

EVALUACIÓN FARMACOLÓGICA DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA Y ANÁLISIS FITOQUÍMICO DE LOS EXTRACTOS ACTIVOS DE *SALVIA PURPUREA* CAV.

PHARMACOLOGICAL EVALUATION OF THE ANTINOCICEPTIVE ACTIVITY AND PHYTOCHEMICAL ANALYSIS OF ACTIVE EXTRACTS OF *SALVIA PURPUREA* CAV.

 CRISTIAN CUEVAS-MORALES¹,  LIZETH M. ZAVALA-OCAMPO¹,  RUBÉN SAN MIGUEL-CHÁVEZ²,
 MARÍA EVA GONZÁLEZ-TRUJANO³,  FRANCISCO A. BASURTO-PEÑA⁴,
 VERÓNICA MUÑOZ-OCOTERO¹,  EVA AGUIRRE-HERNÁNDEZ^{1*}

¹ Laboratorio de Productos Naturales, Departamento de Ecología y Recursos Naturales. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México.

² Laboratorio de Fitoquímica, Posgrado en Botánica. Colegio de Postgraduados, Texcoco, México.

³ Laboratorio de Neurofarmacología de Productos Naturales. Dirección de Investigaciones en Neurociencias del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz, Ciudad de México, México.

⁴ Jardín Botánico. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México.

*Autor para correspondencia: eva_aguirre@ciencias.unam.mx

Resumen

Antecedentes: *Salvia purpurea* Cav., comúnmente conocida como “salvia moradita”, es una planta medicinal usada en Oaxaca, Veracruz y Chiapas por sus propiedades analgésica, antiinflamatoria y antidiarreica. Sin embargo, no existen evidencias científicas que soporten su potencial para el alivio del dolor.

Hipótesis: Terpenos y compuestos fenólicos son responsables de la actividad antinociceptiva de extractos de *S. purpurea*.

Especie estudiada: *Salvia purpurea* Cav. (Lamiaceae).

Lugar de estudio y año: *Salvia purpurea* se colectó en Santiago Huauchilla, Oaxaca, en octubre de 2017.

Métodos: La toxicidad aguda (Dosis letal media, LD_{50}) de los extractos de acetona, metanol y acuoso de *S. purpurea* se determinó mediante el protocolo de la OCDE (2001). Los extractos se administraron vía oral (p.o.) en un rango de dosis de 3 a 300 mg/kg para evaluar el efecto antinociceptivo utilizando las pruebas de estiramiento abdominal y formalina en ratones. El análisis por HPLC se realizó para identificar la naturaleza de los metabolitos presentes en los extractos activos en comparación con sus respectivos estándares.

Resultados: La toxicidad aguda de todos los extractos fue calculada como $LD_{50} > 2000$ mg/kg, p.o. El efecto antinociceptivo fue significativo en todas las dosis probadas y en forma no dependiente de la dosis para todos los extractos y en ambas pruebas. El análisis fitoquímico permitió identificar a compuestos de naturaleza terpénica y fenólica.

Conclusiones: Los resultados del presente estudio refuerzan el uso como analgésico y antiinflamatorio de *S. purpurea* en la Medicina Tradicional Mexicana, donde terpenos y compuestos fenólicos participan en dichas actividades.

Palabras clave: Dolor, flavonoides, Lamiaceae, *Salvia purpurea*, terpenos.

Abstract

Background: *Salvia purpurea* Cav., commonly known as “salvia moradita”, is a medicinal plant used in Oaxaca, Veracruz and Chiapas for its analgesic, anti-inflammatory and antidiarrheic properties. However, there is no scientific evidence supporting its pain alleviating potential.

Hypothesis: Terpenes and phenolic compounds are responsible for the antinociceptive activity of *S. purpurea* extracts.

Studied specimen: *Salvia purpurea* Cav. (Lamiaceae).

Place of study and year: *Salvia purpurea* was collected in Santiago Huauchilla, Oaxaca, in October 2017.

Methods: The acute toxicity (Lethal dose fifty, LD_{50}) of the acetone, methanol and aqueous *S. purpurea* extracts was determined following the OECD protocol No. 423. The extracts were administered by gavage (p.o.) at doses ranging from 3 to 300 mg/kg to evaluate antinociceptive effects using the writhing and formalin tests in mice. HPLC analysis was performed to identify the nature of the metabolites present in the active extracts in comparison with their respective standards.

Results: Acute toxicity was calculated to be $LD_{50} > 2000$ mg/kg, p.o. The antinociceptive effects for each extract were significant in all the tested doses and in a non-dependent dose manner in both tests. Phytochemical analysis allowed to identify compound of terpenic and phenolic nature.

Conclusions: The results of the present study reinforce the analgesic and anti-inflammatory use of *S. purpurea* in Traditional Mexican Medicine where terpenes and phenolic compounds participate in these activities.

Key words: Pain, flavonoids, Lamiaceae, *Salvia purpurea*, terpenes.

Este artículo se encuentra bajo los términos de la licencia Creative Commons Attribution License CC BY-NC (4.0) internacional.

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>



El dolor constituye un estado de alerta del organismo cuyo propósito es protegerlo de algún daño o lesión potencial, y evitar así consecuencias perjudiciales; sin embargo, cuando el dolor es crónico ocasiona efectos nocivos en la salud y en la calidad de vida de los individuos (Olsen *et al.* 2012). En México, el 5 % de los padecimientos atendidos por médicos del Instituto Mexicano del Seguro Social están asociados a dolor. De lo anterior, se estima que alrededor de 28 millones de mexicanos padecen algún tipo de dolor, ya sea agudo o crónico, funcional o disfuncional (Covarrubias-Gómez *et al.* 2010). Los analgésicos de tipo opioide y los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) son los dos grupos de medicamentos más comúnmente utilizados en el tratamiento del dolor agudo y crónico. A pesar de producir cierto grado de eficacia, dichos fármacos están acompañados de efectos adversos que pueden ser moderados o severos en intensidad e incidencia, tales como: la producción de náuseas, depresión respiratoria, dependencia y tolerancia, daño gastrointestinal, cardiovascular y renal, según sea el caso, entre otros (Calixto *et al.* 2000, Olsen *et al.* 2012). A este respecto, las plantas medicinales juegan un papel preponderante como origen y descubrimiento de nuevos productos terapéuticos para el dolor, considerando incluso que pueden ser eficaces y seguros (Calixto *et al.* 2000).

Salvia es un género de la familia Lamiaceae y muchas de sus especies son usadas en la medicina tradicional para el alivio de desórdenes gástricos, enfermedades inflamatorias y dolor general, entre otros padecimientos (Wu *et al.* 2012, Jenks & Kim 2013, Ghorbani & Esmaeilizadeh 2017).

Los estudios farmacológicos han descrito los efectos antinociceptivos y antiinflamatorios de salvias, principalmente europeas y asiáticas, en su mayoría asociados a la presencia de compuestos de naturaleza terpénica y fenólica. Tal es el caso de los extractos de acetona y metanol de *S. aegyptiaca*, los cuales presentaron actividad antinociceptiva significativa en las pruebas de estiramiento abdominal, placa caliente y formalina (Al-Yousuf *et al.* 2002). El extracto de cloroformo de *S. wiedemannii* se reportó con esta actividad en las pruebas de estiramiento abdominal y retirada de la cola (Ustun & Sezik 2011). El extracto etanólico de *S. plebeia* presentó actividad farmacológica en el modelo de dolor abdominal y en el proceso inflamatorio inducido en la prueba de carragenina (Jung *et al.* 2009). De manera similar, el extracto hidroalcohólico de *S. officinalis* produjó actividad antinociceptiva y antiinflamatoria en las pruebas de estiramiento abdominal, formalina y carragenina, donde compuestos de naturaleza terpénica fueron parcialmente responsables de la actividad (Rodrigues *et al.* 2012, Ghorbani & Esmaeilizadeh 2017). En el caso de *S. lachnostachys*, el extracto etanólico mostró actividad en la prueba de formalina, donde el diterpeno fruticulina fue identificado como bioactivo (Santos *et al.* 2017). Sin embargo, no existe suficiente investigación sobre las salvias de México, el principal centro de diversificación del subgénero *Calosphace*, con alrededor de 300 especies (Martínez-Gordillo *et al.* 2017). Dentro de los trabajos en especies mexicanas se encuentra el estudio de los extractos de mediana polaridad de *S. divinorum*, que presentaron actividad en modelos de dolor neuropático (Simón-Arceo *et al.* 2017). Recientemente, las especies de *S. circinata* y *S. semiatrata* se reportaron por su actividad antinociceptiva en los modelos de estiramiento abdominal y formalina, cuyos metabolitos parcialmente responsables fueron el diterpeno neo-clerodano amarisolida A y el flavonoide pedalitina (Moreno-Pérez *et al.* 2019, 2021), así como el diterpeno 7-ceto-neoclerodan-3,13-dien-18,19:15,16-diólido (Ortiz-Mendoza *et al.* 2020), respectivamente.

De manera general, los metabolitos bioactivos que han sido identificados en especies del género son monoterpenos como: α y β -pineno, canfeno, mirceno, felandreno, limoneno, p-cimeno, canfor, linalool, mentol, borneol, geraniol, timol, carvacrol, farnesol, entre otros. Además de diterpenos como: salvinorinas, miltirones, amarisolidas, carnosol, ácido carnósico, tansinonas, royleanonas, hispaninas. Triterpenos: ácido ursólico, estigmasterol, α -amirina, β -amirina, ácido oleanólico, β -sitosterol. Así como flavonoides: apigenina, canferol, cirsimarinina, hispidulina, luteolina, querctina, isoquerctrina, rutina, glucósidos de apigenina, canferol y luteolina (Imanshahidi & Hosseinzadeh 2006, Wu *et al.* 2012, Akaberi *et al.* 2016, Ghorbani & Esmaeilizadeh 2017, Moreno-Pérez *et al.* 2019).

Salvia purpurea Cav. (Lamiaceae) es una hierba perenne que llega a medir hasta 2.5 m de altura, y se ha colectado floreciendo en los meses de marzo, septiembre, octubre y noviembre. Se distribuye ampliamente desde Jalisco, centro y sur de México hasta Costa Rica, donde habita en bosques templados. Esta especie es comúnmente conocida

como “moradita” en Oaxaca (Nambo-Camacho 2015) y “santomexochitl” en Veracruz (Guzmán-Gómez 2014). En la comunidad de Santiago Huaclilla, Oaxaca, es usada para aliviar “el dolor de muela” (Nambo-Camacho 2015). En Xalapa, Veracruz, la usan por sus propiedades como desinflamatoria, en baños postparto y para hemorragias nasales (Guzmán-Gómez 2014). En Chiapas se emplea para tratar el dolor de estómago ocasionado por diarrea y disentería (Domínguez-Vázquez & Castro-Ramírez 2002). A pesar del uso de *S. purpurea* para el alivio del dolor en la Medicina Tradicional Mexicana, no existen investigaciones científicas que corroboren sus propiedades farmacológicas de tipo analgésico. El propósito del presente estudio fue encontrar evidencia del efecto antinociceptivo de extractos de diferente naturaleza polar de la parte aérea de *S. purpurea* e identificar algunos compuestos activos y así entender su uso en la medicina tradicional para el alivio del dolor.

Materiales y métodos

Colecta del material vegetal. La parte aérea de *S. purpurea* (hojas, tallos y flores) fue recolectada en el municipio de Santiago Huaclilla, Oaxaca, en el mes de octubre de 2017. Un ejemplar de la especie se depositó en el Herbario Medicinal del IMSS con el número de registro 16361. La identificación taxonómica fue realizada por la Dra. Martha Juana Martínez Gordillo.

Preparación de los extractos. Los extractos orgánicos de *S. purpurea* se obtuvieron por maceración a temperatura ambiente. El material vegetal (1,840 g) se secó, se trituró y se sometió a tres extracciones sucesivas de 24 horas con cada uno de los disolventes utilizados (acetona y metanol), los cuales fueron comprados en Tecsiqim, S.A. de C.V. (Ciudad de México, México). El exceso de disolvente se eliminó a presión reducida, en un rotaevaporador (Büchi bath B-490). Una vez secos, los extractos se pesaron y se obtuvieron los siguientes rendimientos: acetona (80 g, 3.7 %) y metanol (83 g, 3.8 %).

Para la obtención del extracto acuoso, 90 g de la parte aérea de la planta seca y molida se adicionaron a 200 mL de agua destilada para preparar una decocción, la cual ebullió durante 5 minutos. Después, el líquido fue filtrado y congelado con nitrógeno líquido para su posterior liofilizado (HETO FD3, Heto-Holten A/S, Denmark). Se obtuvo un rendimiento total de 3.5 g (3.8 %).

Reactivos y fármacos. Los fármacos de referencia ketorolaco (Supradol-Liomont) y diclofenaco (Merck) fueron adquiridos en la Ciudad de México. El ácido acético y la formalina fueron comprados de J.T. Baker y Sigma, respectivamente. Tween 80, reveladores y estándares de terpenoides y flavonoides fueron comprados en Sigma (St. Louis, MO). Acetona y metanol fueron adquiridos en Tecsiqim, S.A. de C.V. (Ciudad de México, México). Todos los fármacos y los extractos de metanol y acuoso fueron disueltos en solución salina (0.9 % NaCl, Sigma, St. Louis, MO). El extracto de acetona se resuspendió con Tween 80 al 0.5 % en solución salina. Los fármacos y extractos fueron administrados vía oral (p.o.) en un volumen de 10 mL/kg. Los agentes nociceptivos fueron el ácido acético y la formalina, los cuales fueron preparados al 1% diluidos con solución salina y administrados por vía intraperitoneal (i.p., 0.1 mL/10 g de peso corporal) o intraplantar (20 µL/pata), respectivamente. Todos los tratamientos se prepararon una hora antes de iniciar los experimentos y evaluados en las pruebas farmacológicas 30 minutos después de su administración.

Animales. Ratones macho de la cepa CD1 (25- 30 g) fueron obtenidos del Bioterio de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Autónoma de México. Los animales fueron manipulados previamente para su adaptación a las condiciones de experimentación y mantenidos sin restricción de alimento y agua a una temperatura de 22 ± 1 °C y humedad estándar (50 ± 5 %) con un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas. El día del experimento, los sujetos experimentales fueron separados en grupos de seis ratones. El protocolo fue aceptado el 21 de agosto de 2019 por la

Comisión de Ética y Responsabilidad Científica de la Facultad de Ciencias, UNAM (CEARC-PI-2019-08-001). El manejo de los animales se realizó bajo los lineamientos éticos establecidos en la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999).

Toxicidad aguda (Dosis-letal media, DL_{50}). Los ratones fueron administrados con una dosis máxima de 2,000 mg/kg, p.o. con los extractos de acetona, metanol y acuoso siguiendo el protocolo de la OCDE (2001) (documento de orientación sobre pruebas de toxicidad oral aguda). Los animales fueron observados durante 14 días para registrar manifestaciones de toxicidad como pérdida de peso, pérdida de locomoción, ataxia, paro respiratorio o muerte. Al finalizar los 14 días de observación, los ratones fueron sometidos a eutanasia y los órganos se analizaron macroscópicamente para visualizar posibles alteraciones en los tejidos.

Evaluación de la actividad antinociceptiva. Los ratones se dividieron en grupos de seis animales, los cuales recibieron como tratamiento: el vehículo, los fármacos de referencia diclofenaco o ketorolaco (10 mg/kg, p.o.), o una de las dosis de los diferentes extractos (3, 30 y 300 mg/kg, p.o.). Treinta minutos después de los tratamientos, los animales se sometieron de manera independiente a los modelos de dolor abdominal y nociceptivo-inflamatorio en las pruebas de estiramiento abdominal o formalina, respectivamente.

Prueba de estiramiento abdominal (“writhing”). Esta prueba consistió en la administración vía intraperitoneal (i.p.) de ácido acético al 1 % para inducir irritación en la cavidad peritoneal, la cual a su vez ocasiona una conducta estereotipada de estiramientos de los miembros posteriores y contracciones abdominales (Collier *et al.* 1968). Todos los tratamientos fueron administrados vía p.o. 30 minutos antes de la inyección del ácido acético al 1 %. Un observador registró el número de estiramientos abdominales cada 5 minutos durante 30 minutos. La disminución significativa de los estiramientos abdominales comparados con el grupo testigo se interpretó como efecto antinociceptivo (Viana *et al.* 2003).

Prueba de formalina. La nocicepción fue inducida con la inyección intraplantar de 20 μ L de formalina al 1 % en la extremidad posterior derecha de cada ratón. Inmediatamente después la conducta nociceptiva se evaluó expresada como tiempo de lamida de la extremidad inyectada en intervalos de 1 minuto cada 5 minutos, por un periodo de 30 minutos. En esta prueba se registraron dos fases: la fase temprana o neurogénica (0 a 10 minutos) y la fase tardía o inflamatoria (10 a 30 minutos). La disminución significativa en cualquiera de las dos fases se interpretó como efecto antinociceptivo (Tjølsen *et al.* 1992).

Ánálisis estadístico. El análisis se realizó utilizando análisis de varianza (ANADEVA) de una vía seguida de la prueba post-hoc de Dunnett para comparar los tratamientos contra el grupo control usando el programa Graphpad Prism v.7.0. Una significancia de $P < 0.05$ fue considerada estadísticamente significativa.

Ánálisis fitoquímico. Análisis por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR).- El análisis de terpenoides y compuestos fenólicos de *Salvia purpurea* se realizó en un cromatógrafo marca Agilent serie 1100 equipado con un detector de arreglo de diodos. Una muestra de cada extracto se preparó a una concentración de 50 mg/mL, los cuales se disolvieron por separado en acetona, metanol y agua grado CLAR de acuerdo con su polaridad. Los estándares se prepararon a una concentración de 3 mg/mL. Las muestras se filtraron para eliminar impurezas mediante acrodiscos con membrana de nylon con una apertura de poro de 0.4 μ m. Se inyectaron 5 o 10 μ L de los extractos y 20 μ L de los estándares.

La identificación de terpenoides y compuestos fenólicos se realizó comparando el tiempo de retención con el de los estándares adquiridos en Sigma-Aldrich (St. Louis Mo. USA). La cuantificación se basó en las curvas de cali-

bración del compuesto de referencia, obtenidos bajo las mismas condiciones cromatográficas. Las curvas se construyeron con el modelo de regresión lineal $Y = mx + b$ por medio del software ChemStation de Agilent Co.

Para la identificación y cuantificación de terpenoides se utilizó una columna Zorbax Eclipse XDB-C8 (125 × 4.0 mm). La fase móvil fue acetonitrilo (ACN)/agua (80:20) con un flujo de 1 mL/min a una temperatura de 40 °C. El equipo se calibró a longitudes de onda de 215 y 220 nm con un tiempo de análisis de 25 minutos. Los estándares utilizados fueron: estigmasterol, ácido ursólico, ácido oleanólico, α - β -amirina y β -sitosterol.

La identificación y cuantificación de ácidos fenólicos y flavonoides se llevó a cabo con una columna C18 Hypersil ODS (125 × 4.0 mm), con un gradiente de agua a pH 2.5 ajustado con ácido trifluoroacético/ACN 0-10 min, 85 % de agua: 15 % de ACN; 20 min, 65 % de agua: 35 % de ACN; 25 min, 65 % agua: 35 % ACN. Se utilizaron los siguientes parámetros: flujo a 1 mL/min, temperatura de 30 °C, longitudes de onda de detección de 254, 280, 316 y 365 nm y tiempo de análisis de 30 min. Los estándares de ácidos fenólicos utilizados fueron ácido clorogénico, cafeíco, ferúlico, gálico, 3,5-dihidroxibenzoico, p-hidroxibenzoico, sináptico y siríngico. Los estándares de flavonoides usados fueron apigenina, canferol, catequina, floretina, florizina, naringenina, quer cetina y rutina.

Resultados

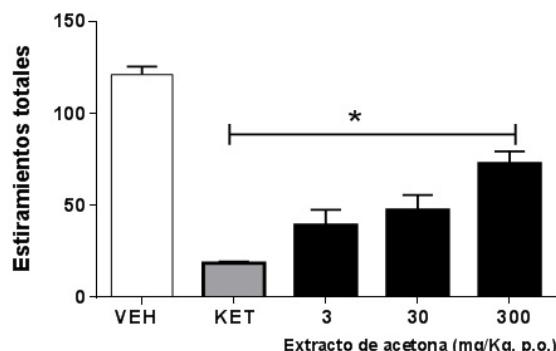
Toxicidad aguda. Ninguno de los extractos produjo efectos de toxicidad aguda en las dosis probadas, ni a la máxima dosis explorada de acuerdo con la norma de la OECD, indicando un parámetro de $DL_{50} > 2,000$ mg/kg, p.o. El grupo de ratones que recibió la administración del extracto metanólico presentó únicamente disminución en la actividad ambuladora sugiriendo un efecto ansiolítico ya reportado en otras especies (González-Trujano *et al.* 2016, Ortiz-Mendoza *et al.* 2020). No hubo diferencia significativa en el peso de los ratones que recibieron los extractos en comparación con el vehículo durante la observación por 14 días. La necropsia de los animales permitió determinar que no hubo daño tisular, con excepción de los ratones administrados con el extracto metanólico, quienes presentaron pequeñas erosiones o úlceras como las provocadas por la presencia de fármacos analgésicos antiinflamatorios cuyo mecanismo de acción es la reducción de la protección de la mucosa gástrica por inhibición de las prostaglandinas (Vane & Botting 1998).

Prueba de estiramiento abdominal “writhing”. Todos los extractos (3, 30 y 300 mg/kg, p.o.) y el fármaco de referencia (10 mg/kg, p.o) produjeron efecto antinociceptivo significativo no dependiente de la dosis en comparación con los ratones que recibieron el vehículo ([Figura 1A, B, C](#)).

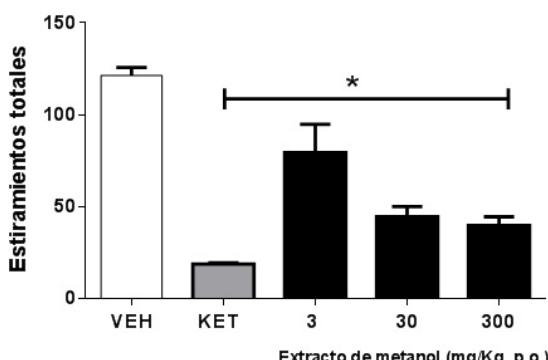
Prueba de formalina. Los extractos orgánicos y acuoso redujeron significativamente la conducta nociceptiva en forma no dependiente de la dosis y similar al fármaco de referencia, tanto en la fase neurogénica ([Figura 2 A, C, E](#)) como en la fase inflamatoria ([Figura 2 B, D, E](#)) en comparación con el grupo que recibió el vehículo ([Figura 2](#)).

Ánálisis fitoquímico. El análisis cromatográfico de *S. purpurea* mostró que los extractos orgánicos (acetona y metanol) contienen el mayor número y abundancia de constituyentes de naturaleza terpénica ([Figura 3](#), [Tabla 1](#)). El ácido ursólico y la α -amirina fueron los de mayor concentración, siendo esta última mayoritaria en el extracto de acetona (569.33 mg/mg) ([Tabla 1](#)). La mayoría de los compuestos fenólicos fueron identificados en los tres extractos ([Figura 3](#), [Tabla 1](#)), sin embargo, los ácidos fenólicos estuvieron presentes en bajas concentraciones (0.005 a 0.166 mg/mg) ([Tabla 1](#)). Con respecto a los flavonoides, la florizina fue la molécula mayoritaria en los extractos acuoso y metanol con 2.36 y 1.61 mg/mg, respectivamente, seguido por la catequina con 0.560 mg/mg en el extracto de acetona y 0.438 mg/mg en el de metanol. La apigenina, el canferol, la naringenina, la quer cetina y la rutina fueron determinados en los extractos en un rango de 0.090 a 0.389 mg/mg, a excepción de la rutina, flavonoide mayoritario en el extracto acuoso (0.548 mg/mg) ([Tabla 1](#)).

A)



B)



C)

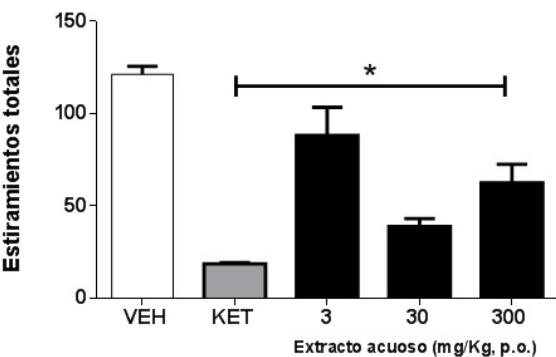


Figura 1. Actividad antinociceptiva de los extractos de *Salvia purpurea*, el vehículo (VEH) y el ketorolaco 10 mg/kg, p.o. (fármaco de referencia, KET) expresada como estiramientos totales. Extracto de acetona (A), de metanol (B) y acuoso (C). Las barras representan la media \pm el error estándar de seis animales. ANADEVA seguida de la prueba de Dunnett, $*P < 0.05$.

Discusión

Diferentes especies del género *Salvia* han sido utilizadas desde la antigüedad para el tratamiento de problemas digestivos, dolor e inflamación (Wu *et al.* 2012, Jenks & Kim 2013, Akaberi *et al.* 2016). No obstante, los estudios farmacológicos que refuercen dichas propiedades antinociceptivas y antiinflamatorias, tanto de extractos crudos como de los metabolitos bioactivos aislados de salviás, son recientemente validados mediante el uso de diversos modelos de dolor agudo y crónico (Ghorbani & Esmaeilizadeh 2017, Santos *et al.* 2017, Moreno-Pérez *et al.* 2019, 2021, Ortiz-Mendoza *et al.* 2020, Tlacomulco-Flores *et al.* 2020).

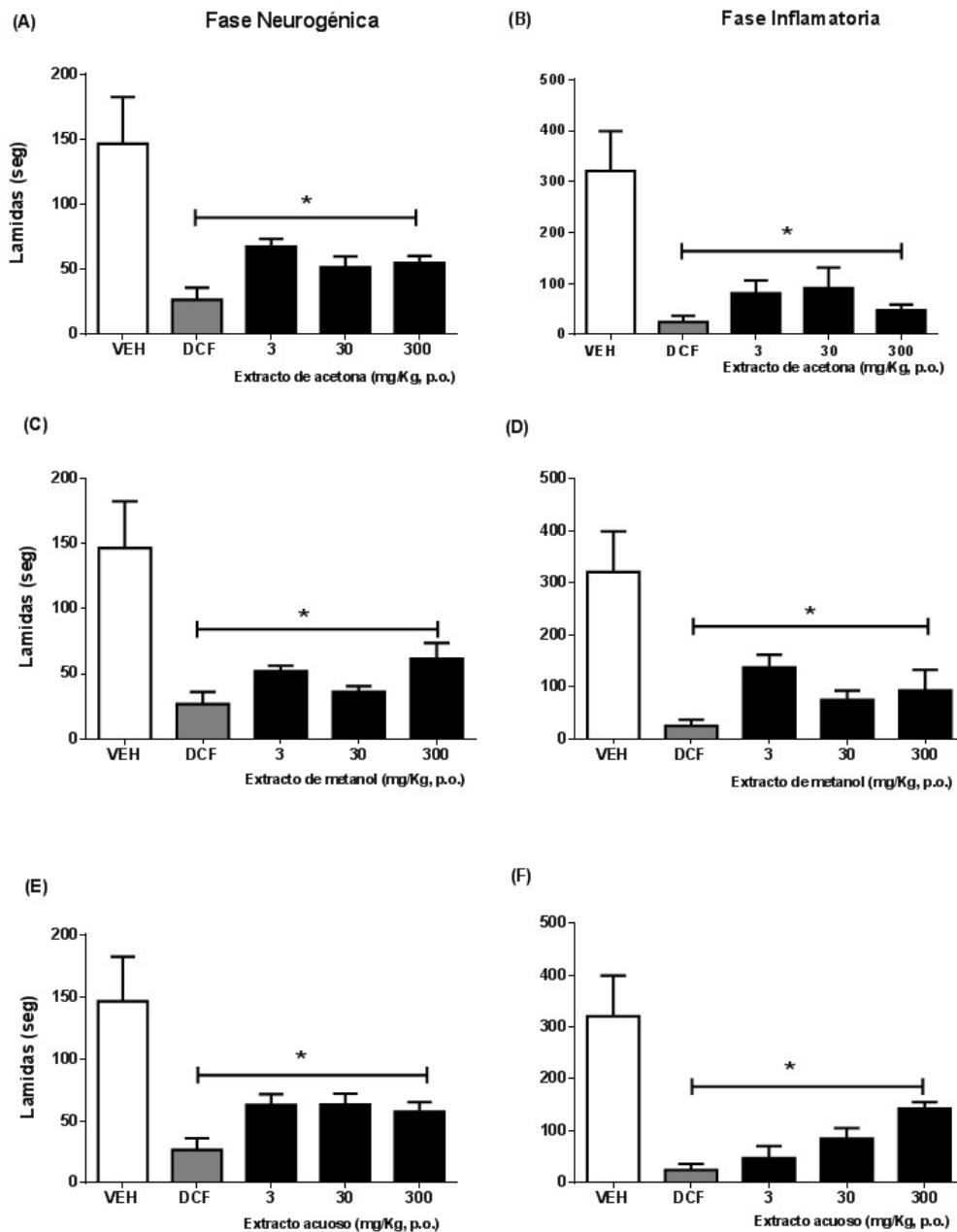


Figura 2. Actividad antinociceptiva de los extractos de *Salvia purpurea*, el vehículo (VEH) y el diclofenaco 10 mg/kg, p.o. (fármaco de referencia, DCF) evaluada en la prueba de formalina. Fase neurogénica del extracto de acetona, metanol y acuoso (A, C y E respectivamente). Fase inflamatoria (B, D y F). Las barras representan la media \pm el error estándar de seis animales. ANADEVA seguida de la prueba de Dunnett, $*P < 0.05$.

S. purpurea se usa en la Medicina Tradicional Mexicana para el alivio del dolor abdominal, muscular nociceptivo o asociado con inflamación (Domínguez-Vázquez & Castro-Ramírez 2002, Guzmán-Gómez 2014, Nambo-Camacho 2015). En forma similar, otras especies del género distribuidas en México, se utilizan en diversas comunidades para tratar afecciones gastrointestinales que incluyen dolor de estómago, diarrea, disentería, cólicos, indigestión, infección e inflamación estomacal, tales como: *S. microphylla*, *S. coccinea*, *S. elegans* y *S. fulgens* (Jenks & Kim 2013); *S. circinata* y *S. semiatrata* (Nambo-Camacho 2015).

La evaluación *in vivo* de la toxicidad aguda de los extractos de *S. purpurea* la colocan en un nivel de uso no tóxico (OCDE 2001). No obstante, el efecto producido por el extracto de metanol como un daño gástrico leve sugiere la

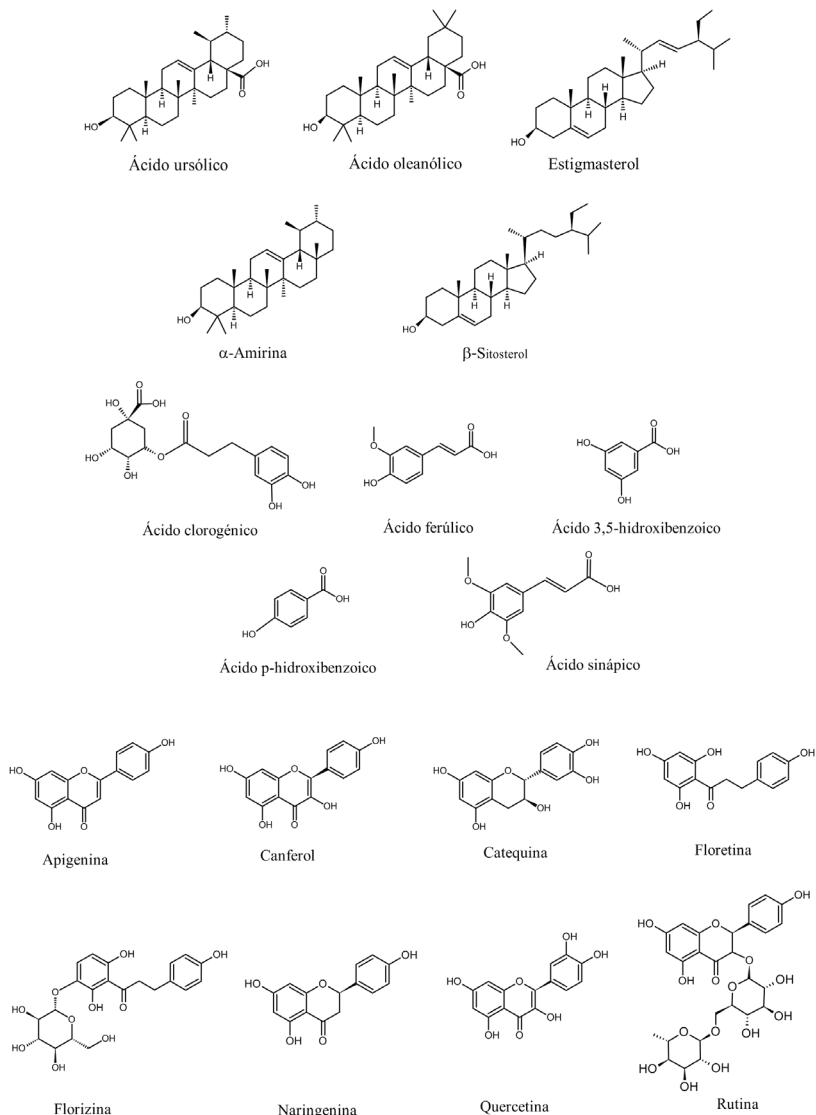


Figura 3. Estructuras de terpenoides y compuestos fenólicos identificados en extractos de *Salvia purpurea*.

participación de un mecanismo de acción antiinflamatorio, posiblemente mediado por inhibición de la síntesis de prostaglandinas como se ha reportado para los fármacos analgésicos no esteroideos (Vane & Botting 1998). La seguridad en el uso de *Salvia*s es consistente con los resultados de toxicidad aguda de otras especies del género con una $DL_{50} > 2,000$ mg/kg, p.o. calculada para extractos medianamente polares y polares de la parte aérea. Tal es el caso de extractos de *S. aegyptiaca* (Al-Yousuf *et al.* 2002). Para el extracto hidroalcohólico de hojas de *S. officinalis* se reportó una $DL_{50} = 44.75$ g/kg, p.o (Rodrigues *et al.* 2012). En la infusión de *S. circinata* fue de $DL_{50} = 5$ g/kg, p.o. (Flores-Bocanegra *et al.* 2017) y $DL_{50} > 2,000$ mg/kg, i.p. (Moreno-Pérez *et al.* 2019). Mientras que para *S. hypoleuca* la $DL_{50} = 1,800$ mg/kg, i.p. (Karami *et al.* 2013).

En el presente estudio farmacológico y fitoquímico, los resultados muestran que los extractos medianamente polar (acetona) y polar (metanol y acuoso) de *S. purpurea* produjeron actividad de tipo analgésica significativa, tanto en un modelo de dolor abdominal como en la respuesta nociceptiva e inflamatoria. En el modelo nociceptivo se apreció la influencia a nivel central y periférico, asociado con la reducción de la conducta nociceptiva en las fases neurogénica e inflamatoria. Estos datos concuerdan con los efectos antinociceptivos observados en otras especies de *Salvia*; por ejemplo, con el extracto hidroalcohólico (10-100 mg/kg, p.o.), acuoso (10-1,000 mg/kg) y de butanol (10-316 mg/kg)

Tabla 1. Concentración de terpenoides y compuestos fenólicos identificados en extractos de *Salvia purpurea*.

Compuesto	TR (min)	R ²	Acetona (μg/mg)	Metanol (μg/mg)	Acuoso (μg/mg)
Terpenoides					
Ácido ursólico	2.60	0.99	105.29	101.09	1.15
Ácido oleanólico	4.42	0.99	1.05	2.19	0
Estigmasterol	2.90	0.98	3.24	1.84	0
α-amirina	6.49	0.99	569.33	214.56	13.64
β-sitosterol	17.75	0.98	4.26	0	0
Ácidos fenólicos					
Ácido clorogénico	3.70	0.99	0.008	0.017	0.021
Ácido ferúlico	6.0	0.99	0.028	0.044	0.045
Ácido 3,5-dihidroxibenzoico	11.62	0.99	0.062	0.079	0.166
Ácido p-hidroxibenzoico	2.67	0.99	0	0.005	0
Ácido sináptico	6.10	0.99	0.057	0.077	0.090
Flavonoides					
Apigenina	16.62	0.99	0.278	0.389	0.094
Canferol	17.35	0.99	0.129	0.177	0.090
Catequina	2.35	0.98	0.560	0.438	0.219
Floretina	16.16	0.99	0.089	0.079	0
Florizina	9.31	0.99	0.016	1.61	2.36
Naringenina	15.61	0.99	0.136	0.098	0.095
Quercetina	13.10	0.99	0.097	0.186	0.143
Rutina	5.90	0.99	0.122	0.210	0.548

RT: tiempo de retención; R²: coeficiente de correlación

de *S. officinalis* se obtuvo actividad antinociceptiva y antiinflamatoria en los modelos de estiramiento abdominal y formalina en ratones (Qnais *et al.* 2010, Rodrigues *et al.* 2012). Los extractos de acetona y metanol de *S. aegyptiaca* requirieron mayor dosis (250-2,000 mg/kg, p.o.) en ratones para apreciar su efecto antinociceptivo y antiinflamatorio en las mismas pruebas y adicionalmente en la placa caliente (Al-Yousuf *et al.* 2002). Extractos de hexano, acetato de etilo y metanol de *S. divinorum* (100-400 mg/kg, p.o.) o en el caso del extracto de mediana polaridad en dosis de 3 a 100 mg/kg, i.p. (Tlacomulco-Flores *et al.* 2020), promovieron efecto significativo en la prueba de estiramiento y/o formalina en ratones. Similares efectos fueron observados con extractos de diferente polaridad de *S. cincinata* (1-300 mg/kg, i.p.) en las pruebas de “writhing” y formalina (Moreno-Pérez *et al.* 2019, 2021) y *S. semiatrata* (300 mg/kg, p.o.) en ambos modelos (Ortiz-Mendoza *et al.* 2020). A pesar de ser pocos los estudios experimentales de Salviás mexicanas para el alivio del dolor, éstos son consistentes en el potencial que representan como alternativa medicinal y fuente de metabolitos activos para esta afección que afecta la calidad de vida de muchos pacientes cuyas enfermedades cursan con dolor agudo o crónico.

El análisis cromatográfico de *S. purpurea* mostró la semejanza entre los extractos de acetona y metanol, identificándose en ambos, constituyentes de naturaleza terpénica, tales como: ácido ursólico, ácido oleanólico, estigmasterol, α-amirina y β-sitosterol, estos compuestos fueron los de mayor abundancia con respecto a los compuestos fenólicos. Los ácidos fenólicos identificados en los tres extractos fueron: ácido clorogénico, ácido ferúlico, ácido 3,5-dihidroxibenzoico y ácido sináptico, los cuales se detectaron en bajas concentraciones. Cabe mencionar que este es el primer informe de la presencia del ácido sináptico en especies de *Salvia*. Con respecto a los flavonoides,

la florizina fue la molécula mayoritaria en los extractos polares (metanol y acuoso). Dicho metabolito, al igual que la floretina, solamente han sido identificadas en salvias mexicanas (Moreno-Pérez *et al.* 2019). Otros flavonoides detectados fueron la apigenina, el canferol, la catequina, la naringenina, la queracetina y la rutina. Los terpenoides y la mayoría de los compuestos fenólicos cuantificados en *S. purpurea*, ya han sido reportados en otras especies del género (Wu *et al.* 2012, Wang *et al.* 2019, Mocan *et al.* 2020). Asimismo, de éstos ya se tiene conocimiento de sus propiedades antinociceptivas y antiinflamatorias.

Estudios fitoquímicos de plantas del género *Salvia* informan la presencia de sesquiterpenoides, diterpenoides, sesterpenoides, triterpenoides, esteroides y polifenoles (Wu *et al.* 2012, Jenks & Kim 2013, Wang *et al.* 2019). Dichos compuestos se han considerado responsables de las propiedades antinociceptivos y antiinflamatorios atribuidos a estas especies (Imanshahidi & Hosseinzadeh 2006, Maione *et al.* 2017). Los terpenos carnosol, ácido oleanólico y ácido ursólico, así como el flavonoide salvigenina fueron asociados a estos efectos en *S. officinalis* (Forouzanfar & Hosseinzadeh 2018). Los ácidos rosmarínico, caféico y derivados de luteolina fueron parcialmente responsables en los efectos de *S. halophila* y *S. virgata* (Akkol *et al.* 2008). La Salvinorina A, aislada de *S. divinorum* y derivados de dicha molécula han generado efectos tipo analgésico en diversos modelos en ratones (John *et al.* 2006, McCurdy *et al.* 2006, Guida *et al.* 2012, Crowley *et al.* 2020). Efectos similares se reportaron para la tilifodiólida obtenido de *S. tiliifolia* (González-Chávez *et al.* 2018) y para el diterpeno neo-clerodano amarisolida A y el flavonoide pedalitina aislados de *S. circinata* (Moreno-Pérez *et al.* 2019). Un estudio reciente reportó esta actividad para el diterpeno neoclerodano 7-ceto-neoclerodan-3,13-dien-18,19:15,16-diólido purificado de *S. semiatrata* (Ortiz-Mendoza *et al.* 2020). En los últimos años, ha sido notable el interés en los compuestos de naturaleza terpénica con actividad tipo analgésica en el género *Salvia*, cuyas especies presentan abundancia en metabolitos del tipo abietano, labdano, clero-dano, pimarano e icetexano (Wu *et al.* 2012).

Los compuestos de naturaleza terpénica identificados en los extractos de *S. purpurea* fueron el ácido ursólico, el ácido oleanólico, la α -amirina, el estigmasterol y el β -sitosterol, triterpenos reportados en otras especies de *Salvia* (Topçu 2006, Wu *et al.* 2012, Wang *et al.* 2019). Los ácidos ursólicos y oleanólicos aislados de *Salvia officinalis* tuvieron efecto antinociceptivo en la prueba de formalina (Rodrigues *et al.* 2012, Forouzanfar & Hosseinzadeh 2018). La α -amirina aislada de *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March. (Burseraceae) y el estigmasterol de *Mondia whytei* (Hook.f.) Skeels. (Apocynaceae) produjeron efectos antinociceptivos en las pruebas de estiramiento abdominal y de formalina (Oliveira *et al.* 2005, Holanda Pinto *et al.* 2008, Githinji *et al.* 2012). Por otro lado, el β -sitosterol fue responsable de la actividad antinociceptiva reportada para *Buddleja thyrsoides* (Fialho *et al.* 2017).

Los ácidos fenólicos identificados en los extractos de *S. purpurea* fueron ácido clorogénico, ácido ferúlico, ácido 3,5-dihidroxibenzoico, ácido p-hidroxibenzoico y ácido sináptico, de los cuales, el ácido clorogénico y el ferúlico son caracterizados como compuestos con propiedades analgésicas y antiinflamatorias (dos Santos *et al.* 2006, Xu *et al.* 2016, Javed *et al.* 2020).

En todos los extractos de *S. purpurea* se identificaron los flavonoides apigenina, canferol, catequina, floretina, florizina, naringenina, queracetina y rutina. De dichos compuestos ya se han demostrado sus propiedades analgésicas reiterando con este estudio su participación como bioactivos. La apigenina, catequina y naringenina presentaron un potente efecto antinociceptivo y antiinflamatorio en las diversas pruebas donde fueron evaluadas (placa caliente, inmersión de la cola, “writhing”, formalina y carragenina) (Pinheiro *et al.* 2012, Islam *et al.* 2019, Xue *et al.* 2019). La florizina y su aglicona floretina son reportadas principalmente por sus efectos antiinflamatorios (Sekhon-Loodu *et al.* 2015, Kim *et al.* 2018). Finalmente, el canferol, la queracetina y la rutina, especialmente activos en la fase inflamatoria (Selvaraj *et al.* 2014, Hirota *et al.* 2016, do Nascimento *et al.* 2018), en parte mediada por la inhibición de la enzima COX-2 (Lesjak *et al.* 2018), lo cual hace que el daño gástrico que pudiera visualizarse sea menor en comparación con los AINEs utilizados en la clínica como lo observado con el extracto metanólico de *S. purpurea*.

En conclusión, los datos de este estudio dan evidencia farmacológica y fitoquímica de los efectos antinociceptivos de extractos medianamente polares y polares de *S. purpurea* reforzando su uso en la Medicina Tradicional Mexicana para el tratamiento de afecciones que cursan con dolor abdominal, nociceptivo y asociado a inflamación. Donde la interacción de constituyentes de naturaleza terpénica y fenólica juegan un papel relevante para la eficacia y seguridad de su uso.

Agradecimientos

Este trabajo fue realizado gracias al apoyo proporcionado por el Programa UNAM- PAPIIT-IN221221, CONACYT-256448 y INPRFM-NC17073. Los autores agradecen a Nancy Ortiz Mendoza, Agustín Carmona Castro y Armando Rodríguez Velasco por su asistencia técnica. A Martha J. Martínez-Gordillo por la identificación de la especie y por la revisión de este artículo.

Literatura citada

- Akaberi M, Iranshahi M, Mehri S. 2016. Molecular signaling pathways behind the biological effects of *Salvia* species diterpenes in neuropharmacology and cardiology. *Phytotherapy Research* **30**: 878-893. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/ptr.5599>
- Akkol EK, Göger F, Koşar M, Başer KH. 2008. Phenolic composition and biological activities of *Salvia halophila* and *Salvia virgata* from Turkey. *Food Chemistry* **108**: 942-949. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.11.071>
- Al-Yousuf MH, Bashir AK, Ali BH, Tanira MO, Blunden G. 2002. Some effects of *Salvia aegyptiaca* L. on the central nervous system in mice. *Journal of Ethnopharmacology* **81**: 121-127. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0378-8741\(02\)00057-0](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(02)00057-0)
- Calixto JB, Beirith A, Ferreira J, Santos AR, Filho VC, Yunes RA. 2000. Naturally occurring antinociceptive substances from plants. *Phytotherapy Research* **14**: 401-418. DOI: [https://doi.org/10.1002/1099-1573\(200009\)14:6<401::AID-PTR762>3.0.CO;2-H](https://doi.org/10.1002/1099-1573(200009)14:6<401::AID-PTR762>3.0.CO;2-H)
- Collier HO, Dinneen LC, Johnson C, Schneider C. 1968. The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. *British Journal of Pharmacology and Chemotherapy* **32**: 295-310. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1968.tb00973.x>
- Covarrubias-Gómez A, Guevara-López U, Gutiérrez-Salmerón C, Betancourt-Sandoval JA, Córdova-Domínguez JA. 2010. Epidemiología del dolor crónico en México. *Revista Mexicana de Anestesiología* **33**: 207-213.
- Crowley RS, Riley AP, Alder AF, Anderson RJ, Luo D, Kaska S, Maynez P, Kivell BM, Prisinzano TE. 2020. Synthetic studies of neoclerodane diterpenes from *Salvia divinorum*: Design, synthesis, and evaluation of analogues with improved potency and G-protein activation bias at the μ -opioid receptor. *ACS Chemical Neuroscience* **12**: 1781-1790 DOI: <https://doi.org/10.1021/acschemneuro.0c00191>
- do Nascimento JET, de Moraes SM, de Lisboa DS, de Oliveira Sousa M, Santos SAAR, Magalhães FEA, Campos AR. 2018. The orofacial antinociceptive effect of kaempferol-3-O-rutinoside, isolated from the plant *Ouratea fieldingiana*, on adult zebrafish (*Danio rerio*). *Biomedicine and Pharmacotherapy* **107**: 1030-1036. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.08.089>
- Domínguez-Vázquez G, Castro-Ramírez A. 2002. Usos medicinales de la familia Labiateae en Chiapas, México. *Etnobiología* **2**: 19-31.
- dos Santos MD, Almeida MC, Lopes NP, de Souza GE. 2006. Evaluation of the anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of the natural polyphenol chlorogenic acid. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* **29**: 2236-40. DOI: <https://doi.org/10.1248/bpb.29.2236>
- Fialho MFP, Brusco I, da Silva Brum E, Piana M, Boligon AA, Trevisan G, Oliveira SM. 2017. *Buddleja thyrsooides* Lam. crude extract presents antinociceptive effect on an arthritic pain model in mice. *Biochemical Journal* **474**: 2993-3010. DOI: <https://doi.org/10.1042/BCJ20170008>
- Flores-Bocanegra L, González-Andrade M, Bye R, Linares E, Mata R. 2017. α -glucosidase inhibitors from *Salvia circinata*. *Journal of Natural Products* **80**: 1584-1593. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.7b00155>
- Forouzanfar F, Hosseinzadeh H. 2018. Medicinal herbs in the treatment of neuropathic pain: a review. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences* **21**: 347-358. DOI: <http://dx.doi.org/10.22038/IJBM.2018.24026.6021>
- Ghorbani A, Esmaeilizadeh M. 2017. Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. *Journal of Traditional and Complementary Medicine* **7**: 433-440. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtcme.2016.12.014>

- Githinji ChG, Mbugua PM, Kanui TI, Kariuki DK. 2012. Analgesic and anti-inflammatory activities of 9-hexacosene and stigmasterol isolated from *Mondia whytei*. *Phytopharmacology* **2**: 212-223.
- González-Chávez MM, Alonso-Castro AJ, Zapata-Morales JR, Arana-Argáez V, Torres-Romero JC, Medina-Rivera YE, Sánchez-Mendoza E, Pérez-Gutiérrez S. 2018. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of tilifodiolide, isolated from *Salvia tiliifolia* Vahl (Lamiaceae). *Drug Development Research* **79**: 165-172. DOI: <https://doi.org/10.1002/ddr.21432>
- González-Trujano ME, Brindis F, López-Ruiz E, Ramírez-Salado I, Martínez A, Pellicer F. 2016. Depressant effects of *Salvia divinorum* involve disruption of physiological sleep. *Phytotherapy Research* **30**: 1137-1145. <http://dx.doi.org/10.1002/ptr.5617>
- Guida F, Luongo L, Aviello G, Palazzo E, De Chiaro M, Gatta L, Boccella S, Marabese I, Zjawiony JK, Capasso R, Izzo AA, De Novellis V, Maione S. 2012. Salvinorin A reduces mechanical allodynia and spinal neuronal hyperexcitability induced by peripheral formalin injection. *Molecular Pain* **8**: 60-74. DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/1744-8069-8-60>
- Guzmán-Gómez O. 2014. *Evaluación de la Actividad Antiinflamatoria y Estudios Quimiométricos de Especies de Salvia de Xalapa, Veracruz y Municipios Aledaños*. BSc Thesis. Universidad Veracruzana.
- Hirota BC, Paula CD, de Oliveira VB, da Cunha JM, Schreiber AK, Ocampos FM, Barison A, Miguel OG, Miguel MD. 2016. Phytochemical and antinociceptive, anti-inflammatory, and antioxidant studies of *Smilax larvata* (Smilacaceae). *Evidence Based Complementary Alternative Medicine* **2016**: 9894610. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2016/9894610>
- Holanda Pinto SA, Pinto LM, Guedes MA, Cunha GM, Chaves MH, Santos FA, Rao VS. 2008. Antinociceptive effect of triterpenoid α and β amyrin in rats on orofacial pain induced by formalin and capsaicin. *Phytomedicine* **15**: 630-634. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2007.11.016>
- Imanshahidi M, Hosseinzadeh H. 2006. The pharmacological effects of *Salvia* species on the central nervous system. *Phytotherapy Research* **20**: 427-437. DOI: <https://doi.org/10.1002/ptr.1898>
- Islam S, Shajib MS, Rashid RB, Khan MF, Al-Mansur MA, Datta BK, Rashid MA. 2019. Antinociceptive activities of *Artocarpus lacucha* Buch-ham (Moraceae) and its isolated phenolic compound, catechin, in mice. *BMC Complementary and Alternative Medicine* **19**: 214. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12906-019-2565-x>
- Javed F, Jabeen Q, Aslam N, Awan AM. 2020. Pharmacological evaluation of analgesic, anti-inflammatory and anti-pyretic activities of ethanolic extract of *Indigofera argentea* Burm. f. *Journal of Ethnopharmacology* **259**: 112966. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112966>
- Jenks AA, Kim SC. 2013. Medicinal plant complexes of *Salvia* subgenus *Calosphace*: An ethnobotanical study of new world sage. *Journal of Ethnopharmacology* **146**: 214-224. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.12.035>
- John TF, French LG, Erlichman JS. 2006. The antinociceptive effect of salvinorin A in mice. *European Journal of Pharmacology* **545**: 129-133. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2006.06.077>
- Jung HJ, Song YS, Lim CJ, Park EH. 2009. Anti-inflammatory, anti-angiogenic and anti-nociceptive activities of an ethanol extract of *Salvia plebeia* R. Brown. *Journal of Ethnopharmacology* **126**: 355-360. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.08.031>
- Karami M, Shamerani MA, Alemy SH, Gohari AR, Ehsani Vostacolaee S. 2013. Comparison antinociceptive activity of the aqueous methanolic extracts of *Salvia hypoleuca* and *Phytolacca americana* in mice. *European Review for Medical Pharmacological Sciences* **17**: 2755-2759. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24174356/>
- Kim J, Durai P, Jeon D, Jung ID, Lee SJ, Park YM, Kim Y. 2018. Phloretin as a potent natural TLR2/1 inhibitor suppresses TLR2-induced inflammation. *Nutrients* **10**: 868. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu10070868>
- Lesjak M, Beara I, Simin N, Pintać D, Majkić T, Bekvalac K, Orčić D, Mimica-Dukić N. 2018. Antioxidant and anti-inflammatory activities of quercetin and its derivatives. *Journal of Functional Foods* **40**: 68-75. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.10.047>
- Maione F, Cantone V, Pace S, Chini MG, Bisio A, Romussi G, Pieretti S, Werz O, Koeberle A, Mascolo N, Bifulco G. 2017. Anti-inflammatory and analgesic activity of carnosol and carnosic acid in vivo and in vitro and

- in silico analysis of their target interactions. *British Journal of Pharmacology* **174**: 1497-1508. DOI: <https://doi.org/10.1111/bph.13545>
- Martínez-Gordillo M, Bedolla-García B, Cornejo-Tenorio G, Fragoso-Martínez I, García Peña M, González-Gallegos G, Lara-Cabrera SI, Zamudio S. 2017. Lamiaceae de México. *Botanical Science* **95**: 780-806. DOI: <https://doi.org/10.17129/botsci.1871>
- McCurdy CR, Sufka K J, Smith GH, Warnick JE, Nieto MJ. 2006. Antinociceptive profile of salvinorin A, a structurally unique kappa opioid receptor agonist. *Review of Pharmacology and Biochemistry Behavior* **83**: 109-13. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2005.12.011>
- Mocan A, Babota M, Pop A, Fizeşan I, Diuzheva A, Locatelli M, Carradori S, Campestre C, Menghini L, Sisea CR, Soković M, Zengin G, Păltinean R, Badarau S, C Vodnar DC, Crişan G. 2020. Chemical constituents and biologic activities of Sage Species: A comparison between *Salvia officinalis* L., *S. glutinosa* L. and *S. transsylvanica* (*Schur ex Griseb. & Schenk*) Schur. *Antioxidants (Basel)* **9**: 480. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox9060480>
- Moreno-Pérez GF, González-Trujano ME, Martínez-Gordillo MJ, San Miguel-Chávez R, Basurto-Peña F, Dorazco-González A, Aguirre-Hernández E. 2019. Amarisolide A and pedalitin as bioactive compounds in the antinociceptive effects of *Salvia circinata* (Lamiaceae). *Botanical Science* **97**: 355-365. DOI: <https://doi.org/10.17129/botsci.2187>
- Moreno-Pérez GF, Hernández-León A, Valle-Dorado MG, Cano-Martínez A, Narváez-González F, Aguirre-Hernández E, Salgado-Ceballos H, González-Trujano ME. 2021. Neo-clerodane diterpenic influence in the antinociceptive and anti-inflammatory properties of *Salvia circinnata* Cav. *Journal of Ethnopharmacology* **268**: 113550. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113550>
- Nambo-Camacho A. 2015. *Etnobotánica de Santiago Huaucilla, Oaxaca y Evaluación Farmacológica de Zinnia peruviana*. BSc Thesis. Universidad Nacional Autónoma de México.
- OCDE [Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos]. 2001. *Guideline for testing of chemicals. Acute oral toxicity- acute toxic class method*. https://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/suppdocs/feddocs/oecd/oecd_gl423.pdf (accessed April 06, 2020)
- Oliveira FA, Costa CL, Chaves MH, Almeida FR, Cavalcante IJ, Lima AF, Lima RC Jr, Silva RM, Campos AR, Santos FA, Rao VS. 2005. Attenuation of capsaicin-induced acute and visceral nociceptive pain by alpha-and beta-amyrin, a triterpenoid mixture isolated from *Protium heptaphyllum* resin in mice. *Life Sciences* **77**: 2942-2952. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2005.05.031>
- Olsen AE, Andresen T, Staahl C, Drewes AM. 2012. Human experimental pain models for assessing the therapeutic efficacy of analgesic drugs. *Pharmacological Reviews* **64**: 722-779. DOI: <https://doi.org/10.1124/pr.111.005447>
- Ortiz-Mendoza N, Zavala-Ocampo LM, Martínez-Gordillo MJ, González-Trujano ME, Basurto Peña FA, Bazany-Rodríguez IJ, Rivera Chávez JA, Dorazco-González A, Aguirre-Hernández E. 2020. Antinociceptive and anxiolytic-like effects of a neo-clerodane diterpene from *Salvia semiatrata* aerial parts. *Pharmaceutical Biology* **58**: 620-629. DOI: <https://doi.org/10.1080/13880209.2020.1784235>
- Pinheiro MM, Boylan F, Fernandes PD. 2012. Antinociceptive effect of the *Orbignya speciosa* Mart. (Babassu) leaves: evidence for the involvement of apigenin. *Life Sciences* **91**: 293-300. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2012.06.013>
- Qnais EY, Abu-Dieyeh M, Abdulla FA, Abdalla SS. 2010. The antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Salvia officinalis* leaf aqueous and butanol extracts. *Pharmaceutical Biology* **48**: 1149-1156. DOI: <https://doi.org/10.3109/13880200903530763>
- Rodrigues MR, Kanazawa LK, das Nerves TL, da Silva CF, Horst H, Pizzolatti MG, Santos AR, Baggio CH, Werner MF. 2012. Antinociceptive and anti-inflammatory potential of extract and isolated compounds from the leaves of *Salvia officinalis* in mice. *Journal of Ethnopharmacology* **139**: 519-526. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.11.042>
- Santos JA, Piccinelli AC, Formaggio MD, Oliveira CS, Santos EP, Alves Stefanello ME, Lanza Junior U, Oliveira RJ, Sugizaki MM, Kassuya CA. 2017. Antidepressive and antinociceptive effects of ethanolic extract and fruticuline A from *Salvia lachnostachys* Benth leaves on rodents. *Plos One* **12**: e0172151. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172151>

- Sekhon-Loodu S, Ziaullah, Rupasinghe HP. 2015. Docosahexaenoic acid ester of phloridzin inhibit lipopolysaccharide-induced inflammation in THP-1 differentiated macrophages. *International Immunopharmacology* **25**: 199-206. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2015.01.019>
- Selvaraj G, Kaliamurthi S, Thirungnasambandam R, Vivekanandan L, Balasubramanian T. 2014. Anti-nociceptive effect in mice of thillai flavonoid rutin. *Biomedical and Environmental Sciences* **27**: 295-299. DOI: <https://doi.org/10.3967/bes2014.052>
- Simón-Arceo K, González-Trujano ME, Coffeen U, Fernández-Mas R, Mercado F, Almanza A, Pellicer F. 2017. Neuropathic and inflammatory antinociceptive effects and electrocortical changes produced by *Salvia divinorum* in rats. *Journal of Ethnopharmacology* **206**: 115-124. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.05.016>
- Tjølsen A, Berge OG, Hunskaar S, Rosland JH, Hole K. 1992. The formalin test: an evaluation of the method. *Pain* **51**: 5-17. DOI: [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(92\)90003-t](https://doi.org/10.1016/0304-3959(92)90003-t)
- Tlacomulco-Flores L, Déciga-Campos M, González-Trujano ME, Carballo-Villalobos AI, Pellicer F. 2020. Antinociceptive effects of *Salvia divinorum* and bioactive salvinorins in experimental pain models in mice. *Journal of Ethnopharmacology* **248**: 112276. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112276>
- Topçu G. 2006. Bioactive triterpenoids from *Salvia* species. *Journal of Natural Products* **69**: 482-487. DOI: <https://doi.org/10.1021/np0600402>
- Ustun O, Sezik E. 2011. Analgesic activity of *Salvia wiedemannii* Boiss. used in Turkish folk medicine. *Record of Natural Products* **5**: 328-331. DOI: <https://doi.org/10.1055/s-0031-1282811>
- Vane JR, Botting RM. 1998. Mechanism of action of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *The American Journal of Medicine* **104**: 2S-8S. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0002-9343\(97\)00203-9](https://doi.org/10.1016/s0002-9343(97)00203-9)
- Viana GSB, Bandeira MAM, Matos FJA. 2003. Analgesic and anti-inflammatory effects of chalcones isolated from *Myracrodruon urundeuva* allemão. *Phytomedicine* **10**: 189-195. DOI: <https://doi.org/10.1078/094471103321659924>
- Wang J, Xu J, Gong X, Yang M, Zhang C, Li M. 2019. Biosynthesis, chemistry, and pharmacology of polyphenols from Chinese *Salvia* species: A review. *Molecules* **24**: 155. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules24010155>
- Wu YB, Ni ZY, Shi QW, Dong M, Kiyota H, Gu YC, Cong B. 2012. Constituents from *Salvia* species and their biological activities. *Chemical Reviews* **112**: 5967-6026. DOI: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/cr200058f>
- Xu Y, Lin D, Yu X, Xie X, Wang L, Lian L, Fei N, Chen J, Zhu N, Wang G, Huang X, Pan J. 2016. The antinociceptive effects of ferulic acid on neuropathic pain: involvement of descending monoaminergic system and opioid receptors. *Oncotarget* **7**: 20455-68. DOI: DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.7973>
- Xue N, Wu X, Wu L, Li L, Wang F. 2019. Antinociceptive and anti-inflammatory effect of Naringenin in different nociceptive and inflammatory mice models. *Life Sciences* **217**: 148-154. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.11.013>

Editor de sección: Juan Rodrigo Salazar

Contribución de los autores: CCM participó en la realización de las actividades experimentales y la elaboración del manuscrito. LMZO participó en la realización de la evaluación farmacológica, preparación y revisión del manuscrito. RSMC participó en el análisis de CLAR y revisión del manuscrito. MEGT participó en la preparación y revisión del manuscrito. FABP participó en la recolección del material vegetal y revisión del manuscrito. VMO participó en la preparación y revisión del manuscrito. EAH participó en la recolecta del material vegetal, obtención de extractos, diseño experimental, preparación y revisión del manuscrito.