



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

Posgrado en Ciencias Químicas

**“Aislamiento de metabolitos mayoritarios
de dos especies del género *Salvia*
Subgénero *Calosphace* Clado
Scorodonia”**

Tesis para obtener el grado de:
Doctorado en Ciencias Químicas

Presenta:
García Nava Xitlalick

Director de Tesis:
Dra. Denisse Atenea De Loera Carrera

Director de Tesis:
Dr. Francisco Elihú Bautista Redonda



REPOSITORIO INSTITUCIONAL



UASLP-Sistema de Bibliotecas

Repositorio Institucional Tesis Digitales Restricciones de Uso DERECHOS RESERVADOS

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en este Trabajo Terminal está protegido por la Ley Federal de Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos.

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 se obtuvo, mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto o con fines de lucro, reproducción, edición o modificación será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



Aislamiento de metabolitos mayoritarios de dos especies del género *Salvia* Subgénero *Calosphace* Clado *Scorodonia* © 2024 por Xitlalick García-Nava, Denisse de Loera, Elihú Bautista, Fernando Calzada se distribuye bajo una licencia CC BY-NC-ND 4.0. Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional. Para ver una copia de esta licencia, visitar <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

El programa de Doctorado en Ciencias Químicas de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí pertenece al Sistema Nacional de Posgrados (SNP) del Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT), registro 00520, en la categoría I. El autor recibió una beca académica (CONAHCYT con número de CVU 740455).

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Química de Productos Naturales perteneciente al grupo de Laboratorios de Investigación, Innovación y Desarrollo para las Zonas Áridas del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, y en el Laboratorio de Fotoquímica y Síntesis perteneciente a la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí; bajo la dirección de los Doctores Fco. Elihú Bautista Redonda y Denisse A. de Loera Carrera. Durante el desarrollo del proyecto de investigación, este contó con el financiamiento de CONAHCYT No. CB-A1-S-7705.

El punto de partida de la investigación fue la revisión bibliográfica y la adquisición del material vegetal en colaboración con las Doctoras Brenda Y. Bedolla García (INECOL Bajío), Itzi Fragoso Martínez (INECOL Xalapa) y Martha Martínez Gordillo (FC-UNAM). El aislamiento y purificación de los metabolitos mayoritarios del material vegetal se realizó en el Laboratorio de Química de Productos Naturales (DBM-IPICYT) con el apoyo del Dr. Elihú Bautista Redonda. Los análisis espectroscópicos se realizaron en el Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México y en la Universidad Veracruzana con los Doctores José Alberto Rivera Chávez y Omar Cortezano Arellano. Los ensayos biológicos se llevaron a cabo en el Centro Médico Nacional siglo XXI-IMSS con los Doctores Fernando Calzada, Lilian Yépez Mulia y Miguel Andrés Valdes Guevara, y en el Departamento de Farmacia, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México con la Dra. Mabel Fragoso Serrano.

Los datos del trabajo titulado Aislamiento de metabolitos mayoritarios de dos especies del género *Salvia* Subgénero *Calosphace* Clado *Scorodonia* se encuentran bajo el resguardo del Facultad de Ciencias Químicas y pertenece a la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

Facultad de Ciencias Químicas

Centro de Investigación y Estudios de Posgrado

Posgrado en Ciencias Químicas

Programa de Doctorado

Formato D13

Solicitud de Registro de Tesis Doctorado

San Luis Potosí SLP a Mayo/ 02 / 2024

Comité Académico

En atención a la Coordinadora del Posgrado

Por este conducto solicito a Usted se lleve a cabo el registro de título de tesis de Doctorado, el cual quedo definido de la siguiente manera: **Aislamiento de metabolitos mayoritarios de dos especies del género *Salvia* Subgénero *Calosphace* Clado *Scorodonia*** que desarrollará la estudiante Xitlalick García Nava bajo la dirección de la Dra. Denisse A. de Loera Carrera y la Co-dirección del Dr. Elihú Bautista Redonda.

Asimismo, le comunico que el proyecto en el cual trabajará el alumno involucrará el manejo de animales de experimentación o muestras derivadas de los mismos, el manejo y generación de organismos genéticamente modificados, se llevará a cabo en la Unidad de Investigación Médica en Farmacología, UMAE Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS.

Sin otro particular, quedo de Usted.

A T E N T A M E N T E

Xitlalick García Nava

Dra. Denisse A. de Loera Carrera

16/6/22, 12:42

SIRELCIS



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS



"Dictamen de Reaprobación"

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN MÉDICA EN FARMACOLOGÍA SIGLO XXI (U INVEST MED EN FARMACOLOGIA S XXI)
Comité de Ética en Investigación **36018**

Jueves, 16 de junio de 2022

CONBIOETICA 09 CET 023 2017082

DR. FERNANDO CALZADA BERMEJO

PRESENTE

En atención a su solicitud de evaluación de documentos del protocolo de investigación con título: Estudio fitoquímico y actividad antihiper glucémica e hipolipidémica de *Salvia polystachya* Ort. en ratones con diabetes experimental, y número de registro institucional **R-2020-3601-007**; me permito informarle que el Comité de Ética en Investigación revisó y aprobó la solicitud de reaprobación del **15 de Junio de 2022** al **15 de Junio de 2023**

ATENTAMENTE

DR. MARTH
Presidente d

AUTISTA
stigación No. 36018

Imprimir

IMSS

SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

Posgrado en Ciencias Químicas

**“Aislamiento de metabolitos mayoritarios
de dos especies del género *Salvia*
Subgénero *Calosphace* Clado
Scorodonia”**

Tesis para obtener el grado de:
Doctorado en Ciencias Químicas

Presenta:

García Nava Xitlalick

SINODALES:

Presidente: Dra. Denisse A. De Loera Carrera

Secretario: Dr. F. Elihú Bautista Redonda

Vocal: Dr. Fernando Calzada Bermejo

Vocal: Dra. Laura C. Flores Bocanegra

Vocal: Dr. Rodolfo González Chávez

SAN LUIS POTOSÍ, S.L.P.

Mayo 2024

INTEGRANTES DEL COMITÉ TUTORIAL ACADÉMICO

Dra. Denisse A. De Loera Carrera: Director de tesis. Adscrito al Posgrado en Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, S.L.P.

Dr. Francisco Elihú Bautista Redonda: Codirector de tesis. Adscrito al Posgrado en Ciencias en Biología Molecular del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, San Luis Potosí, S.L.P.

Dr. Fernando Calzada Bermejo: Tutor de tesis. Adscrito a la Unidad de Investigación Médica en Farmacología, UMAE Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, Ciudad de México, México.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
Facultad de Ciencias Químicas
Centro de Investigación y Estudios de Posgrado
Posgrado en Ciencias Químicas
Programa de Doctorado

Carta Cesión de Derechos

San Luis Potosí SLP a Mayo/ 02 / 2024

En la ciudad de San Luis Potosí el día 02 del mes de mayo del año 2004. El que suscribe **Xitlalick García Nava** Alumna del programa de posgrado en Ciencias Químicas adscrito a la **Facultad de Ciencias Químicas** manifiesta que es autor(a) intelectual del presente trabajo terminal, realizado bajo la dirección de la Dra. Denisse A. de Loera Carrera y el Dr. Elihú Bautista Redonda, y cede los derechos del trabajo titulado **Aislamiento de metabolitos mayoritarios de dos especies del género *Salvia* Subgénero *Calosphace* Clado *Scorodonia*** a la **Universidad Autónoma de San Luis Potosí**, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir de forma total o parcial texto, gráficas, imágenes o cualquier contenido del trabajo si el permiso expreso del o los autores. Éste, puede ser obtenido directamente con el autor o autores escribiendo a las siguientes direcciones xgnava@hotmail.com, atenea.deloera@uaslp.mx, francisco.bautista@ipicyt.edu.mx. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

Xitlalick García Nava



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
Facultad de Ciencias Químicas
Centro de Investigación y Estudios de Posgrado
Posgrado en Ciencias Químicas
Programa de Doctorado

Formato D28

Carta de Análisis de Similitud

San Luis Potosí SLP a 8 de enero de 2024

L.B. María Zita Acosta Nava

Biblioteca de Posgrado FCQ

Asunto: Reporte de porcentaje de similitud de tesis de grado

Por este medio me permito informarle el porcentaje de similitud obtenido mediante Ithenticate para la tesis titulada AISLAMIENTO DE METABOLITOS MAYORITARIOS DE DOS ESPECIES DEL GÉNERO *Salvia* SUBGÉNERO *Calosphace* CLADO *Scorodonia* presentada por la autora Xitlalick García Nava. La tesis es requisito para obtener el grado de Doctorado en el Posgrado en Ciencias Químicas. El análisis reveló un porcentaje de similitud de 19% excluyendo referencias y metodología.

Agradezco sinceramente su valioso tiempo y dedicación para llevar a cabo una exhaustiva revisión de la tesis. Quedo a su disposición para cualquier consulta o inquietud que pueda surgir en el proceso.

Sin más por el momento, le envío un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E

Dra. Denisse Atenea de Loera Carrera

Coordinadora Académica del
Posgrado en Ciencias Químicas

AGRADECIMIENTOS

Un especial agradecimiento a mis asesores, la Dra. Denisse A. de Loera Carrera por darme una oportunidad de continuar mi estancia en el grupo de investigación interdisciplinario de Química Avanzada y Aplicada (IRAACH), por el apoyo, la atención y el tiempo invertido. Al Dr. Elihú Bautista Redonda por la oportunidad de pertenecer a su grupo de investigación, por la confianza en la realización del proyecto, por el tiempo, los consejos, las enseñanzas, las correcciones y los viajes de colectas llenos de experiencias y aprendizajes.

A la Universidad Autónoma de San Luis Potosí por la oportunidad de pertenecer al posgrado en Ciencias Químicas y a mi comité tutelar: Dra. Denisse A. de Loera Carrera, Dr. Elihú Bautista Redonda y Dr. Fernando Calzada Bermejo por su amable aceptación, por el tiempo invertido, por las recomendaciones y comentarios proporcionados para mejorar el desarrollo de esta investigación.

A los sinodales, Dra. Denisse A. de Loera Carrera, Dr. Elihú Bautista Redonda, Dr. Fernando Calzada Bermejo, Dr. Rodolfo González Chávez y Dra. Laura C. Flores Bocanegra, por todo el tiempo invertido para la revisión de esta tesis.

A las Dras. Brenda Y. Bedolla-García, Itzi Fragoso Martínez y Martha Martínez Gordillo por sus enseñanzas y por la ayuda con la colecta del material vegetal.

Al Dr. Omar Cortezano Arellano y al Dr. José Alberto Rivera Chávez por los análisis espectroscópicos de los productos aislados.

Al M.C. César Corpus Mendoza por los análisis teóricos realizados de los productos nuevos aislados.

A la Dra. Mabel Fragoso Serrano, al Dr. Fernando Calzada, a la Dra. Lilian Yépez Mulia y al Dr. Miguel Andrés Valdes Guevara por los ensayos biológicos realizados.

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por la beca otorgada y por el financiamiento (No. CB-A1-S-7705).

A mis amigos y compañeros de laboratorio, Laura, Jennifer, Susana, Corpus, Patricia, Carely, Gabriel, Iván y Oscar por su apoyo, enseñanzas y amistad incondicional.

De manera especial agradezco a mis padres, y a mis hermanos por el apoyo incondicional que me brindan en cada etapa personal y profesional. A mi esposo por el apoyo, el tiempo, la paciencia y la perseverancia que me brinda cada día para mejorar como persona. A mis cuñados por los consejos, su ayuda y el tiempo invertido para mejorar cada día.

RESUMEN

En el presente trabajo se describe el estudio de la composición química de los extractos de las partes aéreas de *Salvia urica* Epling y *Salvia amarissima* Ortega, así como de las evaluaciones biológicas de los extractos y/o componentes mayoritarios aislados de dichas plantas.

El estudio de *Salvia amarissima* resultó en el aislamiento de ocho compuestos, de los cuales seis ya han sido reconocidos, un flavonoide (**1**) y cinco diterpenos (**2**, **3/4**, **5/6**). Además, se logró el descubrimiento de dos nuevos compuestos glucosídicos de diterpeno (**7/8**), obtenidos como mezcla epimérica. La evaluación biológica mostró actividad antiprotozoaria por parte de los compuestos **2**, **5/6**, **7/8**, y una ligera modulación de resistencia múltiple a fármacos por los compuestos **7/8** en líneas celulares de cáncer humano.

El estudio de los constituyentes mayoritarios de *Salvia urica* Epling permitió el aislamiento e identificación de dos compuestos conocidos (**9-10**), aislados previamente de *Salvia amarissima*; pero descritos por primera vez en *S. urica*. Los resultados de la evaluación biológica de ambos constituyentes en ensayos *in vivo* indicaron actividad antidiabética y antipropulsiva.

Palabras clave: *Salvia*, antiprotozoario, antidiabético, antipropulsivo, terpenoides

ABSTRACT

In the present project describes the chemical composition of the aerials part extracts of *Salvia urica* Epling and *Salvia amarissima* Ortega, as well as the biological evaluations of the extracts and/or major components isolated from these plants.

The study of *Salvia amarissima* resulted in the isolation of eight compounds: six are known, one is flavonoid, and five are diterpenes. Furthermore, two new glucoside diterpenes were discovered as an epimeric mixture (**7/8**). The biological evaluations showed antiprotozoal activity by compounds **2**, **5/6**, and **7/8** and slight modulation of multidrug resistance by compounds **7/8** in human cancer cell lines.

The study of the major constituents of *Salvia urica* Epling allowed the isolation and identification of two known compounds (**9-10**), previously isolated from *Salvia amarissima* but described for the first time in *S. urica*. The biological evaluation of both constituents through *in vivo* assays indicated antidiabetic and antipropulsive activity.

Key words: *Salvia*, antiprotozoal, antidiabetic, antipropulsive, terpenoids

ÍNDICE

i.	INTRODUCCIÓN	17
ii.	ANTECEDENTES	18
i.	MEDICINA TRADICIONAL	18
ii.	FAMILIA LAMIACEAE	19
i.ii.1.	Salvia urica Epling	20
i.ii.2.	Salvia amarissima Ortega (Sin. Salvia circinnata Cav.)	21
i.ii.3.	Salvia leucochlamys Epling	26
i.ii.4.	Salvia praestans Epling	26
i.ii.5.	Salvia perlonga Fernald	26
iii.	PROBLEMAS DE SALUD	26
i.iii.1.	DIABETES MELLITUS	27
i.iii.2.	CÁNCER	31
i.iii.3.	DIARREA	36
iii.	JUSTIFICACIÓN	39
iv.	HIPÓTESIS	40
v.	OBJETIVOS	40
vi.	MATERIALES Y MÉTODOS	41
i.	PROCESOS EXPERIMENTALES GENERALES	41
ii.	MATERIAL VEGETAL	41
vi.ii.1.	Salvia amarissima Ortega	41
vi.ii.2.	Salvia urica Epling	44
iii.	ESTUDIOS DE PROPIEDADES BIOLÓGICAS	45
vi.iii.1.	Salvia amarissima Ortega	45
vi.iii.1.1.	ACTIVIDAD ANTIPROTOZOARIA	45
vi.iii.1.2.	ACTIVIDAD CITOTÓXICA	46
vi.iii.1.3.	MODULACIÓN DE RESISTENCIA A FÁRMACOS	47
vi.iii.2.	Salvia urica Epling	47
vi.iii.2.1.	ACTIVIDAD ANTIHIPERGLUCÉMICA	47
vi.iii.2.2.	ACTIVIDAD ANTIPROPULSIVA	49
vii.	CONCLUSIONES	50
viii.	REFERENCIAS	51
	LISTA DE ABREVIATURAS	63

LISTA DE FIGURAS DEL APÉNDICE A.....	67
LISTA DE TABLAS	68
APÉNDICE A:	70
<i>Salvia amarissima</i> Ortega.....	70
<i>Salvia urica</i> Epling.....	87
APÉNDICE B	89
Artículos.....	89

i. INTRODUCCIÓN

Las actividades del día a día pueden generar un desequilibrio en la interacción entre factores ambientales, sociales y psicológicos, lo que desencadena enfermedades o padecimientos no deseados. Los cambios de estilo de vida o algunos medicamentos pueden ayudar en el tratamiento de estos padecimientos. A pesar de que los medicamentos están diseñados para aliviar la sintomatología de un padecimiento o conducir a la recuperación total de una enfermedad pueden generar efectos adversos y dar lugar a otros problemas de salud. En el caso particular de las enfermedades infecciosas y el cáncer, en ocasiones se observa resistencia a los fármacos utilizados para su tratamiento. Lo que conduce a hacer cambios en la estrategia terapéutica, pero en ciertos casos se tiene restringido el acceso a los sistemas de salud o a dichas terapias, por lo que se conduce a la búsqueda de alternativas en base a la disponibilidad económica.

La Organización Mundial de la Salud ha propuesto la integración de la medicina tradicional como medicina complementaria a la medicina alopática o de especialidad (OMS, 2013). Una de estas propuestas, es el uso de preparados vegetales en conjunto con medicamentos para el control de algunas enfermedades. Un hecho que apoya esta propuesta es la gran diversidad de plantas vasculares en el mundo, que sirve como fuente de exploración y permite el descubrimiento de nuevos compuestos con propiedades que coadyuven el tratamiento de los padecimientos que aquejan al ser humano.

El género *Salvia* tienen una gran diversidad en cuanto a número de especies, y a los usos o aplicaciones, como en el área cosmética, ornamental, culinaria y tradicional. Algunas especies de este género cuentan con reportes científicos de composición química con propiedades farmacológicas de interés (Bautista *et al.*, 2015; Bautista *et al.*, 2016; Fragoso-Serrano *et al.*, 2019). No obstante, aún existen muchas especies sin estudios. Por lo que el presente proyecto de investigación se enfocó en la búsqueda de nuevas o conocidas sustancias con propiedades farmacológicas obtenidas de especies del género *Salvia* no estudiadas desde un enfoque fitoquímico y farmacológico, con base en especies conocidas con propiedades biológicas de interés.

ii. ANTECEDENTES

i. MEDICINA TRADICIONAL

El ser humano ha estado expuesto a lo largo de su historia, a un sinnúmero de factores bióticos y abióticos que puede afectar su estado de salud. Por lo que se ha dedicado a conseguir una cura o solución para las afecciones generadas por dichos factores mediante la experimentación con plantas, animales y minerales desde tiempos antiguos, en los que los curanderos eran las personas dedicadas a dicha búsqueda y al traspaso del conocimiento empírico de generación en generación. Con el tiempo, esto permitió la producción de literatura especializada en el México colonial, como la elaboración del códice de la Cruz-Bandiano "*Libellus de medicinalibus indorum herbis*" (Viesca, 2010); el establecimiento de sociedades indígenas permitió copilar conocimientos en Euroasia sobre especies medicinales provenientes de diversas partes del mundo (Gallardo Arias, 2004; Valle Esquivel & Hernández Alvarado, 2004; Rojas Alba, 2009; Jiménez Silva, 2017). En la actualidad, algunas culturas y sociedades reconocen a la figura de "médico tradicional" y a las obras literarias como una fuente de conocimiento importante, como un punto de partida para la investigación de plantas medicinales, tendientes al desarrollo de fármacos para uso humano (Alcántara-Quintana *et al.*, 2022).

El desarrollo de nuevos fármacos inicia con la identificación de un compuesto con actividad biológica como base para su posterior modificación química y optimizar su actividad terapéutica (Mesa-Vanegas, 2017). Como se observa en la Figura 1, el 37.7 % de los fármacos aprobados entre 1981 y a mediados del 2019 son derivados de fuentes naturales, del cual el 23.5 % son exclusivamente obtenidos de productos naturales (Newman & Cragg, 2020). Con esto se deduce que una gran cantidad de fármacos aprobados en los últimos años provienen de fuentes naturales.

En México, se estima que existen entre 5,000 y 7,000 especies de plantas no maderables, de las cuales aproximadamente 3,000 especies se utilizan como plantas medicinales (CONABIO, 2006). Por lo que se puede considerar como una fuente con gran diversidad para la búsqueda de nuevas sustancias bioactivas.

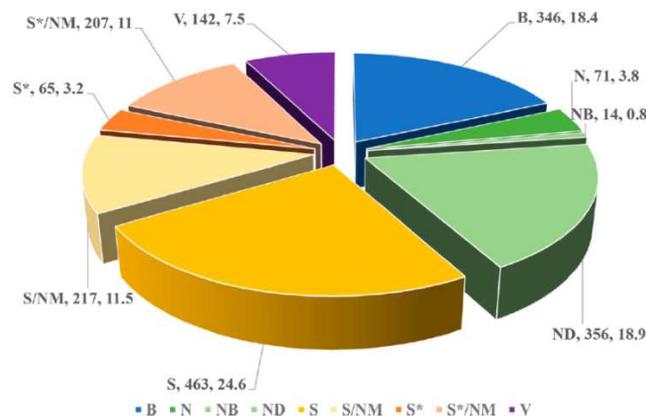


Figura 1. Fármacos aprobados entre 1981-2019 por categoría.

Nota: N: Productos naturales; NB: Productos botánicos; ND: Derivados de productos naturales (hemi-síntesis); S: Fármacos sintéticos; S*: Fármacos sintéticos basados en un farmacóforo de un producto natural; NM: Producto natural mimético; V: Vacuna. Tomada de Newman & Cragg, 2020.

ii. FAMILIA LAMIACEAE

La familia Lamiaceae, comúnmente conocida como la familia de las mentas, se encuentra ampliamente distribuida alrededor del mundo con 239 géneros, conteniendo 7,173 especies, con un amplio uso en el área culinaria, medicinal, cosmética y ornamental (Martínez-Gordillo *et al.*, 2017). Uno de los géneros más amplios de esta familia es el género *Salvia*, que cuenta con más de 1000 especies distribuidas en el mundo, de las cuales 396 especies están distribuidas en México (Frodin, 2004; Harley *et al.*, 2004; Martínez-Gordillo *et al.*, 2017).

Las especies del género *Salvia* son subclasificadas en cinco subgéneros: *Salvia*, *Audibertia* J. B. Walker, B. T. Drew y K. J. Sytsma, *Calosphace* (Benth.) Epling, *Leonia* Cerv., y *Sclarea* Mill (Jenks & Kim, 2013; Lara-Cabrera *et al.*, 2021). El subgénero *Calosphace* (Benth.) Epling contiene entre 613 y 643 especies, de las cuales 311 se encuentran en el territorio mexicano (González-Gallegos *et al.*, 2020; Martínez-Gordillo *et al.*, 2023). Adicionalmente, las especies de *Salvia* pertenecientes a este subgénero fueron agrupadas en 105 secciones, con base en sus características fenotípicas (Epling, 1940). Sin embargo, los estudios de filogenia del subgénero *Calosphace* reportan que se requiere reestructurar en conjunto con los demás subgéneros, debido a la cobertura basada en su morfológica y en su similitud genética del espaciador transcrito interno del

ADN (ITS) y el espacio intergénico no codificadora (*psbA-trnH*) del ADN del cloroplasto. Por lo que los investigadores continúan en la búsqueda para la reestructuración de dicho género, como el análisis filogenético basado en los marcadores mencionados e incluyendo las secuencias de la región *trnL-trnF* del ADN de cloroplastos para aumentar la resolución en los análisis (Figura 2). Así, el clado *Scorodonia* incluye las especies: *Salvia urica*, *S. amarissima*, *S. leucochlamys*, *S. praestans*, y *S. perlonga* (Olvera Mendoza *et al.*, 2017; Fragoso-Martínez *et al.*, 2018).

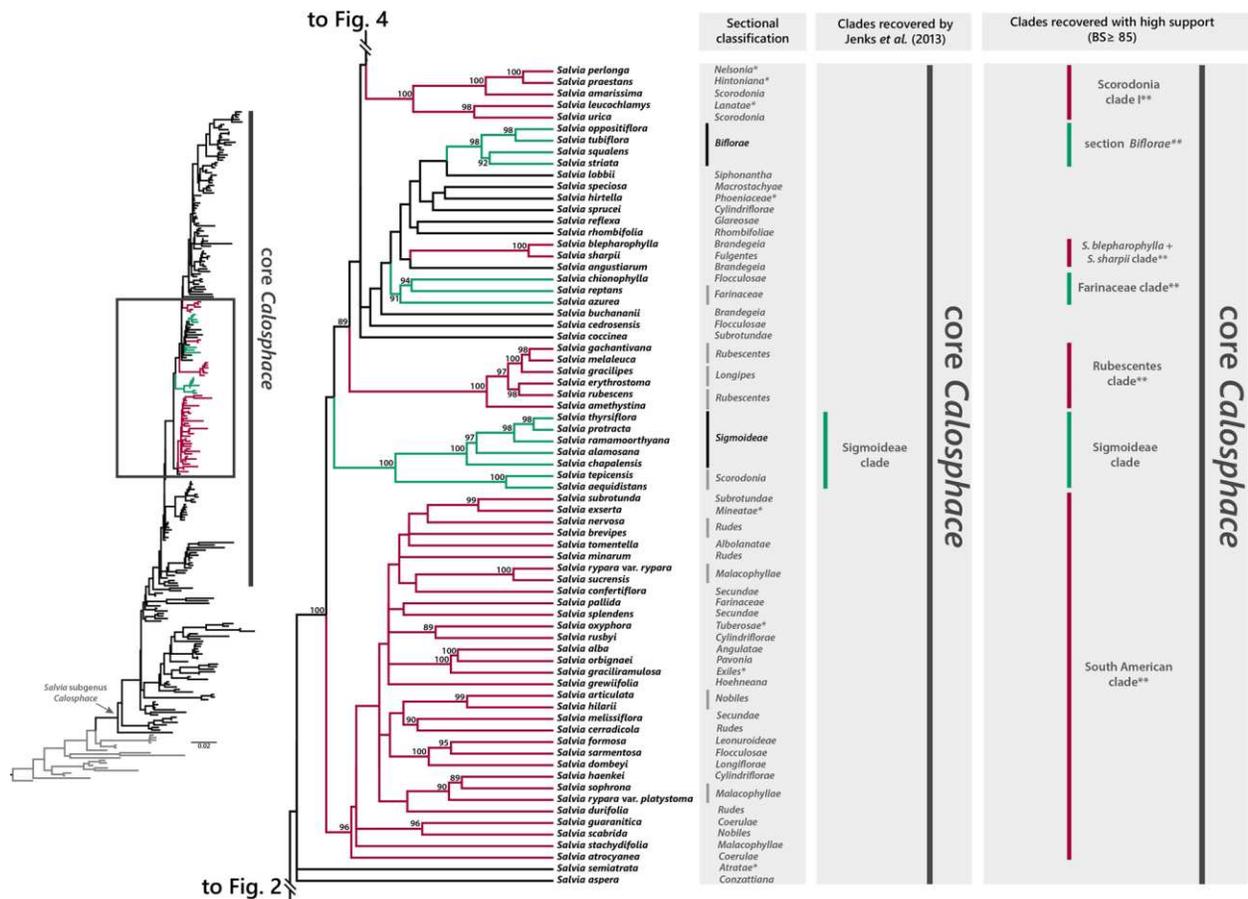


Figura 2. Relación filogenética del género *Salvia* subg. *Calosphace* basada en la combinación de análisis de secuencias de ADN nuclear (ITS) y plasto (*trnL-trnF*, *psbA-trnH*). Tomada de Fragoso-Martínez *et al.*, 2018

i.ii.1. *Salvia urica* Epling

La especie *Salvia urica* Epling (SU), comúnmente conocida como pendolita morada, canastillas, tutzunún, salvia bretónica, y chichingua azul (Chicago Natural History

Museum, 1973; Padilla-Gómez, 2007), es una planta perenne que alcanza una altura de hasta 1.2 m, presenta hojas aristadas serradas y flores bilabiales moradas (Figura 3). Esta se encuentra distribuida desde el estado de Guerrero, México hasta Honduras (Clebsch, 2003). Los usos que se le atribuyen a esta especie son ornamentales (Clebsch, 2003) y medicinales para tratamiento de la bilis, la diabetes, enfermedades gastrointestinales y diarrea (Padilla-Gómez, 2007). De acuerdo con la literatura, SU sólo cuenta con un reporte científico hasta la fecha, en el cual se evaluó la capacidad inhibitoria de un extracto metanólico-acuoso sobre la producción de verotoxina por *Escherichia coli* enterohemorrágica. Dicha bacteria es responsable de intoxicación alimenticia, diarrea, colitis hemorrágica, calambres abdominales y vómito (Sakagami *et al.*, 2001).



Figura 3. *Salvia urica* Epling. Fotografía tomada por Gerardo A. Salazar

i.ii.2. *Salvia amarissima* Ortega (Sin. *Salvia circinnata* Cav.)

La especie *Salvia circinnata* Cav. (sinónimo *Salvia amarissima* Ortega, SA), conocida comúnmente como hierba del cáncer o insulina, es una planta arbustiva perenne con tallo cuadrangular, hojas serradas y flores bilabiadas con coloración entre azul y morado (Figura 4).



Figura 4. *Salvia amarissima*.

Esta especie tiene varios estudios fitoquímicos en los que se han aislado e identificado aproximadamente 28 metabolitos secundarios, de los cuales predominan los diterpenos, seguido de flavonoides y algunos compuestos aromáticos (Maldonado *et al.*, 1996; Bautista *et al.*, 2015; Bautista *et al.*, 2016; Flores-Bocanegra *et al.*, 2017; Fragoso-Martínez *et al.*, 2019; Salinas-Arellano *et al.*, 2020). En el caso de los compuestos fenólicos se ha aislado el ácido rosmarínico, a partir de una infusión de planta seca (Figura 5).

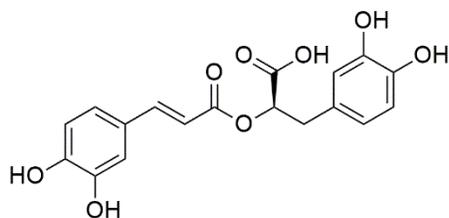
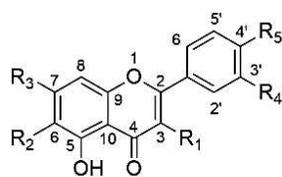
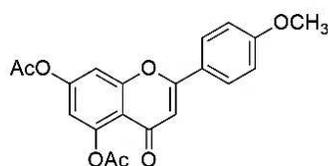


Figura 5. Ácido rosmarínico aislado del extracto acuoso de *Salvia amarissima* (Salinas-Arellano *et al.*, 2020).

Los flavonoides aislados e identificados en SA son de tipo flavona, glicósidos de flavonas y glicósidos de flavonoles en C-3 y C-7 del esqueleto carbonado (Figura 6). Las flavonas mayoritarias aisladas han sido: 5,6,4'-trihidroxi-7,3'-dimetoxiflavona, 5,6-dihidroxi-7,3',4'-trimetoxiflavona, 5,7-O-diacetilacetina, 6,6''-dihidroxi-3',3''',7,7''-O-tetrametoxiloniflavona, 6-hidroxiluteolina, apigenina y pedalitina (Flores-Bocanegra *et al.*, 2017; Fragoso-Serrano *et al.*, 2019; Moreno-Pérez *et al.*, 2019; Calzada *et al.*, 2020; Salinas-Arellano *et al.*, 2020).



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
Pedalitina	H	OH	OCH ₃	OH	OH
Apigenina	H	H	OH	H	OH
Apigenina 7-O-β-D-Glucosa	H	H	O-β-D-Glu	H	OH
5,6-dihidroxi-7,3',4'-trimetoxiflavona	H	OH	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃
5,6,4'-trihidroxi-7,3'-dimetoxiflavona	H	OH	OCH ₃	OCH ₃	OH
6-hidroxiluteolina	H	OH	OH	OH	OH
Rutina	O-β-Glu-β-Rham	H	OH	OH	OH
Isoquercitrina	O-β-D-Glu	H	OH	OH	OH



5,7-diacetilacetina

Figura 6. Flavonoides identificados en *Salvia amarissima*. Nota: Glu, glucosa; Rham, ramnosa.

Entre los terpenoides identificados en SA (Figura 7) se encuentran un sesquiterpeno tipo 5,10-cicloaromadendreno (espatulenol), obtenido de un extracto soluble en acetona (Fragoso-Serrano *et al.*, 2019), y 18 diterpenos, divididos en *neo*-clerodanos, 9,10-*seco*-*neo*-clerodanos y amarisanos. La mayoría de los *neo*-clerodanos son amarisólidos (A-F) y amarissininas (B-E), como se observa en la Figura 7. Estos han sido aislados por maceración con acetona, AcOEt o con una mezcla de DCM/MeOH (Bautista *et al.*, 2016; Fragoso-Serrano *et al.*, 2019). También se han obtenido los amarisólidos (A y G) por infusión (Moreno-Pérez *et al.*, 2019; Salinas-Arellano *et al.*, 2020), y los únicos 9,10-*seco*-*neo*-clerodano (amarissinina A) y amarisano (teotihuacanina) han sido obtenidos a partir de extractos de acetona (Bautista *et al.*, 2015; Bautista *et al.*, 2016).

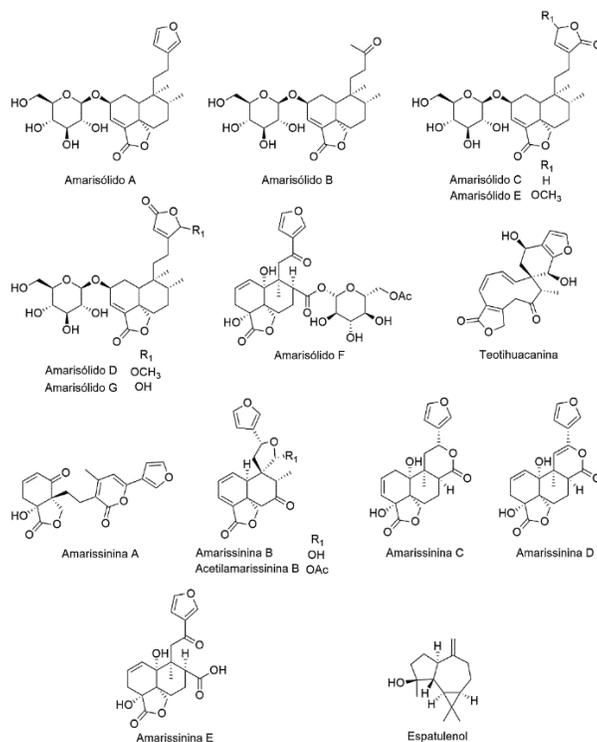


Figura 7. Terpenoides aislados de *Salvia amarissima*.

De acuerdo con un estudio previo, se reportó que el contenido de metabolitos especializados en SA está relacionado con la distribución geográfica, y se han identificado cuatro quimiotipos en diferentes poblaciones silvestres: *S. circinnata* CT amarisólido A (Pátzcuaro, Mich.), *S. circinnata* CT amarissinina A (Yuriria, Gto.), *S. circinnata* CT óxido de cariofileno (Tehuacán, Pue.) y *S. circinnata* CT teotihuacanina (San José Iturbide, Gto.; Pachuca, Hgo.; Aquixtla, Pue.; Parque Nacional “Los Mármoles”, Hgo; Teotihuacan, Edo. Méx.) (Sepúlveda Cuellar *et al.*, 2021). Esto permitirá tener una base de datos para la búsqueda de metabolitos especializados en futuras investigaciones de estructura-respuesta en blancos farmacológicos importantes.

Los usos tradicionales que se le atribuyen a SA están relacionados con el tratamiento del cáncer, diabetes, reumatismo y padecimientos estomacales (Aguilar *et al.*, 1994). Los reportes que evalúan la actividad antidiabética han empleado blancos moleculares y han determinado la inhibición de las enzimas α -glucosidasas y la proteína tirosina fosfatasa 1B (PTP-1B), estas están relacionadas con el control de los niveles de glucosa en el organismo.

Los flavonoides 6,6"-dihidroxi-3',3''',7,7''-O-tetrametoxiloniflavona (IC_{50} $39 \pm 0.06 \mu M$) y glucósido de 7-O-apigenina (IC_{50} $200 \pm 12 \mu M$) han mostrado mejor actividad inhibitoria

de la enzima α -glucosidasa que los diterpenos, en comparación con el control positivo (acarbose, IC_{50} $100 \pm 0.03 \mu M$) (Flores-Bocanegra *et al.*, 2017). También, los flavonoides pedalitina (IC_{50} $62.0 \pm 4.1 \mu M$) y 6-hidroxluteolina (IC_{50} $62.0 \pm 4.1 \mu M$) han mostrado buena actividad inhibitoria de la PTP-1B, en comparación con los diterpenos (amarisólido A y G) y el control positivo (ácido ursólico, IC_{50} $28.1 \pm 1.2 \mu M$) (Salinas-Arellano *et al.*, 2020).

En otro estudio, el amarisólido A (IC_{50} $400 \pm 19 \mu M$) y la pedalitina (IC_{50} $60 \pm 3 \mu M$) han mostrado actividad inhibitoria, en comparación con la acarbose (IC_{50} $1003 \pm 14 \mu M$), contra maltasas (Flores-Bocanegra *et al.*, 2017). Además, con el amarisólido A, se ha reportado un efecto antihiperalgésico por medio de la acción agonista del receptor 5-HT_{1A}, y antidepresivo por medio del modelo de nadado forzado en ratas, debido a que este diterpeno aumentó el tiempo de nadado y escalado (Moreno-Pérez *et al.*, 2023).

Los diterpenoides teotihuacanina y amarissinina A han presentado actividad citotóxica en líneas celulares de cáncer de mama (MDA-MB-231) y cervicouterino (HeLa). A su vez, teotihuacanina presenta citotoxicidad contra líneas celulares de cáncer de colon (HCT-15 y HCT-16). Sin embargo, su débil actividad citotóxica en líneas celulares de cáncer de mama, motivo su ensayo sobre la reversión de la resistencia múltiple a fármacos en líneas celulares de cáncer mamario, resistentes a vinblastina, resultando que el diterpeno que reportó mejor actividad en comparación con un control positivo (RF_{MCF/Vin^+} 4.4) fue la teotihuacanina (RF_{MCF/Vin^+} 10703.1), seguido del amarisólido F (RF_{MCF/Vin^+} 12.0), amarissinina B (RF_{MCF/Vin^+} 2.6) y amarissinina A (RF_{MCF/Vin^+} 5.8) (Bautista *et al.*, 2015; Bautista *et al.*, 2016; Fragoso-Serrano *et al.*, 2019).

Los compuestos 5,6-dihidroxi-7,3',4'-trimetoxiflavona, amarisólido F, acetilamarissinina B, apigenina, amarissininas A-C y teotihuacanina también han mostrado actividad antiprotozoaria contra *Entamoeba histolytica* y *Giardia lamblia*. Entre ellos, el amarisólido F es el diterpeno más activo contra *E. histolytica* (IC_{50} $23.9 \mu M$), y la 5,6-dihidroxi-7,3',4'-trimetoxiflavona contra ambos protozoarios (IC_{50} $0.05/0.13 \mu M$, respectivamente). Este último compuesto ha mostrado ser más activo que el control positivo (metronidazol, IC_{50} $0.23/1.22 \mu M$, respectivamente) (Calzada *et al.*, 2020).

i.ii.3. *Salvia leucochlamys* Epling

La especie *Salvia leucochlamys* Epling es una planta herbácea perenne que presenta tricomas en su tallo, hojas ovadas serradas y flores bilabiales rosas o magenta (Epling, 1940). Esta planta no cuenta con estudios acerca de su composición química o de sus propiedades farmacológicas, ni usos reportados en la medicina tradicional.

i.ii.4. *Salvia praestans* Epling

La especie *Salvia praestans* Epling es una planta herbácea perenne con hojas dentadas y flores bilabiales rojas (Epling, 1940). Además, no se cuentan con estudios científicos o usos tradicionales reportados previamente.

i.ii.5. *Salvia perlonga* Fernald

La especie *Salvia perlonga* Fernald es una hierba con hojas serradas y flores bilabiales púrpura (Fernald, 1900). Al igual que *Salvia leucochlamys* Epling y *Salvia praestans* Epling no cuenta con reportes científicos o de usos en la medicina tradicional previos a este estudio.

Debido a la gran diversidad de la familia Lamiaceae, y en particular del género *Salvia*, en México aún existe un gran número de especies sin estudios fitoquímicos y/o evaluaciones de sus propiedades biológicas. Sin embargo, debido al uso medicinal que tienen algunas de las especies del género contra padecimientos crónico-degenerativos e infecciosos, nos hemos enfocado en el estudio de los constituyentes químicos de una especie de *Salvia* poco estudiada con distribución en México: *S. urica*, y comparamos con una especie estudiada: *S. amarissima*. Posterior a esto, se decidió evaluar sus propiedades citotóxicas, antitumorales, antiprotozoarias y antidiarreicas.

iii. PROBLEMAS DE SALUD

Las enfermedades causantes de muerte en el mundo se dividen en enfermedades transmisibles y no transmisibles. En la Figura 8, se observa que la mayoría de las muertes en el 2019 son causadas por enfermedades no transmisibles (OMS, 2020). Este grupo incluye a las enfermedades crónico-degenerativas, como la diabetes mellitus y el cáncer (OMS, 2022c).

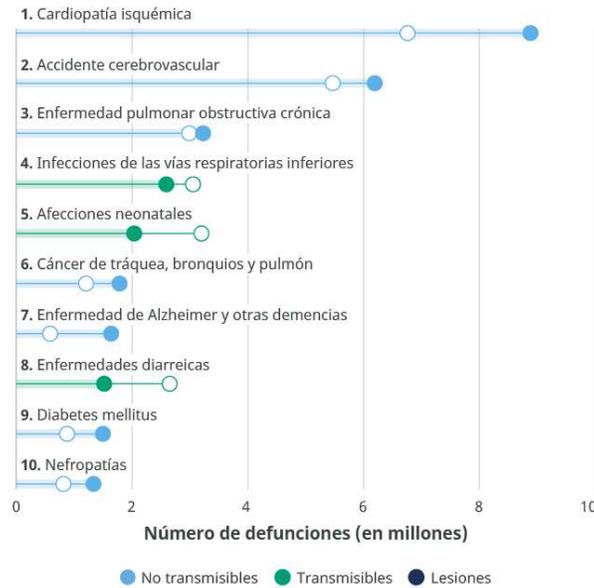


Figura 8. Principales causas de muerte en el mundo, en el año 2019. Tomada de OMS, 2020c.

i.iii.1. DIABETES MELLITUS

En 2019, la diabetes mellitus (DM) provocó 1.5 millones de defunciones (OMS, 2016), y de acuerdo con la tendencia estadística estimada por la Federación Internacional de la Diabetes (FID), la prevalencia del número de casos y el número de casos nuevos, en adultos entre 20 y 70 años aumentará, en las próximas dos décadas, como se observa en la Tabla 1 (OMS, 2016; FID, 2019).

Tabla 1. Cantidad de adultos (20-70 años) con diabetes acorde a la clasificación según el nivel de ingresos del Banco Mundial en 2019, 2030 y 2045. Tomada de FID, 2019.

Clasificación según el nivel de ingresos del Banco Mundial	2019		2030		2045	
	Prevalencia de la diabetes (%)	Cantidad de personas (millones)	Prevalencia de la diabetes (%)	Cantidad de personas (millones)	Prevalencia de la diabetes (%)	Cantidad de personas (millones)
Países de ingresos altos	10.4 (8.6-13.3)	95.2 (78.7-120.9)	11.4 (9.4-14.3)	107.0 (88.3-134.4)	11.9 (9.8-14.8)	112.4 (92.2-139.2)
Países de ingresos medios	9.5 (7.6-12.3)	353.3 (280.1-455.3)	10.7 (8.4-13.7)	449.6 (363.0-576.7)	11.8 (9.0-5.0)	551.2 (422.7-705.2)
Países de ingresos bajos	4.0 (2.8-6.7)	14.5 (10.0-24.3)	4.3 (3.0-7.1)	21.9 (15.2-36.4)	4.7 (3.3-7.8)	36.5 (25.8-60.2)

Nota: Los intervalos de confianza del 95% se indican entre paréntesis.

México es uno de los países que cuentan con una gran cantidad de casos de diabetes (Figura 9). Además, esta enfermedad es la segunda causa de muerte en el país (INEGI, 2021), y el porcentaje de la población con DM, en la mayoría de las entidades federativas, oscila entre el 7.5 y 14 % de la población (Figura 10) (INSP, 2018).

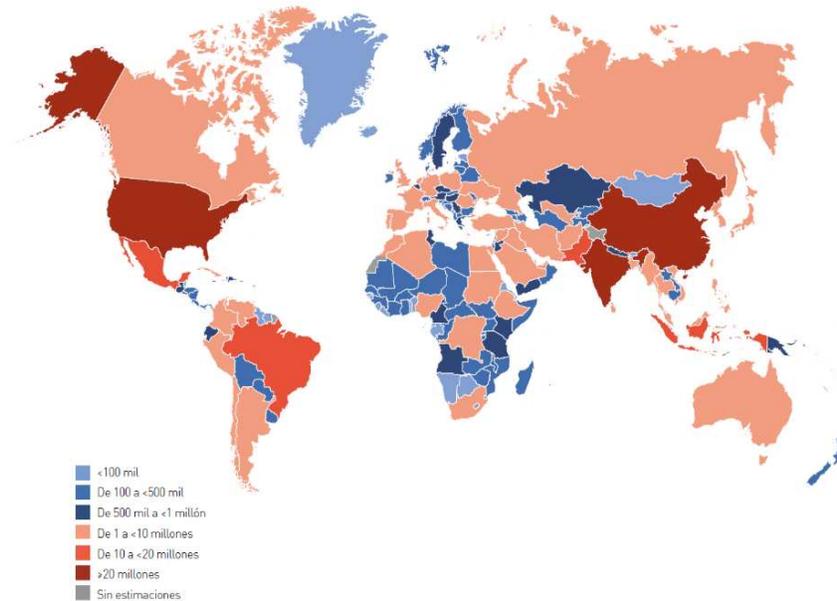


Figura 9. Cantidad total calculada de adultos (20-79 años) con diabetes en 2019. Tomada de FID, 2019.

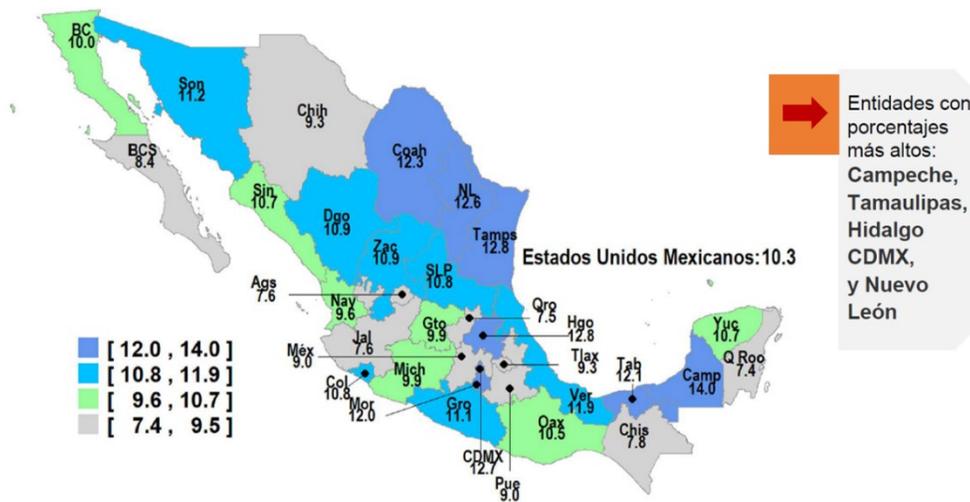


Figura 10. Porcentaje de población (20 y más años) con diabetes, por entidad federativa en 2018. Tomada de INSP, 2018.

La diabetes es definida como un problema de salud pública debido a que afecta mayormente a las personas entre 20 y 70 años. Este segmento de la población es

considerado el más productivo, y al ser afectado, se considera que puede provocar un gran impacto económico en la sociedad (Figura 11). Además, se estima que el gasto directo mundial invertido en la diabetes es de 827,000 millones de dólares (FID, 2019), incrementando así el interés en la búsqueda de alternativas para su control.

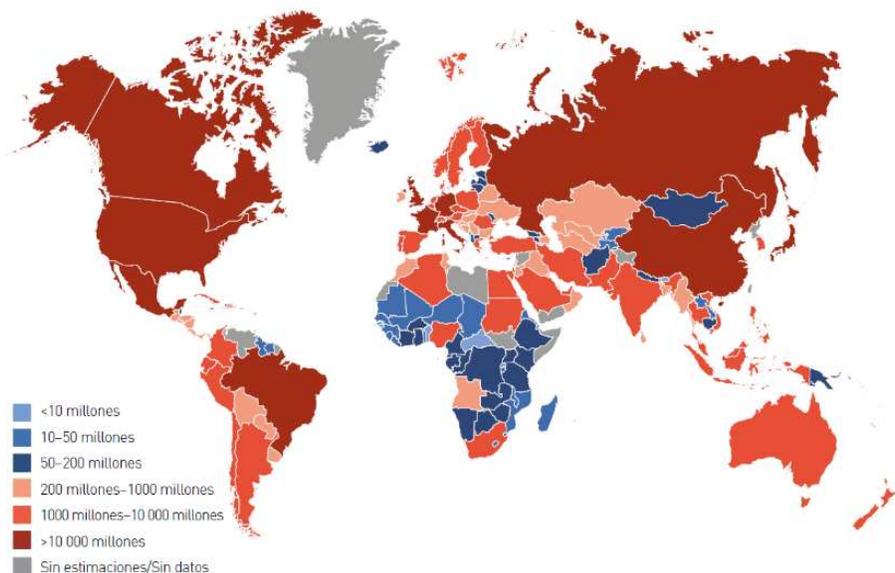


Figura 11. Gasto total (dólares) en salud relacionado con la diabetes en adultos (20-79 años) en 2019. Tomada de FID, 2019.

La DM es una enfermedad multifactorial debido a que implica una alteración metabólica que se desarrolla por diversos factores, como la insuficiente producción de insulina, por la incapacidad de la insulina para cumplir con su función, por daño inmunológico, o por herencia genética. Se caracteriza por presentar hiperglucemia de manera crónica y alteraciones en el metabolismo de los carbohidratos, los lípidos y las proteínas (OMS, 2022b). De acuerdo con la Clasificación Internacional de Enfermedades, en su 11a revisión, la diabetes mellitus se encuentra dentro de la clasificación de enfermedades endocrinas, nutricionales o metabólicas (05), subclasificación de enfermedades endocrinas; y en general se clasifica de la siguiente manera (OMS, 2023):

- Diabetes mellitus tipo 1 (5A10): Se caracteriza por la destrucción de las células β del páncreas, en general por procesos autoinmunes. Por ejemplo, una reacción hipersensible mediada por linfocitos T contra el antígeno de las células β del páncreas.

- Diabetes mellitus tipo 2 (5A11): Trastorno metabólico caracterizado por la elevada presencia de glucosa en sangre debido a la resistencia a la insulina, secreción trastornada, o ambas situaciones.
- Diabetes mellitus en el embarazo (JA63): Trastorno causado por la disfunción de los receptores de la insulina maternos que provocan una intolerancia a la glucosa, diagnosticado por primera vez durante el embarazo.

Uno de los principales factores de predisposición a desarrollar la DM es la herencia genética. Otros factores de riesgo son la obesidad abdominal, sedentarismo, hiperglucemia crónica, hipertensión y en algunos casos síndrome de ovario poliquístico. Los principales síntomas de la DM son la poliuria, polifagia y polidipsia, que pueden desarrollar una hiperglucemia persistente. En algunos casos, los pacientes con DM tipo 2 no presentan síntomas por lo que son importantes los exámenes médicos de rutina para la identificación de anomalías, incluida la determinación de parámetros clínicos, indicativos de la DM (Tabla 2) (Grossman & Porth, 2014; IMSS, 2014; ALAD, 2019).

Tabla 2. Criterios para el diagnóstico de DM. Tomada y modificada de Grossman & Porth 2014; ALAD 2019.

	Normoglucémico	"Prediabetes"		Diabetes mellitus
		Glucemia de ayuno alterada	Intolerancia a la glucosa	
Glucemia (ayuno)	<100 mg/dL	100 – 125 mg/mL	No aplica	≥126 mg/dL
Glucemia 2 horas poscarga	<140 mg/dL	No aplica	140-199 mg/dL	≥200 mg/dL
Hemoglobina glucosilada A_{1c}	<5.7%	5.7-6.4%		≥6.5%

El tratamiento de la DM tiene el objetivo de aliviar síntomas, prevenir complicaciones y mantener el control metabólico para mejorar la calidad de vida del paciente y reducir la mortalidad (NOM-015-SSA2-2010, 2010). A estos pacientes se les recomienda cambios de estilo de vida, como alimentación balanceada y ejercicio (NOM-015-SSA2-2010, 2010; IMSS, 2014; ALAD, 2019). En casos más graves se administra un tratamiento farmacológico, considerando la expectativa de vida, complicaciones u otros problemas de salud. Los fármacos más utilizados incluyen a la metformina, o un tratamiento combinado con esta, que puede incluir sulfonilureas o inhibidores de dipeptidil peptidasa 4 (Tabla 3) (Bruton *et al.*, 2010; IMSS, 2014; ALAD, 2019). Algunas de las desventajas

de los medicamentos aprobados para el tratamiento de la diabetes son los efectos secundarios que pueden afectar la calidad de vida para algunos pacientes o para ciertas poblaciones, y debido a la baja accesibilidad económica de los tratamientos, muchos pacientes buscan alternativas terapéuticas, como la medicina tradicional.

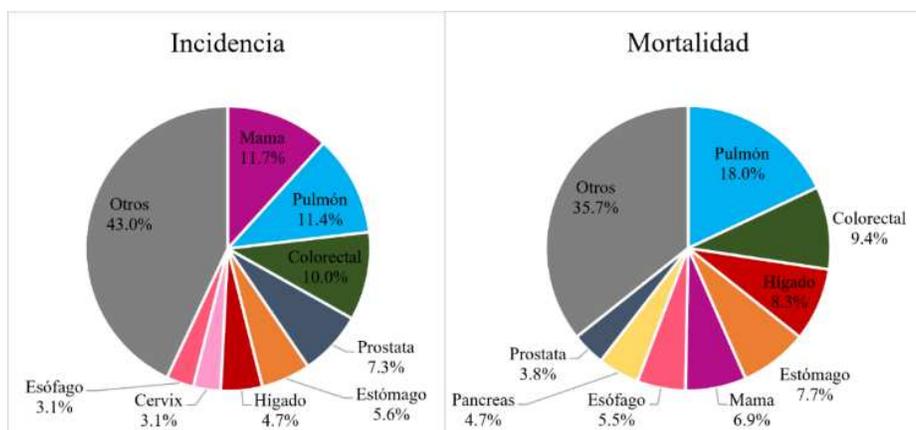
Tabla 3. Fármacos utilizados para el control de la diabetes mellitus. Tomada y modificada de Bruton *et al.*, 2010.

Fármaco	Mecanismo	Efectos Adversos
Biguadinas	Disminuye la glucosa hepática	Diarrea, náuseas, acidosis láctica
Sulfonilureas	Aumenta secreción de insulina	Hipoglucemia
Tiazolidinedionas	Disminuye la resistencia a insulina	Aumento de peso, fracturas
Inhibidores de las α-glucosidasas	Reduce glicemia posprandial	Flatulencia
Insulina	Aumenta la utilización de glucosa, disminuye la glucosa hepática, otras acciones anabólicas	Hipoglucemia, aumento de peso
Análogos de amilina	Vaciado gástrico lento	Náuseas, hipoglucemia

i.iii.2. CÁNCER

En 2020, a nivel mundial se han estimado cerca de 10 millones de defunciones provocadas por el cáncer y 19.3 millones de casos nuevos. Además, como se observa en la

Figura 12, los tipos de cáncer más comunes diagnosticados, como casos nuevos y de mayor incidencia, se registran en mamas, pulmones, colon, próstata, piel y estómago. A la vez se observa que los tipos de cáncer como causa de muerte son en pulmón, colon, hígado, estómago y mama (NIH, 2021; OMS, 2022a).



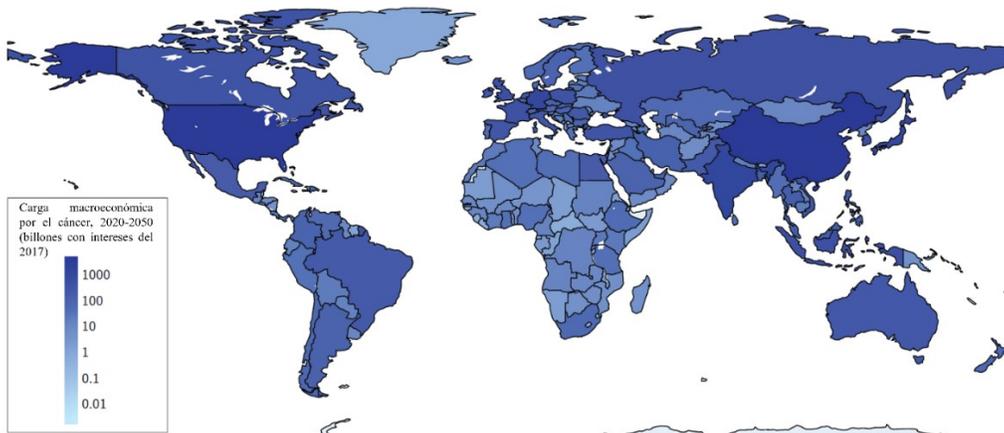


Figura 14. Carga macroeconómica por el cáncer estimada entre los años 2020 y 2050. Tomada y modificada de Chen *et al.*, 2023.

En México, el cáncer con mayor carga económica se encuentra en cerebro, como se observa en la Figura 15. También se puede observar que existe cierta prevalencia de tipos de cáncer por el desarrollo del país, es decir, la prevención, el monitoreo, el diagnóstico temprano y las enfermedades previas diagnosticadas son factores relacionados con la presencia de ciertos tipos de cáncer (Chen *et al.*, 2023).

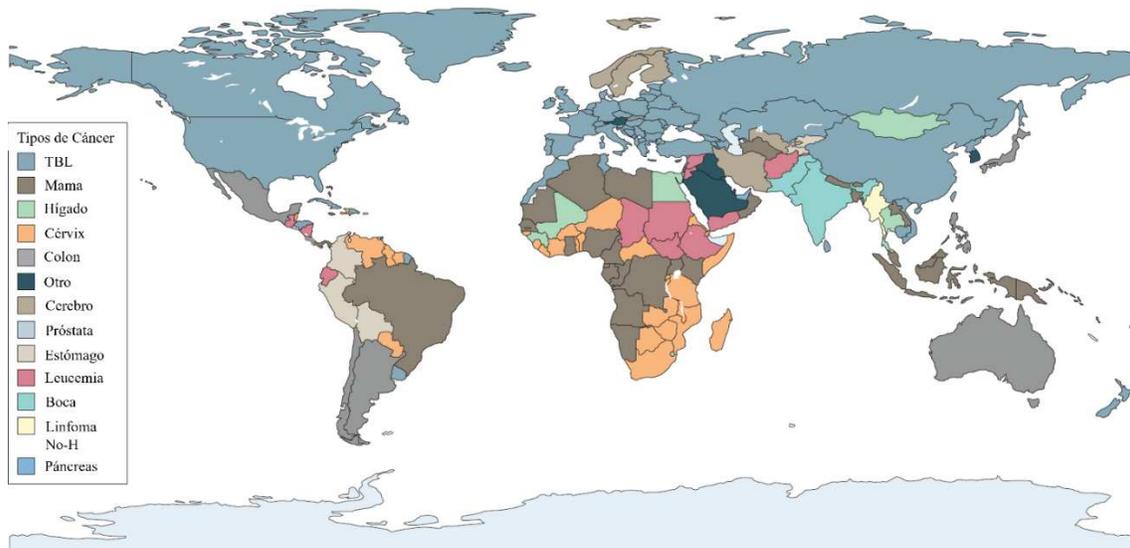


Figura 15. Tipo de cáncer con mayor carga económica en cada país, entre los años 2020 y 2050. Tomada y modificada de Chen *et al.*, 2023. Nota: TBL, Tráquea, bronquios, y pulmones; No-H, No-Hodgkin.

El cáncer es un grupo de enfermedades en que las células del organismo se multiplican de manera rápida, descontrolada y pueden diseminarse para invadir partes adyacentes. Está enfermedad se desarrolla debido a herencia genética o a cambios a nivel genético,

por ejemplo, por alteraciones en los mecanismos de la división celular o por daño en el ácido desoxirribonucleico (ADN), causado por factores externos (INCAN, 2015; OMS, 2022a).

La clasificación del cáncer se basa en el sistema en el que se desarrolla, es decir, existen más de cien tipos de cáncer debido al sistema que afecta. Por ejemplo, la Clasificación Internacional de Enfermedades (11a revisión) clasifica al cáncer como Neoplasias y se subclasifica en:

- Neoplasias del cerebro o del sistema nervioso central
- Neoplasias de los tejidos hematopoyéticos o linfáticos
- Neoplasias malignas, excepto neoplasias primarias de los tejidos linfoides, hematopoyético, del sistema nervioso central o de tejidos relacionados
- Neoplasias *in situ*, excepto de los tejidos linfoides, hematopoyético, del sistema nervioso central o tejidos relacionados
- Neoplasias benignas, excepto las de tejidos linfáticos o hematopoyéticos, del sistema nervioso central o de tejidos afines
- Neoplasias de comportamiento incierto, excepto las de tejidos linfoides o hematopoyéticas, el sistema nervioso central o tejidos afines
- Neoplasias de comportamiento desconocido, excepto los de tejidos linfáticos, hematopoyéticos, del sistema nervioso central, o de tejidos relacionados

Las alteraciones del mecanismo de división celular son el resultado de la interacción de los factores genéticos del huésped y los factores externos. En el caso de los factores genéticos, se involucran los mecanismos moleculares que debido a una alteración o error se produce la alteración del desarrollo celular. En cambio, los factores externos abarcan desde los factores hormonales, los mecanismos inmunológicos hasta los agentes ambientales, como sustancias químicas, radiaciones, y agentes biológicos (Grossman & Porth, 2014; OMS, 2022a). Dichas alteraciones producen disrupción en el tejido invadido y generan síntomas generales en el sitio como el dolor. Esto puede provocar malestares en tejidos, órganos o sistemas adyacentes, o generar un síndrome paraneoplásico, el cual consiste en manifestaciones indirectas provocadas por las hormonas producidas por células cancerígenas.

Algunos de los malestares generales que presentan las personas con cáncer son el cansancio, dolor, infecciones frecuentes, cambios en la piel, pérdida de peso y anemia. Sin embargo, la presencia de alguno de estos síntomas no significa que exista la presencia de tejido tumoral maligno. Por lo que es necesario realizar los exámenes de evaluación rutinaria para su adecuado diagnóstico. Esto consiste en la examinación mediante la observación, la palpación y exámenes clínicos. También, se deben realizar exámenes de soporte para la adecuada detección, ya que el cáncer es complejo de diagnosticar. Así los procedimientos incluidos para su diagnóstico son los exámenes de sangre para la búsqueda de marcadores tumorales, estudios citológicos, biopsias de tejidos, ultrasonido, estudios de rayos-X, resonancia magnética, tomografía computacional y exámenes endoscópicos.

Al ser diagnosticado el cáncer, los objetivos para el tratamiento se dividen en tres categorías: curativa, control y paliativa. Las alternativas más comunes para el tratamiento son la cirugía, la radioterapia, la quimioterapia, la terapia hormonal, y la inmunoterapia (Grossman & Porth, 2014).

La cirugía es la remoción quirúrgica de tumores sólidos, aunque depende de su localización, ya que algunos no pueden ser eliminados de esta manera. Por lo que la crioterapia puede ser incluida y en general, después de la cirugía se administra un tratamiento paliativo.

La radioterapia usa partículas de alta energía para destruir o dañar las células cancerígenas, a una distancia o dirigidas a un sitio. Esta puede afectar al tejido adyacente normal; por ejemplo, la alteración de la médula ósea se desarrolla cuando se ha recibido radioterapia en dicho sitio o disminución de células sanguíneas y por consecutiva estar vulnerable a una infección, sangrado o anemia. También puede provocar anorexia, náuseas, vómito, diarrea, disfunción eréctil o irritación vaginal en caso de recibir radiación abdominal y pélvica.

La quimioterapia utiliza medicamentos con el objetivo de llegar a las células cancerígenas y destruirlas por medio de diversos mecanismos de acción, como prevenir la replicación y el crecimiento celular mediante la inhibición de la síntesis de ADN, ARN y proteínas, estimular la producción de enzimas, y en general prevenir la mitosis. Estos

incluyen agentes alquilantes como triazenos o mostazas nitrogenadas; antimetabolitos como análogos de ácido fólico, de pirimidina o de purina; y productos naturales como alcaloides de la vinca, taxanos, antibióticos, etc. A la vez, estos tienen efectos tóxicos debido a que presentan poca selectividad, es decir, pueden afectar células cancerígenas como normales, por lo que algunos efectos adversos que produce esta terapia son anorexia, náuseas, vómito y alopecia. Además, tienen un alto potencial teratogénico, mutagénico y carcinogénico, e inclusive pueden tener el problema de la generación de resistencia a estos por parte de las células cancerosas.

La terapia hormonal se enfoca en la administración de medicamentos con el objetivo de romper el ambiente hormonal de las células cancerígenas, dependiendo del tipo de células. Eso puede afectar la sensibilización de la glándula pituitaria o desestabilizar los procesos bioquímicos, en los que intervienen ciertas hormonas. Sin embargo, las células cancerígenas se han vuelto resistentes a la manipulación hormonal.

La bioterapia incluye a la inmunoterapia, la cual usa técnicas inmunológicas, por ejemplo, el uso del bacilo Calmette-Guérin (BCG) atenuado e instalado en la vejiga para tratar el cáncer de vejiga (Grossman & Porth, 2014).

Debido a la gran complejidad y a los problemas que conlleva el diagnóstico y el tratamiento del cáncer, se continúa con la búsqueda de nuevos compuestos activos.

i.iii.3. DIARREA

La diarrea es la segunda causa de muerte en niños menores de 5 años y provocó 370,000 muertes de niños en 2019 en el Mundo. En México, la mayoría de las entidades federativas tienen una incidencia baja de la enfermedad diarreica aguda (EDA, Figura 16) y cerca de 600 mil casos se reportaron con cuadros de deshidratación severa en el 2020 (Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica, 2021).



Figura 16. Incidencia de EDA en menores de cinco años durante la semana epidemiológica 4, México, 2021. Tomada de Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica, 2021. Nota: *por cada mil niños menores de cinco años.

La diarrea es definida como la evacuación de tres o más heces líquidas por día o la evacuación con mayor frecuencia de lo normal, y se divide de manera clínica en tres tipos: aguda acuosa (horas o días), aguda con sangre (disentería), y persistente (14 o más días de duración). Esta condición puede provocar deshidratación, en tres escalas (sin deshidratación, grave y moderada), pérdida de conocimiento, ojos hundidos, retorno lento de la piel (≥ 2 s), irritabilidad y sed. La diarrea también se define como un síntoma que puede ser derivado por la malnutrición, alergias o intoxicación, por reacción a medicamentos, por infecciones a consecuencia de consumo de alimentos contaminados o preparados en condiciones insalubres, y puede ser transmitida de persona a persona por malos hábitos de higiene. Los malestares gastrointestinales a su vez pueden ser causados por diversos factores, como consecuencia de medicamentos y/o enfermedades, u organismos como parásitos, bacterias y virus (OMS, 2017).

Los parásitos de tipo protozario son organismos unicelulares microscópicos que pueden ser de vida libre o de naturaleza parasitaria, ya que pueden multiplicarse en los seres humanos para su supervivencia y provocar malestares, como la diarrea. Estos se pueden transmitir de un ser humano a otro por la vía fecal-oral, o por medio de un vector si los protozoos están en sangre y tejidos. Los protozoos infecciosos pueden ser de tipo sarcodinos o amebas (*Entamoeba*), mastigóforos o flagelados (*Giardia*, *Leishmania*), cilióforos o ciliados (*Balantidium*) y esporozoos (inmóvil, *Plasmodium*) (CDC, enero de 2022).

El tratamiento de la diarrea es inespecífico debido a que es un síntoma de múltiples factores por lo que en general su objetivo es reponer los electrolitos, mantener el buen estado de hidratación y disminuir la motilidad. Así los fármacos utilizados para el control de la diarrea son de tipo opioide macrólidos, quinolonas, betalactámico, nitroimidazoles y tetraciclinas, presentados en la Tabla 4. Estos pueden presentar reacciones adversas que pueden alterar más el sistema gastrointestinal y en algunos casos podría afectar sistemas importantes (Mora *et al.*, 2014; Secretaría de Salud, 2015).

Tabla 4. Fármacos utilizados para el tratamiento de la diarrea.

Antidiarreicos	Mecanismo	Efectos adversos
Macrólidos	Inhibe la síntesis de proteínas	Trastornos digestivos, hepatotóxico, náuseas, vómito, diarrea, reacciones alérgicas y efectos cardíacos.
Quinolonas	Inhiben la síntesis de ADN	Cefalea, mareos, somnolencia, insomnio y posible daño renal.
Betalactámicos	Inhiben la síntesis de la pared celular	Náuseas, vómito, diarrea y reacciones alérgicas.
Nitroimidazoles	Inhiben la síntesis de ADN	Dolor de cabeza, náuseas, boca seca, vomito, diarrea y dolor abdominal.
Opioides	Disminuye la acetilcolina y prostaglandinas. Disminuye la peristalsis	Náuseas, vómito, somnolencia, boca seca, erupción cutánea e hipersensibilidad.

En general, muchos de los medicamentos empleados para el control de estas enfermedades de importancia pública tienen efectos adversos que pueden llegar a ser muy graves. Además, que pueden representar una gran carga económica para ciertas poblaciones. En otros casos, los agentes quimioterapéuticos o antimicrobianos pueden generar resistencia. Por estas razones, existe un interés constante en encontrar nuevas alternativas para el tratamiento y control de enfermedades infecciosas y crónico degenerativas. Debido a lo anterior, la medicina tradicional constituye una opción de tratamiento, pero a la vez, un acervo para la búsqueda de compuestos bioactivos con potencial farmacológico que sirvan como base para el desarrollo de fármacos.

iii. JUSTIFICACIÓN

En los últimos años, la medicina tradicional ha ganado interés debido a que es una de las fuentes de conocimiento que describe los usos medicinales de ciertos recursos vegetales. Por lo que es importante la generación de conocimiento que contribuya al entendimiento de las propiedades biológicas que se les atribuyen a dichos recursos; e identificar los metabolitos especializados responsables de sus actividades biológicas, tendientes al desarrollo de nuevos fármacos. Entre las plantas utilizadas en la medicina tradicional están las del género *Salvia*. Una de ellas es *Salvia amarissima*, que ha mostrado ser una planta de interés farmacológico debido a las propiedades biológicas que muestran sus metabolitos secundarios. Esta planta se encuentra agrupada en el mismo clado con otras cuatro especies del género, con base en su filogenia. Por lo que, a partir de una aproximación quimiotaxonómica, existe la posibilidad de que compartan metabolitos secundarios y propiedades farmacológicas similares. Por lo que este proyecto se enfocó en la búsqueda de compuestos químicos de *Salvia amarissima* y *Salvia urica*; además, de la exploración de sus propiedades biológicas.

iv. HIPÓTESIS

La especie *Salvia urica* presenta actividades biológicas y produce metabolitos especializados similares identificados previamente en *Salvia amarissima*.

v. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Estudiar los componentes químicos mayoritarios presentes en los extractos orgánicos de *Salvia amarissima* Ortega y *Salvia urica* Epling, y evaluar sus constituyentes individuales en modelos *in vitro* e *in vivo*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Aislar, purificar y elucidar la estructura química de los metabolitos mayoritarios presentes en los extractos orgánicos de *Salvia amarissima* Ortega y *Salvia urica* Epling.

Evaluar las propiedades biológicas de los extractos y/o compuestos puros de *Salvia amarissima* Ortega, y *Salvia urica* Epling.

vi. MATERIALES Y MÉTODOS

i. PROCESOS EXPERIMENTALES GENERALES

En la separación cromatográfica en columna abierta (CC), se empleó gel de sílice (60G, 0.063 – 0.200 mm o kieselgel 60G, < 4.5 μm) o gel de sílice C18 (CC-RF, Sigma-Aldrich®). El monitoreo de las fracciones resultantes de la separación por CC se realizó mediante cromatografía en capa fina (CCF) de gel de sílice 60G UV₂₅₄ (Macherey-Nagel o Merk, 20 x 20, 200 μm) o 60 RP-18 F_{254S} (Merk, 20 x 20, 200 μm). Esta se observó bajo luz UV a 254 y 365 nm, para posteriormente visualizarse con CeSO₄ 2% en H₂SO₄ 2 N o vainillina al 1%, seguida de calentamiento.

La rotación óptica fue medida en un polarímetro Perkin-Elmer 343. Los espectros de UV se obtuvieron en un espectrofotómetro Shimadzu UV 160U. Los espectros de IR fueron obtenidos en un espectrómetro Bruker Tensor 27. Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) de 1D y 2D se adquirieron en un espectrómetro Agilent Mercury NMR 500 MHz, equipado con una sonda para experimentos de temperatura variable. Los desplazamientos químicos se referenciaron con tetrametilsilano (TMS) y los valores de *J* son dados en Hz. La identificación de constituyentes volátiles se realizó en un cromatógrafo de gases GC-7890b (Agilent) acoplado a un espectrómetro de masas EM-5877A (Agilent), usando una columna capilar DB-5ht (30 m x 0.320 mm di x 0.1 μm , Agilent). Los espectros de masas de alta resolución por electrospray (ESI) acoplado a un detector híbrido QToF, se adquirieron en un equipo de UPLC-HRESIMS Xevo G2 XS (Waters). Los análisis de difracción de rayos-X de monocristal se realizaron en un difractómetro Bruker D8 Venture con una fuente de radiación de Cu K α ($\lambda = 1.54178 \text{ \AA}$).

ii. MATERIAL VEGETAL

vi.ii.1. *Salvia amarissima* Ortega

La hierba del cáncer (*Salvia amarissima* Ortega) se recolectó en su etapa de floración en Pátzcuaro, Michoacán, México, en septiembre del 2020 (19° 31' 27.57"–101° 36' 25.83"). Un espécimen se herborizó y se depositó para su identificación taxonómica en el Herbario IEB del Instituto de Ecología, A.C. El material vegetal se determinó por la Dra. Brenda Y. Bedolla-García y se asignó el número de voucher: IEB-266237.

Las hojas se secaron a la sombra y posteriormente se molieron (665 g). Estas se sometieron a extracción por maceración con una mezcla de CHCl₃-MeOH 1:1 (4 L x 3). El extracto total se obtuvo por destilación a presión reducida (75.8 g, 11.39 %) y se sometió a separación por cromatografía en columna (CC) de gel de sílice (11 cm di x 8 cm h, 250 mL). Esta se eluyó con mezclas de hexano (Hx)-acetato de etilo (AcOEt), AcOEt-acetona y acetona-metanol (MeOH). Las 125 fracciones resultantes, se analizaron por cromatografía de capa fina (CCF) y se agruparon por su similitud para obtener 8 fracciones finales (Tabla 5).

Tabla 5. Fracciones resultantes de la separación por CC de gel de sílice del extracto total de *Salvia amarissima*.

Etiqueta	Fracciones	Mezcla de elución	Peso (g)
A	1 – 10	Hx-AcOEt 9:1	2.02
B	11 – 40	Hx-AcOEt 7:3	12.05
C	41 – 42	Hx-AcOEt 3:7	0.47
D	43 – 69	AcOEt-Acetona 8:2	22.02
E	70 – 88	AcOEt-Acetona 6:4	17.05
F	89 – 96	AcOEt-Acetona 4:6	4.50
G	97 – 109	Acetona	8.71
H	110 – 125	Acetona-MeOH 7:3	13.26

El perfilamiento por HPLC se realizó usando la metodología reportada por Sepúlveda-Cuellar *et al.* (2021), en un cromatógrafo HPLC Agilent con un detector PDA G1315D Agilent y un detector fluorescente G1315A Agilent. Los cromatogramas de UV se adquirieron a 240 y 330 nm, los cromatogramas de FLD se adquirieron usando una longitud de onda de excitación de 250 nm y una longitud de onda de emisión de 410 nm; a 30°C. La separación se llevó a cabo en una columna de fase reversa Synergi Polar RP (Phenomenex, 5 m, 4.6 x 250 mm), con una mezcla de ácido acético al 1% (A) y acetonitrilo (B) en un gradiente lineal (0 min, A 80 %; 1 min, A 80 %; 31 min, A 40 %, 33 min, A 20 %; 43 min, A 20 %). El extracto soluble en acetona se disolvió en MeOH (2.5 mg/mL), con un volumen de inyección de 10 µL. Como estándar de referencia se usó amarisólido A (> 98%), y se inyectaron 5 µL a un rango de concentraciones (0.25 - 0.00625 mg/mL). Todos los cromatogramas se obtuvieron por triplicado.

La fracción D (22.02 g) se sometió a un segundo fraccionamiento por CC de gel de sílice (9 cm di x 8 cm h, 250 mL) y se eluyó con mezclas de CHCl₃-MeOH 99:1 (frs. 1-10),

CHCl₃-MeOH 97:3 (frs. 11-26), CHCl₃-MeOH 90:10 (frs. 27-34), CHCl₃-MeOH 80:20 (frs. 35-42) y CHCl₃-MeOH 50:50 (frs. 43-65). Después del análisis por CCF, se obtuvieron seis fracciones finales D1 (frs. 1-8, 1.01 g), D2 (frs. 9-10, 0.03 g), D3 (frs. 11-26, 2.13 g), D4 (frs. 27-34, 8.76 g), D5 (frs. 35-42, 3.17 g) y D6 (frs. 43-65, 6.35 g). De la fr. D2, se obtuvieron 29 mg del compuesto **1** (5,6-dihidroxi-7,3',4'-trimetoxiflavona) y de la fr. D4, se obtuvieron 4.9 g del compuesto **2** (amarisólido A) por medio de recristalización con MeOH/H₂O.

La fr. D5 (3.17 g) se sometió a CC de gel de sílice (4 cm di x 9 cm h, 50 mL) con mezclas de CHCl₃-MeOH de polaridad creciente (frs. 1-9, 95:5; frs. 10-22, 90:10; frs. 23-33, 80:20; frs. 34-39, 50:50; frs. 40-44, 0:100), y se reunieron por la similitud que presentaron en el análisis de CCF para obtener cinco fracciones finales: D5a (frs. 1-12, 0.14 g), D5b (frs. 13-16, 0.20 g), D5c (frs. 17-22, 1.69 g), D5d (frs. 23, 0.36 g), y D5e (frs. 24-44, 0.77 g). De la fr. D5b se obtuvieron los compuestos **3/4** (amarisólido D/16-*epi*-amarisólido D, 77 mg), de la fr. D5c se obtuvieron los compuestos **5/6** (amarisólido G/16-*epi*-amarisólido G, 1.69 g); y de la fr. D5d se obtuvieron los compuestos **7/8** (363 mg). Por último, de la fracción E, se obtuvo 8.74 g del compuesto **2**.

Reactividad del compuesto 2. Con la finalidad de obtener la aglicona del compuesto **2**, se ensayó la hidrólisis/solvólisis de este compuesto en diferentes condiciones, empleando distintos ácidos de Brønsted y de Lewis, como se describe en la Tabla 6. En general, se preparó una solución del compuesto **2** (33.3 mg/mL, MeOH), a la cual se le agregó el ácido correspondiente y se agitó durante la reacción con o sin temperatura. Después del tiempo de reacción, se agregó NaHCO₃ hasta pH neutro, y la mezcla resultante se separó por partición con AcOEt (1:1, 3x). La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ y el disolvente se eliminó por destilación a presión reducida. Los componentes del crudo de reacción se separaron por cromatografía en columna.

Tabla 6. Condiciones de reacción del compuesto 2.

AmA (mg)	MeOH (mL)	Ácido	Cant.	Conc.	Tiempo (h)	Temp. (°C)
100	1	HCl	5 mL	1 N	4	130
100	2	HCl	5 mL	4 N	1	110–130
100	3	HCl	5 mL	4 N	2	110–130
					2	22–26
100	3	TFA	5 mL	4 N	2	40–50
					2	80–100
					6	110
100	1.6	BF ₃ ·MeOH	4 mL		2	24
	0.6				0.5	25

Nota: Am-A, amarisolido A; MeOH, metanol; Cant., cantidad; Conc., concentración; Temp., temperatura.

vi.ii.2. *Salvia urica* Epling

La *Salvia urica* Epling se recolectó en etapa de floración en Teopisca, Chiapas, México, en diciembre del 2021. Un ejemplar de esta planta fue identificado por la Dra. Martha Martínez Gordillo y depositado en la Facultad de Ciencias de la UNAM (FCME-180582).

Las partes aéreas secas y molidas (218 g), se extrajeron por maceración con acetona (2 L × 3). El extracto total se obtuvo por filtración y destilación a presión reducida para obtener un residuo de 11.0 g (5.04 %). Posteriormente, se sometió a CC de gel de sílice (4.5 cm di x 8.5 cm h, 125 mL) con mezclas de Hx/AcOEt y AcOEt/MeOH eluyendo con proporciones de polaridad creciente. Las fracciones resultantes se agruparon por su similitud en CCF (Tabla 7).

Tabla 7. Fracciones resultantes por CC de gel de sílice del extracto total de *Salvia urica*.

Etiqueta	Fracciones	Mezcla de elución
A	1 – 7	Hx-AcOEt 9:1
B	8 – 22	Hx-AcOEt 7:3
C	23 – 27	Hx-AcOEt 6:4
D	28 – 38	Hx-AcOEt 6:4
E	39 – 43	Hx-AcOEt 1:1
F	44 – 52	Hx-AcOEt 3:7
G	53 – 54	AcOEt
H	55 – 58	AcOEt-MeOH 9:1
I	59 – 63	MeOH

La fracción D (1.6 g) se sometió a CC de gel de sílice (2.0 cm di x 10.0 cm h, 25 mL), eluyendo mezclas: CHCl₃-MeOH 99:1 (frs. 1-9), CHCl₃-MeOH 97:3 (frs. 10-16), CHCl₃-MeOH 95:5 (frs. 17-23). Las fracciones obtenidas se analizaron por CCF, y se agruparon de la siguiente manera: fr. D1 (frs. 1-8), fr. D2 (frs. 9-11), fr. D3 (frs. 12-15), fr. D4 (frs.

16-19) y fr. D5 (frs. 20-23). De la Fr. D2, se obtuvieron 62.0 mg del compuesto **9** (amarisinina A) después de sucesivas cristalizaciones de acetona/Hx, AcOEt/Hx y acetona/AcOEt. De la Fr. E se obtuvieron 7.0 mg del compuesto **1** (5,6-dihidroxi-7,3',4'-trimetoxiflavona) mediante cristalización de AcOEt/hexano.

La identificación de compuestos volátiles presentes en el extracto soluble en acetona se realizó por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas, en un cromatógrafo Agilent GC-7890b acoplado a un espectrómetro de masas Agilent EM-5977A. En la separación cromatográfica, se utilizó una columna capilar GC DB 5ht (30 m x 0.320 mm di x 0.1 µm, Agilent), siguiendo la metodología reportada por Sepúlveda-Cuellar *et al.* 2021. Se preparó una solución del extracto en una mezcla Hx-AcOEt-MeOH 1:1:1 (5 mg/mL), y se inyectó un volumen de 0.2 µL en modo splitless. La temperatura del puerto de inyección se mantuvo a 220°C, y la del horno a 80°C por 2 min, incrementado 3, 5 y 10°C cada minuto hasta 100, 150, y 330°C, respectivamente; al final la temperatura se mantuvo durante 9 minutos a 330°C. Los cromatogramas se obtuvieron por triplicado, y los componentes volátiles se identificaron por deconvolución comparando los espectros de masas experimentales con los de las bases de datos (W10N11 y Wiley10Nist11). El porcentaje del área se normalizó y las cantidades relativas se reportaron como el promedio ± error estándar.

El perfilamiento de HPLC se realizó siguiendo la metodología reportada por Sepúlveda-Cuellar *et al.* (2021) y las condiciones descritas para el perfilamiento por HPLC-PDA de *S. amarissima* Ortega (sección previa).

iii. ESTUDIOS DE PROPIEDADES BIOLÓGICAS

vi.iii.1. *Salvia amarissima* Ortega

vi.iii.1.1. ACTIVIDAD ANTIPROTOZOARIA

Las cepas *Entamoeba histolytica* (6×10^3 , HM1-IMSS: ATCC 30459TM) y *Giardia lamblia* (5×10^4 , IMSS:9809:1) se mantuvieron en medio TYI-S-33. Además, estas se suplementaron con 10 % de suero bovino inactivado por calor, y con 10 % de suero de ternera y bilis bovina, respectivamente. Los trofozoitos utilizados se encontraban en la fase logarítmica de crecimiento. Las pruebas de susceptibilidad *in vitro* se realizaron

siguiendo el método de subcultivo reportado por Calzada *et al.* (1998). Los trofozoitos se incubaron por 48 h a 37°C en presencia de los compuestos (**2**, **5/6**, **7/8**) o el control positivo (metronidazol) a diferentes concentraciones (0.02 – 200 µg/mL, en DMSO 1%). Después de la incubación, una alícuota del medio de cultivo, conteniendo trofozoitos (50 µL) se subcultivó en medio fresco por otras 48 h sin los compuestos de prueba o el fármaco de referencia. El número de trofozoitos se determinó con un hemocitómetro y los resultados se confirmaron con un método colorimétrico. En el que los trofozoitos se lavaron e incubaron con bromuro de 3-[4,5-dimetilhiazol-2-il]-2, 5-difeniltetrazolium (0.075%) y metosulfato de fenazina (250 mg) durante 45 min a 37°C. El exceso de colorante se eliminó mediante HCl en isopropanol y se determinó su absorbancia a 570 nm. Los experimentos se realizaron por duplicado y se repitieron tres veces. El porcentaje de trofozoitos vivos se calculó al comparar con el blanco y los valores de IC₅₀ se obtuvieron por análisis probit (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA) y se expresan como el promedio (intervalos de confianza 95%).

vi.iii.1.2. ACTIVIDAD CITOTÓXICA

Todas las líneas celulares (HCT-116, HeLa, MCF-7, CaOV3) fueron mantenidas en medio RPMI 1640 suplementado con suero fetal bovino al 10 %, L-glutamina (2 mM), penicilina G (10,000 units/mL) y sulfato de estreptomina (10,000 µg/mL). Las células usadas se cosecharon de la fase logarítmica de su ciclo de crecimiento, se cultivaron a 37°C en una atmósfera con CO₂ al 5% y humedad al 100%, sembradas en placas de 96 pozos.

Los compuestos a evaluar (**2**, **5/6** y **7/8**) y los fármacos de referencia (vinblastina, colchicina) se incubaron en presencia de las células a distintas concentraciones (0.2 -25 µg/mL) durante 72 h, después se agregaron 50 µL de ácido tricloroacético acuoso frío al 50 %, y se incubaron por 30 min a 4°C. Al término, las células se lavaron con agua corriente, se secaron y se tiñeron con SRB (0.4%). Posteriormente se lavaron con ácido tricloroacético acuoso frío (1 %), se secaron y se midió la absorbancia a 545 nm en un lector de placas ELISA (Bio-Tex Instruments). Los estudios se realizaron por triplicado y se expresaron como promedio ± desviación estándar (SD).

vi.iii.1.3. MODULACIÓN DE RESISTENCIA A FÁRMACOS

Las células utilizadas para la evaluación de la modulación de la multiresistencia a fármacos son células resistentes a vinblastina a una concentración de 211.2 μM (MCF-7/Vin⁺) o en ausencia de este (MCF7/Vin⁻). Los estudios se realizaron por triplicado y se expresaron como promedio \pm desviación estándar (SD) (Fragoso *et al.*, 2019). La capacidad de potenciar o recuperar la citotoxicidad de la vinblastina en líneas celulares resistentes se describe por medio del ensayo en presencia de los compuestos que puedan recuperar la reactividad de la vinblastina en dichas células.

La metodología consiste en la siembra de células (MCF-7 y MCF-7/Vin), en placas de 96 pozos, en presencia o ausencia de los compuestos (**2**, **5/6**, **7/8**, a 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$) o el control positivo y vinblastina (0.000128–2 $\mu\text{g}/\text{mL}$) durante 72 h en medio RPMI 1640 suplementado con suero fetal bovino al 10 %, L-glutamina (2 mM), penicilina G (10,000 unidades/mL) y sulfato de estreptomina (10,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Después de la incubación se sometieron a tinción con SRB. La reserpina se utilizó como control positivo. El valor de reversión se calculó mediante la división del IC₅₀ de la vinblastina sola entre el IC₅₀ de la vinblastina en presencia de los compuestos evaluados. (Bautista *et al.*, 2015).

vi.iii.2. *Salvia urica* Epling

vi.iii.2.1. ACTIVIDAD ANTIHIPERGLUCÉMICA

Para la evaluación de la actividad antihiper glucémica, se utilizaron ratones Balb/c macho de 8 a 10 semanas (25 ± 5 g) con niveles de glucosa sanguínea de 150 ± 10 mg/mL. Los ratones fueron mantenidos en la Casa Animal del Centro Médico Nacional “Siglo XXI” en el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) y se manejaron de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 para el cuidado y experimentación en animales. Los ratones se mantuvieron en un ciclo de luz-oscuridad natural a $22 \pm 2^\circ\text{C}$, alimentación con dieta estándar y agua *ad libitum*. Los experimentos fueron aprobados por el Comité de Ética del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI–IMSS (R-2019-3601-004).

La inducción experimental de la diabetes tipo 2 en ratones Balb/c fue acorde al modelo estreptozotocina/nicotinamida aplicado por Valdés *et al.* (2019). Los ratones fueron

mantenidos en ayuno 16 h antes de la administración de la estreptozotocina (i.p. 100 mg/kg en solución buffer fría, pH 4). Después de 30 min, se les administró nicotinamida (i.p. 240 mg/kg en solución salina fría). Al tercer día de la administración, los ratones se alimentaron con una solución de sacarosa al 10 % durante tres días. Al quinto día, la solución de sacarosa se sustituyó por agua y después de 24 h, se midieron los niveles de glucosa en sangre (≥ 126 mg/dL), en ayuno, con un glucómetro para confirmar el desarrollo de la DM (ACCU-CHECK® Performa Blood Glucose System, Roche, DC®, México). Al confirmar la presencia de ratones diabéticos, todos los ratones se dividieron en 8 grupos ($n = 6$ por grupo) por su condición glicémica y su tratamiento, como se muestra en la Tabla 8.

Tabla 8. Grupos de experimentación del efecto antihiper glucémico.

Condición glucémica	Tratamiento	Dosis
NM	Control negativo	twee 20 al 2% en agua
NM	SUE	300 mg/kg
NM	10	50 mg/kg
NM	9	50 mg/kg
SID2	Control negativo	twee 20 al 2% en agua
SID2	SUE	300 mg/kg
SID2	10	50 mg/kg
SID2	9	50 mg/kg

Nota: NM: Ratones normoglucémicos, SID2: ratones diabéticos tipo 2 inducidos con estreptozotocina, SUE: extracto de acetona de *Salvia urica*; **9**: amarissinina A; **10**: 5,6-dihidroxi-7,3',4'-trimetoxiflavona.

Los tratamientos se administraron vía oral en 0.5 mL de tween al 80% para cada ratón y después se obtuvieron muestras sanguíneas de la vena principal de la cola, a las 0, 2 y 4 h. Las muestras se procesaron por el método de glucosa oxidasa con un glucómetro (ACCU-CHECK® Performa Blood Glucose System, Roche, DC®, México), y los resultados se obtuvieron como la media \pm el error estándar de la media (SEM). La evaluación estadística se realizó con la prueba de Bonferroni para múltiples comparaciones, tomando una $p < 0.05$ de significancia y con ayuda del programa GraphPad Prism se realizaron los análisis (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

vi.iii.2.2. ACTIVIDAD ANTIPROPULSIVA

Se utilizaron ratas macho Sprague-Dawley (200 – 250 g) para evaluar el tránsito intestinal, se mantuvieron en un ciclo de luz-oscuridad natural a $22 \pm 2^\circ\text{C}$ con dieta estándar y agua *ad libitum*, en la Casa Animal del Centro Médico Nacional “Siglo XXI”, IMSS. Los experimentos siguieron los procedimientos de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 para el cuidado y experimentación con animales y se aprobaron por el Comité de Ética del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI – IMSS (R-2019-3601-004).

Las ratas tuvieron un ayuno de 12 horas, previo al experimento, permitiendo únicamente el consumo de agua. Para ello, se empleó el método descrito por Calzada *et al.* (2010) con algunas modificaciones. Las ratas se dividieron en 4 grupos ($n = 6$ por tratamiento): grupo control positivo (cloruro de loperamida, 10 mg/kg, 1 mL en DMSO al 2%), grupo extracto total de *S. urica* (SUE, 12.5 – 50 mg/kg), el grupo del compuesto **9** (0.125 – 1.5 mg/kg) y el grupo del compuesto **10** (0.125 – 1.5 mg/kg).

Después de administrar los tratamientos, los animales reposaron durante 20 min, para después administrar una carga de carbón vegetal (suspensión de carbón vegetal al 10 % en una suspensión acuosa de goma arábica). Pasados 30 min de la administración, los animales se eutanizaron y se les extrajo desde el estómago al intestino grueso. Seguido de esto, se extendió el tracto digestivo sobre una superficie de vidrio, para determinar la distancia recorrida por la materia fecal desde el píloro hacia el ciego. Los resultados se expresaron como el promedio \pm SEM, y se analizaron mediante una prueba *t* de student ($p < 0.05$ de significancia).

vii. CONCLUSIONES

El aislamiento y purificación de los metabolitos de *Salvia amarissima* permitió dar soporte al quimitipo amarisólido A de la población obtenida en Pátzcuaro, México, como se ha reportado en un estudio previo (Sepúlveda-Cuellar, *et al.* 2021). También se aislaron ocho metabolitos, de los cuales, seis son compuestos conocidos: una flavona (**1**), y cinco diterpenos glucosilados (**2**, **3/4**, **5/6**); y se logró aislar una nueva mezcla epimérica de *neo*-clerodanos, a la cual se le asignó el nombre de amarisólido H/15-*epi*-amarisólido H (**7/8**). Los estudios biológicos realizados con los metabolitos aislados (**2**, **5/6**, **7/8**) de *Salvia amarissima* mostraron buena actividad inhibitoria contra *Entamoeba histolytica* y *Giardia lamblia*, de los cuales se destaca los compuestos **2** y **7/8** debido a que presentan mejores IC₅₀ que el control positivo contra *G. lamblia*.

El estudio químico del extracto de acetona de *Salvia urica* permitió la identificación y el aislamiento, por primera vez en esta planta, de dos compuestos previamente identificados en *Salvia amarissima*. Estos se conocen como amarissinina A (**9**) y 5,6-dihidroxi-7,3',4'-trimetoxiflavona (**10**). Lo anterior apoya la relación filogenética entre estas dos especies, pero para dar más soporte a dicha hipótesis se requieren estudios de quimiodiversidad. Es decir, que esta información es una apertura para el análisis de la relación filogenética que pueden tener las especies descritas en el clado Scorodonia reestructurado por Fragoso-Martínez, *et al.* (2018), mediante el análisis del perfil químico, las condiciones ambientales de las poblaciones, estudios moleculares y metabolómicos.

Los resultados de los ensayos *in vivo* de *Salvia urica* muestran que el extracto total y los compuestos aislados (**9**, **10**) presentaron un efecto antihiper glucemiante en ratones diabéticos, y se puede resaltar que el compuesto **10** obtuvo el mejor resultado. También, ambos compuestos aislados presentaron mejor actividad antipropulsiva, en ratas, en comparación con el control positivo. Por lo que esto da soporte científico a los usos tradicionales de *Salvia urica* como antidiabética y antidiarreica. Sin embargo, se requieren estudios toxicológicos para evaluar la seguridad de los compuestos y del extracto, e incluyendo estudios citotóxicos debido a la presencia de compuestos (amarissinina A, armexifolina y esterculina A) previamente identificados con dicha actividad.

viii. REFERENCIAS

- Abbas, R. K. (2021). Physicochemical properties and determination of some bioactive phytochemical constituents from *Linum usitatissimum* L. Oil (Flaxseed) by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and atomic absorption. *International Journal of Scientific and Management Research*, 4(5), 1-29. DOI: 10.37502/IJSMR.2021.4501
- Abdel-Raouf, N., Al-Enazi, N. M., Al-Homaidan, A. A., Mohammad Ibraheem, I. B., Al-Othman, M. R. & Atef Hatamleh, A. (2015). Antibacterial β -amyrin isolated from *Laurencia microcladia*. *Arabian Journal of Chemistry*, 32-37. DOI: 10.1016/j.arabjc.2013.09.033
- Aguilar, A., Camacho, J. R., Chino, S., Jácquez, P. & López, M. E. (1994). Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social. Instituto Mexicano del Seguro Social.
- ALAD. (2019). *Guías ALAD sobre el diagnóstico, control y tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 con medicina basada en evidencia* (ed. 2019). Permanyer. Asociación Latinoamericana de Diabetes. https://www.revistaalad.com/guias/5600AX191_guias_alad_2019.pdf
- Alcántara-Quintana, L. E., Arjona-Ruiz, C., de Loera, D., Gamboa-León, R. & Terán-Figueroa, Y. (2022). *In vitro* inhibitory and proliferative cellular effects of different extracts of *Struthanthus quercicola*: A preliminary study. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 9679739. DOI: 10.1155/2022/9679739
- Awolola, G. V. (2015). Phytochemical analyses and biological activities of four south African *Ficus* species (Moraceae) [Tesis doctoral, Universidad de Kwazulu-Natal]. Repositorio de la Universidad de Kwazulu-Natal: https://ukzn-dspace.ukzn.ac.za/bitstream/handle/10413/15513/Awolola_Gbonjubola_V_2015.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Bakrim, S., Benkhaira, N., Bourais, I., Benali, T., Lee, L. H., Omari, N. E., Sheikh, R. A., Goh, K. W., Ming, L. C. & Bouyahya, A. (2022). Health benefits and

- pharmacological properties of stigmaterol. *Antioxidants*, 11, 1912. DOI: 10.3390/antiox11101912
- Bautista, E., Fragoso-Serrano, M., Ortiz-Pastrana, N., Toscano, R. A. & Ortega, A. (2016). Structural elucidation and evaluation of multidrug-resistance modulatory capability of amarissinins A–C, diterpenes derived from *Salvia amarissima*. *Fitoterapia*, 114, 1-6. DOI: 10.1016/j.fitote.2016.08.007
- Bautista, E., Fragoso-Serrano, M., Toscano, R. A., García-Peña, M. & Ortega, A. (2015). Teotihuacanin, a diterpene with an unusual *spiro*-10/6 system from *Salvia amarissima* with potent modulatory activity of multidrug resistance in cancer cells. *Organic letters*, 17, 3280-3282. DOI: 10.1021/acs.orglett.5b01320
- Bautista, E., Ortiz-Pastrana, N., Pastor-Palacios, G., Montoya-Contreras, A., Toscano, R. A., Morales-Jiménez, J., Salazar-Olivo, L. A. & Ortega, A. (2017). *neo*-clerodane diterpenoids from *Salvia polystachya* stimulate the expression of extracellular matrix components in Human dermal fibroblasts. *Journal of Natural Products*, 3003–3009. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.7b00591
- Bisio, A., De Mieri, M., Milella, L., Schito, A. M., Parricchi, A., Russo, D., Alfei, S., Lapillo, M., Tuccinardi, T., Hamburger, M. & De Tommasi, N. (2017). Antibacterial and hypoglycemic diterpenoids from *Salvia chamaedryoides*. *Journal of Natural Products*, 503–514. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.6b01053
- Bruton, L. L., Chabner, B., & Knollmann, B. C. (2010). *Goodman-Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. San Diego, California: McGraw-Hill.
- Bush, R. T. & McLnerney, F. A. (2013) Leaf wax n-alkane distributions in and across modern plants: Implications for paleoecology and chemotaxonomy. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 117, 161-179. DOI: 10.1016/j.gca.2013.04.016
- Calzada, F., Bautista, E., Barbosa, E., Salazar-Olivo, L. A., Alvidrez-Armendáriz, E., & Yépez-Mulia, L. (2020). Antiprotozoal activity of secondary metabolites from *Salvia circinata*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 593–596. DOI: 10.1007/s43450-020-00077-7

- Calzada, F., Bautista, E., Yépez-Mulia, L., García-Hernández, N., & Ortega, A. (2015). Antiamoebic and anti-giardial activity of clerodane diterpenes from Mexican *Salvia* species used for the treatment of diarrhea. *Phytotherapy Research*, 29, 1600–1604. DOI: 10.1002/ptr.5421
- Calzada, F., Meckes, M., Cedillo-Rivera, R., & Tapia-Contreras, A. (1998). Screening of Mexican medicinal plants for antiprotozoal activity. *Pharmaceutical Biology*, 35(5), 305–309. DOI: 10.1076/phbi.36.5.305.4653
- Calzada, F., Yépez-Mulia, L., Tapia-Contreras, A., Bautista, E., Maldonado, E., & Ortega, A. (2010). Evaluation of the antiprotozoal activity of neo-clerodane type diterpenes from *Salvia polystachya* against *Entamoeba histolytica* and *Giardia lamblia*. *Phytotherapy Research*, 24, 662–665. DOI: 10.1002/ptr.2938
- Centers for Disease Control and Prevention. (4 de Enero de 2022). *Centro para el control y la prevención de enfermedades*. <https://www.cdc.gov/parasites/es/about.html>
- Chemesova, I. I. & Boiko, É. V. (1990). Flavonoids of *Artemisia argyi*. *Chemistry of Natural Compounds*, 26, 713. DOI: 10.1007/BF00630092
- Chen, S., Cao, Z., Prettnner, K., Kuhn, M., Yang, J., Jiao, L., Wang, Z., Li, W., Geldsetzer, P., Bärnighausen, T., Bloom, D. E., & Wang, C. (2023). Estimates and projections of the global economic cost of 29 cancers in 204 countries and territories from 2020 to 2050. *JAMA Oncology*, 9(4), 465-472. DOI: 10.1001/jamaoncol.2022.7826
- Clebsch B. (2003). *The new book of Salvias: Sages for every garden*. Timber Press.
- Chicago Natural History Museum. (1973). *Fieldiana Botany*. Chicago Natural History Museum 24: 300. <https://www.biodiversitylibrary.org/item/19701>
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. (2006). *Capital natural y bienestar social*. CONABIO. http://www.conabio.gob.mx/2ep/images/3/37/capital_natural_2EP.pdf
- Djerassi, C., & McCrindle, R. (1962). Terpenoids. Part LI. The Isolation of Some New cyclopropane-containing triterpenes from Spanish Moss (*Tillandsia usneoides*, L.). *Journal of the Chemical Society*, 4034-4039. DOI: 10.1039/JR9620004034

- Eldeen, I.M.S., Van Heerden, F.R. & Van Staden, J. (2007). Biological activities of cycloart-23-ene-3,25-diol isolated from the leaves of *Trichilia dregeana*. *South African Journal of Botany*, 73, 366–371. DOI: 10.1016/j.sajb.2007.02.192
- Epling, C. (1940). *Supplementary notes on American Labiatae*. Bulletin of the Torrey Botanical Club, 6(6), 515-516. DOI: 10.2307/2480972
- Escobedo-Martínez, C., Lozada, M. C., Hernández-Ortega, S., Villarreal, M. L., Gnecco, D., Enríquez, R. G. & Reynoldse, W. (2012). ¹H and ¹³C NMR characterization of new cycloartane triterpenes from *Mangifera indica*. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 50, 52–57. DOI: 10.1002/mrc.2836
- Fan, M., Wang, T., Peng, L.-Y., Huang, J.-S., Wu, X.-D., Wang, H.-Y., & Zhao, Q.-S. (2021). Neo-clerodane diterpenoids with hypoglycemic effects *in vivo* from the aerial parts of *Salvia hispanica* L. *Chemistry & biodiversity*, e2100517. DOI: 10.1002/cbdv.202100517
- Fernald, M. L. (1900). *A synopsis of the Mexican and Central American species of Salvia*. Proceedings of the American Academy of Arts and Sciences, 35(25), 489-556. DOI: 10.2307/25129966
- Federación Internacional de la Diabetes. (2019). *Atlas de la Diabetes de la FID*. https://www.diabetesatlas.org/upload/resources/material/20200302_133352_2406-IDF-ATLAS-SPAN-BOOK.pdf
- Flores-Bocanegra, L., González-Andrade, M., Bye, R., Linares, E., & Mata, R. (2017). α -Glucosidase inhibitors from *Salvia circinata*. *Journal of Natural Products*, 1584–1593. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.7b00155
- Fragoso-Martínez, I., Martínez-Gordillo, M., Salazar, G. A., Sazatornil, F., Jenks, A. A., García Peña, M. d. R., Barrera-Aveleida, G., Benitez-Vieyra, S., Magallón, S., Cornejo-Tenorio, G. & Granados Mendoza, C. (2018). Phylogeny of the neotropical sages (*Salvia* subg. *Calosphace*; Lamiaceae) and insights into pollinator and area shifts. *Plant Systematics and Evolution*, 304, 43–55. DOI: 10.1007/s00606-017-1445-4

- Fragoso-Serrano, M., Ortiz-Pastrana, N., Luna-Cruz, N., Toscano, R. A., Alpuche-Solís, A. G., Ortega, A., & Bautista, E. (2019). Amarisolide F, an acylated diterpenoid glucoside and related terpenoids from *Salvia amarissima*. *Journal of Natural Products*, 82, 631-635. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.8b00565
- Frodin, D. G. (2004). History and concepts of big plant genera. *Taxon*, 753-776. DOI: 10.2307/4135449
- Gallardo Arias, P. (2004). *Huastecos de San Luis Potosí*. CDI. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/11217/huastecos.pdf>
- GLOBOCAN (2020). *All cancers*. Recuperado de la base de datos de GLOBOCAN 2020.
- González-Gallegos, J. G., Bedolla-García, B. Y., Cornejo-Tenorio, G., Fernández-Alonso, J. L., Fragoso-Martínez, I., García-Peña, M. d. R., Harley, R. M., Kligaard, B., Martínez-Gordillo, M. J., Wood, J. R. I., Zamudio, S., Zona, S., & Xifreda, C. C. (2020). Richness and distribution of *Salvia* subg. *Calosphace* (Lamiaceae). *International Journal of Plant Sciences*, 181(8), 831-856. DOI: 10.1086/709133
- Greca, M. D., Fiorentin, A., Monaco, P. & Previtera, L. (1994). Cycloartane triterpenes from *Juncus effusus*. *Phytochemistry*, 35(4), 1017-1022. DOI: 10.1016/S0031-9422(00)90659-9
- Grossman, S. C., & Porth, C. M. (2014). *Porth's Pathophysiology*. Lippincott Williams & Wilkins.
- Guo, D. X., Wang, X. N., Zhu, R. X., Liu, N., Zhou, J. C., Yu, W. T. & Lou, H. X. (2012). *cis*-Clerodane diterpenoids from the Chinese liverwort *Scapania parva* Steph. *Phytochemistry Letters*, 5, 535-540. DOI: 10.1016/j.phytol.2012.05.008
- Guo, R., Li, L., Su, J., Li, S., Duncan, S. E., Liu, Z. & Fan, G. (2020). Pharmacological activity and mechanism of tanshinone IIA in related diseases. *Drug Design, Development and Therapy*, 14, 4735–4748
- Harley, R. M., Atkins, S., Budantsev, A., Cantino, P., Conn, B., Grayer, R., Harley, M. M., Kok, R. D., Krestovskaja, T., Morales, R., Paton, A. J., Ryding, O., & Upson, T. (2004). Labiatae. En J. Kadereit, *The families and genera of vascular plants:*

- Flowering plants dicotyledons* (Vol. VII, págs. 167-275). Heidelberg: Springer. DOI: 10.1007/978-3-642-18617-2_11
- Hernández, L., Palazon, J. & Navarro-Oca, A. (2012). The pentacyclic triterpenes α,β -amyryns: A review of sources and biological activities. En A. Venketeshwer Rao (Ed.), *Phytochemicals* (487–502). InTech. DOI: 10.5772/27253
- Hernández-Alvarado, R. B., Madariaga-Mazón, A., Ortega, A. & Martínez-Mayorga, K. (2020) DARK classics in chemical neuroscience: salvinorin A. *ACS Chemical Neuroscience*, 11(23): 3979–3992.
- Instituto Mexicano del Seguro Social. (2014). *Guía práctica clínica GPC: Tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 en el primer nivel de atención*. CENETEC.
- Instituto Nacional de Cancerología. (2015). *Guía médica del cáncer* (1er ed.). Instituto Nacional de Cancerología. www.incan.salud.gob.mx/
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2021). *Principales causas de mortalidad por residencia habitual, grupos de edad y sexo del fallecido*. Obtenido de INEGI: <https://www.inegi.org.mx/sistemas/olap/registros/vitales/mortalidad/tabulados/ConsultaMortalidad.asp>
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2022). Estadísticas a propósito del día mundial contra el cáncer. En comunicado de prensa núm. 77/23 (págs. 1-6). México. https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/aproposito/2023/EAP_Cancer.pdf
- Instituto Nacional de Salud Pública. (2018). *Encuesta nacional de salud y nutrición*. Obtenido de ENSANUT: <https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanut2018/informes.php>
- Jenks, A. A., & Kim, S.-C. (2013). Medicinal plant complexes of *Salvia* subgenus *Calosphace*: an ethnobotanical study of new world sages. *Journal of Ethnopharmacology*, 214-224. DOI: 10.1016/j.jep.2012.12.035
- Jiménez Silva, Á. (2017). *Medicina tradicional*. En O. P. Salud, Boletín CONAMED– Organización Panamericana de la Salud, 31-34. Organización Mundial de la Salud.

- Kemboi, D., Peter, X., Langat, M. & Tembu, J. (2020). A Review of the Ethnomedicinal Uses, Biological Activities, and Triterpenoids of *Euphorbia* Species. *Molecules*, 25, 4019. DOI: 10.3390/molecules25174019
- Kelly, G. S. (1999). Squalene and its potential clinical uses. *Alternative Medicine Review*, 4(1), 29-36.
- Kim, S.K. & Karadeniz, F. (2012). Biological importance and applications of squalene and squalane. En S.-K. Kim (Ed.), *Marine Medicinal Foods: Implications and Applications - Animals and Microbes* (pp. 223–233). Elsevier.
- Lara-Cabrera, S. I., Perez-Garcia, M. d., Maya-Lastra, C. A., Montero-Castro, J. C., Godden, G. T., Cibrian-Jaramillo, A., Fisher, A. E., & Porter, J. M. (2021). Phylogenomics of *Salvia* L. subgenus *Calosphace* (Lamiaceae). *Frontiers in Plant Science*. DOI: 10.3389/fpls.2021.725900
- Li, W., Yang, Y., Wu, J., Jiang, S., Yang, Y., Guo, T., Wang, W. & Jian, Y. (2023) A new labdane diterpenoid glycoside and other constituents from *Inula nervosa* (Asteraceae) and their chemotaxonomic importance. *Biochemical Systematics and Ecology*, 109, 104662. DOI: 10.1016/j.bse.2023.104662
- Liu, J., Xiong, P., Huang, L., Zhang, W., Song, Li., Hu, H., Jia, B. & Liu, X. (2023). *Artemisia anomala* S. Moore: A review of botany, traditional uses, phytochemistry, pharmacology and quality control. *Journal of Ethnopharmacology*, 315, 116663. DOI: 10.1016/j.jep.2023.116663
- Maldonado, E., Cárdenas, J., Bojórquez, H., Escamilla, E. M., & Ortega, A. (1996). Amarisolide, a *neo-clerodane* diterpene glycoside from *Salvia amarissima*. *Phytochemistry*, 42(4), 1105-1108.
- Martínez-Gordillo, M., Bedolla-García, B., Cornejo-Tenorio, G., Fragoso-Martínez, I., García-Peña, M. d., González-Gallegos, J. G., Lara-Cabrera, S. I., & Zamudio, S. (2017). Lamiaceae de México. *Botanical Sciences*, 95(4), 780-806. DOI: 10.17129/botsci.1871

- Mesa-Vanegas, A. M. (2017). Una visión histórica en el desarrollo de fármacos a partir de productos naturales. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 48(3), 16-27.
- Mora, G., Pierre, R., Paz, K., Barboza, F., & Campos, I. (2014). Tratamiento anti infeccioso de la diarrea aguda. *Archivos venezolanos de puericultura y pediatría*, 77(2), 103–110.
- Moreno-Pérez, G. F., González-Trujano, M. E., Hernandez-Leon, A., Valle-Dorado, M. G., Valdés-Cruz, A., Alvarado-Vásquez, N., Aguirre-Hernández, E., Salgado-Ceballos, H., & Pellicer, F. (2023). Antihyperalgesic and antiallodynic effects of amarisolide A and *Salvia amarissima* Ortega in experimental fibromyalgia-type pain. *Metabolites*, 59. DOI: 10.3390/metabo13010059
- Moreno-Pérez, G. F., González-Trujano, M. E., Martínez-Gordillo, M. J., San Miguel-Chávez, R., Basurto-Peña, F. A., Dorazco-González, A., & Aguirre-Hernández, E. (2019). Amarisolide A and pedalitin as bioactive compounds in the antinociceptive effects of *Salvia circinata*. *Botanical Sciences*, 355-365. DOI: 10.17129/botsci.2187
- Nagao, T., Abe, F., Kinjo, J., & Okabe, H. (2002). Antiproliferative constituents in plants 10. flavones from the leaves of *Lantana montevidensis* BRIQ. and consideration of structure–activity relationship. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 25(7), 875—879. DOI: 10.1248/bpb.25.875
- National Cancer Institute. (5 de Mayo de 2021). *Cáncer*. Obtenido de Instituto Nacional del Cáncer: <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/naturaleza/que-es>
- Newman, D. J., & Cragg, G. M. (2020). Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. *Journal of Natural Products*, 83, 770-803. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.9b01285
- NOM-015-SSA2-2010, Norma Oficial Mexicana. *Prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus*. (20 de octubre de 2009). <https://www.dof.gob.mx/normasOficiales/4215/salud/salud.htm>

- Noudogbessi, J. P. A., Natta, K., Tchobo, P., Bogninou, S., Bothon, T. D., Bossou, D., Figueredo, G., Chalard, P., Chalchat, J. C., & Sohounhloué, D. C. K. (2013). Phytochemical Screening of *Pentadesma butyracea* Sabine (Clusiaceae) Acclimated in Benin by GC/MS. *International Scholarly Research Notices*, 172397, 1-8. DOI: 10.1155/2013/172397
- Olvera Mendoza, E. I., Bedolla García, B. Y., & Lara Cabrera, S. I. (2017). Revisión taxonómica de *Salvia* subgénero *Calosphace* sección *Scorodoniae* (Lamiaceae), endémica de México. *Acta Botanica Mexicana*, 118, 7-39. DOI: 10.21829/abm118.2017.1198
- Organización Mundial de la Salud. (2013). *Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023*. Hong Kong: Organización Mundial de la Salud.
- Organización Mundial de la Salud. (2016). *Informe mundial sobre la diabetes*. Switzerland: Organización Mundial de la Salud.
- Organización Mundial de la Salud. (mayo de 2017). *Diarrea*. Obtenido de Organización Mundial de la Salud: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal-disease>
- Organización Mundial de la Salud. (9 de diciembre de 2020). *The top 10 causes of death*. Obtenido de World Health Organization: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
- Organización Mundial de la Salud. (2 de febrero de 2022). *Cáncer*. Obtenido de Organización Mundial de la Salud: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
- Organización Mundial de la Salud. (16 de septiembre de 2022). *Diabetes*. Obtenido de Organización Mundial de la Salud: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>
- Organización Mundial de la Salud. (Septiembre de 2022). *Enfermedades no transmisibles*. Obtenido de Organización Mundial de la Salud: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable->

diseases#:~:text=Los%20principales%20tipos%20de%20ENT,el%20asma)%20y%20la%20diabetes.

Organización Mundial de la Salud. (Enero de 2023). *CIE-11 para estadísticas de mortalidad y morbilidad*. Obtenido de Organización Mundial de la Salud: <https://icd.who.int/browse11/l-m/es>

Padilla-Gómez, E. (2007). *Estudio ecológico y etnobotánico de la vegetación del municipio de San Pablo Etla, Oaxaca* [Tesis de maestría, Instituto Politécnico Nacional]. Repositorio institucional del Instituto Politécnico Nacional. http://literatura.ciidiroaxaca.ipn.mx:8080/xmlui/handle/LITER_CIIDIROAX/48

Quintão, N. L., Rocha, L. W., Silva, G. F., Reichert, S., Claudino, V. D., Lucinda-Silva, R. M., Malheiros, A., De Souza, M. M., Cechinel Filho, V., Bellé Bresolin, T. M., da Silva Machado, M., Wagner, T. M. & Meyre-Silva, C. (2014) Contribution of α,β -amyrenone to the anti-inflammatory and antihypersensitivity effects of *Aleurites moluccana* (L.) Willd. *BioMed research international*, 636839. DOI: 10.1155/2014/636839.

Rojas Alba, M. (2009). *Tratado de medicina tradicional mexicana: Bases históricas, teoría y práctica clínico-terapéutica*. México: Tlahui.

Sakagami, Y., Murata, H., Nakanishi, T., Inatomi, Y., Watabe, K., Iinuma, M., Tanaka, T., Murata, J., & Lang, F. A. (2001). Inhibitory effect of plant extracts on production of verotoxin by enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Journal of Health Science*, 47, 437-477. DOI: 10.1248/jhs.47.473

Salinas-Arellano, E., Pérez-Vásquez, A., Rivero-Cruz, I., Torres-Colín, R., González-Andrade, M., Rangel-Grimaldo, M., & Mata, R. (2020). Flavonoids and terpenoids with PTP-1B inhibitory properties from the infusion of *Salvia amarissima* Ortega. *Molecules*, 3530. DOI: 10.3390/molecules25153530

Santos, F. A., Torres Frota, J., Rodrigues Arruda, B., Sousa de Melo, T., Almeida da Silva, A., Castro Brito, G. A., Chaves, M. H., & Satyanarayana Rao, V. (2012). Antihyperglycemic and hypolipidemic effects of α, β -amyrin, a triterpenoid mixture

- from *Protium heptaphyllum* in mice. *Lipids in Health and Disease*, 98. DOI:10.1186/1476-511X-11-98
- Secretaría de Salud. (2015). Guía práctica clínica: Atención, diagnóstico y tratamiento de diarrea aguda en adultos en el primer nivel de atención. <https://www.gob.mx/salud/documentos/atencion-diagnostico-y-tratamiento-de-diarrea-aguda-en-adultos-en-el-primer-nivel-de-atencion-guia-de-referencia-rapida>
- Secretaría de Salud. (2015). Guía práctica clínica: Prevención, diagnóstico y tratamiento de diarrea aguda en niños de dos meses a cinco años en el primer y segundo nivel de atención. <https://www.imss.gob.mx/sites/all/statics/guiasclinicas/156GRR.pdf>
- Sepúlveda Cuellar, L., Duque Ortiz, A., Yáñez Espinosa, L., Calzada, F., Bautista, E., Pastor Palacios, G., Bedolla García, B. Y., Flores-Rivas, J., Badano, E. I., & Douterlungne, D. (2021). Phylogenetic and chemical analyses of the medicinal plant *Salvia circinnata*: an approach to understand metabolomics differences. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 31, 676-688. DOI: 10.1007/s43450-021-00168-z
- Shamsudin, N. F., Ahmed, Q. U., Mahmood, S., Shah, S. A., Sarian, M. N., Khattak, M. M., Khatib, A., Sabere, A. S. M., Yusoff, Y.M., & Latip, J. (2022). Flavonoids as antidiabetic and anti-inflammatory agents: a review on structural activity relationship-based studies and meta-analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 12605. DOI: 10.3390/ijms232012605
- Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. (2021). *Informe semanal de vigilancia*. Subsecretaría de prevención y promoción de la salud. dirección general de epidemiología. México. Secretaría de Salud.
- Toscano, R. A., Cárdenas, J., Ortiz-Pastrana, N., Fragoso-Serrano, M., Ortega, A., Pérez-Vázquez, F. J., García-Peña, M. d. R., & Bautista, E. (2019). NMR and SC-XRD analyses of a solid solution of diastereomers of microphyllane diterpenoids from *Salvia hirsuta*. *Journal of Molecular Structure*, 1203, 127409. DOI: 10.1016/j.molstruc.2019.127409

- Valdes, M., Calzada, F. & Mendieta-Wejebe, J. (2019) Structure–activity relationship study of acyclic terpenes in blood glucose levels: Potential α -glucosidase and sodium glucose cotransporter (SGLT-1) inhibitors. *Molecules*, 24, 4020. DOI:10.3390/molecules24224020
- Valle Esquivel, J. & Hernández Alvarado, J. B. (2004). *Huastecos de Veracruz*. México: CDI.
- Velázquez-Domínguez, J. A., Hernández-Ramírez, V. I., Calzada, F., Varela-Rodríguez, L., Pichardo-Hernández, D. L., Bautista, E., Herrera-Martínez, M., Castellanos-Mijangos, R. D., Matus-Meza, A. S., Chávez-Munguía, B. & Talamás-Rohana, P. (2020) Linearolactone and kaempferol disrupt the actin cytoskeleton in *Entamoeba histolytica*: inhibition of amoebic liver abscess Development. *Journal of Natural Products*, 83, 12, 3671-3680. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.0c00892
- Viesca Treviño, C. (2010). Medicina del México antiguo. *Medicina y Salud*. México: Universidad Nacional Autónoma de México. http://www.medicinaysalud.unam.mx/temas/2010/09_sep_2k10.pdf
- Wang, X., Kong, L., Zhi, P. & Chang, C. (2020) Update on CuticularWax Biosynthesis and its roles in plant disease resistance. *International Journal of Molecular Sciences*, 21, 5541. DOI: 10.3390/ijms21155514

LISTA DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
OMS	Organización Mundial de la Salud
CONABIO	Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad
ENSANUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición
FID	Federación Internacional de Diabetes
GPS	Sistema de Posicionamiento Global
NOM	Norma Oficial Mexicana
CLAR	Cromatografía Líquida de Alta Resolución
α	Rotación óptica observada en el polarímetro
IR	Infrarrojo
UV	Ultravioleta-Visible
nm	Nanómetros
HRESIMS	Espectrometría de Masas de Alta Resolución con Ionización por Electrospray
m/z	Relación masa-carga
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
δ	Desplazamiento químico
MHz	Megahertz
J	Constante de acoplamiento
HSQC	Correlación Espectroscópica Heteronuclear a un enlace ^{13}C - ^1H
HMBC	Correlación Espectroscópica Heteronuclear en enlaces Múltiples ^{13}C - ^1H

COSY	Correlación Espectroscópica Mononuclear ^1H - ^1H
NOESY	Espectroscópica de Efecto Nuclear Overhauser
CC	Cromatografía en Columna
di	Diámetro interno de la columna en CC
CCF	Cromatografía en Capa Fina
Hx	Hexano
AcOEt	Acetato de Etilo
MeOH	Metanol
MeCN	Acetonitrilo
DCM	Diclorometano
CHCl_3	Cloroformo
CD_3OD	Metanol deuterado
DMSO	Dimetilsulfóxido
mL	Mililitros
cm	Centímetros
μm	Micrómetros
i.p.	Inyección intraperitoneal

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fármacos aprobados entre 1981-2019 por categoría.	19
Figura 2. Relación filogenética del género <i>Salvia</i> subg. <i>Calosphaea</i> basada en la combinación de análisis de secuencias de ADN nuclear (ITS) y plasto (<i>trnL-trnF</i> , <i>psbA-trnH</i>). Tomada de Fragosó-Martínez et al., 2018	20
Figura 3. <i>Salvia urica</i> Epling. Fotografía tomada por Gerardo A. Salazar	21
Figura 4. <i>Salvia amarissima</i>	22
Figura 5. Ácido rosmarínico aislado del extracto acuoso de <i>Salvia amarissima</i> (Salinas-Arellano et al., 2020).	22
Figura 6. Flavonoides identificados en <i>Salvia amarissima</i> . Nota: Glu, glucosa; Rham, ramnosa.	23
Figura 7. Terpenoides aislados de <i>Salvia amarissima</i>	24
Figura 8. Principales causas de muerte en el mundo, en el año 2019. Tomada de OMS, 2020c.	27
Figura 9. Cantidad total calculada de adultos (20-79 años) con diabetes en 2019. Tomada de FID, 2019.	28
Figura 10. Porcentaje de población (20 y más años) con diabetes, por entidad federativa en 2018. Tomada de INSP, 2018.	28
Figura 11. Gasto total (dólares) en salud relacionado con la diabetes en adultos (20-79 años) en 2019. Tomada de FID, 2019.....	29
Figura 12. Casos nuevos y mortalidad por tipo de cáncer para ambos sexos, en el 2020. Tomada y modificada de GLOBOCAN, 2020.....	32
Figura 13. Tasa de defunciones por tumores malignos por entidad federativa, en 2021. Tomada de INEGI, 2023. Nota: Defunciones por cada 10 mil habitantes.	32
Figura 14. Carga macroeconómica por el cáncer estimada entre los años 2020 y 2050. Tomada y modificada de Chen et al., 2023.....	33
Figura 15. Tipo de cáncer con mayor carga económica en cada país, entre los años 2020 y 2050. Tomada y modificada de Chen et al., 2023. Nota: TBL, Tráquea, bronquios, y pulmones; No-H, No-Hodgkin.	33

Figura 16. Incidencia de EDA en menores de cinco años durante la semana epidemiológica 4, México, 2021. Tomada de Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica, 2021. Nota: *por cada mil niños menores de cinco años. 37

Figura 17. Perfil HPLC-PDA de amarisólido A (**A**) y de la parte soluble en acetona del extracto total de *Salvia amarissima*, colectada en Pátzcuaro, Michoacán, México (**B**) a 240 nm. **Error! Bookmark not defined.**

Figura 18. Metabolitos aislados de *Salvia amarissima*. .. **Error! Bookmark not defined.**

Figura 19. Correlaciones HMBC, COSY y NOESY de los compuestos **7/8**..... **Error! Bookmark not defined.**

Figura 20. Comparación de espectros simulados de ^1H RMN del compuesto **7** (**A**), **8** (**B**), **7/8** (**C**) con el espectro experimental de ^1H RMN de los compuestos **7/8** (**D**, CD_3OD , 500 MHz)..... **Error! Bookmark not defined.**

Figura 21. Energías teóricas de las interacciones por puente de hidrógeno de los compuestos **7/8** en solvatación con metanol por el modelo del conductor continuo polarizable (CPCM). **Error! Bookmark not defined.**

Figura 22. Controles positivos utilizados en la evaluación citotóxica. ..**Error! Bookmark not defined.**

Figura 23. Metabolitos aislados de *Salvia urica* Epling... **Error! Bookmark not defined.**

Figura 24. Perfil comparativo por HPLC-PDA de amarissinina A (**A**), 5,6-dihidroxi-7,3',4'-trimetoxiflavona (**B**) y del extracto de acetona de *Salvia urica* (**C**) a 330 nm. **Error! Bookmark not defined.**

LISTA DE FIGURAS DEL APÉNDICE A

Figura A1. Espectro de RMN de ^1H del compuesto 1 en DMSO- d_6 a 500 MHz.	70
Figura A2. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto 1 en DMSO- d_6 a 125 MHz.	71
Figura A3. Espectro de RMN de ^1H del compuesto 2 en CDCl_3 a 500 MHz.	72
Figura A4. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto 2 en CDCl_3 a 125 MHz.	73
Figura A5. Espectros de RMN de ^1H de los productos 2a , 2b , 2c (A , B , C) y del compuesto 2 (D) en CDCl_3 a 500 MHz.	74
Figura A6. Espectros de RMN ^{13}C de los productos 2a , 2b , 2c (A , B , C) y del compuesto 2 (D) en CDCl_3 a 125 MHz.	75
Figura A7. Espectro de RMN de ^1H de los compuestos 3/4 en CD_3OD a 500 MHz.	76
Figura A8. Espectro de RMN de ^{13}C de los compuestos 3/4 en CD_3OD a 125 MHz. ..	77
Figura A9. Espectro de RMN de ^1H de los compuestos 5/6 en CD_3OD a 500 MHz.	78
Figura A10. Espectro de RMN de ^{13}C de los compuestos 5/6 en CD_3OD a 125 MHz.	79
Figura A11. Espectro de infrarrojo de los compuestos 7/8	80
Figura A12. Espectro de masas de los compuestos 7/8	81
Figura A13. Espectro de RMN de ^1H de los compuestos 7/8 en CD_3OD a 500 MHz. ...	82
Figura A14. Espectro de RMN de ^{13}C de los compuestos 7/8 en CD_3OD a 125 MHz.	82
Figura A15. Experimento HSQC de los compuestos 7/8 en CD_3OD	83
Figura A16. Experimento HMBC de los compuestos 7/8 en CD_3OD	84
Figura A17. Experimento COSY de los compuestos 7/8 en CD_3OD	85
Figura A18. Experimento NOESY de los compuestos 7/8 en CD_3OD	86
Figura A19. Espectro de RMN de ^1H del compuesto 9 en DMSO- d_6 a 500 MHz.	87
Figura A20. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto 9 en DMSO- d_6 a 125 MHz.	87
Figura A21. Espectro de RMN de ^1H del compuesto 10 en DMSO- d_6 a 500 MHz.	88
Figura A22. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto 10 en DMSO- d_6 a 125 MHz.	88

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Cantidad de adultos (20-70 años) con diabetes acorde a la clasificación según el nivel de ingresos del Banco Mundial en 2019, 2030 y 2045. Tomada de FID, 2019.	27
Tabla 2. Criterios para el diagnóstico de DM. Tomada y modificada de Grossman & Porth 2014; ALAD 2019.	30
Tabla 3. Fármacos utilizados para el control de la diabetes mellitus. Tomada y modificada de Bruton et al., 2010.	31
Tabla 4. Fármacos utilizados para el tratamiento de la diarrea.	38
Tabla 5. Fracciones resultantes de la separación por CC de gel de sílice del extracto total de <i>Salvia amarissima</i> .	42
Tabla 6. Condiciones de reacción del compuesto 2 .	44
Tabla 7. Fracciones resultantes por CC de gel de sílice del extracto total de <i>Salvia urica</i> .	44
Tabla 8. Grupos de experimentación del efecto antihiper glucémico.	48
Tabla 9. Desplazamientos químicos en RMN ¹ H (500 MHz) y ¹³ C (125 MHz) para los compuestos 7/8 , determinados en CD ₃ OD.	Error! Bookmark not defined.
Tabla 10. Cálculos teóricos de la mezcla epimérica de los compuestos 7/8 en solvatación con metanol usando el CPCM.	Error! Bookmark not defined.
Tabla 11. Actividad antiprotozoaria de los compuestos 2 , 5/6 , 7/8 , aislados de <i>Salvia amarissima</i> .	Error! Bookmark not defined.
Tabla 12. Evaluación citotóxica de los compuestos 2 , 5/6 y 7/8 , aislados de <i>Salvia amarissima</i> contra cuatro líneas celulares humanas de cáncer.	Error! Bookmark not defined.
Tabla 13. Evaluación de modulación de resistencia a fármacos de los compuestos 2 , 5/6 y 7/8 , aislados de <i>Salvia amarissima</i> contra líneas celulares resistentes a vinblastina	Error! Bookmark not defined.
Tabla 14. Cantidades relativas (% área normalizada) de los metabolitos volátiles detectados en el extracto de acetona de <i>Salvia urica</i> por GC-MS.	Error! Bookmark not defined.

Tabla 15. Cuantificación por HPLC-PDA del contenido promedio de amarissinina A (**9**) y 5,6-dihidroxi-7,3',4'-trimetoxiflavona (**10**) en extractos de acetona de *Salvia urica* a 330 nm. **Error! Bookmark not defined.**

Tabla 16. Niveles de glucosa en sangre de ratones normoglucémicos (NM) y ratones diabéticos (SID2) a 0, 2 y 4 h en la prueba antihiper glucemia aguda. ..**Error! Bookmark not defined.**

Tabla 17. Efecto antipropulsivo de productos aislados de *Salvia urica* y loperamida en modelo hiperperistáltico en rata con carbón activado-goma arábica. ...**Error! Bookmark not defined.**

Tabla 18. Actividad antiprotozoaria en ensayos in vitro del extracto y los compuestos aislados de *Salvia urica*..... **Error! Bookmark not defined.**

APÉNDICE A:

Salvia amarissima Ortega

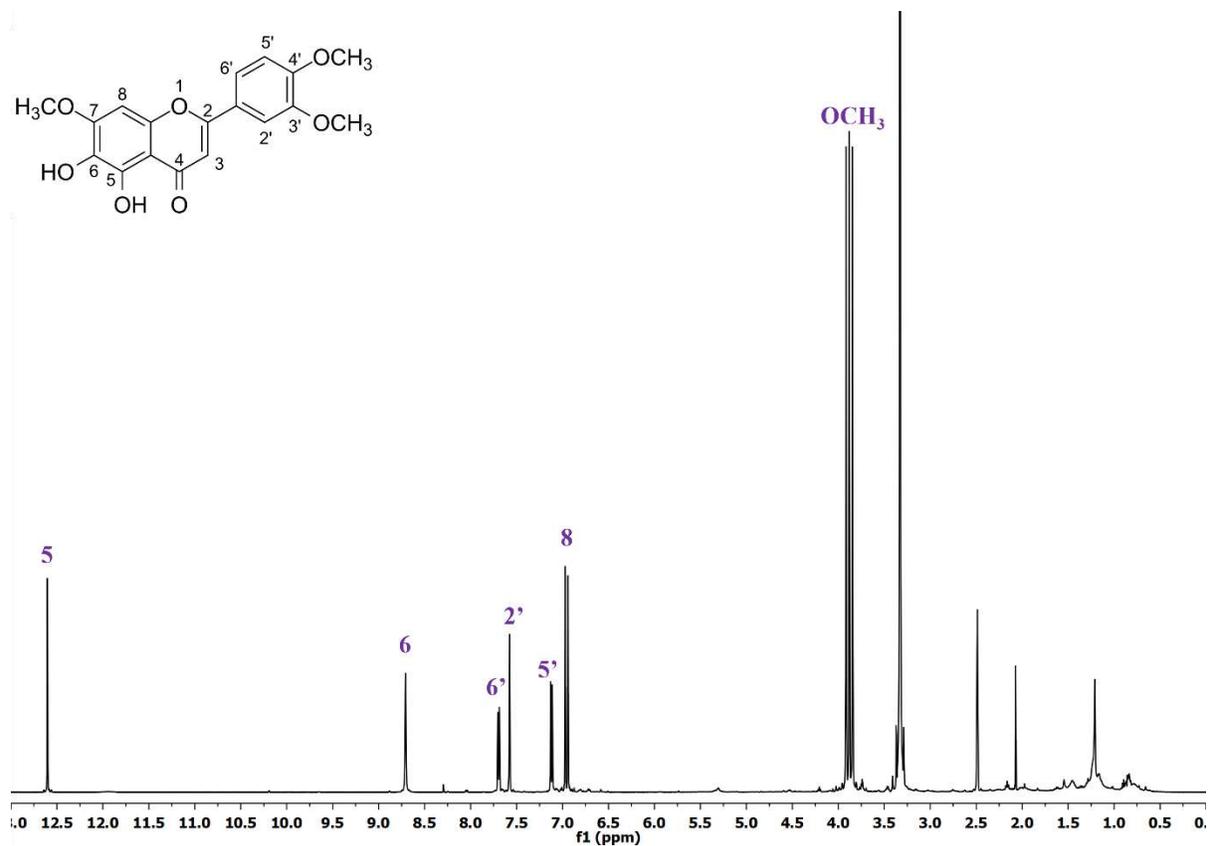


Figura A1. Espectro de RMN de ¹H del compuesto **1** en DMSO-d₆ a 500 MHz.

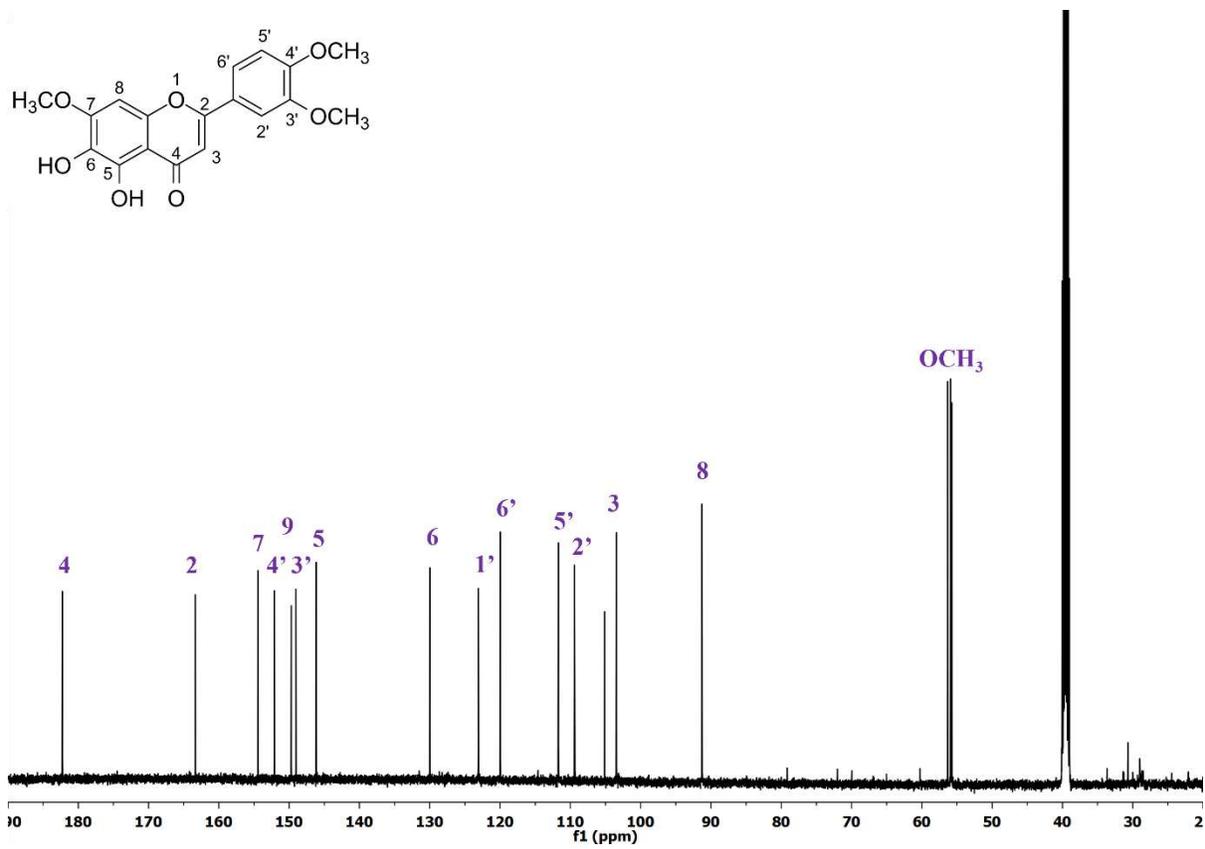


Figura A2. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto 1 en DMSO-d_6 a 125 MHz.

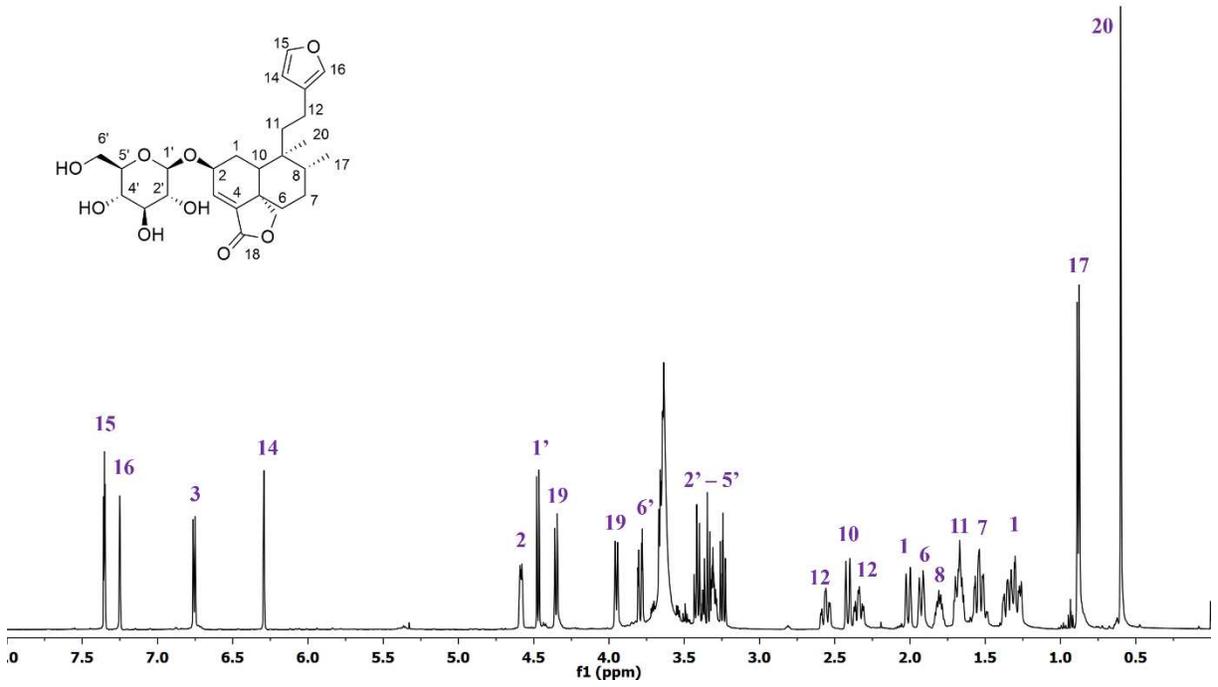


Figura A3. Espectro de RMN de ¹H del compuesto **2** en CDCl₃ a 500 MHz.

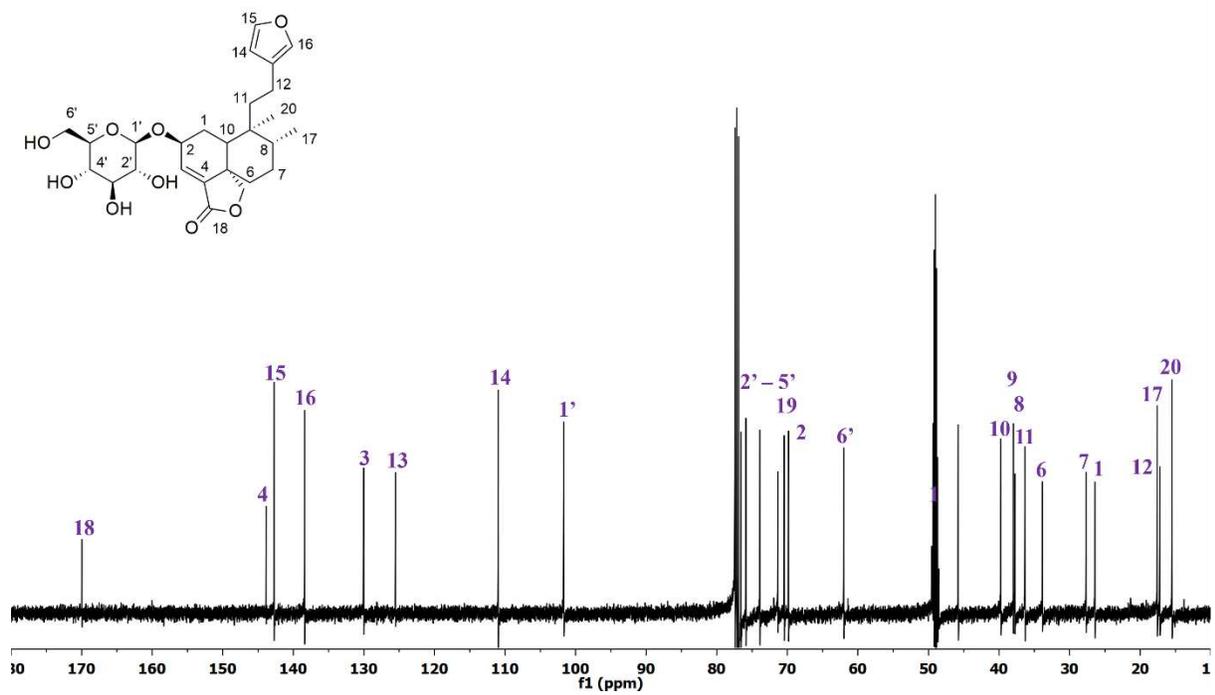


Figura A4. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **2** en CDCl_3 a 125 MHz.

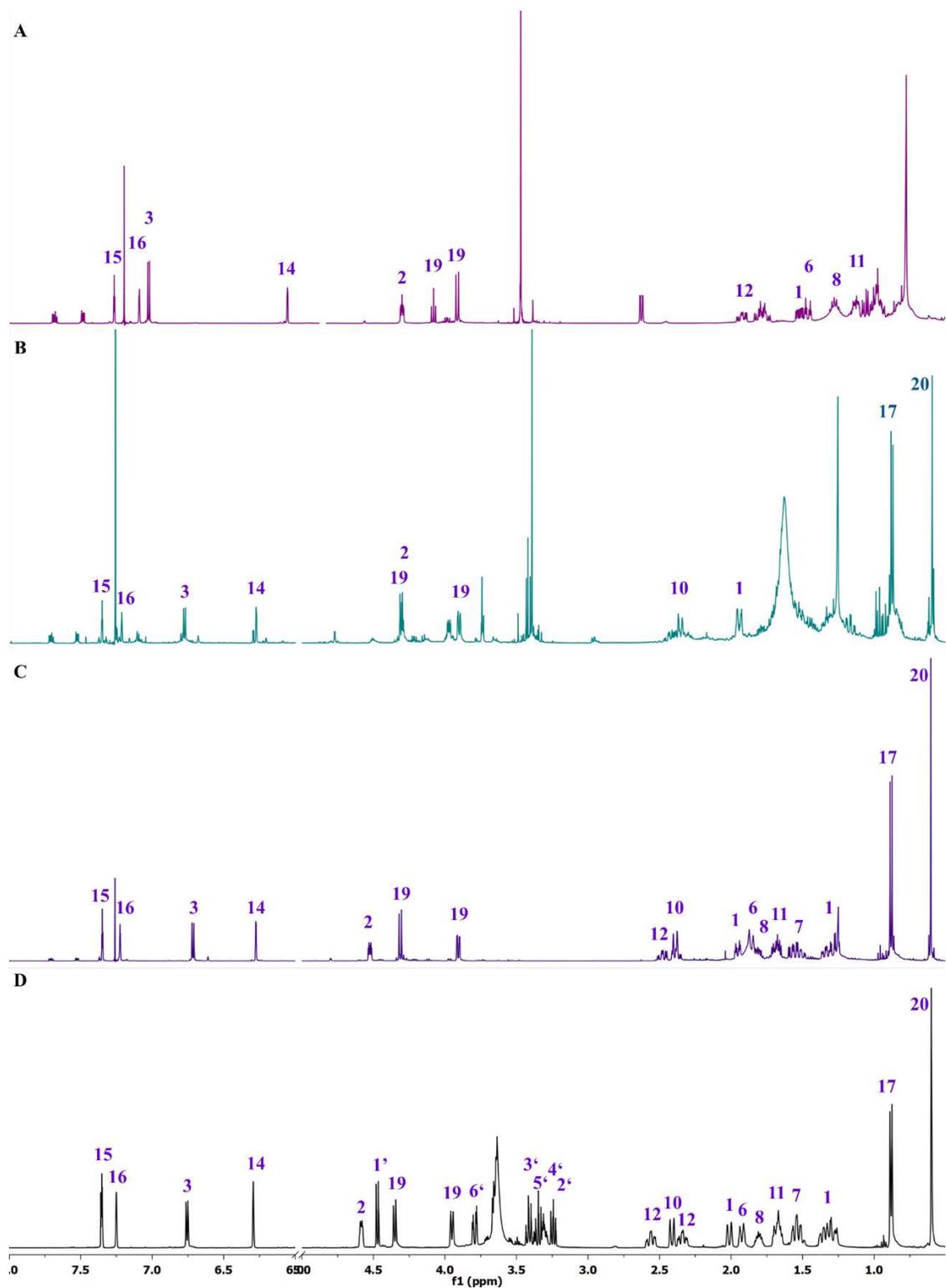


Figura A5. Espectros de RMN de ¹H de los productos **2a**, **2b**, **2c** (A, B, C) y del compuesto **2** (D) en CDCl₃ a 500 MHz.

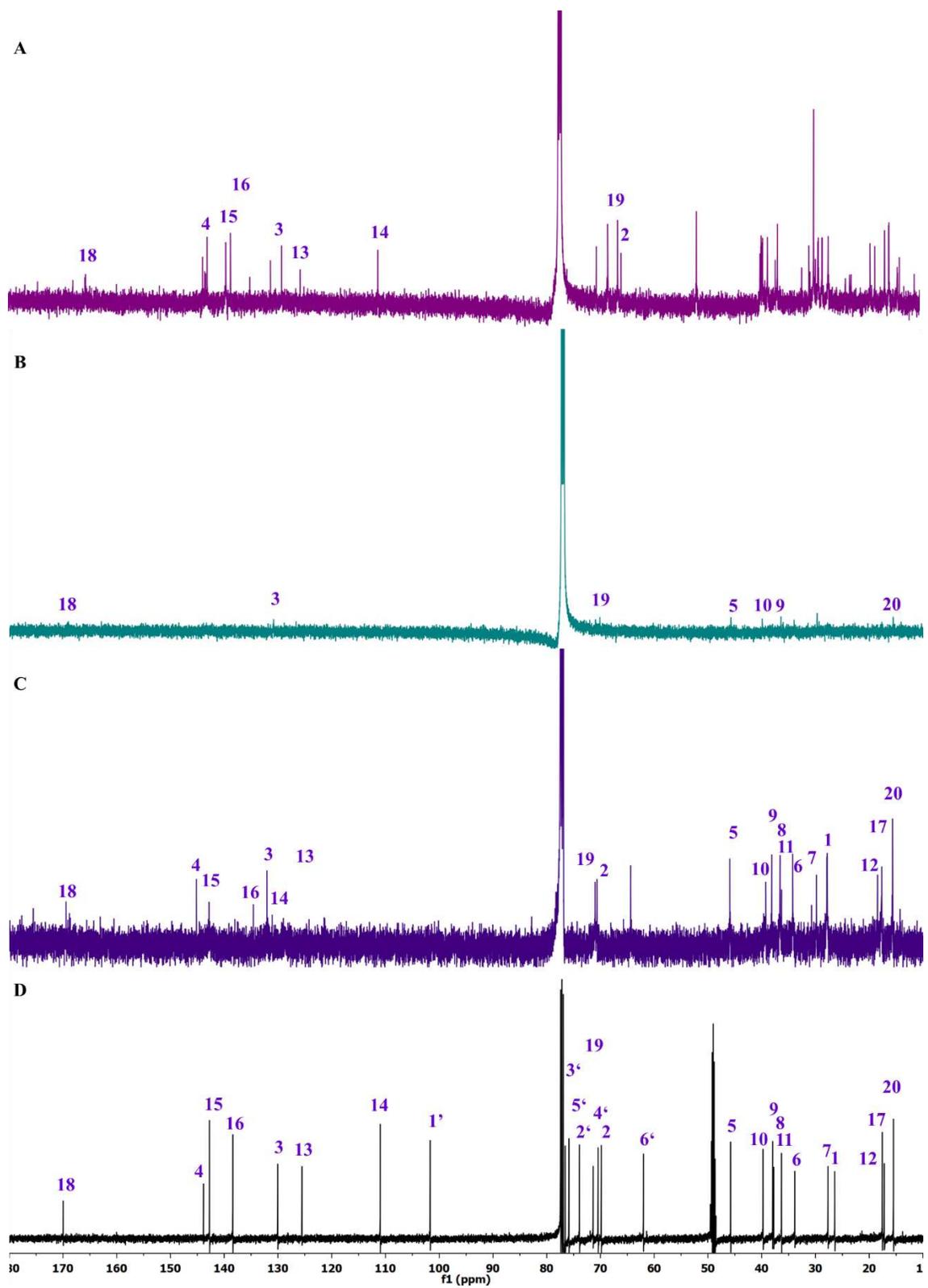


Figura A6. Espectros de RMN ^{13}C de los productos 2a, 2b, 2c (A, B, C) y del compuesto 2 (D) en CDCl_3 a 125 MHz.

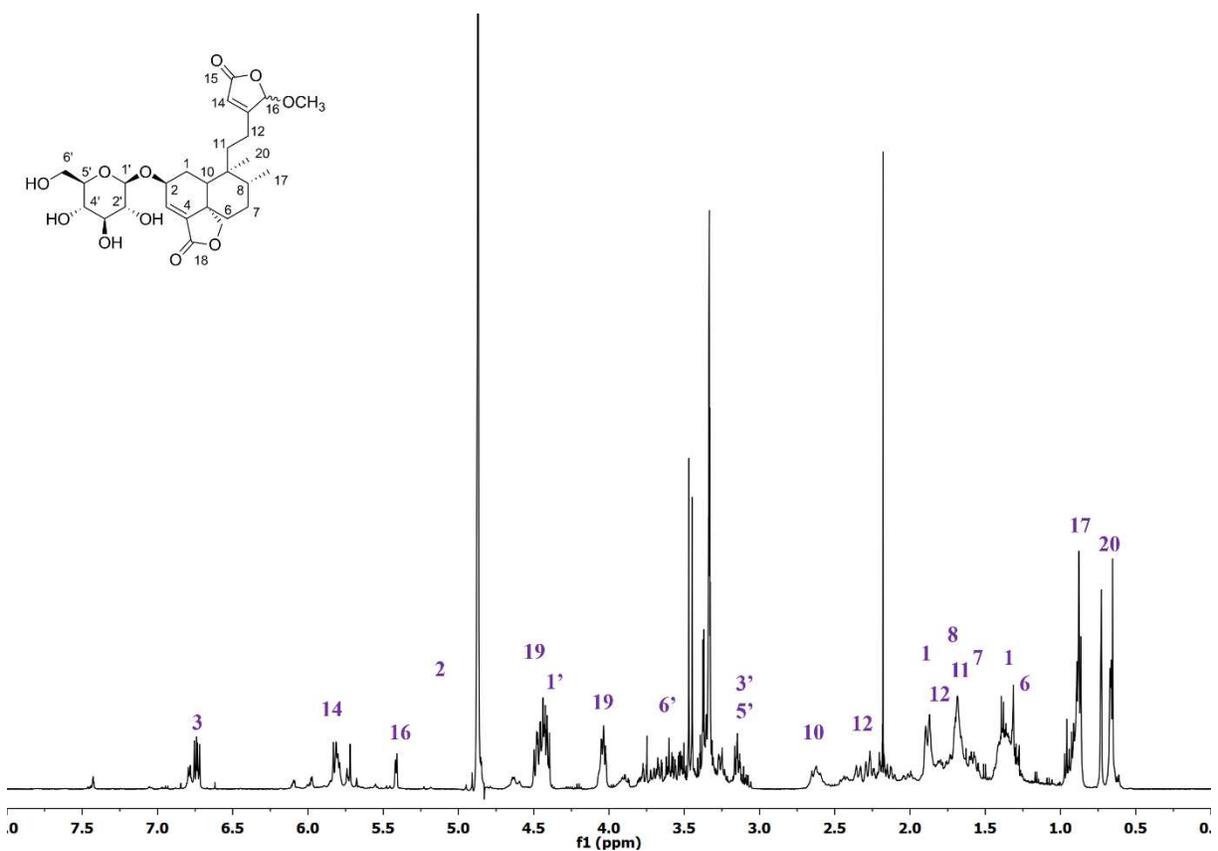


Figura A7. Espectro de RMN de ¹H de los compuestos **3/4** en CD₃OD a 500 MHz.

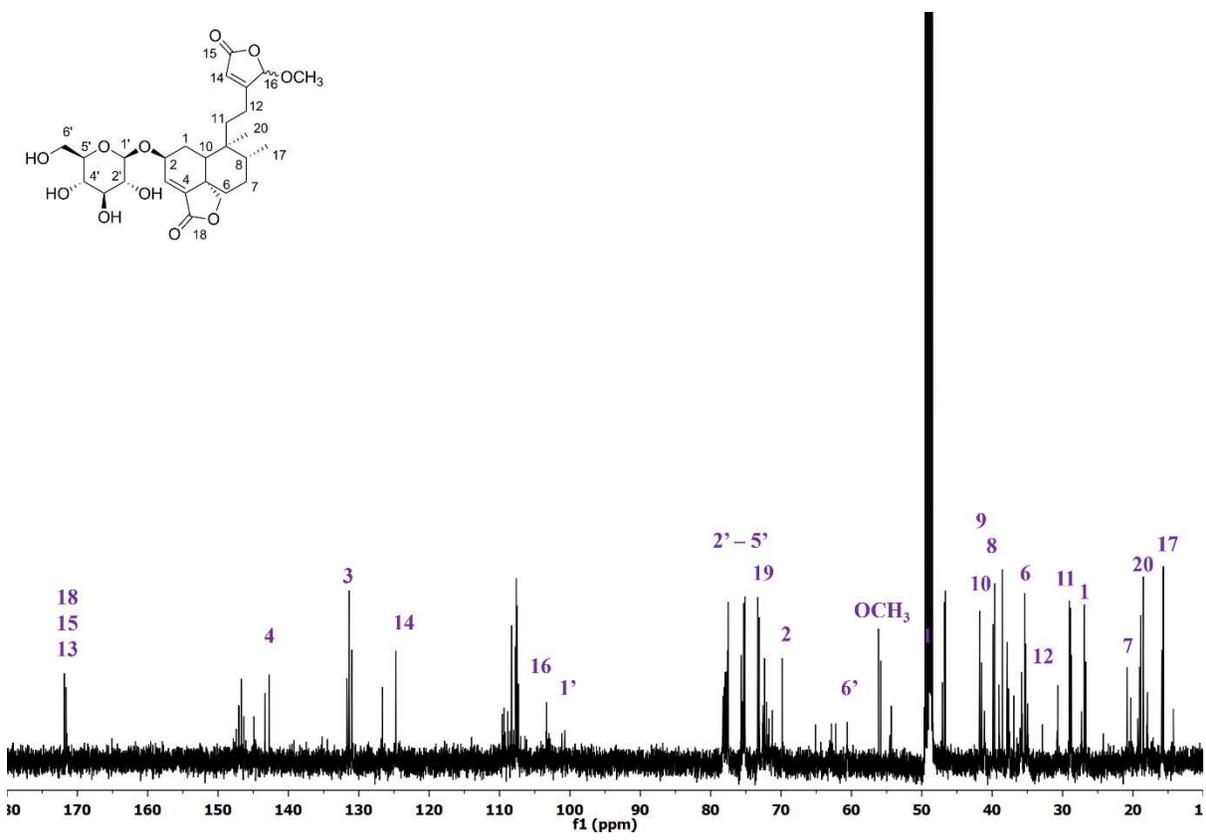


Figura A8. Espectro de RMN de ¹³C de los compuestos 3/4 en CD₃OD a 125 MHz.

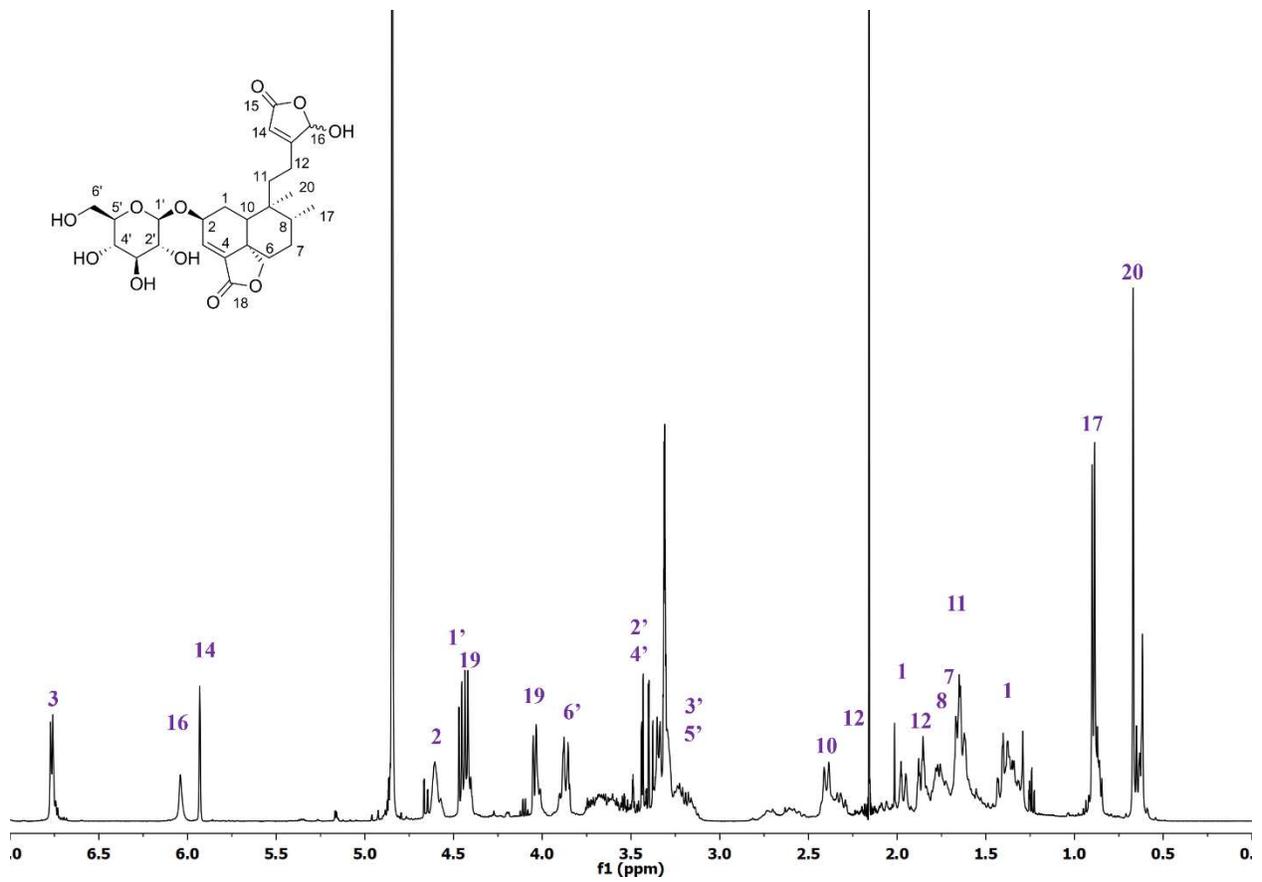


Figura A9. Espectro de RMN de ¹H de los compuestos 5/6 en CD₃OD a 500 MHz.

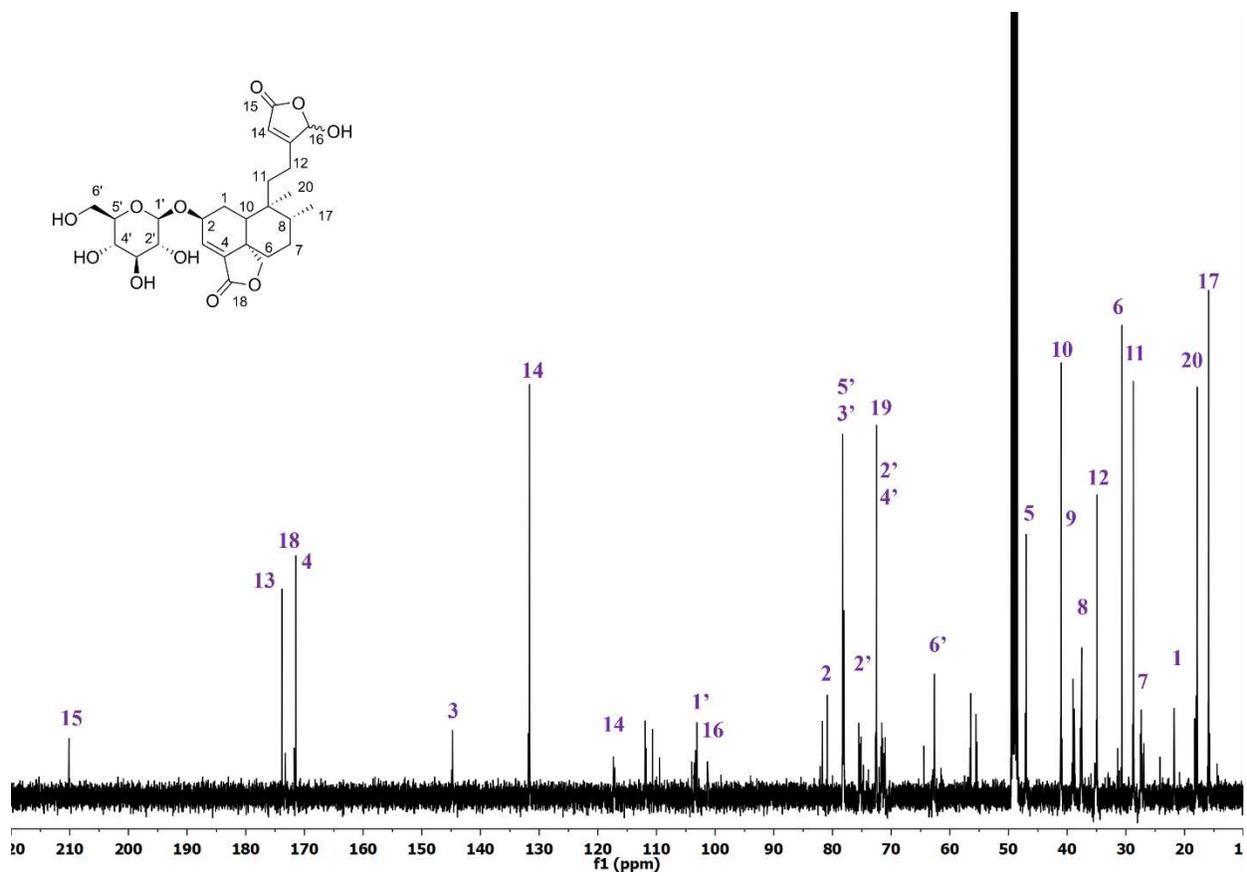


Figura A10. Espectro de RMN de ¹³C de los compuestos 5/6 en CD₃OD a 125 MHz.

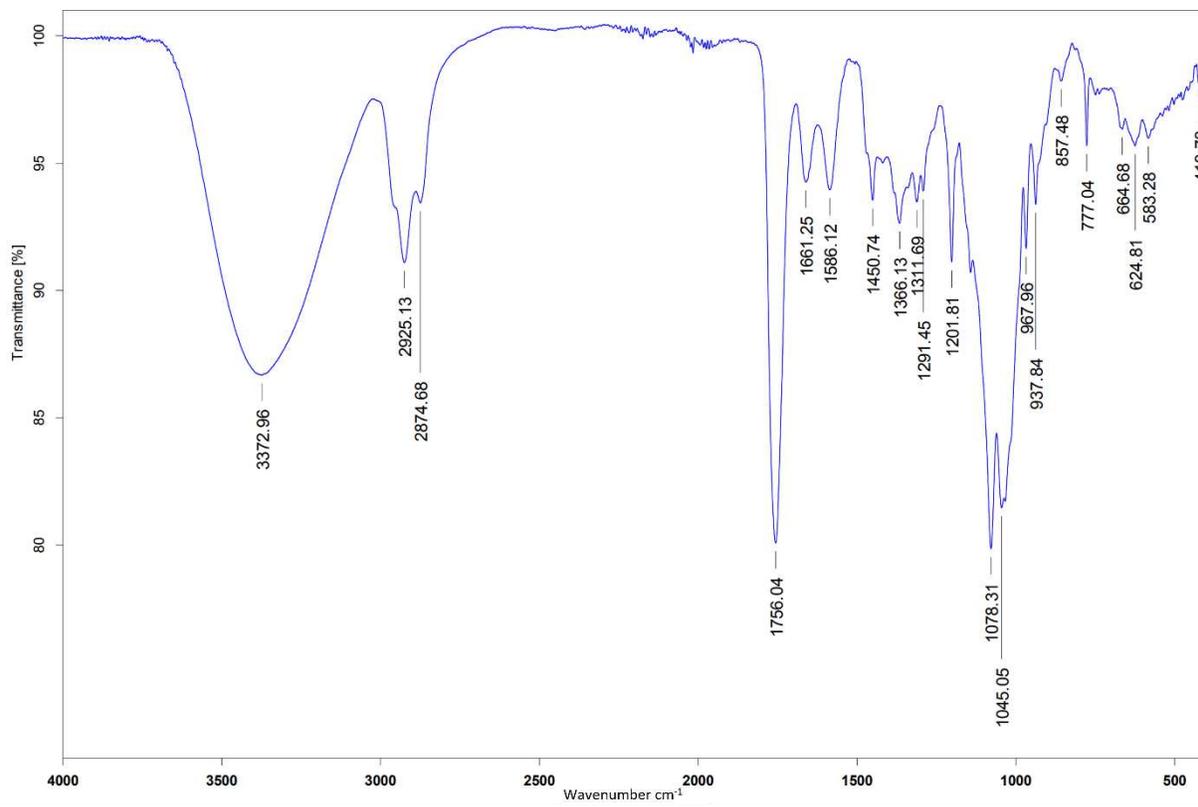


Figura A11. Espectro de infrarrojo de los compuestos 7/8.

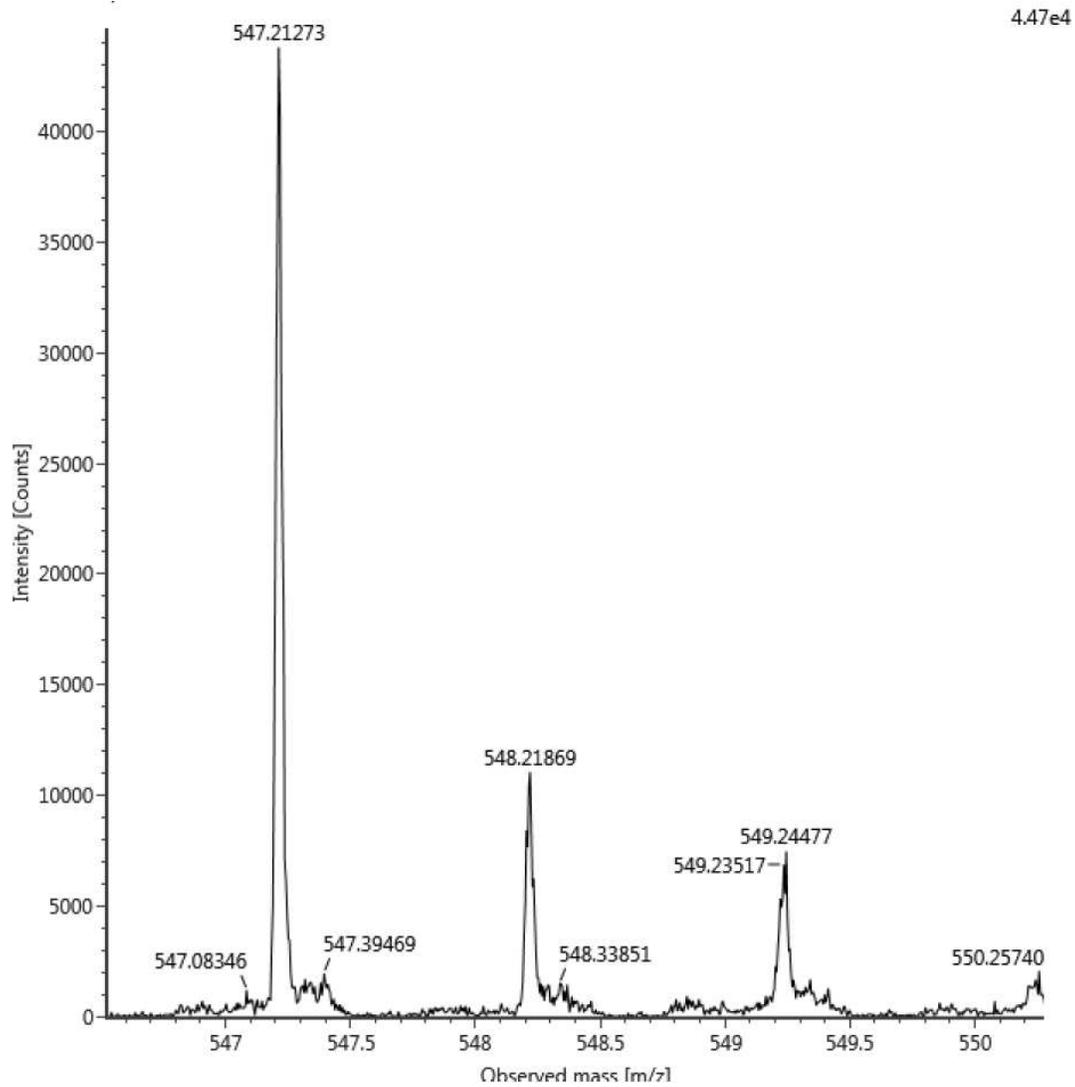


Figura A12. Espectro de masas de los compuestos 7/8.

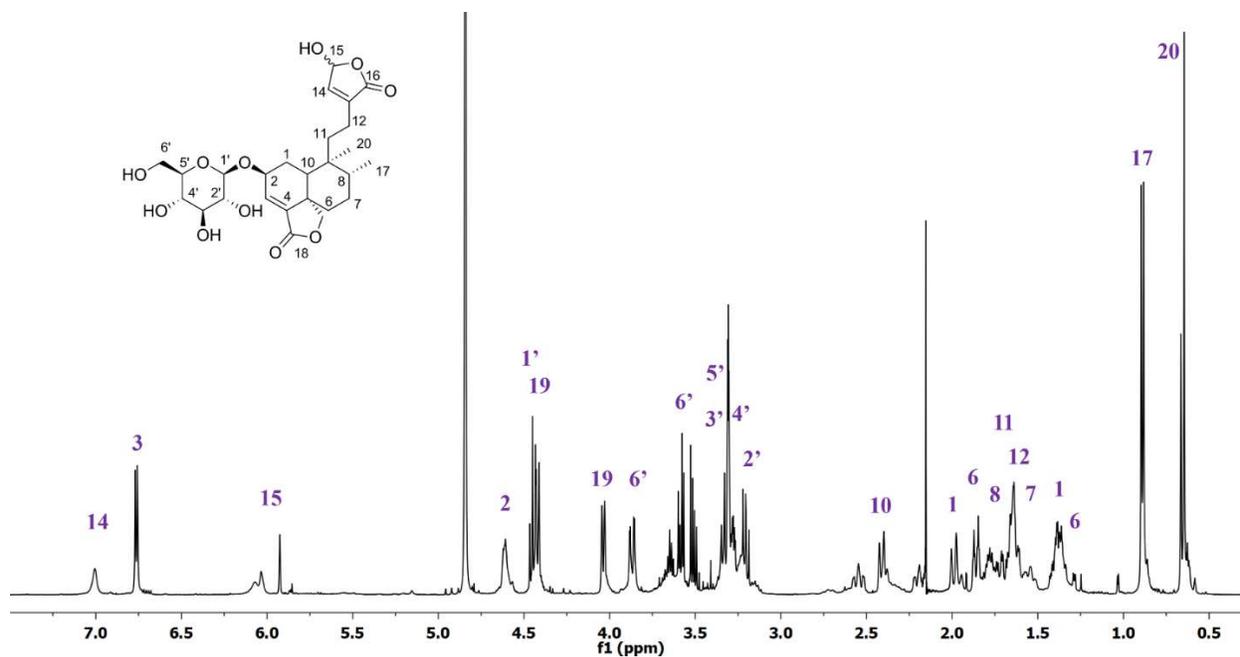


Figura A13. Espectro de RMN de ¹H de los compuestos 7/8 en CD₃OD a 500 MHz.

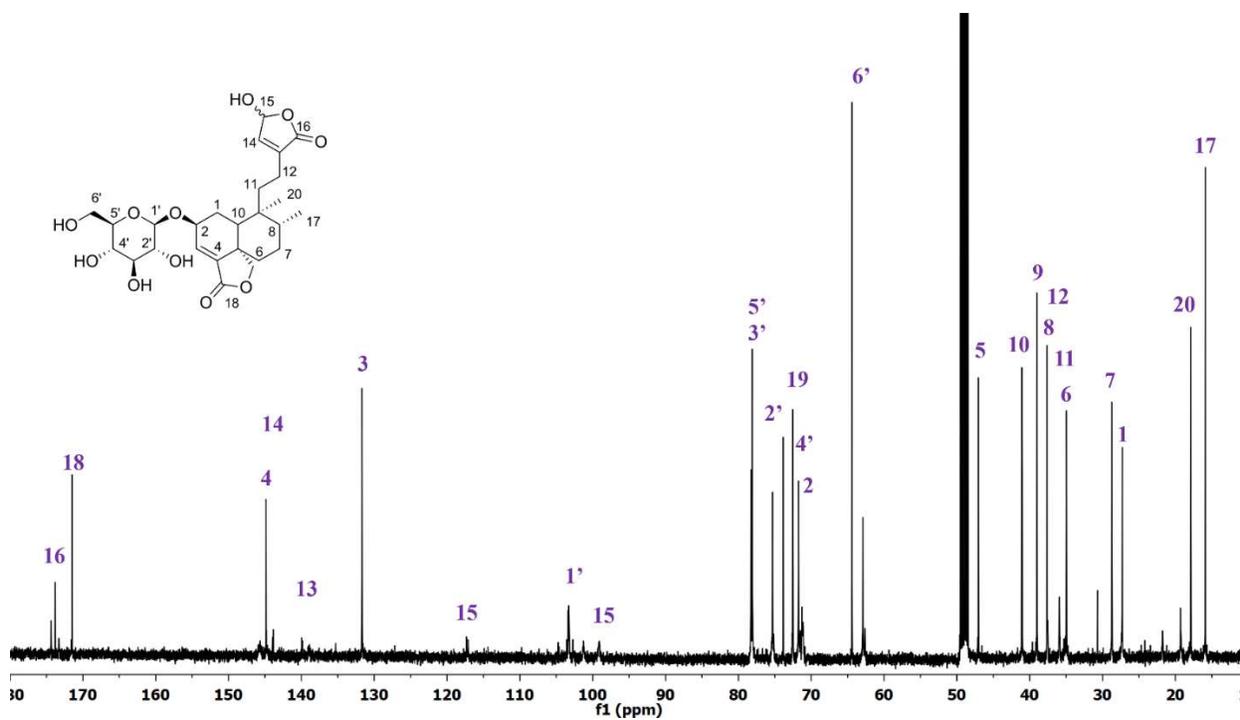


Figura A14. Espectro de RMN de ¹³C de los compuestos 7/8 en CD₃OD a 125 MHz.

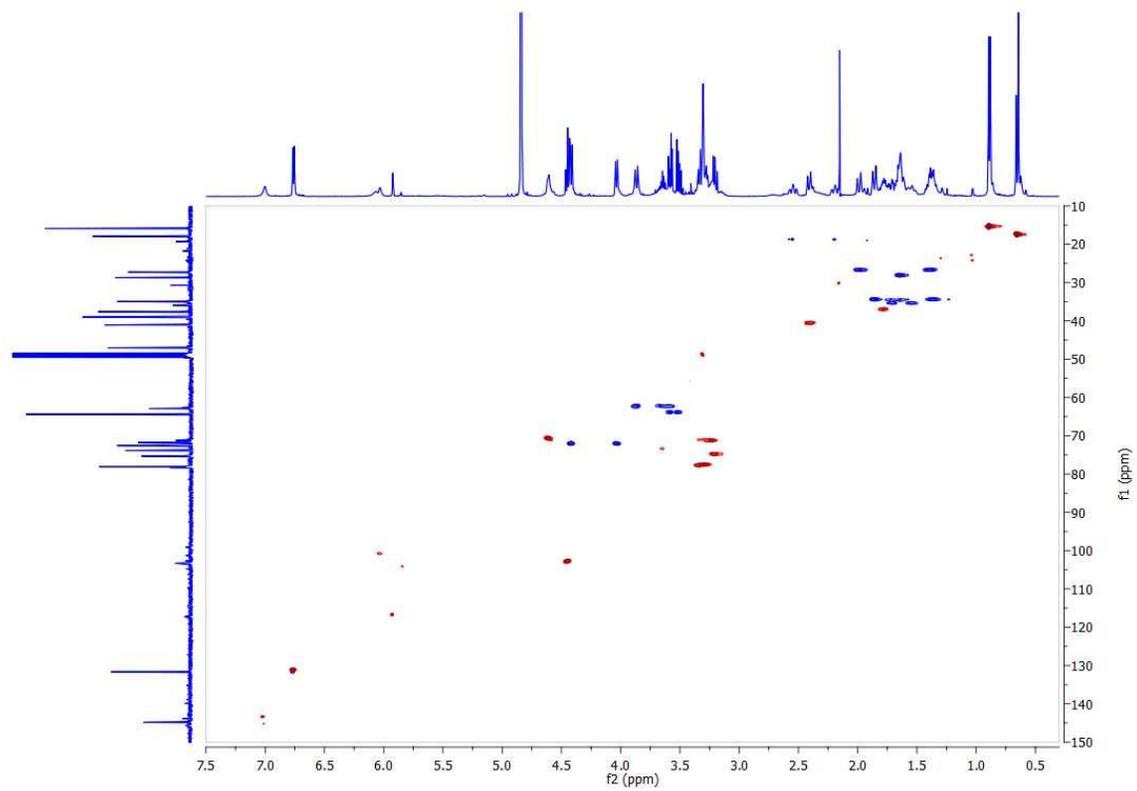


Figura A15. Experimento HSQC de los compuestos **7/8** en CD_3OD .

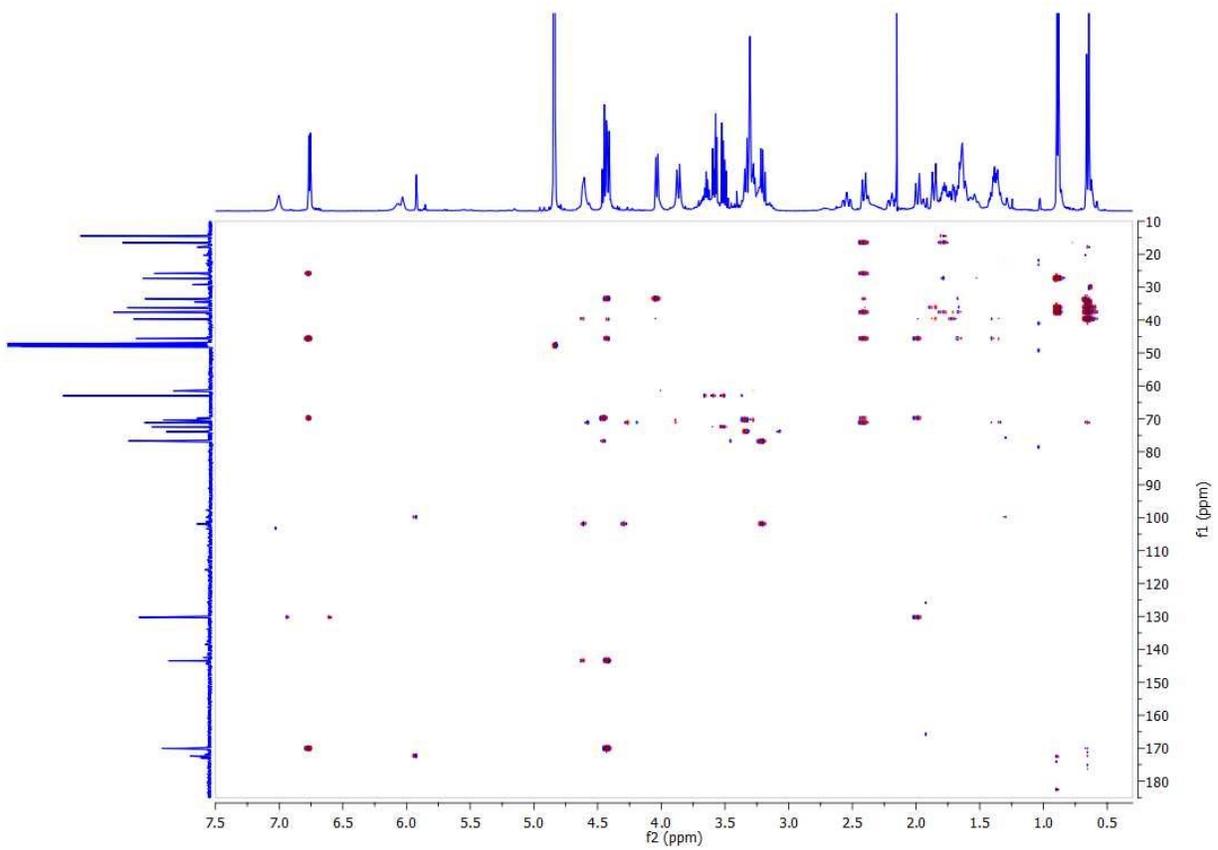


Figura A16. Experimento HMBC de los compuestos **7/8** en CD₃OD.

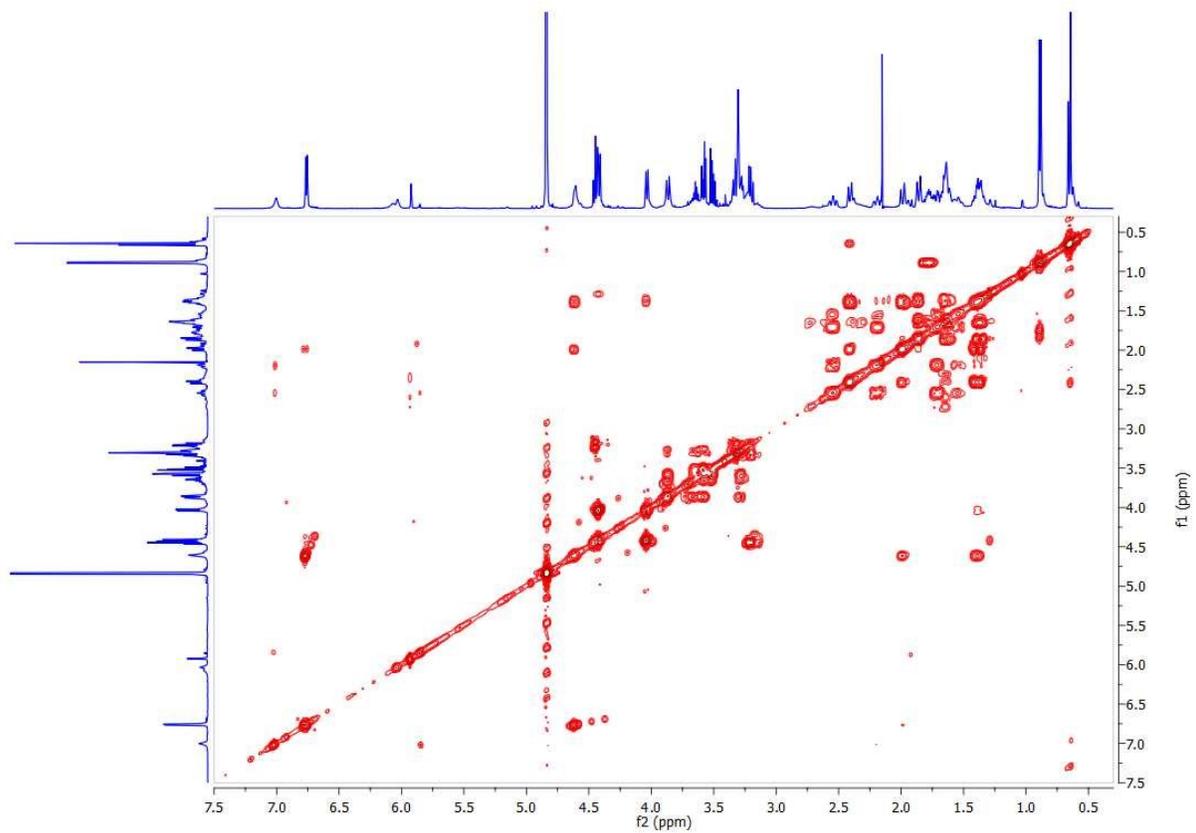


Figura A17. Experimento COSY de los compuestos **7/8** en CD₃OD.

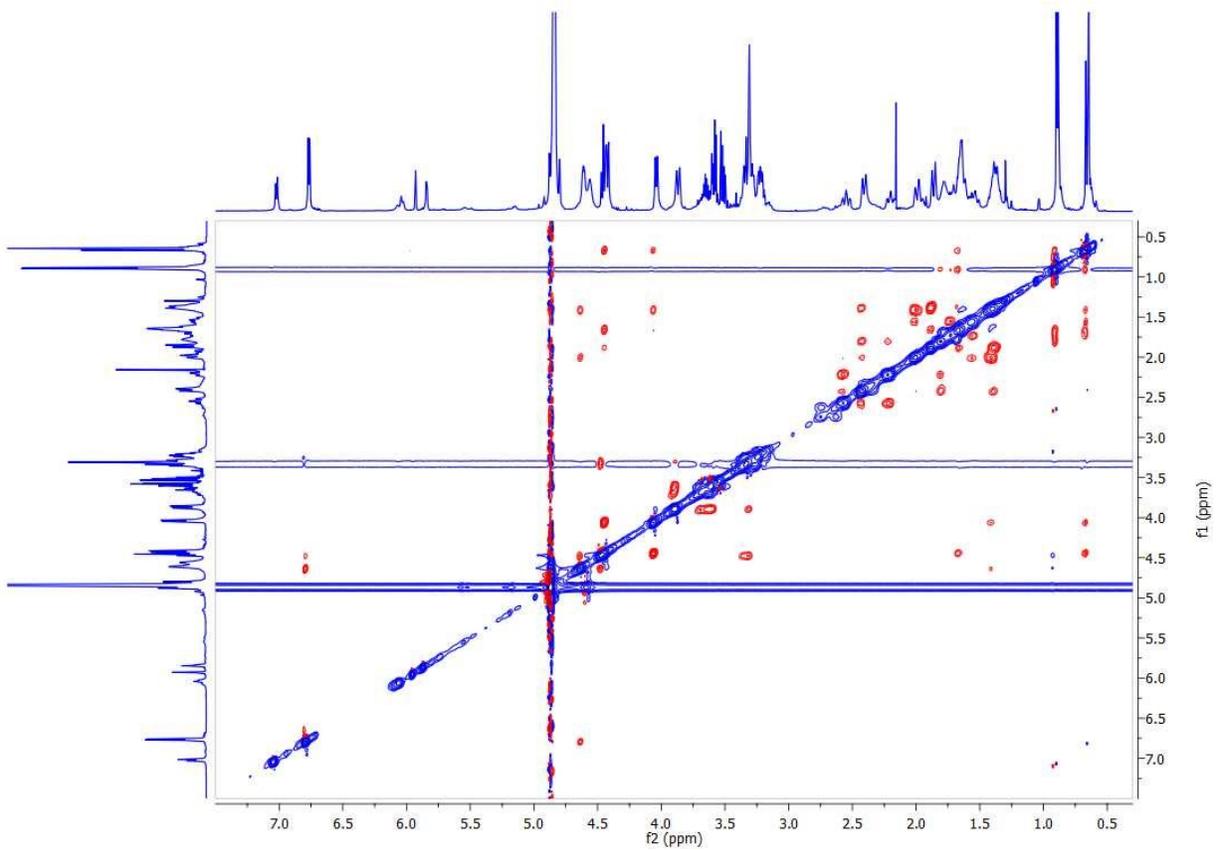


Figura A18. Experimento NOESY de los compuestos **7/8** en CD₃OD.

Salvia urica Epling

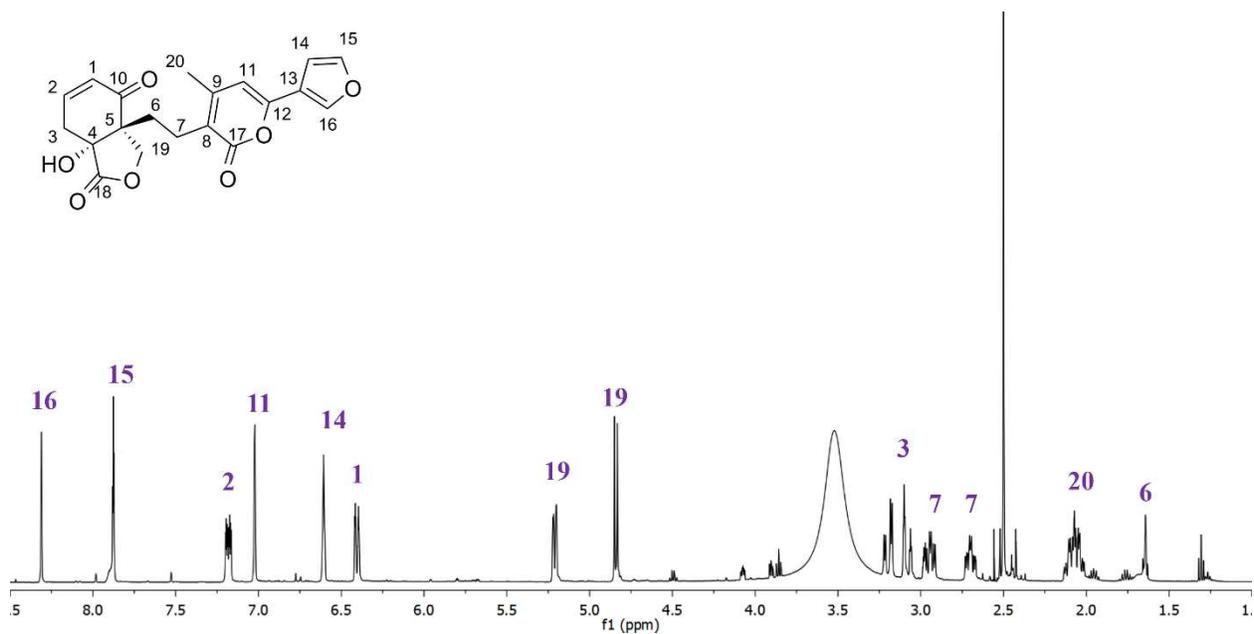


Figura A19. Espectro de RMN de ^1H del compuesto **9** en DMSO-d_6 a 500 MHz.

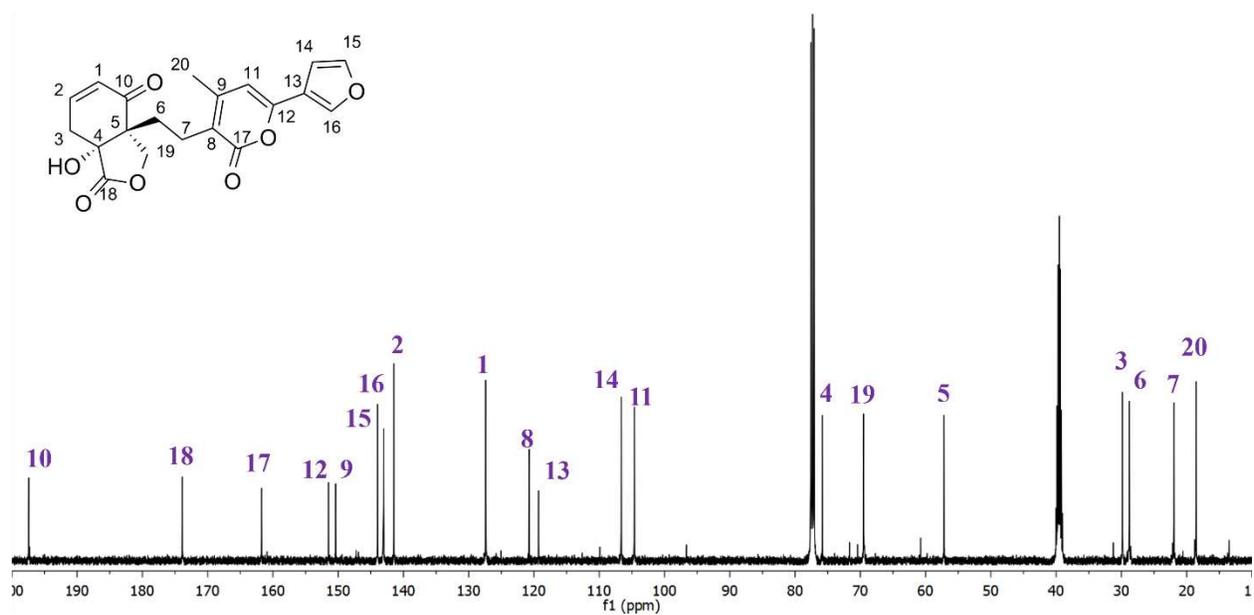


Figura A20. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **9** en DMSO-d_6 a 125 MHz.

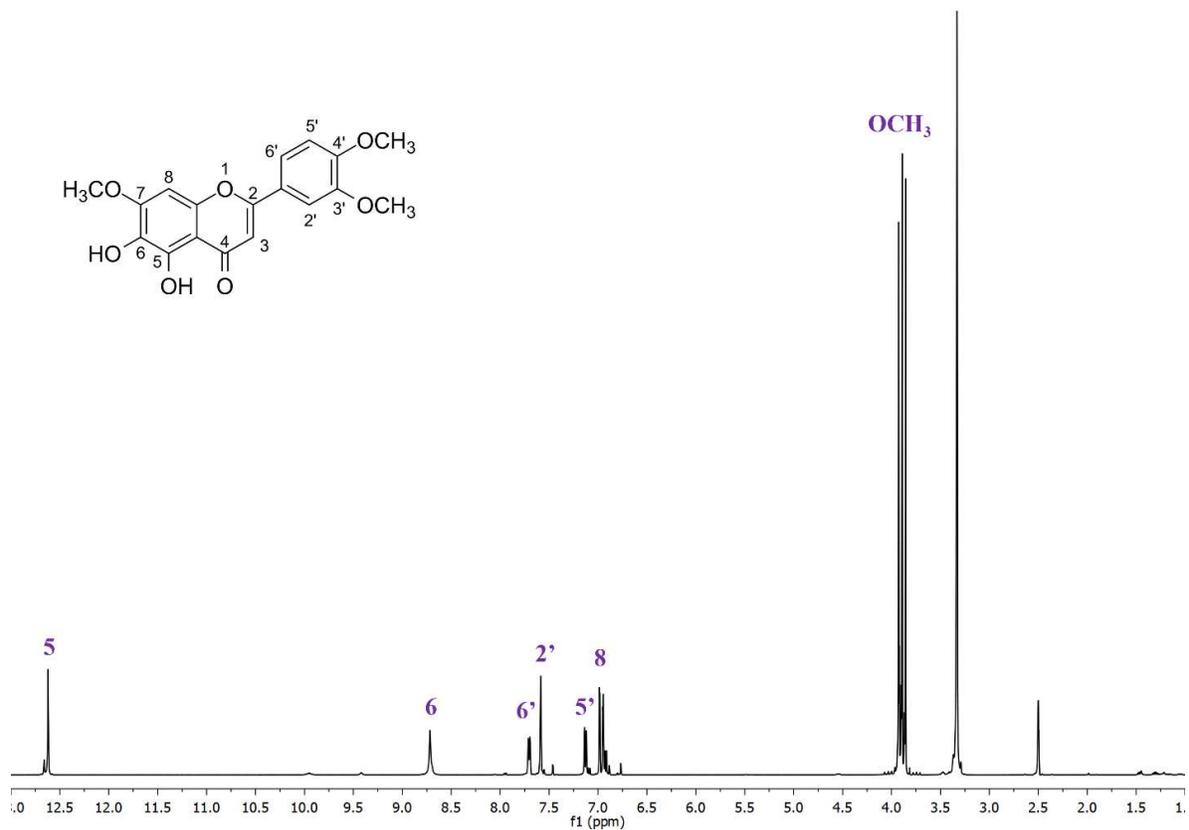


Figura A21. Espectro de RMN de ¹H del compuesto 10 en DMSO-d₆ a 500 MHz.

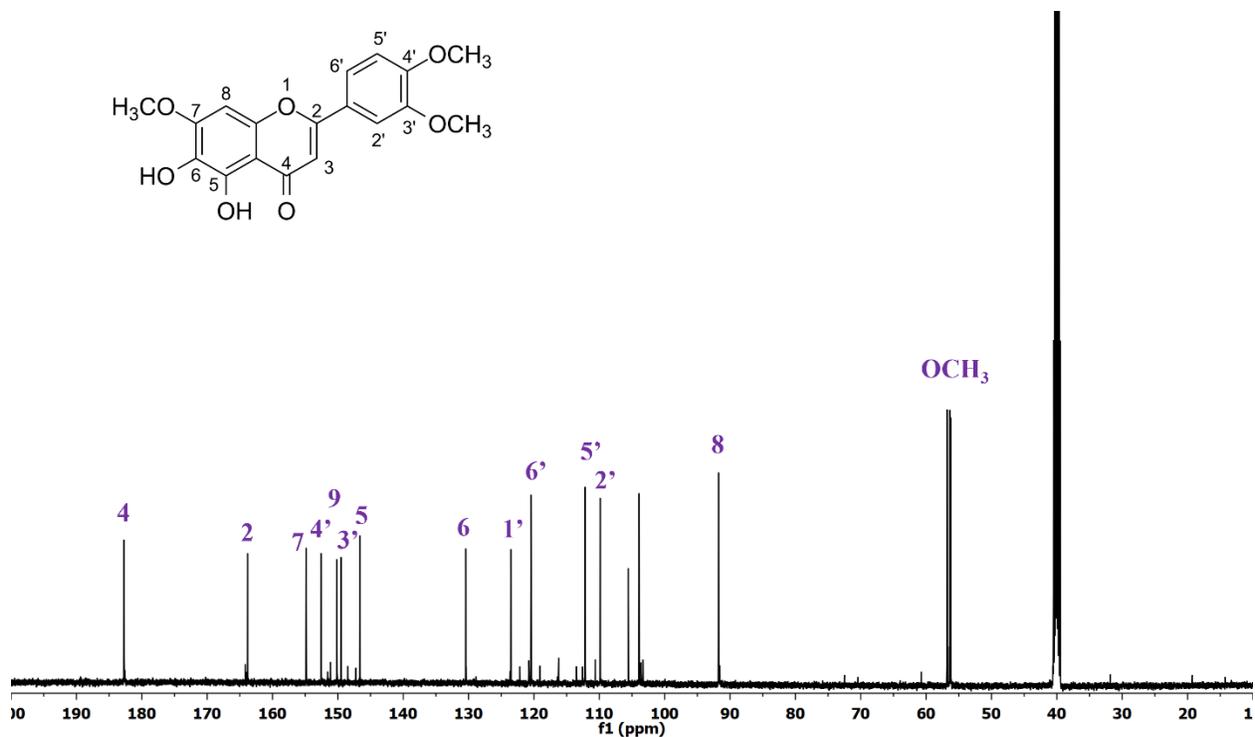


Figura A22. Espectro de RMN de ¹³C del compuesto 10 en DMSO-d₆ a 125 MHz.

APÉNDICE B

Artículos

Revista Brasileira de Farmacognosia
https://doi.org/10.1007/s43450-022-00332-z

ORIGINAL ARTICLE



Amarisolide H and 15-*epi*-Amarisolide H, Two Diterpenoid Glucosides from *Salvia circinnata*

Xitlallack García-Nava^{1,2} · Mabel Fragoso-Serrano³ · Elihú Bautista² · Denisse de Loera¹ · Omar Cortezano-Arellano⁴ · Fernando Calzada⁵ · Brenda Y. Bedolla-García⁶

Received: 3 August 2022 / Accepted: 19 October 2022
© The Author(s) under exclusive licence to Sociedade Brasileira de Farmacognosia 2022

Abstract

The HPLC–PDA profiling of an acetone-soluble extract of the leaves of *Salvia circinnata* Cav. (Syn. *Salvia amarissima* Ortega), Lamiaceae, collected at Patzcuaro, Michoacan, Mexico, indicated this population corresponds to the chemotype “amarisolide A.” The phytochemical study of the extract led to the isolation of two new diterpenoid glucosides, amarisolide H and 15-*epi*-amarisolide H, which were obtained as an epimeric mixture, together with the known compounds amarisolides A, D, G, 16-*epi*-amarisolide G, and 5,6-dihydroxy-7,3',4'-trimethoxyflavone. The structures of compounds amarisolide H and 15-*epi*-amarisolide H were determined by the analyses of their NMR and HRMS data. The cytotoxicity and anti-multidrug resistance (MDR) effects of compounds amarisolide H, 15-*epi*-amarisolide H, amarisolide A, amarisolide G, and 16-*epi*-amarisolide G in MCF-7 cancer cells sensible and resistant to vinblastine were essayed.

Keywords Breast cancer · Cytotoxicity · Mexican flora · Mint family · Structure elucidation · Terpenoids

Introduction

Plants of the mint family, Lamiaceae, are widely distributed around the globe and are valuable for their aromatic and medicinal properties. This family groups about 239

genera and 7139 species, with *Salvia* being the genus with the major number of species (Harley et al. 2005; Martínez-Gordillo et al. 2017). In Mexico, *Salvia* genus is composed of 306 species. Mexican *Salvia* species have several uses such as cosmetic, culinary, and medicinal uses, and ritual purposes (Martínez-Gordillo et al. 2013). *Salvia circinnata* Cav. (Syn. *Salvia amarissima* Ortega), Lamiaceae, is a perennial herbaceous plant endemic to Mexico, distributed along the region known as Mesoamerica that comprises nearly half of the country, and is grouped in the complex of the medicinal plants known as “chia” due to the similarity of its seeds with those of *Salvia hispanica* L., Lamiaceae (Jenks and Kim 2013). This plant is commonly used to treat cancer, diabetes, gastrointestinal disorders, and rheumatism, and it receives the common names of “hierba del cancer” and “insulina” among others (Fragoso-Serrano et al. 2019; Moreno-Pérez et al. 2021; Solares-Pascasio et al. 2021). Indeed, there are pharmacological reports describing antihyperglycemic, antinociceptive, antiprotozoal, and cytotoxic activities that provide evidence-based support for its ethnomedical uses, which have been associated with the flavone and diterpenoid content (Flores-Bocanegra et al. 2017; Fragoso-Serrano et al. 2019; Moreno-Pérez et al. 2019, 2021; Calzada et al. 2020; Salinas-Arellano et al. 2020; Solares-Pascasio et al. 2021).

✉ Elihú Bautista
francisco.bautista@ipicyt.edu.mx

¹ Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, 78210 San Luis Potosí, Mexico

² Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, División de Biología Molecular, Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica A. C., 78216 San Luis Potosí, Mexico

³ Departamento de Farmacia, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, 04510 Coyoacán, Ciudad de México, Mexico

⁴ Instituto de Ciencias Básicas, Universidad Veracruzana, 91190 Xalapa, Veracruz, Mexico

⁵ Unidad de Investigación Médica en Farmacología, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, Ciudad de México, Mexico

⁶ Centro Regional Bajío, Instituto de Ecología A. C., Patzcuaro, Michoacan, Mexico



CHEMICAL CONSTITUENTS OF *SALVIA URICA* EPLING, AND THEIR ANTIHYPERGLYCEMIC AND ANTIPROPULSIVE EFFECTS

¹XITALICK GARCÍA-NAVA^{1,2}, ³MIGUEL VALDES^{3,4}, ⁵FERNANDO CALZADA⁴, ⁶ELIHÚ BAUTISTA^{2*},
⁷OMAR CORTEZANO-ARELLANO⁵, ⁸DENISSE DE LOERA¹, ⁹ITZI FRAGOSO-MARTÍNEZ⁴ AND ¹⁰MARTHA MARTÍNEZ-GORDILLO²

¹Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, Mexico.

²CONAHCYT-División de Biología Molecular, Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica A. C., San Luis Potosí, Mexico.

³Instituto Politécnico Nacional, Sección de Estudios de Posgrado e Investigación, Escuela Superior de Medicina, Mexico City, Mexico.

⁴Unidad de Investigación Médica en Farmacología, UMAE Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, Mexico City, Mexico

⁵Instituto de Ciencias Básicas, Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz, Mexico.

⁶Red de Biodiversidad y Sistemática, Instituto de Ecología, A.C., Xalapa, Veracruz, México.

⁷Herbario de la Facultad de Ciencias (FCME), Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, Mexico.

*Corresponding author: francisco.bautista@ipicyt.edu.mx

Abstract

Background: *Salvia urica* Epling is taxonomically and phylogenetically related to *Salvia amarissima* Ortega. The last species has pharmacological relevance by its contents of bioactive metabolites. Nowadays, *Salvia urica* has no reports about its chemical constituents and pharmacological activities.

Hypothesis: Does the close relationship between *S. amarissima* and *S. urica* led both species produce similar specialized metabolites? Does *Salvia urica* display similar pharmacological effects as *S. amarissima*?

Studied species: *Salvia urica* Epling (Lamiaceae).

Study site and dates: The plant material was collected in Teopisca, Chiapas, Mexico, in December 2021.

Methods: Metabolites of the acetone extract from *Salvia urica* were identified by GC-MS and HPLC-PDA profiling. In parallel, a phytochemical study was conducted, and the individual constituents purified, previously characterized by 1D NMR, were assayed on antihyperglycemic effect in diabetic mice and a charcoal-gum arabic-induced hyperperistalsis model in rats.

Results: The volatile compounds identified by GC-MS were alkanes, aromatics and triterpenes. The principal constituents of the acetone extract of *Salvia urica* were amarissinin A and 5,6-dihydroxy-7,3',4'-trimethoxyflavone, which were also quantified by HPLC-PDA. The extract and both metabolites isolated showed an antihyperglycemic effect on streptozotocin-induced diabetic mice, suggesting a possible synergic effect. In addition, the compound 5,6-dihydroxy-7,3',4'-trimethoxyflavone (IC₅₀ = 0.79 mg/kg) showed a better antipropulsive effect than loperamide (IC₅₀ = 16.6 mg/kg).

Conclusions: The phytochemical composition of an acetone extract of *Salvia urica* was determined by first time. The metabolites isolated from this plant support the phylogenetic relationship of *S. urica* with *Salvia amarissima*, and they showed antipropulsive and antihyperglycemic effects.

Keywords: Specialized metabolites, terpenoids, *Salvia* genus, sage, antidiarrheal, antidiabetic, chromatographic methods, NMR analysis.

Resumen

Antecedentes: *Salvia urica* Epling está relacionada taxonómica y filogenéticamente con *Salvia amarissima* Ortega. Esta última tiene relevancia farmacológica por su contenido de metabolitos secundarios. A la fecha, *Salvia urica* no cuenta con reportes de sus constituyentes químicos y de sus actividades farmacológicas.

Hipótesis: ¿La relación cercana entre *S. amarissima* y *S. urica* permite que ambas especies produzcan metabolitos similares de tipo terpenoide? ¿*Salvia urica* produce un efecto farmacológico similar a *S. amarissima*?

Especies de estudio: *Salvia urica* Epling (Lamiaceae)

Sitio y años de estudio: El material vegetal fue colectado en Teopisca, Chiapas, México, en diciembre de 2021.

Métodos: Los constituyentes de las partes aéreas de *Salvia urica*, se identificaron por medio del perfilamiento por GC-MS y HPLC-PDA. Paralelamente, se realizó un estudio fitoquímico, y los constituyentes individuales, caracterizados por RMN de 1D, se evaluaron en un ensayo de actividad antihiper glucémica y en un modelo de hiperperistalsis.

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License CCBY-NC (4.0) international.

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

