

Evaluación *in vivo* del efecto antinociceptivo y antiinflamatorio de *Catasetum integerrimum* Hook (Orchidaceae)

In vivo evaluation of the antinociceptive and anti-inflammatory effect of *Catasetum integerrimum* Hook (Orchidaceae)

Caudillo-Gaona Miriam Yessenia¹, Caudillo-Gómez Karina Lizett¹, Vargas-Roa María Alondra¹, Daniel Torres Rico³, Candy Carranza Alvarez³, Barragan-Galvez Juan Carlos², Gonzalez-Rivera Maria Leonor², Alonso-Castro Ángel Josabad²,

¹División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato.

²Departamento de Farmacia, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato.

³Unidad Académica Multidisciplinaria zona Huasteca, Universidad Autónoma de San Luis Potosí

my.caudillogaona@ugto.mx, kl.caudillogamez@ugto.mx, ma.vargasroa@ugto.mx, a263272@alumnos.uaslp.mx, candy.carranza@uaslp.mx, jcbarragan@gmail.com, leonor.glez.rivera@outlook.com, angeljosabad@ugto.mx

Resumen

Introducción. La inflamación es una respuesta del cuerpo frente a la invasión de patógenos, lesiones u otros desafíos que alteran la homeostasis, se divide en inflamación aguda, que es rápida y desaparece, y en inflamación crónica, que se mantiene y puede conducir a enfermedades. Los fármacos antiinflamatorios buscan reducir los efectos secundarios y encontrar nuevas fuentes, como plantas medicinales. La familia Orchidaceae es diversa y tiene propiedades medicinales, por lo cual es interesante conocer los efectos farmacológicos de *Catasetum integerrimum*. Esta planta se encuentra en varios países de América y se utiliza para tratar mordeduras de serpiente, tumores, heridas y cáncer, entre otros. Los pseudobulbos, hojas, raíces, flores y frutos se utilizan en infusiones o licuados para el tratamiento.

Objetivo. El objetivo de este estudio fue evaluar si el extracto de la planta *Catasetum integerrimum* presenta efectos antinociceptivo y antiinflamatorio al ser aplicado a ratones en distintos modelos de evaluación.

Materiales y métodos. Se trabajó con ratones de la cepa BALB/C obtenidos del bioterio de la División de Ciencias Naturales y Exactas. Para evaluar los efectos antinociceptivo del extracto vegetal se usaron los modelos de placa caliente y contorsiones inducidas por ácido acético, por la administración oral con dosis de 10, 50 y 100 g/kg. Para evaluar el efecto antiinflamatorio se usó el edema auricular inducido por TPA por la aplicación tópica de 2 mg del extracto de *C. integerrimum*.

Resultados. El extracto vegetal presentó efectos antinociceptivos en ratones con el modelo de placa caliente, el cual se observó una mayor tolerancia en la sensibilidad térmica con la dosis de 50 mg/kg. Posteriormente al inducirlo a un modelo visceral del dolor por ácido acético, hubo una mayor reducción de a 100 mg/kg similar a lo obtenido por el Naproxeno. La evaluación antiinflamatoria en ratones mostró un efecto similar a la actividad por diclofenaco.

Conclusión. El extracto de *Catasetum integerrimum* posee efectos antinociceptivos e inflamatorios en ratones

Palabras clave: *Catasetum integerrimum*, antiinflamación; antinociceptivo, medicina tradicional

Introducción

La inflamación es una de las respuestas protectoras del cuerpo ante la invasión de un posible patógeno, lesiones y otros desafíos que alteren las homeostasis del individuo [1]. Este proceso se acompaña con la producción de radicales libres y se encuentra dividida en inflamación aguda, la cual ocurre a corto plazo en cualquier parte del cuerpo provocada por una infección [2]. Sin embargo, para el caso de la inflamación crónica se caracteriza por la destrucción y curación simultáneas del sitio lesionado lo que conduce a un estado de producción continua de radicales libres y estrés oxidativo continuo que conlleva a la aparición de enfermedades como el cáncer [3].

Hoy en día se sabe de la existencia de diversos fármacos que presentan propiedades antiinflamatorias que ayudan a mitigar el dolor que presenta el sujeto en cuestión, sin embargo se deben tomar en cuenta los efectos secundarios que estos presentan y las posibles reacciones adversas que le podrían ocasionar, por lo que es importante buscar nuevos compuestos activos que presenten una actividad antiinflamatoria significativa que presenten menos efectos adversos, por lo que el uso de plantas es una opción para encontrar nuevas fuentes potenciales para fármacos antiinflamatorios y analgésicos.

Los fármacos que alivian el dolor (leve y moderado, y de tipo agudo) se denominan analgésicos. Los Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) son un grupo heterogéneo de fármacos no relacionados químicamente que, aparte de presentar propiedades analgésicas, también son antipiréticos y antiinflamatorios [4]. No obstante, existen productos naturales que pueden sustituir a los fármacos al poseer propiedades antinociceptivas, es decir, permite la reversión o disminución de la sensibilidad de la intensidad del dolor (actividad analgésica). Por lo tanto, la búsqueda de estos compuestos naturales que provoquen un efecto antinociceptivo condujo a la realización de este estudio.

La familia *Orchidaceae* es una de la más diversas del reino vegetal y representa una parte importante de la biodiversidad en el Neotrópico [5]. Esta familia al tener una amplia distribución geográfica posee varios géneros, incluidos *Laelia*, *Stanhopea*, *Cyrtopodium* y *Epidendrum* los cuales se han reportado que poseen propiedades medicinales como antihipertensivas, antipiréticas, antiinflamatorias, antinociceptivas y antidiarreicas [6], sin embargo, uno de los géneros menos estudiados es *Catasetum*, el cual posee aproximadamente 170 especies y está ampliamente distribuido en la región neotropical de América [7]. *Catasetum integerrimum* es una orquídea bianual usada en la medicina tradicional mexicana; se conoce comúnmente como “cola de pato”, “chinela” o “palma de ardilla”, se caracteriza por ser una hierba epífita de 70 cm de alto, la cual posee pseudobulbos gruesos, carnosos y cubiertos de escamas tunicadas, presentando hojas anchas y dobladas, con nervios claramente marcados con brotes en racimos. Esta especie habita en Guatemala, Belice, Honduras, El Salvador, Nicaragua y México, distribuyéndose específicamente en bosques húmedos a secos [8]. En nuestro país se localiza en los estados de San Luis Potosí, Quintana Roo, Veracruz, Puebla, Querétaro [8]. En cuestiones de medicina tradicional, se usa para el tratamiento de la mordedura de víbora, para deshacer tumores y para curar forúnculos, llagas y heridas en la piel [8,9], así mismo se emplea para el cáncer de mama [10], para reducir el colesterol, colitis, diabetes, aliviar el dolor en el riñón, controlar la presión arterial; siendo los pseudobulbos, hoja, raíz, flores y frutos utilizados predominantemente como infusiones o licuados con agua como forma de tratamiento [8,11].

El objetivo de este artículo fue evaluar los efectos antinociceptivo y antiinflamatorio de un extracto de hojas de *Catasetum integerrimum* en un modelo *in vivo*.

Material y métodos

Planta: Se colectaron las hojas de *Catasetum integerrimum* en la comunidad de Nuevo Jalpilla, perteneciente al municipio de Tampacan, San Luis Potosí (Coordenadas: 1. 21.454254°N. -98.723656°W, 2. 21.454742°N. -98.724285°W, 3. 21.455267°N. -98.724756°W)

Animales de experimentación: Se usaron ratones de la cepa BALB/C machos, del bioterio de la División de Ciencias Naturales y Exactas. La alimentación de los ratones se realizó a base de nutricubos de purina para roedor y agua a voluntad. El Comité Institucional de Bioética en la investigación de la Universidad de Guanajuato (CIBIUG) revisó y aprobó el protocolo de este proyecto (CIBIUG-P03-2020).

Obtención del extracto: El proceso de extracción se llevó a cabo con 7 viales que contenían muestras al 10% p/v; se utilizó 3.5 gr de muestra seca por vial, así como un 8vo vial como blanco, este último se llenó con 35 mL de etanol absoluto y los otros 7 viales que contenían 3.5 mg de planta seca se le adicionó 31.5 ml de etanol absoluto, los tiempos empleados en el microondas correspondieron a 20 minutos de extracción, donde los primeros 10 minutos tuvieron un aumento prolongado hasta los 70°C, para posteriormente mantenerlo otros 7 minutos y finalizar en los últimos 3 minutos bajo temperatura de hasta los 55°C. Terminado el proceso de extracción se filtró el extracto y se concentró utilizando un rotavapor (175 mbar y baño maría de 45°C) hasta tener alrededor de 30-40 mL de extracto y por último se secó en una estufa de convección a una temperatura de 40 °C obteniendo así un contenido final del extracto de 642 mg.

Ensayo de placa caliente: Se seleccionaron tres grupos de nueve ratones cada uno, los cuales se expusieron individualmente a una temperatura de 55°C ±1°C en una placa caliente acoplada a un cilindro de acrílico para medir el tiempo de latencia (tolerancia al calor, deteniendo el tiempo al momento en que lamaban sus patas

traseras o brincaban) y posteriormente, se les administraron por vía oral diferentes dosis del extracto según el grupo (10, 50 y 100 mg/kg) para identificar algún cambio (saltar para intentar escapar o lamer alguna de las patas traseras) en el tiempo de reacción después de 1 hora y 2 horas. Como control negativo se administró únicamente solución salina y como control positivo se usó Tramadol (30 mg/kg) aplicado por vía oral.

Modelo de retorcimiento inducido por ácido acético: Consistió en tres grupos experimentales con 7 ratones, a los cuales se les administró por vía oral un pretratamiento de 100 µL del extracto de *Catsetum integerrimum* a dosis de 10, 50 y 100 mg/kg; como control negativo se usó un grupo tratado con solución salina y otro grupo tratado con el fármaco de referencia naproxeno (100 mg/kg). Después de 60 minutos se les administraron por vía intraperitoneal 100 µl de ácido acético y se registraron el número total de contorsiones en 30 min.

Edema auricular inducido por TPA: Se indujo de acuerdo con el método descrito por De Young [12] y modificado por Payá [13]. Se administró tópicamente una solución de 2.5 µg de TPA (13-acetato-12-O-tetradecanoilforbol) en 25 µl de acetona, se aplicó tópicamente sobre la superficie interna y externa de la oreja derecha del ratón (10 µl/lado) para provocar la inflamación. 2 mg del extracto de *C. integerrimum* disuelto en 30 µl acetona se aplicó tópicamente sobre la superficie interna y externa de la oreja derecha del ratón inmediatamente antes de la administración del TPA. Trascorridas 6 horas desde la administración del agente irritante, los animales se sacrificaron por dislocación cervical y se tomaron secciones circulares (6 mm de diámetro) de ambas orejas del animal (tratada y no tratada), las cuales se pesaron para determinar por diferencia el edema como delta de peso (Pt -Pnt). Los resultados se expresan como porcentaje de anti-inflamación frente al grupo control, utilizando la siguiente expresión:

$$\% \text{ anti - inflamatorio: } \frac{(Pt - Pnt)_{\text{control}} - (Pt - Pnt)_{\text{tratamiento}}}{(Pt - Pnt)_{\text{control}}}$$

donde Pt es el peso de la sección de la oreja tratada y Pnt es el peso de la sección de la oreja no tratada

Análisis estadístico. Todos los datos se reportaron como media ± error estándar de la media (SEM) y se analizaron mediante un análisis de varianza de una o dos vías seguido de la prueba de comparación múltiple de Dunnett. El programa estadístico utilizado fue GraphPad Prism (versión 8.0.1). un valor de probabilidad $p < 0.05$ se consideró como diferencia estadística.

Resultados

Ensayo de placa caliente

Los resultados del ensayo plasmados en la figura 1, muestran una diferencia significativa al aumentar el tiempo de latencia (resistencia al dolor por calor) después de 1 hora y 2 horas de administrar las dosis de 50 y 100 mg/kg comparado con el grupo vehículo, el cual solamente se le administró solución salina. Sin embargo, no lograron igualar o superar el efecto antinociceptivo de Tramadol a una dosis de 30 mg/kg. Se identificó una mejor respuesta por parte de la dosis de 50 mg/kg al cumplirse la primera hora. Por lo contrario, los efectos analgésicos disminuyen levemente a las dos horas, donde a una dosis de 10 mg/kg no presentó una respuesta significativa.

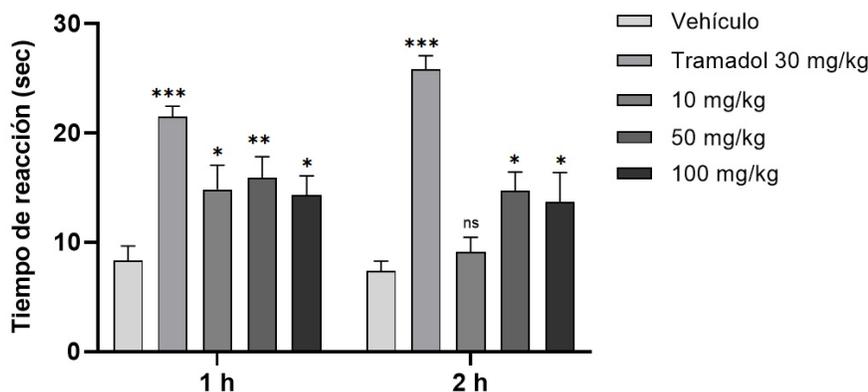


Figura 1. Resultados de nocicepción térmica inducida por el ensayo de placa caliente. El efecto antinociceptivo se calculó por el tiempo de reacción (segundos) de los ratones al dolor inducido por calor a 1 y 2 horas después de la administración oral de los extractos (10, 50 y 100 mg/kg). El grupo vehículo se refiere a los ratones tratados solamente con la solución salina. Tramadol fue usado como fármaco de referencia (control positivo). Las barras representan los valores promedios (\pm SEM) para los grupos experimentales (n=9), *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 en comparación con el vehículo; ns, sin diferencia significativa.

Modelo de retorcimiento inducido por ácido acético

Los resultados obtenidos y mostrados en la Figura 2, arrojan que, en comparación con el grupo vehículo (tratados solamente con solución salina), los extractos de *C. integerrimum* disminuyeron el número de contorsiones a dosis de 50 y 100 mg/kg, mientras que la dosis de 10 mg/kg, no mostró una reducción significativa que nos indicaría una posible actividad antinociceptiva. Para el caso de la dosis a 100 mg/kg, tuvo ligeramente un mejor efecto que el presentado por el naproxeno (NPR), y ambos mostraron tener una disminución significativa con respecto al número de contorsiones que denotaron el grupo de ratones tratados solamente con solución salina en un lapso de evaluación de 30 minutos.

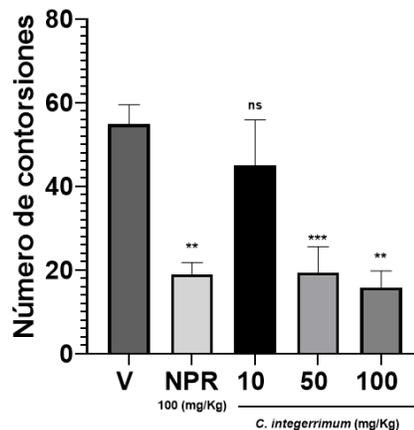


Figura 2. Resultados de nocicepción química inducida por el modelo de retorcimiento visceral por ácido acético. El efecto antinociceptivo fue calculado por el tiempo en que disminuyeron las contorsiones de los ratones inducidas por el ácido acético (vía i.p) después de la administración de los extractos de *C. integerrimum* (10, 50 y 100 mg/kg). El grupo vehículo (V) se refiere a los ratones tratados solamente con la solución salina. Naproxeno (NPR) a 100 mg/kg fue usado como fármaco de referencia (control positivo). Las barras representan los valores promedios (\pm SEM) para los grupos experimentales (n=7), *p<0.05, **p<0.01, *** p<0.001, ns sin diferencia significativa

Edema auricular inducido por TPA

El efecto antiinflamatorio del extracto de *C. integerrimum* se evaluó en el modelo de edema auricular inducido por la aplicación de TPA, el cual la inflamación se determinó midiendo los pesos resultantes de la diferencia del peso entre la oreja derecha (tratada con TPA/extractos) y la izquierda (no tratada) (figura 3). El peso del edema auricular al ser tratado solamente con el agente inflamatorio TPA fue de aproximadamente 17 mg, en contraste con los ratones que se trataron con diclofenaco (DIC) al 2.3% p/p y con 2 mg/oreja del extracto de *C. integerrimum*, mostraron reducción de peso (hinchazón) del edema auricular (Figura 3A). La administración del diclofenaco mostró una reducción significativa y tuvo un promedio de 10.08 mg, mientras que para el del extracto fue 10.25 mg, donde el promedio de los pesos fue muy parecido en ambos casos, obteniendo un porcentaje de disminución de peso aproximadamente del 40% (Figura 3A). El efecto farmacológico del extracto de *C. integerrimum* presenta una diferencia significativa en cuanto al porcentaje antiinflamatorio calculado con respecto al grupo control (solo TPA), obteniendo valores porcentuales similares a lo obtenido con el diclofenaco (control positivo), como se muestra en la Figura 3B. Los efectos protectores del extracto sobre la piel fueron notorios debido a que se redujo la hinchazón y el daño en la oreja derecha del ratón en comparación con la hinchazón que se produce en los ratones tratados solo con TPA (Figura 3C).

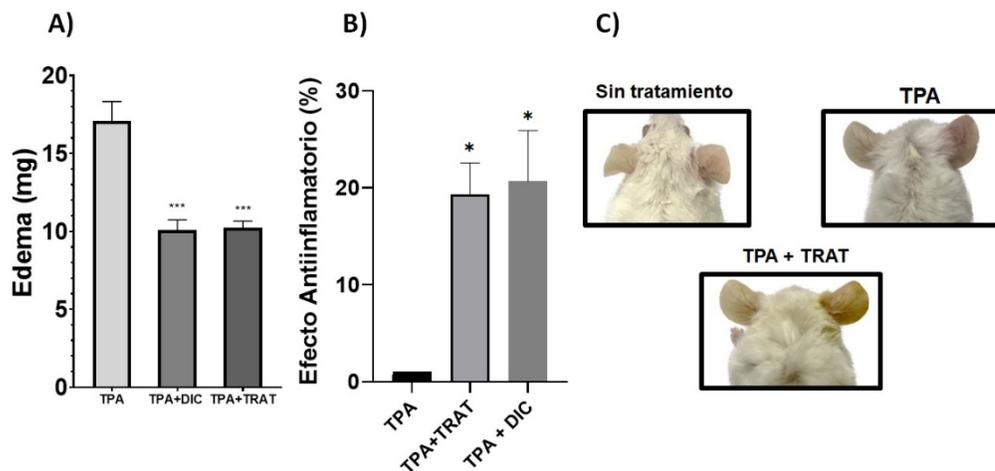


Figura 3. Efectos protectores de *C. integerrimum* contra el edema en oreja inducido por TPA. A) El peso de las orejas de los ratones representa la inflamación (edema) por la administración vía tópica del TPA y tratados con el extracto de *C. integerrimum*, que son denotados como "TRAT". B) El porcentaje antiinflamatorio representa la inhibición del edema de oído por la administración vía tópica del extracto que se administró a los ratones con respecto a niveles basales del ratón tratado solamente con TPA. C) Imágenes representativas de los ratones no tratados y con tratamiento (No tratados, TPA, y TPA más extracto de *C. integerrimum*). Las barras representan valores promedios (SEM) para el grupo experimental. n=6, * p<0.05 y ***p<0.001 en comparación con el grupo de vehículo.

Discusión

La prueba de la placa caliente propuesta por Eddy y Leimbach (1953) se utiliza para analizar el comportamiento y estima los efectos de las NCE (New Chemical Entities) para detectar el umbral de dolor. Esta prueba se basa en el principio de que cuando los roedores se colocan sobre una superficie caliente, inicialmente demuestran los efectos aversivos del estímulo térmico lamiéndose las patas y, en última instancia, mediante intentos abiertos de escapar del entorno (saltando). Las sustancias que alteran el umbral nociceptivo aumentan la latencia para lamer/saltar (efecto analgésico) o pueden disminuir el tiempo de latencia (efecto hiperalgésico) [15].

El tramadol es un analgésico de acción central que no guarda relación estructural con los opioides, no se conoce con precisión su mecanismo de acción; por ello se piensa que su efecto analgésico depende de un mecanismo doble: opioide y no opioide. Se absorbe de manera rápida y completa por vía oral, siendo su efecto evidente en 1 h y dura cerca de 9 h [16]. Por este motivo, se administró a los ratones como control positivo para prolongar el tiempo de latencia (Fig. 1).

Al comparar los efectos farmacológicos del extracto de *Catsetum integerrimum* con Tramadol, se detecta un efecto antinociceptivo menor en las dosis de 10, 50 y 100 mg/kg que fueron aplicadas a los ratones. A pesar de esto, el extracto mejoró notablemente la tolerancia al dolor en contraste con los ratones no tratados. Siendo la dosis de 50 mg/kg la que presenta un mejor efecto. Además, la actividad antinociceptiva del extracto vegetal es ligeramente menor después de una hora, lo que podría indicar que conforme pasa el tiempo va disminuyendo el efecto analgésico. Estos resultados comprueban que la planta posee compuestos con propiedades analgésicas ideales para disminuir el dolor a corto plazo, no obstante, pueden existir factores como mecanismo de acción, tiempo y otras características que aún se deben de analizar para precisar la obtención de un efecto antinociceptivo capaz de reemplazar algún analgésico comercial.

El naproxeno es un fármaco sintético perteneciente al grupo de antiinflamatorios no esteroideos o denominados (AINEs), el cual presenta propiedades analgésicas, antiinflamatorias y antipiréticas, por lo que se dio su uso como vehículo positivo en el modelo de inducción al dolor mediante ácido acético, al ser capaz de inhibir las enzimas ciclooxigenasas las cuales son cruciales en la producción de prostaglandinas que están involucradas en la señalización del dolor e inflamación provocadas por el ácido acético en el tejido que sensibiliza las terminaciones nerviosas del grupo de ratones provocando las contorsiones, obteniendo así una reducción del dolor y por ende una disminución en el número de estas [17].

La técnica del ácido acético empleada fue propuesta por Koster R., Anderson M., De Beer E. J. (1959), consiste en la inducción de contorsiones abdominales en ratones agrupados a los cuales se les administra la inyección de una solución de ácido acético al 3% (V/V) i.p. para su posterior valoración, con el fin de identificar analgesia visceral [18].

Acorde al resultados mostrados en el modelo *in vivo* de contorsiones que se muestra en la Figura 2, se obtuvieron diversos hallazgos al comparar los efectos mostrados con el grupo vehículo y con el grupo tratado con extracto de *C. integerrimum*, el cual mostró una respuesta favorable a la disminución del número de contorsiones producidas en los treinta minutos del experimento, posiblemente por la inhibición del aumento en los niveles de prostaglandinas, ácido araquidónico, serotonina bradicinina e histamina que desencadena la respuesta al retorcimiento [19]. Lo anterior indica una actividad antinociceptiva, destacando que las dosis empleadas de 50 y 100 mg/kg obtuvieron mejores efectos farmacológicos.

En el caso de la dosis de 50 mg/kg del extracto *C. integerrimum*, mostró una reducción significativa de más del doble con respecto al número de contorsiones que fueron observadas en el grupo vehículo, al cual solo se le había administrado solución salina, indicando así la presencia de actividad nociceptiva en el grupo de ratones tratados con el extracto de *C. integerrimum*. Así mismo, se destaca que esta dosis de 50 mg/kg del extracto presentó efectos similares por el descenso de dichas contorsiones con respecto al naproxeno 100 mg/Kg.

Finalmente, la dosis que proporcione resultados más significativos con efecto antinociceptivo, fue la de 100 mg/kg en comparación con el vehículo negativo siendo de alrededor de 18 contorsiones contra 54 en un periodo de media hora, mientras que en el grupo naproxeno (100 mg/kg) mostró ligeramente más contorsiones en comparación con el grupo del extracto a dosis de 100 mg/kg.

El modelo de edema auricular inducido por TPA en ratones se llevó a cabo como se describe anteriormente. La inflamación que ocurre en la oreja debido a la aplicación tópica de TPA y que causa edema es mediada por la proteína quinasa C, la activación de la fosfolipasa A2 y la ciclooxigenasa [20]. Los hallazgos indican que la capacidad antiinflamatoria observada por *Catasetum integerrimum*, posiblemente se debe a su capacidad para bloquear estos mediadores inflamatorios, a pesar de que hubo respuesta por parte del tratamiento se recomienda realizar nuevamente esto, pero en un modelo crónico, es decir en periodo de 10 días, ya que los efectos que se obtuvieron fueron en un periodo corto y sería interesante ver si este logra tener un mayor efecto sobre el edema inducido.

Conclusión

El uso del extracto de *Catasetum integerrimum* en modelos de dolor e inflamación aguda, demostró que esta planta probablemente si posee actividad tanto antiinflamatoria como antinociceptiva y en un futuro esta pueda ser usada con fines farmacológicos. Sin embargo, se recomienda realizar un estudio a largo plazo para evaluar el beneficio farmacológico de esta planta en modelo murinos crónicos de dolor e inflamación.

Bibliografía/Referencias

- [1]. Zeligler, H. I. (2023). Inflammation. *Oxidative Stress*, 101–109. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91890-9.00037-4>
- [2]. Chandrasoma P y Taylor CR (Eds.), (1998). *Patología concisa*, 3e. Colina McGraw. <https://accessfisioterapia.mhmedical.com/content.aspx?bookid=333&ionid=40013175>, Capítulo 3. la respuesta inflamatoria aguda.
- [3]. Bustos-Gómez, C. I., Gasca-Martínez, D., Yáñez-Barrientos, E., Hidalgo-Figueroa, S., Gonzalez-Rivera, M. L., Barragan-Galvez, J. C., Zapata-Morales, J. R., Isiordia-Espinoza, M., Corrales-Escobosa, A. R., & Alonso-Castro, A. J. (2022). Neuropharmacological Activities of *Ceiba aesculifolia* (Kunth) Britten & Baker f (Malvaceae). *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 15(12). <https://doi.org/10.3390/PH15121580>
- [4]. Elisabet Font. (octubre del 2002). Analgesia y analgésicos. *Offarm*, Vol. 21. Num. 9, 4., De ELSEVIER Base de datos.
- [5]. Castillo-Pérez, L. J., Alonso-Castro, A. J., Fortanelli-Martínez, J., & Carranza-Álvarez, C. (2022). Micropropagation of *Catasetum integerrimum* Hook (Orchidaceae) through seed germination and direct shoot regeneration from pseudobulbs and roots. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 58(2), 279–289. <https://doi.org/10.1007/S11627-021-10248-3/METRICS>

- [6]. Morales-Sánchez, V., Rivero-Cruz, I., Laguna-Hernández, G., Salazar-Chávez, G., & Mata, R. (2014). Chemical composition, potential toxicity, and quality control procedures of the crude drug of *Cyrtopodium macrobulbon*. *Journal of Ethnopharmacology*, 154(3), 790–797. <https://doi.org/10.1016/J.JEP.2014.05.006>, Arora, M., Mahajan, A., & Sembi, J. K. (2017). A REVIEW ON PHYTOCHEMICAL AND PHARMACOLOGICAL POTENTIAL OF FAMILY ORCHIDACEAE. *International Research Journal of Pharmacy*, 8(10), 9–24. <https://doi.org/10.7897/2230-8407.0810176>, Morales-Sánchez, V., Rivero-Cruz, I., Laguna-Hernández, G., Salazar-Chávez, G., & Mata, R. (2014). Chemical composition, potential toxicity, and quality control procedures of the crude drug of *Cyrtopodium macrobulbon*. *Journal of Ethnopharmacology*, 154(3), 790–797. <https://doi.org/10.1016/J.JEP.2014.05.006>
- [7]. Milet-Pinheiro P, Gerlach G (2017) Biology of the Neotropical orchid genus *Catasetum*: a historical review on floral scent chemistry and pollinators. *Perspect Plant Ecol Evol* 27:23–34
- [8]. Galicia-Mendieta EM (2017) Evaluación citotóxica de compuestos fenólicos de *Catasetum integerrimum* (Orchidaceae). Bachelor Thesis. Universidad Nacional Autónoma de México, México
- [9]. Hágsater, E. & Salazar C., G.A. 1990. ICONES ORCHIDACEARUM. Fascicle I. Orchids of Mexico. Part 1. Asociación Mexicana de Orquidología A.C. 206 pp. Flora de la Península de Yucatán. Herbario CICY, Unidad de Recursos Naturales, Zolla, C., A. Argueta & S. Mata (coordinadores). 2009. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana (Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana). Programa Universitario, México Universidad Nacional Autónoma de México multicultural. <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/atlas.php>
- [10]. Shriram, V., Kumar, V., Kavi, P., Survawanshi, S., Upadhyay & Bhat, M. 2010. Cytotoxic activity of 9,10-d Shriram, V., & Kumar, V. (2021). *Eulophia* spp.: In Vitro Generation, Chemical Constituents, and Pharmacological Activities. 1–23. https://doi.org/10.1007/978-3-030-11257-8_31-1
- [11]. Hernández-Bautista EY, Martínez-Espinoza LAF (2019) Aspectos ecológicos, etnobotánicos, análisis fitoquímico y cultivo in vitro de *Catasetum integerrimum* Hook. (Orchidaceae). Bachelor Thesis. Instituto Tecnológico de Huejutla, México
- [12]. De Young LM, Kheifets JB, Ballaron SJ, Young JM. Edema and cell infiltration in the phorbol ester-treated mouse ear are temporally separated and can be differentially modulated by pharmacologic agents. *Agents Actions* 1989;26:335-41.
- [13]. Payá M, Ferrándiz ML, Sanz MJ, Bustos G, Blasco R, Ríos JL et al. Study of the antioedema activity of some seaweed and sponge extracts from the mediterranean coast in mice. *Phytother Res* 1993;7:159-62.
- [14]. Eddy NB and Leimbach D. (1953). Synthetic analgesics II. Dithienylbutenyl- and dithienylbutylamines. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 107:385-393.
- [15]. Hemier, A. M., Froger-Colléaux, C., & Castagné, V. (2016). CNS safety pharmacology: A focus on cognitive functions. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 81, 286–294. <https://doi.org/10.1016/J.VASCN.2016.04.002>
- [16]. Tramadol: analgésicos. Rodríguez Carranza R(Ed.), (2015). *Vademécum Académico de Medicamentos*. McGraw Hill. <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1552§ionid=90375799>
- [17]. Naproxeno: analgésicos • antiinflamatorios • antiartríticos. Rodríguez Carranza R(Ed.), (2015). *Vademécum Académico de Medicamentos*. McGraw Hill. <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1552§ionid=90373273> ,
- [18]. Le Bars, D., Gozariu, M., Cadden, S.W., 2001. Animal models of nociception. *Pharmacol. Rev.* 53, 597–652.
- [19]. Collier, H.O.; Dinneen, L.C.; Johnson, C.A.; Schneider, C. The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. *Br. J. Pharmacol. Chemother.* 1968, 32, 295–310.
- [20]. González-Velasco, H. E., Pérez-Gutiérrez, M. S., Alonso-Castro, Á. J., Zapata-Morales, J. R., Niño-Moreno, P. D. C., Campos-Xolalpa, N., & González-Chávez, M. M. (2022). Anti-Inflammatory and Antinociceptive Activities of the Essential Oil of *Tagetes parryi* A. Gray (Asteraceae) and Verbenone. *Molecules*, 27(9).