas**

En el curso de la respuesta inflamatoria las células proinflamatorias estimuladas secretan enzimas proteolíticas almacenadas. La elastina es un componente elástico primario de los vasos sanguíneos, los pulmones y las proteínas, incluido el colágeno, los proteoglicanos y las inmunoglobinas. La liberación de elastasa leucotaria humana a partir de los leucocitos polimorfonucleares estimulados (PMNL) conduce a la hidrólisis de la elastina y a la migración endotelial de los mediadores proinflamatorios estimuladas (Patil *et al.*, 2019).

- **Factores de transcripción**

El factor nuclear kappa beta (NF- κ B) regula el sistema inmunológico como la respuesta inflamatoria, ya que controla la transcripción de genes implicados en la apoptosis, la adhesión celular, la proliferación, la respuesta de estrés celular. La regulación de citocinas inflamatorias como IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8 y TNF- α junto con los genes que codifican COX-2, iNOS (Patil *et al.*, 2019).

- **Sistema de complemento**

La activación de la cascada del complemento da como resultado la formación de anafilatoxinas C3a, C5a y complejos de ataque a la membrana. El C5a es un potente quimioatrayente que provoca una mayor producción de anticuerpos, síntesis y liberación de citocinas, prostaglandinas y leucotrienos y estrés oxidativo. También estimula el reclutamiento de células inflamatorias como neutrófilos, eosinófilos, monocitos y linfocitos T (Patil *et al.*, 2019).

- **Especies reactivas**

Las especies reactivas son moléculas oxidantes que se transforman fácilmente en radicales libres (Martínez *et al.*, 2003). Existen clasificaciones la cual incluyen a las especies reactivas de oxígeno. La mayoría se produce a través de la cadena respiratoria mitocondrial como producto secundario de metabolismo energético oxidativo. Durante reacciones metabólicas endógenas, las células aeróbicas generan especies reactivas de oxígeno, como productos habituales de la disminución biológica del oxígeno molecular (Reuter *et al.*, 2010). En situación hipóxica, la cadena respiratoria mitocondrial también genera óxido nítrico, que puede producir otras especies reactivas de nitrógeno, estas producen reactivas adicionales, por ejemplo, aldehídos reactivos-malondialdehído y 4-hidroxinonenal, al inducir una peroxidación lipídica excesiva. Los lípidos y las proteínas son objetos importantes para el ataque oxidativo (Poyton *et al.*, 2009) (Reuter *et al.*, 2010).

Los radicales libres como especies reactivas de oxígeno o nitrógeno son generadas al estar en exposición a diversas fuentes exógenas, como la irradiación de la luz

ultravioleta, rayos x, reacciones catalizadas por metales y las toxinas ambientales entre otras. También hay fuentes endógenas a la cuales se incluyen el metabolismo del citocromo p450, las reacciones mitocondriales, los peroxisomas y la activación de células inflamatorias (Rudrapa *et al.*, 2022). En condiciones normales existe un equilibrio entre la formación de radicales libres, así como un mecanismo de defensa antioxidante enzimáticas como el superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (GPx) y antioxidantes no enzimáticos como glutatión reducido (GSH), vitaminas (C y D), que ayudan a reducir los radicales libres (Reuter *et al.*, 2010).

Relación estrés oxidativo e inflamación

Si se altera este equilibrio, se provoca un estrés oxidativo, lo que ocasiona daños en las macromoléculas como lípidos, carbohidratos, proteínas y ADN, alterando mecanismos normales de señalización celular y causando un estado de estrés oxidativo (Losada-Barreiro *et al.*, 2022). Debido a esto, el estrés oxidativo se ha relacionado con la patogénesis de diversas enfermedades como cáncer, enfermedades inflamatorias, enfermedades cardíacas, diabetes, entre otras (Rudrapa *et al.*, 2022).

En una respuesta inflamatoria, los leucocitos y mastocitos están presentes en regiones lesionadas que provocan un “estallido respiratorio”, como consecuencia de una mayor absorción de oxígeno, lo que mejora la producción y liberación de especies reactivas de oxígeno en el área dañada (Coussens & Werb, 2002). Este entorno inflamatorio/oxidativo, va a desencadenar un círculo nocivo para la salud, llegando a dañar a células estromales sana y epiteliales vecinas que después de un prolongado tiempo puede causar la carcinogénesis (Federico *et al.*, 2007).

Sistema vascular

En la respuesta inflamatoria, el comportamiento de la vascularización, la microcirculación de mediadores inflamatorio y la permeabilidad vascular son cruciales para un proceso inflamatorio exitoso. El sistema vascular está formado por una red altamente organizada y ramificada de arterias, capilares y venas, esta red conecta a los órganos y células de forma directa o individualmente para proporcionar sangre y que mantengan sus funciones fisiológicas con el intercambio de componentes como el oxígeno, nutrientes y la eliminación de desechos, esenciales para mantener la homeostasis (Le Guelete & Gavard, 2011).

Las células endoteliales recubren la superficie interna de los vasos sanguíneos, donde estas forman una barrera semipermeable que participan dinámicamente al intercambio de macromoléculas y fluidos entre la sangre y el espacio intersticial (Kumar *et al.*, 2009). La regulación de la permeabilidad es esencial para mantener funciones importantes, como el tono del musculo liso vascular, las reacciones de defensa al huésped, la angiogénesis y la homeostasis de fluidos tisulares (Mehta, 2006) cada una con especificidades tisulares que se explican a continuación.

Los glomérulos que recubren a los riñones, junto a la membrana basal y células epiteliales especializadas (podocitos) desempeñan un papel importante en la filtración

de sangre en el espacio urinario, cabe destacar que las fenestraciones presentes en las células endoteliales renales permiten el paso de macromoléculas, mientras que en el lado puesto de la membrana basal los podocitos se asocian con extensiones celulares (diafragmas de hendidura) que retienen macromoléculas como la albúmina entre otras. Es importante decir que el factor de crecimiento endotelial se expresa en los podocitos glomerulares y son necesarios para el desarrollo de glomérulos y mantener su correcta función (Le Guelete & Gavard, 2011).

El hígado capta la sangre tanto por la vena porta y la arteria hepática, este tejido se compone por hepatocitos, macrófagos residentes (células Kupffer) y células endoteliales, esta además de cumplir con la función de barrera también restringe el acceso de compuestos transportados por la sangre, la eliminación de endotoxinas, bacterias y otros compuestos, también regulan la inflamación al reclutar leucocitos como respuesta inmunitarias del huésped frente a patógeno (Le Guelete & Gavard, 2011).

El bazo recibe la sangre de la arteria esplénica a través de hilio, este órgano está compuesto por miofibroblastos que son células contráctiles que ayudan a drenar la sangre, este tejido está formado por trabéculas que lo divide en zonas, donde se almacenan células los linfocitos T y B (pulpa blanca), los cordones de Billroth que se adhieren macrófagos y plasmocitos. Estas células cumplen funciones como la filtración de la sangre, la eliminación de eritrocitos dañados o viejos, modular la respuesta inmune ante agentes infeccioso (Mescher, 2013).

La barrera hematoencefálica está formada por células endoteliales que recubren la microvasculatura cerebral y es crucial para protegerlo de fluctuaciones en la composición del plasma y de agentes circundantes como neurotransmisores y xenobióticos capaces de perturbar su función neuronal. Esta unidad funcional, a menudo denominada unidad neurovascular, se compone de células endoteliales con extensas uniones estrechas, astrocitos, neuronas y un aparato contráctil de células musculares lisas o pericitos. (Ballabh *et al.*, 2004).

En el pulmón las células endoteliales forman una barrera semi-selectiva entre a sangre circundante y el líquido intersticial, estas células son reguladas por un contra peso entre la barrera protectora y disruptiva. Por lo que al aumentar la permeabilidad las células endoteliales pulmonares se asocian a la activación de MAP quinasas y tirosinas quinasas que controlan la reorganización de la actomiosina, la activación de la contracción y desestabilización de uniones adherentes y formación de lagunas (Mehta & Malik, 2006).

Permeabilidad Vascular

La permeabilidad vascular es un mecanismo selectivo que mantiene el intercambio de nutrientes y agua, entre el tejido y el torrente sanguíneo. Las tres moléculas presentes en el plasma (la albúmina, las globulinas y el fibrinógeno) se consideran de gran importancia en el equilibrio entre la presión sanguínea e intersticial (Wautier & Wautier, 2022). Los distintos mecanismos están involucrados en el proceso del paso de las moléculas a través del endotelio vascular se incluyen la glicocáliz que está en contacto

con los componentes sanguíneos, el tráfico transendotelial que es dependiente de la energía y la apertura o modificación de células. La transcitosis contribuye a la permeabilidad basal del endotelio, el flujo paracelular tiene un papel importante en el transporte de líquido plasmático y proteínas a través de las uniones de las células endoteliales ante una respuesta inflamatoria (Kumar *et al.*, 2009).

Hay diferentes formas en que las células endoteliales se mantienen unidas, se dividen en uniones estrechas, de intersticio y adherentes. En las uniones estrechas participan diferentes moléculas (claudinas, oclusivas, moléculas de adhesión de unión, moléculas de unión selectiva de células endoteliales, nectinas, etc.), todas estas se unen a la actina. En las uniones de intersticio participan las conexinas, al juntarse seis conexinas forman un conexón o hemicanal, y el acoplamiento de dos conexones da como resultado un canal de unión de intersticio complemento Cxs, estas se expresan en prácticamente en todos los tejidos y tipos de células. Las uniones adherentes participan la nectina, la VE-cadherina, estas están unidas a la actina y a la vimentina de las células endoteliales adherentes (Wautier & Wautier, 2022).

Mediadores de la permeabilidad

Una de las principales causas para que la barrera se vuelva permeable es el incremento de mediadores inflamatorios ante un estado patológico, mediadores como la acetilcolina, ATP, adenosina, bradicinina, histamina, la trombina, factor de crecimiento endotelial vascular, neutrófilos y citocinas, todas estas activan las vías del óxido nítrico sintetasa endotelial (eNOS) y la ciclooxigenasa (COX) a partir de esta se forma el óxido nítrico y prostaciclina (Wautier & Wautier, 2022). Una interacción entre estos mediadores y los elementos estructurales, así como agonistas inflamatorios van a ocasionar una disociación de las uniones de célula-célula del endotelio por medio de reacciones moleculares como la fosforilación, internalización o degradación de las moléculas que las mantiene unida. Estas reacciones promueven la contracción del citoesqueleto y la retracción celular, lo que provoca un espacio intercelular ampliado que facilita la fuga del flujo transendotelial (Kumar *et al.*, 2009).

- **Histamina**

La histamina es un factor edematogénico que contribuye a la fuga microvascular en la respuesta inflamatoria asociada a traumatismos, quemadura, alergia e infecciones. La histamina puede entrar en acción a través cuatro subtipos de receptores acoplados a la proteína G (H1, H2, H3 y H4), al unirse la histamina a estos receptores van a elevar el calcio citosólico intracelular y va a incrementar la actividad de la quinasa de cadena ligera de miosina y desencadena la contracción actina-miosina. Algunas reacciones posteriores incluyen la activación de MAPK dependiente de PKG, a nivel de la unión entre células, la señalización de histamina provoca la fosforilación y alteración de la unión adherente y estrecha (Mehta & Malik, 2006).

- **Trombina**

La trombina es una serina proteasa procoagulante, se une a los receptores activados por proteasas (PAR). Existen cuatro isoformas conocidas (PAR-1, PAR-2, PAR-3 y PAR-4), de las cuales PAR-1, -3, y -4 se activan con trombina y PAR-2 se activa con tripsina, mientras que PAR-1 emite señales a través de la movilización de calcio citosólico acoplado a Cq, activa a la proteína quinasa C y la señalización de MAPK. Además, a través de las cascadas PAR-1, la trombina puede activar múltiples proteínas quinasa, incluidas Src, FAK, PCK y MAPK, así como la estimulación de la comunicación cruzada (Birukova *et al.*, 2004).

- **El factor de crecimiento vascular endotelial**

Esta es una glicoproteína, se han caracterizado tres tipos de receptores del factor de crecimiento vascular endotelial (VEGFR-1, VEGFR-2 y VEGFR-3), la transducción de señales intracelulares desencadenada por el receptor tirosina quinasa que implica interacciones complejas de moléculas de señalización y proteínas estructurales, de esta forma el factor de crecimiento vascular endotelial afecta la permeabilidad paracelular al promover la contracción del citoesqueleto, la dinámica de adhesión focal y la apertura de la unión entre células (Kumar *et al.*, 2009).

- **Leucocitos**

En la respuesta inflamatoria los leucocitos transmigran al sitio de la lesión a través del endotelio, la adhesión de las células al endotelio esta mediada por distintas moléculas adherentes. La interacción entre los leucocitos sanguíneos y células endoteliales se basa en distintos pasos a las cuales se incluye el rodamiento, adhesión estable y extravasación, mediados por las citocinas como el factor de necrosis tumoral α (TNF α), el interferón γ (INF γ) y la interleucina-1 β (IL1 β). Mientras que las células endoteliales expresan la selectina E y molécula de adhesión vascular (VCAM), al mismo tiempo aumenta de expresión de la molécula de adhesión celular intercelular por las citocinas. (Wautier & Wautier, 2022). Todo este mecanismo tiene un impacto sobre la permeabilidad, estimulando la activación de la maquinaria contráctil y la apertura de las uniones entre células a través de las vías de señalización que involucran Src, RhoA, PLC, calcio citosólico, MAPK y MLCK, esto facilita la infiltración de leucocitos en los tejidos (Kumar *et al.*, 2009).

Tratamiento de inflamación

En la actualidad patologías agudas o crónicas que están relacionadas con el proceso inflamatorio son normalmente tratados por fármacos antiinflamatorios esteroideos y no esteroideos (AINES) que principalmente actúan como analgésicos, antipirético y antiinflamatorios (Fernández-Rebaza *et al.*, 2017).

Los fármacos antiinflamatorios esteroideos son derivados del cortisol o hidrocortisona, estas son hormonas que se sintetizan en la corteza adrenal por lo que también son conocidos como corticoides naturales o semisintéticos. Estas hormonas se agrupan en

tres grupos: mineralocorticoides, glucocorticoides y andrógenos, siendo los glucocorticoides los activos en procesos antiinflamatorios, antialérgicos e inmunosupresores (Serra *et al.*, 2012). Existen varios mecanismos antiinflamatorios, entre los principales es la inhibición de factores de transcripción (AP-1 y NF-κB. AP-1 y NF-κB) que inducen a la expresión de genes que codifican a citoquinas proinflamatorias, también suprimen la expresión de genes inflamatorios que codifican a factores de crecimiento de célula T como L-2, IL-4, IL-15 e IL-17, así como el interferón-γ (IFN-γ). Además de reducir la expresión de genes que codifican ciclooxigenasa (COX-2), óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS) y moléculas de adhesión intracelular-1 (ICAM-1), que son inducidos por citocinas IL-1β y TNF-α. Y por último incrementan la expresión de genes que codifican a moléculas antiinflamatorias como la citoquina IL-10 y su receptor tipo 2 de IL-1 (Dinarello, 2010). Entre los fármacos más importantes se encuentra la dexametasona, prednisona, cortisona, hidrocortisona, que al ser muy eficaces tienen varios efectos secundarios como aumento de presión arterial, retención de líquidos y complicaciones gastrointestinales (Serra *et al.*, 2012).

Los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINES) son los medicamentos más consumidos en el mundo por sus diversos usos terapéuticos. El mecanismo de acción de estos fármacos es la inhibición de la enzima ciclooxigenasa (COX) ya que esta es la encargada de producir prostaglandinas que reduce el umbral del dolor (Marcén *et al.*, 2016). Hay dos vías de síntesis de las prostaglandinas: la vía constitutiva de la COX-1 y la vía inducible de la COX-2, esta última induce en mayor magnitud la producción de prostaglandinas a comparación de COX-1. La COX-1 es una enzima constitutiva presente constantemente en el endotelio de los vasos sanguíneos, trombocitos, mucosa gástrica y riñones, tiene un efecto antiagregante y vasodilatador al afectar la síntesis de prostaciclina, regula el flujo sanguíneo renal, protege la mucosa del tracto gastrointestinal contra lesiones y mejora la producción de prostaglandinas. La síntesis de COX-2 está regulada positivamente por citocinas proinflamatorias como IL-1 y TNF-α en respuesta a un estímulo inflamatorio (Dinarello, 2010). El mecanismo de inhibición de la ciclooxigenasa implicaciones farmacológicas, ya que la mayoría de los AINES inhiben ambas isoformas de la ciclooxigenasa provocando efectos secundarios asociados principalmente a la inhibición de COX-1, Entre los efectos secundarios se incluyen daño gastrointestinal (mucositis, ulceración, sangrado), daño hepático y complicaciones cardiovasculares (hipertensión, insuficiencia cardíaca, infarto de miocardio y accidente cerebrovascular) (Kotowska-Rodziewicz, *et al.*, 2023).

La especificidad de los AINES hacia las isoformas de la ciclooxigenasa constituye la base para la división farmacológica de este grupo de sustancias terapéuticas. El primer grupo de estos fármacos inhibe la isoforma COX-1 más fuerte que la COX-2, y se incluyen el ácido acetilsalicílico, ketoprofeno, ketorolaco, indometacina y acetaminofeno entre otros. El siguiente grupo tiene el efecto similar en ambas isoformas de la ciclooxigenasa, en estas se encuentra el ibuprofeno, naproxeno, diclofenaco, fenoprofeno, etc. El tercer grupo son fármacos que inhiben la COX-2 más fuerte que la COX-1 en la cual se incluyen meloxicam, nimesulida y etodolaco. El último grupo está formado por fármacos selectivos

que muestran mayor afinidad por la COX-2 que por la COX-1, en este grupo se incluyen valdecoxib, etoricoxib y lumiracoxib (Kotowska-Rodziewicz, *et al.*, 2023).

Etnobotánica

Las plantas medicinales han sido conocidas como fuentes naturales para algunas terapias de diversas enfermedades, por lo que estas han formado parte importante a través de la historia. La OMS informa que el 80% de la población mundial acuden a la medicina tradicional para necesidades primarias de la salud.

Debido a esto la etnobotánica es un campo importante que investiga la interacción entre los seres humanos y su entorno vegetal, de esta forma se evidencia cómo se ha aprovechado los recursos naturales por parte de poblaciones locales o nativas que han sido residentes en una región por largo tiempo (Carreño-Hidalgo, 2016).

Por su naturaleza interdisciplinaria abarca muchas áreas, incluyendo: botánica, química, medicina, farmacología, toxicología, nutrición, agronomía, ecología, sociología, antropología, lingüística, historia y arqueología, entre otras; lo cual permite un amplio rango de enfoques y aplicaciones (Bermúdez, 2005). Se trata de una herramienta útil para la recopilación, descripción y estudio de la cultura botánica popular. Los estudios etnobotánicos centran su conocimiento en las aplicaciones medicinales, lo que conduce a un sesgo de carácter etnofarmacológico (Pardo, 2003).

De acuerdo con Bermúdez (2005) las técnicas de investigación que se emplean para registrar el conocimiento etnobotánico popular se encuentran; la observación y las entrevistas a determinados miembros de la comunidad. La forma en que las entrevistas sean conducidas implican un impacto en la cantidad y calidad de los datos colectados.

Metabolitos secundarios

Los metabolitos cumplen funciones cruciales para el crecimiento y la supervivencia de las especies de plantas. Principalmente los metabolitos primarios como lípidos, proteínas, carbohidratos, aminoácidos y vitaminas contribuyen directamente a procesos celulares esenciales como la división celular, la respiración y la fotosíntesis (Reshi, 2023). En el caso de los metabolitos secundarios tienen funciones multifuncionales, implicadas principalmente en la defensa y las interacciones con el medio ambiente, además de contribuir al pigmento de las plantas, fragancias y sabores específicos además de diversos tipos de estrés (Reshi, 2023).

Los metabolitos secundarios se clasifican en grupos químicos dependiendo sus vías biosintéticas a los cuales se incluyen a los terpenos (hormonas esteroideas, pigmentos o aceites esenciales), compuestos fenólicos (ácidos fenólicos, cumarinas, flavonoides, y taninos), glicósidos (saponinas, glicósidos cardiotónicos y glicósidos cianogénicos) y compuestos nitrogenados (alcaloides) (Pérez & Jiménez, 2011). Estas estructuras químicas determinan la función y la adaptación al estrés, como sequías, patogénesis, herbicidas, salinidad y metales pesados promueven la acumulación de metabolitos secundarios.

Las principales rutas de biosíntesis de metabolitos secundarios se reviven del metabolismo primario del carbono las cuales son la glicolisis, ruta de ácido shiquimico, ruta del ácido malónico, ruta del ácido mevalónico y ruta del metileritritol fosfato, además de metilaciones, hidroxilaciones y acetilaciones (Reshi, 2023) (Palacio-Rojas *et al.*, 2004).

Los metabolismos secundarios tienen un gran interés a la investigación para fines farmacológicos, nutricionales e industriales (Reshi *et al.* 2023). Esto debido a que algunos grupos han demostrado tener un rol en la modulación de las respuestas inflamatorias y antioxidante como los compuestos fenólicos, flavonoides, alcaloides, terpenoides entre otros metabolitos secundarios (Caballero-Gutiérrez & Gonzáles, 2016).

- **Alcaloides**

Los alcaloides son compuestos orgánicos que contienen nitrógenos que normalmente forman heterociclos, aunque hay algunas excepciones como la mezcalina o colchicina. El nitrógeno de los alcaloides en su mayor parte proviene del metabolismo de los aminoácidos como el triptófano, tirosina, fenilalanina, lisina solos o combinados con terpenoides (Lichman, 2021). Estos compuestos tienen una gran variedad composiciones estructurales que se han identificado y asilado, por ende, se le han atribuido una variedad de propiedades biológicas como lo son antioxidantes, antipalúdicas, antibacterianas, antiinflamatorias, antiplaquetarias, analgésico, estimulantes, entre otros (Shang *et al.*, 2020). Por lo que son importantes en la industria farmacéutica, algunos de los fármacos que se sabe que tienen propiedades antiinflamatorias son; la colchicina, tetrandrina, skimmianina, entre otros (Bhambhani *et al.*, 2021).

Algunos de los mecanismos para la actividad antiinflamatoria como la colchicina es la interacción de dímeros de tubulina, la inhibición del crecimiento de microtúbulos que conduce a una disminución de inflamación, la inhibición de la actividad de neutrófilos e interfieren en la formación de superóxido (Nett *et al.*, 2020). La tetrandrina actúa principalmente como bloqueador de canales de calcio e inhibe la desgranulación de los mastocitos (Bhambhani *et al.*, 2021). Mientras que la skimmianina actúa como analgésico y antiinflamatorio, pues suprimen la transcripción de los genes TNF- α e IL-6, inhibe la producción de óxido nítrico, prostaglandina E2 y aniones superóxido (Yang *et al.*, 2012).

- **Compuestos fenólicos**

Los compuestos fenólicos están formados por uno o más grupos hidroxilo presentes en un anillo aromático, la biosíntesis de estos compuestos se asocia a dos vías metabólicas, la vía del ácido shikímico y la vía del ácido malónico (Santos-Sánchez *et al.*, 2019). Existen una gran variedad de estos compuestos a los cuales se incluye ácidos fenólicos, benzoicos, cinámicos, fenilpropanoides, flavonoides, cumarinas, cromonas, quinononas, pterocarpanos, naftoquinonas, xantonas, lignanos, ligninas y taninos (Sun & Shahrajabian, 2023). Estos compuestos son conocidos principalmente por ser buenos antioxidantes, sin embargo, también tienen otras propiedades biológicas como

antiinflamatorios, cardioprotectores, anticancerígenos, antibacterianos, etc. (Sun & Shahrajabian, 2023). Las propiedades antiinflamatorias de los compuestos fenólicos dependen la concentración en que esta se encuentre en la planta, se ha demostrado que estos actúan mediante la inhibición de la producción de óxido nítrico y TNF- α en macrófagos (Díaz *et al.*, 2012).

El ácido gálico es uno de los compuestos fenólicos más abundantes en la naturaleza, estos son buenos antioxidantes o eliminadores de radicales libres en la proliferación de adipocitos. Es un inhibidor directo de la trombina lo cual inhibe la agregación plaquetaria. También previene el desarrollo de lesiones precancerosas gástricas al inhibir la vía de señalización Wnt/ β -catenina y luego suprimir el proceso de transición epitelial-mesenquimal (EMT) (Sun & Shahrajabian, 2023).

- **Taninos**

Los taninos son polímeros fenólicos que se unen con proteínas y carbohidratos por lo que tiene un alto peso molecular, estos pueden ser agentes quelantes de minerales al reducir su absorción, existen dos clases de taninos; los hidrolizables (galotaninos y elagitaninos) y los condensados (proantocianidinas) que son rara vez sujetos a hidrólisis (Pizzi, 2019). Los taninos han demostrado tener propiedades biológicas como astringentes, antiinflamatorios, antivirales, antioxidantes, antibacteriano, cicatrizantes, entre otros. La actividad antiinflamatoria de los taninos está altamente relacionada con la actividad antioxidante, algunos de los mecanismos de acción son la eliminación de radicales libres en el caso de los taninos hidrolizables, mientras que los condensados se han destacado como inhibidores de la formación de óxido nítrico, además de la reducción de la producción de prostaglandinas y citoquinas (Fraga-Corral *et al.*, 2020).

Uno de los compuestos identificados de los taninos, es el ácido tánico que es importante en los sectores farmacéutico, alimenticio y en la industria de curtiembres, como intermediario en la tinción del cuero mediante la unión con proteínas de la piel animal. Además de tener aplicaciones antibacterianas, antienzimáticas y astringentes (Palacio-Arango *et al.*, 2018).

- **Flavonoides**

Los flavonoides son compuestos cuya estructura está formada por dos anillos de benceno (A y B) unidos por un anillo de pirano (C) y pueden tener un grupo carbonilo en la posición 4 formando un anillo de pirona, dependiendo la ubicación de los anillos bencénicos se denominan flavonas, isoflavonas, flavanona, antocianina, flavonol, entre otras (Nishiumi *et al.*, 2011). Estos compuestos se sintetizan a partir de la fenilalanina y de 3-malonil-CoA. Este compuesto se puede encontrar en las plantas de forma libre (agliconas o geninas) o unida a azúcares (glicósidos o heterósidos) (Lago *et al.*, 2014). Sus principales propiedades biológicas son la disminución de la permeabilidad, antiespasmódicos, antiulcerosos, antiinflamatorios, antialérgicos, etc. (Nishiumi *et al.*, 2011).

La quercetina es un flavonol más conocido y su importancia radica en las propiedades terapéuticas como antivirales, anticancerígenos, antiinflamatorio, enfermedades cardiovasculares como la hipertensión y principalmente un antioxidante. La quercetina tiene un efecto antiinflamatorio ya que esta actúa reduciendo los niveles de TNF- α (Sun & Shahrajabian, 2023).

- **Quinonas**

Las quinonas son compuestos que contiene un grupo di-ona o dicetona, que al reducirse se convierte en polifenoles en las que se distinguen en benzoquinonas, naftoquinas, antraquinonas y quinonas isoprenoides, se pueden presentar en monómeros, dímeros, trímeros, glucósidos o en forma reducidas (Sun & Shahrajabian, 2023). Se sintetizan por la ruta de los poliacetatos, que a su vez pueden contener diversos grupos funcionales como anillos de furano/pirano que pueden ser parcialmente reducidos como antroles y antronas. Las quinonas tienen diversas actividades biológicas como lo son antiparasitarios, antibacterianos, antifúngico, anticancerígenos, antiinflamatorios (Babula *et al.*, 2009).

La plumbagina y la shikonina compuestos pertenecientes a las naftoquinonas han demostrado tener una actividad antiinflamatoria, ya que estas inhiben la vía NF-kappa B por el factor de necrosis tumoral (TNF), carcinógenos y otros estímulos inflamatorios (peróxido de hidrógeno, condensado de humo de cigarrillo, etc.) (Babula *et al.*, 2009).

- **Cumarinas**

Las cumarinas son una clase de fenoles que están formadas por anillos de benceno y α - pirona fusionados, el compuesto prototípico se conoce como 1,2-benzopirona o ácido o - hidroxicinámico y lactona. A estos compuestos se le han atribuido una gran variedad de propiedades terapéuticas en las cuales se incluyen actividad antiinflamatoria, anticoagulante, antibacteriana, antifúngica, antivirales, entre otros (Venugopala *et al.*, 2013). La forma en que las cumarinas actúan contra la inflamación es mediante la estimulación de fagocitosis que promueve la eliminación de proteínas y líquidos presentes en el lugar de la lesión, también bloquean la expresión de proteínas del óxido nítrico sintetasa inducible y la ciclooxygenasa-2 (Venugopala *et al.*, 2013).

La umbeliferona es un compuesto con diferentes actividades farmacológicas como antiinflamatorios, anticancerígenos, antioxidantes y antihiper glucémicas. La Umbeliferona mejora los síntomas y la inflamación asociados a la dermatitis atópica, mediante la regulación de diversas vías de señalización. La forma de acción de la umbeliferona es mediante la regulación negativa de los niveles TGF- β 1 en el tejido renal y puede promover la función renal y disminuir el estrés oxidativo renal (Sun & Shahrajabian, 2023).

- **Terpenos**

Los terpenoides también conocidos como isoprenoides ya que están formados por la unión de unidades isopreníca, tienen un esqueleto ramificado de 5 átomos de carbono,

algunos compuestos que se incluyen son los aceites esenciales, triterpenos y esteroides. Según el número de isoprenos se clasifican en monoterpenos (10 átomos de carbono), sesquiterpenos (15 átomos de carbono), diterpenos (20 átomos de carbono), triterpenos (30 átomos de carbono), carotenos (40 átomos de carbono) y politerpeno (más de 40 átomos de carbono) (Boncan *et al.*, 2020).

Los triterpenos se encuentran diversos grupos como los triterpenos comunes, esteroides, esteroleos, saponinas y glicósidos cardiotónico, que se abordaran más detalladamente a continuación. Los esteroleos son los más abundantes en las plantas, presentes en la membrana celular y proporciona resistencia al estrés, realizando funciones de protección, estructurales, transporte y señalización. El precursor de los esteroides vegetales de señalización como bransinoesteroides y fitoescdisteroides es el colesterol, biosintéticamente a partir de este se sintetiza primero los esteroleos y por ultimo los esteroides (Tarkowská, 2019).

Debido a la gran variedad de compuestos que abarca los terpenos se le atribuyen diversas propiedades terapéuticas, como antiinflamatorias, antihipertensivas y antioxidantes (Boncan *et al.*, 2020).

- **Lactonas sesquiterpénicas**

Las lactonas sesquiterpénicas constituye una subclase de sesquiterpenoides ya que contiene 15 átomos de carbono con estructura isoprenoide y un grupo funcional lactona (Ramirez *et al.*, 2013), estos se clasifican en cuatro grupos principales: germacranólidos, eudesmanólidos, guaianólidos y pseudoguaianólidos, el sufijo "ólido" se refiere a la presencia de un grupo γ -lactona, que a menudo contiene un grupo exo -metileno conjugado con el grupo carbonilo (Laurella *et al.*, 2022).

Las lactonas sesquiterpénicas constituye una de las estructuras principales para el desarrollo de agente terapéuticos pues presentan una gran cantidad de actividades biológicas como antiinflamatorios, antipalúdicos, antitumorales, antiulcerosos, neurotóxicos, actividades cardiotónicas y actividades antineoplásica (Shoab *et al.*, 2017).

Las lactonas sesquiterpénicas en la actividad antiinflamatoria, una de ellas es la helenalina actúa directamente en la molécula NF- κ B en la subunidad p65 mediante una alquilación, se produce una translocación nuclear de NF- κ B, así como la degradación de I κ B, no se inhiben. Esta al no ser liberado reduce la transcripción de genes en las vías de inflamación, al degradar esta subunidad reduce la respuesta inflamatoria (Chawick *et al.*, 2013).

- **Glicósidos cardiotónicos**

Los glicósidos cardiotónicos poseen una estructural esteroidal que se caracteriza por tener en el carbono-17 un anillo lactónico no saturado, también tiene específicamente un anillo pentagonal con doble enlace conjugado con el grupo carbonilo. Además, la parte denominada glicona, se incluyen en la posición 3 moléculas de azúcar como

sustituyentes, siendo las más comunes, la glucosa y los 6-desoxiazucares (Amaringo-Villa *et al.*, 2011). El uso de los glicósidos cardiotónicos radica en sus propiedades terapéuticas sobre enfermedades del corazón como la insuficiencia cardiaca, acción tónica y fortalecedora del corazón, en donde el principal mecanismo de acción es la inhibición de la adenosina trifosfatos de sodio y potasio ($\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPasa), lo que provoca un aumento de la concentración de sodio intracelular. Esto conduce a la acumulación progresiva de iones Na^+ y el aumento del calcio intracelular $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$. Por tanto, el calcio se almacena en el retículo sarcoplásmico y, tras su liberación, aumenta la fuerza contráctil (Gerakaris *et al.*, 2022).

La digoxina es un glicósido cardiotónico, esta se ha usado para tratar enfermedades cardiacas como la insuficiencia cardiaca, congestiva y la fibrilación auricular. Sin embargo, se ha demostrado efectos benéficos en enfermedades relacionadas a la inflamación, en donde se reduce la disminución de niveles de citocinas proinflamatorias las cuales se incluyen IL-17A, IL-1 β , TNF- α y activación inhibida de NF- κ B aunque aún no se conoce si se suprime la inflamación mediada por TNF- α (Meng *et al.*, 2023).

- **Saponinas**

Son un grupo de compuestos con estructuras químicas complejas, están compuestas por un esqueleto molecular aglicona triterpeonide o esteroide conjugado a una azúcar, los sacáridos que comúnmente componen las saponinas son D-glucosa, D-galactosa, D-xilosa, L-arabinosa y L-ramnosa, etc. Dependiendo las estructuras de la sapogenina, las saponinas se suelen clasificar en dos grupos: saponinas triterpénicas y saponinas esteroides (Tan *et al.*, 2022). La combinación de la aglicona y una cadena de azúcar hidrofílicas hacen que estos compuestos tengan propiedades anfifílicas, espumantes y emulsionantes. Las saponinas pueden afectar la permeabilidad de la membrana celular o la lisis de células al tener actividad hipoglucemiante, además de tener actividades antiinflamatorias, antitumorales, antibacterianas, antivirales, analgésicas, entre otras (Tan *et al.*, 2022) (Li *et al.*, 2023).

El efecto antiinflamatorio se ha de algunas saponinas como la saikosaponina se basan en la inhibición de la expresión citotóxicos relacionados en el sistema inmunológico incluidos COX-2 e iNOS, y, asimismo, las citoquinas proinflamatorias, como TNF- α , IL-1 β e IL-6. También inhiben la vía de señalización de MAPK al regular negativamente la fosforilación de p38 MAPK, c-JNK y ERK para ejercer la actividad antiinflamatoria (Zhu *et al.* 2013) (Tan *et al.*, 2022).

Familia Lauraceae

La familia Lauraceae conglomerada aproximadamente de 50 géneros y alrededor de 2500 a 3500 especies. A esta familia pertenecen plantas con gran importancia económica como el aguacate (*Persea americana*), la canela (*Cinnamomum verum*) y el laurel (*Laurus nobilis*). Las especies de esta familia se distribuyen en bosques pluviales de tierras bajas de todas las regiones tropicales y subtropicales de ambos hemisferios, pero

los grandes centros de dispersión son el sudeste asiático y América tropical (Van der Werff *et al.*, 1997).

Género *Nectandra*

El género *Nectandra* fue descrito por Rottboel en 1778. En la familia Lauraceae este género es uno de los más representativo en diversidad de especies que incluyen aproximadamente 120 especies. Estas se ven favorecidas principalmente por ambientes húmedos, tanto cálidos como templados (Chacón & Fournier, 1987), estas se distribuyen en regiones tropicales y subtropicales de América, África, Asia y Oceanía (Van der Werff *et al.*, 1997).

Clasificación cladista de *N. salicifolia*

- Reino: Plantae
- División: Magnoliophyta
- Clase: Magnaliopsida
- Orden: Laureles
- Familia: Lauraceae
- Género: *Nectandra*
- Especie: *Nectandra salicifolia*

Nombres vernáculos

Nectandra salicifolia ha recibido distintos nombres vernáculos, esto dependiendo del lugar donde este distribuida, entre los reportados se encuentra Aguacate (en Veracruz), Aguacatillo (en Michoacán y Veracruz), Laurel (en Veracruz, Yucatán y Honduras), Picito de paloma (en México) y Dulce de madera (en Honduras) (Jiménez-Arellano, 1996).

Descripción morfológica

Son árboles o arbustos que rara vez alcanza los 15 metros de altura, su tronco es derecho y cilíndrico, tiene un diámetro de pecho de hasta 90 centímetros. Presenta ramas nuevas blanquecinas estrigoso-tumentulosas, pardas oscuras, cilíndricas o subcilíndricas (Jiménez-Arellano, 1996).

Sus hojas son simples, alternas, grandes enteras, la lámina es oscura por encima y por debajo, por el haz es glabra y de carácter lustroso, glabros por el envés. Tienen formas elípticas, elípticas lanceolada e inclusive oblongo elípticas, aproximadamente de 6 a 15 cm de largo y de 2 a 6 cm de ancho, su ápice es acuminado u obtuso acuminado, llegando a medir hasta 15 mm a la punta, su base es cuneada ligeramente decurrente en el peciolo, poseen 6 a 8 pares de nervios laterales que se unen cerca del borde (Mendizábal, 1998).

Sus flores son color blanco o blanco-rosadas, olorosas, hermafroditas, con diámetro aproximado de 10 mm, sus filamentos son peludos y cortos como anteras, sin ápice

estéril. Están dispuesta en una inflorescencia solitaria, gruesamente paniculada. Hasta 14 cm de largo (Mendizábal, 1998) (Jiménez-Arellano, 1996).

Sus frutos son drupa de color rojizo a purpura, borde entero o ligeramente ondulado, de unos 1.5 cm de diámetro, subglobosa a oblongo elíptica. Su corteza es lisa de color parda a pardo crema verdoso, con lenticelas prominentes distribuidas irregularmente y como característica de esta especie se menciona una frecuente coloración roja o rosada en sus nervios (Figura 1 y 2) (Gutiérrez-García & Ricker, 2012) (Jiménez-Arellano, 1996).



Figura 1. Estructuras de *Nectandra salicifolia*. A). Fotos tomadas del ejido de Limón chiquito (20°40'49.3"N; 97°16'55.3"W) B). Ilustración recuperada de Van der Werff *et al.*, 1997.

Hábitat

Nectandra salicifolia tiene una distribución ecológica amplia, esto se debe al parecer porque se ve favorecido por los disturbios en el ambiente, esta se puede encontrar en dunas costeras hasta en distintos tipos de vegetación como en bosques de encino, bosques mesófilos de montaña, y bosques de pino encino, bosque tropical caducifolio, bosque tropical perennifolio, y bosque tropical caducifolio, bosque tropical perennifolio y bosque tropical subcaducifolio (Lorea-Hernández, 2002), generalmente se encuentran en altitudes desde el nivel de mar hasta los 2300 (Pennington & Rohwer, 1994).

Distribución en México

Tiene una amplia distribución, desde el norte del Trópico de Cáncer en Tamaulipas, México, hasta Nicaragua, pasando por países como Belice, Guatemala, Honduras, Costa Rica y Panamá (Pennington & Rohwer, 1994). En México se tiene registro que se distribuye principalmente en las vertientes del pacífico (Nayarit hasta Chiapas) y del golfo (Puebla, Veracruz, Yucatán y Quintana Roo), y en el centro de México, en Hidalgo,

Puebla, San Luis potosí, Querétaro y Michoacán (Pennington & Rohwer, 1994) (Lorea-Hernández, 2002).

Etnobotánica y antropología

Se ha empleado principalmente en la construcción de cercas rurales; sin embargo, por su color y su alto lustre de tonos dorados, se puede emplear en la fabricación de muebles finos, y puertas (Barajas *et al.* 1997).

Antecedentes

El primer estudio que se tiene registro sobre *Nectandra salicifolia* lo realizó Böhlke *et al.* (1996), donde se recolectó la planta en un bosque tropical de baja montaña en Costa Rica y de su extracto se aislaron 15 alcaloides de tronco, raíz y hojas, entre ellos costaricina, un alcaloide, de la corteza y raíces el cual presento actividad antiplasmodial.

Posterior a este estudio, Slish *et al.* (1999) realizaron un estudio etnobotánico en busca de plantas medicinales que tuvieran efecto eficaz en el tratamiento de trastornos cardiovasculares como la hipertensión, la apoplejía y la angina de pecho. Recolectaron plantas etnodirigidas y aleatorias de las cuales observaron que cuatro especies etnodirigidas tuvieron una actividad vasoactiva, entre ellas estaba *Nectandra salicifolia*.

Por último, Grecco *et al.* (2016) hicieron una revisión química del género *Nectandra*, donde se recopiló aproximadamente 200 compuestos aislados de diferentes especies junto con su potencial terapéutico. En esta revisión se reporta a *Nectandra salicifolia*, los compuestos que se identificaron en la especie son principalmente alcaloides en extractos de tallo, corteza, raíz y hoja. Las actividades con potencial terapéutico que se reportan son; actividad antidepresiva, anticancerígena, antiulcerogénico y antipalúdico.

Planteamiento del problema

El 80 % de los habitantes del mundo recurre a distintos tipos de plantas medicinales para tratar distintas patologías, la CONABIO ha reportado que el 15 % de la flora mexicana presenta atributos medicinales. Sin embargo, solo el 5 % del total de estas plantas han tenido un análisis farmacológico. El extracto de estas especies vegetales tiene usos medicinales debido a sus distintos componentes fitoquímicos, mostrando una variedad de propiedades biológicas contra diversas patologías relacionadas con el proceso inflamatorio.

Por lo que el conocimiento de esta respuesta fisiológica es crucial para el entendimiento y la búsqueda de tratamientos alternativos de origen vegetal antiinflamatorios que tengan menores efectos adversos en el organismo. De acuerdo con lo anterior, el presente estudio se enfoca en evaluar el efecto antiinflamatorio de extractos de *Nectandra salicifolia* en un modelo murino.

Hipótesis

Los metabolitos secundarios presentes en los extractos hidroalcohólicos de distintas partes de *Nectandra salicifolia* modificará un proceso inflamatorio en ratones CD-1.

Objetivos

General

Analizar la actividad antiinflamatoria de extractos hidroalcohólicos de *Nectandra salicifolia* en ratones CD-1.

Particulares

- Reconocer el uso etnobotánico de *Nectandra salicifolia* en la localidad de Limón Chiquito.
- Cuantificar los metabolitos primarios y secundarios en extractos hidroalcohólicos de *N. salicifolia*.
- Determinar la actividad antioxidante de extractos hidroalcohólicos de *N. salicifolia* mediante el radical DPPH.
- Valorar la participación de *N. salicifolia* en el proceso inflamatorio mediante edema plantar y permeabilidad vascular.

Método

Localidad de recolecta

La zona de estudio se encuentra en la localidad de Limón chiquito (20°40'49.3"N; 97°16'55.3"W) a una altura de 22 metros sobre el nivel del mar, ubicado en el municipio de Cazes de Herrera del estado de Veracruz.

Registro de información etnobotánica

Se realizaron 50 entrevistas etnobotánicas dirigidas a los habitantes de Limón chiquito acerca del uso etnomedicinal de *Nectandra salicifolia*, siguiendo el formato de entrevista etnobotánica (Anexo 1. Formato de entrevista etnobotánica), en donde se obtuvo información como el nombre común de la planta, usos que le da la comunidad a la planta, si se conoce alguna enfermedad que puede tratar, la estructura que se usa para el tratamiento, el modo de preparación, algunas reacciones adversas, la dosis que se recomienda y la frecuencia de uso.

Procesamiento de material vegetal

Se recolectó un ejemplar de la planta con sus estructuras (hoja, tallo, flor, fruto y raíz) (Figura 2), este ejemplar se llevó a prensado y secado para su posterior identificación taxonómica. Se elaboró una ficha descriptiva de *Nectandra salicifolia* y se preservó el ejemplar en un micro-herbario que se resguarda en el laboratorio de terapia molecular

de la unidad multidisciplinaria de investigación experimental zaragoza de la FES Zaragoza.



Figura 2. Estructuras de *Nectandra salicifolia*. A) Planta completa. B) Hojas. C) Flor. D) Fruto. Fotos tomadas del ejido de Limón chiquito (20°40'49.3"N; 97°16'55.3"W).

Preparación de extractos hidroalcohólicos y secado

Se recolectaron 100 gramos (g) de material vegetal fresco y triturado de cada estructura (hoja, tallo, flor, fruto y raíz) y se agregaron a un litro de una solución de etanol al 70%, se conservaron en frascos en frío por cuatro semanas. Transcurrido el plazo, se filtró el extracto a vacío para su posterior concentrado, donde se evaporo toda la fase liquida, se obtuvo el extracto seco y se registró su peso para determinar el rendimiento final de cada uno.

El rendimiento de la extracción se determinó utilizando la siguiente formula:

$$\%R = \frac{EO (g)}{TMV(g)} * 100$$

En donde R es el rendimiento de la extracción, EO es el extracto seco obtenido (el peso registrado después de evaporar la fase liquida) y TMV es el total de material vegetal (los 100 gramos recolectados).

Identificación y cuantificación de metabolitos secundarios

Para la identificación de metabolitos secundarios, se tomaron muestras de los extractos y se diluyeron a una concentración de 5 mg/ml en agua, metanol, etanol, cloroformo, según el solvente y la polaridad que la técnica requiera, seguidamente se llevaron a cabo el método correspondiente para cada metabolito, posteriormente se cuantifico la concentración total de metabolitos presentes de los respectivos extractos partiendo de una concentración de 5 mg/ml en el solvente que la prueba lo requiera, después de haber realizado las curvas de calibración correspondientes.

- **Alcaloides**

Los alcaloides en soluciones neutras o ligeramente acidas responde a reacciones de precipitación o coloración. En su identificación se utilizan reactivos generales para detectar alcaloides como: la solución de yodo-yoduro de potasio (Reactivo de Wagner), mercurio tetrayoduro de potasio (reactivo de Mayer), tetrayodo bismuto de potasio (reactivo de Dragendorff) (Marcano, y Hasegawa, 1991).

- Prueba de Mayer. En un tubo de ensayo se añadió 1 mililitro (ml) el extracto acuoso y tres gotas del reactivo. La presencia de precipitado color crema indico presencia de alcaloides.
- Prueba de Wagner. En un tubo de ensayo se agregó 1000 microlitros (μ l) el extracto acuoso y 3 gotas del reactivo. La formación de precipitado de color marrón se consideró positiva.
- Prueba de Dragendorff. En un tubo de ensayo se adicionó 1 ml del extracto acuoso y 3 gotas del reactivo. La formación de precipitado naranja marrón, indica presencia de alcaloides.

Para la cuantificación de alcaloides se siguió el método propuesto por Fazel *et al.* (2008), se basa en la reacción de un complejo amarillo formado por transferencias de cargas de un alcaloide y el verde de bromocresol a un pH de 4.7 extraído con cloroformo. La curva de calibración se realizó partir de una solución de brucina a 1 mg/ml en metanol, se prepararon las diluciones de 0.1 a 1 mg/ml. Se agregaron a un embudo de separación 1 ml de cada una de las diluciones y de los extractos metanólicos, seguidamente se añadieron a cada muestra 2.5 ml de buffer de fosfato a pH 4.7 y 2.5 ml de solución de verde de bromocresol a 0.0002 M, se hizo un lavado de las mezclas para extraer el complejo formado con 5 ml de cloroformo, después de separar la fase clorofórmica con el complejo amarillo, se leyeron las absorbancias por espectrofotometría a una longitud de onda de 470 nanómetros (nm).

- **Compuestos fenólicos**

Los compuestos fenólicos están presentes en la mayoría de las plantas vasculares, estos reaccionan por quelación de iones metálicos potencialmente prooxidantes como lo son Fe^{3+} , Al^{3+} y Cu^{2+} (Munin & Edwards, 2011). Para la identificación colorimétrica se utilizó el método de cloruro férrico (FeCl_3), el cual se basa en el ataque producido por el ion cloruro al hidrógeno del grupo provocando una ruptura de enlace y la unión del grupo fenóxido al hierro para la formación del complejo lo que produce un cambio del color (Flores & Escudero, 2010).

- Prueba de cloruro férrico. En un tubo de ensayo se añadió 1 ml de extracto acuoso seguido de cinco gotas de cloruro férrico al 1%. El cambio de color marrón pardo y formación de un precipitado oscuro es positivo para compuestos fenólicos.

La cuantificación de los compuestos fenólicos se llevó a cabo por el método de Folin-Ciocalteu desarrollado por Boligon *et al* (2012), el cual se fundamenta en que los compuestos fenólicos reaccionan con dicho reactivo a pH básico, dando una coloración azul susceptible a ser determinada espectrofotométricamente por una reacción de oxidoreducción.

Se realizó una curva de calibración a partir de una solución de ácido gálico en agua a 50 µg/ml, seguidamente se hicieron diluciones de 10 a 50 µg/ml, se tomaron 750 µl de los extractos acuosos y de cada una de las diluciones, seguidamente se agregaron 375 µl de reactivo de Folin-Ciocalteu 1 N de cada una de las muestras, se dejaron reposar 5 minutos y posteriormente se les añadieron 1875 µl de Carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 20%, se agitaron y nuevamente se dejaron en reposo por 30 minutos en oscuridad y se llevaron a lectura las absorbancias por espectrofotometría a una longitud de onda de 765 nm.

- **Taninos**

Este es un polímero fenólico cuyo peso molecular es alto que puede precipitar alcaloides o proteínas y al igual que los compuestos fenólicos, se utiliza el cloruro férrico para su identificación al formarse un complejo de la unión fenóxido al hierro, a diferencia de los fenoles, los taninos muestran una coloración verde intensa que indica taninos pirocatecólicos mientras que un azul-verde indica la presencia de taninos del tipo pirogalol (Coy *et al.*, 2014). Debido a lo anterior se utilizó la misma prueba para la identificación de taninos.

Para la cuantificación de taninos se siguió el método de Willis (1998), en la cual se genera un complejo colorimétrico rojizo-amarillo formado por el yodo del reactivo y los taninos presentes a una temperatura no superior a 25° C y evitando la congelación tras un tratamiento en acetona para evitar la precipitación de taninos.

Para la elaboración de la curva de calibración se hizo a partir de una solución de ácido tánico en acetona al 70% a 1 mg/ml, posteriormente se prepararon diluciones de 0.2 a 1 mg/ml, se tomaron 0.5 ml de cada una de las diluciones y de los extractos en acetona al 70%, se agregaron 2.5 ml de yodato de potasio al 2.5% a cada una de las muestras, seguidamente se incubaron a 25° C por 7 minutos y se leyeron las absorbancias por espectrofotometría a una longitud de onda de 550 nm.

- **Flavonoides**

Este grupo aromático se puede identificar por su estructura tiene un núcleo benzopirona, este en un medio ácido reacciona con el magnesio se oxida por el ácido clorhídrico (HCl) concentrado, que da como producto hidrógeno y cloruro de magnesio el cual forma complejos con los flavonoides presentes (Visaurre Martínez *et al.*, 2007).

- Prueba de Shinoda. En un tubo de ensayo se agregó un mililitro de extracto acuoso, con un trocito de viruta de magnesio y seguidamente de 4 gotas de HCl concentrado, la coloración naranja, rojo y amarillo identifica a los flavonoides.

A partir de la reacción de cloruro de aluminio (AlCl_3) se cuantifico los flavonoides totales mediante el método desarrollado por Feltrin *et al.* (2012), el principio se basa en formar complejos estables del cloruro de aluminio AlCl_3 y los ácidos con el grupo cetona en carbono 4 (C-4) o bien el grupo hidroxilo en Carbono 3 (C-3) o carbono (C-5) de flavonas y flavonoles. También forma complejos lábiles ácidos con los grupos di hidroxilo en el anillo A o B de los flavonoides (Chang *et al.*, 2020).

Se realizó la curva de calibración con una solución de quercetina a 0.5mg/ml en metanol y seguidamente se prepararon diluciones de 0.1 a 0.5 mg/ml. Se tomaron 1 ml de cada una de las diluciones y de los extractos metanólicos, posteriormente se les añadieron a las muestras 1 ml de cloruro de aluminio (AlCl_3) al 2%, seguidamente de 1 ml de metanol, se agitaron y se dejaron en reposo durante una hora en oscuridad, transcurrido el tiempo se llevaron a lectura las absorbancias por espectrofotometría a una longitud de onda a 420 nm.

• Quinonas

Las quinonas son compuestos carbonílicos α - β insaturados. Esta se identifica mediante una hidrólisis de los enlaces glicosídicos y en las que se oxidan las antronas, los antranos y las antroquinonas generando la formación de un complejo rojo (Carvajal Rojas *et al.*, 2008).

- Prueba Borntrager. Se maceraron 0.3 g de material vegetal con 1 ml de etanol al 80% posteriormente se calentó y el residuo se disolvió con 3 ml de agua destilada. Se realizó una extracción con 1 ml de benceno, seguidamente se añadió hidróxido de amonio a la fase orgánica que en brevedad se agito. La coloración roja o rosa indico la presencia de quinonas.

Se cuantificaron las quinonas del extracto mediante el método descrito por Abdollahi & Bagheri (2004). Este se basa en la donación de electrones de la anilina a las quinonas en donde se forma un complejo, este se concentra y se extrae con naftaleno microcristalino formando una masa sólida que se disuelve con dimetilformamida debido a la alta solubilidad. La naturaleza, estabilidad, velocidad e intensidad del desarrollo del color producido por la interacción de las quinonas presentes con un exceso de anilina dependen principalmente del tipo de quinona y de la concentración de anilina.

La curva de calibración se realizó a partir de una solución de p-benzoquinona a 0.4 mg/ml en etanol, posteriormente se hicieron diluciones de 0.1 a 0.4 mg/ml. Se tomo 1 ml de cada una de las diluciones y los extracto etanólicos, seguidamente a cada muestra se añadieron 2 ml de anilina 0.06 M, en brevedad se agitaron y se dejaron en incubación 40

° C por 3 minutos, posteriormente se agregaron 550 µl de naftaleno al 10% en acetona, se filtró la masa formada de cada muestra y se disolvieron en 2 ml de dimetilformamida, finalmente se llevaron a lectura las absorbancias por espectrofotometría a una longitud de onda de 385 nm usando como blanco 2 ml de dimetilformamida.

- **Cumarinas**

Las cumarinas pertenecen a un grupo de lactonas, al tener un anillo lactónico reacciona con compuestos aromáticos nitrados produciendo una ruptura de la lactona y una sustitución electrofílica en el anillo aromático formando un complejo coloreado entre el ácido pícrico y la lactona α , β y γ insaturada (Orantes, 2008) (Domínguez, 1988).

- Prueba de Baljet. Se tomo 1 ml del extracto acuoso, seguidamente se le añadió dos gotas de hidróxido de sodio más dos de ácido pícrico. La reacción fue positiva si se tornó a un color naranja o rojo.

La cuantificación de cumarinas se determinó mediante el método descrito por Osório & Seferin (2004) en donde es necesario adicionar acetato de plomo para poder precipitar los taninos presentes en la muestra. El ácido clorhídrico reaccionará con la cumarina que solo se podrá leer en una longitud de onda 320 nm ultravioleta-visible.

La curva de calibración se realizó a partir de una solución umbeliferona a 0.35 mg/ml en metanol, seguidamente se hicieron diluciones de 0.06 a 0.35 mg/ml, se tomaron 1.6 ml de cada una de las diluciones y de los extracto metanólicos, a estas se le añadieron 0.5 ml de acetato de plomo al 5% , posteriormente se aforaron la muestras a 10 ml con agua destilada, estas se centrifugaron a 3500 revoluciones por minuto (rpm) por 10 minuto, a continuación se tomaron 1 ml del sobrenadante de cada una de las muestras y se agregaron 4 ml de ácido clorhídrico 0.1 M, finalmente se leyeron las absorbancias por espectrofotometría a una longitud de onda de 320 nm,

- **Glicósidos cardiotónicos**

Para la identificación de glicósidos cardiotónicos se analiza el anillo lactónico presente en la estructura de este metabolito, por lo que al igual que las cumarinas la prueba Baljet también indica la presencia de glicósidos cardiotónicos (Domínguez, 1988).

Para la determinación de glicósidos cardiotónicos se siguió el método descrito por Campos (2008) en donde el ion picrato formar un complejo con la estructura del glucósido cardiotónico, formando un complejo denominado picrato hidrocarbonato, esta reacción toma un color amarillo a rojo Oliveros-Bastidas *et al.* (2009).

La curva de calibración se elaboró a partir de una solución de digoxina a 0.05 mg/ml en etanol, seguidamente se prepararon diluciones de 0.01 mg/ml a 0.05 mg/ml. Se tomaron 1 ml de las diluciones y de los extractos en etanol, a cada uno estos se le agregaron 2 ml de solución alcalina de picrato de sodio pH 11.4, se agitaron las muestras y se dejaron

reposar por 30 minutos y posteriormente se leyeron las absorbancias por espectrofotometría a una longitud de onda de 495 nm.

- **Saponinas**

Las saponinas son un grupo de glicósidos solubles en agua (una sapogenina unido a una cadena de azúcares), se caracterizan por su propiedad espumante, debido a que si se disuelve en agua disminuye la tensión superficial (Depolte, 2010).

- Prueba de Molisch. Se colocaron 5 ml del extracto con 2 gotas de solución de alfa naftol 1% en etanol, posteriormente se adiciono suavemente por las paredes 1.5 ml de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado (No se debe agitar). La formación de un anillo violeta en la interfase ácido sulfúrico indico presencia de carbohidratos en la molécula de saponinas.
- Prueba afro simétrica. Se colocó 1 g de planta húmeda en un tubo, se adicionó 6 ml de etanol al 75%, seguidamente se calentó y se decantó, en brevedad se adicionaron 5 ml de agua se volvió a calentar a baño maría hasta ebullición por 2 minutos y se agitó vigorosamente. La presencia de espuma después de agitar la muestra indica la presencia de saponinas.

Se cuantifico las saponinas de forma indirecta mediante la cuantificación de azúcares reductores, se siguió o el método descrito por Miller (1959). Esta se basa en la hidrólisis de la saponina producido por el ácido 3,5-dinitrosalicílico para separar la parte glucona compuesta de azúcares simples (1 a 5 unidades), de la sapogenina, formando así un complejo amarillo (Hernández Royero, 1997). Este método es selectivo debido a que el DNS reacciona con azúcares reductores.

La curva de calibración se realizó a partir de una solución de glucosa a 1 mg/ml en agua, seguidamente se prepararon diluciones a de 0.1 mg/ml a 1 mg/ml. Se tomaron muestras de 250µl de las diluciones y del extracto acuoso, a estos se le agregaron 250µl de reactivo DNS, posteriormente se llevaron a ebullición por 5 minutos en oscuridad e inmediatamente se detuvo la reacción enfriando las muestras con hielo, se le agregaron 2.5 ml de agua a cada muestra y se dejaron reposar 15 minutos en oscuridad, finalmente se llevaron a lectura las absorbancias por espectrofotometría a una longitud de onda de 540nm.

- **Esteroides**

Este se identifica con una reacción donde el esteroide se oxida por el ácido sulfúrico formando una molécula con doble enlace adicional. Al principio de esta reacción la protonación del grupo hidroxilo del esteroide habiendo una deshidratación y se obtiene el ion carbonio 3,5 colestadieno lo que forma el color. Otra prueba utilizada es la prueba de Salkowski, que indica la presencia de esteroides insaturados formando un anillo color rojizo (Pocoví, 2004).

- Prueba de Lieberman-Burchard. En un tubo de ensayo se agregaron 5 gotas del extracto en cloroformo, seguidamente se añadió 0.5 ml de anhídrido acético y 0.5 ml de cloroformo. Se enfrió a 0°C. posteriormente se adicionaron 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado. La aparición de color azul que pasa a naranja para luego volverse verde indica la presencia de núcleo esteroide.
- Prueba Salkowski. Se tomó 0.5 g del extracto en crudo y se le añadió 2 ml de cloroformo. Posteriormente se agregaron 2 ml de ácido sulfúrico concentrado. Una coloración anaranjada indica una reacción positiva.

Para la cuantificación de esteroides se siguió la metodología descrita por Saptarini *et al.* (2016). Esta se fundamenta en que el colesterol va a reaccionar con el anhídrido acético y ácido sulfúrico concentrado, se produce una pérdida de agua y una protonación del colesterol. Se constituyen en un medio anhídrido polímeros de hidrocarburos no saturado de intenso color verde que pasa a naranja.

La curva de calibración se realizó a partir de una solución de colesterol a 2 mg/ml en cloroformo, seguidamente se prepararon diluciones de 0.4 mg/ml a 2 mg/ml. Se tomaron 1ml de las diluciones de colesterol y de los extractos clorofórmicos, posteriormente se le añadieron 2 ml del reactivo Lieberman-Burchard seguido de 1 ml de cloroformo, las muestras se incubaron durante 10 minutos y se llevaron a la lectura de absorbancias por espectrofotometría a una longitud de onda de 626 nm.

• **Sesquiterpenlactonas**

Estos compuestos, como su nombre lo indica, son terpenos con un esqueleto de 15 átomos de carbono, que tienen además en su estructura una lactona. Debido a que este metabolito es un grupo de terpenos, no hay una prueba en específica para esta como lo es la prueba de Lieberman-Burchard que identifica terpenos. La prueba de hidroxamato férrico las lactonas reaccionan con la hidroxilamina formando ácidos hidroxámicos, estos generan hidroxamato férrico lo que da una coloración marrón o violeta (Bilbao, 1997).

- Prueba de Lieberman-Burchard. Se añadió 1 ml del extracto acuoso en un tubo de ensayo, se agregó una pequeña muestra de nitrito de sodio y 2 ml de ácido sulfúrico concentrado. Se indica presencia de sesquiterpenlactonas al observar un color violeta oscuro.
- Prueba de hidroxamato férrico. En un tubo de ensayo se añadió 1 ml del extracto seguido de 2 ml de una solución de clorhidrato de hidroxilamina 1.0 M, posteriormente se adiciono 2 gotas de propilenglicol y se añadió 1 ml de hidróxido de potasio 1.0 M. Se calentó hasta ebullición. Por último, se agregó 0.5 ml de una solución del cloruro Férrico al 5% en alcohol. Si la reacción presenta un precipitado color marrón se indica la presencia de sesquiterpenlactonas.

Para cuantificar las sequiterpenlactonas se siguió el método descrito por Villacorta *et al.* (2017) en el cual se basa en la formación de un complejo entre el ion del ácido pícrico y

la lactona $\alpha\beta$ y γ insaturada. Para la curva de calibración se realizó a partir de una solución de juaquilamina a 1 mg/ml en cloroformo, seguidamente se prepararon diluciones a 0.1 mg/ml a 1 mg/ml. Se tomaron 1 ml de las diluciones y de los extractos en cloroformo, cada una se llevó a evaporación para poder extraer el anillo lactónico, se reconstruyeron cada una de las muestras con 1 ml de etanol absoluto y se añadieron 2 ml de picrato de sodio pH 11.4, posteriormente se dejaron en incubación por 30 minutos en la oscuridad y finalmente se llevaron a la lectura de las absorbancias por espectrofotometría a una longitud de onda de 495 nm.

Cuantificación de metabolitos primarios

- **Carbohidratos**

Para la cuantificación de carbohidratos totales se siguió el método descrito por López-Legarda *et al.* (2017), esta se basa en la deshidratación de azúcares con el ácido sulfúrico, formando derivados del furfural y el 5-hidroximetilfurfural, cuando este interactúa con el fenol facilitan la formación de complejos que permiten la coloración de la solución (López-Legarda *et al.* 2017).

Se realizó la curva de calibración a partir de una solución de glucosa a 100 $\mu\text{g/ml}$ en agua, posteriormente se prepararon las diluciones a 20 $\mu\text{g/ml}$ a 100 $\mu\text{g/ml}$. Se tomaron 1 ml de cada una de las diluciones y de los extractos, se le agregaron 0.5 ml de fenol al 5%, se agitaron las muestras y se dejaron en reposo por 15 minutos, posteriormente se agregaron 1.8 ml de ácido sulfúrico concentrado y se volvieron a agitar y se incubaron en baño maría por 30 minutos, finalmente se llevaron a lectura de absorbancias por espectrofotometría a una longitud de onda de 480 nm.

- **Lípidos**

Esta cuantificación se realizó por el ensayo de sulfo-fosfo vainillina. Esta se basa en que los lípidos insaturados reaccionan con ácido sulfúrico formando iones de carbono y en presencia de las fosfo-vainillina dan una coloración rosada (Zöllner & Kirsch, 1962).

Se realizó la curva de calibración a partir de una solución de colesterol a 1 mg/ml en cloroformo. Seguidamente se prepararon las diluciones de 0.1 mg/ml a 1 mg/ml. Se tomó 1 ml de cada una de las diluciones y de los extractos en cloroformo, se pusieron en baño maría por 3 minutos, posteriormente se adicionaron 2 ml de ácido sulfúrico concentrado a las muestras, se incubaron las muestras y se añadieron 4 ml de fosfo-vainillina, se homogenizó la mezcla y se dejaron reposar por 30 minutos y finalmente se leyeron las absorbancias por espectrofotometría a una longitud de onda de 530 nm.

- **Proteínas**

Las proteínas se cuantificaron por la reacción de Biuret, en la cual se forma un complejo colorido de coordinación de los iones de cobre y los pares de electrones no compartidos del nitrógeno que forma parte de los enlaces peptídicos (Gutiérrez & Hernández, 2011).

Para la curva de calibración se realizó a partir de una solución de albúmina a 10 mg/ml en agua, seguidamente se hicieron diluciones 1 mg/ml a 10 mg/ml. Se tomaron 1 ml de cada una de las diluciones y de los extractos y se le agregaron 2 ml de reactivo Biuret, se agitaron las muestras y se llevaron a lecturas las absorbancias por espectrofotometría a 545 nm.

Actividad antioxidante por medio del radical DPPH

Se evaluó la actividad antioxidante de los extractos hidroalcohólicos de *N. salicifolia* frente al radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) mediante espectrofotometría a 517 nm mediante la técnica descrita por Dzomba *et al.* (2012). Donde se tomó un mililitro del extracto seguido de 0.5 ml de DPPH 1 mM en metanol. La actividad de eliminación de radicales se calculará con la siguiente formula:

$$\% \text{ de eliminacion de radicales} = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100$$

Donde A_c es la absorción de la muestra de control (metanol + DPPH) y A_s es la absorción de la muestra del extracto en metanol + DPPH. Se blanqueará con la muestra del extracto + metanol.

Esta técnica se basa en la absorción de radicales libres del DPPH a una longitud de onda 517nm. El DPPH al entrar en reacción con un antioxidante, en la cual se produce una transferencia de electrones de los antioxidantes al radical DPPH, por lo que se observa una caída en la absorbancia debido a la formación de 2,2-difenil-1-picrilhidrazina acompañada de un cambio de color de púrpura a amarillo (Tatarczak-Michalewska & Flieger, 2022).

Evaluación de efecto antiinflamatorio

Se usaron 72 ratones hembra de la cepa CD-1 que fueron adquiridos en el bioterio de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, se formaron 12 grupo de 6 ratones cada uno (Tabla 1). Se mantuvieron en condiciones estándar y se registraron los pesos de cada uno hasta que cumplieron las 12 semanas de edad. Posteriormente se les dio el tratamiento vía oral de extractos hoja, tallo, fruto y flor de *Nectandra salicifolia* a los ratones correspondientes por 15 días. Se determinaron las dosis del extracto con relación a los gramos que los habitantes de limón chiquito ocuparon de *Nectandra salicifolia* ante algún padecimiento o enfermedad, y se extrapolo la cantidad de gramos del extracto por kg de peso de ratón.

Inducción de edema plantar

Se indujo el edema en la pata derecha del ratón mediante inyección subcutánea de 20 µl de albúmina de huevo al 1 % en solución salina. Se midió la longitud de la pata antes y después de la inducción del edema a los 30, 60, 90, 120 y 180 minutos.

La albúmina de huevo (ovoalbúmina) es una de las proteínas que se han identificado en la clara de huevo como alérgenos, al inyectarse en la pata del ratón desencadenaría una respuesta inflamatoria (Kim *et al.*, 2015), provocando la migración de células leucocitarias al sitio de inducción del edema liberando sustancias vasoactivas como la serotonina y la histamina que favorecen la formación de un edema (Barung *et al.*, 2021).

Ensayo de permeabilidad vascular

Mediante el método de Radu & Chernoff (2013), se inyectó en la vena lateral de la cola de los 72 ratones 200 µl de una solución de azul de Evans 0.6 % en PBS y se mantuvieron en observación durante 3 horas. Transcurrido el tiempo se sacrificaron los ratones, se extrajeron los órganos (hígado, riñones y bazo) de interés y se pesaron. Se incubaron los órganos en tubos (por cada 100 mg de tejido se añadieron 500 µl de formamida) a 55 °C por 24 horas para la extracción del azul de Evans. Una vez que se cumplió el plazo se llevaron a centrifugación y se leyó la absorbancia del sobrenadante de cada muestra por espectrofotometría a una longitud de onda de 610 nm. Se calculó la concentración de azul de Evans mediante una curva de calibración de azul de Evans y usando el factor de dilución de los microlitros de formamida usada por los miligramos del peso del órgano.

Este ensayo se basa que condiciones fisiológicas basales, macromoléculas como la albúmina no cruza la barrera endotelial. El azul de Evans es un colorante azoico que tiene una alta afinidad a la albúmina. Este al ser inyectado al torrente sanguíneo de los ratones, en condiciones fisiológica, se espera que este restringido a los vasos sanguíneos. Cuando hay un estimulante de permeabilidad vascular como la inflamación, los vasos sanguíneos comienzan a perder proteínas, ya que comienza la extravasación de estas macromoléculas hacia los tejidos vascularizados, por lo que el azul de Evans que está unido a la albúmina empieza a dar una coloración azulada de los tejidos vascularizados (Radu & Chernoff, 2013).

Durante el procedimiento experimental se siguieron las normas establecidas por la ley mexicana de protección animal para el Uso de Animales de Experimentación (NOM-062-ZOO-199, Especificaciones Técnicas para el cuidado y Uso de los animales en el laboratorio).

Tabla 1. Diseño experimental para evaluar el efecto inflamatorio de extractos de *N. salicifolia* en grupos de ratones CD-1.

Grupo	Numero de ratón	Tratamiento	Descripción
1	1-6	Control	Se mantuvieron en condiciones normales en el bioterio sin recibir tratamiento.
2	7-12	Vehículo (solución salina)	Se inyectó en la pata derecha únicamente 20 µl de solución salina.
3	13-18	Positivo (Edema)	Se inyectó en la pata derecha 20 µl albúmina de huevo al 1% en solución salina.
4	19-24	Negativo (Edema + indometacina)	Se inyectó en la pata derecha 20 µl albúmina de huevo al 1% en solución salina y se administró oralmente una dosis única de indometacina 10mg/Kg.
5	25-30	Extracto de hoja	Se administró oralmente por 15 días extracto acuoso de hoja.
6	31-36	Extracto de hoja + edema	Se administró oralmente por 15 días extracto acuoso de hoja, finalizado el tratamiento se inyectó en la pata derecha 20 µl albúmina de huevo al 1% en solución salina.
7	37-42	Extracto de tallo	Se administró oralmente por 15 días extracto acuoso de tallo.
8	43-48	Extracto de tallo + edema	Se administró oralmente por 15 días extracto acuoso de tallo, finalizado el tratamiento se inyectó en la pata derecha 20 µl albúmina de huevo al 1% en solución salina.
9	49-54	Extracto de fruto	Se administró oralmente por 15 días extracto acuoso de fruto.
10	55-60	Extracto de fruto + edema	Se administró oralmente por 15 días extracto acuoso de fruto, finalizado el tratamiento se inyectó en la pata derecha 20 µl albúmina de huevo al 1% en solución salina.
11	61-66	Extracto de flor	Se administró oralmente por 15 días diarios extracto acuoso de flor (50 µl).
12	67-72	Extracto de flor + edema	Se administró oralmente por 15 días extracto acuoso de flor, finalizado el tratamiento se inyectó en la pata derecha 20 µl albúmina de huevo al 1% en solución salina.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos en el aumento de la inflamación por inducción del edema plantar por ovoalbúmina y la concentración de azul de Evans extravasado en órganos vasculares (riñón, hígado y bazo) en el ensayo de permeabilidad vascular, se expresaron como el valor de la media ($n=6$) y se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) seguida por una *post hoc* (prueba de comparación múltiple de Tukey-Kramer), los valores de la medias se consideraron estadísticamente significativos cuando el valor $p < 0.05$.

Resultados

Estudio etnobotánico

Se hicieron un total de 50 entrevistas etnobotánicas en la localidad de Limón chiquito. De acuerdo con las entrevistas etnobotánicas *Nectandra salicifolia* la conocen comúnmente como Laurel (aunque no es la misma que se utiliza para cocinar). En el aspecto de uso medicinal de la planta, la mayoría de los entrevistados no conocen algún tratamiento (20 personas), mayormente la conservan como uso ornamental de sus hogares (16 personas) (Figura 3). A pesar de la escasa información del uso medicinal, se logró conocer dos usos medicinales que se le da a esta planta; para dolor estomacal (9 personas) y para agilizar labores de parto (5 personas), estos usos se ven representado en la figura 3. La estructura que se usa para ambos casos es la hoja, aproximadamente 20 gramos de esta. La aplicación de esta terapia alternativa es en forma de infusión (Tabla 2.).

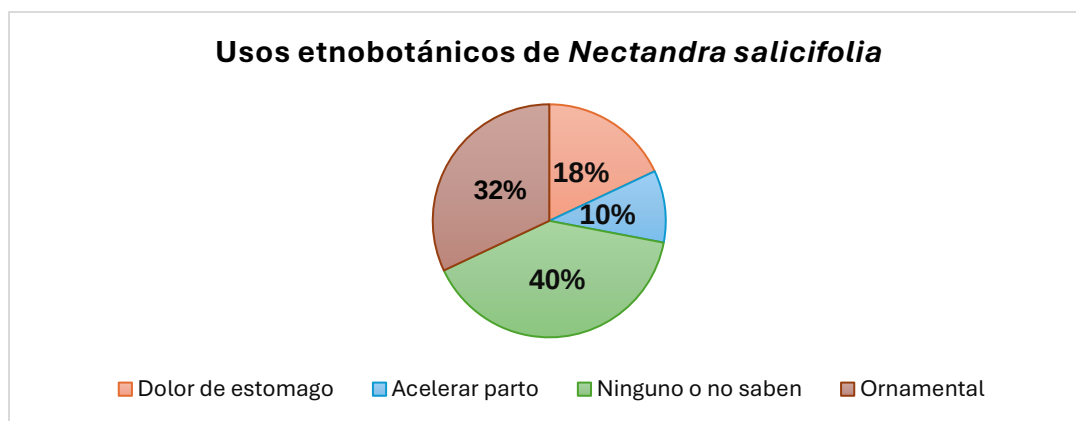


Figura 3. Gráfica de porcentajes de usos etnobotánicos de *Nectandra salicifolia* en Limón chiquito, Veracruz.

Tabla 2. Actividad etnofarmacológica del uso de *Nectandra salicifolia*.

Enfermedad por tratar	Estructura por utilizar	Cantidad	Forma de aplicación	Frecuencia de tratamiento
Dolor estomacal	Hoja	Se desconoce	Té o infusión	Una sola toma
Agilizar parto	Hoja	Se desconoce	Té o infusión	Antes y después del parto

Recolección del ejemplar

Se recolectó las cinco estructuras de *Nectandra salicifolia* (hoja, tallo, flor, raíz y fruto) en las coordenadas latitud N. 20°40'39" longitud W. 97°16'33" y altitud: 27 metros sobre el nivel de mar, de la localidad de limón chiquito. Se herborizó la planta y se elaboró la ficha descriptiva para el micro-herbario (Figura 4 y 5).

	Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Estudios Superiores Zaragoza Laboratorio de Terapia Molecular, UMIEZ	
Plantas Medicinales de Veracruz Región Totonaca		
Nombre científico: <i>Nectandra salicifolia</i> (Kunth.) Nees.		
Nombre común: Laurel		
Nombre en totonaco: Kgeskga		
Familia: LAURACEAE		
No. De colecta: 1 Fecha: 06/05/2022 Col. Barbosa B.B.D Det.		
Coordenadas: Lat. N. 20°40'39" Long. W. 97°16'33" Altitud: 27 msnm		
Localidad: Ejido Limón Chiquito Municipio: Cazones de Herrera		
Datos generales:		
Hábitat: Parcela, Bosque Tropical Subcaducifolio perturbado y orilla de camino		
Abundancia: Medianamente abundante Forma biológica: Árbol Tamaño 5 a 6 m		
Floración: Mar.-Jul. Fructificación: Agt.-Dic. Ciclo de vida: Perenne		
Propagación: Semilla		
Uso (s): Agilizar el parto y para el dolor de estomago		
Parte usada: Hoja Preparación: Cocimiento e infusión		
Administración: Oral Frecuencia: Hasta aliviar el malestar		

Figura 4. Ficha descriptiva con datos generales de *Nectandra salicifolia* en Limón chiquito Veracruz.



Figura 5. Estructuras de *Nectandra salicifolia* (hoja, tallo, flor, fruto y raíz) herborizados para micro-herbario.

Rendimiento del extracto seco de *Nectandra salicifolia*

Después de evaporar la fase líquida de los extractos hidroalcohólicos, en la tabla 3 se muestra el rendimiento calculado de cada una de las estructuras de los extractos de *Nectandra salicifolia*, en donde se puede observar que los extractos de fruto y flor tuvieron el mayor porcentaje de rendimiento de extracción, siendo 3.6478% y 3.3095% respectivamente a comparación de las otras estructuras de la planta.

Tabla 3. Rendimiento de la extracción de *Nectandra salicifolia*

Extracto hidroalcohólico	% de rendimiento
Hoja	2.3823 %
Tallo	1.6535 %
Flor	3.3095 %
Fruto	3.6478 %
Raíz	1.7680 %

Análisis fitoquímico preliminar de los extractos de *Nectandra salicifolia*

En la tabla (4) se presentan los metabolitos identificados para cada estructura. Se utilizó la simbología: (-) ausente, (+) poca presencia, (++) moderada presencia, (+++) (alta presencia), para indicar el grado en que se presenta el metabolito. En las figuras (6 - 18) se observa la identificación de los distintos metabolitos secundarios en las estructuras de: A) hoja, B) Tallo, C) flor, D) fruto, E) raíz.

Tabla 4. Resultados de pruebas de identificación de metabolitos secundarios de *Nectandra salicifolia*

Metabolito secundario	Nombre de la técnica empleada o reactivo	Hoja	Flor	Tallo	Fruto	Raíz
Alcaloides	Mayer	+++	+	++	++	+++
	Wagner	+++	+	++	++	+++
	Dragendorff	+++	+	+	++	+++
Flavonoides	Shinoda	++	++	++	+++	-
Fenoles	Cloruro Férrico	+++	+++	+++	++	++
Taninos	Cloruro Férrico	++	++	+++	++	++
Cumarinas	Baljet	+++	+++	++	+	+
Glicósidos cardiotónicos	Baljet	+++	+++	++	+	+
Saponinas	Afrosimétrico	++	+/-	+	+++	+
	Molisch	+	+	+	+	+++
Esteroides	Lieberman-Burchard	++	+	+/-	++	++

	Salkowski	-	+	+/-	++	++
Quinonas	Borntrager	-	-	-	-	-
Sesquiterpenlactonas	Hidroxamato férrico	+	+	+	++	++
	Lieberman-Burchard	+	+	+	++	++

Muy abundante: +++ Abundante: ++ Poca presencia: + Sin presencia: -

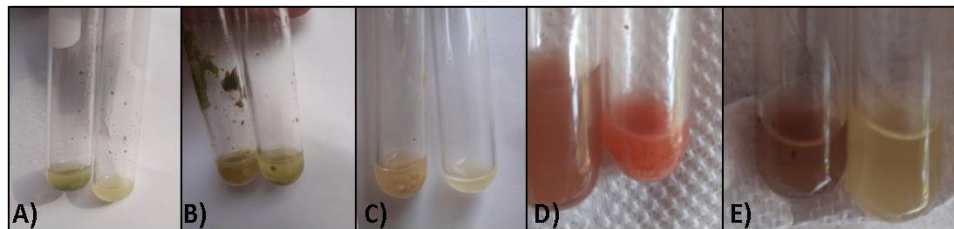


Figura 6. Identificación de alcaloides utilizando la prueba de Mayer, la presencia de un precipitado crema indica la reacción positiva. A) Extracto de hoja. B) Extracto de tallo. C) Extracto de flor. D) Extracto de fruto. E) Extracto de raíz.

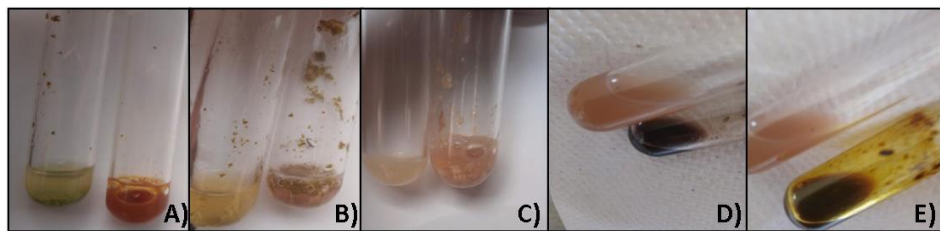


Figura 7. Identificación de alcaloides utilizando la prueba Wagner, la presencia de un precipitado marrón indica la reacción positiva. A) Extracto de hoja. B) Extracto de tallo. C) Extracto de flor. D) Extracto de fruto. E) Extracto de raíz.

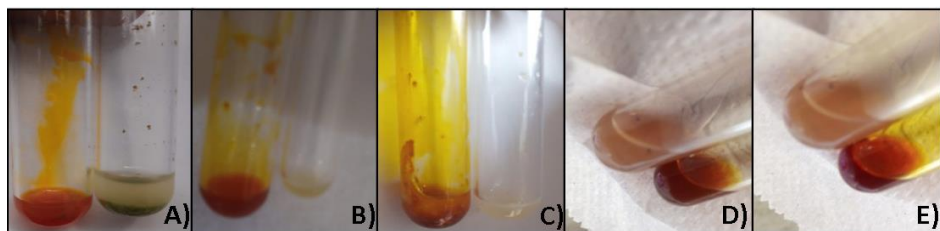


Figura 8. Identificación de alcaloides utilizando la prueba Dragendorff, la presencia de un precipitado naranja marrón indica la reacción positiva. A) Extracto de hoja. B) Extracto de tallo. C) Extracto de flor. D) Extracto de fruto. E) Extracto de raíz.

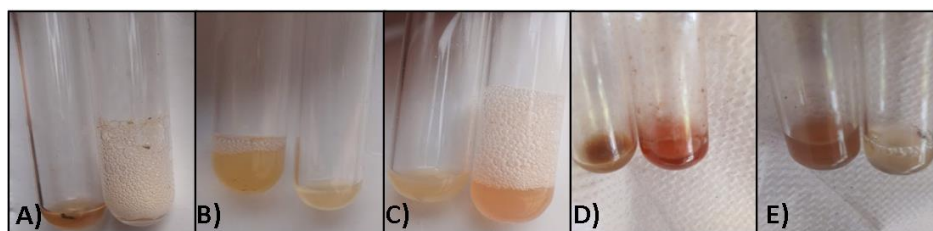


Figura 9. Identificación de flavonoides utilizando la prueba Shinoda, la presencia de una coloración naranja, rojo y amarillo. A) Extracto de hoja. B) Extracto de tallo. C) Extracto de flor. D) Extracto de fruto. E) Extracto de raíz.

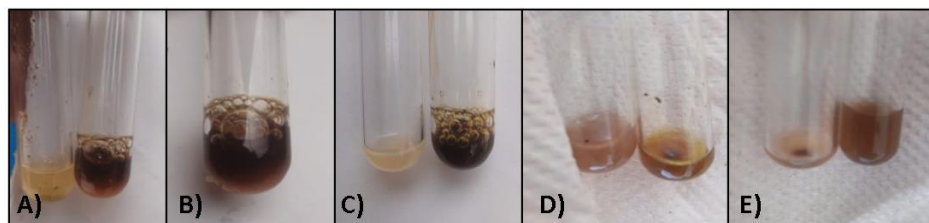


Figura 10. Identificación de fenoles y taninos utilizando la prueba de cloruro férrico, la presencia de color verde, marrón y precipitado indica una reacción positiva. A) Extracto de hoja. B) Extracto de tallo. C) Extracto de flor. D) Extracto de fruto. E) Extracto de raíz.

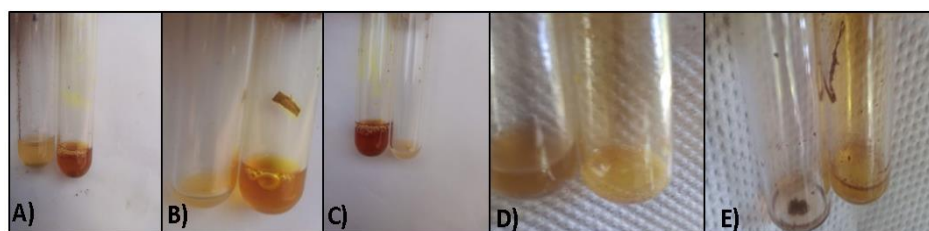


Figura 11. Identificación de cumarinas y glicósidos cardiotónicos utilizando la prueba de Baljet, la presencia de una coloración rojo o naranja indica una reacción positiva. A) Extracto de hoja. B) Extracto de tallo. C) Extracto de flor. D) Extracto de fruto. E) Extracto de raíz.

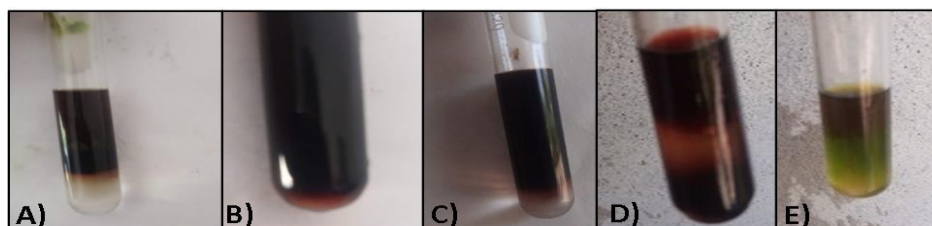


Figura 12. Identificación de carbohidratos utilizando la prueba de Molisch, la presencia de un anillo color violeta indica la reacción positiva. A) Extracto de hoja. B) Extracto de tallo. C) Extracto de flor. D) Extracto de fruto. E) Extracto de raíz.

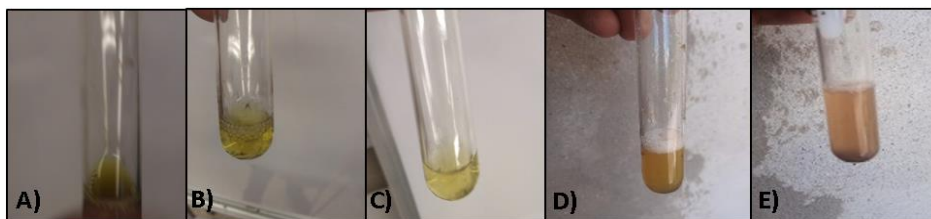


Figura 13. Identificación de saponinas utilizando la prueba afro simétrica, la presencia de espuma indica una reacción positiva. A) Extracto de hoja. B) Extracto de tallo. C) Extracto de flor. D) Extracto de fruto. E) Extracto de raíz.

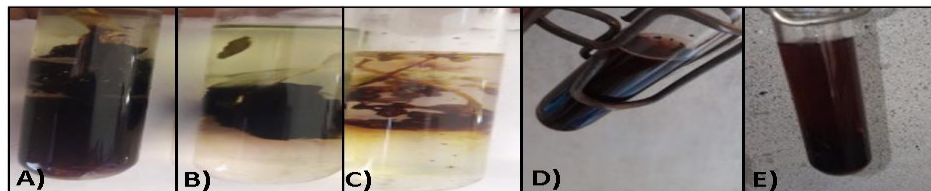


Figura 14. Identificación de esteroides utilizando la prueba Salkowski, la presencia de una coloración naranja reacción positiva. A) Extracto de hoja. B) Extracto de tallo. C) Extracto de flor. D) Extracto de fruto. E) Extracto de raíz.

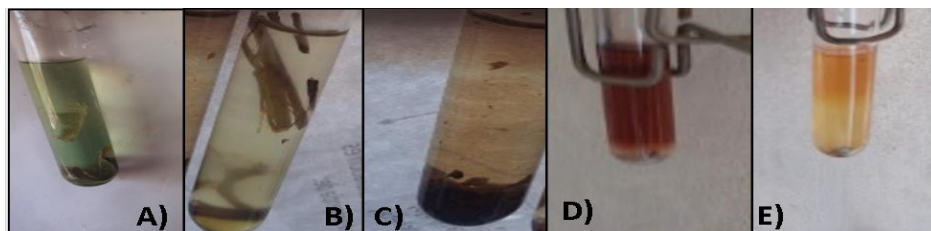


Figura 15. Identificación de esteroides utilizando la prueba Lieberman-Burchard, la presencia de una coloración azul o naranja indica una reacción positiva. A) Extracto de hoja. B) Extracto de tallo. C) Extracto de flor. D) Extracto de fruto. E) Extracto de raíz.

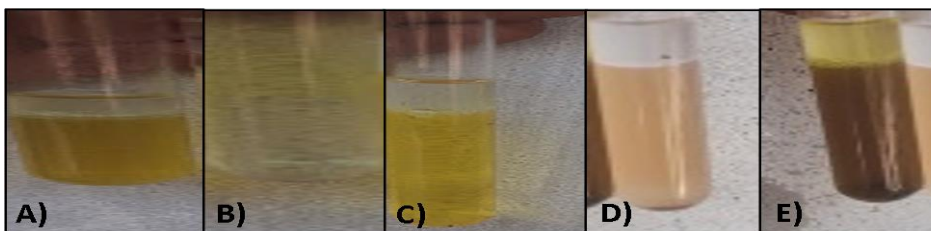


Figura 16. Identificación de quinonas utilizando la prueba Borntrager, la presencia de una coloración roja o rosa indica una reacción positiva. A) Extracto de hoja. B) Extracto de tallo. C) Extracto de flor. D) Extracto de fruto. E) Extracto de raíz.

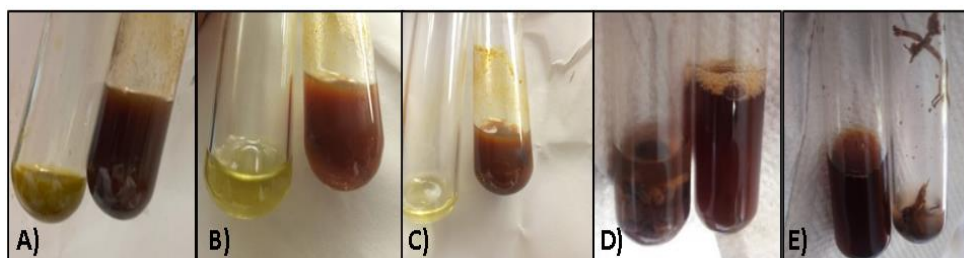


Figura 17. Identificación de lactonas sesquiterpénicas utilizando la prueba hidroxamato férrico, la presencia de un precipitado marrón indica una reacción positiva. A) Extracto de hoja. B) Extracto de tallo. C) Extracto de flor. D) Extracto de fruto. E) Extracto de raíz.

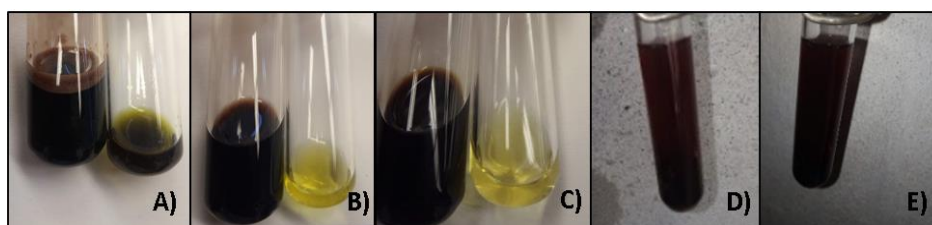


Figura 18. Identificación de lactonas sesquiterpénicas utilizando la prueba Lieberman-Bouchard, la presencia de una coloración violeta oscura indica una reacción positiva. A) Extracto de hoja. B) Extracto de tallo. C) Extracto de flor. D) Extracto de fruto. E) Extracto de raíz.

Cuantificación de metabolitos primarios y secundarios

Después de la identificación de metabolitos secundarios en los extractos de *Nectandra salicifolia*, se cuantifico los metabolitos primarios y los metabolitos secundarios que su reacción fue positiva en las pruebas de identificación fitoquímicas además de corroborar con su presencia, partiendo de los extractos secos se prepararon a una concentración de 5 mg/ml en el solvente que la prueba lo requiera.

En la siguiente tabla (5) se presenta la cuantificación de los metabolitos primarios de *Nectandra salicifolia* expresado en mg/ml. Las pruebas se muestran en las siguientes figuras (19 - 21).

Tabla 5. Cuantificación de metabolitos primarios en extractos hidroalcohólicos de *Nectandra salicifolia*.

Metabolito (expresado como equivalente)	Concentración mg/ml				
	Tallo	Hoja	Raíz	Flor	Fruto
Carbohidratos (Glucosa)	2.52941176	3.50980392	2.68627451	3.19607843	3.39215686
Lípidos (Colesterol)	0.050066079	0.005821586	0.020881057	0.007693833	0.007132159
Proteínas (Albúmina)	1.3108937	1.24564085	0.544172659	1.10534721	0.594743622

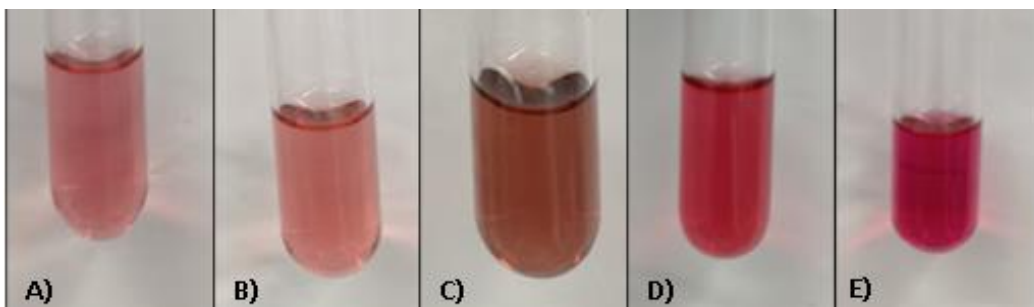


Figura 19. Cuantificación de carbohidratos en extractos de *N. salicifolia*. A) Tallo; B) Hoja; C) Raíz; D) Flor; E) Fruto.

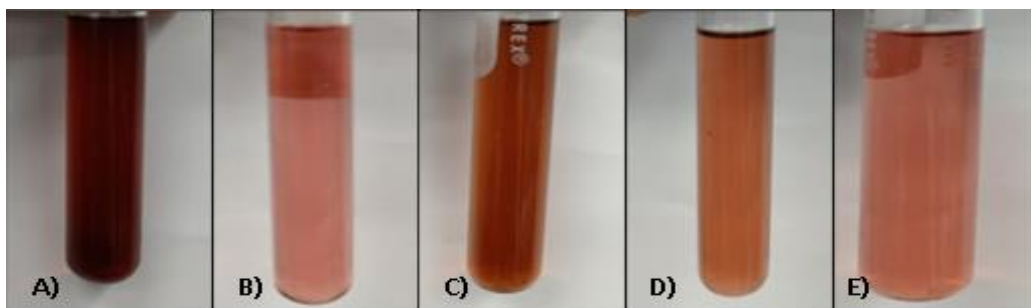


Figura 20. Cuantificación de lípidos en extractos de *N. salicifolia*. A) Tallo; B) Hoja; C) Raíz; D) Flor; E) Fruto.

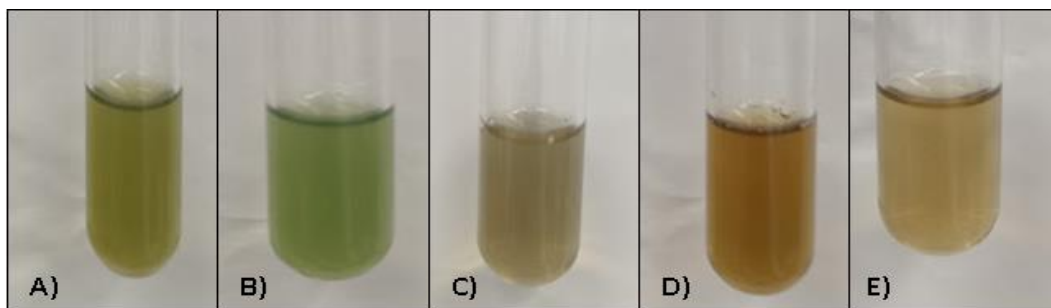


Figura 21. Cuantificación de proteínas en extractos de *N. salicifolia*. A) Tallo; B) Hoja; C) Raíz; D) Flor; E) Fruto.

En la siguiente tabla (6) se presentan las cuantificaciones de los metabolitos secundarios expresadas en mg/ml.

Tabla 6. Cuantificación de metabolitos secundarios en extractos hidro-alcohólicos de *Nectandra salicifolia*.

Metabolito (expresado como equivalente)	Concentración mg/ml				
	Tallo	Hoja	Raíz	Flor	Fruto
Alcaloides (Brucina)	0.08024519	0.08674654	0.1545463	0	0.01430296
Compuestos fenólicos (Ácido gálico)	1.45183824	1.98492647	1.13198529	3.22757353	1.91139706
Taninos (Ácido tánico)	0.46886364	1.12795455	0.271136364	0.81431818	0.25977273
Flavonoides (Quercetina)	0.78387097	1.18419355	0.26774194	1.07419355	0.383870968
Quinonas (p-benzoquinona)	0.05730407	0.07339469	0.03155907	0.06974748	0.04035528
Cumarinas (Umbeliferona)	0.00204642	0.00964743	0.01023212	0.09793603	0.002631117
Glicósidos cardiotónicos (Digoxina)	0.16788321	0.63300227	0.30010769	4.13784851	0.38207491
Saponinas (D-Glucosa)	2.19746177	2.02758069	1.34805636	0.67852503	2.52723094
Esteroides (Colesterol)	0.65877312	0.22350023	0.57081642	0.18516013	0.16035183
Sesquiterpenlactonas (Juanislamina)	0.2395472	0.30801534	0.12999817	2.92495892	0.16742742

En las siguientes figuras (22 - 30) se puede observar la coloración que tomaron las muestras de los extractos de *Nectandra salicifolia* ante las pruebas de cuantificación de metabolitos secundarios.

Al conocer las concentraciones de los distintos grupos de metabolitos secundarios en los extractos de *Nectandra salicifolia* se puede destacar que los metabolitos secundarios con alta concentración dentro de las 5 estructuras fueron los compuestos fenólicos y saponinas.

La estructura que tiene concentraciones moderadas a altas de algunos metabolitos secundarios fue la flor la cual incluyen a los compuestos fenólicos: 3.22757353 mg/ml, flavonoides: 1.07419355 mg/ml, taninos 0.81431818 mg/ml, glicósidos cardiotónicos: 4.13784851 mg/ml y lactonas sesquiterpénicas: 2.92495892 mg/ml.

El siguiente extracto que presenta concentraciones moderadas o altas de los metabolitos secundarios es la hoja con las siguientes concentraciones, compuestos fenólicos: 1.98492647 mg/ml, taninos: 1.12795455 mg/ml, flavonoides: 1.18419355 mg/ml, saponinas 2.02758069 mg/ml y glicósidos cardiotónicos: 0.63300227 mg/ml.

El extracto de tallo tiene concentraciones moderadas con los compuestos fenólicos: 1.45183824 mg/ml, taninos: 0.46886364 mg/ml, flavonoides: 0.78387097 mg/ml, saponinas: 2.19746177 mg/ml y los esteroides: 0.65877312 mg/ml

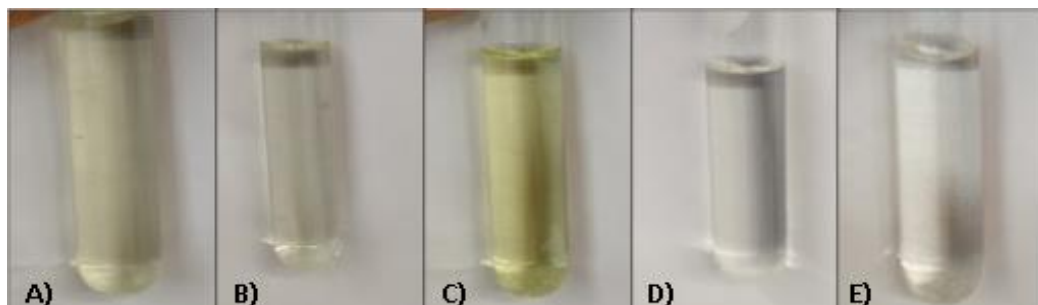


Figura 22. Cuantificación de alcaloides en extractos de *N. salicifolia*. A) Tallo; B) Hoja; C) Raíz; D) Flor; E) Fruto.

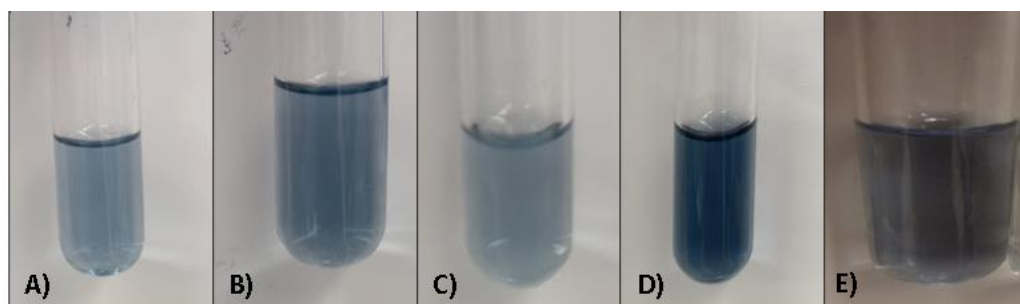


Figura 23. Cuantificación de compuestos fenólicos en extractos de *N. salicifolia*. A) Tallo; B) Hoja; C) Raíz; D) Flor; E) Fruto.

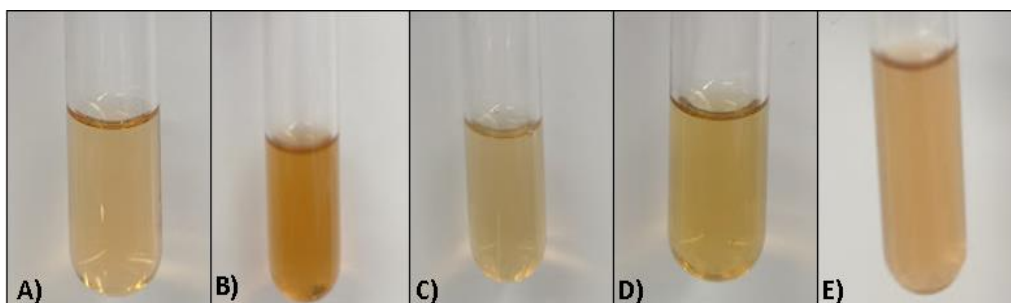


Figura 24. Cuantificación de taninos en extractos de *N. salicifolia*. A) Tallo; B) Hoja; C) Raíz; D) Flor; E) Fruto.

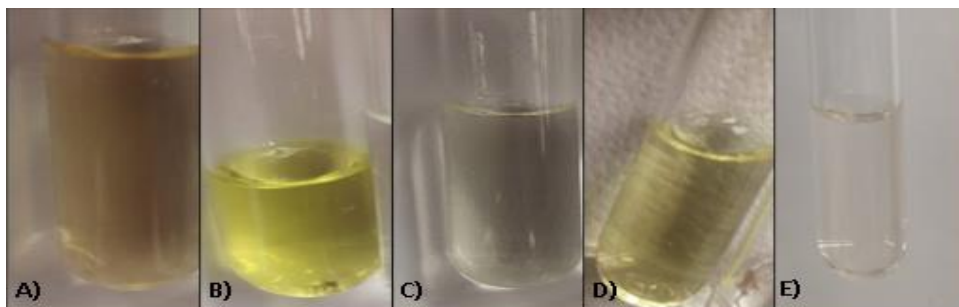


Figura 25. Cuantificación de flavonoides en extractos de *N. salicifolia*. A) Tallo; B) Hoja; C) Raíz; D) Flor; E) Fruto.

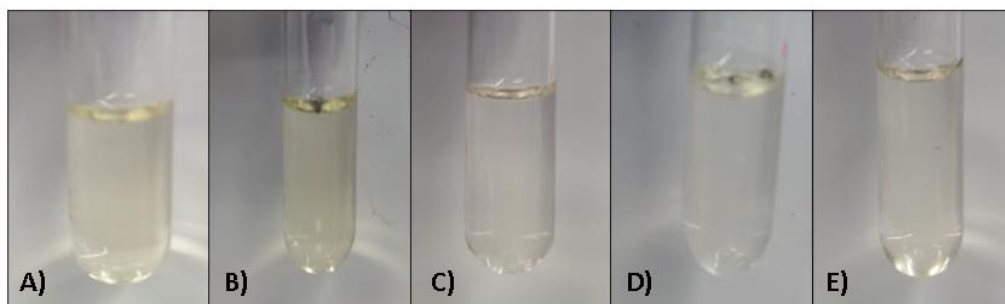


Figura 26. Cuantificación de quinonas en extractos de *N. salicifolia*. A) Tallo; B) Hoja; C) Raíz; D) Flor; E) Fruto.

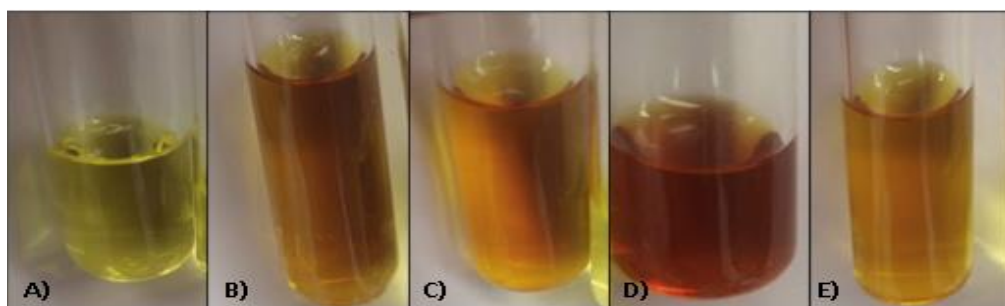


Figura 27. Cuantificación de glicósidos cardiotónicos en extractos de *N. salicifolia*. A) Tallo; B) Hoja; C) Raíz; D) Flor; E) Fruto.

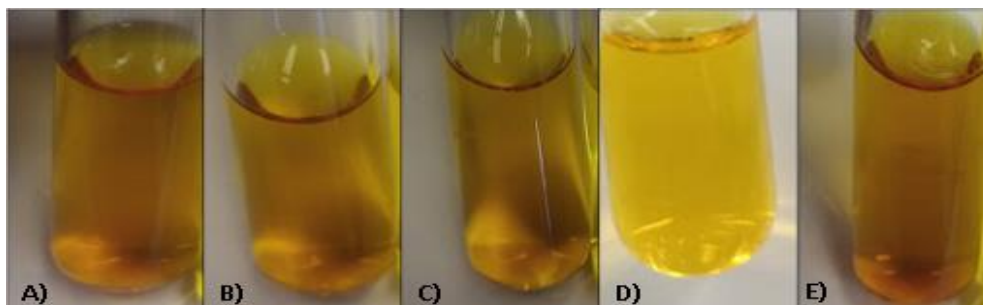


Figura 28. Cuantificación indirecta de saponinas (azúcares reductores) en extractos de *N. salicifolia*. A) Tallo; B) Hoja; C) Raíz; D) Flor; E) Fruto.

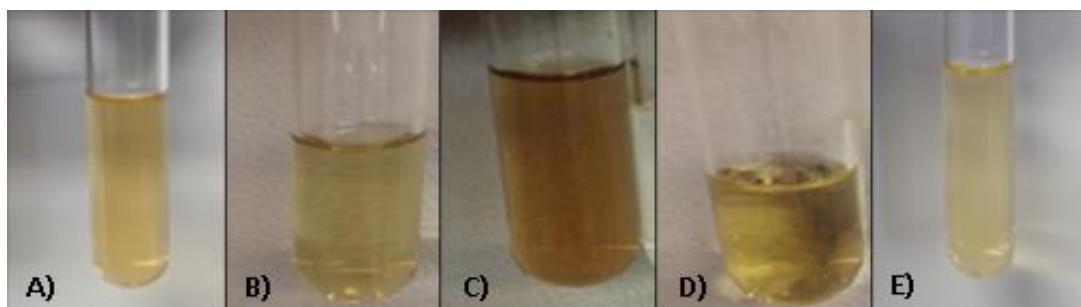


Figura 29. Cuantificación de esteroides en extractos de *N. salicifolia*. A) Tallo; B) Hoja; C) Raíz; D) Flor; E) Fruto.

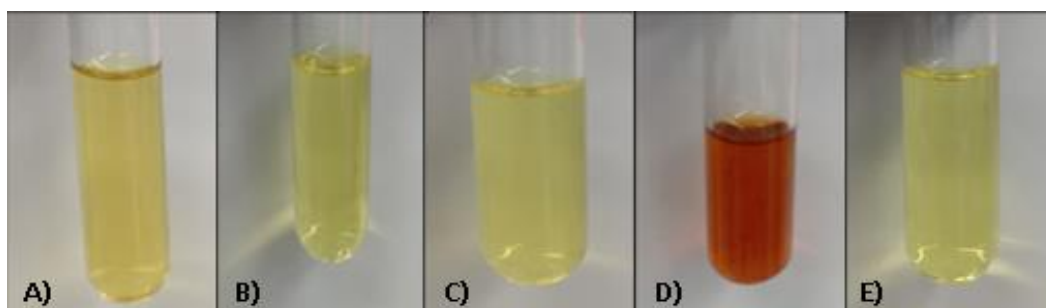


Figura 30. Cuantificación de sesquiterpenolactonas en extractos de *N. salicifolia*. A) Tallo; B) Hoja; C) Raíz; D) Flor; E) Fruto.

Actividad antioxidante de *Nectandra salicifolia*

Se evaluó la actividad antioxidante de los extractos hidroalcohólicos de *Nectandra salicifolia* por medio del radical DPPH, en la tabla 7 se muestra el porcentaje de eliminación de los extractos hidroalcohólicos de *Nectandra salicifolia* comparándolo con un antioxidante como el ácido ascórbico con la misma concentración del extracto (Figura 31). En donde se puede observar que el porcentaje de eliminación de radicales libre de los extractos de hoja (95.8516155 %), tallo (93.9715016 %) y flor (91.7602996 %) presentaron un mayor porcentaje de eliminación de radicales libres a comparación del ácido ascórbico (90.0193798 %).

Tabla 7. Actividad antioxidante de extractos hidroalcohólicos de *Nectandra salicifolia* por el ensayo de eliminación de radicales libres de DPPH.

Concentración de extracto (5 mg/ml)	% de eliminación de radicales libres
Tallo	93.971 %
Hoja	95.851 %
Raíz	78.467 %
Flor	91.760 %
Fruto	83.635 %
Ácido ascórbico	90.019 %

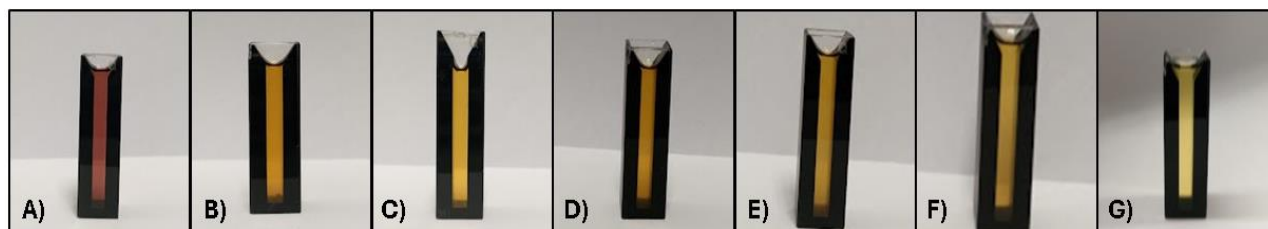


Figura 31. Determinación de actividad antioxidante por DPPH. A) Reactivo de DPPH; B) Extracto de tallo; C) Extracto de hoja; D) Extracto de raíz; E) Extracto de flor; F) Extracto de fruto; G) Ácido ascórbico.

Evaluación de efecto antiinflamatorio por inducción de edema

Después de inducir el edema plantar a los grupos correspondientes de ratones, se midió con ayuda de un vernier la longitud de su pata cada 30 minutos, en la siguiente gráfica (figura 32) se muestra el efecto antiinflamatorio que tuvieron los ratones en el edema plantar con el tratamiento de los extractos de *Nectandra salicifolia*. En la tabla 8 se muestra el incremento de la longitud de la inflamación de la pata derecha, valor medio (n=6), en donde se puede observar que los extractos de tallo y flor tiene efecto antiinflamatorio al inhibir la formación del edema similar a la indometacina. Los extractos de hoja y fruto no tuvieron un efecto antiinflamatorio significativo en el edema plantar que se pudiera percibir en los 120 minutos evaluados.

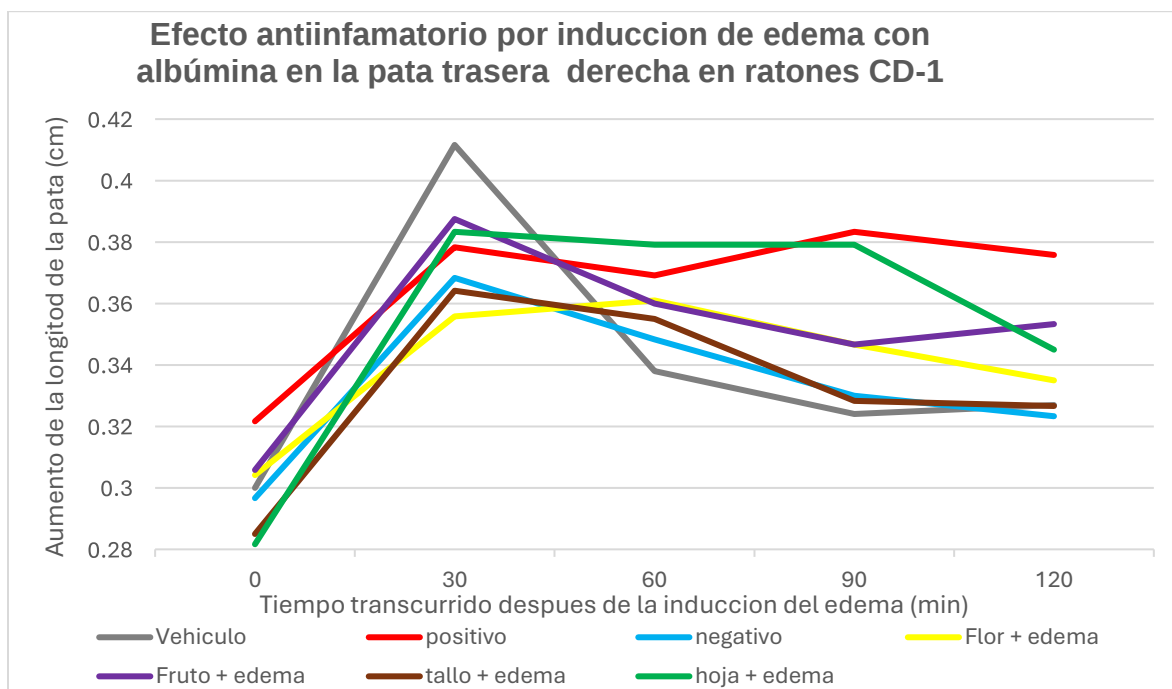


Figura 32. Gráfica de efecto antiinflamatorio de los extractos hidroalcohólicos de *Nectandra salicifolia*.

Tabla 8. Efecto de los extractos de *N. salicifolia* sobre edema inducido por albúmina de huevo (n=6, media $\pm$ error estándar de la media).

Grupo tratado	Incremento de la longitud de la pata (cm)				
	0 min	30 min	60 min	90 min	120 min
Vehículo	0.300 $\pm$ 0.000	0.412 $\pm$ 0.016	0.338 $\pm$ 0.016	0.324 $\pm$ 0.008	0.327 $\pm$ 0.012
Positivo	0.322 $\pm$ 0.016	0.378 $\pm$ 0.019	0.369 $\pm$ 0.012	0.383 $\pm$ 0.009	0.376 $\pm$ 0.013
Negativo (Indometacina)	0.297 $\pm$ 0.008	0.368 $\pm$ 0.013	0.348 $\pm$ 0.016	0.330 $\pm$ 0.006	0.323 $\pm$ 0.008
Extracto de hoja	0.282 $\pm$ 0.018	0.383 $\pm$ 0.017	0.379 $\pm$ 0.013	0.379 $\pm$ 0.024	0.345 $\pm$ 0.011
Extracto de tallo	0.285 $\pm$ 0.014	0.364 $\pm$ 0.016	0.355 $\pm$ 0.014	0.328 $\pm$ 0.007	0.327 $\pm$ 0.005
Extracto de fruto	0.306 $\pm$ 0.006	0.388 $\pm$ 0.010	0.360 $\pm$ 0.015	0.347 $\pm$ 0.010	0.353 $\pm$ 0.016
Extracto de flor	0.304 $\pm$ 0.007	0.356 $\pm$ 0.005	0.361 $\pm$ 0.010	0.347 $\pm$ 0.007	0.335 $\pm$ 0.008

Evaluación del ensayo de permeabilidad vascular

Se evaluó la permeabilidad vascular de todos los grupos de ratones, en donde se cuantifico la concentración de azul de Evans extravasado en los tejidos que se extrajeron, (bazo, riñones e hígado) (Anexo 2. Figuras de la extravasación de azul de Evans en ratones.). Estos órganos se eligieron debido a que ante un estímulo inflamatorio la permeabilidad vascular de estos aumenta, por diversas señalizaciones celulares, para poder mediar la inflamación causada por el edema plantar.

En las siguientes gráficas (figuras 33, 34 y 35) se presentan la concentración de azul de Evans extravasado en cada uno de los grupos de ratones y en la tabla 9 se muestran los valores medios de la concentración de azul de Evans extravasado en cada tejido.

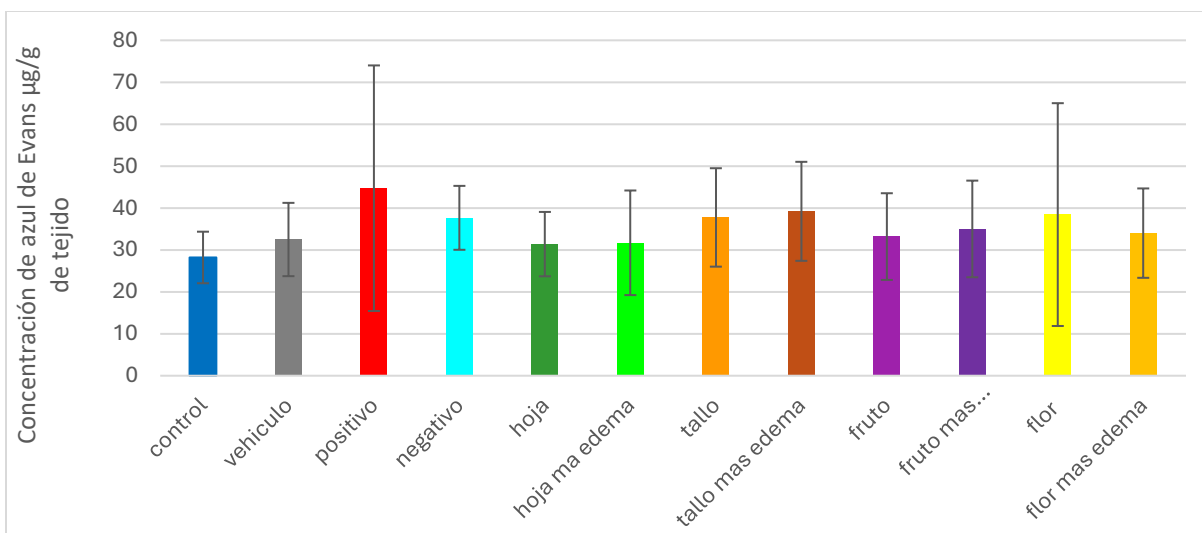


Figura 33. Gráfica de concentración de azul de Evans extravasado en bazo en ratones CD-1.

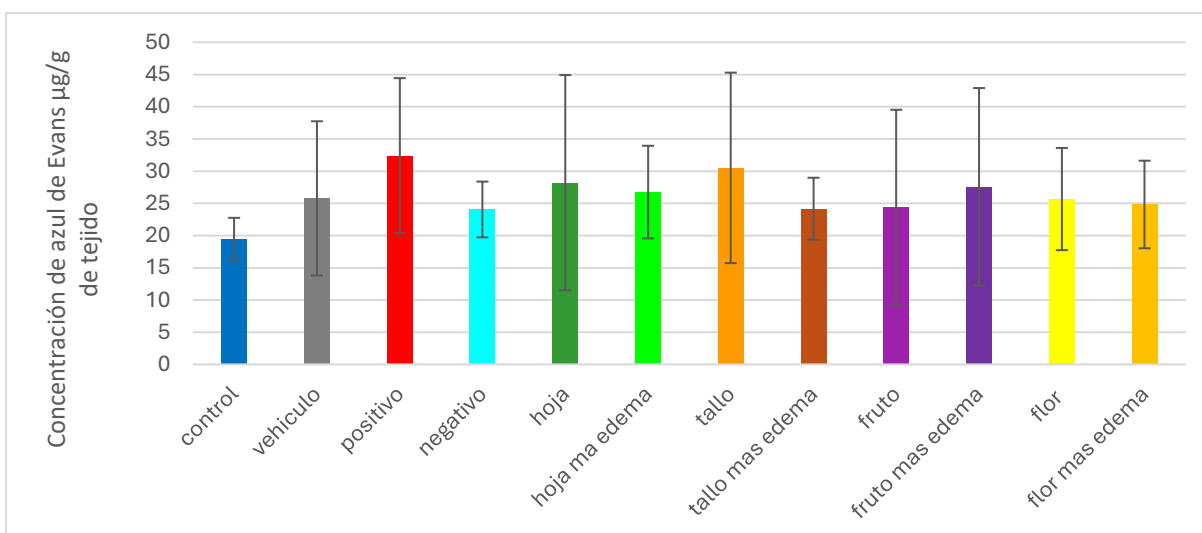


Figura 34. Gráfica de concentración de azul de Evans extravasado en riñones en ratones CD-1.

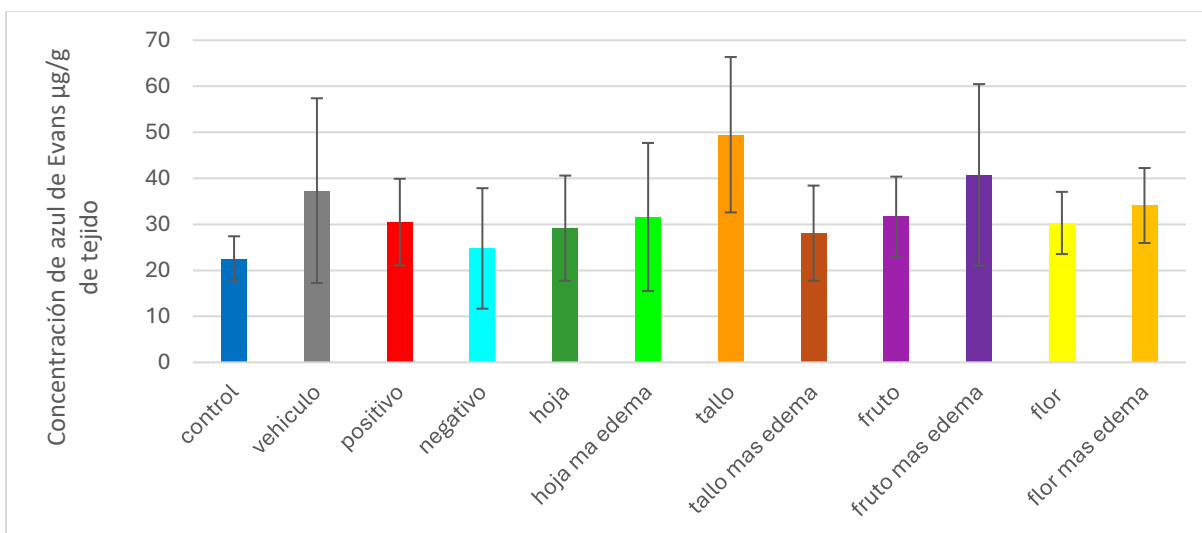


Figura 35. Gráfica de concentración de azul de Evans extravasado en hígado en ratones CD-1.

Tabla 9. Concentración de azul de Evans extravasado en cada tejido (n=6, media ± error estándar de la media).

Grupo tratado	Concentración de azul de Evans µg/g de tejido extravasado		
	Bazo	Riñones	Hígado
Control	28.206±2.510	19.392±1.372	22.513±1.998
Vehículo	32.486±3.911	25.777±5.353	37.323±8.981
Positivo	44.726±11.957	32.409±4.913	30.498±3.841
Negativo	37.657±3.113	24.052±1.767	24.764±5.347
Hoja	31.388±3.134	28.218±6.820	29.170±4.669
Hoja + edema	31.704±5.093	26.749±2.936	31.599±6.571
Tallo	37.754±4.793	30.514±6.037	49.481±6.895
Tallo + edema	39.211±4.821	24.173±1.962	28.085±4.223
Fruto	33.186±4.220	24.416±6.170	31.697±3.543
Fruto + edema	35.008±4.706	27.587±6.254	40.751±8.055
Flor	38.434±10.847	25.667±3.239	30.304±2.761
Flor + edema	34.012±4.353	24.829±2.775	34.094±3.326

Análisis de resultados

Estudio etnobotánico

El estudio etnobotánico de *Nectandra salicifolia* en la comunidad de limón chiquito Veracruz nos indica que el uso medicinal es casi nulo. En la figura 3 se muestra que de las 50 entrevistas etnobotánicas la mayoría de los habitantes (20 personas entrevistadas) no conocen algún uso terapéutico de esta especie, la mayoría de las personas le da un uso ornamental (16 personas). Sin embargo, algunas personas (9 habitantes) nos

indicaron que usan la planta para tratar el dolor estomacal. Por último, el menor porcentaje lo representa 5 personas que nos indicaron que la usan para agilizar el parto. En ambos tratamientos los habitantes entrevistados nos indicaron que se usan las hojas de esta planta (aproximadamente 20 gramos), se toman en infusiones durante el dolor estomacal y antes de entrar en labor en parto. El uso de *Nectandra salicifolia* ante estos padecimientos toma relevancia en este estudio etnobotánico, ya que no se ha tenido reportes antes estos malestares en específico.

Aunque la comunidad de limón chiquito, Veracruz no conoce muchos usos medicinales de *Nectandra salicifolia*, se ha reportado que en que esta especie tiene algunas actividades biológicas benéficas. Böhlke *et al.* (1996) realizaron un estudio de *Nectandra salicifolia* donde se evaluó la actividad antiplasmodial de los extractos metanólicos de corteza, raíz y hojas. Se asilaron principalmente 15 alcaloides entre ellos la costaricina a la cual se le atribuye la actividad antiplasmodial. Este alcaloide está presente en los extractos de raíz y corteza. Por otro lado, Shish *et al.* (1998) hicieron un estudio etnodirigido y aleatorios para encontrar tratamientos naturales de trastornos cardiovasculares entre las especies que reportaron actividad vasoactiva se encuentra *Nectandra salicifolia* en el extracto de hoja principalmente. Estos dos últimos estudios corroboran los usos medicinales que los habitantes de comunidad de limón chiquito le dan a esta especie, pues tienen una actividad bioactiva en la relajación de músculos lisos, lo que podría relacionarse al dolor de estómago y aceleración de partos. Esto también podría deberse a los compuestos fitoquímicos reportados, principalmente alcaloides (Grecco *et al.*, 2016), que potencialmente se le pueden atribuir otras actividades biológicas como antidepresiva, anticancerígena, antiulcerogénico y antiinflamatorios (Böhlke *et al.*, 1996). Esta planta no ha tenido un estudio fitoquímico detallado, pues no se han identificado otros grupos de metabolitos secundarios presentes en las estructuras de *Nectandra salicifolia*, debido a esto fue de tal importancia realizar las pruebas de identificación de metabolitos secundarios correspondientes a las estructuras de hoja, tallo, flor fruto y raíz.

Ensayo fitoquímico preliminar o *in situ*

Después de los ensayos de identificación *in situ* de los metabolitos secundarios presentes en las estructuras de *Nectandra salicifolia* se encontraron la presencia de alcaloides, cuya reacción fue más visible en los extractos de hoja, tallo y raíz, lo que ratifica lo antes reportado por Böhlke *et al.* (1996) y posteriormente se corroboró con la cuantificación de este metabolito secundario. También se identificaron una alta presencia de compuestos fenólicos en las 5 estructuras de *Nectandra salicifolia*, hasta donde se tiene registro, no se ha hecho un análisis fitoquímico de compuestos fenólicos en *N. salicifolia*, los únicos reportes que se tiene de identificación de algunos grupos de compuestos fenólicos, es la identificación de flavonoides, fenilpropanoides y ligninas presentes en distintas especies del género *Nectandra* recopilado en el estudio de Grecco *et al.* (2016).

En las identificaciones preliminares de metabolitos secundarios en las estructuras de *N. salicifolia*, se identificaron distintos grupos de compuestos fenólicos como los taninos y cumarinas en las 5 estructuras. Los taninos reaccionan de igual forma que los fenoles con el cloruro férrico, esta reacción indica su presencia por la formación colorimétrica del color verde la cual no es tan apreciable como el color marrón que indica la alta presencia de compuestos fenólicos, esto puede deberse a la polaridad del solvente en que se usó para su identificación en los extractos, pues se modifica la extracción de estos compuestos dependiendo la polaridad en que se vea favorecida para la extracción de estos metabolitos secundarios. Los flavonoides se identificaron en la flor, tallo y fruto por ultimo las quinonas no se identificaron en todas las estructuras (tabla 4) sin embargo se evaluó la concentración de estos metabolitos en las cuantificaciones que se abordara con más detalle a continuación.

El último grupo de metabolitos identificados en *N. salicifolia* pertenecen a los terpenos que incluyen lactonas sesquiterpénicas, triterpenos y saponinas, en donde la reacciones de identificación fueron visibles en la mayoría de los extractos, exceptuando al extracto de flor, la cual no fue muy perceptible la reacción de la prueba afro simétrica de saponinas, de igual manera el extracto tallo y hoja en la prueba de Salkowski la reacción no fue muy perceptible, sin embargo se cuantifico estos metabolitos en los extractos para corroborar su presencia.

Otra identificación que indica la presencia de terpenos es la de glicósidos cardiotónicos, sin embargo, la reacción de la prueba no es exclusiva de este metabolito, pues también identifica las cumarinas ya que en ambos casos lo que se identifica es el anillo lactónico que está presente en estos (Venugopala *et al.*, 2013) (Amaringo-Villa *et al.*, 2011). Por último, las reacciones de identificación de las lactonas sesquiterpénicas fueron muy perceptibles en todas las estructuras.

Se identificaron una gran cantidad de metabolitos secundarios en las estructuras de *Nectandra salicifolia*, se corrobora la presencia de alcaloides, como lo reportan Böhlke *et al.*, (1996). Al reconocer la presencia de estos metabolitos secundarios en los diferentes extractos de la planta, puede significar que tenga propiedades biológicas que no se han reportado de esta especie y que en la comunidad de limón chiquito aún no se tenga conocimiento. A continuación, se describe las propiedades biológicas que tiene cada metabolito secundario identificado, además de conocer la concentración de estos en cada extracto.

Cuantificación de metabolitos en extracto

En la cuantificación de metabolitos secundarios se realizó a partir del extracto hidroalcohólico seco disuelto en el solvente que la técnica lo requiera a una concentración de 5 mg/ml. A partir de esta concentración se cuantifico la concentración de metabolitos como equivalentes del patrón empleado para la curva de calibración

Para la cuantificación de alcaloides se utilizó la brucina como patrón de este metabolito secundario (Figura 36). La concentración más alta se presentó en el extracto de raíz

(0.1545463 mg/ml) seguidas por el extracto de hoja (0.08674654 mg/ml) y tallo (0.08024519 mg/ml) (Tabla 6) (Figura 22).

En el estudio reportado por Böhlke *et al.* (1996), los alcaloides caracterizados que se aislaron en los extractos metanólicos de *Nectandra salicifolia* fueron representados como el porcentaje del peso total de la parte de la planta. En el extracto metanólico de la raíz se aisló un total 827.2 mg de alcaloides en 190 g de raíz lo que represento 0.435%, si comparamos este porcentaje con el extracto hidroalcohólico de raíz que se hizo en este trabajo (0.1545463 mg/ml equivalentes de brucina presentes en 5 mg/ml de extracto), el porcentaje de este es mayor (haciendo el cálculo es aproximadamente 3.09%). El extracto metanólico de hoja y ramas en donde Böhlke *et al.* (1996) mencionan que se aisló un total de 6.9 mg de alcaloides caracterizados en 274.3 g de hoja que represento un porcentaje de 0.0025%, que de igual forma es menor a la calculada de este trabajo (0.08674654 mg/ml en 5 mg/ml de extracto hidroalcohólico de hoja, que representa 1.7349%). En este trabajo no se tomó en cuenta la corteza del tronco de la planta, al contrario de Böhlke *et al.* (1996), en donde aislaron 1766.6 mg de alcaloides caracterizados en 117.5 g de extracto metanólico de corteza de tronco (1.503%).

La diferencia de concentración de alcaloides puede deberse a distintos factores, como puede ser el distinto entorno donde creció la especie, ya que Böhlke *et al.* (1996) hicieron su recolectas en la provincia de Puntarenas y la provincia de Limón, ambas localizadas en Costa Rica. Los extractos de este trabajo fueron recolectados en el ejido de Limón Chiquito, Veracruz, de esta forma diferencias en el entorno como el tipo de suelo, el clima y la vegetación presente, puede alterar la síntesis de los alcaloides. Además, el solvente que se usó para la elaboración de los extractos de *Nectandra salicifolia* fue metabólico en el estudio hecho por Böhlke *et al.* (1996), y en este trabajo se usó un solvente hidroalcohólico, lo que puede modificar la extracción de los alcaloides.

Como ya se ha abordado anteriormente la presencia de estos alcaloides puede conferirles a los extractos de *Nectandra salicifolia* distintas actividades biológicas, como una actividad antiplasmodial, antitumoral, analgésico, vaso relajante entre otras (Grecco *et al.*, 2016). La estructura química que tienen los alcaloides le dan esta capacidad de tener estas actividades biológicas (Daley & Cordell, 2021).

Aunque no se tiene registro de análisis fitoquímicos de compuestos fenólicos presentes de *Nectandra salicifolia*, este fue uno de los grupos de metabolitos secundarios con mayor concentración en los extractos de esta planta, siendo el extracto de flor con la mayor concentración (3.22757353 mg/ml) seguida por el extracto hoja (1.98492647 mg/ml), fruto (1.91139706 mg/ml), tallo (1.45183824 mg/ml) y raíz (1.13198529 mg/ml) (Tabla 6) (Figura 23), el patrón utilizado para evaluar la concentración de compuestos fenólicos fue el ácido gálico (Figura 37). Los compuestos fenólicos se han examinado ampliamente debido a sus actividades biológicas, como anticancerígenas, antioxidantes, antiinflamatorias, inhibidoras de la oxidación del ADN, anti hiperglucémicas y antimicrobianas (Shahidi & Hossain, 2023). La estructura química de los compuestos fenólicos formada principalmente por un grupo fenilo sustituido por un grupo carboxílico

con uno o más grupos hidroxilo le da esta versatilidad de eliminar radicales libres y la capacidad de quelación de metales, de esta manera evita algunos problemas celulares como la oxidación del ADN al inhibir la escisión de la cadena superenrollada inducida por radicales libres como el hidroxilo y peroxilo. También inhiben la actividad de enzimas que causan la hiperglucemia. En particular, la α -glucosidasa hidroliza los residuos de α -D-glucosa unidos a 1,4 de las unidades de disacáridos, lo que permite la absorción gastrointestinal (Shahidi & Hossain, 2023).

La concentración de taninos en los extractos de *Nectandra salicifolia* presentaron los siguientes valores, el extracto de hoja (1.12795455 mg/ml) fue la que presento mayor concentración seguido por el extracto de flor (0.81431818 mg/ml), tallo (0.46886364 mg/ml), raíz (0.271136364 mg/ml) y fruto (25977273 mg/ml) (Tabla 6) (Figura 24), el patrón que se uso fue el ácido tánico (Figura 38). Este metabolito es uno de los más importantes dentro de los compuestos fenólicos, ya que tienen la capacidad de unirse a macromoléculas y formar quelatos con cationes de minerales en donde eliminando parcialmente cantidades de hierro y cobre (Pizzi, 2019). Estos metabolitos poseen distintas propiedades que se le pueden atribuir a *Nectandra salicifolia* a las cuales se incluyen astringentes, antivirales, antioxidantes, cicatrizantes etc. (Fraga-Corral *et al.*, 2020).

Los flavonoides presentes en los extractos de *N. salicifolia* se ven mayormente representados en el extracto de hoja (1.18419355 mg/ml), flor (1.07419355 mg/ml), tallo (0.78387097 mg/ml) (tabla 6) (figura 29), el patrón para poder cuantificar los flavonoides presentes fue la quercetina (Figura 39). Los flavonoides al pertenecer al grupo de los compuestos fenólicos comparten actividades biológicas y como antioxidantes, antiinflamatorios, etc. (Nishiumi *et al.*, 2011). Shahidi & Hossain (2023), mencionan que este grupo tiene una alta capacidad de inhibir α -glucosidasa en la regulación de la hiperglucemia, posiblemente por los grupos hidroxilo que tienen en sus estructuras.

Entre otros metabolitos que se agrupan dentro de los compuestos fenólicos se encuentran las quinonas y cumarinas presentes en los extractos de *Nectandra salicifolia* (tabla 6). En la cuantificación de quinonas, la concentración más alta la presento el extracto de hoja (0.07339469 mg/ml) y flor (0.06974748 mg/ml). Las quinonas, tienen diversas actividades biológicas como antiparasitarios, antibacterianos, antifúngico, anticancerígenos, antiinflamatorios (Babula *et al.*, 2009). Dai *et al.*, (2014) reportan actividad antiparasitaria en distintas antraquinonas aisladas como la aloe-emodina, también mencionan que la presencia de grupos hidroxilo unidos por enlaces de hidrogeno le da esta propiedad biológica, que aumenta al acetilar al alcohol primario. Igualmente se menciona que la posición y el número de oxigenaciones del grupo fenilo influyen en la actividad antiplasmodial.

Por otra parte, las cumarinas presentan la mayor concentración en la flor (0.09793603 mg/ml). El patrón que se usó para cuantificar las cumarinas fue la umbeliferona (Figura 40). Entre las propiedades bioactivas de las cumarinas se incluyen actividad

antiinflamatoria, anticoagulante, antibacteriana, antifúngica, antivirales, entre otros (Venugopala *et al.*, 2013).

Al igual que los compuestos fenólicos, no se tiene registro de análisis fitoquímicos de metabolitos secundarios terpenoides en *Nectandra salicifolia*, sin embargo, Grecco *et al.* (2016) en su revisión de compuestos fitoquímicos de distintas especies del género *Nectandra*, reporta la identificación de monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, politerpenos y algunos esteroides presentes en distintas estructuras como en hoja, tronco, frutos, ramas etc., de una variedad de especie pertenecientes a este género *Nectandra*, además de una variedad de propiedades biológicas.

Los glicósidos cardiotónicos en los extractos de *N. salicifolia* se ve mejor representado en el extracto de flor (4.13784851 mg/ml) por su alta concentración seguida por la hoja (0. 63300227 mg/ml), fruto (0. 38207491 mg/ml), raíz (0. 30010769 mg/ml) y tallo (0.16788321 mg/ml) (tabla 6) (figura 31). El patrón para poder cuantificar a los glicósidos cardiotónicos fue la digoxina (figura 42). Principalmente estos metabolitos secundarios tienen las propiedades biológicas benéficas para el corazón, a las cuales se incluyen la insuficiencia cardiaca, la acción tónica y fortalecedora del corazón (Gerakaris *et al.*, 2022). También se ha demostrado que fármacos como la digoxina tiene propiedades antiinflamatorias al inhibir citocinas proinflamatorias (Meng *et al.*, 2023). También se ha demostrado que inhibe la producción de óxido nítrico y TNF- α inducida por lipopolisacáridos, además de promover la translocación inducida por lipopolisacáridos del factor nuclear NF- κ B (Liu, 2022).

Las saponinas fue el siguiente grupo terpenoide al ser cuantificado, sin embargo, esta se hizo de una forma indirecta al cuantificar los azúcares reductores, pues como se sabe la estructura química de las saponinas está compuesta por una aglicona terpenoide unidos a una azúcar como por ejemplo la D-glucosa (Tan *et al.*, 2022), misma que fue utilizado como patrón para cuantificar a los azúcares reductores (Figura 43). El extracto de fruto obtuvo mayor concentración (2.52723094 mg/ml), seguido por el extracto de tallo (2.19746177 mg/ml) y hoja (2.02758069 mg/ml), lo que se corrobora con la prueba afro simétrica en donde estos tres extractos se formó la espuma después de la prueba (Tabla 4 y 6) (figura 13 y 32). Las saponinas tienen diversas propiedades biológicas a las cuales se incluyen actividad hemolítica, hipoglucemiante, antiinflamatorias, antitumorales, antibacterianas, antivirales, analgésicas, entre otras (Tan *et al.*, 2022) (Li *et al.*, 2023). La estructura antes mencionada de las saponinas al tener un componente hidrófilo (la azúcar) y componente lipófilo (la algicona) al interactuar con el agua provoca la espuma y al interactuar con la membrana celular provoca la hemólisis (Timilsena *et al.*, 2023). También se ha reportado que las saponinas forman complejos insolubles con 3- β -hidroxiesteroides y se sabe que interactúan con los ácidos biliares y el colesterol, formando micelas mixtas grandes. Se cree que estas funcionalidades dan como resultado las capacidades de reducción del colesterol (Timilsena *et al.*, 2023)

Los esteroides en los extractos de *Nectandra salicifolia*, fue el siguiente grupo de terpenos en ser cuantificado en las estructuras de la planta, se usó como patrón el

colesterol, ya que este es un precursor de los esteroides vegetales como brasinoesteroides y fitoesteroles (Tarkowská, 2019) (Figura 44). Los extractos de *Nectandra salicifolia* presentaron las siguientes concentraciones; tallo (0.65877312 mg/ml), seguida por la raíz (0.57081642 mg/ml) (tabla 6) (figura 33). Se le atribuyen ciertas propiedades biológicas como antitumorales, inmunosupresoras, hepatoprotectoras, antibacterianas, reguladoras del crecimiento vegetal, antihelmínticos, citotóxicos y cardiotónicos (Boncan *et al.*, 2020).

El ultimo metabolito secundario pertenecientes a los terpenoides cuantificado en *Nectandra salicifolia* fueron las lactonas sesquiterpénicas, que se ve mayormente concentrado en el extracto de flor (2.92495892 mg/ml), seguida por la hoja (0.30801534 mg/ml) y tallo (0.2395472 mg/ml) (tabla 6) (figura 34). Algunas de las propiedades biológicas que ha demostrado tener las lactonas sesquiterpénicas son; antiinflamatorios, antipalúdicos, antitumorales, antiulcerosos, neurotóxicos, actividades cardiotónicas y actividades antineoplásica (Shoaib *et al.*, 2017). Chadwick *et al.* (2013) reporta que la unidad α -metilen- γ -lactona (α MyL) que incluye un oxígeno con una función carbonilo, presente en las estructuras de las lactonas sesquiterpénicas es el responsable de las propiedades biológicas como el tratamiento de tumores o la regulación arterial, ya que tiene el poder de alquilación sobre los factores de transcripción y enzimas afectando su funcionamiento. Se forma tras la oxidación de C12 para formar la función carbonilo, seguida de la hidroxilación en C6 o C8, lo que da como resultado la formación de la estructura de anillo en un proceso denominado lactonización.

Estos metabolitos secundarios presentes en los extractos de *N. salicifolia* pueden otorgarle la propiedad antioxidante, principalmente por la estructura química que tienen estos grupos de metabolitos secundarios, la presencia de grupos funcionales como hidroxilo, metoxilo etoxilo, amino etc., favorecen a la neutralización de radicales libres, la inhibición de oxidación lipídica, disminución del estrés oxidativo en entre otros mecanismos.

Cuantificación de metabolitos primarios

Los carbohidratos fueron los metabolitos primarios mejor representados en los extractos de *Nectandra salicifolia* (hoja: 3.50980392 mg/ml, fruto: 3.39215686 mg/ml, flor 3.19607843 mg/ml, raíz: 2.68627451 mg/ml y tallo: 2.52941176 mg/ml) (tabla 5). Los carbohidratos en las plantas pueden derivar a distintos metabolitos como los alcaloides, compuestos fenólicos y algunos terpenos como las saponinas siguiendo algunas rutas específicas como la vía del shikimato que derivan a los compuestos fenólicos (Sharma & Gupta, 2020). Esta alta concentración puede derivar a la síntesis de los metabolitos antes mencionados, si se sometiera a un estrés fisiológico de la planta provocado, por el cambio de clima, el tipo de suelo o la contaminación presente (Al-Khayri *et al.*, 2023).

Las proteínas presentaron las siguientes concentraciones en los extractos (tallo: 1.3108937 mg/ml hoja: 1.24564085 mg/ml raíz: 0.544172659 mg/ml flor 1.10534721 mg/ml y fruto: 0.594743622 mg/ml) (tabla 5). Este metabolito primario puede derivar en

los alcaloides a partir de los aminoácidos comunes como el triptófano, la tirosina, ácido aspártico y la lisina. Los extractos de tallo y hoja al tener altas concentraciones de proteínas pueden derivar a la síntesis de más alcaloides en la planta que puede ser causada a la exposición de una infección microbiana (Al-Khayri *et al.*, 2023).

Por ultimo los lípidos presentaron las siguientes concentraciones en los extractos de tallo (0.050066079 mg/ml), hoja (0.005821586 mg/ml), raíz (0.020881057 mg/ml) flor (0.007693833 mg/ml) fruto (0.007132159mg/ml) (tabla 5). Los lípidos derivan principalmente en todos los metabolitos que pertenecen al grupo de los terpenos siguen algunas rutas como la vía del mevalonato (Lichtenthaler *et al.*, 2000). Al comparar este metabolito primario con los carbohidratos y proteínas, la concentración es baja, esto puede significar que la planta necesita a los terpenos para cumplir funciones fisiológicas o ecológicas, actuando como defensa ya sea como insecticidas o antifúngicos (Al-Khayri *et al.*, 2023).

Actividad antioxidante de *N. salicifolia*

El ácido ascórbico fue utilizado debido a que es un compuesto altamente antioxidante básico, de bajo peso molecular, este interviene en la regulación de niveles de especies reactivas de oxígeno en su etapa de formación, el sistema antioxidante del ácido ascórbico en una célula viva tiene tres líneas de defensa a las cuales incluyen la eliminación de radicales libres, biosíntesis y activación de enzimas antioxidantes y la reparación del daño oxidativo. Esta capacidad de eliminador de radicales libres esta relacionadas al formar un radical estabilizado, lo que permite que el ácido ascórbico reaccione con moléculas más reactivas a las cuales se incluyen el radical hidroxilo o el anión radical superóxido y evita que su interacción con biomoléculas fundamentales para el funcionamiento celular adecuado (Gęgotek & Skrzydlewska, 2022).

La presencia de diversos metabolitos secundarios en los extractos de hoja, flor y tallo como alcaloides, compuestos fenólicos, flavonoides y taninos puede relacionarse con el elevado porcentaje de eliminación de radicales libres. Se ha demostrado que los compuesto fenólicos presente en el extracto de las plantas influye directamente en la actividad antioxidantes (Losada-Barreiro *et al.*, 2022), esto debido que en su estructura lleva un anillo aromático con al menos un grupo hidroxilo, este grupo es importante en la actividad antioxidante, pues este grupo reduce a los radicales libres además de que pueden hacer una quelación de iones metálicos como el hierro, previniendo la generación de radicales libres (Mishra *et al.*, 2013). La alta disponibilidad de estos grupos funcionales debido a la presencia de estos metabolitos secundarios en los extractos de flor, hoja y tallo de *Nectandra salicifolia* le da esta alta capacidad antioxidante en la eliminación de radicales libres.

La actividad antioxidante es fundamental en los extractos de *Nectandra salicifolia* puede ser beneficioso para la salud, debido que pueden prevenir diversas enfermedades, ya que el estrés oxidativo es uno de los motivos al causar patologías inflamatorias, al ser partícipe de la activación de diversas cascadas de transducción de señales

proinflamatorias (Reuter *et al.*, 2010). Los antioxidantes exógenos como los polifenoles han demostrado reducir o inhibir algunas señales o mediadores inflamatorios en distintas enfermedades, por ejemplo, la reducción de niveles de citocinas en la colitis (Sharma *et al.*, 2014), también reducen la producción de prostaglandinas E2 en células de fibroblasto del colon CCD-18 estimuladas por IL-1 β (Larrosa *et al.*, 2009). Otros mecanismos descritos para antioxidantes ante procesos inflamatorios, es la modulación del NF- κ B (factor nuclear kappa-potenciador de la cadena ligera de las células B activadas) y STAT3 (transductor de señal y activador de la transcripción) e inhibe la expresión de TLR-2 (receptor tipo peaje-2) (Yahfoufi *et al.*, 2018). Estos mecanismos descritos pueden ser atribuidos al extracto de hoja que fue el que presentó mayor actividad antioxidante, además de tener como referencia las entrevistas de la comunidad de limón chiquito, en donde se nos indicó que la usan para aliviar el dolor de estómago (tabla 2). Los extractos de flor y tallo que también demostraron tener una alta actividad antioxidante podrían también atribuírsele estos mecanismos de acción ante estas enfermedades.

La actividad antioxidante contribuye a disminuir un estado inflamatorio debido a los distintos mecanismos explicados, además de esto los distintos metabolitos secundarios presentes en los extractos, han demostrado tener distintos mecanismos de acción antiinflamatorio. Finalmente, con todo lo anterior se busca que los extractos de *Nectandra salicifolia* tenga un efecto antiinflamatorio con un modelo de edema plantar que no tenga efectos secundarios en el funcionamiento fisiológico.

Efecto antiinflamatorio de *N. salicifolia*.

En el modelo plantar se puede observar las primeras respuestas fisiológicas en los 30 minutos después de la inducción del agente inflamatorio, en donde la mayoría de los grupos de ratones van a presentar un pico en el incremento de la inflamación en la pata derecha mientras que el grupo de tratamiento de la indometacina y los extractos de tallo y flor con la inducción de la inflamación, inhibieron la formación del edema de forma inmediata, estos extractos mostraron un efecto antiinflamatorio de manera más eficaz que el fármaco.

Después de transcurrir 90 minutos de la inducción del edema, se hace perceptible el efecto antiinflamatorio en el grupo tratado con indometacina con el estímulo inflamatorio (grupo negativo) en comparación al grupo que solo se indujo el edema plantar (grupo positivo) lo que nos indica que este modelo inflamatorio no sirve para evaluar el efecto antiinflamatorio de los extractos. El tratamiento del extracto de tallo con estímulo inflamatorio (tallo + edema) mostró una mayor eficiencia al inhibir la formación del edema. Los tratamientos de los extractos de flor y fruto con edema plantar (fruto + edema) (flor+ edema) tuvieron un efecto antiinflamatorio similar, sin superar la eficacia del tratamiento del fármaco. Mientras que el tratamiento del extracto de hoja apenas empieza a mostrar un efecto antiinflamatorio al empezar a disminuir la formación de edema (tabla 8).

Después de transcurrir los 120 minutos de la inducción del edema, corroboramos la eficiencia del tratamiento del extracto de tallo al inhibir la formación del edema de forma

similar que el tratamiento con la indometacina, el tratamiento del extracto de flor también mostro un efecto antiinflamatorio, aunque no fue tan eficiente como el fármaco, regulo el incremento de la inflamación al inhibir la formación del edema durante los 120 minutos, mientras que el tratamiento de extracto de fruto tuvo un efecto antiinflamatorio que es apreciable 90 minutos, partir de este tiempo pareciera regularse la formación del edema. Por último el tratamiento del extracto de hoja empieza a disminuir la formación del edema una vez transcurrido este tiempo, aunque pareciera ser el tratamiento más ineficiente al no mostrar un efecto antiinflamatorio inmediato, pareciera regular la inflamación en un prolongado plazo (Figura 32).

De acuerdo a la literatura revisada no hay reportes específicos de un efecto antiinflamatorio de *Nectandra salicifolia*, sin embargo, esta respuesta se puede relacionar a la actividad vasoactiva en la relajación de músculos lisos reportado por Slish *et al.* (1999), y con el uso etnomedicinal que le da la comunidad de Limón chiquito al aliviar el dolor de estómago y agilizar labores de parto. Además, los metabolitos presentes en los extractos de *Nectandra salicifolia* que han demostrado tener mecanismos de acción al inhibir la función de algunos mediadores proinflamatorios reduciendo la actividad inflamatoria, a continuación, se explica detalladamente estos mecanismos de acción que podrían ser las responsables de inhibir la formación del edema en los tratamientos de los extractos de tallo y flor.

El extracto de tallo *N. salicifolia* demostró tener una alta concentración de compuestos fenólicos totales, a los cuales se incluyen flavonoides y taninos, estos metabolitos han demostrado tener una actividad antiinflamatoria al inhibir la sobreproducción de óxido nítrico por sus propiedades antioxidantes (Diaz *et al.*, 2012), el óxido nítrico es un mediador inflamatorio en condiciones fisiopatológicas, es formado por una serie de células diferentes, como las endoteliales, leucocitos y células nerviosas sensoriales, esto contribuye al aumento de la permeabilidad vascular que permite la migración de neutrófilos al sitio de inflamación y produzca más mediadores inflamatorios (Posadas *et al.*, 2004), la presencia de estos metabolitos podría interrumpir este proceso inflamatorio. También se ha demostrado que los compuestos fenólicos inhiben la producción de factor de necrosis tumoral α (TNF- α) (Diaz *et al.*, 2012), una citocina producida por células inmunitarias que estimula la producción de más mediadores inflamatorios como prostaglandinas, quimiocinas y otras citocinas, estimulando la inflamación aguda (Patil *et al.*, 2019). Las saponinas también son antiinflamatorios, ya que inhibe la función ciclooxygenasa inducida (COX-2) (Zhu *et al.* 2013) (Tan *et al.*, 2022), disminuyendo la producción de prostaglandinas, y el óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS). Las saponinas también han demostrado inhibir citocinas proinflamatorias como TNF- α , IL-1 β e IL-6, reduciendo la liberación de más mediadores proinflamatorios además de la estimulación de prostaglandinas (Patil *et al.*, 2019)

El extracto de flor de *N. salicifolia* tiene altas concentraciones en compuestos fenólicos, que se incluyen los flavonoides y taninos, glicósidos cardiotónicos y sesquiterpenlactonas. Además de los mecanismos de acción antiinflamatorio ya

mencionados de los compuestos fenólicos, algunos otros posibles mecanismos antiinflamatorios que se le puedan atribuir al extracto de flor por su alto contenido de glicósidos cardiotónicos, que se ha demostrado que tiene efecto benéficos contra enfermedades cardiovasculares, sin embargo también se ha demostrado el efecto antiinflamatorio al inhibir citocinas proinflamatorias como IL-17A, IL-1 β , TNF- α , responsables de estimular la inflamación aguda, como se ha explicado anteriormente (Meng *et al.*, 2023). También la alta concentración de lactonas sesquiterpénicas induce un efecto antiinflamatorio, ya que se ha descrito que inhiben la fosforilación de I κ B, que inhibe la vía del factor nuclear kappa beta (NF- κ B), que es la encargada de regular la transcripción de citocinas inflamatorias junto a genes que codifican a COX-2, iNOS, moléculas de adhesión celular, receptores inmunológico y receptores de factores de crecimiento (Patil *et al.*, 2019). También se ha demostrado que las lactonas sesquiterpénicas que inhiben la producción de factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y la interleucina-6 (IL-6) (Matos *et al.*, 2020).

Ensayo de permeabilidad vascular

Se evaluó la permeabilidad vascular de los ratones con el colorante de azul de Evans, en los órganos de bazo, riñones e hígado, ya que estos al ser órganos vascularizados pueden alterar su permeabilidad vascular para cumplir diversas funciones fisiológicas.

En el grupo control el órgano que mostro más extravasación vascular del azul de Evan fue el bazo (28.206 μ g/g tejido extravasado) seguida del hígado (22.513 μ g/g tejido extravasado) y los riñones (19.392 μ g/g tejido extravasado) (tabla 9). La posible razón por la que el riñón puede presentar menor concentración del colorante, lo detallan Tsopelas *et al.* (2002), en la que se reporta que en el hígado se empieza el proceso de eliminación del azul de Evans que circula en el torrente sanguíneo, lo cual evita la coloración de la orina en el sistema urinario, este sistema es regulado por los riñones.

En el grupo del estímulo inflamatorio sin algún tipo de tratamiento (positivo) el bazo presento una mayor concentración de azul de Evans extravasado 44.726 μ g/g de tejido, seguido por lo riñones 32.409 μ g/g de tejido y el hígado 30.498 μ g/g de tejido (tabla 9). El bazo y el hígado ante un estímulo inflamatorio alteran su permeabilidad vascular, el bazo es un órgano inmunitario que almacena linfocitos T y B, estas células inmunitarias ante un estímulo inflamatorio migran desde el bazo hacia el sitio donde proviene la respuesta inflamatoria por el torrente sanguíneo (Mescher, 2013). Mientras el hígado también tiene una función inmunitaria, en este órgano se almacenan células Kupffer que igual cumple un papel importante al mediar la respuesta inflamatoria (Le Guelte & Gavard, 2011). Aunque los riñones no cumplan un papel específico para regular la respuesta inflamatoria, al ser un órgano vascularizado puede alterar la permeabilidad de sus células endoteliales debido a la alta producción de sustancias vasoactivas como la histamina y serotonina (Barung *et al.*, 2021)

El grupo de ratones que fueron tratados con la indometacina mostraron una disminución de concentración de azul de Evans con respecto al grupo positivo. El bazo presento

mayor concentración (37.657 µg/g de tejido), seguida por el hígado (24.764 µg/g de tejido) y el riñón (24.052 µg/g de tejido) (tabla 9). La indometacina ha demostrado actuar en la permeabilidad vascular, demostrando la capacidad de inhibir el paso de los leucocitos a través de las paredes vasculares hasta el sitio de inflamación, esto debido a que la indometacina inhibe la ciclooxigenasa 2 (COX-2) que a su vez inhibe la producción de prostaglandinas que induce el aumento de permeabilidad vascular (Gliszczyńska & Nowaczyk, 2021). Esta disminución de la concentración de azul de Evans en los órganos de ratones tratados con el fármaco antiinflamatorio nos indica que este ensayo no sirve para evaluar la actividad antiinflamatoria en los extractos de *Nectandra salicifolia*.

La concentración de azul de Evans extravasado en los órganos de los ratones en el grupo con el tratamiento del extracto de hoja sin edema aumenta a comparación de los órganos del grupo control, pero sin superar al grupo positivo, esto nos indica que el tratamiento de hoja sin estímulo inflamatorio altera moderadamente la permeabilidad vascular de los órganos (bazo: 31.388 µg/g de tejido, riñón 28.218 µg/g de tejido, hígado 29.170 µg/g de tejido). Mientras que el tratamiento del extracto de hoja ante un proceso inflamatorio (hoja + edema) va a mantener permeabilidad vascular de una forma estable en todos los órganos, ya que no incrementa demasiado la concentración de azul de Evans extravasado en los órganos (bazo: 31.704 µg/g de tejido, riñón 26.749 µg/g de tejido, hígado 31.599 µg/g de tejido). Esto nos indica que el tratamiento del extracto de hoja puede tener un efecto antiinflamatorio de forma prolongada al comenzar la inhibición del edema después de transcurrir 120 minutos, que se ve reflejado en mantener o disminuir la permeabilidad vascular por la concentración de azul de Evans extravasado (tabla 9).

El tratamiento del extracto de tallo en el grupo de ratones sin estímulo inflamatorio. Se puede percibir un aumento en la concentración de azul de Evans en comparación al grupo control (bazo: 37.754 µg/g de tejido, riñón: 30.514 µg/g de tejido, hígado: 49.481 µg/g de tejido). Lo que nos indica que este tratamiento altera el funcionamiento de estos órganos al alterar su permeabilidad vascular, se infiere que estas altas concentraciones se deben al procesamiento de algunos componentes que tiene el extracto de tallo, al no tener un uso específico en el organismo del ratón, la alta concentración en el hígado podría indicar que este tratamiento tenga un efecto nocivo sobre este órgano. Sin embargo, el tratamiento del extracto de tallo ante un estímulo inflamatorio (tallo + edema) va a disminuir las concentraciones de azul Evans extravasado en el hígado y los riñones, en el bazo aumenta moderadamente por el proceso inflamatorio (bazo: 39.211, µg/g de tejido, riñón: 24.173 µg/g de tejido, hígado: 28.085 µg/g de tejido). Esto nos indica el efecto antiinflamatorio que tiene el extracto de tallo al inhibir de forma eficiente la formación del edema en todo el proceso inflamatorio y que se ve reflejado en la disminución en la concentración de azul de Evans lo que indica una permeabilidad vascular estable en un proceso inflamatorio.

El tratamiento del extracto de fruto sin un estímulo inflamatorio, aumento moderadamente la concentración de azul de Evans extravasado en los órganos comparándolo grupo

control (bazo: 33.186 µg/g de tejido, riñón: 24.416 µg/g de tejido, hígado: 31.697 µg/g de tejido). Lo que nos indica que este tratamiento altera moderadamente la permeabilidad vascular. El tratamiento del extracto de fruto con estímulo inflamatorio, la concentración de azul de Evans extravasado en los órganos incremento en todos los órganos, en el hígado de igual forma que en el extracto de tallo pareciera tener un efecto nocivo en este (bazo: 35.008 µg/g de tejido, riñón: 27.587 µg/g de tejido, hígado: 40.751 µg/g de tejido). A pesar de que incremento la permeabilidad vascular, ya que es un proceso normal ante una respuesta inflamatoria, la concentración de azul de Evans extravasado en el bazo y los riñones no supera a las concentraciones obtenidas en los órganos del grupo que solo se le indujo la inflamación (positivo). Esto nos indica que el extracto de fruto tiene un efecto antiinflamatorio al inhibir la formación del edema a los 90 minutos y que se ve reflejado en la alteración moderada de la permeabilidad vascular ante un proceso inflamatorio, sin embargo, este efecto no es tan eficiente como un fármaco antiinflamatorio.

El tratamiento del extracto de flor sin estímulo inflamatorio mostro un aumento en la concentración de azul de Evans extravasado en todos los órganos con respecto al grupo control (bazo: 38.434 µg/g de tejido, riñones 25.667 µg/g de tejido hígado: 30.304 µg/g de tejido). Lo que nos indica que el tratamiento del extracto de flor sin estímulo inflamatorio altera la permeabilidad vascular moderadamente. El tratamiento del extracto de flor ante un estímulo inflamatorio disminuyo la concentración de azul de Evans extravasado en los órganos de bazo y en los riñones, y aumenta moderadamente en el hígado (bazo:34.012 µg/g de tejido, riñón 24.829 µg/g de tejido hígado:34.094 µg/g de tejido). Finalmente, el tratamiento de los extractos de flor tiene un efecto antiinflamatorio al inhibir la formación del edema durante los 120 minutos teniendo un efecto inmediato a los 30 minutos, y esto se ve reflejado en la regulación de la permeabilidad vascular en los distintos órganos que se evaluó en este ensayo.

Conclusiones

- El uso etnobotánico de *Nectandra salicifolia* en la localidad de Limón chiquito es casi nula, sin embargo, se conocieron dos usos etnomedicinales específicos para aliviar el dolor de estómago y agilizar los partos que no habían sido reportados, este uso terapéutico ante estos padecimientos puede relacionarse con un efecto antiinflamatorio.
- En la cuantificación de metabolitos secundarios, la alta concentración de compuestos fenólicos y presencia de metabolitos secundarios con actividad antioxidante como las cumarinas, quinonas, alcaloides, flavonoides y taninos presentes en los extractos de tallo, hoja y flor de *Nectandra salicifolia* se le atribuye la alta capacidad antioxidante que mostraron estos.
- Las altas concentraciones de saponinas además de la presencia de otros metabolitos como alcaloides, glucósidos cardiotónicos y esteroides presentes en los extractos de tallo, hoja y fruto de *Nectandra salicifolia* se le puede atribuir el efecto antiinflamatorio.
- La alta concentración de lactonas sesquiterpénicas y glucósidos cardiotónicos en el extracto de flor pueden ser las causantes del efecto antiinflamatorio mostrar una inhibición eficiente en la formación del edema que se ve reflejado en la regulación de la permeabilidad vascular.
- El extracto de tallo tuvo un efecto antiinflamatorio al inhibir de forma eficiente formación del edema de similar a la que tuvo el fármaco antiinflamatorio comercial (indometacina), que es atribuida a los compuestos fenólicos, flavonoides, alcaloides, esteroides saponinas. Sin embargo, este efecto altera la permeabilidad vascular de órganos vasculares lo que puede indicar una modificación en las funciones de estos órganos.

Referencias

1. Abdollahi, H., & Bagheri, L. (2004). Simultaneous spectrophotometric determination of p-benzoquinone and chloranil after microcrystalline naphthalene extraction by using genetic algorithm-based wavelength selection-partial least squares regression. *Analytical Sciences: The International Journal of the Japan Society for Analytical Chemistry*, 20(12), 1701–1706. <https://doi.org/10.2116/analsci.20.1701>
2. Al-Khayri, J. M., Rashmi, R., Toppo, V., Chole, P. B., Banadka, A., Sudheer, W. N., Nagella, P., Shehata, W. F., Al-Mssallem, M. Q., Alessa, F. M., Almaghasla, M. I., & Rezk, A. A. (2023). Plant Secondary Metabolites: The Weapons for Biotic Stress Management. *Metabolites*, 13(6), 716. <https://doi.org/10.3390/metabo13060716>
3. Amaringo-Villa, F., Hormaza A., A., & Arias Z., M. (2011). Thevetin B: glicósido cardiotónico predominante en thevetia peruviana. *Scientia Et Technica*, 3(49), 298–303. <https://doi.org/10.22517/23447214.1549>
4. Arulselvan, P., Fard, M. T., Tan, W. S., Gothai, S., Fakurazi, S., Norhaizan, M. E., & Kumar, S. S. (2016). Role of antioxidants and natural products in inflammation. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 1–15. <https://doi.org/10.1155/2016/5276130>
5. Babula, P., Adam, V., Havel, L., & Kizek, R. (2009). Noteworthy secondary metabolites naphthoquinones – their occurrence, pharmacological properties and analysis. *Current pharmaceutical analysis*, 5(1), 47–68. <https://doi.org/10.2174/157341209787314936>
6. Ballabh, P., Braun, A., & Nedergaard, M. (2004). The blood-brain barrier: an overview: structure, regulation, and clinical implications. *Neurobiology of Disease*, 16(1), 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2003.12.016>
7. Barajas J., Ángelez G. y Solís P. (1997). Anatomía de maderas de México: especies de una selva alta perennifolia I. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., México. 126 pp. <https://biblioteca.ecosur.mx/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=000036212>
8. Barung, E. N., Dumanauw, J. M., Duri, M. F., & Kalonio, D. E. (2021). Egg white-induced inflammation models: A study of edema profile and histological change of rat's paw. *Journal of advanced pharmaceutical technology & research*, 12(2), 109–112. https://doi.org/10.4103/japtr.JAPTR_262_20
9. 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. Recuperado de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442005000800005&lng=es&tlng=es.

10. Bhambhani, S., Kondhare, K. R., & Giri, A. P. (2021). Diversity in Chemical Structures and Biological Properties of Plant Alkaloids. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(11), 3374. <https://doi.org/10.3390/molecules26113374>
11. Bilbao M. (1997) Análisis fitoquímico preliminar. Primera edición. Universidad del Quindío. Facultad de ciencias básicas y tecnológicas. Armenia. Colombia. 23-100p.
12. Birukova, A. A., Birukov, K. G., Smurova, K., Adyshev, D., Kaibuchi, K., Alieva, I., Garcia, J. G., & Verin, A. D. (2004). Novel role of microtubules in thrombin-induced endothelial barrier dysfunction. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 18(15), 1879–1890. <https://doi.org/10.1096/fj.04-2328com>
13. Böhlke, M., Guinaudeau, H., Angerhofer, C. K., Wongpanich, V., Soejarto, D. D., Farnsworth, N. R., Mora, G. A., & Poveda, L. J. (1996). Costaricine, a new antiplasmodial bisbenzylisoquinoline alkaloid from *Nectandra salicifolia* trunk bark. *Journal of Natural Products*, 59(6), 576–580. <https://doi.org/10.1021/np960195h>
14. Boligon, A. A., De Brum, T. F., Frohlich, J. K., Froeder, A. L. F., & Athayde, M. L. (2012). HPLC/DAD Profile and Determination of Total Phenolics, Flavonoids, Tannins and Alkaloids Contents of *Scutia buxifolia* Reissek Stem Bark. *Research Journal of Phytochemistry*, 6(3), 84–91. <https://doi.org/10.3923/rjphyto.2012.84.91>
15. Boncan, D. A. T., Tsang, S. S. K., Li, C., Lee, I. H. T., Lam, H. M., Chan, T. F., & Hui, J. H. L. (2020). Terpenes and Terpenoids in Plants: Interactions with Environment and Insects. *International journal of molecular sciences*, 21(19), 7382. <https://doi.org/10.3390/ijms21197382>
16. Caballero-Gutiérrez, L., & Gonzáles, G. F. (2016). Alimentos con efecto anti-inflamatorio. *Acta Médica Peruana*, 33(1), 50. <https://doi.org/10.35663/amp.2016.331.18>
17. Campos, J.A. (2009). DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTICANCERÍGENA IN VITRO DE LOS GLICÓSIDOS CARDIOTÓNICOS DE LOS FRUTOS DE *Thevetia peruviana* (CHILCA) Y *Thevetia peruviana* (CHILCA) FAMILIA APOCYNACEAE. Universidad del salvador. <https://ri.ues.edu.sv/id/eprint/2552/1/16101448.pdf>
18. Carreño Hidalgo, P. C. (2016). *La Etnobotánica y su Importancia Como Herramienta Para la Articulación Entre Conocimientos Ancestrales y Científicos*. Recuperado de: <http://hdl.handle.net/11349/3523>
19. Carvajal Rojas, L., Uribe, Y. H., Sierra Martínez, N., & Rueda Niñbeo, D. (2008). ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR DE HOJAS, TALLOS Y SEMILLAS DE CUPATÁ (*Strychnos schultesiana* Krukoff). *Colombia Forestal*, 12(0), 161. <https://doi.org/10.14483/udistrital.jour.colomb.for.2009.1.a11>
20. Castellsague, J., Riera-Guardia, N., Calingaert, B., Varas-Lorenzo, C., Fourier-Reglat, A., Nicotra, F., Sturkenboom, M., Perez-Gutthann, S., & Safety of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (SOS) Project (2012). Individual NSAIDs and upper

- gastrointestinal complications: a systematic review and meta-analysis of observational studies (the SOS project). *Drug safety*, 35(12), 1127–1146. <https://doi.org/10.2165/11633470-000000000-00000>
21. Chacón, I. M., & Fournier, L. (1987). Distribución del género *Nectandra* (Lauraceae) en Costa Rica. *Rev. Bio. Trop.* 35(1), 155-157.
 22. Chadwick, M., Trewin, H., Gawthrop, F., & Wagstaff, C. (2013). Sesquiterpenoids lactones: benefits to plants and people. *International journal of molecular sciences*, 14(6), 12780–12805. <https://doi.org/10.3390/ijms140612780>
 23. Chang, C.-C., Yang, M.-H., Wen, H.-M., & Chern, J.-C. (2020). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colometric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3). <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>
 24. Coussens, L. M., & Werb, Z. (2002). Inflammation and cancer. *Nature*, 420(6917), 860–867. <https://doi.org/10.1038/nature01322>
 25. Coy B., C. A., Parra, J., & Cuca Suárez, L. E. (2014). Caracterización química del aceite esencial e identificación preliminar de metabolitos secundarios en hojas de la especie *raputia heptaphylla* (rutaceae). *ELEMENTOS*, 4(4). <https://doi.org/10.15765/e.v4i4.513>
 26. Dai, Y., Harinantenaina, L., Bowman, J. D., Da Fonseca, I. O., Brodie, P. J., Goetz, M., Cassera, M. B., & Kingston, D. G. (2014). Isolation of antiplasmodial anthraquinones from *Kniphofia ensifolia*, and synthesis and structure-activity relationships of related compounds. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 22(1), 269–276. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2013.11.032>
 27. Daley, S. K., & Cordell, G. A. (2021). Alkaloids in Contemporary Drug Discovery to Meet Global Disease Needs. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(13), 3800. <https://doi.org/10.3390/molecules26133800>
 28. Diaz, P., Jeong, S. C., Lee, S., Khoo, C., & Koyyalamudi, S. R. (2012). Antioxidant and anti-inflammatory activities of selected medicinal plants and fungi containing phenolic and flavonoid compounds. *Chinese medicine*, 7(1), 26. <https://doi.org/10.1186/1749-8546-7-26>
 29. Dinarello C. A. (2010). Anti-inflammatory Agents: Present and Future. *Cell*, 140(6), 935–950. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.02.043>
 30. Domínguez, X. A. (1988). Métodos de investigación fitoquímica. 9681801156, 9789681801151
 31. Depolte C. (2010). Farmacognosia. Departamento de química farmacología y toxicología. Universidad de Chile. Rescuperado de https://www.ucursos.cl/faciqyf/2010/1/FBQI4109/3/material_docente/bajar?id_materia=557012
 32. Dzomba, P., Ngoroyemoto, N., Mutandwa, L., & Shasha, D. (2012). Phytochemical screening and biological activities of *Hypotrigena squamuligera* raw honey.

- International Journal of Biochemistry Research & Review*, 2(3), 98–105. <https://doi.org/10.9734/ijbcr/2012/1562>
33. Fazel, S., Hamidreza, M., Rouhollah, G., & Verdianrizi, M. (2010). Spectrophotometric determination of total alkaloids in some Iranian medicinal plants. *Journal of Applied Horticulture*, 12(01), 69–70. <https://doi.org/10.37855/jah.2010.v12i01.15>
 34. Federico, A., Morgillo, F., Tuccillo, C., Ciardiello, F., & Loguercio, C. (2007). Chronic inflammation and oxidative stress in human carcinogenesis. *International journal of cancer*, 121(11), 2381–2386. <https://doi.org/10.1002/ijc.23192>
 35. Feltrin, A. C., Boligon, A. A., Janovik, V., & Athayde, M. L. (2012). Antioxidant potential, total phenolic and flavonoid contents from the stem bark of *Guazuma ulmifolia* lam. *Asian Journal of Biological Sciences*, 5(5), 268–272. <https://doi.org/10.3923/ajbs.2012.268.272>
 36. Fernández Rebaza, G. A., Cruzado Leyva, M., Bonilla Rivera, P. E., Ramírez Cruz, F. J. M., Toche Tuesta, A., & Curay Carhuamaca, V. L. (2017). Identificación de metabolitos secundarios y efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de hojas de *Chromolaena leptcephala* (DC) R.M. King & H. Rob. “chilca negra”. *Revista peruana de medicina integrativa*, 2(3), 779–784. <https://doi.org/10.26722/rpmi.2017.23.62>
 37. Flores C. & Escudero P. (2010) Reacción, Reactividad y Reconocimientos de Fenoles. Recuperado de: https://sites.google.com/site/organicaiii/quimica_organica/quimica-organica-iii-nueva/quimica-organica-iii-2009-2012/test-analisis-funcional-2011/e4_2011
 38. Fraga-Corral, M., García-Oliveira, P., Pereira, A. G., Lourenço-Lopes, C., Jimenez-Lopez, C., Prieto, M. A., & Simal-Gandara, J. (2020). Technological Application of Tannin-Based Extracts. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(3), 614. <https://doi.org/10.3390/molecules25030614>
 39. Gerakaris, A., Mulita, F., Koniari, I., Artopoulou, E., Mplani, V., Tsigkas, G., Abo-Elseoud, M., Kounis, N., & Velissaris, D. (2022). Digoxin Impact on Heart Failure Patients with Atrial Fibrillation. *Medical archives (Sarajevo, Bosnia and Herzegovina)*, 76(1), 23–28. <https://doi.org/10.5455/medarh.2022.76.23-28>
 40. Gęgotek, A., & Skrzydlewska, E. (2022). Antioxidative and Anti-Inflammatory Activity of Ascorbic Acid. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 11(10), 1993. <https://doi.org/10.3390/antiox11101993>
 41. Gliszczyńska, A., & Nowaczyk, M. (2021). Lipid Formulations and Bioconjugation Strategies for Indomethacin Therapeutic Advances. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(6), 1576. <https://doi.org/10.3390/molecules26061576>
 42. Grecco, S. S., Lorenzi, H., Tempone, A. G., & Lago, J. H. G. (2016). Update: biological and chemical aspects of *Nectandra* genus (Lauraceae). *Tetrahedron, Asymmetry*, 27(17–18), 793–810. <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2016.07.009>

43. Gutierrez-Garcia, G., & Ricker, M. (2012). *Programa de Reforestación y Restauración propuesto para el Parque Ecológico Tuzandepetl*. Unpublished. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.4828.1446>
44. Jimenez-Arellano. (1996). Estudio químico biológico de *Nectandra salicifolia* (H.B.K) Nees. 001-00524-J1-1996-3. Recuperado de <https://hdl.handle.net/20.500.14330/TES01000235160>
45. Kim, J. H., Song, H., Kim, H. W., & Lee, W. Y. (2015). Effects of Egg White Consumption on Immune Modulation in a Mouse Model of Trimellitic Anhydride-induced Allergy. *Korean journal for food science of animal resources*, 35(3), 398–405. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2015.35.3.398>
46. Kotowska-Rodziewicz, A., Zalewska, A., & Maciejczyk, M. (2023). A Review of Preclinical and Clinical Studies in Support of the Role of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs in Dentistry. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research*, 29, e940635. <https://doi.org/10.12659/MSM.940635>
47. Gutiérrez G. & Hernández C. (2011). Procedimientos experimentales del laboratorio de Bioquímica. 1ª ed. Universidad Nacional Autónoma de México
48. Hernández Royero, Ricardo. (1997). Obtención de crudos de saponinas hipocolesteromizantes del *Chenopodium quinoa* Willd. *Revista Cubana de Medicina Militar*, 26(1), 55-62. Recuperado en 24 de diciembre de 2024, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65571997000100008&lng=es&tlng=es
49. Kumar, P., Shen, Q., Pivetti, C. D., Lee, E. S., Wu, M. H., & Yuan, S. Y. (2009). Molecular mechanisms of endothelial hyperpermeability: implications in inflammation. *Expert reviews in molecular medicine*, 11, e19. <https://doi.org/10.1017/S1462399409001112>
50. Lago, J. H., Toledo-Arruda, A. C., Mernak, M., Barrosa, K. H., Martins, M. A., Tibério, I. F., & Prado, C. M. (2014). Structure-activity association of flavonoids in lung diseases. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 19(3), 3570–3595. <https://doi.org/10.3390/molecules19033570>
51. Larrosa, M., Luceri, C., Vivoli, E., Pagliuca, C., Lodovici, M., Moneti, G., & Dolara, P. (2009). Polyphenol metabolites from colonic microbiota exert anti-inflammatory activity on different inflammation models. *Molecular nutrition & food research*, 53(8), 1044–1054. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200800446>
52. Laurella, L. C., Mirakian, N. T., Garcia, M. N., Grasso, D. H., Sülsen, V. P., & Papademetrio, D. L. (2022). Sesquiterpene Lactones as Promising Candidates for Cancer Therapy: Focus on Pancreatic Cancer. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(11), 3492. <https://doi.org/10.3390/molecules27113492>

53. Le Guelte, A., & Gavard, J. (2011). Role of endothelial cell-cell junctions in endothelial permeability. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 763, 265–279. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-191-8_18
54. Li, Y., Yang, H., Li, Z., Li, S., & Li, J. (2023). Advances in the Biosynthesis and Molecular Evolution of Steroidal Saponins in Plants. *International journal of molecular sciences*, 24(3), 2620. <https://doi.org/10.3390/ijms24032620>
55. Lichman B. R. (2021). The scaffold-forming steps of plant alkaloid biosynthesis. *Natural product reports*, 38(1), 103–129. <https://doi.org/10.1039/d0np00031k>
56. Lichtenthaler, H. K., Zeidler, J., Schwender, J., & Müller, C. (2000). The non-mevalonate isoprenoid biosynthesis of plants as a test system for new herbicides and drugs against pathogenic bacteria and the malaria parasite. *Zeitschrift Für Naturforschung. C, Journal of Biosciences*, 55(5–6), 305–313. <https://doi.org/10.1515/znc-2000-5-601>
57. Liu C. F. (2022). Recent Advances on Natural Aryl-C-glycoside Scaffolds: Structure, Bioactivities, and Synthesis-A Comprehensive Review. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(21), 7439. <https://doi.org/10.3390/molecules27217439>
58. López-Legarda, Xiomara, Taramuel-Gallardo, Andony, Arboleda-Echavarría, Carolina, Segura-Sánchez, Freimar, & Restrepo-Betancur, Luis Fernando. (2017). Comparación de métodos que utilizan ácido sulfúrico para la determinación de azúcares totales. *Revista Cubana de Química*, 29(2), 180-198. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-54212017000200002&lng=es&tlng=es.
59. Lorea-Hernández, F. G. (2002). La familia Lauraceae en el sur de México: Diversidad, distribución y estado de conservación. *Botanical Sciences*, 71, 59–70. <https://doi.org/10.17129/botsci.1663>
60. Losada-Barreiro, S., Sezgin-Bayindir, Z., Paiva-Martins, F., & Bravo-Díaz, C. (2022). Biochemistry of Antioxidants: Mechanisms and Pharmaceutical Applications. *Biomedicines*, 10(12), 3051. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10123051>
61. Martínez C., Vargas C., & Arancibia S. (2003) Estrés oxidativo y neurodegeneración. *Rev. Fac. Med UNA*; 46:229-235. Recuperado de: <https://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2003/un036f.pdf>
62. Marcano, D., & Hasegawa, M. (2018). Fitoquímica orgánica. <http://saber.ucv.ve/omp/index.php/editorialucv/catalog/view/18/10/56-1>
63. Matos, M. S., Anastácio, J. D., Allwood, J. W., Carregosa, D., Marques, D., Sungurtas, J., McDougall, G. J., Menezes, R., Matias, A. A., Stewart, D., & Santos, C. N. D. (2020). Assessing the Intestinal Permeability and Anti-Inflammatory Potential of Sesquiterpene Lactones from Chicory. *Nutrients*, 12(11), 3547. <https://doi.org/10.3390/nu12113547>

64. Mehta, D., & Malik, A. B. (2006). Signaling mechanisms regulating endothelial permeability. *Physiological Reviews*, 86(1), 279–367. <https://doi.org/10.1152/physrev.00012.2005>
65. Meng, Q., Liu, K., Liu, Z., Liu, J., Tian, Z., Qin, S., Wei, J., & Cheng, L. (2023). Digoxin protects against intervertebral disc degeneration via TNF/NF- κ B and LRP4 signaling. *Frontiers in immunology*, 14, 1251517. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1251517>
66. Mescher, A. L. (2013). *Junquiera's Basic Histology* (13th ed.). New York, NY: McGraw-Hill Education.
67. Medzhitov, R. (2008). Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, 454(7203), 428–435. <https://doi.org/10.1038/nature07201>
68. Mendizábal, R. D. (1998). Caracterización dendrológica y ecológica de la familia Lauraceae, en el Bosque de la Montaña de Uyuca, Zamorano, Honduras. Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, 2014.
69. Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31(3), 426–428. <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>
70. Mishra, A., Sharma, A. K., Kumar, S., Saxena, A. K., & Pandey, A. K. (2013). Bauhinia variegata leaf extracts exhibit considerable antibacterial, antioxidant, and anticancer activities. *BioMed research international*, 2013, 915436. <https://doi.org/10.1155/2013/915436>
71. Munin, A., & Edwards-Lévy, F. (2011). Encapsulation of natural polyphenolic compounds; a review. *Pharmaceutics*, 3(4), 793–829. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics3040793>
72. Nett, R. S., Lau, W., & Sattely, E. S. (2020). Discovery and engineering of colchicine alkaloid biosynthesis. *Nature*, 584(7819), 148–153. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2546-8>
73. Nishiumi S., Miyamoto, S., Kawabata, K., Ohnishi K., Mukai R. Murakami A., Ashida H., Terao J. (2011) Dietary flavonoids as cancer-preventive and therapeutic biofactors. *Frontiers in bioscience (Scholar edition)* 3: 1332 - 62 [doi: 10.2741/229](https://doi.org/10.2741/229)
74. Oliveros-Bastidas, A. D. J., Carrera, C. A., & Marín, D. (2009). ESTUDIO POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-Vis DE LA REACCIÓN ENTRE LOS IONES CIANURO Y PICRATO. UN EJEMPLO PRÁCTICO DE APLICACIONES ANALÍTICAS Y ESTUDIOS CINÉTICOS. *Revista Colombiana de Química*, 38(1), 61-82.
75. Orantes, E. (2008). Tamizaje fitoquímico de la especie vegetal guatemalteca *Quararibea yunckeri* Standley Subsp. *izabalensis* WS Alverson ex Véliz (Bombacaceae). Facultad de Ciencias químicas y farmacia, Guatemala. Recuperada de: <https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/Tesis/Q185.pdf>
76. Osório, A. de C., & Martins, J. L. S. (2004). Determinação de cumarina em extrato fluido e tintura de guaco por espectrofotometria derivada de primeira ordem. *Revista*

Brasileira de Ciências Farmacêuticas, 40(4), 481–486. <https://doi.org/10.1590/s1516-93322004000400005>

77. Palacio-Arango, M. A., Universidad de Antioquia, Cano-Vanegas, I. C., Múnera-Porras, L. M., Pino-Rodriguez, N. J., Peñuela-Mesa, G. A., Universidad de Antioquia., Universidad de Antioquia, Universidad de Antioquia, & Universidad de Antioquia. (2018). Evaluación de la capacidad degradadora de taninos por microorganismos aislados a partir de un efluente de curtiembre del municipio de Copacabana, Antioquia. *Actualidades Biológicas*, 40(108). <https://doi.org/10.17533/udea.acbi.v40n108a02>
78. Palacios-Rojas, N., Burtin, D. y Leech, M. (2004). Biología molecular, una herramienta para la bioprospección del metabolismo secundario de plantas en Colombia Ejemplo práctico en plantas colombianas de interés medicinal. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 6(2), 67–77. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/528>
79. Pardo M. & Gómez E. (2003). Etnobotánica: aprovechamiento tradicional de plantas y patrimonio cultural, *Anales jardín botánico de Madrid*. 60(1): 171-182.
80. Patil, K. R., Mahajan, U. B., Unger, B. S., Goyal, S. N., Belemkar, S., Surana, S. J., Ojha, S., & Patil, C. R. (2019). Animal Models of Inflammation for Screening of Anti-inflammatory Drugs: Implications for the Discovery and Development of Phytopharmaceuticals. *International journal of molecular sciences*, 20(18), 4367. <https://doi.org/10.3390/ijms20184367>
81. Pennington, T. D., & Rohwer, J. G. (1994). Lauraceae: Nectandra. Flora Neotropica Monograph 60. *Kew Bulletin*, 49(3), 594. <https://doi.org/10.2307/4114495>
82. Pérez N. & Jiménez E. (2011) Producción de metabolitos secundarios de plantas mediante el cultivo *in vitro*. *Biotecnología vegetal*, 11(4):195-211. <https://biblat.unam.mx/hevila/Biotecnologiavegetal/2011/vol11/no4/1.pdf>
83. Pizzi A. (2019). Tannins: Prospectives and Actual Industrial Applications. *Biomolecules*, 9(8), 344. <https://doi.org/10.3390/biom9080344>
84. Pocoví M, (2004). El colesterol: una molécula entre la vida y la muerte, Real academia de ciencias exactas, físicas, químicas y naturales de Zaragoza, España. Recuperado de: <http://www.raczar.es/webracz/ImageServlet?mod=publicaciones&subMod=discursos&archivo=Pocovi.pdf>
85. Posadas, I., Bucci, M., Roviezzo, F., Rossi, A., Parente, L., Sautebin, L., & Cirino, G. (2004). Carrageenan-induced mouse paw oedema is biphasic, age-weight dependent and displays differential nitric oxide cyclooxygenase-2 expression. *British journal of pharmacology*, 142(2), 331–338. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705650>
86. Poyton, R. O., Ball, K. A., & Castello, P. R. (2009). Mitochondrial generation of free radicals and hypoxic signaling. *Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM*, 20(7), 332–340. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2009.04.001>

87. Radu, M., & Chernoff, J. (2013). An in vivo assay to test blood vessel permeability. *Journal of Visualized Experiments: JoVE*, 73. <https://doi.org/10.3791/50062-v>
88. Ramirez, A. M., Saillard, N., Yang, T., Franssen, M. C., Bouwmeester, H. J., & Jongsma, M. A. (2013). Biosynthesis of sesquiterpene lactones in pyrethrum (*Tanacetum cinerariifolium*). *PloS one*, 8(5), e65030. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065030>
89. Ravipati, A. S., Zhang, L., Koyyalamudi, S. R., Jeong, S. C., Reddy, N., Bartlett, J., Smith, P. T., Shanmugam, K., Münch, G., Wu, M. J., Satyanarayanan, M., & Vysetti, B. (2012). Antioxidant and anti-inflammatory activities of selected Chinese medicinal plants and their relation with antioxidant content. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12(1). <https://doi.org/10.1186/1472-6882-12-173>
90. Reshi, Z. A., Ahmad, W., Lukatkin, A. S., & Javed, S. B. (2023). From nature to lab: A review of secondary metabolite biosynthetic pathways, environmental influences, and in vitro approaches. *Metabolites*, 13(8), 895. <https://doi.org/10.3390/metabo13080895>
91. Reuter, S., Gupta, S. C., Chaturvedi, M. M., & Aggarwal, B. B. (2010). Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? *Free Radical Biology & Medicine*, 49(11), 1603–1616. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006>
92. Rudrapal, M., Khairnar, S. J., Khan, J., Dukhyil, A. B., Ansari, M. A., Alomary, M. N., Alshabirmi, F. M., Palai, S., Deb, P. K., & Devi, R. (2022). Dietary Polyphenols and Their Role in Oxidative Stress-Induced Human Diseases: Insights Into Protective Effects, Antioxidant Potentials and Mechanism(s) of Action. *Frontiers in pharmacology*, 13, 806470. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.806470>
93. Santos-Sánchez, N., Salas-Coronado, R., Hernández-Carlos, B., & Villanueva-Cañongo, C. (2019). Shikimic Acid Pathway in Biosynthesis of Phenolic Compounds. *IntechOpen*. doi: 10.5772/intechopen.83815.
94. Saptarini, N. M., Indriyati, W., & Shalihati, A. (2016). Colorimetric method for total phytosterols content analysis in soybean (*Glycine max*), soymilk, and soy yoghurt. *J. Chem. Pharm. Res*, 8(4), 1458-1464. Recuperado de: <https://www.jocpr.com/articles/colorimetric-method-for-total-phytosterols-content-analysis-in-soybean-glycine-max-soymilk-and-soy-yoghurt.pdf>
95. Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural. (1999). NOM-062-ZOO-1999. Especificidades técnicas para la producción, manejo y cuidado de los animales de laboratorio.
96. Serhan, C. N., & Savill, J. (2005). Resolution of inflammation: the beginning programs the end. *Nature Immunology*, 6(12), 1191–1197. <https://doi.org/10.1038/ni1276>
97. Serra, Héctor A., Roganovich, Juan Manuel, & Rizzo, Leonardo F. L.. (2012). Glucocorticoides: paradigma de medicina traslacional. De lo molecular al uso clínico. *Medicina (Buenos Aires)*, 72(2), 158-170. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0025-76802012000200015#ref

98. Shahidi, F., & Hossain, A. (2023). Importance of Insoluble-Bound Phenolics to the Antioxidant Potential Is Dictated by Source Material. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 12(1), 203. <https://doi.org/10.3390/antiox12010203>
99. Shang, X. F., Yang, C. J., Morris-Natschke, S. L., Li, J. C., Yin, X. D., Liu, Y. Q., Guo, X., Peng, J. W., Goto, M., Zhang, J. Y., & Lee, K. H. (2020). Biologically active isoquinoline alkaloids covering 2014-2018. *Medicinal research reviews*, 40(6), 2212–2289. <https://doi.org/10.1002/med.21703>
100. Sharma, A., & Gupta, M. (2020). Secondary metabolites from carbohydrates: Structure, function and applications. *Journal of Pharmaceutical Research*, 14(2), 247-258. <https://doi.org/10.1016/j.jpr.2020.02.005>
101. Sharma, M., Mohapatra, J., Wagh, A., Patel, H. M., Pandey, D., Kadam, S., Argade, A., Deshpande, S. S., Shah, G. B., Chatterjee, A., & Jain, M. R. (2014). Involvement of TACE in colon inflammation: a novel mechanism of regulation via SIRT-1 activation. *Cytokine*, 66(1), 30–39. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2013.12.010>
102. Sligh, D. F., Ueda, H., Arvigo, R., & Balick, M. J. (1999). Ethnobotany in the search for vasoactive herbal medicines. *Journal of Ethnopharmacology*, 66(2), 159–165. [https://doi.org/10.1016/s0378-8741\(98\)00225-6](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(98)00225-6)
103. Shoaib, M., Shah, I., Ali, N., Adhikari, A., Tahir, M. N., Shah, S. W., Ishtiaq, S., Khan, J., Khan, S., & Umer, M. N. (2017). Sesquiterpene lactone! a promising antioxidant, anticancer and moderate antinociceptive agent from *Artemisia macrocephala* jacquem. *BMC complementary and alternative medicine*, 17(1), 27. <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1517-y>
104. Sun, W., & Shahrajabian, M. H. (2023). Therapeutic Potential of Phenolic Compounds in Medicinal Plants-Natural Health Products for Human Health. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 28(4), 1845. <https://doi.org/10.3390/molecules28041845>
105. Tan, B., Wu, X., Yu, J., & Chen, Z. (2022). The Role of Saponins in the Treatment of Neuropathic Pain. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(12), 3956. <https://doi.org/10.3390/molecules27123956>
106. Tarkowská, D. (2019). Plants are capable of synthesizing animal steroid hormones. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24(14), 2585. <https://doi.org/10.3390/molecules24142585>
107. Tatarczak-Michalewska, M., & Flieger, J. (2022). Application of High-Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detection to Simultaneous Analysis of Reference Antioxidants and 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) in Free Radical Scavenging Test. *International journal of environmental research and public health*, 19(14), 8288. <https://doi.org/10.3390/ijerph19148288>
108. Timilsena, Y. P., Phosanam, A., & Stockmann, R. (2023). Perspectives on Saponins: Food Functionality and Applications. *International journal of molecular sciences*, 24(17), 13538. <https://doi.org/10.3390/ijms241713538>

109. Tsopelas, C., & Sutton, R. (2002). Why certain dyes are useful for localizing the sentinel lymph node. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*, 43(10), 1377–1382.
110. Van der Werff, H., Garden, M. B., Lorea, F., & Instituto de Ecología, A.C. (1997). FAMILIA LAURACEAE. *Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes*. <https://doi.org/10.21829/fb.259.1997.56>
111. Venugopala, K. N., Rashmi, V., & Odhav, B. (2013). Review on natural coumarin lead compounds for their pharmacological activity. *BioMed research international*, 2013, 963248. <https://doi.org/10.1155/2013/963248>
112. Visaurre Martínez, M. F., Querevalú García, L. M., De Los Ríos Martínez, E., & Ruiz Reyes, S. G. (2007). Características farmacognósticas de las hojas de Capparis avicennifolia. *Revista Médica Vallejana / Vallejian Medical Journal*, 4(2), 121–131. <https://doi.org/10.18050/revistamedicavallejana.v4i2.2235>
113. Villacorta, J. R., Sanchez Pérez, J. P., Rivas, R. M., Martínez de Díaz, M. L., & Nuñez Rivas, M. J. (2022). Cuantificación de sesquiterpenlactonas procedentes de las hojas de Calea urticifolia (Asteraceae) durante el año 2012. *Revista Minerva*, 1(1), 41–50. <https://doi.org/10.5377/revminerva.v1i1.12551>
114. Wautier, J. L., & Wautier, M. P. (2022). Vascular Permeability in Diseases. *International journal of molecular sciences*, 23(7), 3645. <https://doi.org/10.3390/ijms23073645>
115. Willis, R. B. (1998). Improved method for measuring hydrolyzable tannins using potassium iodate. *The Analyst*, 123(3), 435–439. <https://doi.org/10.1039/a706862j>
116. Yahfoufi, N., Alsadi, N., Jambi, M., & Matar, C. (2018). The Immunomodulatory and Anti-Inflammatory Role of Polyphenols. *Nutrients*, 10(11), 1618. <https://doi.org/10.3390/nu10111618>
117. Yang, Z. D., Zhang, D. B., Ren, J., & Yang, M. J. (2012). Skimmianine, a furoquinoline alkaloid from Zanthoxylum nitidum as a potential acetylcholinesterase inhibitor. *Medicinal chemistry research*, 21, 722-725.
118. Zhu, J., Luo, C., Wang, P., He, Q., Zhou, J., & Peng, H. (2013). Saikosaponin A mediates the inflammatory response by inhibiting the MAPK and NF-κB pathways in LPS-stimulated RAW 264.7 cells. *Experimental and therapeutic medicine*, 5(5), 1345–1350. <https://doi.org/10.3892/etm.2013.988>
119. Zöllner, N., & Kirsch, K. (1962). Über die quantitative Bestimmung von Lipoiden (Mikromethode) mittels der vielen natürlichen Lipoiden (allen bekannten Plasmalipoiden) gemeinsamen Sulfophosphovanillin-Reaktion. *Zeitschrift für Die Gesamte Experimentelle Medizin*, 135(6), 545–561. <https://doi.org/10.1007/bf02045455>

Anexo 1. Formato de entrevista etnobotánica



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Unidad Multidisciplinaria de Investigación, L.7. P.A. Terapia Molecular



ENTREVISTA ETNOBOTÁNICA

No. De entrevista: _____

Fecha: _____

Sexo: _____

Nombre del entrevistado: _____

Edad: _____

1.- ¿Qué enfermedades ha padecido y cuales han presentado sus familiares más cercanos?

2. ¿Qué alimentos consume regularmente?

3.- ¿Con que nombre (s) conoce a la planta?

4.- ¿Cuál es el uso que usted le ha dado a la planta?

5.- ¿Conoce algún otro uso de la planta?

6.- ¿Cómo supo usted del uso medicinal de la planta? ¿Quién le recomendó el uso?

7.- ¿Qué parte de la planta uso? ¿Tuvo una preparación? ¿se usa sola o combinada?

8.- ¿Le advirtieron sobre algún efecto adverso sobre el uso de la planta?

9.- ¿Cómo fue su aplicación?

10.- ¿Cómo inicio y progreso su padecimiento?

11.- ¿Cuánto tiempo transcurrido desde la detección del problema hasta el inicio del tratamiento?

12.- Cuanto duro el tratamiento y con qué frecuencia?

13.- ¿Cuáles fueron sus observaciones más importantes durante el tratamiento?

14.- ¿Además de utilizar la planta, tenía otro tratamiento? ¿Cuál era?

15.- ¿Presento algunas molestias durante el uso?

16.- ¿Al término del tratamiento usted ha observado nuevas lesiones?

Nota:

Anexo 2. Figuras de la extravasación de azul de Evans en ratones.



Figura 36. Extravasación del azul de Evans en órganos vasculares de ratones CD-1: A) Ratón del grupo sin edema plantar sin extravasación vascular del colorante B) Ratón del grupo con edema de solución salina con poca extravasación vascular del colorante.

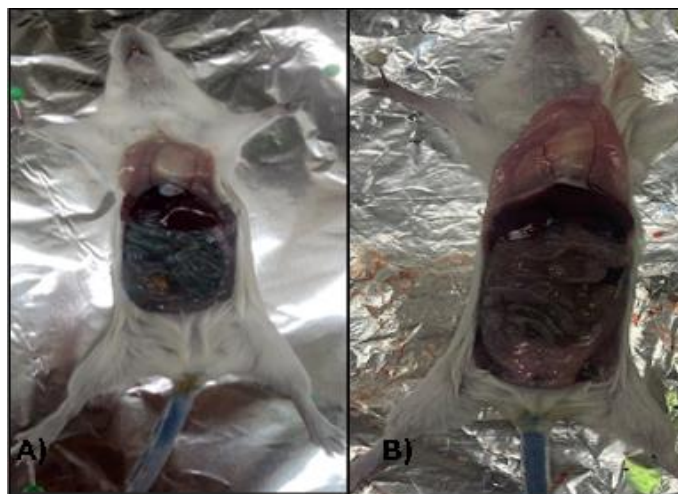


Figura 37. Extravasación del azul de Evans en órganos vasculares de ratones CD-1: A) Ratón del grupo con edema plantar con mucha extravasación vascular del colorante B) Ratón del grupo con edema plantar y con tratamiento de indometacina con moderada extravasación vascular del colorante.



Figura 38. Extravasación del azul de Evans en órganos vasculares de ratones CD-1 con tratamiento del extracto de hoja de *N. salicifolia*: A) Ratón del grupo sin edema con mucha extravasación vascular del colorante B) Ratón del grupo con edema plantar con moderada extravasación vascular del colorante.

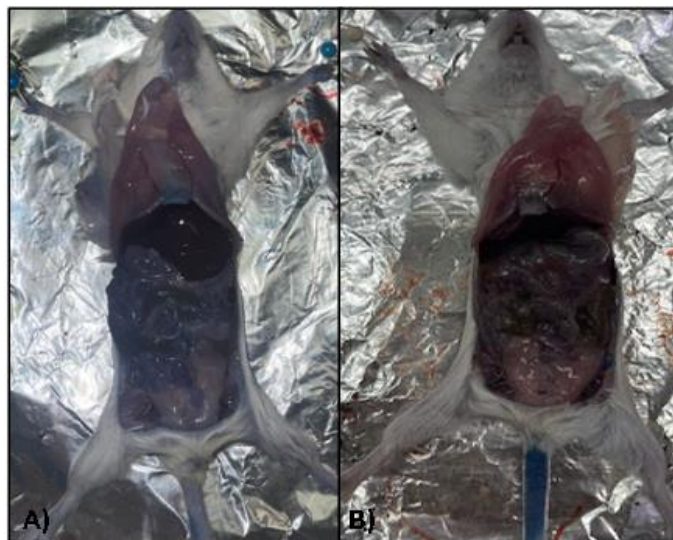


Figura 39. Extravasación del azul de Evans en órganos vasculares de ratones CD-1 con tratamiento del extracto de tallo de *N. salicifolia*: A) Ratón del grupo sin edema con alta extravasación vascular del colorante B) Ratón del grupo con edema plantar con moderada extravasación vascular del colorante.



Figura 40. Extravasación del azul de Evans en órganos vasculares de ratones CD-1 con tratamiento del extracto de fruto de *N. salicifolia*: A) Ratón del grupo sin edema con poca extravasación vascular del colorante B) Ratón del grupo con edema plantar con alta extravasación vascular del colorante.

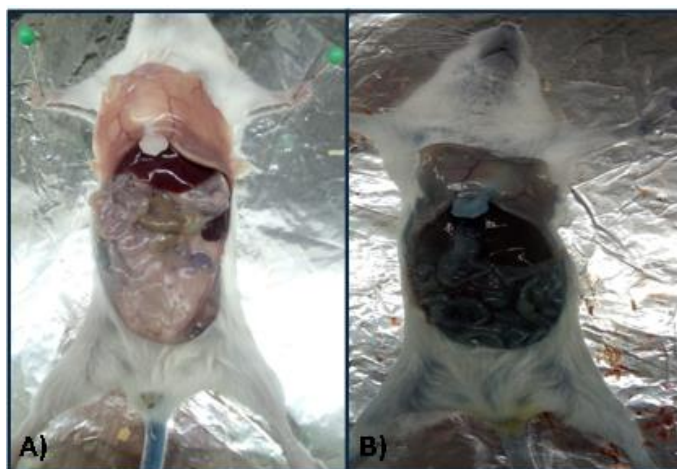


Figura 41. Extravasación del azul de Evans en órganos vasculares de ratones CD-1 con tratamiento del extracto de flor de *N. salicifolia*: A) Ratón del grupo sin edema con poca o nula extravasación vascular del colorante B) Ratón del grupo con edema plantar con alta extravasación vascular del colorante.