



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS**

**ESCUELA DE ESTUDIOS SUPERIORES DEL JICARERO**

**Actividad antibacterial y antiinflamatoria de *Salvia lavanduloides***

**TESIS PROFESIONAL POR ETAPAS  
PARA OBTENER EL TITULO DE  
LICENCIADO EN BIOLOGIA  
P R E S E N T A:  
DIONISIO CELERINO ROMÁN RAMOS**

**DIRECTOR DE TESIS  
DR. DAVID OSVALDO SALINAS SÁNCHEZ**

**CODIRECTOR  
DRA. MA. DOLORES PÉREZ GARCÍA**



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS



Dirección

El Jicarero, Jojutla, Morelos, 04 de Noviembre del 2021.

**DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE**  
**DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES**  
**PRESENTE.**

Por este conducto comunico a Usted, que he revisado el documento que presenta el Pasante de Licenciado en Biología: **C. ROMÁN RAMOS DIONISIO CELERINO**, con el título del trabajo: **Actividad antibacterial y antiinflamatoria de Salvia lavanduloides**

En calidad de miembro de la comisión revisora, expreso la siguiente decisión:

VOTO A FAVOR: SI

VOTO EN CONTRA: \_\_\_\_\_

NECESITA ARREGLAR O ELIMINAR ALGO: \_\_\_\_\_

COMENTARIOS: \_\_\_\_\_

**FIRMA**

Dr. David Osvaldo Salinas Sánchez

\_\_\_\_\_

Dra. Ofelia Sotelo Caro

\_\_\_\_\_

Dr. Luis Javier Mendoza Estrada

\_\_\_\_\_

Dr. Dante Avilés Montes

\_\_\_\_\_

Dr. Rodolfo Abarca Vargas

\_\_\_\_\_



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**OFELIA SOTELO CARO | Fecha:2021-11-04 13:08:30 | Firmante**

Dd0QsfhIrm5cV8REKU/LLa/ixZBTxA0qQM9nzU28ePy9QSNKMYCRBVfHyzzeAXw4UuUDgIvXWHUaYe3OCL3XV46MqtbC0XhhCpesoXLU2SetaA1mtXVHm0v10f/Ha80JlpW0kj0qonQfvHZEJw4PV0uE7Vc2FbhQW3ldN4RcwmZvYwLds+uxTHR/CxI4PbPJv6wsnOw1Zce6kPOqM2t21iYCozShM4h65LBDso+GZIsB0WxnEEOvQyKx1JLhIVYLfDgwgS6QE4MGS6OhWTJzv9xP1gSqbejsGvzVOA+GyHNrWPsJxJPKBsnKk4ddbJjUau7tbozH/qPXYIM7hw3kw==

**RODOLFO ABARCA VARGAS | Fecha:2021-11-05 05:45:42 | Firmante**

jKl4whUffGIK5HJ9iJ93BCybyMHBGj40v13wmWUsq0h2KCo8jdNHOqBgF5q5i+LP771cVvWvmLbo08RrVvE5GDZZsinJmNJG4Ue4qLeOtA189fxTg8pjuEer3W8c9jmFg9YbFEakbZLLKIdW9rCOfnkvWkHQ1kB5GwXbiUBiBAuYLwvi1LWeYeNL2szsSEjKIVUK9Qw/p4Eqdf9W/7MblfwpoEaG47BD6RjmV/X+ElS24idxm56kMX4iqp+OCBUDd2Lgp8/6MKXeDX8cYpImARJfsCED1uRw4TLk0kRwUuCiobMHHxQRYmIMy6IEMOMaaQUNb017RFE76g7NGI2A==

**LUIS JAVIER MENDOZA ESTRADA | Fecha:2021-11-05 13:47:27 | Firmante**

oJall/WTG2d+eWuWxtHgvVVPjs/KT3tze7XEigmZCCpp2ifokZDjvCacdTy87NxEID7MBckbAJ0eRffTNIWs+c8zJ3yDdajgPZ1y5Gvo4M3eu6lXlrytmif/FgVqb8VMJeD9wo+03WbWp8owOAYOUtESvOoWxxyVENDU5tUWtXHAgx5CHfnUoHaWOumLxPONTJt5HsvllZ7klyboeEg7EmqYlct3AUeHS75gUnZHPvym4fWUez9Y9z8dCiId1m6OtSk8SctMuFYy/z+IPdRZw2+sDys1vyYgh1gFB70KASufQpvg7q3C3Tik8BY3YNE+fqTWX36TXc6tQI57QIQE7Q==

**DAVID OSVALDO SALINAS SANCHEZ | Fecha:2021-11-05 13:55:46 | Firmante**

xHoxuupJRUKItAEuj85nPa/1+PCLsxGksPvnfibRA7Tzy1RT3VzfwULaJLS/eJ6t+1ezBHRhAwk5LQ+lfPzozw6fvmpVpFz5iUSN9I668mVE3CGLR9QP2+pPgNm04zaBKS5vmjZBd3n1nETmOwbRhbthB/TC/okl/LsgeobcpChFY5zzzkbDOILQRLrWhjKwqLa0yat5F1ZnKTIXM7bGINL7sB14gYcFpm1XW7f/jN3S/jLjitefXrq5XFwF6EdAhKqUfJkempvV+DZPvx52tyk0wRy2cb201Uw1YJ72R6bFYgPF637dvhHwxUCsUBrz2Og+H4zKuKYVcZrSg==

**DANTE AVILES MONTES | Fecha:2021-11-05 15:59:17 | Firmante**

Inq0HEkk/BOwHwQKMQZED1RGDUKZ8/8YPOGEtw4YOeTZxp0dLrFG4pzG9m8j30Oifrf/67Ui13oR0wtaCx0YMhxLgN/MRKSkqYw7dINY14pLQCwb1OHMwnZ317FwgoJca3/d2iFo/wp1VtUT60jKrXa7ITlZihix2PwpjuOsfnaYyOy9w2NiTOvsinAZvlgMJKjZSZGHANFNgK/m/nXxYzWN0OUZ34GsXHik6jVfUFO2iiOXUCOKM9WsbCCi1W6WTCw0QbNz/JkYi2RfUuwSo5TTkXgQ1GHxJr/elzpQOCAesglXLvtZpzHss4nbyGi+DknKz8RaXHTBMMoSSaiQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



112aqS9Xb

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/4VGJlrBWWINwbe16Ei01vLOOXITDK0M>



El Presente trabajo se llevó a cabo en:



**Centro de Investigación Biomédica del Sur  
del Instituto Mexicano del Seguro Social.  
Departamento de Farmacología, Fitoquímica  
y Microbiología.  
Xochitepec, Morelos**



**Centro de Investigación en Biodiversidad y  
Conservación.  
Laboratorio de Fitoquímica y Productos  
Naturales.  
Cuernavaca, Morelos**

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Dr. David Osvaldo Salinas Sánchez, por la confianza que deposito en mí, su constante apoyo, sus indicaciones y orientaciones disciplinables en el desarrollo de este trabajo. Dr. David, Muchas Gracias.

A la Dra. Ma. Dolores Pérez García, por brindarme su disposición, su conocimiento y su guía en el trascurso de este proyecto. Dra. Lolita, Muchas Gracias.

Al Dr. Manasés Gonzales, quien siempre presto atención a las dudas que tuve al ser un nuevo estudiante en el CIBIS.

A la Dra. Maribel Herrera, quien fue clave para la realización de este proyecto.

Al M. en C. Gabriel Flores, quien sin su ayuda no habría podido realizado este proyecto.

Al Dr. Alejandro Zamilpa, director del CIBIS, por la confianza al permitirme ingresar a este Centro de Investigación. Dr Alejandro, Muchas Gracias.

A mis amigos del Jicarero, Anibal Lugo, Ariel Saín, Saul Franco, Yareli Paredes, Monserrat Ávila, Diana Nájera, Jonathan Avilés, por los buenos momentos que hemos compartido, por qué me han demostrado su apoyo y brindado sus ánimos en estos últimos años.

A la Escuela de Estudios Superiores del Jicarero, por abrirme las puertas y darme la oportunidad de ser un Biólogo.

A la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, que forma estudiantes en grandes profesionales.

Al Centro de Investigación Biomédica del Sur, por darme la grandiosa oportunidad de poder recorrer sus laboratorios y por todo el conocimiento que me dio.

Al Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación, por fue el primero en darme la oportunidad de empezar a trabajar este proyecto.

## DEDICATORIA

A mis padres **Dionisio Román Castillo** y **Mireya Ramos Gómez** por darme educación, un hogar donde crecer, equivocarme, desarrollarme, aprender y donde adquirí los valores que hoy definen mi vida.

A mis hermanas **Marsella Guadalupe Román Ramos** y **Lluvia Román Ramos** que en el día a día con su presencia, respaldo y cariño me impulsan para seguir adelante.

A **Paulina Hernández Hernández** por su dulzura, su paciencia y por todo el amor que me da.

## ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA .....	1
3. JUSTIFICACIÓN .....	2
4. OBJETIVOS .....	2
4.1. Objetivo general .....	2
4.2. Objetivos específicos .....	2
5. HIPÓTESIS.....	3
6. MARCO TEÓRICO .....	3
6.1. Infecciones bacterianas.....	3
6.1.1. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	3
6.1.2. Resistencia Bacteriana .....	4
6.2. Inflamación .....	4
6.2.1. Inflamación aguda .....	6
6.2.2. Inflamación crónica .....	6
6.2.3. Tratamiento .....	6
6.2.4. Efectos adversos .....	7
6.3. Medicina tradicional.....	7
6.4. <i>Salvia lavanduloides</i> .....	8
6.4.1. Distribución y nombres comunes .....	8
6.4.2. Descripción botánica .....	8
6.4.3. Clasificación taxonómica.....	9
6.4.4. Usos en la medicina tradicional .....	9
6.4.5. Farmacología y química.....	9
7. METODOLOGÍA.....	13

7.1. Colecta de material biológico .....	13
7.2. Obtención de extractos .....	13
7.3. Microorganismos .....	13
7.4. Preparación de los microorganismos .....	13
7.5. Preparación de las sales de Tetrazolium .....	14
7.6. Bioautografía .....	14
7.7. Determinación de la concentración mínima inhibitoria .....	14
7.8. Método de microdilución en caldo .....	14
7.9. Animales de experimentación.....	15
7.10. Inducción de inflamación auricular por TPA .....	15
8. RESULTADOS .....	16
8.1. Fraccionamiento químico de SIED .....	16
8.1.1. Purificación de salviandulina A (5) y eupatorin (10).....	17
8.2. Determinación de la actividad antimicrobiana .....	19
8.3. Actividad antiinflamatoria .....	20
8.3.1. Actividad antiinflamatoria de los extractos de <i>S. lavanduloides</i> ..	20
8.3.2. Actividad antiinflamatoria de fracciones de <i>S. lavanduloides</i> .....	22
8.3.3. Actividad antiinflamatoria de los compuestos SA y EU de SIED	23
8.4. Identificación de eupatorin (10) por Resonancia Magnética Nuclear (RMN) <sup>13</sup> C.....	25
8.5. Identificación de salviandulina A (5) por RMN .....	28
9. DISCUSIÓN.....	30
10. CONCLUSIONES.....	32
11. REFERENCIAS.....	33
12. ANEXOS .....	39

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Resumen del fraccionamiento cromatográfico de SIED .....	<b>16</b>
<b>Tabla 2.</b> Purificación de SA y EU .....	<b>18</b>
<b>Tabla 3.</b> CMI de los extractos contra Sa .....	<b>19</b>
<b>Tabla 4.</b> CMI de los extractos contra SaR .....	<b>20</b>
<b>Tabla 5.</b> Actividad antiinflamatoria de extractos de <i>S. lavanduloides</i> en un modelo de edema auricular en ratón CD-1 inducido por TPA.....	<b>20</b>
<b>Tabla 6.</b> Actividad antiinflamatoria de fracciones y sub-fracciones de <i>S. lavanduloides</i> , en un modelo de edema auricular en ratón CD-1 inducido por TPA .....	<b>22</b>
<b>Tabla 7.</b> Actividad antiinflamatoria de los compuestos aislados en un modelo de edema auricular en ratón CD-1 inducido por TPA.....	<b>24</b>
<b>Tabla 8.</b> Datos espectroscópicos de RMN para el compuesto (10) (2, 600 Mhz, CD <sub>3</sub> COCD <sub>3</sub> , $\delta$ ppm, J en Hz) .....	<b>27</b>
<b>Tabla 9.</b> Datos espectroscópicos de RMN para el compuesto (5) (600 Mhz, CDCl <sub>3</sub> , $\delta$ ppm, J en Hz) .....	<b>29</b>

## ÍNDICE DE GRAFICAS

- Gráfica 1.** Efecto de la administración local del SIEH, SIED y SIEA a 1 mg/oreja, sobre el edema (diferencia de peso) inducido con TPA en el pabellón auricular de ratones ICR. Indo= indometacina. Anova post-Dunnet,  $p<0.05$  ..... **21**
- Gráfica 2.** Los resultados muestran que SIEH, SIED y SIEA inhibieron el edema en 67.5 %, 52.76 % y 53 %, respectivamente a una dosis de 1 mg/oreja. Mientras que la indometacina (control positivo) a 1 mg/oreja mostró un 80.23 % de inhibición del edema. .... **21**
- Gráfica 3.** Efecto de la administración local del SIC1R7 y SIC1R11 a 1 mg/oreja, sobre el edema (diferencia de peso) inducido con TPA en el pabellón auricular de ratones ICR. Indo= indometacina. Anova post-Dunnet,  $p<0.05$ . .... **22**
- Gráfica 4.** Los resultados muestran que las fracciones SIC1R7 y SIC1R11 inhibieron el edema en 18.34 % y 61.74 %, respectivamente a una dosis de 1 mg/oreja. Mientras que la indometacina (control positivo) a 1 mg/oreja mostró un 77.18 % de inhibición del edema..... **23**
- Gráfica 5.** Efecto de la administración local del SA y EU a 1 mg/oreja, sobre el edema (diferencia de peso) inducido con TPA en el pabellón auricular de ratones ICR. Indo= indometacina. Anova post-Dunnet,  $p<0.05$ . .... **24**
- Gráfica 6.** Los resultados muestran que los compuestos SA y EU inhibieron el edema en 62.8 % y 71.62 %, respectivamente a una dosis de 1 mg/oreja. Mientras que la indometacina (control positivo) a 1 mg/oreja mostró un 70.69 % de inhibición del edema..... **25**

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> <i>Salvia lavanduloides</i> Foto tomada por Dionisio Román en San Juan Tlacotenco, Tepoztlán Morelos .....	<b>8</b>
<b>Figura 2.</b> Placa cromatográfica en fase normal, utilizando un sistema <i>n</i> -hexano:AcOEt (80:20). Carril 11= SIC1R11 .....	<b>17</b>
<b>Figura 3.</b> Placa cromatografía en capa fina, sistema 50:50 CH <sub>3</sub> CN:H <sub>2</sub> O, revelada con CeSO <sub>4</sub> . carril 7= SA; carril 12= EU. ....	<b>19</b>
<b>Figura 3.</b> Correlaciones de HMBC del compuesto 10.....	<b>26</b>

## ABREVIATURAS

AcOEt	Acetato de etilo
AINEs	Antiinflamatorios no esteroideos
ATCC	Colección Americana de Cultivos Tipo (por sus siglas en inglés American Type Culture Collection)
CCF	Cromatografía en Capa Fina
CIBIS	Centro de Investigación Biológica del Sur
CIByC	Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación
CMI	Concentración Mínima Inhibitoria
COSY	Espectroscopía de correlación (por sus siglas en inglés Correlation Spectroscopy)
COX-1	Ciclooxigenasa uno
COX-2	Ciclooxigenasa dos
$\Delta P$	Diferencia del peso entre <i>Pt</i> y <i>Ptn</i>
DEPT	Mejoramiento sin Distorsión por Transferencia de Polarización (por sus siglas en inglés Distortionless Enhancement by Polarization Transfer)
DOF	Diario Oficial de la Federación
DMSO	Dimetilsulfóxido
EEM	Error Estándar de la Media
EU	Eupatorin
HMBC	Conectividad Heteronuclear a Enlaces Múltiples (por sus siglas en inglés Heteronuclear Multiple Bond Correlation)
HSQC	Correlación Cuántica única Heteronuclear (por sus siglas en inglés Heteronuclear Single Quantum Coherence)
Hz	Hercio (en inglés Hertz)
ICR	Laboratorios de Investigación Charles River (por sus siglas en inglés Investigation Charles River Laboratories). Cepa de ratón No Consanguínea obtenida de animales provenientes de Laboratorios Charles River, Massachusetts
IL-1	Interleucina uno

IL-6	Interleucina seis
iNOX	Óxido Nítrico Sintasa
MHz	Megahercio (en inglés Megahertz)
NO	Óxido Nítrico (por sus siglas en inglés Nitric Oxide)
NOESY	Espectroscopia de mejoramiento nuclear de Overhauser” (por sus siglas en inglés Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy)
OMS	Organización Mundial de la Salud
ppm	Partes por millón
<i>pt</i>	peso de la sección de la oreja tratada
<i>pnt</i>	peso de la sección de la oreja no tratada
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
RMN <sup>1</sup> H	Resonancia Magnética Nuclear de hidrogeno
RMN <sup>13</sup> C	Resonancia Magnética Nuclear de carbono trece
SA	salviandulina A
SaR	<i>Staphylococcus aureus</i> Resistente a meticilina
Sa	<i>Staphylococcus aureus</i>
SIEA	Extracto de acetato de etilo de <i>S. lavanduloides</i>
SIED	Extracto de diclorometano de <i>S. lavanduloides</i>
SIEH	Extracto de <i>n</i> -hexano de <i>S. lavanduloides</i>
SIEM	Extracto de metanol de <i>S. lavanduloides</i>
TNF- $\alpha$	Factor de Necrosis Tumoral alfa (por sus siglas en inglés Tumor Necrosis Factor-alpha)
TPA	12-O-Tetradecanoilforbol 13-acetato (por sus siglas en inglés 12-O Tetradecanoylphorbol-13-acetate)
UFC	Unidades Formadoras de Colonias

## RESUMEN

Una de las causas principales de mortalidad en el mundo son las enfermedades infecciosas, siendo las responsables de 18 millones de muertes a nivel mundial. Por otra parte, el uso de los antiinflamatorios genera efectos secundarios a nivel gastrointestinal, renal y cardiovascular. Por otro lado, el género *Salvia* contiene más de 900 especies, siendo algunas de estas utilizadas dentro de la medicina tradicional, se ha reportado que este género posee propiedades antimicrobianas, espasmolíticas, depresoras del sistema nervioso central, antitumorales y antiinflamatorias. De tal forma que, el objetivo de este proyecto fue determinar la actividad antimicrobiana mediante el método de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y el efecto antiinflamatorio por el modelo de edema auricular en ratón inducido por 13-acetato de 12-*O*-tetradecanoilforbol (TPA) de *Salvia lavanduloides*, la cual fue colectada en San Juan Tlacotenco, Tepoztlán, Morelos. La planta fue macerada para la obtención de 4 extractos de polaridad ascendente: *n*-hexano (SIEH), diclorometano (SIED), acetato de etilo (SIEA) y metanol (SIEM), siendo SIED quien presentó mayor actividad antimicrobiana ya que inhibió el crecimiento tanto de *Staphylococcus aureus* resistente como el sensible a meticilina a las concentraciones de 2.0 y 1.0 mg mL<sup>-1</sup>, posteriormente el SIEA inhibió el crecimiento de *Staphylococcus aureus* sensible a meticilina a las concentraciones de 2.0 y 1.0 mg mL<sup>-1</sup>. Por otra parte, el SIEH fue el que presentó mayor efecto antiinflamatorio puesto que redujo el edema en 67.5 % a una dosis de 1 mg/oreja, sucesivamente el SIED demostró tener una reducción del edema en un 52.23 % a la dosis de 1 mg/oreja. El SIED se sometió a cromatografía en columna abierta fase normal, obteniendo la fracción SLC1R11 que inhibió el edema en 61.74 % a una dosis de 1 mg/oreja. En una segunda cromatografía en columna abierta fase reversa de SLC1R11 se obtuvieron dos fracciones; SLC2F7 y SLC2F12 las cuales inhibieron el edema en 62.28 % y 71.62 % respectivamente a una dosis de 1 mg/oreja, cada fracción se analizó por Resonancia Magnética Nuclear (RMN) <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C, los resultados demuestran la presencia del diterpeno neo-clerodano salviandulina A, así como de la flavona eupatorin, respectivamente.

## **1. INTRODUCCIÓN**

La Organización Mundial de la Salud (OMS), manifiesta que una de las causas principales de mortalidad en el mundo son las enfermedades infecciosas, siendo las responsables de casi 18 millones de muertes a nivel mundial (Erdem *et al.* 2015; Nabavi SM, *et al.* 2010; OMS, 2010). En México se clasifican entre las quince primeras causas de muerte ocupando el número doce en la lista (Soto-Estrada, 2016). De manera natural, los microorganismos desarrollan mecanismos para resistir a los fármacos que se usan para combatirlos y eventualmente pueden transferir estas estrategias a otras generaciones de microbios (DOF, 2018). Este fenómeno se ha acelerado de manera alarmante, principalmente por el abuso y el mal uso de los antimicrobianos, entre los que se incluyen antibióticos, antifúngicos, antiparasitarios, antivirales, antipalúdicos, entre otros (OMS, 2016). Por otra parte, el uso de los antiinflamatorios genera graves efectos secundarios a nivel gastrointestinal, renal y cardiovascular (Islas, *et al.* 2007), tan solo en Estados Unidos las lesiones por Antiinflamatorios no Esteroideos (AINEs) producen más de 70,000 hospitalizaciones y 70 muertes al año (Domingo, 2002). Las plantas tienen un potencial significativo para sintetizar agentes antimicrobianos mediante mecanismos de defensa contra estrés biótico causado por microorganismos (Daglia, 2010). El género *Salvia* (Lamiaceae) contiene más de 900 especies de plantas (Rechinger, *et al.* 1982), muchas de las cuales se usan como plantas comestibles, aromáticas y medicinales en diferentes países y se ha reportado que poseen propiedades antimicrobianas, espasmolíticas, depresoras del sistema nervioso central, antitumorales y antiinflamatorias (Baricevic, *et al.* 2001; Todorov, *et al.* 1984; Ulubelen, 2003). Por lo anterior, el objetivo de este trabajo de investigación es determinar la actividad antimicrobiana y antiinflamatoria de los extractos y fracciones de *Salvia lavanduloides*.

## **2. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA**

El uso indiscriminado e irracional tanto de fármacos antimicrobianos como de antiinflamatorios es grave y constituye la principal causa de afectaciones a la población que los consume, además de la fácil obtención de estos sin una

prescripción médica, agravando así la problemática presentada y demostrando la necesidad de encontrar fármacos con efectos secundarios mínimos o nulos. Por ende, en la actualidad se siguen realizando investigaciones para la obtención de nuevos productos de origen natural.

### **3. JUSTIFICACIÓN**

En México existe una gran diversidad de hierbas utilizadas tanto para tratar problemas infecciosos como inflamatorios. Las especies vegetales sintetizan una amplia gama de metabolitos secundarios con diversas actividades biológicas. Referencias bibliográficas de las especies del género *Salvia* han reportado tener tanto actividad antimicrobiana como antiinflamatoria, sin embargo, la especie *Salvia lavanduloides* ha sido limitadamente evaluada y estudiada. Dado lo anterior es importante localizar, coleccionar e identificar taxonómicamente esta especie y realizar un estudio controlado que nos permita determinar los efectos antimicrobiano y antiinflamatorio de sus extractos.

### **4. OBJETIVOS**

#### **4.1. Objetivo general**

Determinar la actividad antimicrobiana y antiinflamatoria de *Salvia lavanduloides*.

#### **4.2. Objetivos específicos**

1. Obtención de extractos de polaridad ascendente de *Salvia lavanduloides*.
2. Evaluar el efecto antimicrobiano de extractos y fracciones de *Salvia lavanduloides*.
3. Evaluar el efecto antiinflamatorio de los extractos y fracciones de *Salvia lavanduloides*.
4. Purificar el extracto más activo mediante técnicas cromatográficas.
5. Caracterizar los metabolitos secundarios presentes en *Salvia lavanduloides* mediante técnicas espectroscópicas y espectrométricas.

## 5. HIPÓTESIS

*Salvia lavanduloides* presenta metabolitos secundarios los cuales exhiben capacidad tanto para inhibir el crecimiento bacteriano como el efecto inflamatorio.

## 6. MARCO TEÓRICO

### 6.1. Infecciones bacterianas

Las bacterias son organismos unicelulares microscópicos que están constituidas por células procariotas. Estos microorganismos son indispensables para la vida en nuestro planeta, ya que gracias a ellas se realizan muchas de las funciones esenciales de los ecosistemas. Siendo algunas de vital importancia en el ser humano (Prats, 2006). Sin embargo, algunas llegan a ser perjudiciales para la vida humana, causando una alta mortandad por parte de estas.

#### 6.1.1. *Staphylococcus aureus*

El género *Staphylococcus* está formado por cocos Gram positivos, con un diámetro de 0.5 a 1.5  $\mu\text{m}$ , agrupados como células únicas, en pares, tétradas, cadenas cortas o formando racimos de uvas. (Kloss, et al. 1992). *S. aureus* es miembro de la familia Micrococcaceae, se agrupan en colonias dando una pigmentación dorada característica de la especie (Wilkinson, et al. 1997), *S. aureus* causa enfermedades mediante sus toxinas por lo que provoca destrucción de los tejidos causando otras enfermedades debido a la proliferación de la bacteria. Además, puede entrar en el torrente sanguíneo desde el sitio de la infección y alcanzar otros tejidos distantes, como el cerebro o los pulmones. Es uno de los más importantes patógenos que causan supuración, formación de abscesos, síndrome de choque tóxico, incluso septicemia mortal en seres humanos (Cervantes-García, et al. 2014). Para el tratamiento se utiliza cloxacina y flucloxacilina, mientras que en cepas multirresistentes se utilizan vancomicina (González, et al. 1999), betalactámicos (Borges, et al. 2008) y teicoplanina (Picazo, et al. 2008)

### **6.1.2. Resistencia Bacteriana**

Un microorganismo es resistente cuando su crecimiento sólo puede ser inhibido a concentraciones superiores a las que el fármaco puede alcanzar en el lugar de la infección (García, et al. 1997). Este fenómeno se ha acelerado de manera alarmante, principalmente por el abuso y mal uso de los antimicrobianos, entre los que se incluyen antibióticos, antifúngicos, antiparasitarios, antivirales y antipalúdicos (OMS, 2016). Una cepa bacteriana puede desarrollar varios mecanismos de resistencia frente a uno o muchos antibióticos y del mismo modo un antibiótico puede ser inactivado por distintos mecanismos por diversas especies bacterianas, siendo consecuencia natural de la adaptación de los patógenos infecciosos a los antimicrobianos utilizados en varias áreas, incluyendo medicamentos, alimentos para animales, producción de cultivos y desinfectantes en granjas, hospitales y hogares. Ello se relaciona con la gravedad de las infecciones que pueden causar, las dificultades para establecer un tratamiento empírico (e incluso dirigido) correcto, la facilidad para la dispersión de la multiresistencia y la ausencia de nuevos antimicrobianos activos frente a estos patógenos (Fariñas, et al. 2013), causando que las bacterias cada vez se vuelvan más resistentes a múltiples antibióticos. En el año 2016, se le atribuyó 700,000 muertes a la resistencia a los antimicrobianos en el mundo, y la proyección es que la cifra anual ascenderá a 10 millones de muertes en los próximos 35 años (OMS, 2016). Mientras tanto se siguen encontrando nuevas cepas resistentes como *S. aureus* resistentes a metilcilina (Portillo, et al. 2018), vancomicina (Liu, et al. 2003) y quinolonas (Witte, 1999). Por lo que, el tratamiento de estas infecciones se ha vuelto más difícil, debido a la aparición de cepas las cuales adquieren resistencia a múltiples fármacos. (Lowy, 1998).

### **6.2. Inflamación**

La inflamación se describe como una respuesta local al daño tisular y consiste normalmente en una secuencia de eventos que tiene como resultado la eliminación del agente nocivo, la curación del tejido y el restablecimiento de la función normal. Además, se caracteriza por presentar rubor, calor, dolor, tumor e impotencia

funcional, estas manifestaciones son causadas por la acumulación de leucocitos, proteínas plasmáticas y derivados de la sangre hacia sitios de los tejidos extravasculares donde existe una infección o lesión, provocada o no por agentes patógenos (González-Costa y González, 2019; Balusu, et al. 2016).

En respuesta a antígenos extraños o propios, las células inmunitarias de los tejidos, como los macrófagos y las células dendríticas, liberan citocinas como IL-1 y TNF- $\alpha$ , estas citocinas inducen a las células endoteliales del lugar de la lesión a liberar selectinas e integrinas que estimulan la quimiotaxis y la diapédesis de los leucocitos circulantes. Además del reclutamiento de leucocitos, los macrófagos tisulares y las células dendríticas también desempeñan un papel en la eliminación del antígeno por fagocitosis, la liberación de citocinas; además sirven como células presentadoras de antígeno para los linfocitos. Una vez que los leucocitos circulantes ingresan al sitio de la lesión local, son activados por diversas citocinas y quimiocinas secretadas por los macrófagos y las células dendríticas. Al activarse, los leucocitos liberan citocinas y mediadores de la inflamación. Los neutrófilos son las células iniciales y más predominantes en la fase aguda de la inflamación. Los neutrófilos contienen gránulos ricos en lisozima, metaloproteinasas de matriz, mieloperoxidasa que se liberan sobre el antígeno extraño o autoantígeno que conduce a su destrucción. Los neutrófilos también destruyen el antígeno por fagocitosis, la liberación de especies reactivas de oxígeno y citocinas como IL-1, IL-6 y TNF- $\alpha$ . Los linfocitos, incluidos los linfocitos T y los linfocitos B, son la siguiente línea de defensa y desempeñan un papel crucial en la mediación de la inflamación mediante varios mecanismos complejos que incluyen la secreción de citocinas, la coestimulación de linfocitos y la producción de anticuerpos y complejos inmunes. Las plaquetas circulantes también pueden desempeñar un papel en la inflamación por agregación plaquetaria, formación de trombos y desgranulación liberando quimiocinas y mediadores inflamatorios (Michels da Silva, et al. 2019)

### **6.2.1. Inflamación aguda**

El daño tisular debido a traumatismos, invasión microbiana o compuestos nocivos puede inducir una inflamación aguda, esta comienza en poco tiempo y los síntomas pueden durar unos días, participando mecanismos de respuesta inmune innata que activan la adquirida. Se puede resolver eliminando el germen, o avanzar a una sepsis o Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica causado por la infección y la presencia de pus en la dermis, esputo amarillento y líquido cefalorraquídeo turbio, son signos característicos de una respuesta inflamatoria aguda por algún agente (Nardi, et al. 2016), algunos ejemplos de esta serían celulitis o neumonía aguda (Pahwa, et al. 2020).

### **6.2.2. Inflamación crónica**

La inflamación crónica ocurre en días, semanas y hasta meses cuando no se ha eliminado la noxa. Los mecanismos de respuesta innata participan, pero es la respuesta adquirida la que mantiene el proceso en el tiempo y causa daño tisular (Wang, et al. 2015; Khawar, et al. 2016). La mayoría de las características de la inflamación aguda continúan a medida que la inflamación se vuelve crónica, incluida la expansión de los vasos sanguíneos (vasodilatación), el aumento del flujo sanguíneo, la permeabilidad capilar y la migración de neutrófilos al tejido infectado a través de la pared capilar (diapédesis). Sin embargo, la composición de los glóbulos blancos cambia pronto y los macrófagos y linfocitos comienzan a reemplazar a los neutrófilos de vida corta. Por lo tanto, las características distintivas de la inflamación crónica son la infiltración de las células inflamatorias primarias, como macrófagos, linfocitos y células plasmáticas en el sitio del tejido, que producen citocinas inflamatorias, factores de crecimiento, enzimas y, por lo tanto, contribuyen a la progresión del daño tisular y la reparación secundaria, incluida la fibrosis. y formación de granulomas (Pahwa, et al. 2020; Milenkovic, 2019)

### **6.2.3. Tratamiento**

Los Antiinflamatorios no Esteroideos (AINEs) inhiben la síntesis de prostaglandinas y ejercen un efecto analgésico y antiinflamatorio por la inhibición de la enzima

ciclooxigenasa (COX-1 y COX-2), previniendo parcialmente la expresión final de la inflamación (Islas et al. 2007). La COX-2, que se traduce en efectos antiinflamatorios y analgésicos, mientras que la COX-1 es la responsable principal de los efectos secundarios gastrointestinales (FitzGerald, 2001).

#### **6.2.4. Efectos adversos**

La toxicidad mayor de los AINEs se observa en tracto gastrointestinal, renal y cardiovascular y sus efectos adversos están relacionados con la dosis (Islas, et al. 2007), siendo los más frecuentes a nivel gastrointestinal; desarrollando complicaciones como hemorragia o perforación alta o baja del intestino, úlceras sintomáticas y desarrollo de dispepsia. (Lanas, et al. 2001). La COX-1 está involucrada en la síntesis de prostaglandinas en la mucosa gástrica, plaquetas, riñones y pulmones, y debido a esta inhibición no selectiva por parte de los AINEs; es responsable del daño de la mucosa gástrica, de la actividad antiplaquetaria, del daño renal o broncoespasmo, mientras que la COX-2 está implicada en la inflamación, sin embargo la inhibición de ambas a nivel renal causan la disminución de la depuración de creatinina, aumentado la concentración sérica en pacientes con hipovolemia, alteración en la función renal y disminución del flujo sanguíneo renal. (Ladecola y Gorelick, 2005). Y la inhibición selectiva de la COX-2 incrementa el riesgo de presentar eventos tromboticos cardiovasculares (Whelton, et al. 2000).

#### **6.3. Medicina tradicional**

La medicina tradicional se refiere a los conocimientos, capacidades y prácticas empíricas transmitidas de generación en generación utilizadas para prevenir, diagnosticar y tratar enfermedades (OMS, 2013). La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha estimado que más del 80 por ciento de la población mundial, utiliza la medicina tradicional para satisfacer sus necesidades de atención primaria de salud y que gran parte de los tratamientos implica el uso de extractos de plantas o sus principios activos (Akerle, 1993). En la actualidad numerosos estudios se llevan a cabo para detectar y confirmar el uso de plantas en el tratamiento de diversas enfermedades y sus complicaciones asociadas (Moro y Basile, 2000).

## 6.4. *Salvia lavanduloides*

### 6.4.1. Distribución y nombres comunes

Es una hierba endémica de México, se distribuye en alrededor de 21 estados de la república la podemos encontrar desde Sinaloa y Durango hasta Oaxaca, Veracruz y Chiapas. Sus nombres comunes son; lucema, mazorquilla, alucema, aguanta-tsitsiki, chía cimarrona, flor de cielo y k'uironi simarroni.

### 6.4.2. Descripción botánica

Es una hierba delgada, perenne, tallo solitario o en conjunto, recto con 1 m de largo, con ramas simples o espaciadas, hojas con peciolo corto, angosto, elíptico-oblongo lanceolado de 3-4 cm de largo, agudo u obtuso o atenuado de la base, serrulado, venosa, verdosa en la cara superior densamente pubescente o globroso, la cara inferior es pubescente de color grisáceo o blanquecino. Flores sésiles o casi sésiles, el cáliz tiene de 4 a 5 mm de largo y raramente 7 mm, blanquecino y densamente pubescente; la corola de color azul intenso, pálido o violeta; el tubo de 3.5-4.5 mm de largo, el labio superior 2.25 mm de largo y densamente pubéscete el labio inferior de 3.5 mm de largo. (Gaitán-Fernández, 2005) (Figura 1).



**Figura 1.** *Salvia lavanduloides* Foto tomada por Dionisio Román en San Juan Tlacotenco, Tepoztlán Morelos

### **6.4.3. Clasificación taxonómica**

**Reino:** Plantae

**Filo:** Tracheophyta

**Subfilo:** Angiospermae

**Clase:** Magnoliopsida

**Orden:** Lámiales

**Familia:** Lamiaceae

**Subfamilia:** Nepetoideae

**Tribu:** Mentheae

**Género:** *Salvia*

**Subgénero:** *Calosphace*

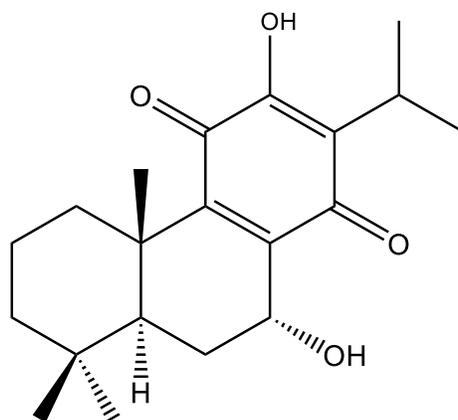
**Especie:** *Salvia lavanduloides* Kunth (**Figura 1**)

### **6.4.4. Usos en la medicina tradicional**

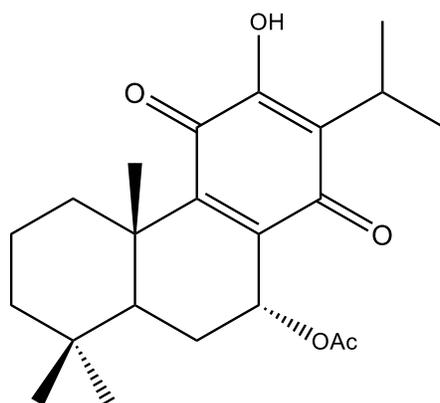
En general es utilizada toda la planta, para tratar dolor de estómago y de muelas, enfermedades ginecológicas, parálisis, padecimientos digestivos como diarrea y vómito, problemas de la vesícula, contrarresta la tos y la tosferina, así como para la “frialdad” del niño. Se le emplea para controlar las hemorragias y flujos vaginales, enfermedades ginecológicas, parálisis, para lavar las heridas y disminuir la fiebre (Argueta, et al. 1994). Se describe como expectorante, antipirético, hemostático y antidisentérico, para su uso tradicional, la planta se hierve con canela y se consume en forma de té. Otra preparación es hervirla con tizne de cazo, se toma como agua, también se hacen limpias, baños con la planta y para lavar heridas, es utilizada para disminuir el dolor de vientre, para después del parto, flujo de sangre, dolores menstruales, aire, dolor de estómago (Gaitán-Fernández, 2005).

### **6.4.5. Farmacología y química**

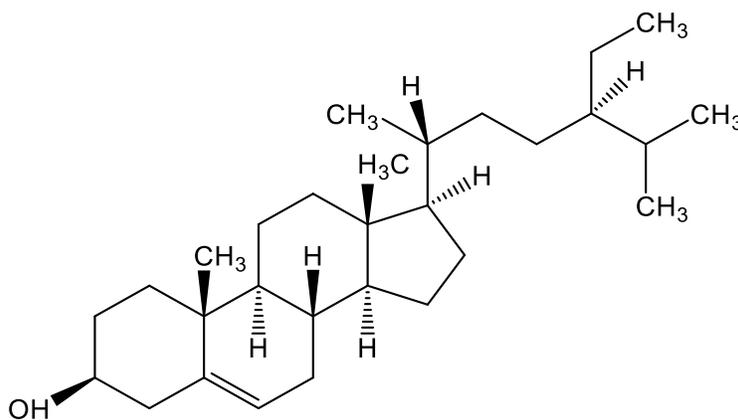
Se han aislado varios compuestos tales como flavonoides, triterpenoides y diterpenoides tales como diterpenos abetánicos como horminona (1), la 7 $\alpha$ -acetoxiroileanona (2) junto con  $\beta$ -sitosterol (3) y ácido ursólico (4), compuestos que tiene comprobado la actividad antiinflamatoria (Accame, et al. 2002).



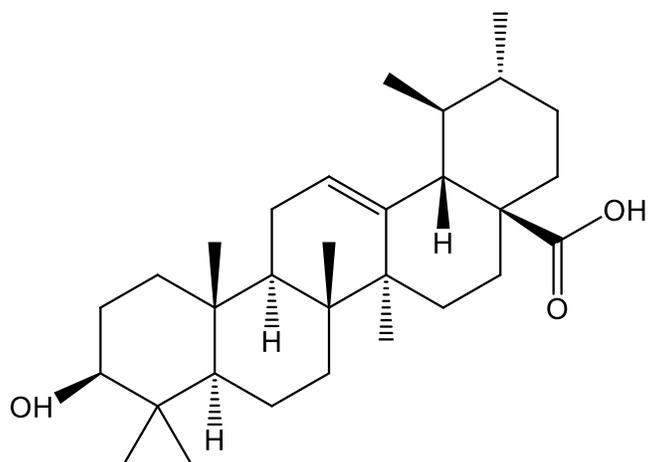
(1)



(2)

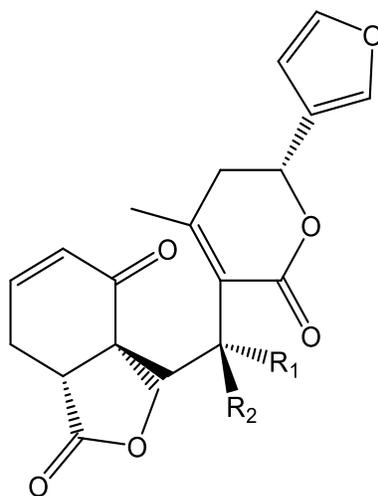


(3)



(4)

Así como: 9,10-seco-clerodanos, salviandulina A (5) y salviandulina B (6) y un derivado de salviandulina B (7) (Ortega, et al. 1991),



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
(5)	H	OAc
(6)	OH	H
(7)	OAc	H



## **7. METODOLOGÍA**

### **7.1. Colecta de material biológico**

Se colectaron 1.15 Kg de *Salvia lavanduloides* el 13 de febrero de 2020 en el municipio de Tepoztlán en el estado de Morelos, con las coordenadas; latitud: -99.093889, longitud: 19.017500, altitud: 2350 msnm. Una muestra fue depositada en el herbario del CIByC-UAEM, e identificada por el M. en C. Gabriel Flores Franco curador del herbario, con número de registro: *S. lavanduloides* (HUMO-39806) (Anexo 1).

### **7.2. Obtención de extractos**

Las partes aéreas de *S. lavanduloides*, fueron secadas a la sombra durante 15 días, posteriormente la planta se trituró en un molino (MOLINOS PULVEX®) obteniéndose 500 g de material seco. Mediante meceración se obtuvieron los extractos de *n*-hexano (SIEH), diclorometano (SIED), acetato de etilo (SIEA) y metanol (SIEM). El disolvente fue eliminado totalmente por destilación a presión reducida por medio de un rotaevaporador (Heidolph™ Rotavapor modelo Hei-Vap Precision HL) y posteriormente los extractos fueron secados a temperatura ambiente, la extracción se llevó a cabo en el laboratorio de fitoquímica del CIBIS-IMSS.

### **7.3. Microorganismos**

La evaluación del efecto antimicrobiano de los extractos se realizó en cepas certificadas la cuales fueron; *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 y *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina ATCC 43300, proporcionadas por el Centro de Investigación Biológica del Sur (CIBIS).

### **7.4. Preparación de los microorganismos**

Las bacterias se estandarizaron al 0.5 de Mc Farland ( $1 \times 10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>), utilizando caldo Müeller Hinton. Posteriormente se utilizó una dilución 1:20 es decir 50 µL de bacterias y 1950 µL de agua estéril, esta dilución se utilizó en las técnicas de concentración mínima inhibitoria y microdilución en caldo.

### **7.5. Preparación de las sales de Tetrazolium**

Pesar 5 mg de sales de tetrazolium y disolverlos en 10 ml de agua destilada.

### **7.6. Bioautografía**

Se realizó una placa cromatográfica por duplicado (máximo de 6 X 7 cm) de los extractos o fracciones a evaluar. Las placas cromatográficas fueron eluidas de acuerdo con su técnica en fitoquímica. Las placas cromatográficas se empaparon con las bacterias estandarizadas a 0.5 de McFarland, posteriormente se incubaron a 37 °C durante 24 h y por último se rociaron con sales de tetrazolium, se consideró que una fracción tiene actividad antibacteriana si se forma una mancha blanca, mientras que el crecimiento de bacterias revelará en tono rosa (De la cruz, 2019).

### **7.7. Determinación de la concentración mínima inhibitoria**

Se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), la cual se define como la concentración más baja en la que el producto natural o extracto inhibe el crecimiento bacteriano (Andrews, 2001). Los experimentos fueron realizados por duplicado (De la cruz, 2019). Los extractos, fracciones y/o compuestos puros fueron diluidos con dimetilsulfóxido (DMSO, 200  $\mu\text{L}$ ) y agua (800  $\mu\text{L}$ ) y se evaluaron a concentraciones de 2, 1, 0.5, 0.25 y 0.125 mg mL<sup>-1</sup> en agar Müller Hinton en cajas Petri.

Se inocularon 2  $\mu\text{L}$  de la dilución de cepas bacterianas y se incubaron a 37 °C por 24 h. Se uso gentamicina (10  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) como control positivo.

### **7.8. Método de microdilución en caldo**

Los extractos, fracciones y/o compuestos puros fueron diluidos con dimetilsulfóxido (DMSO, 200  $\mu\text{L}$ ) y agua (800  $\mu\text{L}$ ) y se evaluaron a concentraciones de 8, 16 y 32 mg mL<sup>-1</sup> en microplacas de 96 pozos de fondo plano en donde se colocaron 100  $\mu\text{L}$  de caldo Müeller Hinton o nutritivo y diluciones seriadas de los extractos, fracciones y/o compuestos puros.

Se inocularon 2  $\mu\text{L}$  de la dilución de cepas bacterianas y se incubaron a 37 °C por 24 h. Se uso gentamicina (10  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) como control positivo. Transcurrido el tiempo de incubación se adicionó a cada pocillo 30  $\mu\text{L}$  de colorante de sales de tetrazolium.

Se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), la cual se define como la concentración más baja en la que el producto natural o extracto inhibe el crecimiento bacteriano (Andrews, 2001). Se consideraron activos todos los extractos con concentraciones menores a 8 mg mL<sup>-1</sup>. Los experimentos fueron realizados por triplicado.

### **7.9. Animales de experimentación**

Se utilizaron 6 ratones hembra albinos adultos de la cepa ICR para cada grupo con un peso de 24.6-33.5 g; proporcionados por el laboratorio de farmacología del CIBIS.

### **7.10. Inducción de inflamación auricular por TPA**

La inflamación en la oreja de ratón fue inducida mediante el modelo descrito por Payá, et al. 1993. Grupos de 6 ratones fueron formados y 2.5 µg de TPA fueron disueltos en 1 mL de acetona y aplicados tópicamente sobre la superficie interna y externa de la oreja izquierda del ratón, 10 µL en cada lado para inducir el edema. Las muestras en estudio fueron disueltas en acetona y se aplicaron tópicamente sobre la oreja del ratón por ambos lados inmediatamente después de la administración del TPA. Las dosis fueron las siguientes: 1 mg/oreja de los extractos SIEH, SIED, SIEA; SIC1R7, SIC1R11, SA, EU y la indometacina 1 mg/oreja. Después de 4 h de la administración del agente inflamatorio, los animales fueron sacrificados por dislocación cervical y se tomaron secciones circulares de 6 mm de diámetro de las dos orejas del animal, oreja tratada (t) y no tratada (nt), las cuales fueron pesadas para determinar por diferencia de peso la inflamación provocada como:  $\Delta P = Pt - Pnt$ . El porcentaje de inhibición se obtuvo usando la expresión siguiente:

$$\text{Porcentaje de inhibición} = [\Delta P \text{ control} - \Delta P \text{ tratamiento}] / [\Delta P \text{ control}] [100]$$

Donde;

$\Delta P$ : diferencia del peso entre Pt y Pnt

Pt: peso de la sección de la oreja tratada

Pnt: peso de la sección de la oreja no tratada

## 8. RESULTADOS

Los rendimientos de los extractos fueron los siguientes: SIEH, 0.36 %; SIED 0.9 %; SIEA 0.3 % y SIEM 0.6831 %.

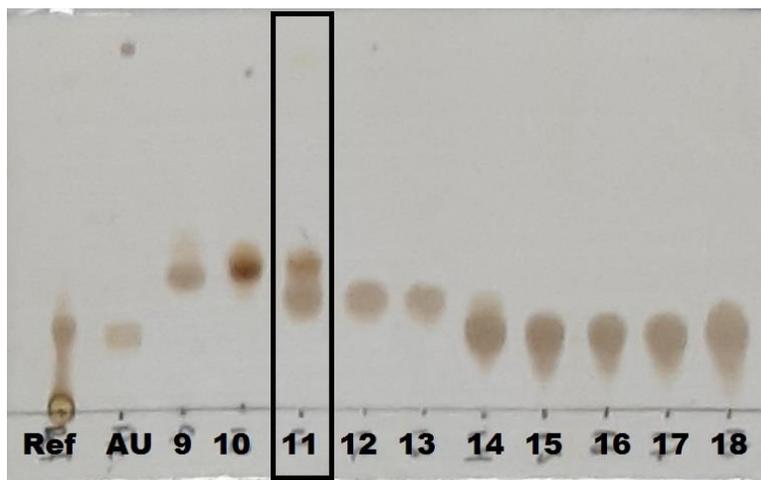
### 8.1. Fraccionamiento químico de SIED

4.3 g del extracto SIED, fueron fraccionados en una columna cromatográfica abierta, la cual fue empacada con 30 g de gel de sílice fase normal y utilizándose un sistema *n*-hexano-acetato de etilo (AcOEt) como fase móvil, iniciando con 100% de *n*-hexano aumentando la polaridad con el AcOEt (disolvente más polar) hasta llegar a 30:70 *n*-hexano-AcOEt, y finalizar con 100% de AcOEt. Dando como resultado 39 fracciones de 100 mL cada una (**Tabla 1**), de las cuales, al ser analizadas mediante cromatografía en capa fina (80:20 *n*-hexano:AcOEt fase normal) y reveladas con sulfato sérico (CeSO<sub>4</sub>), se reunieron de acuerdo con su composición química.

**Tabla 1.** Resumen del fraccionamiento cromatográfico de SIED

Polaridad del sistema	Fracciones	Sub-fracción	Clave	Cantidad	
<i>n</i> -hexano (100 %)	1-4	1	1-4	SIC1R1	
<i>n</i> -hexano-AcOEt (90:10)	5-8	2	5	SIC1R2	
<i>n</i> -hexano-AcOEt (80:20)	9-12	3	6	SIC1R3	
<i>n</i> -hexano-AcOEt (70:30)	13-16	4	7	SIC1R4	
<i>n</i> -hexano-AcOEt (60:40)	17-21	5	8	SIC1R5	
<i>n</i> -hexano-AcOEt (50:50)	22-25	6	9-10	SIC1R6	
<i>n</i> -hexano-AcOEt (30:70)	26-31	<b>7</b>	<b>11</b>	<b>SIC1R7</b>	<b>25.3 mg</b>
<i>n</i> -hexano-AcOEt (30:70)	32-33	8	12-13	SIC1R8	
AcOEt (100%)	34-39	9	14-20	SIC1R9	
		10	21-24	SIC1R10	
		<b>11</b>	<b>25-28</b>	<b>SIC1R11</b>	<b>29.5 mg</b>
		12	29-32	SIC1R12	
		13	33-39	SIC1R13	

Por otro lado, la sub-fracción 11 (SIC1R11) al ser analizada en CCF (80:20 *n*-hexano:AcOEt fase normal) y revelada con sulfato sérico ( $\text{CeSO}_4$ ) demostró que se encontraba un compuesto mayoritario, el cual se hizo visible con una mancha color café (Figura 2.)



**Figura 2.** Placa cromatográfica en fase normal, utilizando un sistema *n*-hexano:AcOEt (80:20). Carril 11= SIC1R11

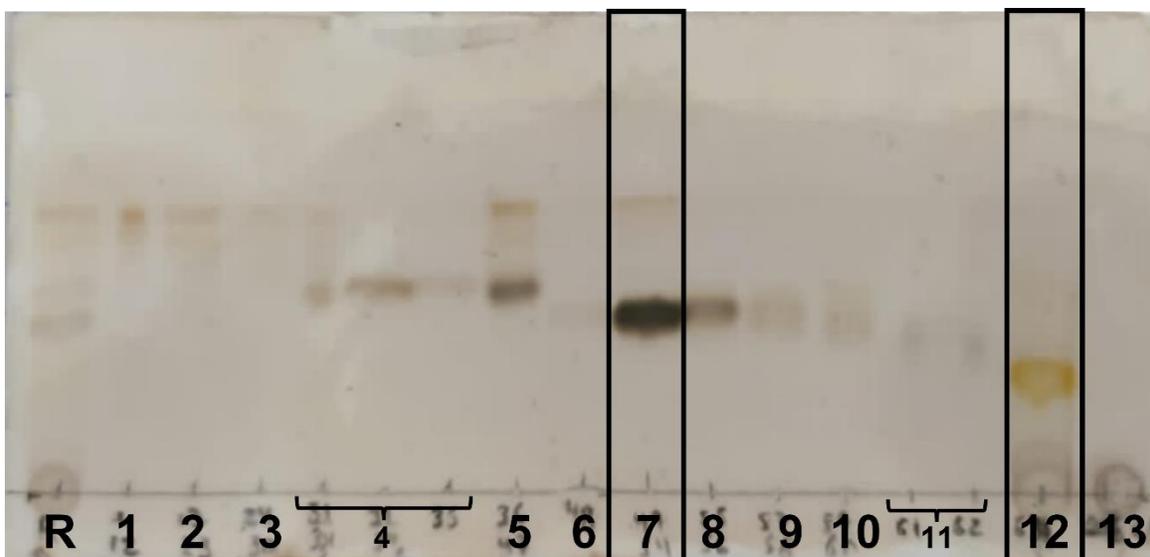
### 8.1.1. Purificación de salviandulina A (5) y eupatorin (10)

La SIC1R11 (29.5 mg) se fraccionó mediante cromatografía en columna abierta, en la que se utilizó gel de sílice fase reversa (3.2 g) como fase estacionaria, estabilizada con 100% de metanol. Posteriormente la fracción fue adsorbida en una mezcla (50:50) de gel de sílice fase normal (0.75 g) y gel de sílice fase reversa (0.75 g) para posteriormente ser adicionada a la columna. El sistema de elución consistió en  $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ , iniciando con 100% de  $\text{H}_2\text{O}$  y adicionando de manera gradual el otro disolvente hasta llegar a una concentración de 74:26  $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ , para finalmente eluir con 100%  $\text{CH}_3\text{CN}$ . Se colectó aproximadamente 10 mL en cada vial. Se obtuvieron 63 fracciones y 14 reuniones (**Tabla 2**) agrupándose de acuerdo con su similitud en cromatografía en capa fina (CCF) fase reversa. En la sub-fracción 7 (SIC2F7) al secarse se obtuvo un precipitado el cual al ser analizado en cromatografía en capa fina (90:10  $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ ) y revelada con sulfato sérico ( $\text{CeSO}_4$ ) mostró una mancha color gris intenso (Figura 3) y correspondió a un

diterpeno denominado salviandulina A (**5**). Mientras que en la sub-fracción SIC2F12 al secarse se obtuvieron pequeños cristales los cuales al ser analizados en CCF (90:10 CH<sub>3</sub>CN:H<sub>2</sub>O) y al ser revelada con sulfato sérico (CeSO<sub>4</sub>) mostró una mancha color amarilla (Figura 3) y el cual se identificó como eupatorin (**10**).

**Tabla 2.** purificación de SA y EU

<b>Polaridad del sistema</b>	<b>fracciones</b>	<b>Sub-fracciones</b>	<b>clave</b>	<b>cantidad</b>	
H <sub>2</sub> O (100 %)	1-2	1	1-12	SIC2F1	
H <sub>2</sub> O:CH <sub>3</sub> CN (90:10)	3-6	2	13-25	SIC2F2	
H <sub>2</sub> O:CH <sub>3</sub> CN (88:12)	7-10	3	26-30	SIC2F3	
H <sub>2</sub> O:CH <sub>3</sub> CN (86:14)	11-15	4	31-35	SIC2F4	
H <sub>2</sub> O:CH <sub>3</sub> CN (85:15)	16-19	5	36-47	SIC2F5	
H <sub>2</sub> O:CH <sub>3</sub> CN (84:16)	20-23	6	48	SIC2F6	
H <sub>2</sub> O:CH <sub>3</sub> CN (83:17)	24-27	<b>7</b>	<b>49-54</b>	<b>SIC2F7</b>	<b>23.2 mg</b>
H <sub>2</sub> O:CH <sub>3</sub> CN (82:18)	28-31	8	55-56	SIC2F8	
H <sub>2</sub> O:CH <sub>3</sub> CN (80:20)	32-35	9	57-58	SIC2F9	
H <sub>2</sub> O:CH <sub>3</sub> CN (79:21)	36-40	10	59-60	SIC2F10	
H <sub>2</sub> O:CH <sub>3</sub> CN (78:22)	41-45	11	61-63	SIC2F11	
H <sub>2</sub> O:CH <sub>3</sub> CN (77:23)	46-50	<b>12</b>	<b>64</b>	<b>SIC2F12</b>	<b>18.1 mg</b>
H <sub>2</sub> O:CH <sub>3</sub> CN (76:24)	51-57	13	65	SIC2F13	
H <sub>2</sub> O:CH <sub>3</sub> CN (75:25)	58-61	14	66	SIC2F14	
H <sub>2</sub> O:CH <sub>3</sub> CN (74:26)	62-63				
CH <sub>3</sub> CN (100%)	64				
H <sub>2</sub> O (100%)	65				
MeOH(100%)	66				



**Figura 3.** Placa cromatografía en capa fina, sistema 50:50 CH<sub>3</sub>CN:H<sub>2</sub>O, revelada con CeSO<sub>4</sub>. carril 7= SA; carril 12= EU.

### 8.2. Determinación de la actividad antimicrobiana

El extracto SIED demostró tener actividad antimicrobiana para Sa, inhibiendo el crecimiento a 2 y 1 mg mL<sup>-1</sup>. Mientras que con los demás extractos hubo nula inhibición para cualquiera de las concentraciones evaluadas (**Tabla 3**).

**Tabla 3.** CMI de los extractos contra Sa

Concentración mg mL <sup>-1</sup>				
	2	1	0.5	0.25
Extracto				
SIEH	--	--	--	--
<b>SIED</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	--	--
SIEA	--	--	--	--
SIEM	--	--	--	--

+ inhibición del crecimiento bacteriano; -- crecimiento bacteriano

Sin embargo, contra SaR, tanto el extracto SIED como el SIEA fueron los que mostraron inhibición a las concentraciones de 2 y 1 mg mL<sup>-1</sup>, mientras que los otros extractos fueron inactivos (**Tabla 4**).

**Tabla 4.** CMI de los extractos contra SaR

Concentración mg mL <sup>-1</sup>				
	2	1	0.5	0.25
Extracto				
SIEH	--	--	--	--
<b>SIED</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	--	--
<b>SIEA</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	--	--
SIEM	--	--	--	--

+ inhibición del crecimiento bacteriano; -- crecimiento bacteriano

El extracto SIED fue el que inhibió el crecimiento para ambas bacterias (Sa y SaR) por lo que se fraccionó mediante una columna cromatográfica abierta (Tabla 1).

### 8.3. Actividad antiinflamatoria

El efecto antiinflamatorio de SIEH, SIEA y SIED, se probó a una dosis de 1.0 mg/oreja sobre el modelo de edema inducido con TPA, el cual muestra el siguiente porcentaje de inhibición 67.5 %, 53 % y 52.76 % respectivamente.

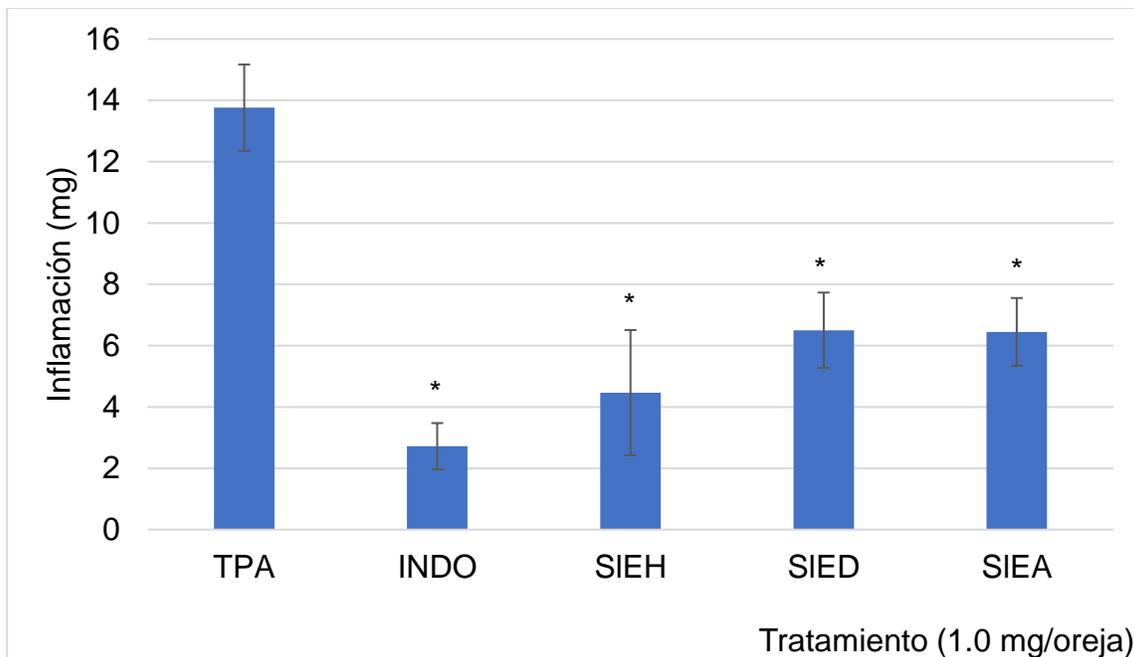
#### 8.3.1. Actividad antiinflamatoria de los extractos de *S. lavanduloides*

La evaluación de los extractos de *S. lavanduloides* se llevó a cabo a dosis de 1.0 mg/oreja. En la **Tabla 5** se puede observar que todos los extractos disminuyeron la inflamación inducida en oreja de ratón. Estos resultados fueron estadísticamente similares a los observados por el control positivo (indometacina), a dosis de 1 mg/oreja.

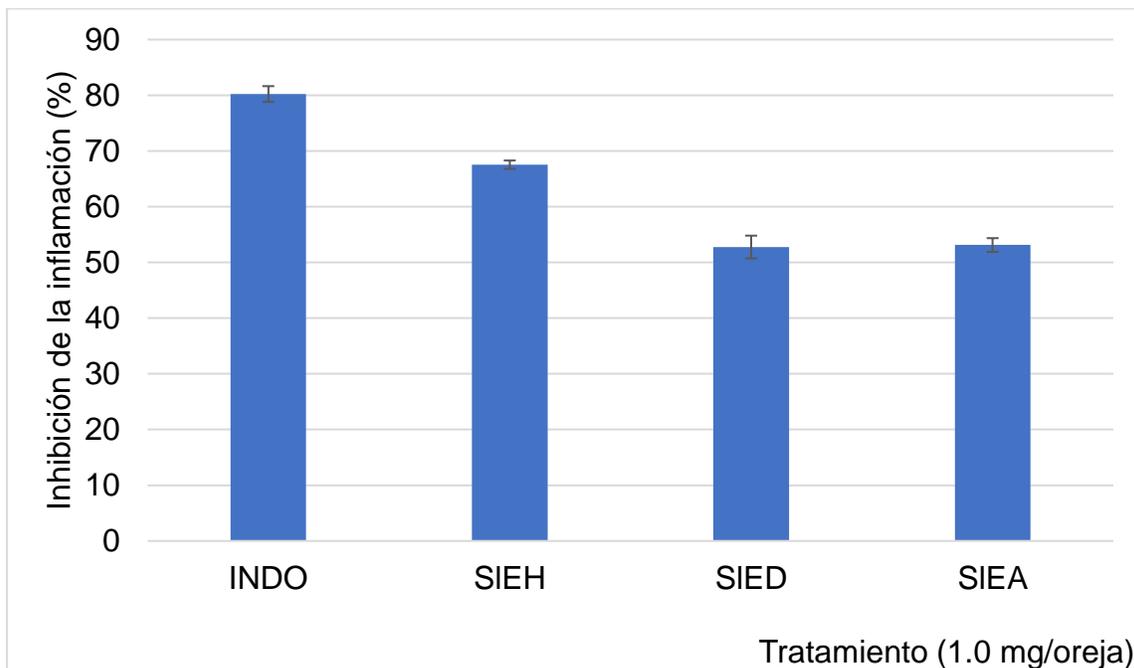
**Tabla 5.** Actividad antiinflamatoria de extractos de *S. lavanduloides* en un modelo de edema auricular en ratón ICR inducido por TPA

Substancia	Tiempo (h)	Dosis (mg/oreja)	Edema (mg) Prom. ± EEM	Inhibición del edema (%)
TPA		---	--	---
<b>SIEH</b>		<b>1.0</b>	<b>4.467±2.043*</b>	<b>67.5</b>
<b>SIED</b>	4	<b>1.0</b>	<b>6.500±1.231*</b>	<b>52.76</b>
<b>SIEA</b>		<b>1.0</b>	<b>6.450±1.104*</b>	<b>53</b>
Indo		1.0	2.720±0.756*	80.23

\*p < 0.05 en comparación con el grupo TPA, que sólo recibió como vehículo acetona.



**Gráfica 1.** Efecto de la administración local del SIEH, SIED y SIEA a 1 mg/oreja, sobre el edema (diferencia de peso) inducido con TPA en el pabellón auricular de ratones ICR. Indo= indometacina. Anova post-Dunnet,  $p < 0.05$ .



**Gráfica 2.** Los resultados muestran que SIEH, SIED y SIEA inhibieron el edema en 67.5%, 52.76 % y 53 %, respectivamente a una dosis de 1 mg/oreja. Mientras que la indometacina (control positivo) a 1 mg/oreja mostró un 80.23 % de inhibición del edema.

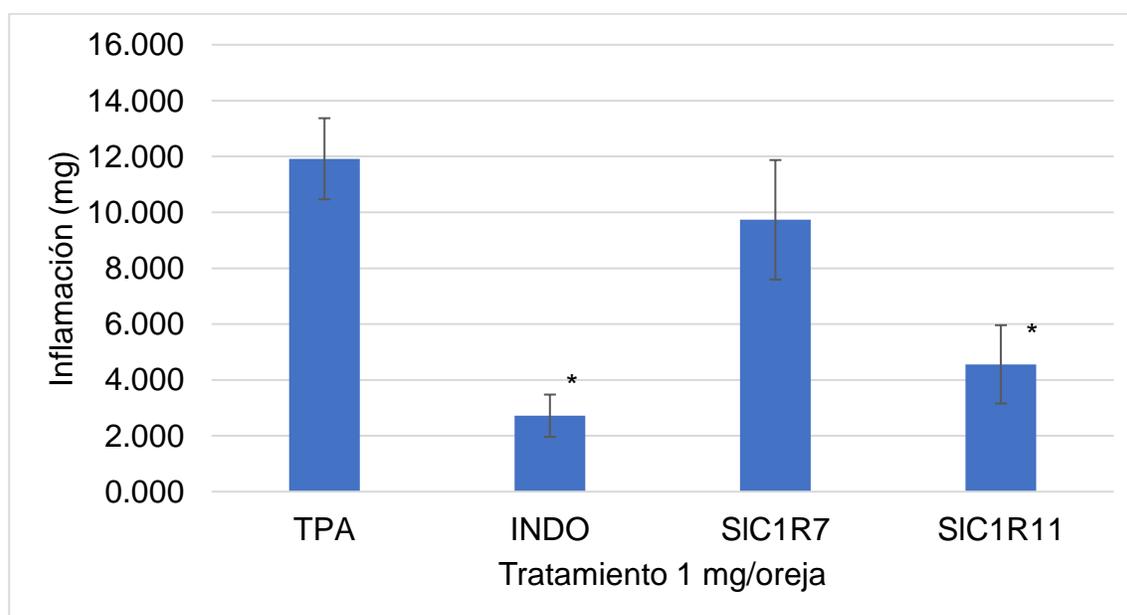
### 8.3.2. Actividad antiinflamatoria de fracciones de *S. lavanduloides*.

Las fracciones SIC1R7 y SIC1R11 de *S. lavanduloides* a una dosis de 1 mg/oreja, inhibieron el edema auricular en ratón inducido por TPA con un 18.34 % y 61.74 % respectivamente (**Tabla 6**) y la indometacina a dosis de 1 mg/oreja inhibió el edema en 77.18%, estadísticamente solo la fracción SIC1R11 fue significativamente diferente ( $p < 0.05$ ) al grupo de ratones que indujo inflamación por TPA y solo recibieron el vehículo (acetona), a diferencia de esta fracción, SIC1R7 no induce una notable actividad antiinflamatoria.

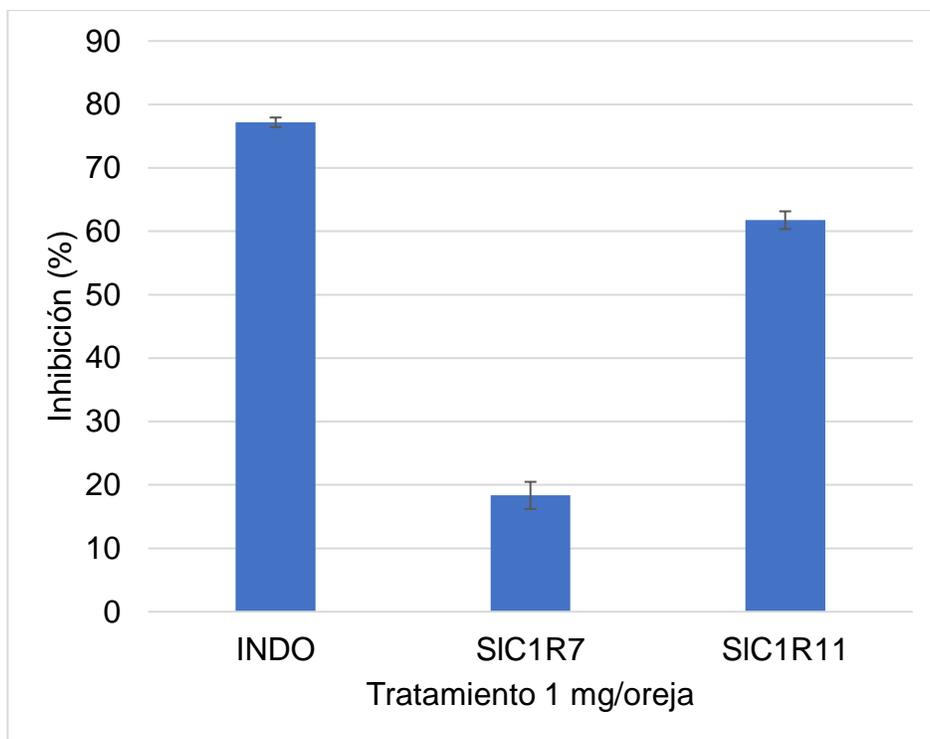
**Tabla 6.** Actividad antinflamatoria de fracciones y sub-fracciones de *S. lavanduloides*, en un modelo de edema auricular en ratón ICR inducido por TPA

Substancia	Tiempo (h)	Dosis (mg/oreja)	Edema (mg) Prom. $\pm$ EEM	Inhibición del edema (%)
TPA		---	--	---
SIC1R7	4	1.0	9.733 $\pm$ 2.141	18.34
<b>SIC1R11</b>		<b>1.0</b>	<b>4.560<math>\pm</math>1.401*</b>	<b>61.74</b>
Indo		1.0	2.720 $\pm$ 0.756	77.18

\* $p < 0.05$  en comparación con el grupo TPA, que sólo recibió como vehículo acetona.



**Gráfica 3.** Efecto de la administración local del SIC1R7 y SIC1R11 a 1 mg/oreja, sobre el edema (diferencia de peso) inducido con TPA en el pabellón auricular de ratones ICR. Indo= indometacina. Anova post-Dunnet,  $p < 0.05$ .



**Gráfica 4.** Los resultados muestran que las fracciones SIC1R7 y SIC1R11 inhibieron el edema en 18.34 % y 61.74 %, respectivamente a una dosis de 1 mg/oreja. Mientras que la indometacina (control positivo) a 1 mg/oreja mostró un 77.18 % de inhibición del edema.

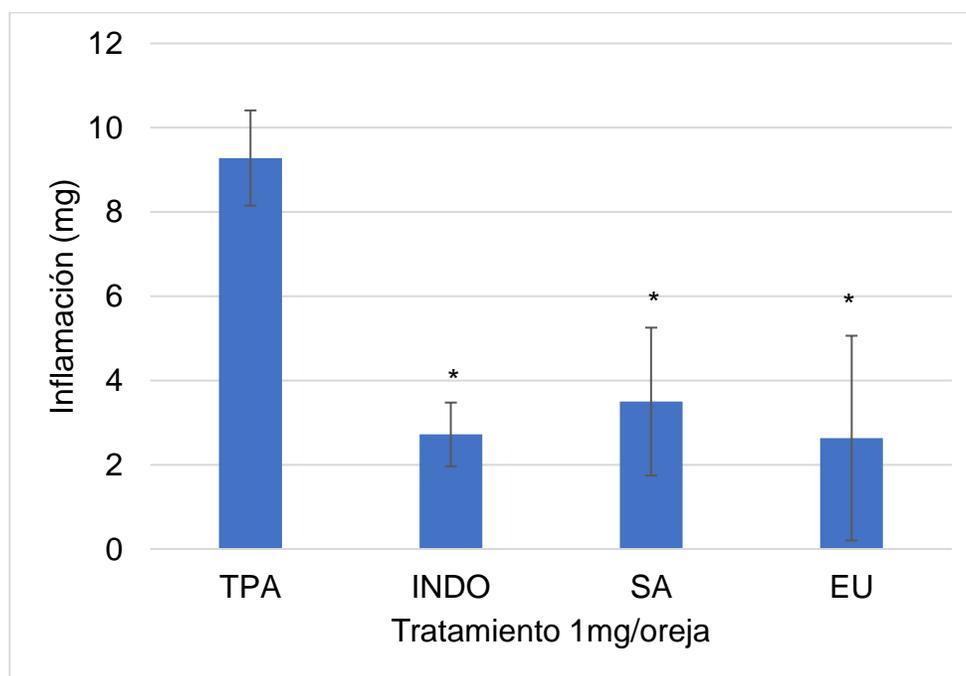
### 8.3.3. Actividad antiinflamatoria de los compuestos SA y EU de SIED

Los compuestos aislados de SIED, SA y EU, fueron probados a la dosis de 1 mg/oreja, se consiguió observar para este tratamiento una inhibición del 62.28% y 71.62% respectivamente (**Tabla 7.**) ambos grupos fueron estadísticamente diferentes al grupo que solo se le indujo el edema por TPA y que solo recibió acetona como vehículo.

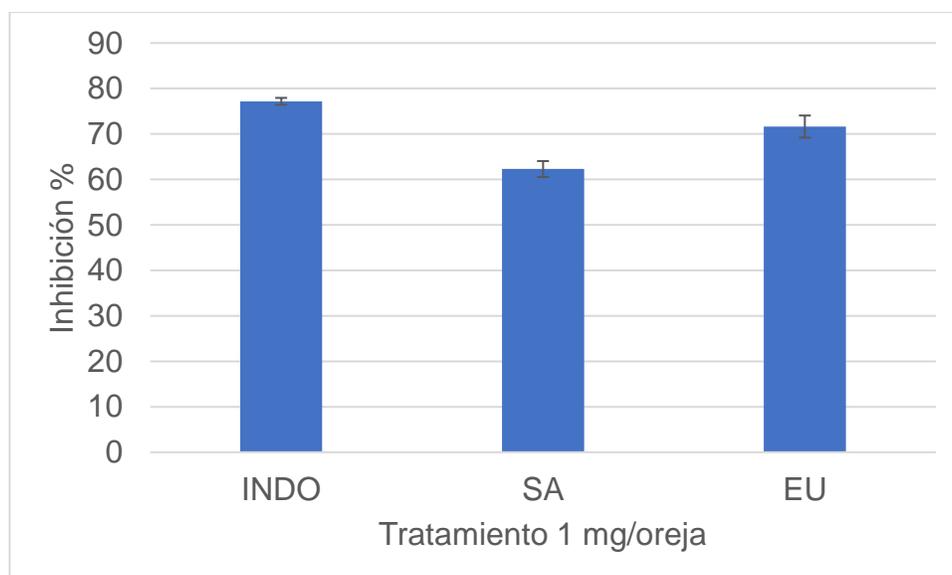
**Tabla 7.** Actividad antiinflamatoria de los compuestos aislados en un modelo de edema auricular en ratón ICR inducido por TPA

Substancia	Tiempo (h)	Dosis (mg/oreja)	Edema (mg) Prom. ± EEM	Inhibición del edema (%)
TPA		---	--	---
SA	4	1.0	3.500±0.675*	62.28
EU		1.0	2.633±2.429*	71.62
Indo		1.0	2.720±0.756	70.69

\*p < 0.05 en comparación con el grupo TPA, que sólo recibió como vehículo acetona.



**Gráfica 5.** Efecto de la administración local del SA y EU a 1 mg/oreja, sobre el edema (diferencia de peso) inducido con TPA en el pabellón auricular de ratones ICR. Indo= indometacina. Anova post-Dunnet, p<0.05.

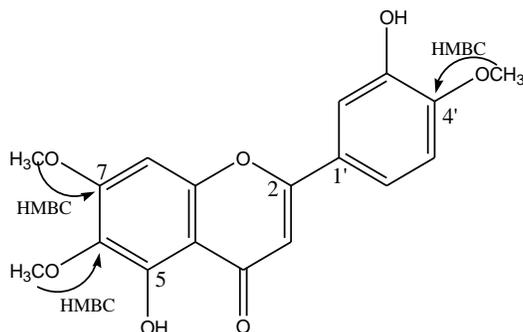


**Gráfica 6.** Los resultados muestran que los compuestos SA y EU inhibieron el edema en 62.8 % y 71.62 %, respectivamente a una dosis de 1 mg/oreja. Mientras que la indometacina (control positivo) a 1 mg/oreja mostró un 70.69 % de inhibición del edema.

#### 8.4. Identificación de eupatorin (10) por Resonancia Magnética Nuclear (RMN) <sup>13</sup>C

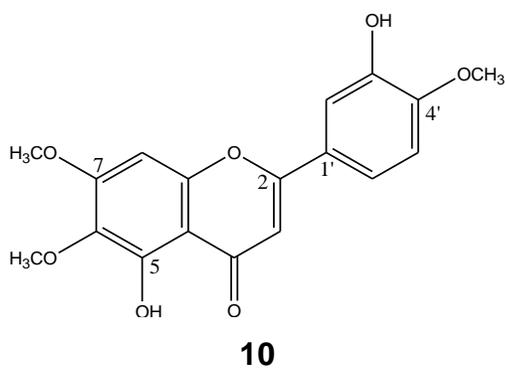
El espectro de RMN <sup>13</sup>C de **10**, mostró 18 señales de los cuales diez son cuaternarios, cinco metinos y tres metilos esto de acuerdo con el experimento DEPT. El espectro de RMN <sup>1</sup>H mostró tres sistemas: sistema A de un doble enlace en  $\delta$  6.67 (1H, s) asignado a C-3, un sistema de anillo aromático ABX en  $\delta$  7.48 (1H, d, J = 1.4 Hz, H-2'), 7.55 (1H, dd, J = 1.4, 8.4 Hz, H-5') y 7.10 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-6') y un sistema A de anillo aromático penta sustituido en  $\delta$  6.86 (1H, s, H-8). Esto nos indicó la presencia de un esqueleto de flavona llamado 6-hidroxiluteolina. De acuerdo con la RMN de <sup>1</sup>H, se observa la presencia de tres metilos bases de oxígenos en  $\delta$  3.79 (s), 3.92 (s) y 3.97 (s) que correlacionaron en el HSQC con las señales de carbono en  $\delta$  56.3, 56.8 y 60.5 respectivamente. La posición en la que se encontraban estos metoxilos (OCH<sub>3</sub>) se estableció por el experimento HMBC que nos indicó su correlación a tres ligaduras con los carbonos cuaternarios de los anillos aromáticos (figura 3). La señal de  $\delta$  3.79 (OCH<sub>3</sub>) correlaciona con la señal en  $\delta$  133.4 (C-6) por lo que se asignó en la posición 6-OCH<sub>3</sub>. Las otras dos señales  $\delta$

3.92 (OCH<sub>3</sub>) y  $\delta$  3.97 (OCH<sub>3</sub>) correlacionan con las señales en  $\delta$  152.1 (C-4') y  $\delta$  160.0 (C-7) por lo que se asignaron a 4'-OCH<sub>3</sub> y 7-OCH<sub>3</sub>, respectivamente.



**Figura 3.** Correlaciones de HMBC del compuesto 10.

Las evidencias y los datos espectroscópicos (**Tabla 8**) así como la comparación de los datos descritos en la literatura (Nagao T, et al. 2002), este compuesto corresponde a la flavona 3',5-dihidroxi-4',6,7-trimetoxiflavona conocida como eupatorin (**10**). Este es un nuevo compuesto que se identifica en *Salvia lavanduloides*, pero existe reporte en el género de *Salvia*.

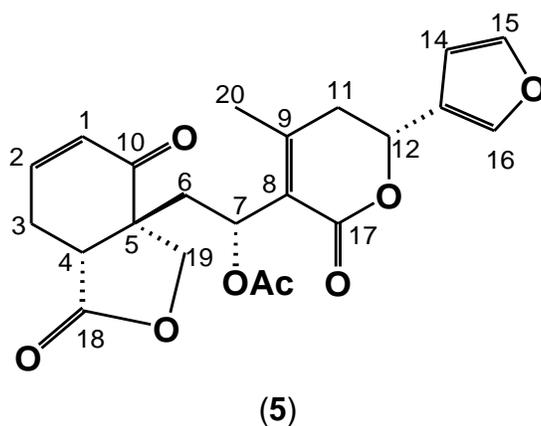


**Tabla 8.** Datos espectroscópicos de RMN para eupatorin (10) (2, 600 Mhz, CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>, δ ppm, J en Hz)

Posición	δ <sup>1</sup> H (δ in ppm, J in Hz)	δ <sup>13</sup> C (HSQC)	δ <sup>13</sup> C (HSQC)
	2	2	2 (Nagao, et al. 2002)
2		165.3	165.3
3	6.67 (s)	104.2	104.2
4		183.5	183.5
5		154.0	153.5
6		133.4	133.4
7		160.0	160.0
8	6.86 (s)	92.0	92.0
9		153.5	154.0
10		106.3	106.3
1'		124.4	124.4
2'	7.48 (d, 1.4)	112.6	113.7
3'		148.0	148.0
4'		152.1	152.1
5'	7.55 (dd, 1.4, 8.4)	113.7	112.6
6'	7.10 (d, 8.4)	119.6	119.6
6-OCH <sub>3</sub>	3.79 (s)	56.3	60.5
7-OCH <sub>3</sub>	3.92 (s)	56.8	56.8
4'-OCH <sub>3</sub>	3.97 (s)	60.5	56.3

### 8.5. Identificación de salviandulina A (5) por RMN

Para el compuesto **5**, el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  mostró veinte señales y la presencia de un acetato ( $\text{CH}_3\text{COO}^-$ ), lo que se puede proponer que sea un diterpeno. El experimento DEPT nos indicó ocho cuaternarios, ocho metinos, cuatro metilenos y dos metilos. El análisis de los datos espectroscópicos de una y dos dimensiones (**Tabla 9**) y la comparación directa con los datos descritos en la literatura, este compuesto se identificó como un secoclerodano conocido como salviandulina A (**5**). Este diterpeno ya ha sido aislado en esta especie vegetal (Ortega, 1991), aunque no se le han descrito ninguna actividad.



**Tabla 9.** Datos espectroscópicos de RMN para salviandulina A (5) (600 Mhz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm, *J* en Hz)

Posición C	δ <sup>1</sup> H-RMN Exp. 1	δ <sup>13</sup> C-RMN Exp. 1	δ <sup>13</sup> C-RMN teórico (Ortega 1991)	HMBC 1
1	6.13, ddd(1.1, 2.5, 10.2)	129.7	129.6	
2	6.98, dddd(0.7, 2.5, 5.5, 10.2)	149.3	149.2	
3a B	3.01, dd(br, 5.1, 20.1) 2.76, ddd(2.5, 6.9, 20.5)	23.2	23.2	
4	3.07, d(br, 6.9)	43.3	43.3	
5		51.6	51.6	
6a b	2.69, dd(8.0, 14.6) 2.33, d(4.4, 14.6)	38.9	38.9	
7	5.63, d(4.4, 8.0)	67.3	67.3	C-5, C-6, C-8, C-9, C-17, OAc,
8		124.9	124.8	
9		154.8	154.7	
10		197.4	197.4	
11a b	2.74, m 2.51, dd(3.6, 17.9)	37.5	37.5	
12	5.3, d(3.6, 11)	71.0	70.9	
13		123.5	123.4	
14	6.42, d(br, 1.1)	108.5	108.4	
15	7.42, dd(1.8, 1.8)	143.9	143.9	
16	7.47, dd (0.7, 0.7)	140.1	140.0	
17		163.0	162.9	
18		176.5	176.4	
19a b	4.74, d(8.8) 3.84, d(8.8)	73.6	73.5	
20	2.13, s	20.4	20.3	
CH <sub>3</sub> COO-		170.2	170.1	
CH <sub>3</sub> COO-	2.03, s	21.1	21.0	

## 9. DISCUSIÓN

El interés en el estudio fitoquímico y farmacológico de especies del género *Salvia* ha sido provocado por su extensa gama de usos medicinales tradicionales en México, tales como tratar dolor de estómago y de muelas, enfermedades ginecológicas, parálisis, padecimientos digestivos como diarrea y vómito, problemas de la vesícula, contrarrestar la tos y la tosferina, así como para la “frialidad” del niño, además es empleada para controlar las hemorragias y flujos vaginales, enfermedades ginecológicas, para lavar las heridas y disminuir la fiebre (Argueta, et al. 1994). Sin embargo, no ha habido referencias farmacológicas previas que demuestren el efecto antimicrobiano y antiinflamatorio de *S. lavanduloides*; a pesar de que, su uso medicinal como agente antimicrobiano y antiinflamatorio está justificado por los antecedentes químicos y farmacológicos del género *Salvia*. En este trabajo, se demostró que todos los extractos orgánicos evaluados de *S. lavanduloides* inhibieron el edema en oreja de ratón inducido por TPA. El extracto de diclorometano (SIED) fue el que mostró la mayor actividad antimicrobiana, así como una importante actividad antiinflamatoria (**Tabla 5**); el análisis fitoquímico de este extracto permitió el aislamiento del diterpeno secoclerodano salviandulina A (**5**) el cual fue el constituyente mayoritario y una flavona eupatorin (**10**). Es importante mencionar que ambos metabolitos se identificaron previamente en el género *Salvia* (Ortega, 1991; Gonzales-Chávez, et al. 2017).

Por otro lado, los dos compuestos aislados (**5** y **10**) disminuyeron el edema inducido por TPA (**Tabla 7**). Un estudio de la literatura sobre las propiedades antiinflamatorias de los compuestos aislados reveló que el compuesto (**10**), en este modelo murino, fue previamente informado por Gonzales-Chávez, et al. (2017), los resultados obtenidos en este trabajo coincidieron con los aquí descritos, sin embargo, por parte del compuesto (**5**) no se encontró información de actividad biológica en los dos modelos de estudio.

En la prueba de TPA, notamos que el eupatorin (**10**) era el compuesto más activo, seguido por salviandulina A (**5**). Estos resultados concuerdan con los reportados previamente por Laavola, et al. 2012. Comparando los porcentajes de inhibición de la actividad antiinflamatoria obtenidos por el eupatorin (**10**) en nuestros

experimentos con los obtenidos por Gonzales-Chávez, et al. (2017), utilizando el mismo modelo experimental, sin embargo, con diferente concentración (2 mg/oreja) obtuvo un 56.40% de inhibición del edema, aparentemente muestra que la actividad del eupatorin es mejor en este proyecto (71.62% de inhibición del edema auricular). En las últimas décadas ha aumentado el interés por el estudio de las actividades biológicas de los diterpenos y flavonas, como la salviandulina A (5) y el eupatorin (10), siendo que ambos han demostrado tener propiedades antiinflamatorias. En el caso del eupatorin (10) se reporta la inhibición en la expresión de iNOS y COX-2 y la producción de NO, así como la inhibición de la producción del factor de necrosis tumoral alfa (TNF-  $\alpha$ ), además de inhibir la activación inducida por lipopolisacáridos (LPS) de los transductores de señales del factor de transcripción y los activadores de la transcripción 1  $\alpha$  (STAT1  $\alpha$ ). Asimismo, inhibió la inflamación del edema en pata de ratón inducida por carragenina (Laavola, et al. 2012). En el caso de salviandulina A (5), no se ha informado sobre ninguna de sus actividades biológicas. Por lo que, para salviandulina A (5), este sería el primer reporte que demuestra su efecto antiinflamatorio. Es evidente que, hay que realizar estudios encaminados a comprender los mecanismos de acción tanto de la salviandulina A (5) como del eupatorin (10), para comprender mejor el mecanismo de acción de ambos compuestos. Estos hallazgos apoyan el uso tradicional de *S. lavanduloides*, que es rico en diterpenos y flavonoides, para inducir tanto la actividad antimicrobiana como la antiinflamatoria.

## 10. CONCLUSIONES

El extracto de diclorometano de las partes aéreas de *Salvia lavanduloides* (SIED) demostró tener actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* susceptible y multirresistente a meticilina. Asimismo, SIED, exhibió un efecto antiinflamatorio considerable. El fraccionamiento en columna abierta en fase normal de este extracto permitió obtener una fracción antiinflamatoria (SIC1R11). Una segunda recromatografía en columna abierta en fase reversa, de SIC1R11, permitió obtener una subfracción (SIC2R7), de la cual se pudo precipitar un componente mayoritario que produce una mancha gris intenso en cromatografía en capa fina revelada con sulfato cérico amoniacal; este compuesto resultó ser un diterpeno secoclerodano el cual fue identificado como salviandulina A (SA, **5**), por análisis de resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ . Asimismo, fue posible obtener una subfracción SIC2R12, la cual produjo un sólido amarillo que por RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  fue elucidado como eupatorin (EU, **10**). Cabe mencionar que SIEH también presentó una importante actividad antiinflamatoria pero no antimicrobiana, como es el caso de SIED, el cual tiene una actividad biológica en ambos modelos.

## 11. REFERENCIAS

- Accame**, M. E. C., Hernández-Agero, T. O., & del Fresno, A. M. V. (2002). *Salvia*. Fitoquímica, farmacología y terapéutica. **Farmacia profesional**, 16(7), 60-64.
- Akerele O.** 1993. Las plantas medicinales: un tesoro que no debemos desperdiciar. **Foro Mundial de la Salud**, 14: 390-395.
- Andrews**, J. M. (2001). Determination of minimum inhibitory concentrations. **Journal of antimicrobial Chemotherapy**, 48(suppl\_1): 5-16.
- Argueta**, A., Gallardo, VMC e Instituto Nacional Indigenista (México). (1994). Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana. México, DF: **Instituto Nacional Indigenista**.
- Balusu S**, Van Wonterghem E, De Rycke R, Raemdonck K, Stremersch S, Gevaert K, et al. (2016) Identification of a novel mechanism of blood brain communication during peripheral inflammation via choroid plexus- derived extracellular vesicles. **EMBO Mol Med**; 8(10): 1162-1183.
- Baricevic**, D., Sosa, S., Della Loggia, R., Tubaro, A., Simonovska, B., Krasna, A., & Zupancic, A. (2001). Topical anti-inflammatory activity of *Salvia officinalis* L. leaves: the relevance of ursolic acid. **Journal of ethnopharmacology**, 75(2-3): 125-132.
- Borges**, M., Serrano, R., León, C., Guirao, X., Arias, J., Carreras, E., ... & Rodríguez, J. G. (2008). Guía de tratamiento de la infección producida por *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina. **Rev Esp Quimioter**, 21(4): 234-258.
- Cervantes-García E**, García-González R, Salazar-Schettino PM. (2014) Características generales del *Staphylococcus aureus*. **Rev Mex Patol Clin Med Lab**; 61(1): 28-40.
- Daglia M.** (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. **Curr Opin Biotechnol**. 23(2):174–81.
- De La Cruz-Sánchez**, N. G., Gómez-Rivera, A., Alvarez-Fitz, P., Ventura-Zapata, E., Pérez-García, M. D., Avilés-Flores, M., ... & González-Cortazar, M. (2019).

- Antibacterial activity of *Morinda citrifolia* Linneo seeds against Methicillin-Resistant *Staphylococcus* spp. **Microbial pathogenesis**, 128: 347-353.
- DOF. (2018).** ACUERDO por el que se declara la obligatoriedad de la Estrategia Nacional de Acción contra la Resistencia a los Antimicrobianos.
- Domingo, J. J. S. (2002).** Gastropatía por AINE: efectos adversos. **Farmacia profesional**, 16(7): 48-54.
- Erdem, S. A., Nabavi, S. F., Orhan, I. E., Daglia, M., Izadi, M., & Nabavi, S. M. (2015).** Blessings in disguise: a review of phytochemical composition and antimicrobial activity of plants belonging to the genus *Eryngium*. **DARU Journal of Pharmaceutical Sciences**, 23(1): 53.
- Fariñas, M. C., & Martínez-Martínez, L. (2013).** Infecciones causadas por bacterias gramnegativas multirresistentes: enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y otros bacilos gramnegativos no fermentadores. **Enfermedades infecciosas y microbiología clínica**, 31(6): 402-409.
- FitzGerald, G. A., & Patrono, C. (2001).** The coxibs, selective inhibitors of cyclooxygenase-2. **New England Journal of Medicine**, 345(6): 433-442.
- Gaitán Fernández, I. C. (2005).** Actividad de doce plantas nativas guatemaltecas contra *Sporothrix schenckii*.
- García Rodríguez JA, García Sánchez E. (1997)** Resistencias bacterianas y antibioterapia. En: Eficacia in vivo Eficacia in vitro. **Madrid-Barcelona: ed Doyma, S.A.** 39-50.
- González C, Rubio M, Romero-Vivas J, González M, Picazo JJ. (1999).** Bacteremic pneumonia due to *Staphylococcus aureus*: A comparison of disease caused by methicillin-resistant and methicillin-susceptible organisms. **Clin Infect Dis**. 29: 1171-7.
- González-Costa, M., y González, A. A. P. (2019).** La inflamación desde una perspectiva inmunológica: desafío a la Medicina en el siglo XXI. **Revista Habanera de Ciencias Médicas**, 18(1): 30-44.
- Iadecola, C., & Gorelick, P. B. (2005).** The Janus face of cyclooxygenase-2 in ischemic stroke: shifting toward downstream targets. **Stroke**, 36(2): 182-185.

- Islas**, R. L., Rueda, O. M., Ricoy, G. N., & Vázquez, R. B. (2007). Efectos secundarios de los antiinflamatorios no esteroides a nivel gastrointestinal, renal y cardiovascular en pacientes con artritis reumatoide II. **Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas**, 12(1): 41-45.
- Khawar**, M. B., Abbasi, M. H., & Sheikh, N. (2016). IL-32: a novel pluripotent inflammatory interleukin, towards gastric inflammation, gastric cancer, and chronic rhino sinusitis. **Mediators of inflammation**.
- Kloss** WE, Schleir KH, Goirtz F. (1992) The genus *Staphylococcus*. In: Balows A, Truper HG, Dwoekin M, eds. **The Prokaryotes, 2nd Ed. New York, Springer-Verlag**
- Laavola**, M., Nieminen, R., Yam, M. F., Sadikun, A., Asmawi, M. Z., Basir, R., ... & Moilanen, E. (2012). Flavonoids eupatorin and sinensetin present in *Orthosiphon stamineus* leaves inhibit inflammatory gene expression and STAT1 activation. **Planta medica**, 78(08): 779-786.
- Iadecola**, C., & Gorelick, P. B. (2005). The Janus face of cyclooxygenase-2 in ischemic stroke: shifting toward downstream targets. **Stroke**, 36(2): 182-185.
- Lanas**, A. (2001). Efectos secundarios gastrointestinales por antiinflamatorios no esteroideos y costes en el Sistema Nacional de Salud. In **Anales de Medicina Interna**, 18(11): 9-11
- Liu**, C., & Chambers, H. F. (2003). *Staphylococcus aureus* with heterogeneous resistance to vancomycin: epidemiology, clinical significance, and critical assessment of diagnostic methods. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, 47(10): 3040-3045.
- Lowy**, FD. (1998). Infecciones por *Staphylococcus aureus*. **New England journal of medicine**, 339 (8): 520-532.
- Maldonado**, E., Ca, J., Salazar, B., Ortega, A., Jankowski, C. K., & Van Calsteren, M. R. (1992). Salvianduline C, a 5, 6-secoclerodane diterpenoid from *Salvia lavanduloides*. **Phytochemistry**, 31(1): 217-220.
- Maldonado**, E., de los Angeles Flores, M., Salazar, B., & Ortega, A. (1994). Abietane and neo-clerodane diterpenoids from *Salvia lavanduloides*. **Phytochemistry**, 37(5):1480-1482.

- González-Chávez**, M. M., Ramos-Velázquez, C. S., Serrano-Vega, R., Pérez-González, C., Sánchez-Mendoza, E., & Pérez-Gutiérrez, S. (2017). Anti-inflammatory activity of standardized dichloromethane extract of *Salvia connivens* on macrophages stimulated by LPS. **Pharmaceutical biology**, 55(1): 1467-1472.
- Michels da Silva**, D., Langer, H., & Graf, T. (2019). Inflammatory and molecular pathways in heart failure—ischemia, HFpEF and transthyretin cardiac amyloidosis. **International journal of molecular sciences**, 20(9): 2322.
- Milenkovic**, V. M., Stanton, E. H., Nothdurfter, C., Rupprecht, R., & Wetzell, C. H. (2019). The role of chemokines in the pathophysiology of major depressive disorder. **International journal of molecular sciences**, 20(9): 2283.
- Moro C. O.**, Basile, G. (2000). La obesidad y las plantas medicinales, **Fitoterapia**, 2000: S73-S82.
- Nabavi SM**, Marchese A, Izadi M, Curti V, Daglia M, Nabavi SF. (2015) Plants belonging to the genus *Thymus* as antibacterial agents: **From farm to pharmacy. Food Chem.** 173:339–47.
- Nagao**, T., Abe, F., Kinjo, J., & Okabe, H. (2002). Antiproliferative constituents in plants 10. Flavones from the leaves of *Lantana montevidensis* B RIQ. and consideration of structure–activity relationship. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, 25(7): 875-879.
- Nardi**, G. M., Januario, A. G. F., Freire, C. G., Megiolaro, F., Schneider, K., Perazzoli, M. R. A., ... & Locatelli, C. (2016). Anti-inflammatory activity of berry fruits in mice model of inflammation is based on oxidative stress modulation. **Pharmacognosy research**, 8(Suppl 1): S42.
- OMS**. (2010). World health statistics 2010. World Health Organization.
- OMS**. (2013). Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023. En: [https://www.who.int/topics/traditional\\_medicine/WHO-strategy/es/](https://www.who.int/topics/traditional_medicine/WHO-strategy/es/)
- OMS**. (2016). A primer for media: antimicrobial resistance in the Western Pacific Region (No. WPR/2016/DHS/002). Manila: WHO Regional **Office for the Western Pacific**.

- OMS.** (2016). Boletín de la Organización Mundial de la Salud. Recopilación de Artículos, 94(9), 633-708.
- Ortega, A., Cárdenas, J., Toscano, A., Maldonado, E., Aumelas, A., Van Calsteren, M. R., & Jankowski, C.** (1991). Salviandulines A and B. Two secoiridoid diterpenoids from *Salvia lavanduloides*. **Phytochemistry**, 30(10): 3357-3360.
- Pahwa, R., Goyal, A., Bansal, P., & Jialal, I.** (2020). Chronic inflammation. **StatPearls** [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK493173/>]
- Payá, M., Ferrándiz, M. L., Sanz, M. J., Bustos, G., Blasco, R., Rios, J. L., & Alcaraz, M. J.** (1993). Study of the antioedema activity of some seaweed and sponge extracts from the mediterranean coast in mice. **Phytotherapy Research**, 7(2): 159-162.
- Picazo JJ, Betriu C, Rodríguez-Avial I, Culebras E, López F, Gómez M, et al.** (2008). Actividad comparativa de daptomicina frente a *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina y estafilococos coagulasa negativa. **Enferm Infecc Microbiol Clin**. 26:489-494.
- Portillo, M. E., & del Pozo, J. L.** (2018). Infecciones por estafilococo. **Medicine- Programa de Formación Médica Continuada Acreditado**, 12(49): 2890-2894.
- Prats, G.** (2006). Microbiología clínica. Ed. **Médica Panamericana**.
- Rechinger, K. H., Browicz, K., Persson, K., & Wendelbo, P.** (1982). Flora Iranica, Akademische Druck-U. **Verlagsanstalt, Graz**, 150(2): 108-216.
- Soto-Estrada, G., Moreno-Altamirano, L., y Pahua Díaz, D.** (2016). Panorama epidemiológico de México, principales causas de morbilidad y mortalidad. **Revista de la Facultad de Medicina (México)**, 59(6): 8-22.
- Todorov, S., Philianos, S., Petkov, V., Harvala, C., Zamfirova, R., y Olimpiou, H.** (1984). Experimental pharmacological study of three species from genus *Salvia*. **Acta physiologica et pharmacologica Bulgarica**, 10(2), 13-20.
- Ulubelen, A.** (2003). Cardioactive and antibacterial terpenoids from some *Salvia* species. **Phytochemistry**, 64(2): 395-399.

**Wang, W. Y., Tan, M. S., Yu, J. T., & Tan, L. (2015).** Role of pro-inflammatory cytokines released from microglia in Alzheimer's disease. **Annals of translational medicine**, 3(10).

**Whelton, A., Schulman, G., Wallemark, C., Drower, E. J., Isakson, P. C., Verburg, K. M., & Geis, G. S. (2000).** Effects of celecoxib and naproxen on renal function in the elderly. **Archives of Internal Medicine**, 160(10): 1465-1470.

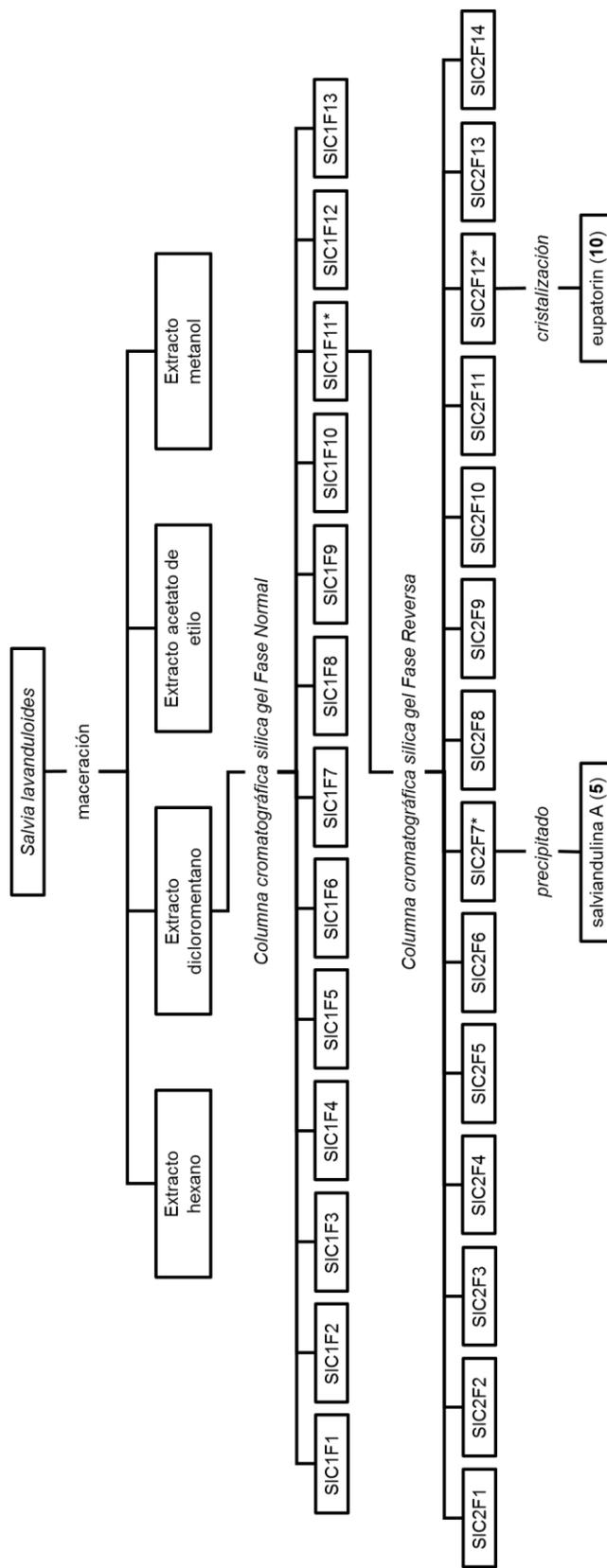
**Wilkinson BJ, Biology.** In: Crossley KB, Archer GL, eds. (1997). The staphylococci in human disease. **New York: Churchill Livingstone**, 1-38.

**Witte, W. (1999).** Antibiotic resistance in gram-positive bacteria: epidemiological aspects. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 44(suppl\_1): 1-9.

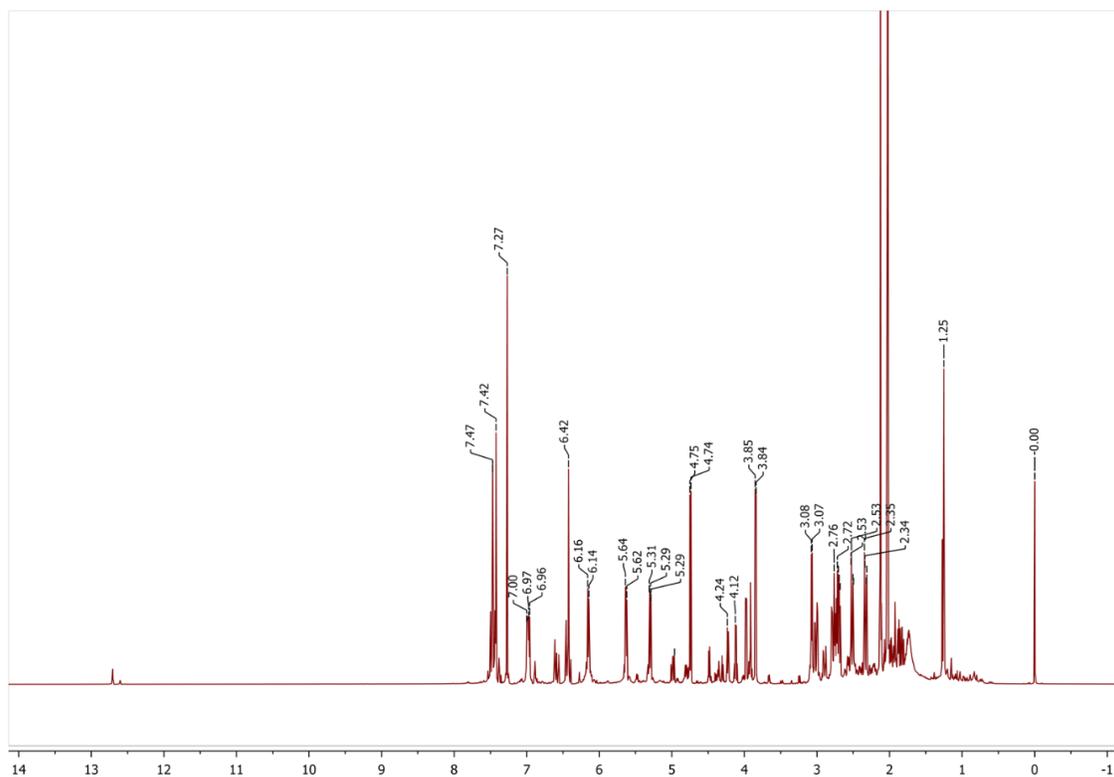
## 12. ANEXOS



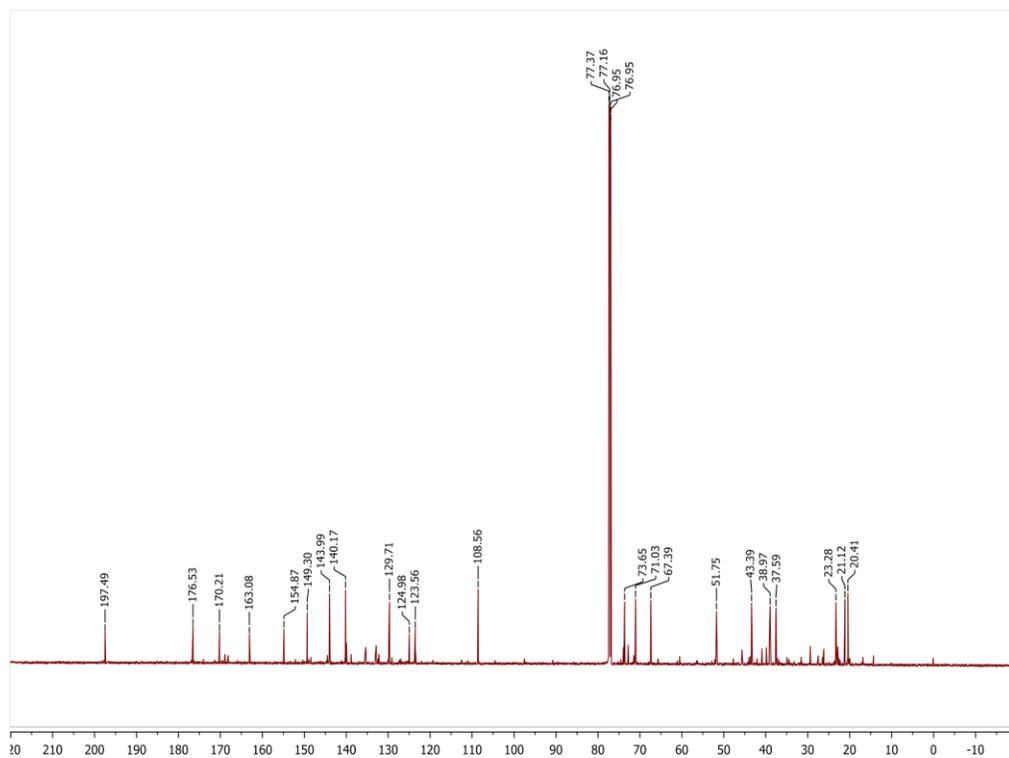
Anexo 1. Baucher de la especie colectada (*Salvia lavanduloides*) con el número de identificación 39806



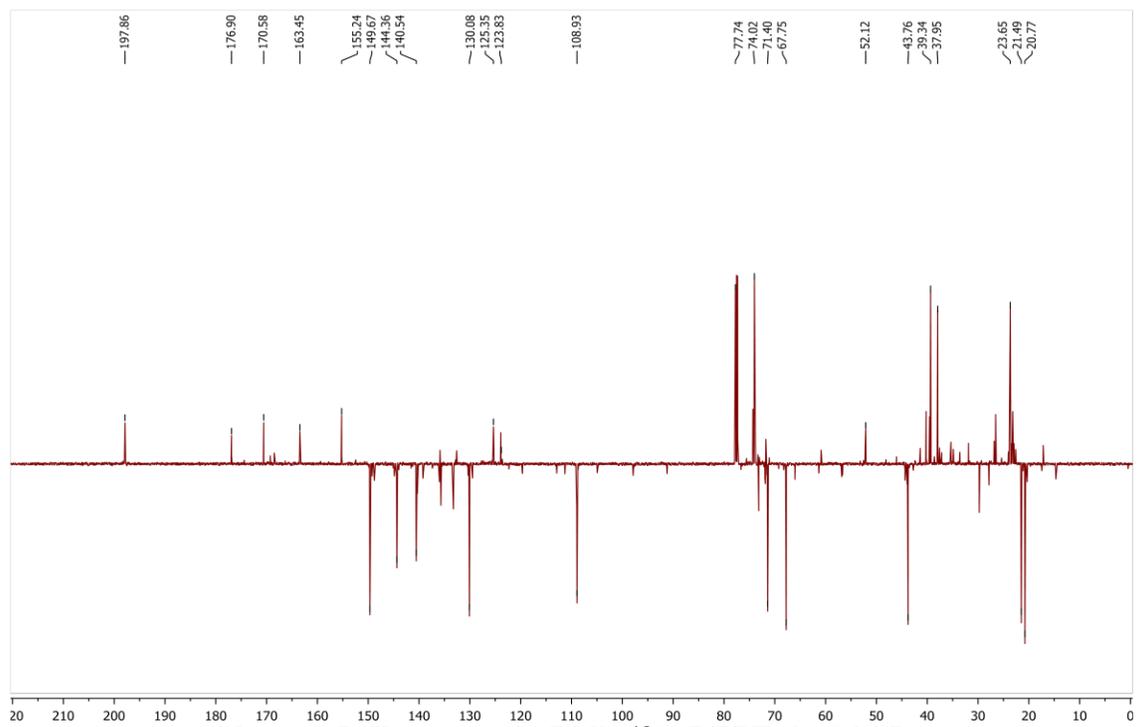
\*Extractos y fracciones con mayor actividad antiinflamatoria  
**Anexo 2.** Fraccionamiento químico de *Salvia lavanduloides*.



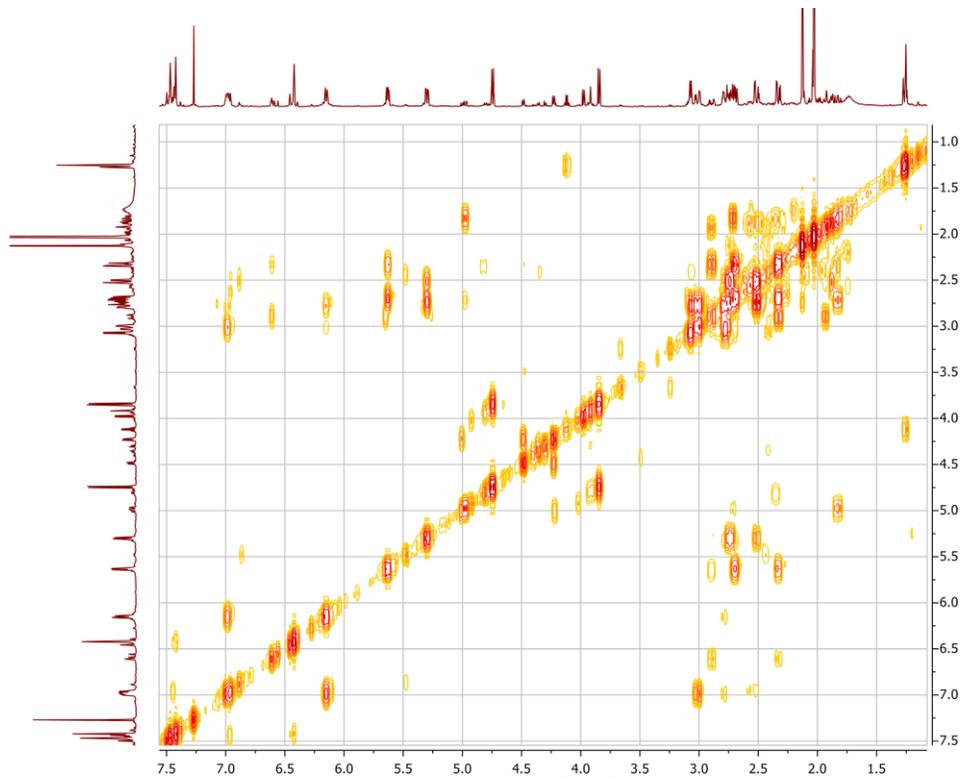
Anexo 3. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de SA (5)



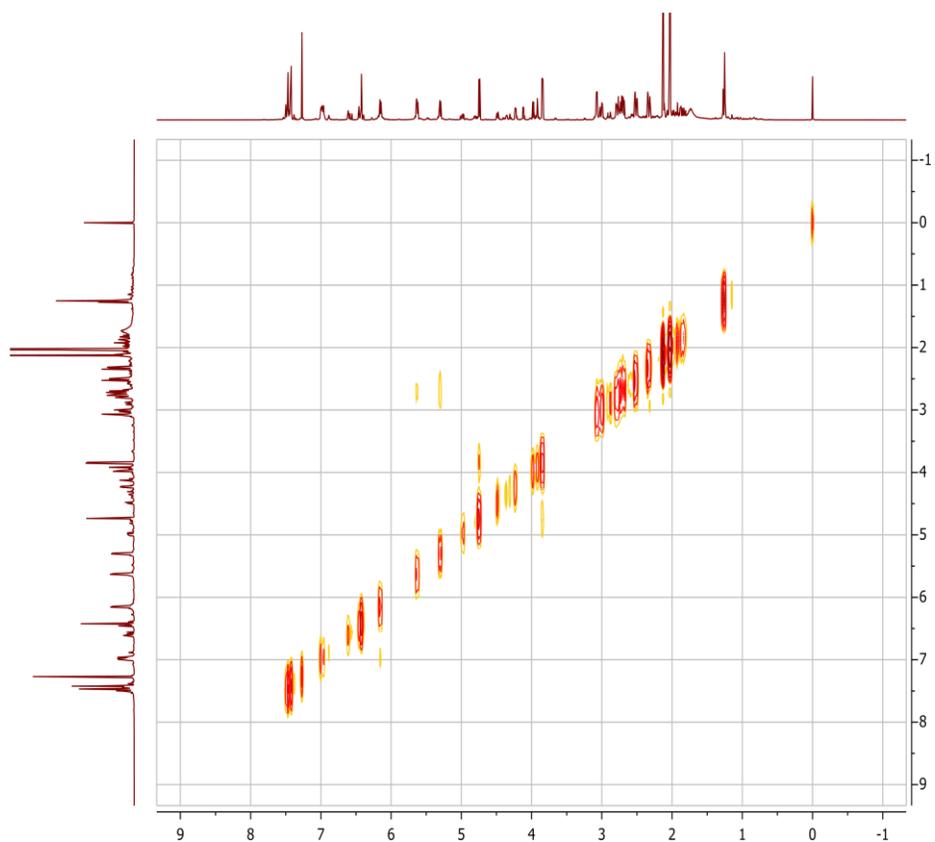
Anexo 4. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de SA (5)



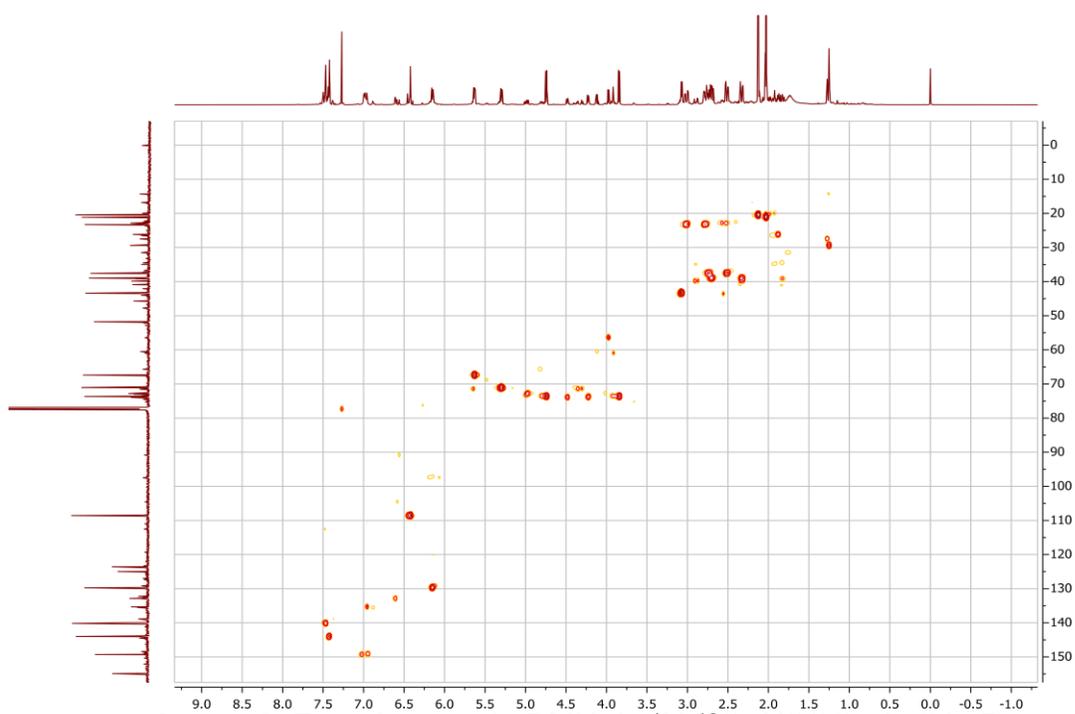
Anexo 5. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT de SA (5)



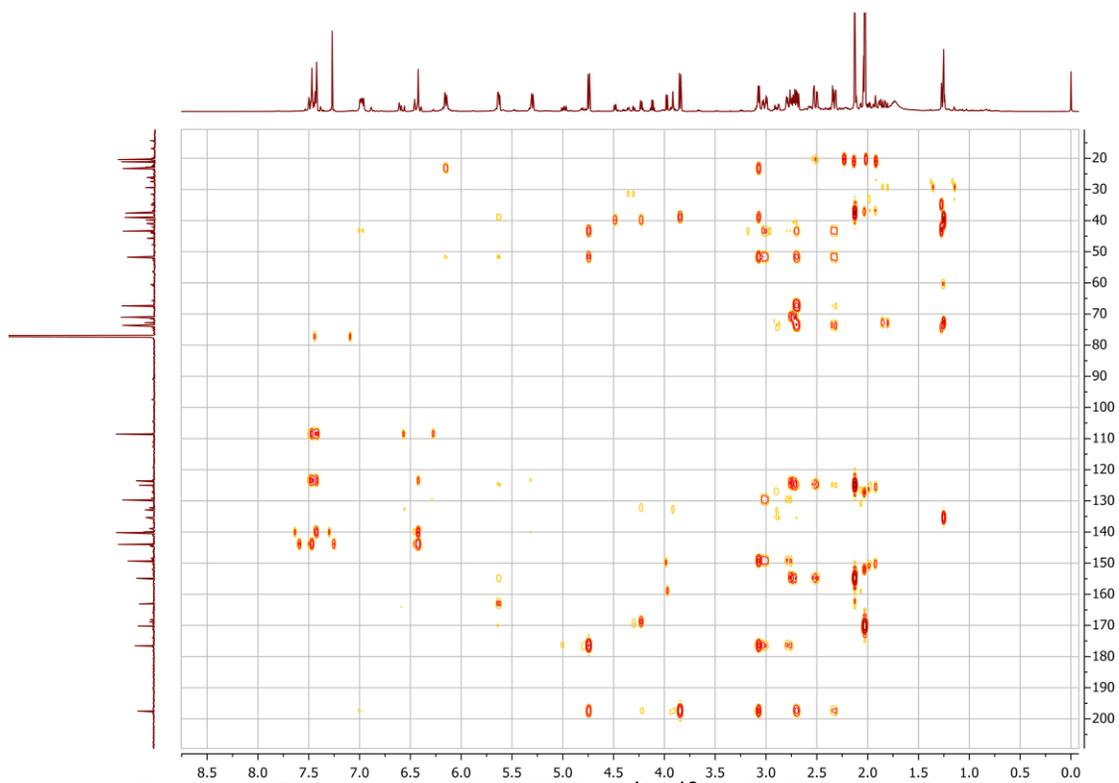
Anexo 6. Experimento de RMN de  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (COSY) de SA (5)



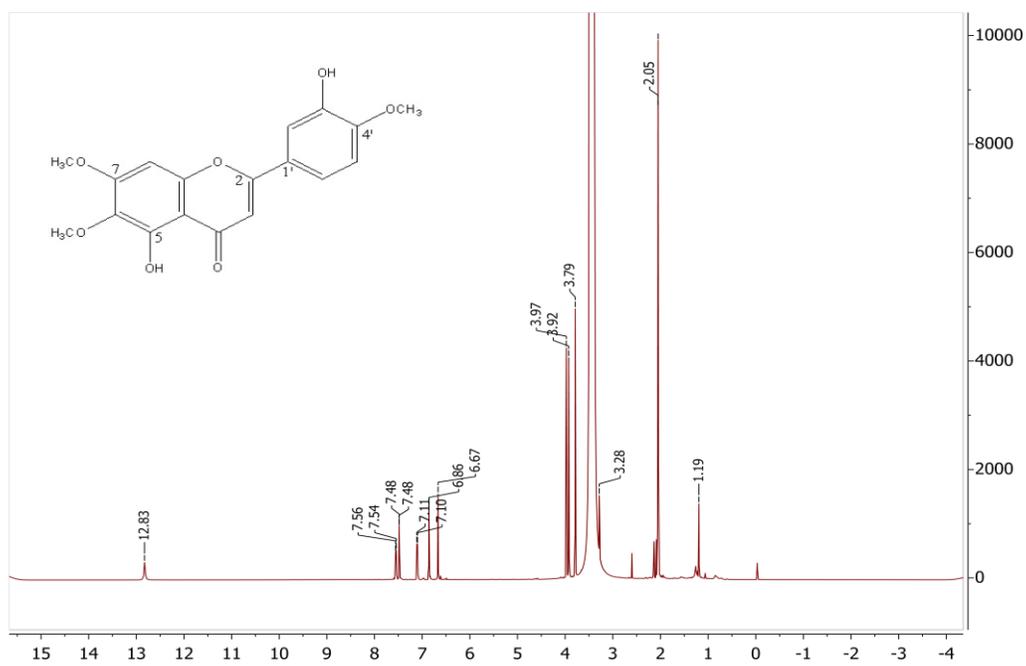
Anexo 7. Experimento de RMN de  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (NOESY) de SA (5)



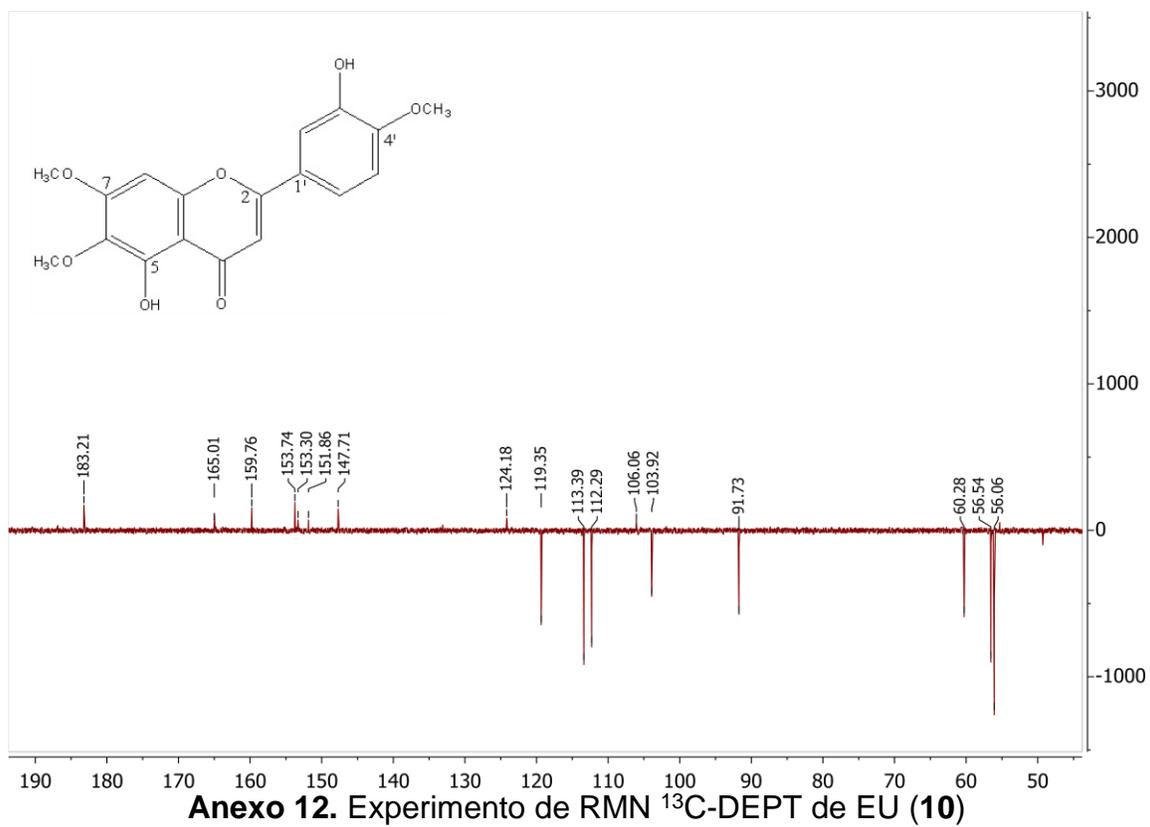
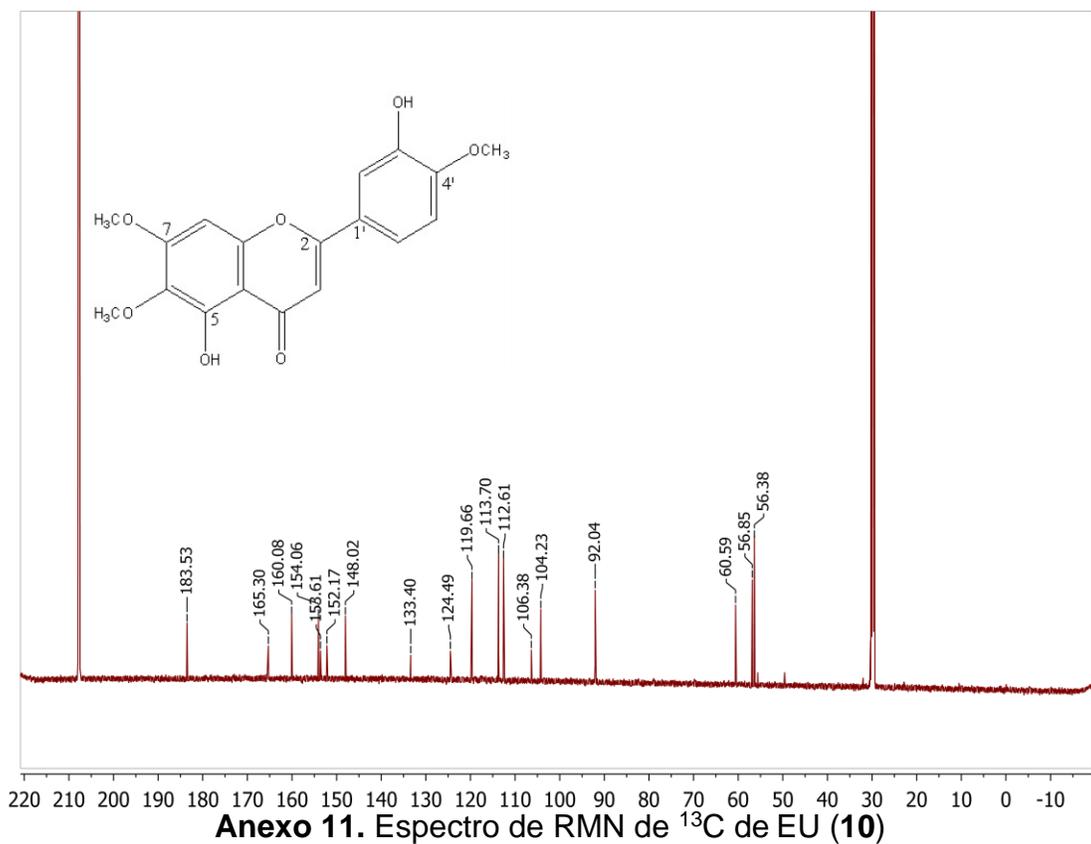
Anexo 8. Experimento de RMN de  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HSQC) de SA (5)

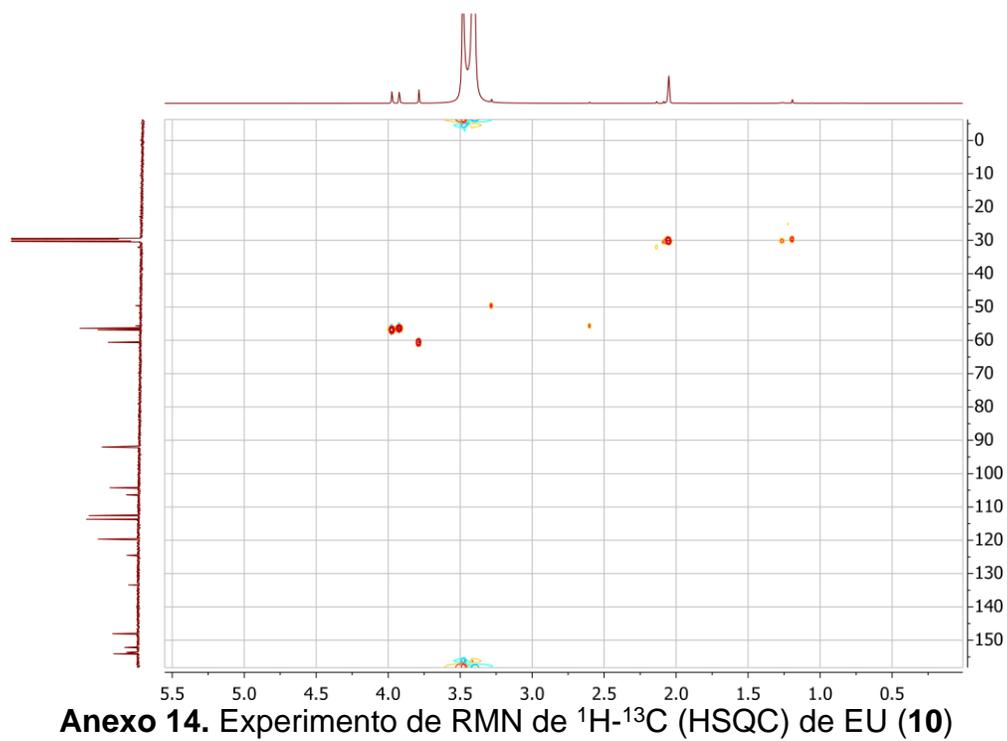
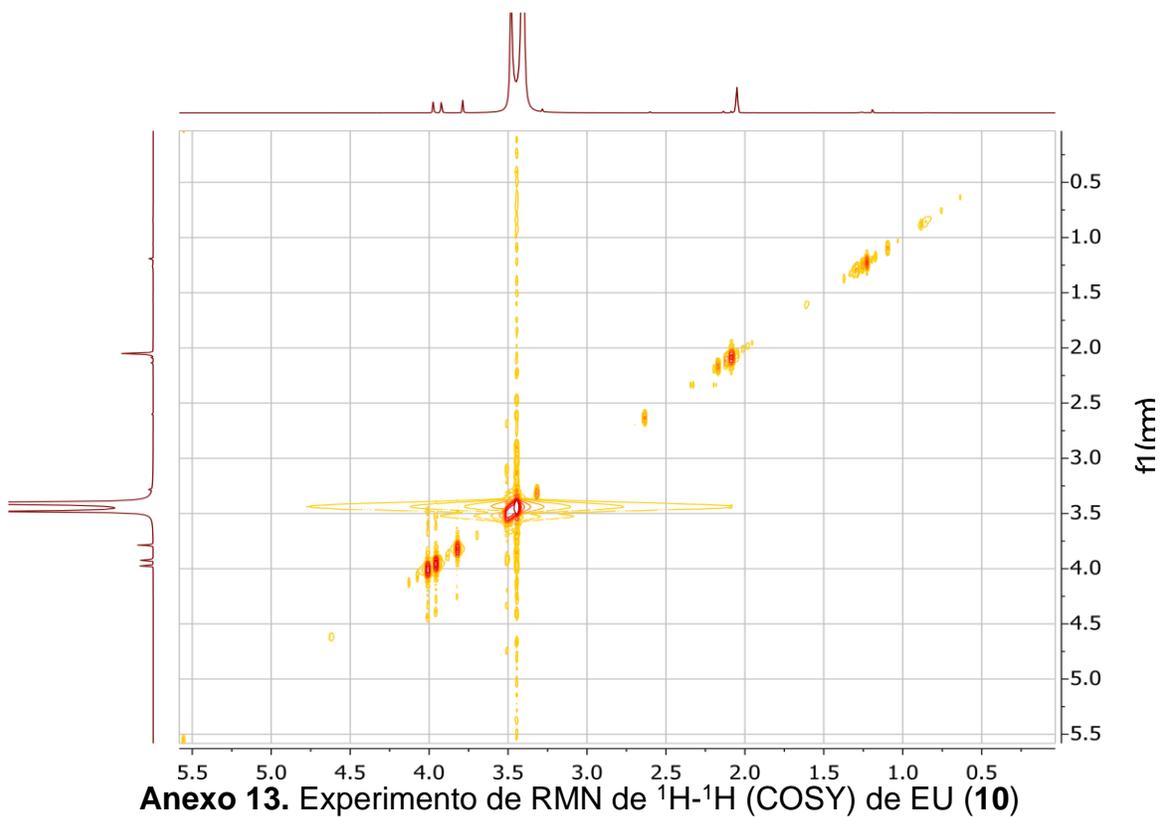


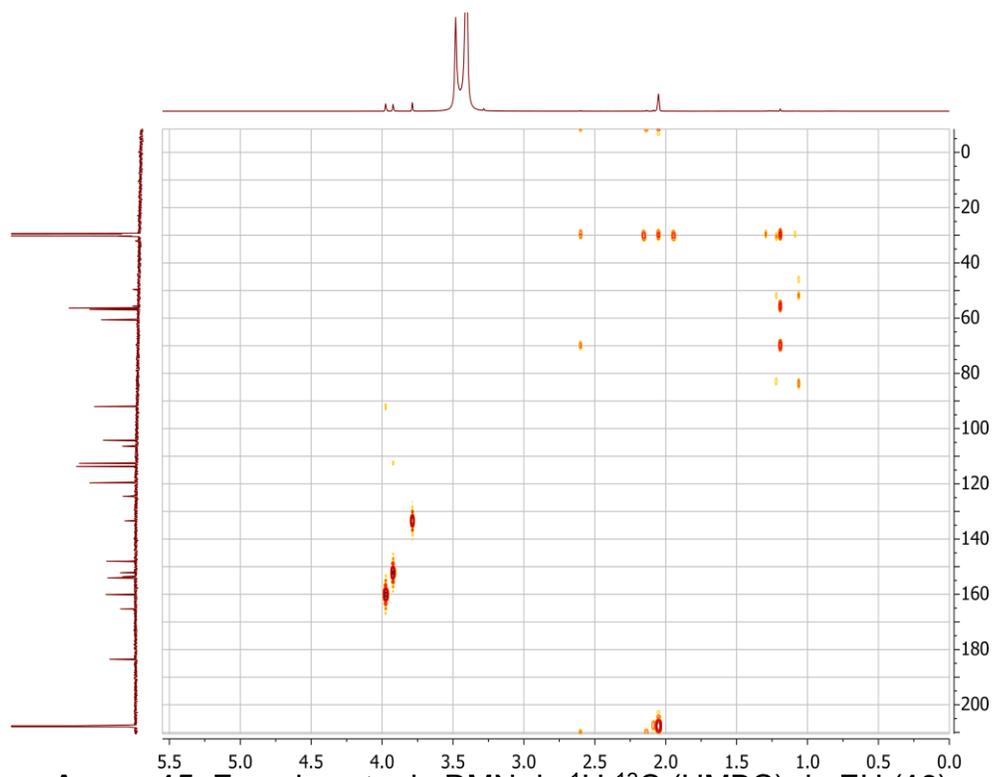
Anexo 9. Experimento de RMN de  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HMBC) de SA (5)



Anexo 10. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de EU (10)







**Anexo 15. Experimento de RMN de  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HMBC) de EU (10)**