

Efecto antiinflamatorio de la combinación de los extractos etanólicos de *Rosmarinus officinalis* y *Taxodium huegelii*¹⁶ en ratas Wistar usando un modelo de edema plantar

Anti-inflammatory effect of the combination with ethanol extracts of *Rosmarinus officinalis* and *Taxodium huegelii*¹⁶ in Wistar rats using a plantar edema model

Leslie Fernanda Onofre-Hurtado¹, Ruth Bustamante-García², Atonatiu Edmundo Gómez-Martínez², Marisol Rivera-Huerta³, Isabel Gracia-Mora⁴, Azucena Ibeth Carballo-Villalobos*⁴

¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM

²Departamento de Biología, Facultad de Química, UNAM

³Unidad de Experimentación Animal, Facultad de Química, UNAM

⁴Departamento de Química Inorgánica y Nuclear, Facultad de Química, UNAM

Departamento de Química Inorgánica y Nuclear. Conjunto E de la Facultad de Química, UNAM. Circuito de la Investigación Científica 70, Ciudad Universitaria, Coyoacán, 04510 Ciudad de México, México.
Teléfono: (+52) 55 5622 5347, correo-e (*e-mail*): azucenaicv@quimica.unam.mx

Lugar y dirección en donde se realizó la investigación: Unidad de Experimentación Animal/Unidad de Investigación Preclínica, Conjunto E de la Facultad de Química, UNAM. Circuito de la Investigación Científica 70, Ciudad Universitaria, Coyoacán, 04510 Ciudad de México, México

*Autora a quien debe dirigirse la correspondencia / *Author to whom correspondence should be addressed*

Recibido: Enero 15, 2023 / *Received: January 15, 2023*

Aceptado: Febrero 15, 2023 / *Accepted: February 15, 2023*

Resumen

El dolor se inicia por una lesión que da lugar a un proceso inflamatorio. El tratamiento para esta patología es difícil, pues no hay un solo tratamiento que dé solución a este proceso sin causar efectos adversos. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto antiinflamatorio de los extractos etanólicos de *R. officinalis* y *T. huegelii* a diferentes dosis individuales y en combinación en un modelo de edema plantar inducido por formalina al 1%, comparándolo con meloxicam como fármaco de referencia. Se utilizaron 168 ratas Wistar de ambos sexos (180±20 g de masa) y se midió el grado de inflamación con el equipo pletismómetro. En hembras, la administración vía esofágica del extracto etanólico de *R. officinalis* (R), produjo un efecto antiinflamatorio a partir de la dosis de 100 y hasta la dosis de 562.3 mg/kg. También en hembras, para el extracto de *T. huegelii* (A), se observó un efecto antiinflamatorio a la dosis de 562.3 mg/kg. Con respecto de la combinación, se produjo un efecto antiinflamatorio significativo en A70/R30 y A300/R10 mg/kg, obteniendo un efecto aditivo a menores dosis administradas que las observadas en el

¹⁶ Su nombre originario es ahuehuete, del náhuatl *ahuehuetl*, viejo del agua por *atl*=agua y *huéhuetl*=viejo. Árbol de la familia de las pináceas, taxodiáceas (*Taxodium mexicanum*; *Taxodium mucronatum* Ten.) especie de sabino, de muy larga vida. Crece de preferencia a la orilla de los ríos y suele estar cubierto de *pachtle* gris, planta epífita de la familia de las bromeliáceas que cuelga de la rama de los árboles, especialmente en los ahuehuetes (*Tillandsia usneoides* L., *Tillandsia recurvata* L.). que le da el aspecto de un viejo con canas (del náhuatl *pachtli*, hierba que se cría y cuelga de los árboles, Cabrera, 2002) [Nota de las(os) editor(es)] / *Its original name is ahuehuete, from the Nahuatl ahuehuetl, old man of water, for atl=water and huéhuetl=old. Tree of the family of the pináceas, taxodiáceas (Taxodium mexicanum; Taxodium mucronatum, Ten.) species of juniper, of very long life. It grows preferentially on the banks of rivers and is usually covered with gray pachtle, an epiphytic plant of the bromeliaceae family that hangs from the tree branch, especially in the ahuehuetes (Tillandsia usneoides, L., Tillandsia recurvata, L.). which gives him the appearance of an old man with gray hair (from Nahuatl pachtli weed that grows and hangs from trees) [Note of the editors]*

tratamiento individual para cada extracto. Para machos, la administración del extracto etanólico de *R. officinalis* a dosis 316.2 mg/kg y *T. huegelii* a dosis 562.3 mg/kg, así como las combinaciones A10/R100 y A50R50 mg/kg disminuyeron el grado de inflamación, siendo más eficaces que meloxicam. Estos hallazgos indican que los extractos etanólicos de *R. officinalis* y *T. huegelii* solos y en combinación tienen una eficacia antiinflamatoria significativa en el tratamiento del dolor inflamatorio agudo.

Palabras clave: Romero (*Rosmarinus officinalis*), ahuehuete (*Taxodium huegelii*), antiinflamación, edema plantar, extractos naturales

Abstract

The pain starts from an injury that gives rise to an inflammatory process. Treatment for this pathology is difficult, since there is no single treatment that provides a solution to this process without causing adverse effects. The objective of this study was to evaluate the anti-inflammatory effect of ethanolic extracts of *R. officinalis* and *T. huegelii* at different individual doses and in combination in a model of plantar edema induced by 1% formalin, comparing it with meloxicam as a reference drug. Wistar rats of both sexes (180±20 g mass) were used and the degree of inflammation was measured with the plethysmometer equipment (168 specimens). In females, the esophageal administration (oral route) of the ethanolic extract of *R. officinalis* (R) produced an anti-inflammatory effect from a dose of 100 to a dose of 562.3 mg/kg. Also in females, for the *T. huegelii* extract (A), an anti-inflammatory effect was observed at a dose of 562.3 mg/kg. Regarding the combination, a significant anti-inflammatory effect was produced in A70/R30 and A300/R10 mg/kg, obtaining an additive effect at lower doses administered than those observed in the individual treatment for each extract. For males, the administration of the ethanolic extract of *R. officinalis* at a dose of 316.2 mg/kg and *T. huegelii* at a dose of 562.3 mg/kg, as well as the combinations A10/R100 and A50R50 mg/kg decreased the degree of inflammation in the paw, being more effective than meloxicam. These findings indicate that ethanolic extracts of *R. officinalis* and *T. huegelii* alone and in combination have significant anti-inflammatory efficacy in the treatment of acute inflammatory pain.

Keywords: Rosemary (*Rosmarinus officinalis*), ahuehuete (*Taxodium huegelii*), anti-inflammation, plantar edema, natural extracts

INTRODUCCIÓN

El dolor es una experiencia sensorial y emocional desagradable que se asocia a algún tipo de lesión (Prado-Rodríguez, 2014). De los tipos de dolor, se tiene al dolor nociceptivo¹⁷ de tipo inflamatorio, es desencadenado por lesiones tisulares que dan lugar a una respuesta inflamatoria. En la forma aguda es causado por traumas (heridas, fracturas, roturas fibrilares, etc.), presiones intensas (isquemia), quemaduras, frío intenso (vasoconstricción) e infecciones, y en la forma crónica por patologías inflamatorias o autoinmunes (artritis reumatoide, lupus, etc).

Los estudios epidemiológicos que documentan el impacto del dolor en la población general son limitados. La mayoría de los hospitales de salud pública desconoce su prevalencia debido a que no se evalúa de manera sistemática, lo anterior trae como consecuencia la carencia de unidades de dolor agudo. Se ha sugerido que este problema de salud afecta del 25 al 29% de la población general a nivel internacional (Conn, 2016).

La prevalencia del dolor crónico aumenta con la edad. Es mayor en mujeres que en hombres y en sujetos de nivel socioeconómico bajo. Las localizaciones más frecuentes de dolor crónico incluyen espalda baja, rodillas, cabeza y cuello (Noriega-Borge, 2017).

Se ha demostrado que los medicamentos analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) producen diferentes grados de inhibición de la reacción inflamatoria y del dolor (Batlouni, 2010). Debido a su uso frecuente producen diversos efectos adversos, entre los más comunes se encuentran dolor abdominal, diarrea, náusea y vómito y úlceras gastrointestinales. Los corticoides son usados después de diagnosticar a un paciente por sus efectos antiinflamatorios, antialérgicos, inmunosupresores y antineoplásicos por lo que se medican como tratamiento de las enfermedades reumáticas,

¹⁷ Nota de los(as) editores(as): Algunos de los términos médicos de esta contribución fueron compilados en el Glosario para los(as) lectores(as) neófitos(as) y se pueden dirigir a la autora de correspondencia para cualquier duda adicional / *Editors' note: Some of the medical terms in this contribution were compiled in the Glossary for novice readers and you can contact the corresponding author for any additional questions*

colagenopatías, enfermedades alérgicas, dermatopatías entre otras (Serra et al., 2012). Sin embargo, los corticoides afectan casi todo el organismo, por ello las reacciones adversas, especialmente tras la terapia sistémica, son múltiples y variadas. De forma aguda se puede producir insuficiencia adrenal aguda por supresión brusca de la terapia corticoide crónica, situación que puede ser mortal, pues provoca desbalance autonómico (Aronson, 2015).

Dentro de la búsqueda de alternativas terapéuticas para el tratamiento del dolor y la inflamación se encuentran la medicina herbolaria y los productos naturales. Entre ellos, se puede citar a *Rosmarinus officinalis* y a *Taxodium huegelii*.

Rosmarinus officinalis (romero) es una de las especies aromáticas de mayor uso gracias a sus propiedades medicinales, comestibles y aromatizantes. Se le atribuyen propiedades carminativas, digestivas y antiespasmódicas. Además tiene propiedades coleréticas, colagogas y hepatoprotectoras. El efecto favorable que ejerce en la digestión se produce al actuar sobre varios niveles. En primer lugar, estimula la producción de los jugos gastrointestinales, además, relaja el músculo liso gastrointestinal, elimina posibles espasmos y favorece las secreciones (Kuklinski, 2000). La planta ejerce también un efecto diurético, antiinflamatorio, antiulcerogénico y antioxidante. Aunque en la literatura científica no se han descrito ensayos clínicos sobre estas propiedades farmacológicas, se han demostrado mediante ensayos "in vivo" e "in vitro", en ratas y cobayos, tanto su actividad colagoga, colerética y protectora hepática, como su efecto diurético. Algunos ensayos farmacológicos han permitido demostrar que el aceite esencial, algunos extractos y varios de sus componentes aislados, relajan las musculaturas lisas traqueales, intestinales y vasculares de distintas especies de animales (Bruneton, 2001; López-Luengo, 2008). En cuanto a la actividad antiinflamatoria de los principios activos del romero, se ha comprobado que el aceite esencial y el extracto inhiben significativamente la migración de leucocitos *in vivo* (Alcántara-Nogueira-de-Melo et al., 2011; López-Luengo, 2008). Reduce el número de leucocitos (glóbulos blancos) en el sitio de inflamación, resultando en una respuesta antiinflamatoria (Muñoz-Centeno, 2002; Rodríguez-Luna, 2017). El extracto de romero también inhibe otras sustancias pro-inflamatorias, tales como el óxido nítrico (NO) y los genes asociados con la inflamación (Benincá et al., 2011). Mientras que el carnosol y el ácido carnósico parecen ser particularmente importantes, la actividad antiinflamatoria del romero probablemente depende de un mecanismo sinérgico entre muchos de sus componentes (Alcántara-Nogueira-de-Melo et al., 2011, Mengoni et al., 2011). Estos estudios sugieren que el efecto antiinflamatorio de *Rosmarinus officinalis* es bastante efectivo. De hecho, se encontró que las actividades antiinflamatorias del carnosol puro y el ácido carnósico eran nueve veces más altas que el de indometacina, un fármaco antiinflamatorio común (Mengoni et al., 2011).

Taxodium huegelii (ahuehuete) es un árbol longevo (Flores-Martínez, 2008). Los estudios farmacológicos y químicos de esta planta son limitados. Los compuestos que se han aislado de la corteza de *Taxodium huegelii* son las biflavonas: 7,4-dimetilamentoflavona, podocarpusflavona y amentoflavona, de las cuales se han probado sus potentes efectos inhibidores sobre la catepsina B humana, proteasa que ha sido implicada en la patología de numerosas enfermedades, incluyendo artritis y cáncer (Pan et al., 2005; Zhang et al., 2005). Así mismo, en varios estudios científicos, al compuesto 3-O-β-D-glucósido de quercetina se le han comprobado efectos inhibitorios de la ciclooxigenasa, COX (O'Leary et al., 2004), que pueden explicar su efecto antiulcerante. La amentoflavona es antagonista de la bradicinina, BK en inglés (Pan et al., 2005) e inhibe la producción de NO en macrófagos (An et al., 2016, Woo et al., 2005), además de presentar propiedades anti-VIH (virus de inmunodeficiencia humana). El 3-O-β-D-glucósido de quercetina y la "sciadopitina"¹⁸ tienen actividad diurética y antifúngica (Krauze-Baranowska y Wiwart, 2003). Otros estudios han probado la actividad inhibidora del extracto acuoso obtenido de la parte aérea de *T. huegelii*, sobre el efecto

¹⁸ *Sciadopitys* es un género de coníferas endémicas de Japón. El único miembro vivo de la familia Sciadopityaceae es *Sciadopitys verticillata*, un fósil viviente. *Sciadopitys verticillata* (Thunb.) Siebold & Zucc. Sinónimos: *Taxus verticillata* Thunb. Nombres vulgares: *Japanese umbrella pine*, *koya-maqui*. Probablemente las autoras Miroslawa Krauze-Baranowska y Marian Wiwart, acuñaron este término por el nombre de la planta de donde fue aislado este compuesto, p. 67 de su contribución del año 2003 [Nota de las(os) editores(as)]

contráctil de noradrenalina (NA) en anillos de aorta aislada de la rata (AAAR) (Khabir et al., 1986, Mongrand et al., 2001, Ramos et al., 1984).

En cuanto a sus propiedades medicinales, el alquitrán del ahuehuete es antiséptico y posee la propiedad de anestesiar la mucosa de la boca, privándola del sentido del gusto hasta por una hora. A la resina, hojas y corteza se le atribuyen varias propiedades medicinales (BDMTM, 2009). Por ejemplo, se usa para padecimientos como la diarrea, hemorroides, hidropesía (Márquez-Alonso y Lara-Ochoa, 1999). La resina se usa como astringente y cicatrizante para curar heridas, úlceras, enfermedades cutáneas, dolor de muelas, gota, problemas de tipo circulatorio, dolores de cabeza y dolor de tipo reumático. La infusión de la corteza se usa como emenagogo y diurético (Carranza-González, 1992).

Actualmente, en la práctica clínica, ha aumentado el uso de interacciones entre fármacos pues se ha visto que, usando menor dosis de cada uno de ellos, se incrementa la eficacia reduciendo efectos adversos. Por este motivo se han estado estudiando las interacciones entre fármacos sintéticos con fármacos de origen natural donde también se han visto efectos favorables (Alonso-Castro et al., 2020, Labrada-García et al., 2017).

Debido al potencial terapéutico de los extractos de romero y ahuehuete, esta investigación busca demostrar los efectos antiinflamatorios del extracto de ahuehuete solo y en combinación con el extracto de romero, del cual se conoce su efecto analgésico y antiinflamatorio en distintos estudios *in vivo* e *in vitro*, esperando que solo y en combinación con el romero produzca un efecto potenciador para nuevos tratamientos de dolor e inflamación. Por tanto, se evaluó el efecto antiinflamatorio de la combinación *Rosmarinus officinalis* y *Taxodium huegelii* en un modelo de edema plantar inducido por la administración intraplantar de formalina al 1% en ratas Wistar de ambos sexos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

Ratas de ambos sexos cepa Wistar de 180±20 g de masa, las hembras son nulíparas y no gestantes, mantenidos a temperatura controlada de 22±2°C, humedad relativa del 40-70%, ciclo de luz/oscuridad de 12 horas, agua y alimento *ad libitum*.

Todo el protocolo experimental siguió las recomendaciones de la Norma Oficial Mexicana Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio (NOM-062-ZOO-1999), y de los Lineamientos y Estándares Éticos para la Investigación del Dolor Experimental en Animales, siendo aprobado por el Comité para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL, OFICIO/FQ/CICUAL/371-2/19) de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, UNAM.

Material vegetal

Las plantas en estudio *Rosmarinus officinalis* y *Taxodium huegelii* se recolectaron en el campo en Santo Domingo Tianguistengo, Oaxaca, México.

Preparación de los extractos etanólicos

Las hojas y flores de ambas plantas se separaron del tallo, se colocaron en frascos de vidrio a los cuales se les agregó etanol químicamente puro y se almacenaron a temperatura ambiente, agitándolos todos los días por un lapso de 20 días para su maceración.

Cumplido ese tiempo, se filtraron con un papel Whatmann (20-25 µm) y se evaporó el etanol usando un equipo de laboratorio rotatorio a vacío a 40°C (Marca Büchi R-210 con tina de baño caliente B-491). Los dos productos finales se dejaron secar a temperatura ambiente y se almacenaron en condiciones asépticas.

Preparación del producto de prueba

Para la administración de los tratamientos, se tomó en cuenta la masa corporal y volumen de administración requerido para la vía esofágica. Se usó un volumen de 0.1 mL/100 g de masa corporal en función de la dosis. El vehículo, V, utilizado fue CMC al 1% en agua destilada (ver Glosario).

Se utilizó meloxicam (ver Glosario) como fármaco de referencia a una dosis de 10 mg/kg de masa corporal (Aguilar-Mariscal, 2008). Todas las soluciones fueron preparadas el día de su uso. Este fue el grupo de referencia, M, tanto para ratas macho como para hembras.

Grupos experimentales

Cada grupo experimental cuenta con una $n \geq 6$ animales para cada sexo. Para ambos sexos se tuvieron grupos controles, C (a los que no se les dio ningún tratamiento) y vehículo, V, con administración de CMC al 1% en agua inyectable. Para ratas hembra se formaron 5 grupos para la administración del extracto de *R. officinalis* a las dosis de 10, 56.2, 100, 562.3 y 1000 mg/kg por vía esofágica. Otros 5 grupos para el extracto etanólico de *T. huegelii* tuvieron dosis de 10, 31.62, 100, 300, 562.3 y 1000 mg/kg por vía esofágica. En el caso de las ratas macho recibieron la administración del extracto etanólico de romero en dosis de 10, 100, 316.2, 562.3 y 1000 mg/kg por vía esofágica y de extracto de ahuehuate en dosis de 10, 100, 316.2, 562.3 y 1000 mg/kg por vía esofágica. Para definir las concentraciones de la combinación de los extractos, se evaluaron las dosis que hubieran demostrado los menores efectos en el 50% de los resultados con base en las curvas dosis-respuesta (CDR) individuales para cada extracto. Esta evaluación dio: A300+R10 (donde A es ahuehuate y R es romero), A70+R30 y A50+R50 para hembras y A10+R100, A70+R30 y A50+R50 para machos y comparando su efecto antiinflamatorio con el grupo control (meloxicam administrado por vía esofágica).

Inducción del edema plantar con formalina al 1%

Inmediatamente después de haber administrado los distintos tratamientos, se indujo el edema plantar con una jeringa para insulina. Se depositaron 50 μ L de formalina al 1% para inducir la inflamación de la extremidad introduciendo la aguja en el inicio y al final del cojinete de la extremidad posterior derecha.

Medición de la eficacia antiinflamatoria

A todos los animales se les rasuró el miembro posterior derecho, donde se les marcó una línea horizontal a nivel del carpo con marcador indeleble no tóxico para que la medición fuera homogénea en todos los sujetos de prueba. La medición de la eficacia antiinflamatoria se obtuvo al evaluar el desplazamiento de volumen en el pletismómetro.

Al inicio se midió el volumen basal antes de la administración del tratamiento y la inducción del edema, introduciendo la extremidad en estudio en la vasija volumétrica donde se produjo un cambio en el nivel del líquido y el sensor detectó el volumen desplazado. Una vez que se registró el desplazamiento de volumen de agua, se retiraba al espécimen. Se obtuvieron 6 registros consecutivos por animal. Este mismo procedimiento se realizó a los 30 y 120 minutos posteriores a la administración de los respectivos tratamientos.

En farmacología es usual emplear el error estándar (EE), para obtener correlaciones entre variables. Por esta razón en esta investigación las mediciones de la eficacia inflamatoria se expresaron como la media \pm EE con respecto a diferentes variables (Tiempo y dosis).

Procedimientos terminales

Al final del experimento, se realizó la eutanasia de los especímenes en una cámara de CO₂, según lo descrito en la Norma Oficial Mexicana Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio NOM-062-ZOO-1999 (DOF, 1999) (Ochoa-Muñoz, 1999) y el procedimiento normalizado de operación para la eutanasia de roedores de laboratorio.

Análisis estadísticos

Los análisis estadísticos se realizaron con el programa Sigma Plot Versión 13.0. Para la estadística descriptiva se obtuvo promedio y error estándar (EE). Para la comparación de todos los grupos se aplicó la prueba de análisis de varianza (andeva) de dos vías. Para las curvas dosis-respuesta (CDR) se realizó un andeva de una vía, con $p < 0.05$, empleando la prueba *post-hoc* de Tukey. Para la comparación de los resultados de las combinaciones de extractos de machos y hembras se utilizó la prueba T-Student.

Los datos se presentan como la media \pm el error estándar (EE). Se consideró el punto cero de cada grupo de datos como punto inicial. A los 30 y 120 minutos se obtuvieron las diferencias entre el volumen experimental (V_{Exp}) y el volumen inicial (V_I), ($V_{Exp} - V_I$), con la finalidad de eliminar la variable de masa corporal. De esta manera, se compararon solamente las diferencias de volumen. Para determinar la diferencia de % del efecto antiinflamatorio entre los tratamientos se calculó el área bajo la curva (ABC) utilizando el método de los trapecios.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ratas hembra

Actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de *R. officinalis*

En la Figura 1 se presenta el efecto antiinflamatorio del extracto de romero mediante la diferencia de volúmenes ($V_{Exp} - V_I$) para cada espécimen. Los animales tratados con dosis de 316.2 y 100 mg/kg (con un desplazamiento de 0.13 mL) tuvieron el mayor efecto antiinflamatorio en comparación con el grupo V (CMC al 1% en agua inyectable) mostrando diferencias significativas a los 30 minutos, mientras que, a los 120 minutos, el fármaco de referencia (0.14 mL) mostró diferencia significativa en comparación con el grupo del vehículo V.

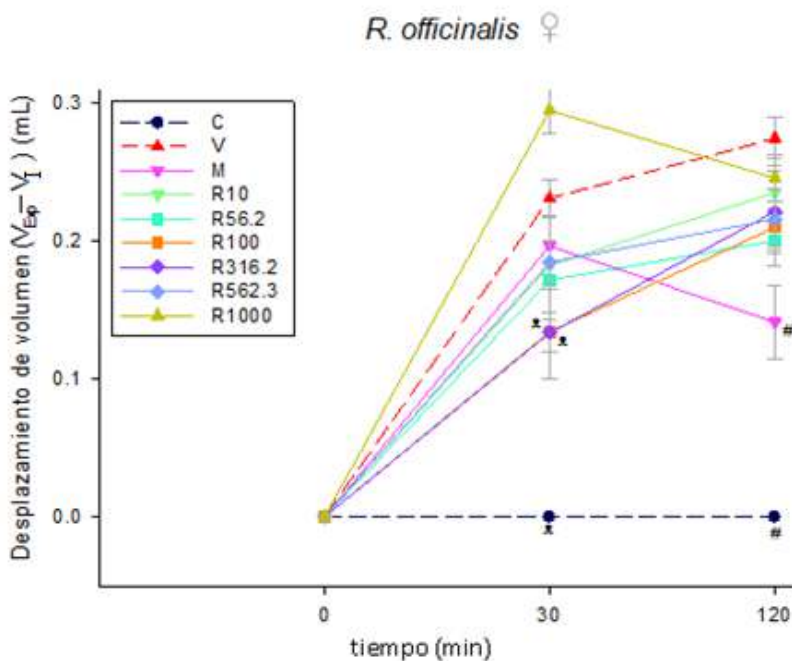


Figura 1. Efecto antiinflamatorio del extracto de *R. officinalis* en ratas hembra, medido con el volumen desplazado ($V_{Exp} - V_I$). Cada punto representa el valor promedio \pm EE de los grupos C=control, V=vehículo, M=meloxicam, R=extracto de romero a las dosis en estudio (10, 56.2, 100, 562.3 y 1000 mg/kg); n=6 ratas hembra. Hubo diferencias significativas ($p < 0.05$) a los 30 minutos (*) para las dosis de 316.2, 100 y Control vs. Vehículo. A los 120 minutos, M y C vs. V mostraron diferencia significativa (# $p < 0.05$). ANDEVA de dos vías de medidas repetidas, prueba *post hoc* Tukey

Actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de *T. huegelii*

El efecto antiinflamatorio del extracto ahuehuate a través de la diferencia del volumen desplazado ($V_{Exp}-V_I$) se presenta en la Figura 2. Se observa que la dosis de 300 mg/kg muestra el mayor efecto antiinflamatorio en comparación con el vehículo a los 30 minutos (0.15 mL), efecto que se incrementa a los 120 minutos (0.097 mL). Esta fue la dosis más cercana al grupo control. A los 120 minutos las dosis 1000 (0.15 mL), 562.3 (0.16 mL) y 100 mg/kg (0.18 mL) del extracto, así como el fármaco de referencia meloxicam (0.14 mL) presentan un efecto antiinflamatorio, el cual es estadísticamente significativo en comparación con el grupo vehículo.

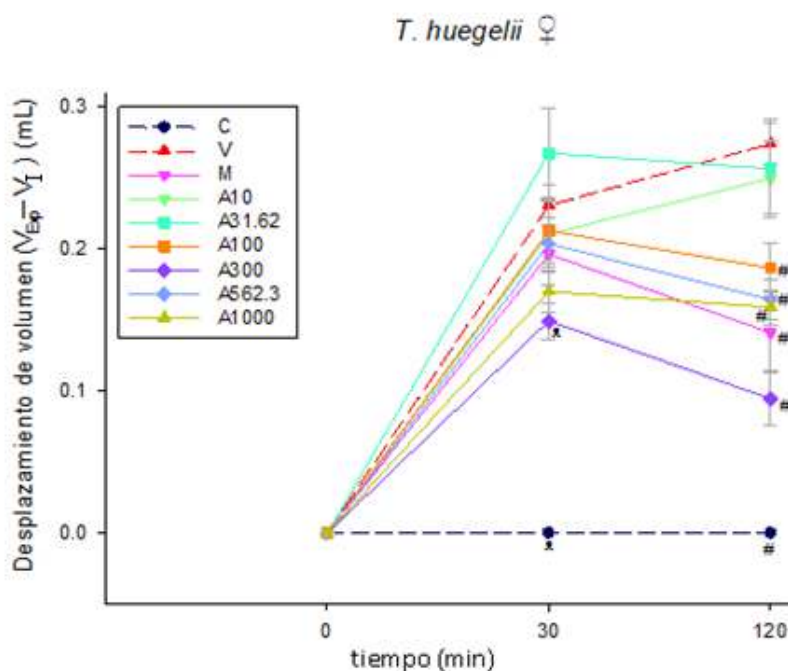


Figura 2. Efecto antiinflamatorio del extracto de *T. huegelii* medido con el volumen desplazado ($V_{Exp}-V_I$). Cada punto representa la media \pm EE de los grupos C=control, V=vehículo, M=meloxicam y A= ahuehuate a 10, 31.62, 100, 300, 562.3 y 1000 mg/kg; n=6 ratas hembra. A los 30 minutos *diferencias significativas a $p<0.05$ para 300 mg/kg y control vs. Vehículo. A los 120 minutos # $p<0.05$ 1000, 562.3, 300, 100 mg/kg, meloxicam y control vs. Vehículo. ANDEVA de dos vías de medidas repetidas, prueba *post hoc* Tukey

Comparación de la actividad antiinflamatoria de los extractos etanólicos de *R. officinalis* y *T. huegelii*

Se presentan las curvas dosis-respuesta, CDR, del efecto antiinflamatorio producido por los extractos etanólicos de romero y ahuehuate en comparación con el fármaco de referencia meloxicam. Se observa que, para romero, hay diferencias significativas a partir de la dosis de 100 mg/kg (67%), efecto que al probar la dosis de 316.2 mg/kg (62.2%) y 562.3 mg/kg (65%) permanece sin cambio. Para el extracto etanólico de ahuehuate se observa un efecto que aumenta en proporción con la dosis, con un efecto significativo para la dosis 562.3 mg/kg (63.4%). El efecto para ambos extractos de la dosis de 1000 mg/kg decae.

Para el caso de meloxicam, se observa que la dosis de 10 mg/kg alcanza un efecto máximo de 47.6% mientras que este mismo efecto se obtiene para el romero a partir de la dosis 56 mg/kg (52.7%) y para el ahuehuate a partir de la dosis 316.2 mg/kg (50.3%). Como se explicó anteriormente, estos dos extractos alcanzan un mayor nivel de efecto que el fármaco de referencia a las dosis recomendadas en animales (Figura 3).

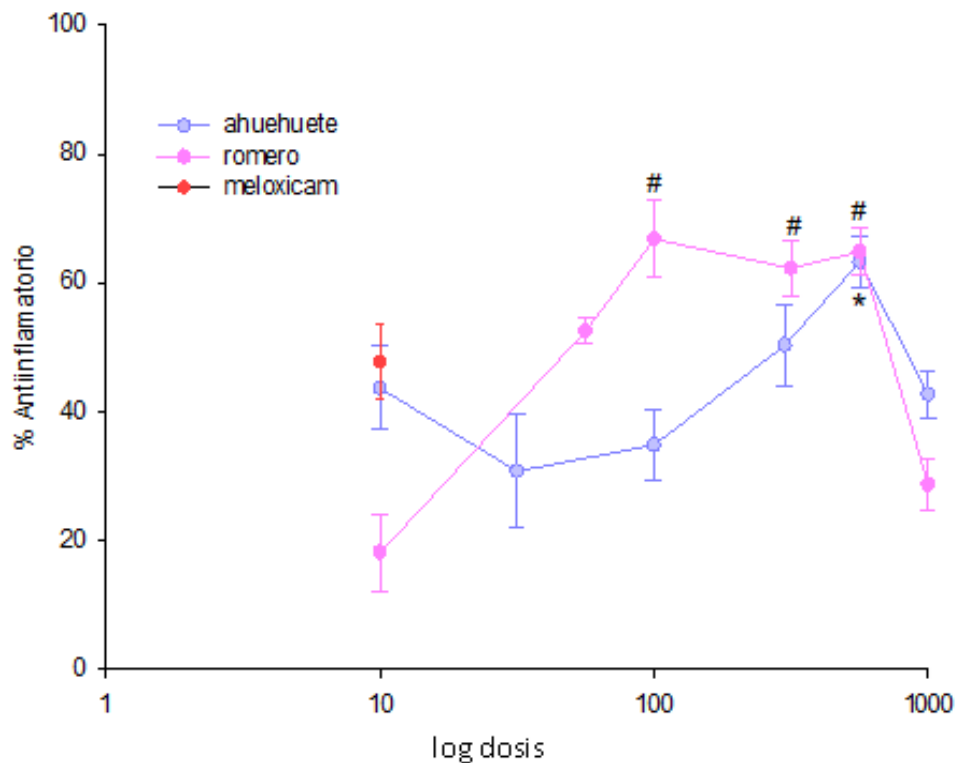


Figura 3. Curvas dosis respuesta del % de efecto antiinflamatorio de los extractos etanólicos de *R. officinalis* (romero) y *T. huegelii* (ahuehuete) vs. Meloxicam como fármaco de referencia todos administrados vía esofágica. Cada punto representa la media del % de efecto antiinflamatorio \pm EE, n=6 ratas hembra. Diferencias significativas a * $p < 0.05$ para *R. officinalis* (562.3mg/kg) vs. Vehículo; # $p < 0.05$ para *T. huegelii* a las dosis de 562.3, 316.2 y 100 mg/kg vs. Vehículo. Prueba Kruskal Wallis, *post hoc* Tukey

Ratas hembra: Administración de combinaciones del extracto de *R. officinalis* y *T. huegelii*

La dosis del extracto de *R. officinalis* y *T. huegelii* para las combinaciones fueron 10, 30 y 50 mg/kg y 50, 70 y 300 mg/kg, respectivamente. Las combinaciones se realizaron de la siguiente manera: A300/R10, A70/R30 y A50/R50 mg/kg (Figura 4). El % del efecto antiinflamatorio de las dosis teóricas se calculó con la ecuación de regresión lineal obtenida de las curvas dosis respuesta (CDR) y estas dosis se compararon con las dosis experimentales.

La combinación A50/R50 mg/kg teórico tiene un efecto antiinflamatorio de 81.84% en comparación con su combinación experimental A50/R50E, que tuvo un 45.30% de efecto antiinflamatorio siendo significativamente diferentes dichos efectos antiinflamatorios entre ellas ($p=0.05$).

La combinación experimental A70/R30 mg/kg (80.8%), muestra un % de efecto antiinflamatorio mayor que las otras dosis experimentalmente probadas, siendo equieficaz en comparación con su combinación teórica (77.3%).

Al comparar la respuesta antiinflamatoria experimental de las combinaciones con su suma teórica, para poder determinar sinergismo de tipo sub-aditivo, aditivo o supra-aditivo, las combinaciones A300/R10 y A70/R30 mg/kg causaron una respuesta de tipo aditiva y la combinación A50/R50 mg/kg arrojó una respuesta con efecto sinérgico sub-aditivo (Figura 4).

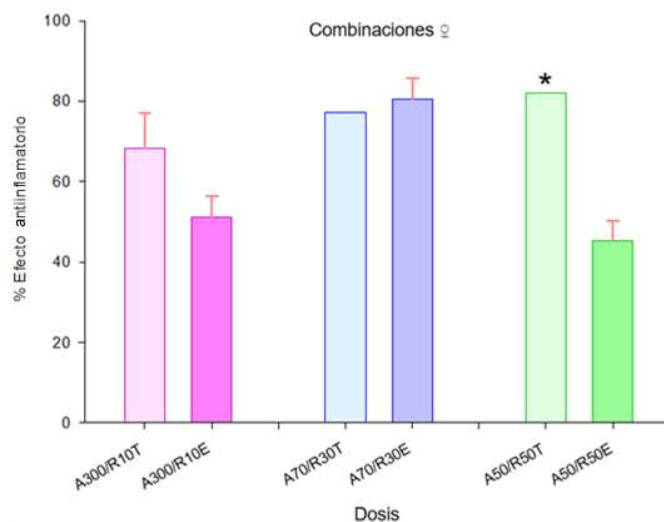


Figura 4. Efecto antiinflamatorio de la combinación de los extractos etanólicos de *R. officinalis* (romero) y *T. huegelii* (ahuehuete) vía esofágica en comparación a su suma teórica. Donde ahuehuete (A), romero (R), teórica (T) y experimental (E), los números a lado de las letras son las dosis (mg/kg) evaluadas. Las barras representan la media del % de efecto antiinflamatorio \pm EE de al menos 6 repeticiones. Diferencias significativas * $p < 0.05$ A50/R50T mg/kg vs. A50/R50E mg/kg; t- Student

Ratas macho

Actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de *R. officinalis*

Se presenta el curso temporal del efecto antiinflamatorio del extracto de romero en ratas macho a través de la diferencia del volumen desplazado ($V_{Exp} - V_T$), en donde las dosis de 316.2 mg/kg muestran un efecto antiinflamatorio a partir de los 30 minutos (0.09 mL) y disminuyen a los 120 minutos (0.17 mL). La dosis de 10 mg/kg alcanza un efecto igual que el del grupo control a los 120 minutos y, a este mismo tiempo, la dosis de 100 mg/kg (0.16 mL) muestra un efecto significativo en comparación con el grupo vehículo. En cuanto al fármaco de referencia meloxicam, no presentó resultados significativos en ninguno de los tiempos evaluados (Figura 5).

Actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de *T. huegelii*

Se presenta el curso temporal del efecto antiinflamatorio del extracto de ahuehuete a través de la diferencia del volumen desplazado ($V_{Exp} - V_T$). Los animales tratados con la dosis 562.3 mg/kg (0.06 mL) presentaron mayor efecto significativo a los 30 minutos, efecto que se mantiene a los 120 minutos (0.10 mL) y en ambos tiempos tiende a tener efectos similares al del grupo control (Figura 6).

Comparación de la actividad antiinflamatoria de los extractos etanólicos de *R. officinalis* y *T. huegelii*

En la Figura 7 se muestran las curvas dosis-respuesta del efecto antiinflamatorio producido por los extractos etanólicos de romero y ahuehuete en comparación con el fármaco de referencia meloxicam. Se observa que, para romero, el valor es estadísticamente significativo para la dosis 316.2 mg/kg mientras que para ahuehuete es significativo a la dosis de 562.3 mg/kg, siendo estas dosis las responsables de producir el efecto máximo del 59.8 y 73.6%, respectivamente.

Al comparar con el efecto obtenido de meloxicam se observa que la dosis de 10 mg/kg alcanza un efecto máximo de 20.92% mientras que este mismo efecto se obtiene para el romero y ahuehuete a partir de la misma dosis de 10 mg/kg.

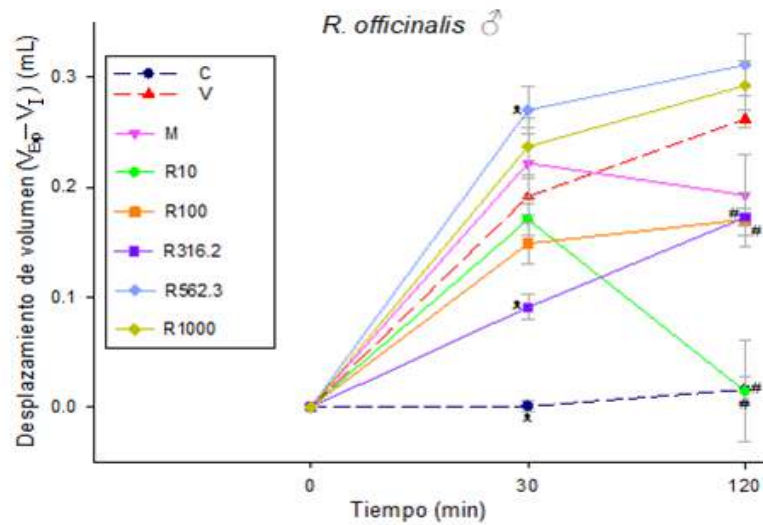


Figura 5. Curso temporal del efecto antiinflamatorio del extracto de *R. officinalis* a través de la diferencia del volumen desplazado ($V_{Exp} - V_1$) en la inflamación inducida por la administración de formalina al 1% vía intraplantar (i.pl.). Cada punto representa la media \pm EE de los grupos C=control, V=vehículo, M= meloxicam a 10 mg/kg, R=romero a las dosis de 10, 100, 316.2, 562.3 y 1000 mg/kg; n=6 ratas macho. A los 30 minutos diferencias significativas a * $p < 0.05$ para *R. officinalis* (316.2 mg/kg) y control vs. Vehículo. A los 120 minutos # $p < 0.05$ *R. officinalis* a las dosis de 316.2, 100, 10 mg/kg y control vs. Vehículo. ANDEVA de dos vías de medidas repetidas, prueba *post hoc* Tukey

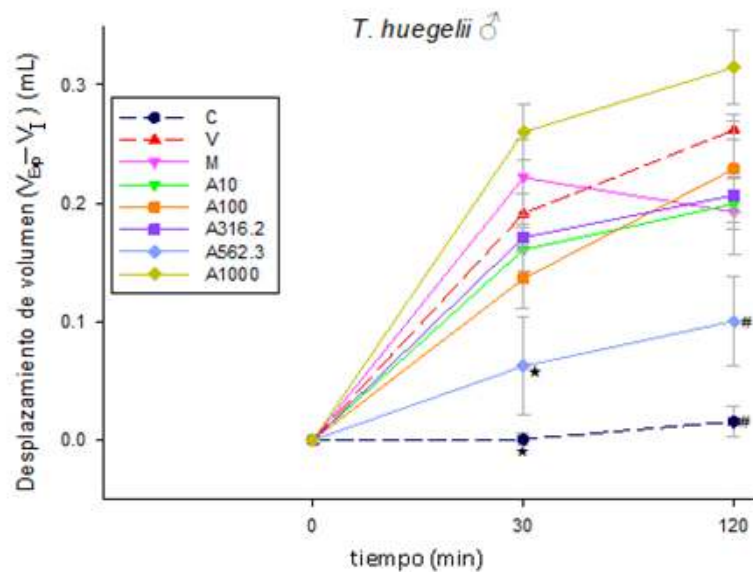


Figura 6. Curso temporal del efecto antiinflamatorio del extracto de *T. huegelii* a través de la diferencia del volumen desplazado ($V_{Exp} - V_1$) en la inflamación inducida por la administración de formalina al 1% intraplantar (i.pl.). Cada punto representa la media \pm EE de los grupos C=control, V=vehículo, M= meloxicam a 10 mg/kg, A=ahuehuete a las dosis de 10, 100, 316.2, 562.3 y 1000 mg/kg; n=6 ratas macho. A los 30 minutos, diferencias significativas a * $p < 0.05$ de *T. huegelii* (562.3 mg/kg) y control vs. Vehículo y a los 120 minutos diferencias significativas # $p < 0.05$ de *T. huegelii* (562.3 mg/kg) y control vs. Vehículo. ANDEVA de dos vías de medidas repetidas, prueba *post hoc* Tukey

Al probar la dosis de 562.3 mg/kg en romero y 1000 mg/kg en ahuehuete el efecto decae. Lo cual pudiera deberse a la desensibilización de receptores en el que a través de la internalización de los

mismos no permite que se siga uniendo a su ligando teniendo disminución en el efecto (Alcántara-Montero et al., 2019, Gil-Martín et al., 2014).

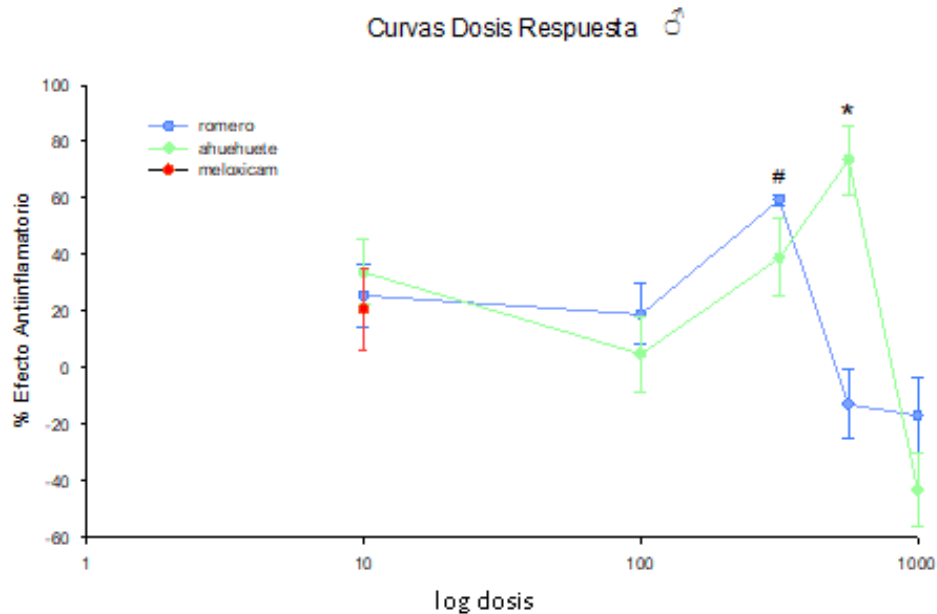


Figura 7. Curva dosis respuesta del % de efecto antiinflamatorio de los extractos etanólicos de *R. officinalis* (romero), *T. huegelii* (ahuehuete), vs. Fármaco de referencia meloxicam. Cada punto representa la media del % de efecto antiinflamatorio \pm EE; n=6 ratas macho. Diferencias significativas a # $p<0.05$ para *R. officinalis* (316.2 mg/kg) vs. Vehículo y * $p<0.05$ para *T. huegelii* (562.3 mg/kg) vs. Vehículo. ANDEVA de una vía *post hoc* Tukey

Administración de combinaciones del extracto de *R. officinalis* y *T. huegelii*

La dosis del extracto de romero y ahuehuete para las combinaciones fueron 30, 50 y 100 mg/kg y 10, 50 y 70 mg/kg, respectivamente. Las combinaciones se realizaron de la siguiente manera: A10/R100, A70/R30 y A50/R50 mg/kg vía esofágica (Figura 8). Las dosis teóricas se obtuvieron de la suma del efecto arrojado experimentalmente de cada una de estas y se compararon con las dosis experimentales.

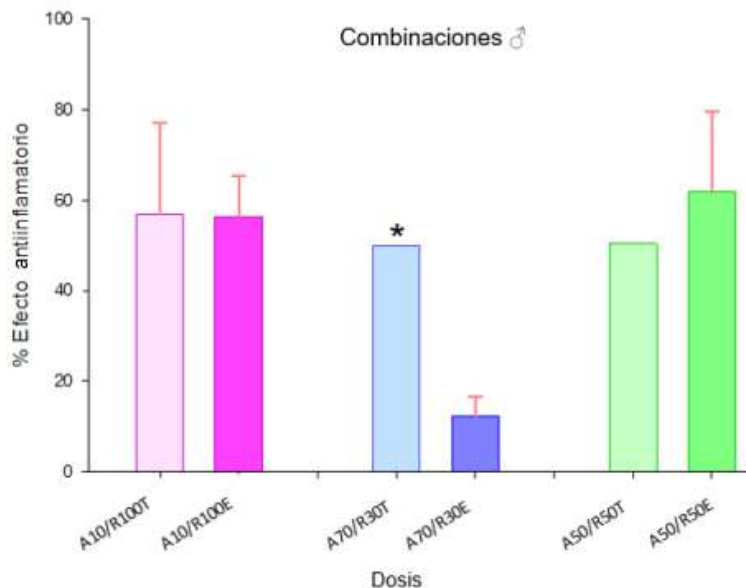


Figura 8. Efecto antiinflamatorio de la combinación de los extractos etanólicos de *R. officinalis* (romero) / *T. huegelii* (ahuehuete) vía esofágica en comparación con su suma teórica. Donde ahuehuete (A), romero (R), teórica (T) y experimental (E), los números a lado de las letras son las dosis (mg/kg) evaluadas. Las barras representan la media del % del efecto antiinflamatorio \pm EE de al menos 6 animales. Diferencias significativas * $p<0.05$ A70/R30T vs. A70/R30E; t- Student

La combinación experimental A50/R50E mg/kg vía esofágica (61.9%) muestra diferencia significativa ($p=0.05$) con el resto de las combinaciones experimentales A10/R100 (56.86%) y A70/R30 (12.3%) y con la suma teórica de esta misma dosis A50/R50T (50.4%), de tal manera que la dosis que tuvo un mayor efecto antiinflamatorio fue la dosis A50/R50E.

Al comparar la respuesta antiinflamatoria experimental de las combinaciones con sus sumas teóricas, las combinaciones A10/R100 y A50/R50 mg/kg teóricos produjeron un efecto de tipo aditivo al ser equi-eficaces con su resultado experimental, mientras que la dosis A70/R30 mg/kg teórico dio una respuesta sub-aditiva al ser significativamente diferente a su suma experimental (Figura 8).

DISCUSIÓN FINAL

Esta investigación se dio a la tarea de probar y demostrar los efectos antiinflamatorios del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* y *Taxodium huegelii* administrados solos y en combinación. El romero es una planta de la cual ya se han reportado sus efectos antiinflamatorios. Sin embargo, hasta el momento, no se tiene evidencia científica respecto a las propiedades antinociceptivas y antiinflamatorias del ahuehuete, así como la interacción de estos extractos.

La respuesta inflamatoria se evaluó con ayuda del equipo pletismómetro, el cual mide los pequeños cambios en el volumen del agua, es decir, el desplazamiento de agua producido por la inmersión de la pata del espécimen estudiado, antes y después de la inducción inflamatoria. La importancia de este equipo principia en detectar posibles propiedades antiinflamatorias de las sustancias de prueba.

Los resultados experimentales dan evidencia de que la administración aguda del extracto de romero en hembras produce una respuesta antiinflamatoria significativa a los 120 minutos a partir de la dosis de 100 mg/kg. En machos se observó un efecto significativo a partir de la dosis de 10 mg/kg, en donde a la dosis de 316.2 mg/kg, este efecto se mantiene después de 2 horas de haber sido administrado. En ambos sexos el efecto antiinflamatorio decae a partir de la dosis de 562.3 mg/kg. Al analizar nuestros resultados, en hembras, fue necesario aumentar la dosis a 100 mg/kg para alcanzar un efecto antiinflamatorio significativo, mientras que, en machos, esta eficacia antiinflamatoria se obtuvo a partir de la dosis de 10 mg/kg, donde alcanzó un efecto similar al grupo control sano. Estos resultados concuerdan con los reportados por Rocha et al. (2015), quienes compararon el efecto antiinflamatorio en un modelo de inflamación local con edema inducido por carragenina al 1%, en ratas Wistar macho en dos diferentes dosis de extracto metanólico de romero (10 y 25 mg/kg) vía esofágica, en donde se obtuvo la máxima respuesta terapéutica con la dosis de 25 mg/kg (Rocha et al., 2015).

García-Mayorga et al. (2018), en su investigación, puntualizaron que el extracto acuoso de romero tiene un marcado efecto analgésico a la dosis de 35, 70 y 100 mg/kg, administrado vía esofágica "*ad libitum*" en ratas Wistar macho utilizando un modelo de formalina al 5%. Observaron la disminución en el número de sacudidas de la pata de la rata por 60 minutos (García-Mayorga et al., 2018). En un artículo posterior García-Mayorga et al. (2019), con el mismo modelo, encontraron una remisión de las interleucinas IL-6 e IL-9 proporcional con el incremento de la dosis del extracto acuoso de romero.

Incluso en modelos de dolor crónico, en donde se evalúa el dolor neuropático también se ha visto el efecto antiinflamatorio del romero. Por ejemplo, Rahbardar et al. (2017) investigaron los posibles efectos antiinflamatorios del extracto etanólico de las partes aéreas de romero en un modelo de dolor neuropático inducido por lesión por constricción crónica de nervio ciático en ratas Wistar macho. Evaluaron el efecto de la administración del extracto vía intraperitoneal (400 mg/kg) desde el día 1 al día 14 post quirúrgicos, tomando en cuenta la expresión de marcadores inflamatorios espinales (NO, COX-2, IL-1 β , PGE-2 y MMP2). Los resultados de este estudio muestran propiedades antiinflamatorias mediante la regulación a la baja de los marcadores antes mencionados del día 7 al día 14, mientras que, para el control negativo tratado con solución salina, estos marcadores fueron en aumento (Rahbardar et al., 2017).

Otros autores, como Salehi et al. (2007), identificaron y extrajeron los principales metabolitos, los cuales se asocian al efecto analgésico y antiinflamatorio del extracto de romero, como el ácido rosmarínico, alcanfor, ácido cafeico, ácido ursólico, ácido carnósico, carnosol mediante hidrodestilación. Resultados similares han sido reportados por Pardo et al. (2022), quienes realizaron el análisis fitoquímico del extracto acuoso de esta planta. Estos resultados arrojan la presencia de compuestos terpénicos y terpenoides, además de flavonoides y alcaloides. Y se sabe que los principales mecanismos de acción para su efecto antiinflamatorio es el mecanismo sinérgico de sus metabolitos aislados que actúan inhibiendo sustancias pro inflamatorias (Benincá et al., 2011), además de la inhibición de la migración leucocitaria al sitio de inflamación (Rodríguez-Luna, 2017).

Con respecto a los resultados obtenidos al evaluar el extracto de *Taxodium huegelii*, en hembras, la dosis de 300 mg/kg tiene un efecto significativo con respecto del grupo vehículo a partir de los 30 minutos después de haber administrado el agente irritante, y su efecto se mantuvo en el transcurso de 2 horas. En el caso de machos fue con la dosis de 562.3 mg/kg que se obtuvo un efecto significativo a los 30 minutos y se mantuvo así también durante 120 minutos (2 horas). Tanto en hembras como en machos, el efecto significativo duró ese lapso post-administración con una eficacia cercana al grupo control negativo.

Hasta ahora, la evidencia científica que demuestra la eficacia antiinflamatoria del ahuehuete está limitada para algunos padecimientos relacionados con su aplicación para hemorroides y várices (BDMTM, 2009). Con respecto de la actividad antiinflamatoria en modelos animales, autores como Arriaga-Arana y Montero-Matías (2015), determinaron su actividad antiinflamatoria de manera preventiva y correctiva, con el modelo de edema auricular por aceite de croton al 5% en ratones macho, aplicando como tratamiento el extracto metanólico de ahuehuete (50 mg/g) en gel.

El extracto obtuvo un 17% de efecto antiinflamatorio en comparación a su fármaco de referencia betametasona, obteniendo 34.25% de efecto antiinflamatorio (Arriaga-Arana y Montero-Matías, 2015). Las autoras destacan que un fármaco se encuentra en estado puro y otro es un extracto de varias sustancias, pudiendo contener más metabolitos secundarios que interferirían en su efectividad.

Arriaga-Arana y Montero-Matías (2015) determinaron los metabolitos secundarios presentes en el extracto de ahuehuete en la fase polar mediante diferentes pruebas, sus resultados arrojaron que contiene alcaloides, flavonoides y saponinas. Yu et al. (2007) obtuvieron resultados similares aislando de hojas y ramas flavonoides como amentoflavona, podocarpusflavona A y 4,7-dimetilamentoflavona, siendo los flavonoides los metabolitos a los que se les ha atribuido el efecto antiinflamatorio. La amentoflavona modula la expresión de NF-Kb (Banerjee et al., 2002) e interviene en los niveles de COX-2 (O'Leary et al., 2004) y bradicininas (Pan et al., 2005).

Los resultados obtenidos en este estudio se compararon con meloxicam, un fármaco que ha sido probado mundialmente como tratamiento para diversas enfermedades dolorosas e inflamatorias, pues combina eficacia con un nivel de tolerancia aceptable (Velázquez y Omaira, 2020). Los resultados de esta investigación confirman la actividad antiinflamatoria del meloxicam demostrando que, en hembras, con la dosis recomendada de 10 mg/kg alcanza un nivel de significancia de apenas el 47.92% con respecto del extracto de romero a dosis de 100 mg/kg, el cual es más eficaz, alcanzando 67% de efecto antiinflamatorio. Para el extracto de ahuehuete se obtuvo un efecto similar al del extracto de romero a la dosis 562.3 mg/kg con 63.4% de efecto antiinflamatorio.

Por otro lado, el meloxicam presenta la misma potencia y eficacia que ambos extractos en machos con un 20.92% de efecto a la dosis de 10 mg/kg. Cabe destacar que, al aumentar la dosis del extracto de ahuehuete a 562.3 mg/kg es más eficaz con un 73.6% de efecto antiinflamatorio siendo muy similar al obtenido por el romero a dosis de 316.2 mg/kg que alcanza un efecto de 59.8%.

Aguilar-Mariscal (2008), en el modelo de hiperalgesia térmica e inflamación, ambos inducidos por la administración intraplantar de carragenina en ratas Wistar macho, administró meloxicam vía esofágica

a una dosis mayor (32 mg/kg), demostrando que el efecto antiinflamatorio es dependiente de la dosis. A la dosis de 10 mg/kg desplazó al menos 0.25 mL respecto a su control positivo al evaluarlas durante 2 h. Estos resultados se asemejan a los obtenidos en esta investigación en las ratas macho. Con respecto del efecto de meloxicam en ratas hembra, no hay estudios que demuestren su efecto antiinflamatorio por edema plantar. Se han realizado estudios en otras especies, como los de Bogado et al. (2020), quienes demostraron que, en vacas Holstein en periodo de gestación no lactantes, la administración de meloxicam a dosis de 0.5 mg/kg durante 4 días seguidos, atenuó a los neutrófilos polimorfonucleares disminuyendo el proceso inflamatorio al igual que lo obtenido en este trabajo.

En otros estudios donde se ha probado el meloxicam a dosis mayores (4-30 mg/kg), tanto en hembras como en machos, se han observado efectos antiinflamatorios, pero asociados a efectos adversos como hemorragias (Bharani et al., 2020; Villegas et al., 2004), daño a mucosa gástrica (Villegas et al., 2004), hepatotoxicidad (Al-Rekabi et al., 2009; Burukoglu et al., 2016; Mohammed et al., 2019) y daño en riñones (Burukoglu et al., 2016).

Se cree que la inflamación es uno de los principales factores de dolor postquirúrgico, es por esto que Roughan (2016) evaluó la actividad antiinflamatoria y analgésica del meloxicam en ratones BALB/c macho, vía subcutánea previo a una laparotomía, concluyendo que no controla el dolor. Tanto a las 7 como a las 24 horas previene significativamente la inflamación post laparotomía a dosis de 5 y 20 mg/kg (Roughan et al 2016).

Para que el fármaco de referencia alcance una eficacia igual a la obtenida por el extracto de ahuehuate o romero en machos es necesario aumentar la dosis máxima permitida de este fármaco al menos 3 veces, recordando que al aumentar las dosis se pueden observar efectos adversos en los animales. Esto fue demostrado en la investigación de Bharani et al. (2020) en ratas Wistar macho administrando meloxicam vía esofágica a dosis de 4 y 8 mg/kg durante 28 días. Después de este tiempo realizaron la necropsia encontrando que en los animales tratados con dosis de 8 mg/kg, las lesiones (úlceras y hemorragias) en el tracto gastrointestinal eran más severas que en los animales administrados con la dosis de 4 mg/kg. También encontraron congestión renal bilateral, enteritis catarral y hepatotoxicidad (Bharani et al., 2020). Sus resultados concuerdan con lo obtenido por Villegas et al. (2004) en ratas Wistar de ambos sexos, administrando meloxicam a dosis de 15 mg/kg vía esofágica con previo ayuno de 12 horas. Después de 9 h post administración realizaron la necropsia encontrando daño en la mucosa gástrica, incluyendo sangrado y ulceración (Villegas et al., 2004).

El incremento de las reacciones adversas y los efectos secundarios de los medicamentos antiinflamatorios han estimulado la búsqueda de nuevos principios activos con mayores niveles de efectividad e inocuidad (Rodríguez et al., 2020). Si bien en este trabajo no se realizó la evaluación toxicológica del extracto de romero ni de ahuehuate, se ha demostrado que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Senna alata* L. Roxb en ratas Holtzman hembra tuvo mejor efecto antiinflamatorio que la betametasona y en ratones BALB/c de ambos sexos no presentó signos de toxicidad (Tasayco et al., 2019). Otro ejemplo de extracto hidroalcohólico con propiedades antiinflamatorias es el de las hojas de *Oenothera rosea* A. en ratas Holtzman a dosis repetidas con efecto similar al del diclofenaco y no muestra efectos tóxicos a las dosis probadas (Salaverry, 2020).

En la clínica se usa comúnmente la combinación de fármacos, de los cuales se busca entre otras cosas reducir las dosis individuales para mejorar la eficacia terapéutica, aumentar la tolerancia al tratamiento, disminuir sus efectos adversos y prevenir la resistencia a estos productos.

En este proyecto la administración conjunta de ambos extractos etanólicos a dosis A300/R10 mg/kg (donde A es ahuehuate y R es romero), A70/R30 en hembras y A10/R100, A50/R50 en machos produjeron un efecto antiinflamatorio de sinergismo aditivo similar a la administración de los extractos individuales a mayor dosis. En las dosis A50/R50 mg/kg en hembras y A70R30 en machos se obtuvo sinergismo antagónico.

Gutiérrez-Durán y Gonzales-Dávalos (2018) investigaron otras combinaciones de extractos efectivos en un modelo de edema intraplantar en ratones macho Swiss albino, evaluando la asociación de extractos etanólicos de *Xantium spinosum* L. y *Urtica urens* L. administrados vía esofágica a dosis de 0.75 g/kg, respectivamente. La combinación produjo un efecto antiinflamatorio similar a la administración de los extractos individuales a mayor dosis.

El-Taib et al. (2020) en un modelo de edema plantar inducido por carragenina evaluaron la actividad antiinflamatoria de la combinación de extractos etanólicos de hojas de *Stevia rebaudiana* Bertoni y *Trigonella foenum-graecum* en ratas Wistar macho administrados vía esofágica a concentración de 200 y 400 mg/kg. Observaron que la asociación de estos extractos, cada uno al 50%, tiene mayor efecto antiinflamatorio que su administración individual, el cual es mayor a dosis de 200 mg/kg.

Incluso, en un modelo *in vitro* de glóbulos blancos estimulados por lipopolisacáridos, Abu-Serie et al. (2018) demostraron que la combinación del extracto acuoso de *Ganoderma lucidum* de Malasia y el extracto etanólico de *Chlorella vulgaris* egipcia ejerce actividad antiinflamatoria altamente sinérgica al modular la expresión negativa de iNOS, COX-2 y FNk-B.

Los resultados de este estudio muestran evidencia de que el extracto de romero y ahuehuate tiene efecto antiinflamatorio, que se puede vincular con los compuestos aislados mencionados anteriormente y al combinarlos en las dosis A300/R10, A70/R30 y A10/R100 y A50/R50 para ratas hembra y macho, respectivamente, en las cuales se obtuvo un efecto aditivo, existiendo una mejora en el nivel de eficacia a menor dosis en cada una.

CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos en este estudio permiten observar el efecto antiinflamatorio que posee el extracto de *R. officinalis* y *T. huegelii* en comparación con meloxicam, administrados individualmente para el tratamiento de dolor de tipo inflamatorio en hembras y machos. Así mismo, al evaluar la combinación de las dosis sub-efectivas de ambos extractos de *R. officinalis* y *T. huegelii*, se observó un aumento del efecto antiinflamatorio al obtenido en sus dosis individuales, demostrando su potencial terapéutico en la terapia del dolor e inflamación.

GLOSARIO DE TÉRMINOS Y SIGLAS

Términos y siglas	Significado
A	Ahuehuate
AAAR	Anillos de aorta aislada de la rata
ABC	Área bajo la curva
ADN	Ácido desoxirribonucleico, proteína compleja que se encuentra en el núcleo de las células y constituye el principal constituyente del material genético de los seres vivos
AINE	Siglas para medicamentos analgésicos antiinflamatorios no esteroideos
Antinociceptivo	Se refiere a la reversión o alteración de los aspectos sensoriales de la intensidad del dolor. Al fenómeno de detección, transducción y transmisión de un estímulo nocivo se denomina nocicepción
ANDEVA	Análisis de varianza
BK	Bradicinina, (por su siglas en inglés <i>bradykinin</i>)
C	Control
Catepsinas	La catepsina es una proteína con actividad proteolítica (enzima), se encuentra en tejidos animales, cataliza la hidrólisis de proteínas a polipéptidos. Se encuentra en muchos tipos de células, incluyendo a todas

Términos y siglas	Significado
	las células de animales. Hay al menos una docena de miembros de esta familia de enzimas, que se diferencian entre sí por su estructura y por el tipo de proteína que atacan. La mayoría se activan al pH ácido que hay en el interior de los lisosomas, por lo que su actividad suele darse en el interior de dichos orgánulos
CDR	Curvas dosis-respuesta
CICUAL	Comité para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de la Facultad de Química, UNAM, México
CMC	Carboximetilcelulosa
CO ₂	Dióxido de carbono
COX-2	Ciclooxigenasa-2. La Ciclooxigenasa tiene dos estructuras, COX-1 y 2. Esta última presenta un canal más amplio que le permite el acceso a los antiinflamatorios no esteroideos (AINE) de gran tamaño que penetrarían en el canal de la COX-1 (García-Mejide y Gómez-Reino-Carnota, 2000)
Diagnosticar	Recoger y analizar datos para evaluar problemas de diversa naturaleza. En medicina: Determinar el carácter de una enfermedad mediante el examen de sus signos (https://dle.rae.es/diagnosticar?m=form)
Dolor nociceptivo	Es el causado por la activación de los receptores del dolor (nociceptores) en respuesta a un estímulo (lesión, inflamación, infección, enfermedad). Como ocurre con el dolor agudo, suele haber una relación directa entre su intensidad y la gravedad de la agresión (https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-curso-basico-sobre-dolor-tema-X0213932415727485#:~:text=El%20dolor%20nociceptivo%20es%20el,%20gravedad%20de%20la%20agresi%C3%B3n). Nota de los(as) editores(as): Las palabras nociceptivo y nociceptores no existen en el diccionario de la lengua española
Edema plantar	Es la hinchazón causada por la acumulación excesiva de líquidos dentro del cuerpo, en este caso, de la zona plantar de la pata del animal
EE	Error estándar
En la clínica	Expresión usada para designar experimentación con pacientes humanos, una vez que se ha superado la fase pre-clínica con modelos animales
Emenagogo	Del latín científico <i>emmenagogus</i> y este del griego ἐμμηναγωγός <i>emmēnagōgós</i> , de ἔμμηνα <i>émmēna</i> menstruos y ἀγωγός <i>agōgós</i> que conduce. 1. Adj. Med. Dicho de un remedio: Que provoca la regla o evacuación menstrual de las mujeres (https://dle.rae.es/emmenagogo?m=form)
Equipo pletismómetro	Equipo utilizado para medir la eficacia de agentes antiinflamatorios para la reducción de edemas. (Tomado de Bonther https://www.bonther.com.br/es/produutos/386/pletismometro-de-pata-para-ratos-ou-camundongos-bonther)
FNk-B	Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas. Proteína muy especializada que reconoce secuencias específicas de ADN
g	Gramos
IL	Interleucinas
IL-1 β	Interleucina 1 β
iNOS	Enzima óxido nítrico sintetasa
i.pl.	Vía de administración intraplantar de formalina al 1% para inducir inflamación en los modelos animales
Isquemia	Detención o disminución de la circulación de sangre a través de las arterias de una determinada zona, que comporta un estado de sufrimiento celular por falta de oxígeno y materias nutritivas en la parte afectada. La isquemia puede tener causas que no se deben a una enfermedad subyacente. Por

Términos y siglas	Significado
	ejemplo, practicar ejercicio, la exposición al frío o un torniquete (Diccionario Oxford: https://www.google.com/search?client=firefox-b-d&q=isquemia+que+es)
kg	Kilogramos (la letra K mayúscula se usa para el Kelvin)
M	Meloxicam
Marcadores inflamatorios espinales	Tomado del artículo de Rahbardar et al. (2017): (NO, es óxido nítrico; COX-2, es ciclooxigenasa-2; IL-1 β , es interleucina 1 β ; PGE-2, es prostaglandina E2 y MMP2, es metal proteinasa-2
Medicar	Del latín <i>medicāre</i>. 1. Administrar o prescribir medicinas. U. t. c. prnl. (https://dle.rae.es/medicar?m=form)
Meloxicam	Meloxicam es una enolcarboxamida perteneciente al grupo de los oxicam. Su estructura química es: 4-hidroxi-2-metil-N-(5-metil-2-tiazolil)-21-l-1, 2-benzotiazin-3-carboxamida-1, 1-dioxida (file:///C:/Users/Dra.%20Duran/Downloads/6877-Texto%20del%20art%C3%ADculo-26568-1-10-20160808%20(1).pdf)
mg	Miligramos
min	Minutos
mL	Mililitros
MMP2	Siglas para metal proteinasa-2
N	Número de especímenes de ambos sexos usados como animales modelo M
NA	Noradrenalina, es un compuesto químico que es capaz de funcionar como un medio transporte de otras sustancias y como un desencadenante de otras acciones, a nivel de ciertos órganos. Debido a esas funciones es que es conocido como un neurotransmisor y como una hormona
Neófito(a)	Del latín tardío <i>neophŷtus</i> y este del griego νεόφυτος <i>neóphytos</i>. 3. m. y f. Persona adherida recientemente a una causa o recientemente incorporada a una agrupación o colectividad (https://dle.rae.es/ne%C3%B3fito?m=form)
NF-Kb	Grupo de proteínas que ayudan a controlar muchas funciones en la célula, como el crecimiento y la supervivencia. Estas proteínas también controlan las respuestas inmunitarias e inflamatorias
NO	Fórmula química del óxido nítrico. Esta sustancia en los seres vivos, "además de inducir la relajación del músculo liso de la pared vascular e inhibir la adhesión y la agregación plaquetaria, realiza otras importantes funciones en la inflamación, de hecho, ha sido implicado en diversas actividades inflamatorias. Se estudian los efectos clínicos de diversos inhibidores de óxido nítrico y se ha demostrado que estos compuestos reducen el tamaño de los infartos cerebrales isquémicos, entre otros efectos" (Tomado de Pérez-Ruiz et al., 1997) [Adicionado por las(os) editor(es)]
Nociceptor	La palabra "nociceptor" está formada con raíces latinas y significa "que recibe la sensación de dolor". Sus componentes léxicos son: <i>nocere</i> (hacer daño), <i>capere</i> (capturar), más el sufijo <i>-tor</i> (agente, el que hace la acción). Ver: sufijos, otras raíces latinas, inocuidad, nocivo y también receptor (https://etimologias.dechile.net/?nociceptor#:~:text=La%20palabra%2022nociceptor%22%20est%C3%A1%20formada,inocuidad%2C%20nocivo%20y%20tambi%C3%A9n%20receptor). No aparece en el diccionario de la lengua española, dle
PG	Prostaglandinas
PGE-2	Prostaglandina E2
Propiedades carminativas, digestivas,	Propiedades farmacológicas que produce una sustancia o fármaco al ser administrado en el organismo. Carminativa: De <i>carminar</i>. 1. adj. Med. Dicho de un medicamento: Que favorece la expulsión de los gases

Términos y siglas	Significado
antiespasmódicas, coleréticas, colagogas y hepatoprotectoras, diuréticas, antiinflamatorias, antiulcerogénicas y antioxidantes	desarrollados en el tubo digestivo. U. t. c. s. m. (usado también como sustantivo masculino) (https://dle.rae.es/carminativo?m=form). Colerética: Del latín científico <i>cholareticum</i> y este derivado del griego χολή <i>cholḗ</i> 'bilis'. 1. adj. Med. Dicho de una sustancia o de un medicamento: Que provoca que el hígado segregue bilis. U. t. c. s. m. (usado también como sustantivo masculino) (https://dle.rae.es/coler%C3%A9tico?m=form). Colagoga: Del latín científico <i>cholagogum</i> y este derivado del griego χολαγωγός <i>cholagōgós</i>, de χολή <i>cholḗ</i> 'bilis' y - αγωγός - <i>agōgós</i> 'que conduce'. 1. adj. Dicho de una sustancia o de un medicamento: Que provoca la evacuación de la bilis desde la vesícula biliar. U. t. c. s. m. (usado también como sustantivo masculino) (https://dle.rae.es/colagogo?m=form)
R	Romero
UNAM	Universidad Nacional Autónoma de México
V	Vehículo, CMC, carboximetilcelulosa al 1% en agua destilada
V _I	Volumen de agua inicial desplazada en el pletismómetro por la extremidad derecha de cada espécimen
VExp	Volumen de agua desplazada en el pletismómetro por la extremidad derecha de cada espécimen después de 30 y 120 minutos
Vía esofágica	Procedimiento a través de la boca para realizar una investigación (en la práctica farmacológica pre-clínica se emplean las siglas p.o., per oral)

Otros términos

et al. etc.	Del latín <i>et altere</i> (y otros). Se usa para sustituir 'y colaboradores' (y col.) Etcétera (del latín <i>et cetera</i> y significa 'y lo demás'). Expresión que se usa para sustituir la parte final de una enumeración y evitar seguir detallándola por ser muy larga o por sobrentenderse lo que sigue con facilidad
°C	Grados centígrados
μL	Micro litro

RECONOCIMIENTOS

Las autoras agradecen y reconocen a la MVZ Lucía Macías-Rosales, al M. en C. Francisco Sánchez-Bartéz, a la MVZ Mabel Cecilia Tinoco-Méndez y al M. en C. Héctor Rico-Morales (q.e.p.d.), su experiencia y asistencia técnica. Este trabajo fue parcialmente apoyado por las subvenciones UNAM-PAIP 5000-9179 y Programa UNAM-PAPIIT: IN21792.

CONFLICTOS DE INTERÉS

Los autores no declaran algún conflicto de interés.

DISPONIBILIDAD DE LOS DATOS

Los datos de respaldo de todas las Figuras están disponibles con los(as) editores(as).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abu-Serie, M.M., Habashy, N.H., Attia, W.E. 2018. *In vitro* evaluation of the synergistic antioxidant and anti-inflammatory activities of the combined extracts from Malaysian *Ganoderma lucidum* and Egyptian *Chlorella vulgaris*. BMC Complement. Altern. Med. 18(1):1-13. Doi: 10.1186/s12906-018-2218-5
- Aguilar-Mariscal, H. 2008. Estudio de la relación entre la farmacocinética y los efectos antihiperalgésico y antiinflamatorio del meloxicam en la rata. Tesis Doctoral. Instituto Politécnico Nacional. 121 pp. Ciudad de México, México.
- Al-Rekabi, F.M.K., Abbas, D., Hadi, N. 2009. Effects of subchronic exposure to meloxicam on some hematological, biochemical and liver histopathological parameters in rats. Iraqi Journal of Veterinary Sciences. 23(Supplement II):249-254. https://www.researchgate.net/publication/237607765_Effects_of_subchronic_exposure_to_meloxicam_on_some_hematological_biochemical_and_liver_histopathological_parameters_in_rats
- Alcántara-Nogueira-de-Melo, G., Grespan, R., Pitelli-Fonseca, J., Oliveira-Fariña, T., Leite-Silva, E., López-Romero, A., Bersani-Amado, C.A., Nakamura-Cuman, R.K. 2011. *Rosmarinus officinalis* L. essential oil inhibits *in vivo* and *in vitro* leukocyte migration. Medicinal Food. 14(9):944-946. Doi: 10.1089/jmf.2010.0159
- Alcántara-Montero, A., Ibor-Vidal, P.J., Alonso-Verdugo, A., Trillo-Calvo, E. 2019. Actualización en el tratamiento farmacológico del dolor neuropático. Medicina de Familia. SEMERGEN. 45(8):535-545. Doi: 10.1016/j.semerg.2019.05.008
- Alonso-Castro, A.J., Zapata-Morales, J.R., Solorio-Alvarado, C., Hernández-Santiago, A., Espinoza-Ramírez, L., Carranza-Álvarez, C., Ramadoss, V. 2020. Central nervous system evaluation of an ethanol extract of *Bidens odorata* Cav. (Asteraceae) leaves, and its antinociceptive interaction with paracetamol and naproxen. Inflammopharmacology. 28(3):749-757. Doi: 10.1007/s10787-019-00664-8
- An, J., Li, Z., Dong, Y., Ren, J., Huo, J. 2016. Amentoflavone protects against psoriasis-like skin lesion through suppression of NF- κ B-mediated inflammation and keratinocyte proliferation. Molecular and Cellular Biochemistry. 413(1-2):87-95. Doi: 10.1007/s11010-015-2641-6
- Aronson, J.K. 2015. Meyler's side effects of drugs: The international encyclopedia of adverse drug reactions and interactions. Elsevier Science. P. 7674. Gujarat, India.
- Arriaga-Arana, E.L., Montero-Matías, E.D. 2015. Determinación de la actividad hipoglucemiante de *Polygonum aviculare* L. y actividad antiinflamatoria de *Cuphea aequipetala* Cav., *Taxodium mucronatum* y *Gentiana spathacea* Kunth. Tesis profesional. Instituto Politécnico Nacional. Ciudad de México. México.
- Banerjee, T., Valacchi, G., Ziboh, V.A., van-der-Vliet, A. 2002. Inhibition of TNF alpha-induced cyclooxygenase-2 expression by amentoflavone through suppression of NF-kappaB activation in A549 cells. Mol. Cell. Biochem. 238(1-2):105-110. Doi 10.1023/a:1019963222510
- Batlouni, M. 2010. Antiinflamatorios no esteroides: Efectos cardiovasculares, cerebrovasculares y renales. Arquivos Brasileiros de Cardiologia. 94(4):556-563. DOI: 10.1590/S0066-782X2010000400019
- BDMTM. 2009. Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. Ahuehuate. Landsteiner, Programa Universitario Diversidad Cultural e Interculturalidad, Instituto Nacional de los Pueblos Indígenas, INPI, Dirección General de Cómputo y de Tecnologías de Información y Comunicación, Universidad Nacional Autónoma de México. México. <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/apmtm/termino.php?l=3&t=ahuehuate>
- Benincá, J.P., Dalmarco, J.B., Pizzolatti, M.G., Fröde, T.S. 2011. Analysis of the anti-inflammatory properties of *Rosmarinus officinalis* L. in mice. Food Chemistry. 124(2):468-475. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.06.056
- Bharani, S.P., Naik, A.K., Parija, S.C., Panda, S.K. 2020. Meloxicam induced toxicopathology studies in Wistar rats. Indian Journal of Animal Research. 54(3):363-366. DOI: 10.18805/ijar.B-3766
- Bogado-Pascottini, O., Van-Schyndel, S.J., Spricigo, J.F.W., Carvalho, M.R., Mion, B., Ribeiro, E.S., Le-Blanc, S.J. 2020. Effect of anti-inflammatory treatment on systemic inflammation, immune function, and endometrial health in postpartum dairy cows. Scientific Reports Nature Research. 10(1):5236. DOI: 10.1038/s41598-020-62103-x
- Bruneton, J. 2001. Farmacognosia: Fitoquímica, plantas medicinales. Ed. Acribia. S. A. Pp. 249-251. Zaragoza, España.
- Burukoglu, D., Baycu, C., Taplamacioglu F., Sahin E., Bektur E. 2016. Effects of nonsteroidal anti-inflammatory meloxicam on stomach, kidney, and liver of rats. Toxicology and Industrial Health. 32(6):980-986. Doi: 10.1177/0748233714538484
- Carranza, E. 1992. Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes. En Familia Taxodiaceae Instituto de Ecología, ed. Centro Regional del Bajío, p. 12. Pátzcuaro, Michoacán, México.
- Conn, P.M. 2016. Conn's Translational Neuroscience. pp. 517-539. P. Michael Conn. Ed. Academic Press. P. 776. Texas, United Estate.
- DOF. 1999. Norma Oficial Mexicana Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio ed. G Secretaría de Agricultura, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación., pp. 80. Diario Oficial de la Federación. Estados Unidos Mexicanos.
- El-Taib, M.I., Fakhry, G., Khalifa, Y., Haredy, H. 2020. Anti-inflammatory activity *in vitro* and *in vivo* of ethanolic extracts of *Stevia rebaudiana* Bertoni and *Trigonella foenum-graecum*. Scientific Journal of Agricultural Sciences. 2(2): 137-143. Doi: 10.21608/sjas.2020.48817.1053
- Flores-Martínez, L. 2008. Efecto hipotensor y vasorelajante de la corteza del ahuehuate (*Taxodium mucronatum*) en la rata *Rattus novgicus*. Tesis profesional. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México. México.
- García-Mayorga, E. A, Castro-Lugo, M.P., Rocha-Aguirre, L.L., Gutiérrez-Hernández, R., Reyes-Estada, C.A., Jimenez-Martínez, C.J. 2018. Efecto analgésico de Romero (*Rosmarinus officinalis*) en el modelo de formalina al 5%. Contexto Odontológico 8(16):63-72. DOI: <https://doi.org/10.48775/rco.v8i16.547>
- García-Mayorga, E.A., Castro-Lugo, M.P., Rocha-Aguirre, L.L., Gutiérrez-Hernández, R., Meza-Lamas, E., De-la-Fuente-de-la-Torre, N., Reyes-Gutiérrez, Á.S. 2019. Efecto analgésico de Romero (*Rosmarinus officinalis*) en el modelo de formalina al 5%. Parte II. Contexto Odontológico 9(18):27-36. DOI: <https://doi.org/10.48775/rco.v9i18.721>
- Gil-Martín, A., Moreno-García, M., Sánchez-Rubio-Ferrández, J., Molina-García, T. 2014. Hiperalgnesia asociada al tratamiento con opioides. Revista de la Sociedad Española del Dolor. 21(5):259-269.
-

- <https://dx.doi.org/10.4321/S1134-80462014000500005>
- Gutiérrez-Durán, M.d.P., Gonzales-Dávalos, E. 2018. Evaluación del efecto antiinflamatorio y analgésico de la asociación de los extractos de *Xanthium spinosum* L. y *Urtica urens* L. en modelo murino. *Revista CON-CIENCIA* 6(2):15-26.
- Khabir, M., Khatoun, F., Ansari, W. 1986. Flavonoid glycosides from the leaves of *Taxodium mucronatum*. *Journal of the Indian Chemical Society*. 63(8):781-782.
- Krauze-Baranowska, M., Wiwart, M. 2003. Antifungal activity of biflavones from *Taxus baccata* and *Ginkgo biloba*. *Zeitschrift für Naturforschung C*. 58(1-2):65-69. Doi: 10.1515/znc-2003-1-212
- Kuklinski, C. 2000. *Farmacognosia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*. Ed. Barcelona Omega. Pp. 528. Barcelona. España.
- Labrada-García, M.E., Zapata-Morales, J.R., Alonso-Castro, A.J., Ramírez-Morales, M. 2017. Evaluación de la interacción antinociceptiva del extracto etanólico de *Justicia spicigera* y tramadol. *Jóvenes en la Ciencia*. 3(2):6.
- López-Luengo, M.T. 2008. El romero. Planta aromática con efectos antioxidantes. *Offarm* 27(7):60-63.
- Márquez-Alonso, C., Lara-Ochoa, F. 1999. *Plantas medicinales de México: Composición, usos y actividad biológica*. 178 pp. Universidad Nacional Autónoma de México, 1999. Procedencia del original: Universidad de Cornell. Digitalizado: 6 Ago. 2009. ISBN: 9683669964, 9789683669964. Edición anterior, 1996, con el orden de los autores invertido (154 pp.). Ciudad de México, México.
- Mengoni, E.S., Vichera, G., Rigano L.A., Rodríguez-Puebla, M.L., Galliano, S.R., Cafferata, E.E., Pivetta, O.H., Moreno, S., Vojnov, A.A. 2011. Suppression of COX-2, IL-1 β and TNF- α expression and leukocyte infiltration in inflamed skin by bioactive compounds from *Rosmarinus officinalis* L. *Fitoterapia*. 82(3):414-421. Doi: 10.1016/j.fitote.2010.11.023
- Mohammed, N.M.H., El-Drieny, E., El-Drussi, I.S., Al-Agory, M., Gheth, E.M.M. 2019. Histopathological changes in liver tissue induced by meloxicam in male mice. *International Journal of Pharmacy & Life Sciences* 10(1):6059-6063.
- Mongrand, S., Badoc, A., Patouille, B., Lacomblez, C., Chavent, M., Cassagne, C., Bessoule, J.-J. 2001. Taxonomy of gymnospermae: Multivariate analyses of leaf fatty acid composition. *Phytochemistry*. 58(1):101-115. Doi: 10.1016/S0031-9422(01)00139-X
- Muñoz-Centeno, L.M. 2002. Plantas medicinales españolas. *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae)(romero). *Studia Botanica*. 21:105-118.
- Noriega-Borge, M.J. 2017. Tema 2. Funciones sensoriales: Sistema somatosensorial. OpenCourseWare. Universidad de Cantabria, España. <https://ocw.unican.es/mod/page/view.php?id=541>
- O'Leary, K.A., de-Pascual-Tereasa, S., Needs, P.W., Bao, Y.-P., O'Brien, N.M., Williamson, G. 2004. Effect of flavonoids and vitamin E on cyclooxygenase-2 (COX-2) transcription. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 551(1-2):245-254. Doi: 10.1016/j.mrfmmm.2004.01.015
- Pan, X., Tan, N., Zeng, G., Zhang, Y., Jia, R. 2005. Amentoflavone and its derivatives as novel natural inhibitors of human cathepsin B. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 13(20):5819-5825. Doi: 10.1016/j.bmc.2005.05.071
- Pardo, L., Arias, J., Molleda, P. 2022. Elaboración de nanopartículas de plata sintetizadas a partir de extracto de hojas de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) y su uso como conservante. *La Granja: Revista de Ciencias de la Vida*. 35(1):45-58. Doi: 10.17163/lgr.n35.2022.04
- Prado-Rodríguez, B.M. 2014. ¿Qué es el umbral del dolor? *Dolor: Investigación, Clínica & Terapéutica*. 29(4):141-45.
- Rahbardar, M., Amin, B., Mehri, S., Mirnajafi-Zadeh, S.J., Hosseinzadeh, H. 2017. Anti-inflammatory effects of ethanolic extract of *Rosmarinus officinalis* L. and rosmarinic acid in a rat model of neuropathic pain. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 86:441-449. Doi: 10.1016/j.biopha.2016.12.049
- Pérez-Ruiz, A., Rodríguez-Calzadilla, A., Sanjurjo-Gómez, V.M., Padrón-Chacón, R. 1997. El papel de óxido nítrico en la hemodinámica, homeostasia e inflamación. *Rev. Cubana Estomatol.* 34(2):84-86. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-5071997000200007&lng=es&nrm=iso
- Ramírez-Rodríguez, M.I., Dranguet-Aguilar, D., Morales-León, J.A. 2020. Actividad antiinflamatoria de plantas medicinales (Revisión). *Redel. Revista Granmense de Desarrollo Local*. 4:320-332. <https://revistas.udg.co.cu/index.php/redel/article/view/1450>
- Ramos, A.R., Escamilla, E.M., Calderón, J., Rodríguez, B. 1984. 8 β -Hydroxypimar-15-en-19-oic acid from *Taxodium mucronatum*. *Phytochemistry*. 23(6):1329-1330. Doi: 10.1016/S0031-9422(00)80454-9
- Rocha, J., Eduardo-Figueira, M., Barateiro, A., Fernandes, A., Brites, D., Bronze, R., Duarte, C.M.M., Serra, A.T., Pinto, R., Freitas, M., Fernandes, E., Silva-Lima, B., Mota-Filipe, H., Sepodes, B. 2015. Anti-inflammatory effect of rosmarinic acid and an extract of *Rosmarinus officinalis* in rat models of local and systemic inflammation. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*. 116(5):398-413. Doi: 10.1111/bcpt.12335
- Rodríguez-Luna, A.M. 2017. Estudio de lípidos aislados de microalgas y polifenoles en modelos inflamatorios de piel. Tesis de doctorado. Universidad de Sevilla. Sevilla.España.
- Roughan, J.V., Bertrand, H.G., Isles, H.M. 2016. Meloxicam prevents COX-2-mediated post-surgical inflammation but not pain following laparotomy in mice. *European Journal of Pain*. 20(2):231-240. Doi: 10.1002/ejp.712
- Salaverry-Acedo, S.E., Taco-Rodríguez, R.C. 2020. Efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Oenothera rosea* A.(Chupasangre) en ratas albinas (Holtzman). Tesis profesional. Universidad Inca Garcilaso de la Vega. Lima, Perú.
- Salehi, P., Fakhari, A.R., Ebrahimi, S.N., Heydari, R. 2007. Rapid essential oil screening of *Rosmarinus officinalis* L. by hydrodistillation-headspace solvent microextraction. *Flavour and Fragrance*. 22(4):280-285. Doi: 10.1002/ffj.1793
- Serra, H.A., Roganovich, J.M., Rizzo, L.F. 2012. Glucocorticoides: Paradigma de medicina traslacional. De lo molecular al uso clínico. *Medicina*. 72(2):158-170.
- Tasayco-Yataco, N.J., Álvarez-Flores, H.R., Pizarro-Carrasco, J.L., Vega-Silva, L., Gaspar-Maquera, K.R., García-Campos, C.M. 2019. Seguridad y efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Senna alata* (L.) Roxb (dormilona) en ratas con inducción a inflamación aguda. Tesis profesional. Universidad Interamericana para el Desarrollo. Lima, Perú.
- Velázquez, C., Omaira, J. 2020. Meloxicam, un AINE con características especiales. *Salud (i) Ciencia*. 23(8):650-667.

-
- Villegas, I., La-Casa, C., Alarcón-de-la-Lastra, C., Motilva, V., Herrerías, J.M., Martín, M.J. 2004. Mucosal damage induced by preferential COX-1 and COX-2 inhibitors: Role of prostaglandins and inflammatory response. *Life Sciences*. 74(7):873-884. Doi: 10.1016/j.lfs.2003.07.021
- Woo, E., Lee, J., Cho, I., Kim, S., Kang, K. 2005. Amentoflavone inhibits the induction of nitric oxide synthase by inhibiting NF- κ B activation in macrophages. *Pharmacological Research*. 51(6):539-546. Doi: 10.1016/j.phrs.2005.02.002
- Yu, Z., Ning, T. 2007. Chemical constituents of *Taxodium mucronatum*. *Natural Product Research & Development*. 19(5):801-821.
- Zhang, Y., Tan, N., Huang, H., Jia, R., Zeng, G., Ji, C. 2005. Three bioactive biflavones isolated from *Taxodium mucronatum*. *Acta Botanica Yunnanica*. 27(1):107-710.