



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>



Universitat Autònoma de Barcelona

TESIS DOCTORAL

Farmacología humana de la salvinorina A: estudio del mecanismo de acción central mediante bloqueo farmacológico de los efectos

Ana Elda Maqueda Sánchez

Director de tesis:

Dr. Jordi Riba Serrano

Universidad Autónoma de Barcelona

Departamento de Farmacología, Terapéutica y Toxicología

2018



Universitat Autònoma de Barcelona

TESIS DOCTORAL

Farmacología humana de la salvinorina A: estudio del mecanismo de acción central mediante bloqueo farmacológico de los efectos

Memoria presentada por

Ana Elda Maqueda Sánchez

para optar al grado de

Doctora por la Universidad Autónoma de Barcelona

Departamento de Farmacología, Terapéutica y Toxicología

Trabajo realizado bajo la dirección del

Dr. Jordi Riba Serrano

A mi padre Manuel

AGRADECIMIENTOS

Gracias al Dr. Jordi Riba, director de la tesis.

Gracias a los voluntarios de los estudios.

Gracias a mi familia en todo su conjunto: a todos los que me apoyan y creen en mi, incluyendo a mi perro Coco. A mi madre Elda que inspiró este viaje con su espíritu. A mi padre Manuel por su apoyo incondicional. A Dani por apoyarme en viajar. Gracias por el amor, Sebensuí.

Gracias a las mujeres y los hombres Mazatecos, a la maestra Yolanda, a Julieta, a Juan Campos, a Kerstin y Andrea, a Ana Paula, a Don Maximiano, a la familia Arista. Gracias al país de México. Gracias a la Naturaleza.

Gracias a la Salvia de los Dioses, la Salvia de los Adivinos. Gracias por la medicina y el misterio.

Xkà chikon
Nima'a sa'see
Chjoon nandá

De repente me di cuenta de que no tenía ningún recuerdo de haber vivido alguna vez en otro estado de conciencia, sino en la condición incorpórea en la que me encontraba en ese momento. En este estado, todos los puntos de tiempo en mi historia personal coexistían. Ninguno precedía al siguiente.

Daniel Siebert, primera experiencia humana con salvinorina A pura.
Extraído de *Salvinorin: The Psychedelic Essence of Salvia Divinorum*, por D. M. Turner (1996)

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.

1. Historia natural y usos de la *Salvia divinorum*.

- 1.1. Descripción botánica 3
- 1.2. Distribución geográfica 5
- 1.3. Primeros relatos sobre el uso ritual y medicinal 6
- 1.4. Usos tradicionales actuales 7
- 1.5. Usos no tradicionales 9

2. Compuestos bioactivos presentes en la *Salvia divinorum*.

- 2.1. *Salvinorina A*: Estructura química y dianas biológicas 12
- 2.2. *Salvinorina A*: Estudios farmacológicos en animales 20
- 2.3. Otros terpenos presentes en la *Salvia divinorum* 27

3. Efectos farmacológicos de la *salvinorina A* en humanos.

- 3.1. Efectos subjetivos 28
- 3.2. Farmacocinética 36
- 3.3. Efectos cardiovasculares y autonómicos 37
- 3.4. Efectos neuroendocrinos 37
- 3.5. Efectos sobre el sistema inmunitario 37
- 3.6. Efectos psicofisiológicos 38
- 3.7. Reacciones adversas 39
- 3.8. Otros efectos psicológicos a corto y medio plazo 39

4. Cuestiones pendientes de estudio que se abordan en esta memoria. 41

HIPÓTESIS. 43

OBJETIVOS. 47

RESUMEN DEL DISEÑO EXPERIMENTAL. 50

RESULTADOS. 58

Publicaciones originales. 60

Salvinorin-A Induces Intense Dissociative Effects, Blocking External Sensory Perception and Modulating Interoception and Sense of Body Ownership in Humans

International Journal of Neuropsychopharmacology, 2015, 1–14 62

*Naltrexone but Not Ketanserin Antagonizes the Subjective, Cardiovascular, and
Neuroendocrine Effects of Salvinorin-A in Humans*

International Journal of Neuropsychopharmacology, 2016, 1–13	79
Resumen de los resultados.	95
DISCUSIÓN.	103
CONCLUSIONES.	114
REFERENCIAS.	117

INTRODUCCIÓN

1. Historia natural y usos de la *Salvia divinorum*

1.1 Descripción botánica

De las más de 1.000 especies de *Salvia* que existen en el mundo, ninguna ha suscitado tanto interés y curiosidad como la *Salvia divinorum*. El nombre del género, *Salvia*, proviene del latín “salvare”, que significa salvar o curar. El nombre botánico *divinorum* fue dado por Albert Hofmann, en referencia a uno de los usos tradicionales de esta hierba para “adivinar”. La *S. divinorum* es una planta perenne e hidrófita perteneciente a la familia de las mentas (Lamiaceae), y tiene una altura de entre 0.5 y 1.5 metros. Tiene un tallo cuadrado y hueco, con tallos secundarios decumbentes que le permiten propagarse vegetativamente enraizando desde los nodos e internodos, pudiendo rebrotar desde el suelo desde tallos senescentes. Las hojas son entre ovaladas y lanceoladas con bordes dentados y de aspecto aterciopelado, y están dispuestas en pares opuestos. Florece esporádicamente entre los meses de octubre a junio. Las flores tienen una corola blanca peluda ligeramente sigmoidea, rodeada por un cáliz violeta con labios superiores distintivos de tres venas. El néctar de las flores y las dimensiones de la corola parecen indicar ornitofilia, pero otros factores sugieren que las visitas de los pájaros son oportunistas y no un producto co-evolutivo entre planta y polinizador (Reisfield, 1993).



Figura 1: planta y flores de la *Salvia divinorum* (fotos de Ana Elda Maqueda, 2015)

INTRODUCCIÓN

El principio activo de la *S. divinorum* (la salvinatorina A) y otros compuestos relacionados son secretados como componentes de una resina compleja acumulada en el espacio subcuticular de los tricomas glandulares peltados de las hojas. Las semillas son de color marrón oscuro y de unos 2mm. Hasta los años 80 se creyó que la producción de semillas era extremadamente infrecuente, y de existir, éstas resultaban prácticamente inviábiles, por lo que la reproducción era exclusivamente vegetativa o por esquejes. Esta creencia se sustentaba en que los Mazatecos, el pueblo mexicano que emplea la planta de manera ritual y medicinal, la reproduce sembrando esquejes, y porque en las primeras expediciones los investigadores no encontraron poblaciones de *S. divinorum*. Sin embargo, los Mazatecos afirman que la planta sí crece de manera salvaje, y que dichas plantas producen semillas que pueden ser germinadas con éxito (Valdés, 1987). Aunque a día de hoy diversos investigadores en el mundo han conseguido germinar nuevas plantas a partir de semillas (Hannah, 1999; Siebert, 1999), su producción es ciertamente escasa, y parecen tener una baja tasa de germinación y supervivencia.

El biólogo y botánico mexicano Arturo Gómez Pompa fue quien clasificó por primera vez a la *S. divinorum* como perteneciente al género de las Salvias, no pudiendo hacer una identificación completa por la ausencia de material en floración (Gómez Pompa, 1957). Los investigadores Robert Gordon Wasson y Albert Hofmann (Wasson, 1962) consiguieron recolectar especímenes en floración, y los enviaron al mayor experto en Salvias en el momento, Carl Epling, para su identificación. En la primera descripción botánica llevada a cabo (Epling y Jativa, 1962), se describen las flores con cáliz y corola azules, un error que ha persistido en la literatura incluyendo en “Las plantas alucinógenas” de Richard Evan Schultes, y en la primera edición de “Narcotic Plants” de William Emboden, entre otros. La descripción oficial fue corregida por Aaron S. Reisfield en 1993, quien describió en detalle las partes de la planta y realizó un exhaustivo trabajo de campo por la Sierra (Reisfield, 1993).

En la descripción de Epling y Jativa, la *S. divinorum* fue clasificada dentro de la sección *Dusenostachys*, cuyos especímenes son endémicos del sur y del centro de México casi en su totalidad. Sin embargo, en un estudio filogenético molecular por secuenciación de ADN (Jenks et al., 2010) en el que se compararon muestras de *S. divinorum* y otras 52 especies de *Salvia* dentro del subgénero *Calosphace*, al que pertenece la *S. divinorum*, no se encontraron evidencias para incluir a la *S. divinorum* en la clasificación *Dusenostachys* propuesta por Epling y Jativa, ni para considerarla un híbrido. Aunque el origen exacto de la *S. divinorum* sigue siendo un misterio, los resultados del estudio filogenético sugieren que la *Salvia venulosa*, planta perenne nativa de una

pequeña región de los Andes Colombianos, es el pariente más cercano de la *S. divinorum*. El tomillo (*Thymus vulgaris*), la salvia común (*Salvia officinalis*), la menta (*Mentha piperita*), y la albahaca (*Ocimum basilicum*) son otros de sus familiares en el reino vegetal. Recientemente, en un análisis genómico realizado para investigar la presencia de compuestos alucinógenos en 40 especies de *Salvia* en Turquía, se ha hallado el principio activo de la *S. divinorum* (la salvinatorina A) en varias especies. Estas especies de *Salvia* son la *Salvia recognita*, la *Salvia cryptantha*, y la *Salvia glutinosa* (Hatipoglu et al., 2017).

1.2. Distribución geográfica

La distribución nativa de la *S. divinorum* parece estar limitada a la Sierra Mazateca, una zona montañosa dentro de la Sierra Madre Oriental de Oaxaca, México. Se cree que la planta pudiera haber llegado a esta área procedente de otro lugar, en las épocas de trasiego post hispánicas. Crece a elevaciones de entre los 700 y 1.800 metros de altitud, en bosques tropicales. La *S. divinorum* prefiere crecer en las orillas de arroyos y en zonas en penumbra extremadamente húmedas. Los Mazatecos suelen cultivarla en las plantaciones de café, en áreas de niebla espesa, y siempre en lugares de difícil acceso o escondidos a la vista. El secretismo de los Mazatecos sobre los lugares donde crece la *S. divinorum* impidió por muchos años su clasificación botánica por la dificultad de recolectar especímenes.



Figura 2: Valles de San José Tenango, Sierra Mazateca (foto de Ana Elda Maqueda, 2013)

INTRODUCCIÓN

Los primeros especímenes vivos y en floración de *S. divinorum* que salieron fuera de México y se distribuyeron por el mundo fueron recogidos en la Sierra Mazateca por el psiquiatra y naturalista Sterling Bunnell, quien los introdujo en los Estados Unidos en 1962. Bunnell depositó uno en el herbario de la Universidad de California en Berkeley, cultivó otros en su casa, y propagó esquejes entre botánicos y amigos como el químico Alexander Shulgin. Por lo tanto, la variedad más común de *S. divinorum* extendida comercialmente por el mundo hoy día es la “variedad de Bunnell”, y no la “variedad de Wasson y Hofmann”, que en realidad no existe, ya que sus especímenes fueron secados y prensados, permaneciendo en México (Siebert, 2003).

1.3. Primeros relatos sobre el uso ritual y medicinal

Los Mazatecos, el pueblo que emplea la *S. divinorum* por sus propiedades medicinales y psicoactivas desde hace cientos de años, conocen a la planta en su idioma como “ska Pastora” [sic]. Al ser tonal el idioma Mazateco, en la literatura se ha recogido el sonido de la palabra “ska”. Sin embargo, parece que una forma más correcta de escribir hoja o hierba en Mazateco sería *xkà* (Carrera, 2011). La *S. divinorum* parece por tanto carecer de un nombre indígena. Los Mazatecos también se refieren a esta planta con nombres en castellano como hoja de María, hoja de la Pastora, u hoja de la adivinación, todos ellos relacionados con la virgen María, de quien dicen que la planta es su encarnación. La carencia de un nombre indígena y el hecho de que no existían pastores en México antes de la llegada de los españoles, hacen suponer que la *S. divinorum* pudiera ser una introducción post-colonial, o que el nombre original en Mazateco hubiera sido modificado por influencia cristiana (Ott, 1995).

Las expediciones antropológicas que recorrieron la Sierra Mazateca durante los años 30, lideradas por el antropólogo Roberto J. Weitlaner, dieron con el redescubrimiento del uso nativo ceremonial entre los Mazatecos de los hongos alucinógenos, en la aldea de Huautla de Jiménez. El antropólogo Jean Basset Johnson, quien formaba parte de las expediciones, descubrió que los Mazatecos usaban para la adivinación el jugo de las hojas de una planta a la que llamaban “hierba María”, en lo que constituye el primer informe académico sobre la existencia de la *S. divinorum* (Johnson, 1939). Johnson también descubrió que los Mazatecos empleaban en sus ceremonias las “semillas de la Virgen” (Johnson, 1939), que fueron identificadas más tarde como semillas de la enredadera “ololiuqui” *Turbina corymbosa*. Estas semillas contienen ergina (LSA), un alcaloide similar en estructura a la dietilamida del ácido lisérgico (LSD) (Hofmann y Tschertter, 1960).

En 1945, el antropólogo Blas Pablo Reko mencionó el uso por los Mazatecos y los Cuicatecos de una “hoja de la adivinación”, que con toda probabilidad se trataba de la *S. divinorum* (Reko, 1945).

Siete años más tarde, Weitlaner observó el uso terapéutico y adivinatorio entre los Mazatecos de Jalapa de Díaz de una poción hecha frotando en agua entre 50 y 100 hojas de “hierba de María”, siendo la dosis más alta empleada para los adictos al alcohol. Describió que las hojas son recogidas por los curanderos, quienes preparan la poción y la administran por la noche al enfermo. Además de para curar, Weitlaner anotó que se usaban las hojas para adivinar dónde se había perdido un animal o una persona, o quién había cometido un robo (Weitlaner, 1952).

De los artículos publicados por los siguientes investigadores que visitaron la Sierra Mazateca y participaron en ceremonias con la *S. divinorum* (ver la revisión de literatura de L.J. Valdés et al., 1983), conocemos que los Mazatecos emplean la planta, además de los usos ya mencionados, como un tratamiento eficaz para la artritis y la inflamación, los dolores de cabeza, problemas gastrointestinales, para el tratamiento de disfunciones eliminatorias, y para tratar la adicción al alcohol. Como iremos viendo más adelante, la validez de cada una de estas diferentes aplicaciones está bien documentada en recientes hallazgos farmacológicos. También se menciona el uso de la *S. divinorum* para el alivio general o como tónico para los enfermos, personas anémicas, o moribundos. Sobre sus usos chamánicos, parece que es la hierba de iniciación o entrenamiento para el futuro curandero (por ser considerada la planta con menor potencia psicoactiva o más fácil de manejar), seguida por las “semillas de la Virgen” (conocidas como *naxole natjaoná* en Mazateco), y finalmente por el aprendizaje en el manejo de los hongos alucinógenos. Para las ceremonias, el curandero y el paciente han de seguir una dieta estricta absteniéndose de comer ciertos alimentos, evitar determinadas situaciones como funerales, y no mantener relaciones sexuales durante un periodo que varía entre varios días a varias semanas. Durante las ceremonias, que se suelen celebrar de noche frente a un altar en completa oscuridad, se entonan cánticos y oraciones, y se emplean velas blancas, granos de cacao, hoja de tabaco molida mezclada con cal llamada “San Pedro”, y flores frescas.

1.4. Usos tradicionales actuales

Durante mi propio trabajo de campo, llevado a cabo en varios meses entre los años 2011 a 2016, he sabido que las hojas se aplican en cataplasmas para tratar picaduras de insectos, eccemas, y hongos. Mis informantes femeninos señalaron que la *S. divinorum* es una planta excelente para las mujeres como un remedio para la candidiasis y otras enfermedades vaginales, cistitis, y para dolores menstruales. Pasé algunos meses viviendo con una familia cuyo hijo mayor había sido adicto a los

INTRODUCCIÓN

inhalantes y a la cocaína. El padre, curandero, trató a su hijo con éxito utilizando *S. divinorum* en ceremonias, y administrándole hojas frescas en días alternos durante un mes. También he podido contrastar la creencia sobre que la *S. divinorum* solamente se emplea en las épocas en que los hongos no están disponibles. Parece ser que algunos curanderos tienen preferencia por el uso de los hongos como remedio. Sin embargo, la gran mayoría emplea las distintas hierbas psicoactivas de que disponen dependiendo del problema a tratar, en cualquier época del año.

La manera en que los Mazatecos consumen las hojas depende de su aplicación. En el caso de las ceremonias, se mastican bien, y se tragan, o se bebe la mezcla de hojas trituradas con agua. En este último caso, los Mazatecos emplean un mayor número de hojas que si son consumidas masticadas. El número de hojas administradas al paciente dependerá de la constitución física, la experiencia previa, y de la naturaleza del problema a tratar. Durante las ceremonias, el curandero hace preguntas al paciente, quien expresa en voz alta sus descubrimientos sobre el problema que provocó la consulta. Los efectos aparecen después de 20-30 minutos, y pueden durar 4-5 horas. Consisten en sentimientos de bienestar, una sensación de paz interna y calma que dura días después de la ceremonia, experiencias fuera del cuerpo, sensaciones físicas de flotar y de ser tocado o masajeados, visiones orgánicas de elementos de la naturaleza, animales y otras personas, experiencias auditivas (escuchar una suave voz femenina que responde o aconseja), y la sensación de una presencia femenina. Algunos Mazatecos creen que esta presencia es la virgen María, pero otros creen que es la diosa de las plantas y los animales, o el espíritu de la Naturaleza. Cuando lo que se busca es su remedio medicinal, el jugo de 20-40 hojas o más se bebe justo antes de ir a dormir, para evitar los efectos psiquedélicos. Los usuarios que entrevisté informaron haber tenido sueños vívidos y una remisión significativa y duradera de los síntomas de dolor, bronquitis, fiebre, contracturas de espalda, retención de líquidos o inflamación después de la noche del tratamiento. Los Mazatecos dicen que la planta es una doctora que trabaja por dentro para restaurar su salud. Además, esta hierba se emplea para tratar el estado de ánimo bajo comiendo un par de hojas frescas por la mañana, a modo de micro dosificación (las hojas se consumen siempre en pares, según ellos para respetar el principio dual de lo masculino y lo femenino).

En la actualidad, los Mazatecos saben que la *S. divinorum* se ha extendido por todo el mundo y que se consume fumada, pero algunos de ellos consideran que este uso es incorrecto y contra el espíritu de la planta, que no debería ser quemado. Ellos creen que esta práctica está detrás de los malentendidos sobre la planta, y que podría ser la causa de su ilegalización en algunos países. Cuando se les pregunta sobre el potencial de adicción, o acerca de efectos tóxicos o dañinos,

claramente indican que la *S. divinorum* ha sido consumida por ellos y sus antepasados durante siglos, a veces en cantidades de más de 100 pares de hojas, sin ningún problema, intoxicaciones o comportamientos adictivos. Por el contrario, es una fuente invaluable de curación. También les pregunté acerca de síntomas de paranoia o psicosis después de su uso, y recibí la misma respuesta: esto nunca les sucedió. Pero para los Mazatecos, el uso chamánico de la *xkà pastora* tiene que tomarse en serio y cuidadosamente: se debe tener una intención honesta de curarse a uno mismo o a otros, o el propósito de hacer el bien con su uso. Se debe realizar un ritual con un principio y un final, e incluso si el propósito es solo conocer la planta, se debe pedir permiso a su espíritu antes de cortar las hojas, ser agradecido, y mostrar respeto a su poder.



Figura 3: Curandera Mazateca Yolanda junto a *S. divinorum* (foto de Ana Elda Maqueda, 2013)

1.5. Usos no tradicionales

Durante la última década, el interés por la *S. divinorum* se ha expandido por todo el mundo por sus propiedades modificadoras de la percepción, descubriendo además los usuarios nuevas y más eficientes formas de consumo distintas a las tradicionales. Estas nuevas formas de administración incluyen: a) la vía sublingual empleando tinturas, que proporciona la experiencia más similar al consumo tradicional; b) la vaporización de las hojas secas, lo que resulta pesado para las vías respiratorias ya que para conseguir efectos psicoactivos notables se han de fumar grandes

INTRODUCCIÓN

cantidades de hoja; c) por vaporización de hojas secas potenciadas con su principio activo la salvinorina A, lo que evita el problema anterior; y d) por vaporización de preparados a base de extractos fortificados, el método más eficaz de obtener efectos, pero también el que implica mayor riesgo de sobredosificación. Los efectos obtenidos al fumar los extractos o las hojas potenciadas son más inmediatos y potentes que los producidos mediante el consumo tradicional.



Figura 4: Extracto fortificado - Hojas secas - Tintura para uso bucal

La concentración del principio activo en las hojas de la *S. divinorum* varía entre 0.89 a 3.70 mg/g de peso seco (Gruber et al., 1999), mientras que los otros compuestos presentes en las hojas se encuentran a concentraciones mucho más bajas (Munro et al., 2003). Los extractos son comercializados indicando su potencia aproximada desde las más bajas (“3x”, “5x”), hasta las más potentes (“50x”, “100x”), pero el etiquetado suele carecer de información acerca de la cantidad de principio activo que contienen. Algunos estudios que han analizado estos productos han mostrado una gran variabilidad en la cantidad de principio activo dependiendo de la marca. Los contenidos de salvinorina A en productos de hojas secas fueron (en $\mu\text{g}/\text{mg}$): 0.89-3.70 (Gruber et al., 1999), 3.2-5.0 (Tsujiikawa et al., 2008), y 7.6-7.8 (Medana et al., 2006). La concentración de salvinorina A en hojas recolectadas de plantas separadas, incluso genéticamente idénticas, puede variar considerablemente (Gruber et al., 1999). Wolowich y colaboradores (2006) mostraron que el contenido de salvinorina A de extractos con una potencia entre 5x-20x osciló entre 0.126 y 0.951 $\mu\text{g}/\text{mg}$. Sin embargo, otro análisis de extractos de potencia similar realizado por Tsujikawa y su equipo (2008), reveló una concentración mucho más alta de salvinorina A: 4.1-38.9 $\mu\text{g}/\text{mg}$.

Baggott y colaboradores (Baggott, Erowid & Erowid, 2004) realizaron una encuesta en internet a 500 usuarios de *S. divinorum* para conocer los patrones de consumo. La mayoría de los participantes fueron hombres (93%), de 23 años (rango de edad: 13-68 años), y de nacionalidad norteamericana (77%). Los participantes preferían vaporizar hojas potenciadas o extractos, y el 54% declaró que volvería a repetir la experiencia, aunque refirieron un número bajo de veces que emplearon la planta en su vida ($n < 20$). Los efectos subjetivos fueron calificados como “únicos” e “intensos”, y no se encontraron efectos adversos persistentes.

En otras encuestas realizadas en internet a usuarios de Estados Unidos y Gran Bretaña (Miller et al., 2009; Biglete et al., 2009; Sumnall et al., 2011), se observa que los usuarios suelen ser hombres jóvenes caucásicos de edades entre los 21 y los 25 años de edad, con una alta prevalencia de uso de tabaco y cannabis. La *S. divinorum* suele ser obtenida en tiendas de parafernalia de sustancias psicoactivas (“smart shops”), seguido de minoristas en internet, amigos y parientes, y de esquejes de una planta viva. Por lo general, se toma en casa (74% de los encuestados) o al aire libre, sin incluir festivales de música (20,8%). Un tercio de los encuestados informó sobre el uso de otras drogas a la vez que la *S. divinorum*, incluyendo alcohol (13.7%), cannabis (33.2%), y otros alucinógenos (6.6%) (Sumnall et al., 2011). Parece existir una reducción del consumo al cabo de 12 meses de haberse iniciado, citando más comúnmente la pérdida de interés, o el desagrado hacia los efectos de la planta. La edad de iniciación parece depender del uso: mientras que los jóvenes menores de 22 años la emplean de manera lúdica, los mayores de 22 años lo harían por motivos espirituales (Biglete et al., 2009).

Ante el creciente uso de la planta y las noticias sobre su supuesta peligrosidad aparecidas en los medios de comunicación, se realizó un estudio de análisis de 100 vídeos caseros de personas fumando *S. divinorum* aparecidos en el servidor de vídeo en internet YouTube. En este estudio (Casselmann y Heinrich, 2011) se analizaron las experiencias positivas y negativas y las situaciones reflejadas en los vídeos. Se encontró que la mayoría de los vídeos presentaban indicios de una experiencia positiva fumando la planta, resaltando los autores del estudio la contradicción entre los datos etnográficos y la información expuesta en los medios de comunicación.

Nuestro equipo de investigación (Gonzalez et al., 2006) realizó un estudio retrospectivo con 32 usuarios en España. La mayoría de los participantes eran varones (56%) de 25 años (rango de edad: 18-40 años). En cuanto al uso de la *S. divinorum*, la mayoría de los participantes lo había empleado recientemente, el 88% en el último año. Los participantes generalmente fumaban un extracto fortificado “5x” o “10x”, que proporciona una experiencia de intensa a muy intensa. Euforia y

INTRODUCCIÓN

disociación fueron los dos aspectos positivos más citados de la experiencia, y su corta duración el aspecto negativo más común. Otros efectos negativos fueron mareos, cansancio, y pesadez mental.

Dos autores han descrito casos de pacientes que han empleado la *S. divinorum* con fines terapéuticos, y de exploración personal. En primer lugar, el Dr. Hanes en Australia (Hanes 2001, 2003) presentó el caso clínico de una mujer de 26 años con depresión resistente al tratamiento que manifestó mejoría después de tomar dosis orales sub-psicoactivas de hojas de *S. divinorum*. La paciente masticó y mantuvo en la boca de 0,5 a 0,75 gr de hoja seca durante 15-30 minutos, dos o tres veces por semana. La paciente también afirmó beneficiarse de dosis psicoactivas ocasionales consistentes en 2-4 gr de hojas tomadas siguiendo el mismo método que el anterior. El Dr. Hanes informó sobre la remisión total de síntomas depresivos de la paciente en los últimos 6 meses, además de una mejora considerable en autoestima y desarrollo psicoespiritual. Más tarde, el Dr. Hanes publicó un informe de seguimiento sobre seis pacientes adicionales que afirmaron haber obtenido una completa remisión de los síntomas de la depresión resistente al tratamiento empleando las hojas. En 2002, Australia fue el primer país del mundo en ilegalizar la *S. divinorum*. Y, en segundo lugar, Bucheler y su equipo (2005) relataron el caso de un joven de 19 años en Alemania usuario de *S. divinorum* para exploración personal. El joven fumó o masticó las hojas dos veces a la semana durante 6 meses, sin efectos perjudiciales para su salud, su vida social, o su vida académica.

2. Compuestos bioactivos presentes en la *Salvia divinorum*

2.1. *Salvinorina A: Estructura química y dianas biológicas*

La *S. divinorum* debe sus propiedades psicoactivas a su principio activo la salvinorina A (SA, fórmula química $C_{23}H_{28}O_8$). La SA fue aislada e identificada por primera vez en 1982 en México por Alfredo Ortega y su equipo, y poco tiempo después por Valdés y colaboradores (Ortega et al., 1982; Valdés et al., 1984). Daniel Siebert fue el primer investigador en estudiar la SA en seres humanos (Siebert, 1994). La SA es un diterpeno del grupo de los clerodanos. Por su estereoquímica, pertenece en concreto al subgrupo de los *neoclerodanos* (Li et al., 2015). La SA es muy lipófila, por lo que es fácilmente soluble en disolventes orgánicos como la acetona, el acetonitrilo, el cloroformo y el metanol, pero es prácticamente insoluble en agua. En forma pura, la SA forma cristales transparentes con punto de fusión entre 242-244°C.

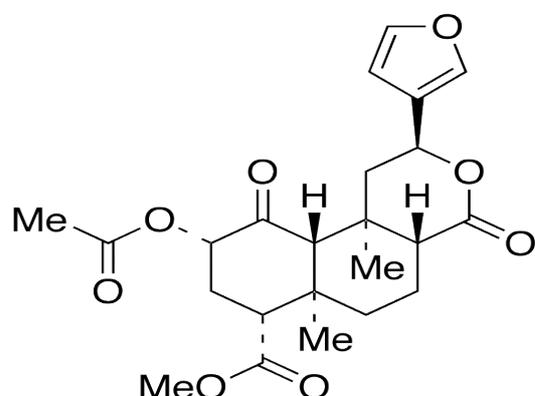


Figura 5: estructura química de la salvinorina A

Cristales de salvinorina A

Gracias a estudios de unión a receptores se ha podido determinar que la SA presenta afinidad altamente selectiva por el receptor kappa opioide (KOR). La interacción con el receptor es de tipo agonista, activándolo con gran eficacia y potencia (Roth et al., 2002). Diversos estudios realizados para evaluar la relación entre la estructura de la molécula y su afinidad por el KOR han determinado que el éster metílico y el anillo de furano son esenciales para conseguir la unión al receptor (Roth y su equipo, 2002), mientras que los grupos de lactona y cetona no lo son (Munro et al., 2005). La SA no tiene semejanza estructural con ningún ligando opioide conocido previamente, por lo que constituye una nueva clase de compuestos agonistas de los KOR. La SA es tan selectiva que no presenta prácticamente afinidad por los otros dos receptores opioides: el receptor μ (MOR) (Rothman et al., 2007), y el receptor δ (DOR) (Ansonoff et al., 2006).

La SA es el único compuesto natural no nitrogenado conocido hasta la fecha capaz de actuar como un agonista al nivel de los KOR. Por otra parte, se diferencia de otros compuestos capaces de modificar la percepción, los llamados alucinógenos clásicos, como la psilocibina (componente psicoactivo en numerosas especies de hongos) o la LSD. Estos últimos son alcaloides (compuestos nitrogenados) y tienen afinidad por los receptores 5-HT_{1A} y 5-HT_{2A} de la serotonina. Estas diferencias se han puesto de manifiesto en estudios realizados con animales. Así, en monos *rhesus*, los efectos de la SA se muestran diferentes tanto a los de los alucinógenos clásicos como a los de una larga lista de compuestos farmacológicos entre los que se incluyen, entre otros, la metanfetamina, la cocaína y la ketamina (Li et al., 2008).

funciones neuroendocrinas entre las que se encuentran la modulación del dolor/analgesia, y el estrés agudo y crónico. Entre otros procesos importantes dentro del sistema nervioso, se ha observado que la activación de los KOR mediante agonistas promueve la mielinización y la diferenciación de los oligodendrocitos en modelos experimentales de esclerosis múltiple (Mei et al., 2016).

El sistema KOR/dinorfinas modula las funciones cognitivas superiores como la percepción, la cognición, el comportamiento y la memoria. Estudios en humanos realizados con agonistas selectivos de los KOR han mostrado que la activación de estos receptores induce distorsiones visuales y despersonalización (Pfeiffer et al., 1986). Un creciente número de estudios sugiere que las alteraciones perceptuales asociadas con la esquizofrenia pueden estar mediadas en parte por la desregulación de la liberación de dinorfinas (para una revisión exhaustiva ver Schwarzer, 2009). Debido a su acción aguda sobre los KOR, recientemente se ha propuesto que compuestos derivados de la SA pudieran ofrecer nuevos tratamientos para trastornos que cursan con alteraciones en la percepción y disfunciones cognitivas como la esquizofrenia, el trastorno bipolar y la enfermedad de Alzheimer (Tejeda et al., 2012; Butelman y Kreek, 2015).

Existe una gran densidad de KOR en circuitos cerebrales implicados en el control de la motivación, de la ansiedad, así como de las respuestas hedónicas y aversivas mediadas por el sistema de recompensa ante estímulos naturales y químicos. Los KOR también modulan el estado de ánimo mediante proyecciones a áreas límbicas, aunque han recibido mucha menos atención que los sistemas de monoaminas, con los que interactúan de manera directa en el núcleo dorsal del rafe, área del tronco donde se hallan los cuerpos celulares de las neuronas serotoninérgicas. En el caso de las drogas de abuso, se sabe que la activación del sistema MOR/endorfinas induce euforia en humanos y produce refuerzo en animales, mediante el aumento de la liberación del neurotransmisor dopamina (DA). Por el contrario, la activación del sistema KOR/dinorfinas por agonistas endógenos o exógenos produce disforia en humanos y aversión en animales, antagonizando las acciones mediadas por la activación del MOR, al reducir la liberación de DA en las estructuras inervadas por la vía mesolímbica. De esta forma, el sistema KOR/dinorfinas ejerce una modulación directa y complementaria sobre el sistema de recompensa. En la vía mesolímbica hay regiones que presentan una elevada densidad de KOR, siendo especialmente relevante su presencia en la sinapsis de las proyecciones de las neuronas de DA. Varios estudios han demostrado que los agonistas κ disminuyen la liberación de DA en áreas y proyecciones clave del sistema de recompensa como son el núcleo accumbens (Spanagel et al., 1992; Maisonneuve et al., 1994), el área tegmental ventral (Margolis et al., 2003), y la corteza prefrontal (Margolis et al., 2006).

INTRODUCCIÓN

En el caso concreto de la SA, este compuesto regula la neurotransmisión de DA por dos mecanismos distintos: a) inhibiendo su liberación en el estriado dorsal (Zhang et al., 2005; Chartoff et al., 2008; Gehrke et al., 2008) y en el núcleo accumbens (Carlezon et al., 2006); y b) regulando al alza la expresión de su transportador. El transportador de DA se suele encontrar muy próximo a las áreas donde se localizan los KOR. El resultado final de este segundo mecanismo es un aumento de la recaptación del neurotransmisor (Kivell et al., 2014).

A pesar de la gran relevancia y potencial aplicación clínica que tendrían los agonistas κ en vista de lo expuesto anteriormente, estos compuestos presentan efectos indeseados como estrés y aversión, anhedonia, ansiedad, hipotermia y sedación (revisado en Wee y Koob, 2010), lo que ha restringido en gran medida su uso clínico.

Sin embargo, existen diferencias importantes entre las acciones de los agonistas sintéticos y la SA. En primer lugar, es frecuente que los productos naturales como la SA actúen de forma compleja sobre el sistema nervioso. Por ejemplo, se ha observado que los efectos conductuales de la SA pueden ser inhibidos por antagonistas cannabinoídes (Braidá et al., 2009). En segundo lugar, aunque se cita de manera repetida la elevada potencia de la SA en su acción agonista, es menos potente que otros agonistas κ (White et al., 2014). En tercer lugar, la SA requiere interacciones con varias tirosinas presentes en las hélices 2 y 7 del KOR para activarlo. Por el contrario, tanto el agonista endógeno dinorfina A como el agonista κ prototípico U69593 muestran requisitos diferentes para la unión y activación del KOR (Yan et al., 2005). En cuarto lugar, la evaluación *in vitro* de la SA muestra que aun siendo un potente activador de la vía de señalización mediada por proteínas G tras su activación del KOR, la SA promueve mucha menos internalización y regulación a la baja de este receptor que otros agonistas κ prototípicos como son el 3FLB, el TRK820 y el U50488H. En este estudio de comparación de la actividad farmacológica de dichos agonistas y la SA (Wang et al., 2005), se ha sugerido que la SA pudiera tener efectos sobre el comportamiento diferentes a los provocados por los agonistas κ sintéticos. Esta hipótesis ha sido respaldada por varios experimentos tanto neuroquímicos como conductuales (Beerepoot et al., 2008; Braidá et al., 2008, 2009; Gehrke et al., 2008; Grilli et al., 2009; Phipps y Butterweck, 2010). En resumen, múltiples agonistas actuando sobre el mismo receptor pueden originar efectos distintos, en lo que se conoce como selectividad funcional, un fenómeno aún no bien comprendido.

La dosis de SA juega un papel clave en el perfil final de efectos: mientras que a dosis altas (3.2 mg/kg) desencadena los efectos adversos típicos de los agonistas tradicionales, a dosis más bajas no se observan dichos efectos. En concreto, los efectos anti-adicción, anti-recompensa y antidepresivos de la SA se observan a dosis moderadas, y cuando es administrada de forma aguda y no de manera crónica (Braida et al., 2009; Taylor y Manzella, 2016).

La activación de los KOR no solamente transmite señales inhibitorias, sino también excitatorias, modulando la liberación de varios neurotransmisores. Así, otro efecto digno de mención es la actividad que muestra la SA como modulador presináptico, facilitando la exocitosis de noradrenalina (NA) desde el locus coeruleus al hipocampo, e inhibiendo la liberación de serotonina (5HT) evocada por K⁺ desde el núcleo rostral dorsal del rafe a los terminales hipocámpicos. La SA también inhibe presinápticamente la exocitosis de DA en los sinaptosomas del cuerpo estriado y del córtex prefrontal (Grilli et al., 2009). En el estudio de Grilli y colaboradores, se empleó el antagonista κ norbinaltorfimina (norBNI) para bloquear eficazmente los efectos de la SA sobre el flujo de neurotransmisores. También se compararon los efectos de la SA con el agonista κ U69593. Este compuesto mimetizó los efectos inhibitorios de la SA sobre la 5HT y la DA, pero no logró facilitar la liberación de NA. Este efecto pudiera ser debido a la actuación de los agonistas sobre diferentes subtipos del KOR. La SA también actúa como modulador alostérico del MOR (Rothman et al., 2007), y se ha descrito una posible acción de la SA sobre los receptores cannabinoides, en concreto sobre el CB1 (Braida et al., 2007), aunque la investigación posterior ha revelado que la SA no se une directamente a CB1 (Walentiny et al., 2010). Sin embargo, es probable que la SA influya de manera indirecta a CB1 (Listos et al., 2011). La semejanza entre los perfiles de unión al receptor de la SA y la ketamina (KOR y NMDA, respectivamente), pudiera implicar que la SA comporte alguna interacción con el glutamato (Nemeth et al., 2010; Rothman et al., 2007). Un experimento *in vitro* sugirió que la SA se une al receptor de DA D2 con elevada afinidad (Seeman et al., 2009). La SA pudiera actuar también en los receptores muscarínicos (Xu et al., 2016).

En un estudio realizado con el fin de determinar las dianas cerebrales de la SA (Hooker et al., 2008), se administró SA (i.v.) marcada con el radioisótopo C-11 a monos *rhesus*. La SA se distribuyó por todo el cerebro tanto en áreas corticales como el córtex prefrontal y el cíngulo, y subcorticales como la amígdala, el cuerpo estriado y el tálamo. Las máximas concentraciones se produjeron en el cerebelo, destacado por su rol en la integración de la percepción sensorial y en el control motor, y en la corteza visual, probablemente por las propiedades alucinógenas de la SA.

INTRODUCCIÓN

La concentración de SA más persistente se produjo en la espina dorsal, y en el tracto nasal y salivar. La administración de naloxona no redujo la concentración de SA ni tuvo efectos en las distribuciones regionales del radioligando. Los investigadores estimaron que menos de 10 mg de SA pueden ejercer propiedades psicoactivas. Un experimento de metabolismo cerebral en roedores a los que se les administró SA (i.p.) (Hooker et al., 2009a), mostró activación de regiones que presentan una gran densidad de KOR. Entre ellas, la sustancia gris periacueductal, área que ha sido correlacionada con la modulación del dolor y del miedo condicionado en ratas. También se observaron activaciones significativas en el núcleo del lecho de la estría terminal, área implicada en la regulación de la respuesta al estrés y la ansiedad, y en el vermis cerebeloso. Esta última región parece responsable de la propiocepción en animales. Otras regiones activas fueron el tálamo (en concreto del núcleo geniculado lateral derecho, relacionado con la percepción visual), y de partes de los ganglios basales como el pallidum ventral, uno de los centros hedónicos del cerebro involucrado en la adicción y en la motivación. Algunas áreas con muy pocos KOR también mostraron activación, como el hipotálamo, la corteza frontal, auditiva, y somatosensorial. Se observó una disminución de actividad metabólica en el putamen caudado, en el colículo superior, en el hipocampo, y en el tronco encefálico medial. De estos resultados, donde la acción de la SA se extendió a áreas de menor densidad de KOR, se concluyó que la respuesta metabólica a la SA resulta no sólo de los efectos inmediatos sobre los KOR, sino también de la activación de interneuronas inhibitorias gabaérgicas en la proyección del circuito neuronal de los sitios primarios de KOR a regiones funcional y anatómicamente relacionadas del cerebro. Cabe señalar que, en el presente estado de conocimiento, no se puede descartar que la SA pueda ejercer sus acciones a través de la activación de uno o más objetivos moleculares aún no descubiertos, además de los mecanismos descritos anteriormente.

En otro estudio reciente de escáner cerebral con ratas (Placzek et al., 2015), se estimó la ocupación de la SA (i.v.) en los KOR empleando un radioligando selectivo para dichos receptores. Los resultados mostraron la mayor concentración en el hipotálamo, en la sustancia gris periacueductal, y en el área tegmental ventral. Niveles intermedios de unión al radioligando se observaron en el putamen caudado, en la amígdala y en el tálamo. Finalmente, Chartoff y su equipo (2008) analizaron la expresión del gen c-Fos, un indicador de activación neuronal, en el cerebro de ratas a las que se les administró SA. Sus resultados mostraron la expresión de c-Fos en lugares como: la corteza del núcleo accumbens, implicada en la regulación del estado de ánimo y los comportamientos motivados; en la amígdala central y lateral, un área clave en procesos

emocionales; y en el córtex prefrontal, involucrado en la cognición, en las funciones ejecutivas, en la percepción del yo y en la voluntad. Otro lugar donde actúa la SA es en el córtex insular (Coffeen et al., 2017). Esta área está densamente poblada de KOR, y se cree que pudiera estar implicada en la conciencia. Tiene un papel importante en procesos cognitivos, y está involucrada en procesos emocionales como la compasión y la empatía, en la experiencia interpersonal, y en el control motor. En concreto, la ínsula modula la interocepción, es decir, la conciencia corporal: la percepción de lo que ocurre en nuestros cuerpos y la sensación de poseer un cuerpo. Los efectos subjetivos observados en los estudios con humanos reflejan esta influencia de la SA en la ínsula, ya que altas dosis del compuesto modifican poderosamente la conciencia corporal, o directamente la suprimen. Stiefel y colaboradores (2014) fueron más allá. Estos autores han sugerido que la disrupción en la conciencia que se observa en humanos en dosis altas de SA sería debida a una inhibición del rol del claustró como conductor de la conciencia. El claustró es otra área densamente poblada de KOR, y, según los investigadores, sería el encargado de la integración de la actividad cerebral de alto nivel.

En animales de laboratorio, no se han observado cambios en la frecuencia cardíaca, la temperatura corporal o en la respuesta galvánica de la piel después de la administración crónica y a altas dosis de SA, aunque se registró un aumento no significativo en la presión del pulso. Los análisis realizados de bazo, sangre, cerebro, hígado, riñón y médula ósea no encontraron cambios histológicos en los órganos. Los datos de este estudio sugieren que la toxicidad de la SA es baja, incluso a dosis muy superiores a las que un humano podría llegar consumir (Mowry et al., 2003).

El núcleo neoclerodano de la SA proporciona una excelente plantilla estructural a partir de la cual sintetizar derivados y análogos estructurales. A día de hoy, existen más de 600 compuestos análogos a la SA (para una revisión, ver Roach y Shenvi, 2018). Por ejemplo, el análogo de la SA conocido con el nombre de kurkinorina es un potente y selectivo agonista del MOR. Presenta una capacidad análoga a la de la morfina para atenuar el dolor nociceptivo agudo y el dolor inflamatorio. Todo ello con la ventaja de no producir los efectos sedantes, placenteros y de tolerancia típicos de la morfina. Este compuesto constituiría el primer fármaco de un grupo estructuralmente nuevo de analgésicos opioides (Crowley et al., 2016). Otro análogo de la SA, denominado 2-metoximetil-salvinorina B (MOM Sal B), es más potente que la SA en su efecto agonista sobre los KOR, y muestra una actividad más duradera en pruebas de antinocicepción manteniendo sus efectos durante 3 horas (Wang et al., 2008). El análogo 2-etoximetil-salvinorina B (EOM Sal B) es el agonista κ más potente y selectivo que se conoce (Munro et al., 2008). La

INTRODUCCIÓN

actividad cerebral de este compuesto fue evaluada en monos *rhesus* por el equipo de Hooker (2009b), encontrándose que su metabolización fue más lenta que la de la SA. A pesar de este hecho, los efectos cerebrales de EOM Sal B no fueron más prolongados, lo que plantea la posibilidad de que la degradación metabólica no es la única responsable de la corta duración de los efectos alucinógenos de la SA. Existen un informe sobre consumo humano de EOM Sal B, al que se le conoce como “Symmetry” (Dr. Mercury & Dr. Feelood, 2008). Otros análogos de la SA han demostrado propiedades antiproliferativas que inhiben el crecimiento del 77-86% de las células tumorales en el cáncer de mama MCF7 (Vasiljevik et al., 2014).

2.2. *Salvinorina A: estudios farmacológicos en animales*

a) Estudios de farmacocinética: En un estudio de cinética cerebral en monos *rhesus*, se encontró un efecto máximo de la SA (i.v.) a los 8 segundos con una semivida de eliminación del SNC de 8 minutos (Hooker et al., 2008). En ratas, la absorción y la recepción cerebral después de su administración (i.p.) fueron muy rápidas (40s), con una concentración máxima a los 10-15 minutos, y eliminación a los 36 minutos (Teksin et al., 2009). La SA se metaboliza a nivel intestinal y hepático y se excreta por vía renal. El producto original se hidroliza, lo que resulta en la formación de salvinorina B (SB), que sería el principal metabolito inactivo de la SA, y que tiene una afinidad sobre el KOR mucho menor (Chavkin et al., 2004; Valdés et al., 2011). La SB no se detectó en sangre en monos *rhesus* después de una inyección de SA. La SB pudiera acumularse en órganos o tejidos o excretarse por otras vías (Schmidt et al., 2005). La degradación de las salvinorinas A y B en el plasma de la rata está catalizada por las esterasas sanguíneas (Tsujiyama et al., 2009). La actividad farmacológica de la SA es antagonizada, tras su administración i.v. en monos *rhesus*, por el antagonista κ selectivo quadazocina, pero no por el antagonista κ selectivo GNT1, ni por el antagonista de los receptores 5-HT_{2A} ketanserina (Butelman et al., 2004, 2010). Placzek y colaboradores (2015) informaron que la SA tiene un impacto prolongado sobre la unión al radioligando pasadas 2.5 horas después de haber sido administrada a ratas, retornando a un estado basal a las 5 horas. La SA es una molécula muy lipófila, por lo que penetra con rapidez en la barrera hematoencefálica. Sin embargo, su rápida metabolización resulta problemática a la hora de emplear el compuesto en la práctica clínica, cuando se quiere obtener efectos duraderos. Entre otros factores que pueden estar influyendo en la corta duración de la actividad de la SA *in vivo*, se encuentra la acción del transportador glicoproteína P. Esta enzima tiene un papel clave en la resistencia a la actividad de fármacos, regulando su entrada al SNC a través de la barrera hematoencefálica. La SA

parece ser un sustrato de este transportador (Teksin et al., 2009), un fenómeno común para compuestos opioides. Una solución que se ha mostrado eficaz en prolongar la acción de la SA ha sido la co-administración de un inhibidor de glicoproteína P, como el tariquidar, o de un competidor del sustrato de la glicoproteína P, como la loperamida (Butelman et al., 2012).

Las vías de administración del compuesto también son un factor importante en la farmacocinética, siendo las de absorción más lenta las que pudieran prolongar más los efectos, como mediante la vía intraperitoneal, o como en el caso de la masticación de las hojas frescas de *S. divinorum* o el empleo de tinturas. Es digno de mención que la duración de los efectos *in vivo* de la SA es corta, independientemente de la especie o de la vía de administración. Su farmacocinética en primates es comparable a la rápida instauración y corta duración observada en humanos.

b) Estudios neuroendocrinos. Los KOR regulan procesos hormonales. Existen diferencias entre sexos en cuanto a la distribución y a los niveles de los KOR: se sabe que la espina dorsal de animales hembra de laboratorio contiene casi cinco veces más heterodímeros κ - μ que la espina dorsal de los machos. Esta cantidad de heterodímeros es cuatro veces superior en hembras cuando sus niveles de estrógenos y progesterona están en su nivel más alto, por lo que son clave para la formación de complejos κ - μ (Lu et al., 2013). Dichas diferencias en biomarcadores neuroendocrinos de la hormona prolactina han sido encontradas midiendo los efectos de 0.0032 mg/kg de SA i.v. en monos *rhesus*, obteniendo efectos de liberación de prolactina más robustos en las hembras. En este estudio, la ketanserina (0,1 mg/kg i.m.) no revirtió los efectos de la SA, y sus efectos sobre la prolactina fueron más breves que los de U69593 (30 minutos vs 90 minutos) a la misma dosis (Butelman et al., 2007). Este mismo equipo investigador halló disimilitudes entre sexos en la distribución y la eliminación de la SA en monos *rhesus* (Schmidt et al., 2005). Además, se han encontrado diferencias entre machos y hembras en la sensibilidad a los agonistas κ y la SA, probablemente debido a las distintas configuraciones funcionales entre los sexos (Wang et al., 2005; Rasakham et al., 2011). La SA también inhibe la liberación de la hormona antidiurética, aumentando la producción de orina (Inan et al., 2009).

c) Estudios sobre motilidad intestinal y receptores cannabinoides. Los KOR están involucrados en la percepción del dolor visceral. Los agonistas de los KOR son potentes moduladores de las funciones gastrointestinales (GI), pudiendo ser medicaciones importantes en el síndrome del colon irritable y la inflamación intestinal. Los Mazatecos hace cientos de años que emplean la *S. divinorum* para tratar la diarrea y la inflamación intestinal. Dichas propiedades se confirmaron por Capasso y colaboradores (2006, 2008a, 2008b), quienes evaluaron el efecto de la

INTRODUCCIÓN

SA sobre la transmisión colinérgica entérica y sobre la motilidad GI en el íleon del conejillo de indias. Estos investigadores hallaron que la SA reducía las contracciones e inflamación evocadas experimentalmente, y que estos efectos fueron mediados por los KOR. Curiosamente, el efecto inhibitorio de la SA sobre la motilidad en el tejido inflamado estuvo mediado tanto por los KOR como por los receptores cannabinoides CB1. En un estudio del equipo de Fichna (2009), se demostró que tanto los receptores CB1 como los CB2 están implicados en la inhibición de la actividad del músculo liso y la inhibición de la secreción en el colon inflamado del ratón, ya que antagonistas de estos receptores cannabinoides bloquearon el efecto inhibitorio de la SA. El equipo de Braida (2007, 2008) también demostró la comunicación entre KOR, CB y SA en el pez cebra y en la rata: el antagonista CB1 rimonabant revirtió los efectos de la SA, y un antagonista CB2 fue aun más eficaz para revertir los efectos de la SA. Este hallazgo está de acuerdo con los datos obtenidos por el equipo de Capasso (2008) en células HEK-293 humanas, donde la SA mostró afinidad por los receptores CB2. Ya que la SA no se une directamente a los receptores cannabinoides, es muy probable que active este sistema a través de la formación de heterodímeros KOR-CB, o que ambos sistemas compartan vías de señalización intracelulares, inhibiendo la neurotransmisión colinérgica (Ansonoff et al., 2006).

d) Estudios de antinocicepción. El sistema KOR está involucrado en regular la analgesia en los circuitos del dolor tanto periféricos como centrales. John y colaboradores (2006) proporcionaron un papel clave para el KOR en la mediación de los efectos analgésicos de la SA. Estos investigadores informaron que la SA administrada intratecalmente redujo el dolor dependiente de la dosis, y que este efecto fue completamente atenuado por el pretratamiento con norBNI. Por el contrario, el pretratamiento con el antagonista selectivo de los MOR β -funaltrexamina, o con el antagonista selectivo de los DOR naltrindol no redujo el efecto antinociceptivo máximo de la SA a los 10 minutos. La SA administrada de manera repetida durante 3-7 días es eficaz en reducir la alodinia mecánica inducida por formalina y la hiperactividad de las neuronas espinales, y normaliza los niveles de IL-10. Reduce también la activación de la glía y contribuye a contrarrestar disfunciones asociadas con el dolor crónico (Guida et al., 2012). En un estudio reciente de dolor neuropático inducido por la ligadura del nervio ciático (Coffeen et al., 2017), también se ha encontrado interacción entre los KOR y los CB1 en los efectos nociceptivos centrales de la SA. Se evaluó el efecto analgésico tanto de la SA como de la SB, después de su microinyección directamente en la corteza insular de ratas, un lugar donde la SA parece producir sus efectos contra el dolor cuando es administrada sistemáticamente. Se encontró un potente efecto

antinociceptivo de la SA inmediatamente y 30 min después de la microinyección, que fue bloqueado por la administración de norBNI, así como por la administración de un antagonista de CB1. La SB no tuvo efectos analgésicos. El mismo grupo de investigación (Simón-Arceo et al., 2017) demostró que la administración sistémica de un extracto hidropónico de *S. divinorum*, que contiene salvinatorina A y B, reduce significativamente la respuesta nociceptiva que resulta de la inflamación y la lesión neuropática en ratas. Esta reducción fue de nuevo bloqueada con norBNI. La SA también ha demostrado tener robustos efectos antiinflamatorios (Aviello et al., 2011). Encontrar un analgésico de fuerza opioide carente de efectos secundarios, especialmente adicción, ha eludido a los investigadores del dolor. Estos resultados en animales apoyan el uso de la SA como una alternativa terapéutica para el alivio del dolor crónico sin las propiedades adictivas de la morfina, el analgésico más empleado hoy día.

e) Estudios sobre neuroprotección. La SA produce vasodilatación de las arterias cerebrales mediante la activación de la óxido nítrico sintetasa, el KOR, y el canal de K⁺ sensible a la adenosina trifosfato. El pretratamiento con SA preserva la autorregulación cerebrovascular, un importante mecanismo en la preservación de la integridad neuronal, después de la hipoxia y la isquemia vía ERK/MAPK en lechones (Wang et al., 2012). Un estudio reciente de lesión isquémica inducida en ratas donde se realizaron análisis de inmunotransferencia e inmunohistoquímica (Xin et al., 2016) ha revelado que la SA redujo de forma efectiva tanto el edema cerebral, como los efectos post-isquemia después de 24h en el hipocampo, la corteza y en el cuerpo estriado. La SA también redujo significativamente el porcentaje de neuronas muertas y apoptóticas en estas regiones cerebrales, y revirtió parcialmente los daños neurológicos en la función motora y cognitiva de las ratas. Los efectos neuroprotectores de la SA fueron parcialmente abolidos por la norBIN. Otro estudio reciente ha encontrado similares efectos neuroprotectores de la SA en la hemorragia subaracnoidea (Sun et al., 2018). La SA tiene un inicio de acción rápido, es de acción corta y no ejerce depresión respiratoria. Estas características hacen que este compuesto sea un candidato adecuado y prometedor para tratar el accidente cerebrovascular, el paro cardíaco o la asfixia. (Su D et al., 2011).

f) Estudios neurobiológicos: En ratones, se ha encontrado que la SA produce aversión condicionada al lugar, antinocicepción, hipotermia, sedación, descoordinación motora y menor actividad locomotiva (Ansonoff et al., 2006; Carlezon et al., 2006; Fantegrossi et al., 2005; Zhang et al., 2005). En un experimento con ratas en cajas de actividades, la SA produjo déficits atencionales (Braidia et al., 2011). En otro experimento, los monos *rhesus* no discriminaron entre los

INTRODUCCIÓN

efectos de la SA y de compuestos alucinógenos serotoninérgicos como la psilocibina o el DOM, ni la ketamina (Butelman et al., 2010; Li et al., 2008). La SA produjo efectos de estímulos discriminativos similares al agonista U69593 en monos *rhesus* (Butelman et al., 2004). En ratas se hallaron resultados similares (Baker et al., 2009; Killinger et al., 2010). En monos *rhesus*, la SA (0.032-0.1 mg/kg, dosis máxima intravenosa) indujo sedación, ptosis (caída del párpado) y relajación facial, y dichos efectos pudieron ser revertidos por el antagonista opioide nalmefeno, pero no lo fueron por el antagonista de 5-HT_{2A} ketanserina (Butelman et al., 2008, 2009). Estos datos demuestran que los efectos de la SA están mediados por su acción agonista sobre los KOR, y no por influencia sobre los receptores 5-HT_{2A}, lugar de acción de la mayoría de los alucinógenos. Este hecho también se ve apoyado por la ausencia de actividad antagonista mostrada por la ketanserina. Los estudios sobre los efectos de la SA en el comportamiento en modelos de primates no humanos pueden ser especialmente valiosos, en vista de las diferencias encontradas entre los sistemas KOR de roedores y primates (incluyendo a los humanos) a nivel neuroanatómico, neurofarmacológico y genético.

g) Estudios sobre estrés y depresión. Como se ha expuesto anteriormente, el sistema KOR/dinorfinas es un componente muy importante en la modulación central de la respuesta de estrés, y en la regulación del comportamiento motivado y de procesos emocionales como la depresión. Un creciente número de estudios indica que el sistema opioide endógeno está directamente involucrado en la regulación del estado de ánimo y está desregulado en el trastorno depresivo mayor. Esta participación del sistema opioide endógeno puede ser la base del uso desproporcionado de los opioides entre los pacientes con trastornos del estado de ánimo. Los estímulos estresores, entre los que se encuentran el abuso de las drogas, aumentan la actividad de las dinorfinas en áreas límbicas reguladoras de las respuestas de ansiedad como la amígdala basolateral y su núcleo central. Si el estrés es sostenido en el tiempo (es decir, si los KOR son activados de manera crónica por sus agonistas endógenos), se pueden presentar trastornos de ansiedad y comportamientos depresivos. Una posible explicación de este hecho sería que, al ser activadas, las neuronas de dinorfinas presinápticas inhiben la liberación de monoaminas y de DA en el área tegmental ventral y en el núcleo accumbens (que conecta con áreas límbicas de la emoción). Esto conllevaría una menor función de recompensa de los estímulos normales, dando lugar a síntomas típicos en la depresión como anhedonia. Por ello, se han llevado a cabo diversos experimentos con la SA para conocer sus efectos sobre la ansiedad y la depresión. Así, el equipo de Carlezon (2006) administró SA i.p. a ratas a diferentes dosis (entre 0.25– 2 mg/kg) y de manera

repetida. La SA ejerció efectos depresivos, aumentando la inmovilidad de las ratas al realizar la tarea de natación forzada, un paradigma empleado para medir los efectos depresivos en animales experimentales. Este efecto fue acompañado de una disminución de DA en el núcleo accumbens. Otro laboratorio (Braidá et al., 2009) halló resultados aparentemente contradictorios. Este grupo investigador administró a ratas y roedores dosis s.c. mucho más pequeñas de SA (entre 0.001-1000 μ /kg) que las utilizadas por Carlezon, y de manera aguda en lugar de crónica. Emplearon la tarea de natación forzada junto a otras tareas para la evaluación. En sus resultados, encontraron que la SA ejerció efectos ansiolíticos a dosis de 0.1 μ /kg, y efectos antidepresivos robustos a dosis de 10 μ /kg para las ratas, y de entre 0.001 y 1 μ /kg para los ratones. Los autores de este estudio compararon sus resultados con los obtenidos por Carlezon y concluyeron que la SA, administrada a dosis bajas de manera aguda, ejerce efectos ansiolíticos y antidepresivos. Por el contrario, administrada en dosis elevadas de manera continuada produce los efectos opuestos, resultando ansiógena y pro-depresiva al hiper activar los circuitos del estrés y disminuir con ello la liberación de 5HT y DA. En los experimentos de Carlezon y Braidá las ratas empleadas estaban sanas, es decir, no se les había inducido experimentalmente anhedonia (una característica común en la depresión clínica). Esto se consigue mediante la exposición crónica de los animales de laboratorio a estresores crónicos e impredecibles, otro paradigma empleado para estudiar la depresión que se considera más indicativo de la experiencia humana. El equipo de Harden (2012) trató de ampliar los resultados previos empleando este segundo paradigma, induciendo experimentalmente anhedonia en las ratas durante tres semanas. Tras este periodo de tiempo, les administraron de forma aguda dosis medias de SA (1 mg/kg i.p.), encontrando que la SA ejerció efectos antidepresivos al revertir la anhedonia. No obstante, aún se desconoce durante cuánto tiempo se mantienen los efectos antidepresivos de la SA, por lo que serían necesarios estudios clínicos para explorar este potencial. En humanos sí existen dos informes sobre la remisión total de la depresión mayor resistente al tratamiento empleando durante varias semanas hojas de *S. divinorum* (Hanes 2001). Los efectos antidepresivos se prolongaron durante más de 6 meses (Hanes 2003). Los Mazatecos utilizan las hojas frescas de la *S. divinorum* para tratar estados de ánimo bajos tomando un par de hojas, lo que podría considerarse una dosis baja, hasta que los síntomas remiten.

h) Estudios sobre adicción. Como he comentado en secciones previas, los agonistas κ modulan la actividad dopaminérgica. Los agonistas κ han demostrado disminuir los comportamientos de búsqueda de la droga, así como los síntomas de abstinencia tras la retirada de opioides tanto en animales como en humanos (Morani et al., 2009). Por su parte, la SA ha

INTRODUCCIÓN

demostrado inhibir la actividad locomotora, los efectos de recompensa, la reinstauración de la autoadministración, la sensibilización, y la expresión alterada de genes en el cuerpo estriado provocados por la cocaína (dos Santos et al., 2014). Morani y su equipo (2009, 2012), demostraron que tanto los agonistas κ U50488 y espiradolina, como la SA (0.3 mg/kg), redujeron la autoadministración de cocaína en ratas, y los animales no mostraron la hiper-locomoción inducida por la droga. En general, las ratas entrenadas para presionar una palanca para administrarse cocaína lo harán con bastante frecuencia cuando no tienen otra cosa que hacer. Las ratas que recibieron SA en los experimentos de Morani presionaron la palanca de cocaína con mucha menos frecuencia, pero presionaron una palanca para beber agua con azúcar tan frecuentemente como de costumbre. Esto quiere decir que la SA no es un sedante general, no parece suprimir ni el movimiento, ni la acción de presionar la palanca para beber, ni la motivación ante estímulos. En cambio, la SA parece suprimir específicamente los comportamientos y motivaciones relacionadas con la cocaína (Ewald et al., 2017). El equipo de Zhang (2005) encontró que la administración aguda de SA i.p. a ratones disminuyó significativamente la DA en el estriado dorsal, en dos de las áreas clave del sistema de recompensa: en el núcleo caudado (a dosis de 1.0 y 3.2 mg/kg) y en el núcleo accumbens (3.2 mg/kg). Carlezon y colaboradores (2006) encontraron resultados similares en el núcleo accumbens de ratas a dosis i.v. de 1.0 mg/kg. Gehrke y su equipo (2008) replicaron estos hallazgos, encontrando que 1.0 y 3.2 mg/kg de SA i.p. disminuyeron la DA en el núcleo accumbens. De este último estudio, es interesante resaltar que la administración diaria de una dosis baja de SA durante 5 días no modificó los niveles extracelulares de DA alcanzados 48 horas después de la última inyección. En cambio, el tratamiento a largo plazo con una dosis alta de SA (3.2 mg/kg) incrementó la elevación producida por la cocaína en los niveles de DA, sin afectar a la actividad locomotora previamente inducida por la cocaína. Estos resultados fueron replicados y ampliados por el grupo de Chartoff (2008). En su estudio, midieron los efectos de la cocaína y de la SA sobre la locomoción de las ratas valorando la estimulación ejercida sobre los receptores D1 y D2 de DA. La administración aguda de SA bloqueó los efectos estimulantes sobre la locomoción de la cocaína (receptores D1), mientras que la administración crónica aumentó la actividad y la estimulación de D1. Parece que este mecanismo bifásico funciona de forma similar a los efectos hallados en los experimentos sobre depresión, donde el resultado final dependió de la administración aguda versus repetida de diferentes dosis de SA. Recientemente, se han identificado en ratas dos áreas cerebrales que regulan estados motivacionales opuestos, en concreto en la cápsula del núcleo accumbens. La estimulación del área ventral de la cápsula de este núcleo elicitó estados disfóricos y aversivos,

mientras que el área dorsal induce comportamientos de preferencia/recompensa (Alhasani et al., 2015). Ebner y su equipo (2010) también hallaron que la SA disminuyó los niveles de DA tanto en la cápsula como en el interior del núcleo accumbens. En otra posible explicación de los efectos anti adictivos de la SA, también es importante recordar que la estimulación de los KOR provoca disforia, el efecto opuesto a la euforia que conlleva la liberación de DA típica de las drogas de abuso. La disforia implica un desapego de las propias sensaciones corporales, una sensación molesta, por lo que estaría en el polo opuesto a una sensación placentera o con potencial adictivo. En monos *rhesus*, se ha sugerido que la SA pudiera ejercer un efecto de castigo sobre la autoadministración de cocaína (Freeman et al., 2014). El perfil reducido de efectos secundarios en comparación con los agonistas κ hace de la SA un compuesto de alta promesa en el tratamiento del abuso de drogas. Recientemente, otros grupos de investigación (Kivell et al., 2014; Simonson et al., 2015) han replicado los resultados encontrados empleando tanto SA como uno de sus análogos de larga duración, la Mesil salvinatorina B. Ambos compuestos redujeron la búsqueda de cocaína después de la autoadministración en ratas. El análogo Mesil salvinatorina B también ha demostrado ser muy eficaz para el tratamiento del alcoholismo en modelos animales (Zhou et al., 2017, 2018). Los resultados de estos estudios de laboratorio coinciden con el uso tradicional de los Mazatecos para tratar la adicción al alcohol y a la cocaína empleando hojas frescas de *S. divinorum*.

2.3. Otros terpenos presentes en la *Salvia divinorum*

La investigación fitoquímica inicial de la *S. divinorum* identificó los diterpenos neoclerodanos SA y SB. En el trabajo posterior realizado por varios grupos diferentes de investigadores se aislaron otros diterpenos como las salvinatorinas C - I, las divinotorinas A - F, las salvidivinas A - D, y las salvinicinas A y B. El papel de estos compuestos en los efectos farmacológicos observados no está todavía dilucidado. Las salvinatorinas C y G, y las divinotorinas D y E tienen una afinidad débil por los KOR. La salvidivina A ha sido descrita como el primer neoclerodano diterpenoide que funciona como un antagonista de los KOR. Además de estos compuestos, se ha hallado en la *S. divinorum* el terpeno Loliolide, procedente de la degradación de los carotenoides. El Loliolide es un eficaz anti-hormigas. También se ha encontrado el diterpeno furanoide Ácido Hardwickico, activo contra diferentes áfidos, y con propiedades antibacterianas contra el *Estafilococo Áureo* o *Candida Albicans*, entre otros. También contienen el alcohol diterpénico E-phytol, con propiedades antibacterianas, y Nepetoidin B, con propiedades antifúngicas (Casselman et al., 2013).

3. Efectos farmacológicos de la salvinorina A en humanos.

3.1. Efectos subjetivos

En el marco del estudio de la farmacología de la SA en humanos, el carácter lipófilo del compuesto condiciona su vía de administración. En la literatura se recogen dos vías de administración eficaces: a través de la mucosa bucal (de forma análoga al consumo tradicional masticando las hojas frescas), y mediante inhalación. Mediante el consumo bucal, las hojas o las tinturas han de ser retenidas en contacto con la mucosa por al menos 10 minutos para obtener eficazmente los efectos. Si son ingeridas, el principio activo es rápidamente degradado en el tracto intestinal. El consumo bucal proporciona efectos más graduales (comenzando a los 5-10 minutos) y duraderos (algo más de 1 hora) que con el consumo mediante vaporización. Por el contrario, se ha encontrado que la vía sublingual no es efectiva empleando SA pura. No se han podido observar efectos psicoactivos por vía sublingual a dosis de hasta 4,0 miligramos (Mendelson, 2011). Ello sugiere que la absorción bucal requiere una superficie mayor como la ofrecida por la parte interior de la mejilla, o que existan otros compuestos en las hojas que ayuden a la absorción de la SA. Futuras investigaciones podrían probar otras formas de dosificación como parches dirigidos a la mucosa oral para administrar rápidamente altas dosis cuando sea terapéuticamente necesario, lo que puede permitir el mantenimiento de los niveles terapéuticos de la SA en el cerebro (Orton y Liu, 2014). La vía inhalada proporciona un rápido inicio de los efectos, siendo estos notables a partir de los 200 µg para la SA pura. Mediante la inhalación de los vapores del principio activo o de los extractos de la planta se logra efectos psicoactivos prácticamente inmediatos. Se ha descrito que estos efectos alcanzan su punto álgido en menos de 1 minuto, y muestran una duración de unos 15 minutos aproximadamente, para ir desapareciendo en unos 20-30 minutos. Al aumentar la dosis, la duración de los efectos también se prolonga. Sus efectos quedan bloqueados mediante la administración previa de naloxona, un antagonista opiode inespecífico (Sheffler y Roth, 2003).

El primer estudio empleando SA en humanos fue llevado a cabo por Siebert (1994). En este estudio no se utilizaron instrumentos de medida cuantitativos para medir efectos subjetivos, si no que éstos se basaron en el relato de las experiencias de los participantes. Primero, Siebert administró hojas frescas de *S. divinorum* a 6 participantes. Se estableció que los efectos de la planta estaban relacionados con la absorción del compuesto en la mucosa bucal, ya que no se obtuvieron

efectos cuando los voluntarios ingirieron las hojas. Segundo, Siebert administró SA a 20 voluntarios siguiendo tres métodos: ingirieron cápsulas conteniendo SA, un spray con alcohol y SA fue aplicado dentro de la boca, y también se vaporizó e inhaló SA. Se concluyó que el compuesto no es absorbido en el estómago, que la mucosa bucal lo absorbe de manera inconsistente, y que la manera más eficiente es la vaporización. Siebert observó que la absorción por la mucosa bucal produjo efectos en unos 5-10 minutos, los efectos máximos duraron 1 hora, y fueron desapareciendo durante otra hora. La absorción del compuesto mediante vaporización produjo efectos casi instantáneamente, duraron entre 5 y 10 minutos, y finalizaron en unos 20-30 minutos. Las experiencias llevaron a identificar unos efectos subjetivos comunes que han sido reiterados en la literatura posterior: (a) transformación en objetos (pintura fresca, pierna de pantalón, etc.) (b) visiones de superficies bidimensionales y membranas (c) visitar lugares del pasado, especialmente de la infancia (d) pérdida del sentido del cuerpo y/o de la identidad (e) diversas sensaciones de movimiento, o de ser empujado o retorcido por fuerzas de algún tipo (f) risa incontrolable (g) superposición de realidades, percepción de estar en varios lugares a la vez. Por encima de 1 mg, las experiencias fuera del cuerpo fueron frecuentes. El autor del estudio señaló que ocasionalmente los sujetos tendieron a levantarse y moverse. Siebert también notó que la intensidad de las experiencias fue igual cuando se vaporizó SA y cuando se aplicaron de manera sublingual las hojas de la *S. divinorum*.

La encuesta realizada en internet por Baggott y colaboradores (Baggott, Erowid, & Erowid, 2004) a usuarios de *S. divinorum* tuvo como objetivo principal recoger evidencias de que la SA podría ser empleada de manera segura con voluntarios experimentados en un entorno de laboratorio, además de para conocer las consecuencias del uso, efectos duraderos, y los patrones de consumo. Las preguntas de la encuesta eran de opción múltiple y respuesta numérica, con algunas preguntas abiertas. Los efectos de la *S. divinorum* fueron calificados como “únicos” e “intensos” comparados con otras sustancias: similares al yoga, la meditación, o a otros métodos que modifican la conciencia (38%); similares a los efectos de los alucinógenos serotoninérgicos como la LSD (17%); a estar soñando (7%); similares a antagonistas NMDA como la ketamina, o a otros anestésicos (6%); similares al cannabis (6%). Los efectos que permanecieron poco después de la experiencia principal fueron aumento en la capacidad intuitiva, mejora del estado de ánimo, tranquilidad, aumento de la conexión con la Naturaleza o el Universo, sensación de flotar, y aumento de la temperatura corporal, entre otros. Los autores del estudio buscaron específicamente

INTRODUCCIÓN

los siete criterios contemplados para abuso de sustancias delineados en el Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales-IV-TR, y encontraron que solamente el 0.4% de los participantes cumplían los criterios. El 26% de los participantes en la encuesta declaró elevación del estado de ánimo y efectos antidepresivos que duraron 24 horas o más después del consumo. Solamente el 4% de los participantes notificó efectos negativos, principalmente ansiedad.

Pichini y colaboradores (2005) administraron hojas secas de *S. divinorum* a 2 participantes para conocer métodos eficaces de detectar la SA en los fluidos biológicos. Los voluntarios fumaron 75 mg de hojas secas y experimentaron efectos a los 30 segundos, que tuvieron su pico álgido durante 3-5 minutos, y duraron 15-20 minutos. Los investigadores observaron que la SA fue detectada más fácilmente en la orina, sin ser detectada de manera significativa en plasma, saliva o sudor. La única mención a efectos subjetivos “ambos participantes tuvieron intensos efectos alucinógenos” fue recogida durante una entrevista informal después de la sesión.

En el estudio de Bucheler y su equipo (2005), el joven usuario alemán de *S. divinorum* informó que las experiencias alcanzaron su máximo efecto a los 5 minutos y duraron una media de 30 minutos. Describió haber experimentado sensaciones de flotar, de sentirse desconectado de su cuerpo, de haber resuelto problemas personales o filosóficos, picores, sensación de calor, y zumbido en los oídos. No informó sobre efectos psicológicos negativos y describió una tolerancia gradual durante un período de 6 meses.

En el estudio retrospectivo realizado por González y colaboradores (2006), todos los participantes tenían experiencia con otras sustancias además de con *S. divinorum*, tales como (según frecuencia de uso): cannabis, alcohol, éxtasis, cigarrillos, cocaína, hongos alucinógenos, LSD, anfetaminas, opiáceos, benzodiazepinas, y otros. En este estudio se administraron por primera vez tres cuestionarios para evaluar los efectos subjetivos de la SA de manera cuantitativa: las versiones españolas del Hallucinogen Rating Scale (HRS; Strassmann et al., 1994; adaptado al castellano por Riba et al., 2001a), del Addiction Research Centre Inventory (ARCI, adaptado al castellano por Lamas et al., 1994), y del cuestionario de Estados Alterados de Conciencia (APZ, “Aussergewöhnliche Psychische Zustände”) desarrollado por Dittrich (1998) y adaptado al castellano por Riba y su grupo, 2002.

El HRS es un cuestionario que ha sido desarrollado para evaluar los efectos perceptivos, somáticos, cognitivos y afectivos de los fármacos alucinógenos. Incluye 71 ítems distribuidos en las seis subescalas siguientes: *Somatoestesia, Afecto, Volición, Cognición, Percepción, e Intensidad.*

El ARCI es un cuestionario que consta de 49 ítems que presenta cinco subescalas: MBG, PCAG, LSD, BG, y A. El cuestionario de Estados Alterados de Conciencia o APZ incluye tres subescalas: *Oceanic Boundlessness*, *Dread of Ego-Dissolution*, y *Visionary Restructuralization*.

Los resultados del HRS del estudio de González mostraron que cinco puntuaciones de subescalas fueron consistentes con resultados obtenidos con otros alucinógenos probados con el HRS en la literatura anterior (ayahuasca, DMT, ketamina, psilocibina y MDMA). La puntuación de una subescala que fue atípica fue la subescala *Volición*, que indicó que los efectos alucinógenos de la *S. divinorum* eran más incapacitantes que cualquier otra sustancia probada con la escala. Esta supuesta incapacitación inducida por el fármaco es consistente con los datos en animales sobre la capacidad de los agonistas KOR de inducir este estado. El perfil de ARCI de los usuarios de *S. divinorum* fue similar al de usuarios de alucinógenos como la ayahuasca, excepto para la escala que mide la sedación, que estaba aumentada en el estudio. Las calificaciones en el HRS y el ARCI sugieren una falta de movimiento, consistente con los datos de los animales. También observaron que el perfil ARCI de los usuarios de *S. divinorum* era más característico de los agonistas KOR que de los agonistas de 5HT. Los resultados del cuestionario Estados Alterados de Conciencia o APZ mostraron que los usuarios de *S. divinorum* experimentaron desrealización y fenómenos visuales muy pronunciados. Los autores concluyeron que el patrón de respuestas recogido en el estudio reflejaría un perfil de efectos alucinógenos acompañado por una percepción altamente modificada de la realidad externa, y una disminución de la habilidad del individuo para interactuar consigo mismo o con su entorno.

Johnson y colaboradores (2011) administraron 16 dosis de SA inhalada variando entre dosis baja (0.375 µg/kg) a alta (21 µg/kg) a 4 sujetos en un estudio controlado con placebo a simple ciego siguiendo un orden ascendente de las dosis. Los sujetos experimentaron un rápido inicio de efectos, y los resultados mostraron efectos significativos dosis-dependientes en todas las subescalas del HRS, confirmando el perfil alucinógeno del compuesto. También se empleó el cuestionario *Mysticism Scale* para medir experiencias místicas que había mostrado previamente sensibilidad a la psilocibina (Griffiths et al. 2006, 2011), obteniendo resultados que sugieren efectos parecidos a los alucinógenos clásicos. Los autores encontraron cinco efectos subjetivos comunes en las experiencias de los sujetos: cambios en la orientación espacial, sentimientos de energía o presión en diferentes partes del cuerpo, recuerdos de la infancia, visiones similares a dibujos animados, y contacto con entidades.

INTRODUCCIÓN

Addy (2012) estudió a 30 sujetos que se autoadministraron hojas de *S. divinorum* secas potenciadas con 1017 µg de SA, o placebo (hojas de *S. divinorum* secas no potenciadas, dosis no psicoactiva de unos 100 µg), mediante vaporización. Las seis subescalas del HRS fueron elevadas significativamente por la dosis activa indicando experiencias alucinógenas. No se encontraron efectos adversos en los participantes. La experiencia fue calificada por los sujetos como similar a estar soñando (43%), a la LSD (13%), psilocibina (10%), marihuana (10%), MDMA (10%), a estados modificados de conciencia no elicitados por sustancias como la meditación, el trance o el yoga (7%), o a antagonistas NMDA como el dextrometorfano (DXM) y la ketamina (7%). El autor encontró los mismos efectos subjetivos informados por Johnson y su equipo (2011) excepto recuerdos de la infancia, y observó que los participantes durante la sesión con la SA incrementaron sus movimientos mientras estaban sentados, y hablaron y rieron más.

El grupo de Ranganathan (2012) administró 0 mg, 8 mg y 12 mg de SA inhalada a 10 sujetos con experiencia previa con SA. Emplearon escalas analógicas visuales (VAS en inglés), que son líneas horizontales de 100 mm de longitud con la leyenda “en absoluto” en el extremo izquierdo y “extremadamente” en el extremo derecho. En este estudio hubo efectos significativos del tratamiento en función de la dosis en los VAS que miden alteración de la percepción del tiempo, de la dimensionalidad, pérdida de contacto con la realidad y visiones.

MacLean y colaboradores (2013) administraron a 8 voluntarios 16 dosis de SA de entre 0.375-21 µg/kg combinadas con 4 placebos en 20 sesiones. En este estudio se emplearon los cuestionarios APZ, ARCI, HRS, Mysticism Scale, un Cuestionario sobre Estados de Consciencia (SOCQ en inglés; Pahnke, 1969), escalas VAS, y un cuestionario para medir la ansiedad (STAI, Spielberg et al., 1983). También se recogieron los relatos sobre las experiencias de los voluntarios, y se realizó un seguimiento pasado un mes del experimento. Se encontraron los efectos subjetivos que parecen recurrentes en la experiencia con la SA: los participantes describieron alteraciones específicas de su cuerpo en el espacio, tales como ser arrastrados o empujados en una dirección particular (interrupciones en el procesamiento vestibular e interoceptivo). Todos los participantes informaron sobre encuentros con entidades o seres, que a menudo incluían la comunicación y la interacción. Se informó también sobre la visión de imágenes parecidas a dibujos animados, y recuerdos de la infancia. No se encontraron reacciones adversas, y los resultados del cuestionario de ansiedad no fueron significativos. También se evaluaron los efectos sobre la memoria episódica, encontrando efectos dosis-dependientes de la SA en la capacidad para el recuerdo de palabras.

Aunque los efectos de los alucinógenos sobre el comportamiento son *per se* difíciles de evaluar en especies no verbales debido a su subjetividad, cabría esperar un perfil de efectos similares de la SA en humanos. Sin embargo, en comparación con los experimentos en roedores y primates, en los estudios de laboratorio con humanos la SA no dio lugar a efectos subjetivos disfóricos o aversivos robustos. Se desconoce si esto se debe, por ejemplo, al contexto experimental, debido a que la exposición a la SA en un entorno médico seguro podría atenuar los efectos subjetivos adversos. También pudiera influir que los sujetos tuvieran experiencia previa tanto en el consumo de alucinógenos como en la práctica de otros estados modificados de conciencia. También se conoce que existe menor sensibilidad a los efectos aversivos de la activación de los KOR en las mujeres, quizás debido a su metabolización más lenta de la SA (Russell et al., 2014; Schmidt et al., 2005). Pudiera ocurrir que, definitivamente, existiera un perfil diferencial de la SA para los humanos.

Algunas de estas cuestiones pendientes pudieran esclarecerse consultando un estudio exploratorio reciente de los efectos subjetivos de la vaporización de *S. divinorum* en 167 usuarios experimentados (Hutton, Kivell & Boyle, 2016). En esta investigación se analizaron las respuestas dadas por los usuarios a un cuestionario online con preguntas de final abierto, en el que también se solicitó que se detallaran las experiencias. Se concluyó que:

a) Los efectos dependerán en gran medida tanto de la dosis, como del “set and setting”, entendido como el estado anímico y emocional en el momento de la toma y el entorno en donde se realiza, respectivamente. Sobre esta cuestión, los autores realizan una breve revisión de literatura tanto de la influencia del contexto, como de la presencia o no de un supervisor en la toma de la salvia o de cualquier otra sustancia. La influencia del entorno y la presencia de un acompañante o cuidador actuarían como un contenedor o elemento de soporte clave para poder articular y gestionar las experiencias en la toma de sustancias. Estos aspectos son citados en relación a la reducción de riesgos a la hora de consumir tanto de forma recreativa, como en contextos futuros de psicoterapia psiquedélica. La sinergia entre la sustancia, el contexto, y el rol del cuidador han sido revisados recientemente por otro grupo de investigación (Carhart-Harris et al., 2018) haciendo hincapié en que el importante valor terapéutico de las sustancias alucinógenas depende en gran medida del manejo cuidadoso de tales variables. En el caso concreto de la *S. divinorum*, parece ser que debido a las profundas modificaciones corporales que puede inducir, en las que frecuentemente uno se funde con o se convierte en el entorno o en los objetos contenidos en él, el lugar donde se consume tendría

INTRODUCCIÓN

especial importancia. La influencia del entorno fue recalcada como muy importante por los encuestados en conjunto. Los lugares preferidos para el consumo fueron la propia casa o la de un amigo, o lugares aislados pero seguros al aire libre, evitando situaciones sociales complejas. Tal y como concluye una participante, “el entorno parece tener una relación directa en cómo me afecta la sustancia”. Otro aspecto resaltado fue la importancia de tener un cuidador durante la experiencia. El 64,7% afirmó consumir con amigos. El motivo fue la intensidad de las alucinaciones, que pueden hacer perder el contacto con la realidad.

b) Las características de la *S. divinorum*, en comparación con las experiencias previas de los encuestados con otros alucinógenos, resultaron únicas hasta el punto de ser conocida coloquialmente como “el mundo de la Salvia”. Los usuarios lo describen como un estado parecido a los sueños, o como “una experiencia profundamente extraña”. También se menciona la distorsión temporal: “los 15 minutos de duración del viaje parecieron 35 años, durante los que estuve plegándome infinitamente”, siendo esta percepción del tiempo modificada un efecto común con otros alucinógenos. Otros efectos ya mencionados que parecen un sello típico de la *S. divinorum* fueron: un inicio muy rápido de los efectos, risa incontrolable, experiencias disociativas o de fuera del cuerpo, estar en dos lugares al mismo tiempo, sensación de fuerzas o presiones que modifican la corporeidad y que llevan a fundirse con objetos o con el entorno, y alucinaciones visuales intensas.

c) Sobre los efectos disfóricos o desagradables, 38 de los participantes encontraron la experiencia poco placentera. Describieron haber sentido ansiedad y haberse visto abrumados por la intensidad de las alucinaciones, frecuentemente por las que estuvieron relacionadas con modificaciones corporales: “tenía la impresión de ser un dibujo hecho con tiza en el suelo y pensé que nunca podría salir”. Sin embargo, la mayoría de los participantes (70) dijeron haber tenido una experiencia agradable, aunque resultó simultáneamente desagradable por su extrañeza y por el inicio brusco de los efectos. Tales factores parecen depender de la potencia del extracto que se vaporiza. En dosis altas, es precisamente dicha intensidad y la peculiaridad de las alucinaciones las que son calificadas como agradables por la excitación que genera su novedad. Un participante lo describe de la siguiente manera: “con el extracto de mayor potencia, la calificación de muy intenso alcanza cuotas de asombroso y niveles de terror, ambos agradables y desagradables al mismo tiempo, las palabras no pueden describir estas sensaciones.” Según los autores del estudio, esta contradicción parece derivar de una búsqueda de placer en las emociones nuevas, en las alucinaciones excitantes o distintas, en sentir el cuerpo diferente, y en un deseo de experimentar

estados de conciencia diferentes. Tanto las experiencias cumbre alcanzadas, como las revelaciones importantes sobre uno mismo, sobre la naturaleza de la realidad, o sobre cuestiones espirituales, contribuirían a considerar la experiencia como positiva a pesar de su extrañeza. La intensidad de la experiencia sería el motivo por el que los encuestados refirieron no desear volver a usar la *S. divinorum* en un corto periodo de tiempo. La mayoría de los participantes dijo que preferían consumir otros alucinógenos de forma recreativa. Según una de ellas, “fumé una gran calada de la pipa de agua y el viaje comenzó instantáneamente (...) no puedo poner adecuadamente la experiencia en palabras. Fui catapultada a través de las distintas láminas del universo a miles de kilómetros por hora. Huelga decir que esta ha sido una de las experiencias más increíbles pero aterradoras de mi vida. Dije entonces que nunca volvería a tomar esta sustancia, pero últimamente me estoy replanteando mi posición”. No obstante, de los 167 participantes, 120 dijeron que volverían a emplear la *S. divinorum*.

Por otra parte, otros métodos de consumo tales como la masticación de las hojas o el empleo de tinturas proporcionan experiencias más manejables (Aardvark, 1998; Díaz, 2013; Valdés et al., 1983, 1987). El consumo bucal de *S. divinorum* tiene un inicio gradual de la experiencia, lo que permite una progresiva adaptación a los efectos, y una duración de aproximadamente una hora. Los efectos subjetivos pueden ser interrumpidos por sonidos o por el tacto. Algunos de ellos son: sensaciones de flotar y de movimiento; cambios en la temperatura corporal; sensación de convertirse en una planta; percepción del sonido amplificada; visiones orgánicas de animales y bosques, y visiones inorgánicas de edificios ornamentados o maquinaria; contacto con entidades; mayor comprensión de problemas personales o sobre la naturaleza de la realidad; sensaciones de calma y relax, y mayor conexión con el cuerpo. Debido a que la *S. divinorum* aumenta la capacidad para la auto reflexión, algunas personas la emplean para la práctica de la meditación, como adyuvante a la psicoterapia, y para la comprensión de problemas o cuestiones espirituales, de forma similar a los efectos de una dosis baja de SA inhalada (Ian Soutar y Rick Strassman, 2000). Futuras investigaciones pudieran explorar el perfil de efectos en humanos empleando estos otros métodos de consumo, y su potencial aplicación en psicoterapia.

INTRODUCCIÓN

3.2. Farmacocinética

Después de ser fumada, la SA se transporta a través de la barrera hematoencefálica con relativa facilidad y se acumula en el SNC. Experimentos *in vitro* sugieren que en los humanos es metabolizada por las enzimas CYP450 y UGT2B7 (Teksin et al., 2009). El metabolismo de la SA parece depender del género, siendo más lento para las hembras que para los machos (Schmidt et al., 2005), lo que pudiera ser la causa de que las hembras experimenten menos efectos disfóricos. Que la SA se metaboliza rápidamente está respaldado por el hallazgo de que solo aproximadamente el 0,8% de una dosis administrada de SA de 0,5 mg se extrajo de la orina en voluntarios humanos (Pichini et al., 2005). Johnson y colaboradores (2016) midieron las concentraciones de una dosis de SA en el plasma sanguíneo de 6 voluntarios, encontrando que la intensidad de los efectos subjetivos estaba en relación con los niveles plasmáticos del compuesto, medidos simultáneamente con las extracciones de sangre (ver Figura 7).

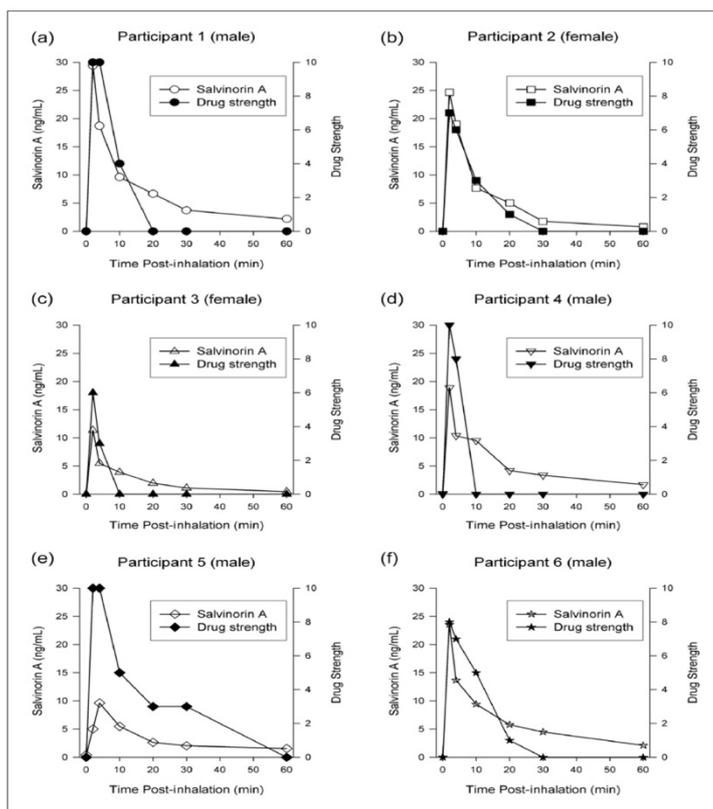


Figura 7: concentraciones en plasma de SA y puntuación de potencia efectos subjetivos (Johnson et al., 2016)

3.3. Efectos cardiovasculares y autonómicos

No se han encontrado efectos significativos en medidas cardiovasculares en estudios previos. Sin embargo, las diferencias entre los estudios, como por ejemplo el número de participantes (Johnson et al., 2011; MacLean et al., 2013; Johnson et al., 2016), el tiempo transcurrido entre las mediciones (Addy, 2012), y las diferencias en el método de vaporización empleado (Ranganathan et al., 2012), pudieran implicar una menor absorción y un menor nivel de la sustancia en el plasma.

3.4. Efectos neuroendocrinos

En el estudio del grupo de Johnson (2016), se encontraron aumentos significativos en los niveles de prolactina comenzando 5 minutos después de la inhalación de la SA, alcanzando el pico máximo a los 15 minutos después de la inhalación, y disminuyendo gradualmente durante 90 minutos. Se apreciaron variaciones en las medidas individuales, que pudieran ser debidas a las diferencias existentes entre hombres y mujeres para esta hormona, y a la diferente actividad de la SA según el sexo, que parece ser metabolizada más lentamente en las hembras. La duración media del cortisol fue similar a la prolactina. Sin embargo, el cortisol mostró incrementos inconsistentes entre los participantes, existiendo una variabilidad individual sustancial, con poca evidencia de una respuesta de cortisol observada en algunos participantes. No hubo correlaciones significativas entre los niveles de cortisol o niveles de prolactina y las puntuaciones de intensidad de los efectos subjetivos de los participantes. Este estudio mostró que las respuestas de la prolactina y del cortisol siguieron un curso temporal más dilatado y prolongado que el de la SA.

3.5. Efectos sobre el sistema inmunitario

Se ha demostrado en estudios con animales que la SA tiene efectos ultra potentes en los macrófagos vía los KOR, y en menor medida en los receptores CB1. La SA ejerce una importante atenuación de la inflamación y de la motilidad intestinal en el síndrome del colon irritable. Estos efectos fueron anulados por el antagonista κ norBNI y por el antagonista de los CB1 rimonabant. Sin embargo, el rimonabant no afectó a la inhibición de la motilidad ejercida por la SA (Capasso et al., 2008). En estudios con ratones, se ha observado que la SA inhibe la respuesta inflamatoria

INTRODUCCIÓN

mediada por leucotrienos. Los leucotrienos son cruciales en diversas afecciones autoinmunes e inflamatorias como en el asma bronquial, la rinitis alérgica, urticaria, y en problemas cardiovasculares. También se observó en los estudios una reducción en el reclutamiento de células y en la producción de citoquinas Th2, de interleuquinas (IL)-13, y de mastocitos en los pulmones (Aviello et al., 2011; Rossi et al., 2016).

3.6. *Efectos psicofisiológicos*

El grupo de investigación de Ranganathan (2012) realizó un análisis de electroencefalografía (EEG) a los 8 voluntarios de su estudio. Hallaron que la administración de SA redujo las oscilaciones espontáneas de las frecuencias cerebrales en todas las bandas analizadas, aunque no todas ellas alcanzaron la significación estadística. Los efectos de la SA en las frecuencias δ , α y γ no fueron significativos. Comparada con placebo, la SA disminuyó la frecuencia β (13-29 Hz) en ambas dosis (8 y 12 mg de SA inhalada), y también la θ (4-7 Hz) mostró una disminución con tendencia hacia la significación estadística. Estos resultados serían indicativos de una reducción en el estado de vigilia, pudiendo correlacionarse con un estado similar al sueño o a un estado de sedación. El núcleo preóptico ventrolateral recibe proyecciones de neuronas dinorfinicas que regulan el sueño. En concreto, la microinfusión de agonistas KOR en esta área aumentó el sueño NREM en un 51% en ratas (Greco et al., 2015). Los resultados del equipo de Ranganathan son consistentes con un estudio previo en humanos, donde el agonista KOR pentazocina disminuyó las frecuencias θ , α y β (Bromm et al., 1986). Sin embargo, el patrón de efectos mostrado por la SA en el EEG difiere de otros alucinógenos como la LSD, la ketamina, la psilocibina y la ayahuasca (Carhart-Harris et al., 2016; Schartner et al., 2017; Valle et al., 2016). Los alucinógenos serotoninérgicos tienden a aumentar o no modificar la banda β , y a suprimir la α . El efecto inhibitorio en las oscilaciones α ha sido correlacionado con los efectos visuales de los alucinógenos, entre otros. Estas diferencias resaltan que los efectos de la SA están mediados por un mecanismo único con un perfil psicofisiológico distintivo.

3.7. Reacciones adversas

Los estudios de laboratorio muestran que dosis de hasta 12 mg de SA pura inhalada (Ranganathan et al., 2016) son seguras en cuanto a medidas fisiológicas. De los 112 sujetos en total sumando todos los participantes de los estudios controlados llevados a cabo hasta hoy, realizados en 6 laboratorios de 6 países diferentes, no se han encontrado reacciones adversas entre los sujetos.

Varios informes anecdóticos han sido publicados sugiriendo que el uso recreativo de la *S. divinorum* pudiera producir ocasionalmente síntomas psicóticos que requirieron tratamiento por parte del personal de atención de emergencias (Bucheler et al., 2005; Singh et al., 2007). En uno de estos informes, la paciente relató que los síntomas psicóticos comenzaron después de fumar un cigarrillo de cannabis, al que se le había añadido hojas de *S. divinorum* sin que ella lo supiera (Paulzen and Gründer, 2008). Sin embargo, no se informó sobre el estado psiquiátrico previo de los sujetos de estos informes, de sus antecedentes personales y de familia, ni de si existió o no un uso concomitante con otras drogas, ni de la pureza y potencia de la *S. divinorum* que fue consumida, y tampoco se ha publicado un seguimiento posterior de estos casos. En general, los efectos colaterales inducidos por la *S. divinorum*, de producirse, son transitorios y no producen excesivas molestias. Dichos efectos somático-disfóricos son cambios subjetivos en la temperatura corporal, sensaciones de electricidad y de hormigueo por el cuerpo y sensación de ansiedad, los cuales son similares a los de los alucinógenos clásicos.

3.8. Otros efectos psicológicos a corto y medio plazo

Por el momento no existen estudios sobre los efectos del consumo a largo plazo de *S. divinorum*. Uno de los motivos podría ser el bajo número de usuarios que emplea la planta de manera repetida. Varias encuestas de usuarios han revelado que el uso no tradicional de la *S. divinorum* suele ser esporádico y sin tendencia a repetir debido a efectos poco gratificantes para el consumo recreativo típico (Baggott et al., 2010). En una de las encuestas (Sumnall et al., 2011), las razones para tomar la *S. divinorum* incluyeron “curiosidad”, “interés en estados de conciencia inducidos por fármacos” y “propósitos espirituales”, y se encontraron pocas evidencias de síntomas psiquiátricos persistentes. De los estadounidenses que consumieron *S. divinorum* en 2012, sólo el 2% la habían utilizado en el último mes, y sólo el 12% en el último año.

INTRODUCCIÓN

Existen dos encuestas retrospectivas de usuarios recreativos recurrentes de SA (Kelly, 2011; Nygård, 2007). Trece usuarios (77% varones) informaron de una mayor conexión con los demás, aumento de la creatividad y conexión con la naturaleza, así como una mayor comprensión de la naturaleza de la realidad (Nygård, 2007). Estos informes son limitados debido a su naturaleza retrospectiva, al tamaño de la muestra relativamente pequeño, y a un posible sesgo en el recuerdo.

Addy (2012), realizó un seguimiento a las 8 semanas a los voluntarios de su estudio. Las entrevistas reflejaron una mezcla de efectos positivos y negativos que duraron más de 24 h después de la inhalación, incluyendo aumentos en el estado de ánimo positivo, empatía y sensibilidad estética, así como dolor de cabeza, fatiga y dificultad para concentrarse. También MacLean y su grupo (2013) realizaron al mes de su estudio un seguimiento. Las evaluaciones no mostraron evidencia de efectos negativos duraderos como depresión, ansiedad, síntomas psiquiátricos o alteraciones visuales. En los informes abiertos, ningún participante indicó efectos negativos duraderos. Cuatro de los ocho participantes informaron de cambios positivos específicos que atribuyeron a las experiencias del día de la sesión, incluyendo una mayor confianza en sí mismos, una sensación de mayor comodidad física y de calma, menor reactividad emocional, mejoras en las relaciones interpersonales, y un renovado interés en las responsabilidades diarias. Los participantes generalmente consideraron las experiencias de la sesión como personalmente significativas, e informaron sobre aumentos moderados en actitudes, estados de ánimo y comportamientos positivos, aunque no en el mismo grado que los participantes de los estudios de psilocibina (Griffiths et al., 2006, 2011).

4. Cuestiones pendientes de estudio que se abordan en esta memoria.

Tal como se ha expuesto, los datos disponibles indican que los efectos psicoactivos de la SA se deberían al efecto agonista ejercido por este compuesto sobre el KOR. Sin embargo, hasta la fecha no se había atribuido a la neurotransmisión opioide ningún papel relevante en la regulación de la percepción. Las intensas modificaciones sensoriales referidas por los usuarios de *S. divinorum* y las observadas en el laboratorio tras administración de SA se encuentran muy alejadas de las meras alteraciones somático-disfóricas inducidas por otros agonistas kappa más conocidos, como son la enadolina y la pentazocina. Por el contrario, los efectos de la SA se asemejarían en gran medida a los inducidos por los alucinógenos clásicos. Sin embargo, estos últimos actúan a través de un mecanismo neuroquímico totalmente distinto. Sustancias como la psilocibina, la LSD o la dimetiltriptamina no interactúan con el sistema opioide si no que presentan actividad agonista sobre el receptor 2A de la serotonina.

Los dos estudios experimentales que se presentan en esta memoria se diseñaron con el fin de esclarecer esta paradoja. En el primero se procedió a evaluar de forma exhaustiva el perfil de efectos subjetivos inducido por la SA, haciendo especial hincapié en las similitudes y diferencias con el de los alucinógenos serotoninérgicos. En el segundo estudio, mediante la utilización de antagonistas selectivos, se investigó la participación de los receptores KOR y 5-HT_{2A} en la farmacología general de la SA.

HIPÓTESIS

A pesar de la evidencia de ensayos in vitro y estudios en animales, hasta la fecha no se han publicado estudios que demuestren in vivo que los efectos farmacológicos de la SA en los seres humanos están mediados efectivamente por el receptor kappa opioide. En base a los estudios previos, postulamos las siguientes hipótesis:

General:

La SA es el principio activo responsable de los efectos subjetivos de la planta *S. divinorum*.

Específicas:

- a) La administración de SA a un grupo de voluntarios sanos provocará efectos subjetivos diferentes de placebo. Estos efectos podrán ser evidenciados mediante cuestionarios y escalas utilizados en la evaluación de los efectos subjetivos de sustancias psicoactivas.
- b) La SA producirá modificaciones perceptivas y cognitivas de tipo alucinógeno.
- c) La SA mostrará un marcado perfil de efectos somático-disfóricos.
- d) Dados los efectos de despersonalización típicamente descritos por los usuarios lúdicos de *S. divinorum*, postulamos que dichos efectos serán evidenciables mediante un cuestionario específico de propiocepción.
- e) La SA producirá efectos análogos a los de los alucinógenos clásicos, pero con un mayor componente de despersonalización y desrealización. Estos efectos han sido observados en humanos tras la administración de analgésicos kappa-opioides.
- f) El curso temporal de los efectos farmacodinámicos de la SA seguirá el de los niveles plasmáticos de este compuesto.
- g) Si la SA ejerce su actividad como agonista de los receptores kappa opioides, sus efectos fármacodinámicos podrán ser bloqueados mediante la administración de un antagonista opioide (naltrexona).

HIPÓTESIS

- h) Si los efectos de la SA están mediados por el receptor 5-HT_{2A}, los efectos de la SA podrán ser bloqueados mediante la administración de un bloqueante de dichos receptores (ketanserina).

OBJETIVOS

General:

La presente investigación tuvo como objetivo general evaluar en humanos la farmacología y mecanismo de acción central de la SA, estableciendo la potencial implicación de los receptores kappa opioide y 5-HT_{2A} en los efectos subjetivos, cardiovasculares y neuroendocrinos inducidos por el compuesto. Para ello se llevaron a cabo dos estudios clínicos, primero uno de búsqueda de dosis, y después otro de bloqueo farmacológico de los efectos mediante pretratamiento con naltrexona y con ketanserina.

Objetivos específicos del primer estudio:

- a) Evaluar el curso temporal y las relaciones dosis-respuesta de los efectos subjetivos de la SA mediante cuestionarios y escalas utilizados en la evaluación de sustancias psicoactivas.
- b) Caracterizar las modificaciones perceptivas y cognitivas inducidas por la SA.
- c) Establecer el perfil de efectos somáticos inducidos por la SA, con énfasis en la interocepción.
- d) Estudiar los potenciales efectos de despersonalización inducidos por la *S. divinorum*.
- e) Relacionar el patrón general de efectos de la SA con los provocados por los alucinógenos clásicos.

Objetivos específicos del segundo estudio:

- a) Estudiar los efectos farmacodinámicos de la SA en humanos tras su administración vaporizada.
- b) Estudiar la relación entre el curso temporal de los efectos y los niveles plasmáticos de la SA.
- c) Estudiar la implicación de los receptores opioides en los efectos farmacológicos de la SA. Para ello se estudió el potencial bloqueo de los efectos farmacológicos mediante pretratamiento con naltrexona.
- d) Estudiar la implicación de los receptores 5-HT_{2A} en los efectos farmacológicos de la SA. Para ello se estudió el potencial bloqueo de los efectos farmacológicos mediante pretratamiento con ketanserina.

RESUMEN DEL DISEÑO EXPERIMENTAL

RESUMEN DEL DISEÑO EXPERIMENTAL

Para tratar de responder a los objetivos previamente descritos, se realizaron dos estudios clínicos. Primero se realizó un estudio piloto de búsqueda de dosis, y posteriormente un estudio de bloqueo de los efectos farmacológicos.

Primer estudio de búsqueda de dosis:

Muestra

Se incluyó a 8 voluntarios sanos de ambos sexos con experiencia previa en el consumo de alucinógenos que no hubieran presentado efectos adversos derivados de dicho consumo y con edades comprendidas entre los 18 y los 50 años. Los voluntarios se reclutaron mediante contacto directo con usuarios de sustancias psicoactivas. Se les realizó una historia clínica detallada y las siguientes pruebas: exploración física, analítica hematológica y bioquímica, electrocardiograma y urianálisis, comprobando que los signos vitales estuvieran dentro de la normalidad. Los criterios de exclusión incluyeron: una historia presente o pasada de trastornos psiquiátricos o abuso o dependencia del alcohol u otras drogas, evidencia de enfermedad significativa, orgánica o psiquiátrica, basada en la anamnesis, exploración física y pruebas complementarias, así como estado de embarazo en el caso de las mujeres.

Fármaco y dosificaciones

Se administraron 3 dosis de SA pura (>99%) de 0.25, 0.50 y 1.0 miligramos por vía inhalada tras vaporización. Placebo: vehículo de acetona.

Diseño del estudio

El estudio se llevó a cabo de acuerdo con un diseño simple-ciego y dosis crecientes. Se informó a los voluntarios que recibirían en cada uno de los días experimentales un placebo o una dosis inhalada de SA. Así mismo, se les informó que los tratamientos se administrarían siguiendo un diseño balanceado y doble ciego. Esta información se facilitó para contrarrestar los efectos asociados a la expectativa. Por razones de seguridad, los tratamientos se administraron en realidad en el siguiente orden: placebo o dosis baja (0,25 mg) en la primera sesión experimental; la dosis media (0,5 mg), el placebo o la dosis baja en la segunda sesión, y a partir de las sesiones tercera y cuarta se incluyó la dosis alta (1 mg). Se escogió este diseño por ser el primer estudio realizado por

nuestro grupo de investigación con esta sustancia, y con el fin de controlar posibles efectos indeseables del compuesto, como son las elevaciones de los parámetros cardiovasculares. Dos semanas antes del inicio de las sesiones experimentales, los voluntarios se abstuvieron de consumir cualquier medicación o droga ilegal y permanecieron así hasta el final de su participación. En cada uno de los días experimentales, se realizó un urianálisis de detección de drogas. Así mismo, se abstuvieron de consumir alcohol, tabaco, bebidas con cafeína desde 24 horas antes de cada día experimental. El período de blanqueo entre sesiones fue de una semana.

Instrumentos

La necesidad de caracterizar el perfil de efectos subjetivos ocasionados por la administración de SA comportó la utilización de instrumentos de evaluación específicos. Se trata de cuestionarios y escalas de recogida de información subjetiva estandarizados que han demostrado unas características psicométricas, fiabilidad y validez adecuadas. Cuestionarios empleados:

a) HRS

El HRS (Hallucinogenic Rating Scale) es un cuestionario traducido y validado en castellano (Riba et al., 2001a) y que ha sido desarrollado para evaluar los efectos perceptivos, somáticos, cognitivos y afectivos de los fármacos alucinógenos. Incluye 71 ítems distribuidos en las seis subescalas siguientes: *Somatoestesia*, que constituye una medida de efectos somáticos; *Afecto*, que refleja efectos de tipo emocional y afectivo; *Volición*, que indica la capacidad del sujeto para interactuar consigo mismo y con el entorno; *Cognición*, que cuantifica alteraciones del pensamiento y de su contenido; *Percepción*, que mide alteraciones en la percepción visual, auditiva, gustativa y olfativa; y finalmente *Intensidad*, que refleja la intensidad global de la experiencia. Todas las subescalas se puntúan de 0 a 4.

b) ARCI

El ARCI (Addiction Research Center Inventory, adaptado al castellano por Lamas et al., 1994) es un cuestionario que consta de 49 ítems con cinco subescalas: MBG, morphine-benzedrine group, que mide euforia; PCAG, pentobarbital-chlorpromazine-alcohol group, que es una medida de sedación; LSD, lysergic acid diethylamide, que mide efectos somáticos-disfóricos; BG, benzedrine group, que es una escala de rendimiento intelectual, sensible a los fármacos estimulantes; A, amphetamine, sensible a los efectos de la anfetamina. Las puntuaciones de las distintas subescalas

RESUMEN DEL DISEÑO EXPERIMENTAL

pueden oscilar entre los siguientes mínimos y máximos: MGB (0,16), PCAG (-4,11), LSD (-4,10), BG (-4,9), A (0,11).

c) STAI

La versión de estado del Inventario de Ansiedad Estado-Rasgo (STAI, por sus siglas en inglés) (Spielberger, et al., 1970), consiste en 20 ítems autovalorados en una escala de 4 puntos: nada en absoluto, algo, moderadamente, y mucho.

d) APZ

El cuestionario de Estados Alterados de Conciencia o APZ (“Aussergewöhnliche Psychische Zustände”, adaptado al castellano por Riba et al., 2002). Incluye tres subescalas: *Oceanic Boundlessness* (“Ozeanische Selbstentgrenzung”, OSE), midiendo cambios en la percepción del tiempo, y fenómenos de desrealización y despersonalización; *Dread of Ego-Dissolution* (“Angstvolle IchAuflösung”, AIA), midiendo alteraciones del pensamiento y control disminuido del cuerpo y el pensamiento asociado a ansiedad; y *Visionary Restructuration* (“Visionäre Umstrukturierung”, VUS), midiendo ilusiones, alucinaciones y sinestesia. Las puntuaciones de las distintas subescalas pueden oscilar entre los siguientes mínimos y máximos: OSE (0–13), AIA (0–22), VUS (0–14).

e) VAS Autoadministrado

Las escalas analógicas visuales (VAS en inglés) son líneas horizontales de 100 mm de longitud con la leyenda "en absoluto" en el extremo izquierdo y "extremadamente" en el extremo derecho. El voluntario debe indicar con un trazo perpendicular a la escala la intensidad con la que experimenta los efectos. Se utilizaron las siguientes escalas: "Algún Efecto", "Buenos Efectos", "Inicio repentino", "Cambios en la realidad externa", "Malos efectos", "Miedo", "Tiempo", "Dimensionalidad", "Pérdida de contacto con la realidad" y "Visiones". Diez variables que pueden ir de 0 a 100.

f) VAS tras pregunta

El experimentador preguntó al voluntario que indicara en una escala de 0 a 100 la intensidad de los efectos que estuviera experimentado en diversos puntos temporales. En concreto: antes de la inhalación (condición basal) y a los 1, 2, 5, 10, 15, 20, 30, 45 minutos y una hora después de la

administración de la sustancia. En caso que el participante no diera respuesta, se asignó una intensidad de 100 a ese punto temporal.

g) MAIA

El cuestionario MAIA (*Multidimensional Assessment of Interoceptive Awareness*), evalúa la percepción consciente de sensaciones de dentro del cuerpo, o la consciencia interoceptiva que crea la sensación de la condición fisiológica del cuerpo, como el latido del corazón, la respiración, la saciedad, y las sensaciones del SNA relacionadas con las emociones. Escalas: *Noticing (NT)*, consciencia de las sensaciones corporales, placenteras, neutras o no placenteras; *Not distracting (ND)*, tendencia a ignorar o distraerse de las sensaciones de dolor o discomfort; *Not Worrying (NW, invertida)*, incomodidad emocional o preocupación con sensaciones de dolor; *Attention Regulation (AR)*, habilidad para mantener y controlar la atención en las sensaciones corporales por encima de numerosos estímulos sensoriales competitivos; *Body Listening (BL)*, consciencia de la integración mente-cuerpo, escuchar activamente al cuerpo; *Self Regulation (SR)*, habilidad para regular incomodidad psicológica prestando atención a las sensaciones corporales; *Trusting (TR)*, confiar en las propias sensaciones corporales como seguras; *Emotional Awareness (EA)*, consciencia de la conexión entre las sensaciones del cuerpo y los estados emocionales. Las puntuaciones de las distintas subescalas pueden oscilar entre los siguientes mínimos y máximos: NT (0,50), ND (0), NW (0,67), AR (1,67), EA (1,80), SR (1,75), BL (0,67), TR (1).

h) Informes Escritos

Se trata de información cualitativa en la que el participante describió con sus propias palabras su experiencia. No se obtuvieron datos cuantitativos a partir de estos informes.

RESUMEN DEL DISEÑO EXPERIMENTAL

Segundo estudio de bloqueo de los efectos farmacológicos:

Muestra

Para este estudio se contó con 24 voluntarios sanos con experiencia previa en el consumo de alucinógenos, que pasaron por las mismas pruebas médicas y controles que se especifican para el primer estudio.

Fármaco y dosificaciones

La dosis de SA fue de 1 mg, dentro del rango administrado en un estudio previo (Johnson et al., 2011). La dosis de ketanserina fue de 40 mg y la de naltrexona de 50 mg. La dosis de ketanserina escogida se ha mostrado efectiva para bloquear los efectos de la psilocibina, un agonista 5-HT_{2A} (Vollenweider et al., 1998). La dosis de naltrexona es la utilizada habitualmente en clínica para antagonizar efectos de opiáceos. En cada par de tratamientos (por ejemplo, bloqueante-SA o placebo-placebo) el primer tratamiento se administró 1h antes que el segundo.

Diseño del estudio

Este estudio consistió en un ensayo clínico a doble ciego, cruzado, aleatorizado, balanceado y controlado con placebo con 24 voluntarios. Hubo 4 sesiones experimentales. En el grupo 1, los participantes recibieron las siguientes combinaciones de tratamiento: placebo + placebo, placebo + salvinorina A, naltrexona + placebo, y naltrexona + salvinorina A. La naltrexona se administró a una dosis de 50 mg por vía oral. En el grupo 2, los participantes recibieron las combinaciones de tratamiento: placebo + placebo, placebo + salvinorina A, ketanserina + placebo, y ketanserina + salvinorina A. La ketanserina se administró a una dosis de 40 mg por vía oral. Las sesiones experimentales tuvieron una duración de 8 horas.

Instrumentos

a) Pruebas de evaluación subjetiva:

Se emplearon las mismas pruebas que en el primer estudio, a excepción de los cuestionarios ARCI y MAIA, obteniéndose las puntuaciones de las distintas subescalas de los cuestionarios de efectos subjetivos.

b) Efectos autonómicos

La presión arterial sistólica y diastólica y la frecuencia cardiaca se midieron con el voluntario en posición reclinada, diez minutos antes de la administración (línea de base) y a los 5, 10, 30 y 120 minutos después de la toma usando un manguito de esfigmomanómetro colocado alrededor del brazo derecho del voluntario.

c) Efectos neuroendocrinos

Se extrajeron muestras de sangre (3 ml, con activador de coágulos) 10 minutos antes de la administración (basal) y a los 1, 2, 5, 10, 20, 30, 60, 120 y 240 minutos después de la administración, y se dejaron reposar a temperatura ambiente. El suero se separó por centrifugación y se almacenaron alícuotas para el análisis de cortisol, prolactina y hormona de crecimiento (GH). El cortisol y la prolactina se evaluaron mediante quimioluminiscencia usando un analizador Abbott Architect i2000. La GH también se evaluó mediante quimioluminiscencia usando un analizador Siemens Immulite 2000. Los límites de cuantificación fueron 1 $\mu\text{g} / \text{dl}$ para el cortisol, 0.6 $\mu\text{g} / \text{ml}$ para la prolactina y 0.05 $\mu\text{g} / \text{ml}$ para la GH.

d) Farmacocinética

Se extrajeron muestras de sangre (7 ml) 10 minutos antes de la administración (basal) y en los mismos puntos indicados anteriormente, y se recogieron en tubos EDTA que contenían NaF como inhibidor de las esterasas. El plasma se separó por centrifugación y se almacenaron alícuotas para el análisis. Las concentraciones de salvinatorina A se evaluaron por HPLC acoplada a un espectrómetro de masas de alta resolución, un instrumento de banco cuadrúpedo Orbitrap de una sola etapa (Q-Exactive™, Thermo Fisher Scientific, Bremen, Alemania). El límite de cuantificación fue 0,035 $\mu\text{g} / \text{ml}$. Los parámetros farmacocinéticos se calcularon utilizando el software WinNonlin®. Se obtuvieron los siguientes parámetros: concentración máxima (C_{max}), tiempo necesario para alcanzar la concentración máxima (T_{max}) y área bajo la curva concentración-tiempo (AUC) de 0 a 240 min calculada por medio de la curva trapezoidal. AUC se extrapolaron hasta el infinito mediante la adición de la superficie residual calculada por la última concentración de la concentración plasmática / velocidad de eliminación terminal. La semivida terminal se obtuvo por análisis de regresión lineal de la porción terminal log-lineal de la curva de concentración plasmática.

RESULTADOS

Publicaciones originales

Salvinorin-A Induces Intense Dissociative Effects, Blocking External Sensory Perception and Modulating Interoception and Sense of Body Ownership in Humans

International Journal of Neuropsychopharmacology, 2015, 1–14



RESEARCH ARTICLE

Salvinorin-A Induces Intense Dissociative Effects, Blocking External Sensory Perception and Modulating Interoception and Sense of Body Ownership in Humans

Ana Elda Maqueda, MSc; Marta Valle, PhD; Peter H. Addy, PhD; Rosa Maria Antonijoan, PhD; Montserrat Punes, MD; Jimena Coimbra, MD; Maria Rosa Ballester, MSc; Maite Garrido, MSc; Mireia González, MSc; Judit Claramunt, MSc; Steven Barker, PhD; Matthew W. Johnson, PhD; Roland R. Griffiths, PhD; and Jordi Riba, PhD

Human Neuropsychopharmacology Group. Sant Pau Institute of Biomedical Research (IIB-Sant Pau). Sant Antoni Maria Claret, Barcelona, Spain (Drs Maqueda and Riba); Centre d'Investigació de Medicaments, Servei de Farmacologia Clínica, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain (Drs Valle, Antonijoan, Punes, Coimbra, Ballester, Garrido, González, Claramunt, and Riba); Departament de Farmacologia i Terapèutica, Universitat Autònoma de Barcelona, Spain (Drs Valle, Antonijoan, and Riba); Centro de Investigación Biomédica en Red de Salud Mental, CIBERSAM, Barcelona, Spain (Drs Valle, Antonijoan, and Riba); Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Modelling and Simulation, IIB Sant Pau. Sant Antoni Maria Claret, 167, 08025 Barcelona, Spain (Dr Valle); Medical Informatics, VA Connecticut Healthcare System, West Haven, CT (Dr Addy); Medical Informatics, Yale University School of Medicine, New Haven, CT (Dr Addy); Department of Comparative Biomedical Sciences, School of Veterinary Medicine, Louisiana State University, Skip Bertman Drive at River Road, Baton Rouge, LA (Dr Barker); Behavioral Pharmacology Research Unit, Department of Psychiatry and Behavioral Sciences, Johns Hopkins University School of Medicine, 5510 Nathan Shock Drive, Baltimore, MD (Drs Johnson and Griffiths); Department of Neuroscience, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD (Dr Griffiths).

Correspondence: Jordi Riba, PhD, Human Neuropsychopharmacology Group, IIB-Sant Pau.C/Sant Antoni Maria Claret, 167.08025, Barcelona, Spain (jriba@santpau.cat).

Abstract

Background: Salvinorin-A is a terpene with agonist properties at the kappa-opioid receptor, the binding site of endogenous dynorphins. Salvinorin-A is found in *Salvia divinorum*, a psychoactive plant traditionally used by the Mazatec people of Oaxaca, Mexico, for medicinal and spiritual purposes. Previous studies with the plant and salvinorin-A have reported psychedelic-like changes in perception, but also unusual changes in body awareness and detachment from external reality. Here we comprehensively studied the profiles of subjective effects of increasing doses of salvinorin-A in healthy volunteers, with a special emphasis on interoception.

Received: April 28, 2015; Revised: June 1, 2015; Accepted: June 2, 2015

© The Author 2015. Published by Oxford University Press on behalf of CINP.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>), which permits non-commercial re-use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. For commercial re-use, please contact journals.permissions@oup.com

1

Methods: A placebo and three increasing doses of vaporized salvinorin-A (0.25, 0.50, and 1mg) were administered to eight healthy volunteers with previous experience in the use of psychedelics. Drug effects were assessed using a battery of questionnaires that included, among others, the Hallucinogen Rating Scale, the Altered States of Consciousness, and a new instrument that evaluates different aspects of body awareness: the Multidimensional Assessment for Interoceptive Awareness.

Results: Salvinorin-A led to a disconnection from external reality, induced elaborate visions and auditory phenomena, and modified interoception. The lower doses increased somatic sensations, but the highest dose led to a sense of a complete loss of contact with the body.

Conclusions: Salvinorin-A induced intense psychotropic effects characterized by a dose-dependent gating of external audiovisual information and an inverted-U dose-response effect on body awareness. These results suggest a prominent role for the kappa opioid receptor in the regulation of sensory perception, interoception, and the sense of body ownership in humans.

Keywords: Body ownership, dissociative effects, dynorphins, human, interoception, kappa opioid receptor, *salvia divinorum*, salvinorin-A

Introduction

Salvia divinorum (Labiatae) is a rare perennial herb endemic to the Sierra Madre Oriental of Oaxaca, Mexico. The Mazatec people who inhabit this area have been using the leaves of the plant for centuries in the treatment of headaches, rheumatism, gastrointestinal diseases, and as a general medicinal tonic (Valdés et al., 1983). The Mazatec also use *S. divinorum* leaves for spiritual purposes, divination, and as a catalyst for knowing the causes of illnesses and the adequate cures for their patients (Valdés et al., 1983; Ott, 1995).

During the last decade, interest in *S. divinorum* has increased in Europe and North America. Users of the plant in these areas have found new ways of administration that lead to stronger and more efficient effects, compared to the traditional intake routes used by the Mazatecs (González et al., 2006). These new administration routes include the sublingual route, and the smoking of dry leaves and fortified extracts (Siebert, 1994; Ott, 1995). Retrospective studies in non-traditional users indicate that *S. divinorum* is mainly consumed by smoking leaf extracts. Use is occasional and experimental. Subjects reported consuming the drug an average of only two times. This low frequency of use has been attributed to intense somatic-dysphoric effects (González et al., 2006).

Salvinorin-A, the main psychoactive constituent in *S. divinorum*, is a non-nitrogenous neoclerodane diterpene with an affinity for the kappa opioid receptor (KOR; Roth et al., 2002). Despite its intense perception-modifying effects in humans, *in vitro* studies have shown that salvinorin-A does not bind to 5HT_{2A} receptors, the molecular target of classic psychedelics like lysergic acid diethylamide (LSD), mescaline, psilocybin, and dimethyltryptamine (Roth et al., 2002; Prisinzano, 2005). The combination of intense perceptual and somatic effects is characteristic of salvinorin-A. Older nitrogenated KOR agonists such as enadoline are known to induce unpleasant reactions, and modifications in perception usually appear at high doses (Walsh et al., 2001). The distinct effects of salvinorin-A are probably due to its high potency and selectivity at KOR (Roth et al., 2002).

Previous reports of subjective effects include prominent somatic modifications. These range from tactile effects to a marked loss of control over the body (González et al., 2006; Johnson et al., 2011; Addy et al., 2015). These modifications have been quantitatively demonstrated, for instance, as significant increases in scores on the Hallucinogen Rating Scale (HRS) somaesthesia subscale (González et al., 2006; MacLean et al., 2013; Addy et al., 2015), which measures tactile, visceral, and interoceptive effects (Strassman et al., 1994). These somatic and

tactile effects may be related to altered interoception, but this has not been directly assessed. "Interoception" refers to the primary internal representation of the physiological condition of the body (Craig, 2009). This facet of awareness encompasses a series of processes that can range from somatic sensations to dissociation, and is related to the visceral state of the body and emotional experience. Altered interoceptive abilities have been implicated in addiction (Verdejo-García et al., 2012), anxiety, and depression (Paulus and Stein, 2010), and their restoration is at the center of body-focused therapies (Mehling et al., 2012).

In the present study we wished to comprehensively assess the pattern of subjective effects of increasing doses of salvinorin-A, with a special emphasis on interoception. For safety reasons, we recruited a small number of participants who had extensive experience with psychedelics.

Materials and Methods

Ethics

The study was conducted in accordance with the Declarations of Helsinki and its updates concerning experimentation on humans, and was approved by the hospital's ethics committee and the Spanish Ministry of Health. All participants gave their written informed consent prior to participation.

Participants

We contacted circles of individuals interested in the altered states of consciousness induced by psychoactive substances and explained to them the goals and methods of our study. We asked our contacts to pass the information to their acquaintances and we finally recruited a group of eight healthy volunteers (three males, five females). They all had a minimum experience with psychedelics of ten times and no history of adverse effects from their use. The volunteers were interviewed by the principal investigator (Dr Riba), who recorded their previous experience with perception-modifying drugs and explained the goals and methods of the present study. Exclusion criteria included a current or past history of psychiatric disorders, alcohol or other substance dependence, evidence of significant illness, and pregnancy. Participants underwent a complete physical examination that included a medical history, laboratory tests, ECG, and urinalysis. Participants received detailed information about the nature of salvinorin-A and the general psychological effects

of psychedelics and their possible adverse effects as they are described in the psychiatric literature.

Drug

Three doses of pure (>99%) salvinorin-A of 0.25, 0.50, and 1 milligrams were administered via inhalation after vaporization. Using previously described procedures (Johnson et al., 2011), individual doses were prepared in vials that contained the salvinorin dose dissolved in 1 ml of acetone vehicle. Placebo vials contained the 1 ml acetone vehicle only. No other substance was added. Prior to administration, the content of the vial was placed in a round-bottom flask and the acetone allowed to evaporate. The residue was heated, vaporized, and administered to the participants as described below.

Study Design and Experimental Procedure

The study was carried out in a double-blind fashion. Volunteers were informed that they would receive three doses of salvinorin-A (0.25, 0.5, and 1.0 mg) and placebo over four experimental days, with the sequence of drug conditions randomized. In order to control for expectancy, participants were told that administration would be made in a balanced fashion. For safety reasons, doses were actually administered in increasing order. The low dose of 0.25 mg always preceded the medium 0.50 mg dose and the medium dose always preceded the high 1 mg dose. The position of the placebo was randomly determined for each volunteer. Experimenters were aware of the ascending order of the active doses but did not know the position of the placebo in the sequence. Two weeks before the beginning of the experimental sessions, volunteers were instructed to abstain from all medications and illicit drugs, and remain drug-free throughout the study. Urinalysis for illicit drug use was conducted before each experimental session; volunteers tested negative for cannabis, opiates, benzodiazepines, cocaine, and amphetamine. Additionally, volunteers were instructed to abstain from alcohol 24 h before each experimental day, verified by breath analysis, and from tobacco and caffeinated drinks on the experimental day. Experimental days were 24 h apart.

Upon arrival in the morning to the research unit, breath analysis for alcohol, urinalysis for illicit drug use, and a urine pregnancy test (for women only) were administered. Then salvinorin-A or placebo was administered by vaporization and inhalation. The administration method followed that previously developed and described in detail by Johnson and coworkers (Johnson et al., 2011; MacLean et al., 2013). The round-bottom flask was connected to a vacuum adapter, which was connected to a rubber tube to allow the inhalation of the vaporized salvinorin-A. The flask was kept from the participant's view using an aluminum foil screen. The volunteer was seated in a recliner bed while performing a sustained inhalation for 30 seconds while the base of the flask was heated with a butane flame for 30 seconds. After the 30-second period, they were instructed to exhale. Immediately thereafter, the bed was reclined until the volunteer was in a recumbent position. The room was kept dimly lit but the eyes of the participants were not covered. No music was used during the sessions. During the acute salvinorin-A effects, at regular intervals between 0 and 45 minutes, the investigator asked the participant to rate the intensity of subjective effects. After 60 minutes, the participant left the room and answered the battery of subjective effects questionnaires and instruments (see below). If they had experienced any noticeable effects, they were also asked to write in their own words a report of their

experience. Four hours after drug administration, they were discharged and allowed to leave the research unit.

Measurements

The psychological effects elicited by salvinorin-A were measured using a battery of subjective effects questionnaires and visual analog scales (VAS) administered in each experimental session.

The Hallucinogen Rating Scale (HRS) was designed to measure the effects of dimethyltryptamine (Strassman et al., 1994). It has previously shown sensitivity to inhaled salvinorin-A (Johnson et al., 2011) and to smoked *Salvia divinorum* (González et al., 2006; Addy et al., 2015). The HRS measures psychedelic-induced subjective effects on six subscales: somaesthesia, reflecting somatic effects; affect, showing sensitivity to emotional and affective responses; cognition, describing modifications in thought processes or content; perception, measuring visual, auditory, gustatory, and olfactory experiences; volition, indicating the volunteer's capacity to willfully interact with his/her "self" and/or the environment; and intensity, which reflects the strength of the overall experience. The range of scores for all scales is 0–4. In the present study, a Spanish version of the questionnaire was administered (Riba et al., 2001a).

The Addiction Research Center Inventory (ARCI; Martin et al., 1971) consists of five scales or groups: the morphine-benzedrine group (MBG), measuring euphoria; the pentobarbital-chlorpromazine-alcohol group (PCAG), measuring sedation; the lysergic acid diethylamide scale (LSD), measuring somatic-dysphoric effects; the benzedrine group (BG), measuring subjectively experienced intellectual efficiency; and amphetamine (A), which is sensitive to stimulants. The range of scores is 0–16 for MBG, –4 to 11 for PCAG, –4 to 10 for LSD, –4 to 9 for BG, and 0–11 for A. A validated Spanish version was administered (Lamas et al., 1994).

The State-Trait Anxiety Inventory (STAI; Spielberger et al., 1970) consists of 20 self-rated-items on a four-point scale with the responses of not at all, somewhat, moderately, and very much. A validated Spanish version was administered (Seisdedos, 2002).

The Altered States of Consciousness questionnaire (Aussergewöhnliche Psychische Zustände, APZ; Dittrich, 1998) includes 72 true/false items distributed in three subscales: oceanic boundlessness (Ozeanische Selbst-entgrenzung, OSE), measuring changes in the sense of time, derealization, and depersonalization; dread of ego-dissolution (Angstvolle Ich-Auflösung, AIA), measuring thought disorder and decreased body and thought control associated with arousal and anxiety; and visionary restructuring (Visionäre Umstrukturierung, VUS), referring to visual phenomena, such as illusions, hallucinations, and synesthesia, and to changes in the significance of objects. The range of scores is 0–13 for OSE, 0–22 for AIA, and 0–14 for VUS. A Spanish version of the questionnaire previously used in clinical studies involving psychedelic drugs was administered (Riba et al., 2002).

Self-administered Visual Analogue Scales (VAS) were used to retrospectively rate peak effects during the session. They were 100 mm horizontal lines with which volunteers retrospectively indicated the intensity of the drug effects (from 0, no effects, to 100, extremely intense effects). There were ten labeled VAS lines. "Any effect" indicated any effect, either physical or psychological, that the volunteer attributed to the administered dosage. "Good effects" indicated any effect the volunteer assessed as good. "Bad effects" indicated any effect the volunteer assessed as bad. "Sudden start of the effects"

indicated a rapid onset of the effects. "Fear" indicated apprehension or psychological discomfort. "Time" indicated modifications on the perception of time. "Changes in dimensionality" indicated alterations on the perception of dimensionality of the body. "Changes in external reality" indicated changes in perception, with eyes open, of external reality. "Loss of contact with external reality" indicated separation from the surroundings. "Visions" indicated visual modifications with eyes open or closed.

Experimenter-administered VAS were used during the acute effects. The experimenter verbally asked the participant to rate the overall intensity of the experienced effects on a scale that went from 0 (no effect) to 100 (extremely intense effects). This "intensity" VAS was administered immediately before drug inhalation (baseline) and at 1, 2, 5, 10, 15, 20, 30, and 45 minutes after administration. This allowed assessment of the time course of effects. In cases of unresponsiveness by the participant, the maximum score (100) was assigned to that time point.

The Multidimensional Assessment for Interoceptive Awareness (MAIA) is a 32-item, four-point Likert scale designed to measure interoceptive awareness. An exploratory factor analysis was conducted with 325 individuals trained and experienced in mind-body therapies such as yoga and Tai Chi (Mehling et al., 2012). This analysis revealed eight subscales: noticing (NT), awareness of uncomfortable, comfortable, and neutral body

sensations; not distracting (ND), tendency not to ignore or distract oneself from sensations of pain or discomfort; not worrying (NW), tendency not to worry or feel emotional distress with sensations of pain or discomfort; attention regulation (AR), ability to sustain and control attention to body sensations; emotional awareness (EA), awareness of the connection between body sensations and emotional states; self-regulation (SR), ability to regulate psychological distress by attention to body sensations; body listening (BL), active listening to the body for insight; and trusting (TR), experiencing one's body as safe and trustworthy (Mehling et al., 2013). The MAIA showed acceptable internal consistency (Cronbach's alphas of 0.66 to 0.87), low intra-scale correlations (Person's coefficients of 0.16 to 0.6), and good construct validity. A later confirmatory factor analysis with 435 patients with chronic low back pain (Mehling et al., 2013) confirmed the essential factor structure of the MAIA with similar internal consistency (0.48 to 0.9) and intra-scale correlations (0.16 to 0.7). In the current study, the MAIA was translated into Spanish (Ds Riba and Maqueda). Participants completed the written assessment at the end of each test day based on their acute experience in the laboratory.

Personal narratives

Participants were requested to write in their own words a description of the effects they had experienced, if any had been noticed.

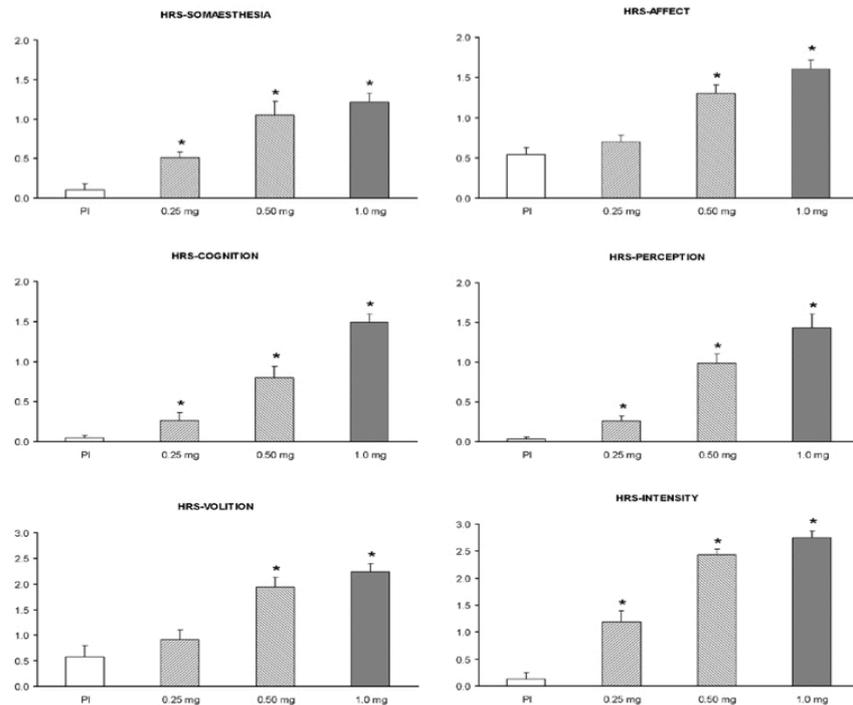


Figure 1. Mean scores on the six Hallucinogen Rating Scale (HRS) subscales after administration of placebo, 0.25 mg, 0.50 mg, and 1 mg salvinorin-A. Error bars denote 1 standard error of the mean (n=8). The asterisk indicates significant differences with placebo at p<0.05.

RESULTADOS

Table 1. Statistical analyses of subjective effects measures (HRS, ARCI, and STAI) after placebo, and 0.25, 0.5 and 1.0 mg salvinorin-A (n=8).

HRS	Friedman test ^(a)	Pairwise comparisons (Wilcoxon test) ^a					
		Pla: LD	Pla: MD	Pla: HD	LD:MD	LD:HD	MD:HD
Somaesthesia	***	*	*	*	*	*	NS
Affect	***	NS	*	*	*	*	*
Cognition	***	*	*	*	*	*	*
Perception	***	*	*	*	*	*	*
Volition	***	NS	*	*	*	*	NS
Intensity	***	*	*	*	*	*	*
ARCI							
MBG	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
PCAG	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
LSD	**	*	*	*	NS	NS	NS
BG	NS	NS	*	*	NS	NS	NS
A	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
STAI	*	*	*	NS	NS	NS	NS

Pla: placebo, LD: low dose (0.25 mg), MD: medium dose (0.50 mg), HD: high dose (1.0 mg). ARCI – A: Amphetamine scale; BG: Benzadrine-Group; MBG: Morphine-Benzadrine-Group; PCAG: Pentobarbital-Chlorpromazine-Alcohol-Group; LSD: Lysergic acid diethylamide scale. ^(a) p values. NS: not significant; * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001.

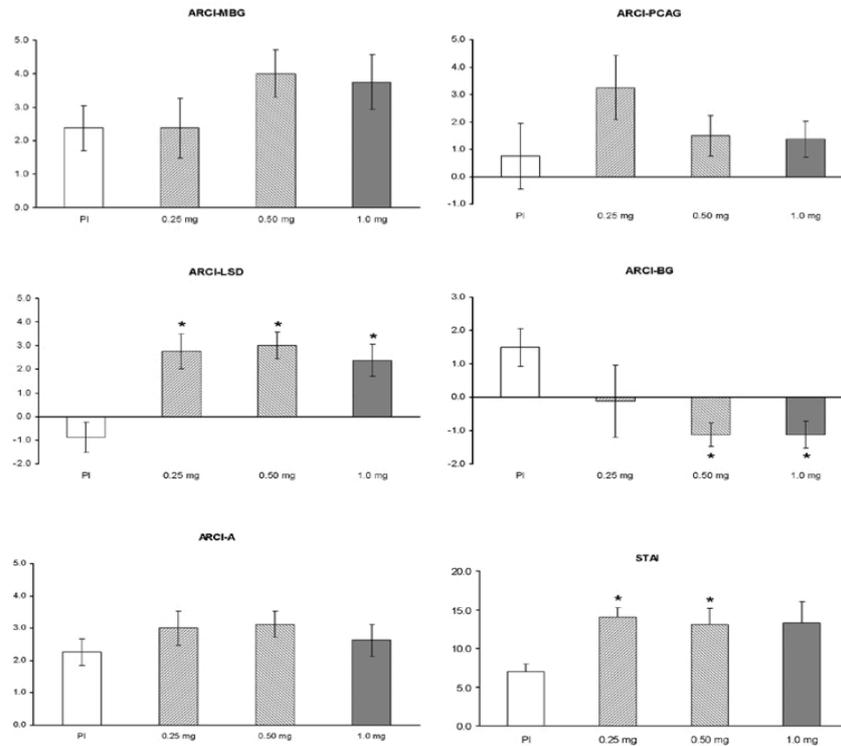


Figure 2. Mean scores on the five Addiction Research Center Inventory (ARCI) subscales, and the State-Trait Anxiety Inventory (STAI) questionnaire after administration of placebo, 0.25 mg, 0.50 mg, and 1 mg salvinorin-A. Error bars denote ± 1 standard error of mean (n=8) in all panels except the STAI panel where it denotes 1 standard error of mean. A: Amphetamine scale; BG: Benzadrine-Group; LSD: Lysergic acid diethylamide scale; MBG: Morphine-Benzadrine-Group; PCAG: Pentobarbital-Chlorpromazine-Alcohol-Group. The asterisk indicates significant differences with placebo at p<0.05.

Statistical Analyses

The statistical analysis was conducted using the SPSS software. Descriptive and inferential statistics were used on all instruments administered, except on the free narratives. Scores on each questionnaire subscale and VAS item were calculated for each participant and dosing condition. For the experimenter-administered VAS, the maximum score obtained in each session was used for comparisons between doses. Means and standard errors of the mean were used in the figures. However, given the small sample size, the obtained scores were analyzed by means of non-parametric statistics. First, we used Friedman tests for related samples with dose (placebo, 0.25 mg, 0.5 mg, and 1.0 mg) as a factor. When a significant effect was found, we performed pair-wise comparisons between doses using Wilcoxon signed-rank tests. In all tests performed, differences were considered statistically significant for *p* values lower than 0.05.

Results

Participants

All participants were Spanish nationals who were interested in psychedelics for self-knowledge purposes. They had experience with synthetic and semi-synthetic mind-altering compounds, but also with natural psychedelics. The context of use had been among friends, and in the case of ayahuasca they had attended European adaptations of Brazilian ayahuasca ceremonies. Volunteers had a mean age of 31 years (21–38). They had extensive previous experience with psychedelic drugs, all having taken LSD and *Psilocybe* mushrooms. Four participants had smoked *S. divinorum*. Seven had experience with ketamine, five with 2C-B, five with smoked dimethyltryptamine, four with ayahuasca, and three with mescaline-containing *San Pedro* cacti. Five were not using cannabis at the time of the study and three were smoking one or two cannabis cigarettes per day.

Psychological Effects

HRS

Mean scores on all subscales of the HRS at the different doses administered are shown in Figure 1, and the results of the statistical analyses in Table 1. A significant effect of dose was observed in all subscales of the HRS (*df* = 3): somaesthesia ($\chi^2 = 18.04, p < 0.001$), affect ($\chi^2 = 19.65, p < 0.001$), perception ($\chi^2 = 22.67, p < 0.001$), cognition ($\chi^2 = 23.42, p < 0.001$), volition ($\chi^2 = 17.13, p = 0.001$), and intensity ($\chi^2 = 23.26, p < 0.001$). Post hoc comparisons revealed orderly dose-response relationships for all subscales.

ARCI

Mean scores on all subscales of the ARCI are shown in Figure 2, and the results of the statistical analyses in Table 1. A significant effect of dose was observed in the LSD subscale only (*df* = 3; $\chi^2 = 14.92, p = 0.002$). Post-hoc comparisons revealed significant differences between placebo and the low, medium, and high doses in the LSD subscale, but no differences between active doses. Despite the lack of an overall effect of dose, the post hoc comparisons showed statistically significant decreases for the BG subscale at the medium and high doses compared to placebo.

STAI

Mean scores on STAI are shown in Figure 2, and the results of the statistical analyses in Table 1. A significant effect of

dose was observed in the STAI (*df* = 3; $\chi^2 = 8.47, p = 0.037$). Post hoc comparisons revealed significant increases between placebo and the low and medium doses, but no differences between active doses or between placebo and the high dose.

APZ

Mean scores on all subscales of the APZ are shown in Figure 3, and the results of the statistical analyses in Table 2. A significant

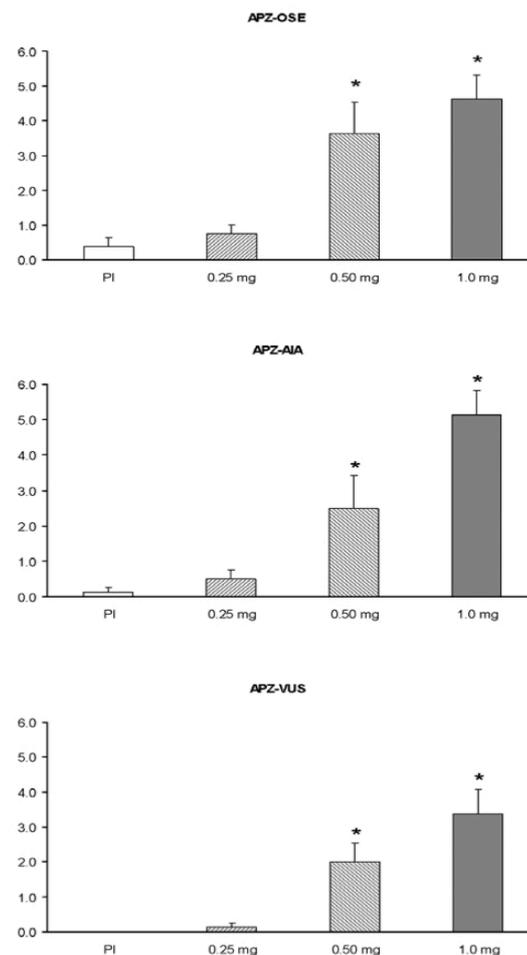


Figure 3. Mean scores on the Altered States of Consciousness (Aussergewöhnliche Psychische Zustände, APZ) questionnaire after administration of placebo, 0.25 mg, 0.50 mg, and 1 mg salvinorin-A. Error bars denote 1 standard error of mean (*n* = 8). AIA: Dread of Ego-Dissolution (“Angstvolle IchAuflösung”); OSE: Oceanic Boundlessness (“Ozeanische Selbstentgrenzung”); VUS: Visionary Restructuralization (“Visionäre Umstrukturierung”). The asterisk indicates significant differences with placebo at *p* < 0.05.

effect of dose was observed in all subscales of the APZ (df =3): OSE ($\chi^2 = 17.88, p < 0.001$), AIA ($\chi^2 = 18.29, p < 0.001$), and VUS ($\chi^2 = 21.17, p < 0.001$). Post hoc comparisons revealed orderly dose-response increases. Significant differences were seen between the medium and high doses and the placebo for all subscales. The medium and high doses were statistically different from the low dose and the AIA subscale differentiated between the medium and the high dose.

Self-Administered VAS

Mean scores on all self-administered VAS items are shown in Figure 4, and the results of the statistical analyses in Table 2. A significant effect of dose was observed in all but one of the VAS items (df =3): any effect ($\chi^2 = 22.95, p < 0.001$), good effects ($\chi^2 = 19.86, p < 0.001$), sudden start of effects ($\chi^2 = 19.77, p < 0.001$), fear ($\chi^2 = 11.14, p = 0.011$), altered time perception ($\chi^2 = 19.77, p < 0.001$), altered body dimensionality ($\chi^2 = 12.13, p = 0.007$), altered external reality ($\chi^2 = 14.67, p = 0.002$), lost contact with external reality ($\chi^2 = 17.29, p = 0.001$), and visual effects ($\chi^2 = 21.00, p < 0.001$). The item “bad effects” did not show any effects of dose. Post hoc comparisons revealed orderly dose-response relationships. Four VAS items were different from placebo at the low dose, eight at the medium dose, and ten at the high dose, including the “bad effects” item.

Experimenter-Administered VAS

As shown in Figure 5, the onset of salvinorin-A effects was very rapid, reaching its maximum at 2 min post-administration

and gradually decreasing to baseline levels after 20 minutes. The analysis of the peak values showed a significant effect of dose ($\chi^2 = 23.26, df =3, p < 0.001$). Post hoc comparisons showed significant effects relative to placebo and orderly dose-response relationships for the three active treatments (see Table 2).

MAIA

Scores on the MAIA subscales are shown in Figure 6 and the results of the statistical analyses in Table 2. A significant effect of dose was observed in the attention regulation (AR, $\chi^2 = 12.58, p = 0.006$) and trusting (TR, $\chi^2 = 14.61, p = 0.002$) subscales of MAIA (df =3). Post hoc comparisons revealed that AR decreased in a dose-dependent manner, with the medium and high doses showing significantly lower AR than placebo. However, the TR displayed an inverted-U relationship (see Table 2 and Figure 7). The Wilcoxon test showed significant increases at the low and medium doses and a decrease after the high dose. Despite the lack of an overall effect of dose, the post hoc comparisons showed statistically significant decreases in the emotional awareness (EA) subscale at the high dose.

Personal Narratives

General Effects

The most commonly reported themes are shown in Table 3, organized by dose. These included: (a) the sudden onset of effects; (b)

Table 2. Statistical analyses of subjective effects measures (APZ, VAS, and MAIA) after placebo, and 0.25, 0.5 and 1.0 mg salvinorin-A (n=8).

APZ	Friedman test ^(a)	Pairwise comparisons (Wilcoxon test) ^a					
		Pla: LD	Pla: MD	Pla: HD	LD:MD	LD:HD	MD:HD
OSE	***	NS	*	*	*	*	NS
AIA	***	NS	*	*	*	*	*
VUS	***	NS	*	*	*	*	NS
VAS Self-administered							
AE	***	*	*	*	*	*	*
GE	***	*	*	*	NS	*	NS
BE	NS	NS	NS	*	NS	NS	NS
SE	***	*	*	*	*	*	NS
FE	*	NS	NS	*	NS	NS	*
TI	***	NS	*	*	NS	*	*
DI	**	NS	*	*	*	NS	NS
RE	**	*	*	*	*	*	NS
CO	***	NS	*	*	*	*	NS
VI	***	NS	*	*	*	*	NS
VAS Experimenter-administered							
Intensity	***	*	*	*	*	*	*
MAIA							
NT	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
ND	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
NW	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
AR	**	NS	*	*	*	*	NS
EA	NS	NS	NS	*	NS	NS	NS
SR	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
BL	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
TR	**	*	*	NS	NS	*	*

Pla: placebo, LD: low dose (0.25 mg), MD: medium dose (0.50), HD: high dose (1.0 mg) APZ – OSE: Oceanic Boundlessness (“Ozeanische Selbstentgrenzung”); AIA: Dread of Ego-Dissolution (“Angstvolle Ich-Auflösung”); VUS: Visionary Restructuralization (“Visionäre Umstrukturierung”). VAS, Visual analogue scales – AE: any effect; GE: good effects; BE: bad effects; SE: sudden start of effects; FE: fear; TI: time; DI: changes in dimensionality; RE: changes in external reality; CO: loss of contact with external reality; VI: visions. MAIA – NT: noticing; ND: not distracting; NW: not worrying; AR: attention regulation; EA: emotional awareness; SR: self-regulation; BL: body listening; TR: trusting. ^(a) p values. NS: not significant; * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001.

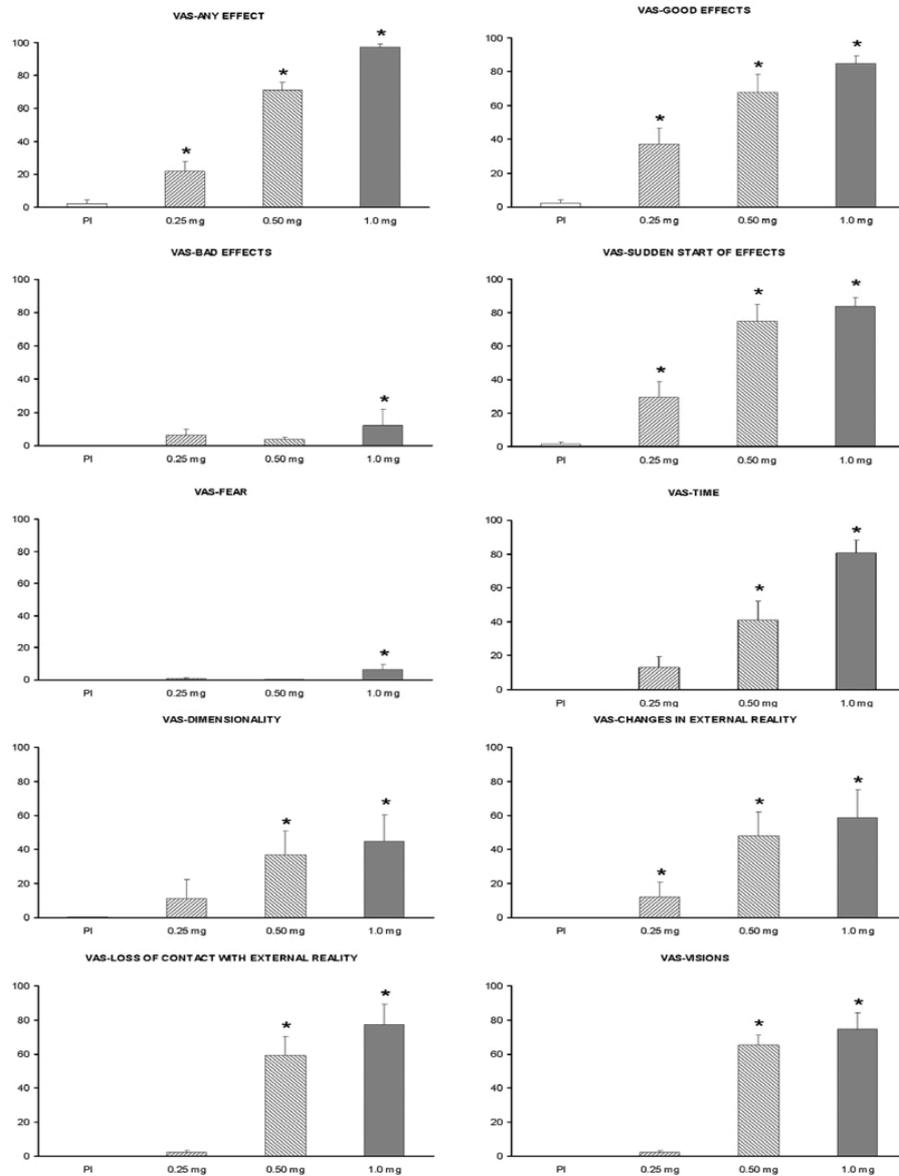


Figure 4. Mean scores on the self-administered visual analogue scales (VAS) items after administration of placebo, 0.25 mg, 0.50 mg, and 1 mg salvinorin-A. Error bars denote 1 standard error of mean (n=8). The asterisk indicates significant differences with placebo at $p < 0.05$.

changes in bodily sensations; (c) changes in the perception of time, depersonalization, and derealization; (d) modifications of visual and auditory perception; (e) the intensity and brevity of effects; (f)

pleasurable effects; and (g) impairment of the capacity to interact with surroundings. The table shows the number of volunteers that described a given effect and includes excerpts from the narratives.

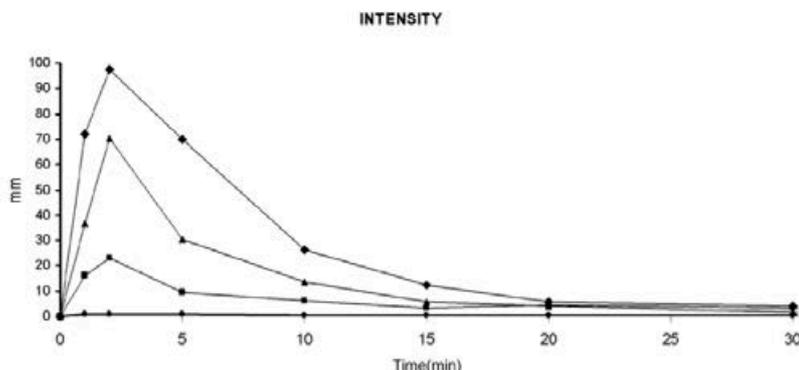


Figure 5. Mean (n=8) scores on the Experimenter-administered "intensity" visual analog scale (VAS) at the different measurement time points. The plots show data following placebo (circle), 0.25 mg (square), 0.50 mg (triangle), and 1 mg (diamond) salvinorin-A.

Other less-frequent themes were also reported. These included the sensation of being in two realities at the same time (n = 5). For example: "I really wanted to be fully in that other reality, it was very familiar, like the reality of my childhood"; laughter (n = 3): "It was very fun to check how absurd the usual world was. I was dying of laughter with the perspective of the existence of other worlds containing life"; becoming an object (n = 3): "I changed from being a square, to a pentagon, to a pyramid"; travel to other dimensions (n = 3): "I have left my body and traveled to another world or dimension"; similarity of the experience with dreams (n = 2): "The experience is like dreaming, and then you have difficulties to remember it"; and changes in dimensionality (n = 2): "Consistent change of dimensionality, I pass from 3D to 2D." Another recurring theme was perceiving physical beings or presences (n = 4): "There were magical beings in that world"; "I felt the presence of other life forms in that other world." Sometimes participants perceived that the presences/beings were forces that pulled the body of the participant or talked to them, creating auditory hallucinations.

Detailed Interoceptive Effects

All volunteers experienced profound interoceptive changes and described them extensively in their narratives. Excerpts of these reports are shown in Table 4. Participants experienced being pulled, pressured, or divided; changes in body temperature; tingling; sweating; relaxation; vibrations; loss of contact with the body; and out-of-body experiences. Volunteer reports also referred to the lateralization of effects (n = 2), starting from a specific side of reality: "I had the sensation that the effects of the substance were approaching me, like an air blast, from the left"; "I felt like another reality, just as real or even more authentic, was coming from the right."

Discussion

The vaporization and inhalation of salvinorin-A proved an effective method of administration, replicating previous research (Johnson et al., 2011; MacLean et al., 2013). At the doses used, salvinorin-A showed a pattern of subjective effects with fast onset and short duration. At all doses, peak effects were reached at 2 minutes after the inhalation (second measurement time

point), followed by a progressive decrement, to almost disappearing after 20 minutes. This pattern is analogous to those reported previously (Johnson et al., 2011; MacLean et al., 2013).

The 0.25 mg of salvinorin-A chosen in the present study as the lowest dose was psychoactive (i.e. rated as significantly different from placebo on some measures) in all volunteers. The effects were dose-dependent, with the medium and higher doses leading to more, greater, and longer-lasting perceptual, affective, and somatic effects. The fact that salvinorin-A was psychoactive below doses of one milligram places it in the potency range of LSD. Salvinorin-A induced perceptual and cognitive effects that are typical of 5-HT_{2A} agonists such as LSD and other classical psychedelics, but with intense somatic effects and a strong dissociative component. Some of the somatic modifications showed a biphasic pattern. At low and medium doses, salvinorin-A increased ratings of bodily sensation. However, at the high dose body awareness was strongly decreased, leading to a depersonalization and loss of sense of body ownership.

Assessment scores compare with those obtained by other laboratories. Scores on the HRS subscales confirm the psychedelic profile of salvinorin-A, being in concordance with previous studies both with smoked *S. divinorum* extracts and pure salvinorin-A. The intensity subscale of HRS shows the high intensity of effects perceived at medium and high doses, consistent with the results of Johnson et al. (2011) and MacLean et al. (2013). Our scores are similar also to studies using serotonergic hallucinogens like ayahuasca (Riba et al., 2001b) or psilocybin (Griffiths et al., 2006).

The narratives of the volunteers included themes that are common to previous studies with salvinorin-A (Siebert, 1994; González et al., 2006; Baggott et al., 2010; Johnson et al., 2011; Addy, 2012; Ranganathan et al., 2012; MacLean et al., 2013; Addy et al., 2015). For instance, the uniqueness of salvia compared to other psychedelics was reported in the present study by two volunteers: "The experience was surprising, how weird it is!," "This was a completely new experience for me." This is in concordance with the KOR agonism profile of the substance.

Perceptual Effects

In the present study, significant dose-related effects were found in the instruments measuring alterations in visual and auditory

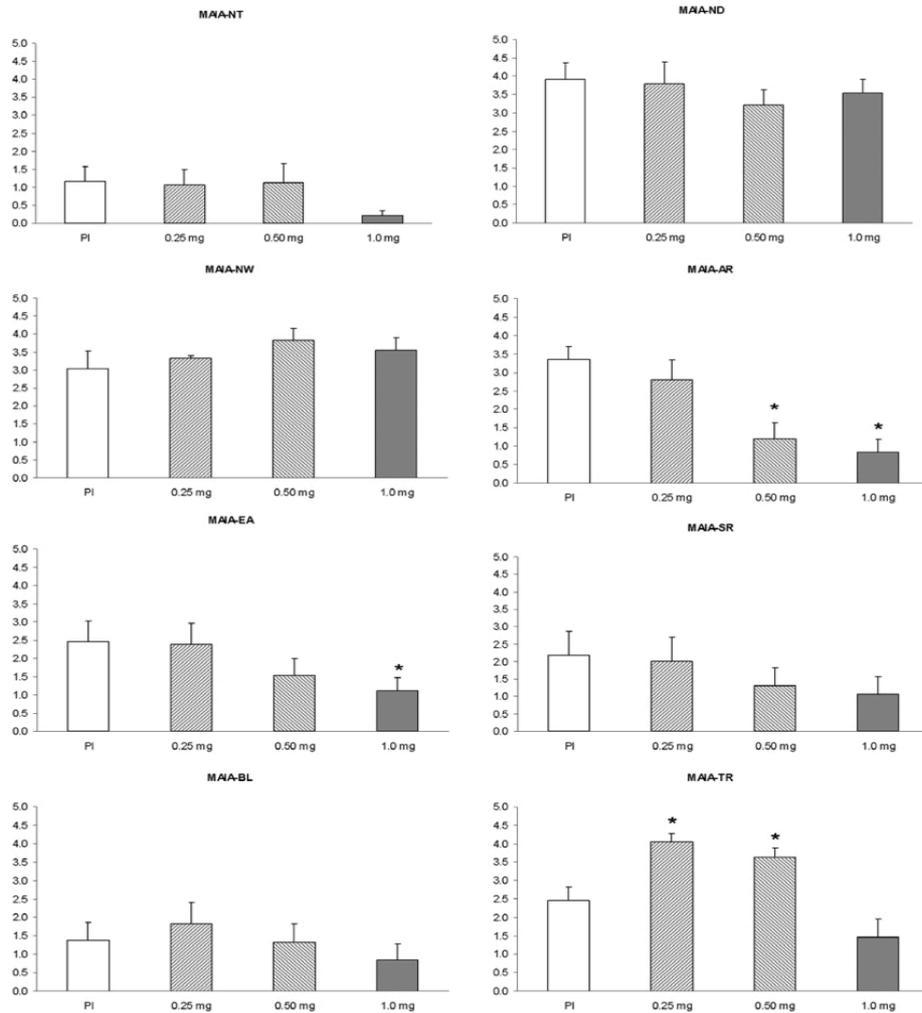


Figure 6. Mean scores on the eight Multidimensional Assessment for Interoceptive Awareness (MAIA) subscales after administration of placebo, 0.25 mg, 0.50 mg, and 1 mg salvinorin-A. Error bars denote 1 standard error of mean (n=8). AR: Attention regulation; BL: Body listening; EA: Emotional awareness; ND: Not distracting; NT: Noticing; NW: Not worrying; SR: Self-regulation; TR: Trusting. The asterisk indicates significant differences with placebo at $p < 0.05$.

perception. Auditory experiences were quite prominent and included hearing music and being verbally addressed by presences or beings. Visions were also reported frequently in the medium and high doses. These appeared as tunnel or window-like visions, luminous walls and surfaces, metallic objects, geometric patterns, and other worlds of multiple colors: "I was in an immense forest full of fluorescent trees." As in previous studies (MacLean et al., 2013; Addy et al., 2015), one participant referred to carnival imagery: "There were magical beings in that world, wearing garish dresses, similar to the clothes of a royal court jester."

Synesthesia

A particular type of visual-proprioceptive synesthesia was experienced that has been previously reported from smoking *S. divinorum* (Addy et al., 2015). While visual-auditory synesthesia is common with serotonergic and non-serotonergic substances, visual-proprioceptive synesthesia is rarely described (Luke and Terhune, 2013). This was experienced here by two volunteers in three experimental sessions (two in low dose and one in high dose). Objects perceived with eyes open or closed were felt as

Table 3. Common themes reported by the participants and excerpts from their narratives (n=8)

	0.25 mg	0.50 mg	1 mg
1. Sudden onset of effects	6/8 <i>The effects started after two or three minutes</i>	7/8 <i>During the first minute, the effects increased very fast</i>	7/8 <i>The effects started in the first instant after inhalation</i>
2. Changes in bodily sensations	7/8 <i>Overall, I was feeling a subtle and pleasant tingle in all my body</i>	7/8 <i>In the first seconds I felt huge effects with an important increase in body temperature, I sweated a lot. I had tingle sensations in all my body</i>	5/8 <i>It cost me some efforts to bring my mind back to my body: first the eyes, then the mouth, then the halves of the face...it was like a stretched bubble gum</i>
3. Changes in the perception of time, depersonalization, derealization	2/8 <i>A detachment between myself and the effects on my body happened</i>	5/8 <i>All of this lasted barely a minute, the temporal axis was creased like an accordion</i>	8/8 <i>The material world and the sensation of my habitual self faded</i>
4. Modifications of visual and auditory perception	2/8 <i>I was seeing objects with less definition, like with a plastic texture</i>	5/8 <i>Inside the bus a group of people were shouting, encouraging my mind to leave my body, and they were feminine voices</i>	7/8 <i>They knew me and called me by my name, they were telling me positive messages</i>
5. Intensity and brevity of effects	1/8 <i>The experience has been slight and brief</i>	4/8 <i>It was very brief but impressive</i>	8/8 <i>The trip has been very intense</i>
6. Pleasurable effects	3/8 <i>The state of peace obtained allowed me to think in a very lucid way</i>	3/8 <i>Good humor is still retained at least until now, an hour and a half later</i>	6/8 <i>The experience has been positive, nice, and very revealing</i>
7. Impairment of capacity to interact with surroundings	1/8 <i>I was able to answer the questions without any difficulty</i>	4/8 <i>It seems that I was answering coherently, but the questions and my answers were nonsense to me</i>	7/8 <i>When the researcher asked me how intense my experience was, I was unable to answer because at that point I had lost my sense of self</i>

being associated with the body. For example, seeing external modifications in reality, like a wave, that affects or folds the volunteer's body: "The effects of the substance were approaching me, like an air blast, from the left. (...) they were distorting the objects in the room and also my body and sensations". One volunteer described the concept of a square present in the mind that was felt with the body: "A force was pressing the right side of my body (...), so my sensation was being a square. Visually I wasn't seeing any image, but that square was conceptually present in my mind".

Effects on Affect

Salvinorin-A led to paradoxical effects on emotion. Volunteers reported improved mood including relaxation and calm, as in previous studies (Hanes, 2001; Bücheler et al., 2005; Baggott et al., 2010; Addy, 2012; MacLean et al., 2013). Participants described positive affect states such as "the experience has been very positive" and "I have enjoyed the experience very much".

However, anxiety scores on the STAI were increased for the low and medium doses, but not for the high dose. This could be due to the ascending order in which active doses were administered, but could also reflect a ceiling effect. There are no direct references in the written reports to moments of anxiety or fear during the experience.

One volunteer reported feelings of being isolated due to not being able to feel the presence of the experimenter in the room, and another volunteer expressed confusion of not being able to understand what was happening. Our results are similar to

previous research (Johnson et al., 2011; Ranganathan et al., 2012; MacLean et al., 2013) which reported a lack of negative affect and low anxiety ratings. In contrast, González and coworkers found above average anxiety levels, which could be related to expectancy, previous experience with psychedelics, or the uncontrolled environment of non-laboratory drug use (González et al., 2006).

Interoceptive Effects

Our results suggest biphasic effects of salvinorin-A upon certain aspects of interoception. Results from the MAIA show that salvinorin-A reduced participants' ability to sustain and control attention to their bodily sensations. Low and medium doses of salvinorin-A acutely led to increases in experiencing one's body as safe and trustworthy. Increased Trusting scores have been inversely correlated with experiencing chronic low back pain, perceived stress, depression, and trait anxiety; and have been directly correlated with having a mind-body practice and having strong body-listening skills (Mehling et al., 2012, 2013). Thus, in our sample low and medium doses of salvinorin-A produced effects that could be viewed as adaptive, while high doses of salvinorin-A produced maladaptive effects (decreased body awareness).

Dissociative Effects

We observed a strong profile of dissociative effects and disconnection with reality. The body-related dysphoria subscale (LSD) of the ARCI showed lower scores compared to previous studies

Table 4. Detailed interoceptive effects extracted from the participants' narratives. V=volunteer

Volunteer (n=8)	Dose		
	0.25 mg	0.50 mg	1 mg
V1	I observed the creases and folds that my body was starting to experience. A force was pressing the right side of my body down and another force was pulling my legs up creating a 90° angle, and my feet were folding parallel to the ceiling, so my sensation was being a square. Visually I wasn't seeing any image, but that square was conceptually present in my mind	A pressure from my back and another from my leg and my face made me start to fold bidimensionally	While I was still exhaling, the experimental room and the people in the room were the design and the pattern of a dense wool carpet, and then that carpet folded. With my eyes open, I was seeing that huge white fold appear on my foot and slowly approached my head.(...)Somatic sensations, far from being organic, are more close to objects, minerals or plastic materials
V2	After two or three minutes I had the sensation that the effects of the substance were approaching me, like an air blast, from the left. As they were coming they were distorting the objects in the room and also my body and sensations, and I felt this more intensely on my neck. I thought that it would bring me to another world, but while passing through the half of my body the effects disappeared	*No somatic effects reported	We were colorful lines in movement, and the feeling was very pleasant. We were going to fall into the hole of a sink, but I felt that I had to do a lot of strength with my body to get through. There was a force not letting me in, and I had to fight trying to pass. This force changed into a face, into a person of this reality, and I felt its pressure in my arms
V3	I have felt a 'buzz', and a relatively intense tachycardia. It has grown, just a little, and have appeared other sensations such as muscular 'jamming', or numbness in the hands. I feel a subtle headache, and it is a bit annoying. Otherwise, all good. A little dizzy... but nothing really noticeable	First I felt a 'buzz' and then a more intense sensation, it looks ridiculous but I felt I was a mane, and the substance that I had taken was a comb that was combing my body	I felt the sensation as if my face turned feline, and I was vibrating. Then the out of body experience started, and I had the sensation of my mind rising from behind and going to another place, leaving the envelope that was my body. Thus I stopped having muscular sensations, proprioceptive and everything related, both from the face and the body
V4	Right after inhalation I felt something entering my body, and then temperature changes spread throughout my body, starting from my legs and climbing up, and then disappearing	The corporeal sensation was of a force dividing my body in half, and I looked like a comic	I have sweated a lot
V5	*No somatic effects reported	A very potent force split my body in two halves, sending the right side to a faraway world, where I could feel a presence that was trying to take the left side of my body too. The right side was still connected to the rest of the body, so I tried to breathe on those points of connection between the two halves to release the tension and to allow the left part to go to that other world, but it didn't work	*No somatic effects reported
V6	Warmth. I felt my body heavier, relaxed, wellness in the body, calm, with a subtle tingle on the neck and the head. My mind was also relaxed. I was connected with my body and with the sensations I was feeling	Right after the inhalation I felt a floating sensation, warmth; I need to close my eyes. The intensity of the trip was connected to a force that wouldn't let me fully trip. That force was doctors and nurses	A lot of corporeal sensations. I have felt a very strong high with a lot of energy to the body. A very potent and tasty feeling. I was enjoying the sensation very much, and I was fully aware of being very high waiting to travel somewhere else
V7	Physically I was feeling a tingle going through my right arm, forehead and head. I have felt a little force that was pressing me against the bed	This time I didn't have my physical condition as present as the last one, only right after inhalation I felt a subtle tingle. Then everything has been mental and visual, I have stopped paying attention to my body	I have forgotten my body completely, you don't remember it at any moment
V8	I have felt a warmth in my cheeks, but so subtle that I thought it was only my imagination. So I relaxed thinking that it was the placebo, and then I started to feel a more intense warmth in my thighs. Gradually it increased and appeared in other parts of my body, but it was mild, giving me tranquility, relaxation and peace. Overall, I was feeling a subtle and pleasant tingle in all my body	In the first seconds I felt huge effects with an important increase in body temperature, I sweated a lot. I had tingle sensations in all my body	I wasn't feeling that in that world I had a physical body. I was an energetic being

(González et al., 2006; MacLean et al., 2013) suggesting dissociative effects and a perceived inability to interact with one's body and surroundings. Further, the high dose of salvinorin-A increased depersonalization and derealization (OSE subscale of APZ) and decreased body and thought control (AIA subscale of APZ).

Paradoxically, the low and medium doses of salvinorin-A increased the MAIA trusting (TR) subscale, indicating an increased experience of one's body as safe and trustworthy. No other results in our study showed a similar inverted-U-shaped profile. It may be that at lower doses salvinorin-A increases bodily sensations, but that the dissociative effects of the high dose overwhelm the subtle trust-enhancing effects of the low and medium doses.

Neural Substrates of Salvinorin-A Effects

In the encephalon, high levels of KOR are found in the neocortex, the thalamus and the ventral tegmental area (VTA) (Simonin et al., 1995). Despite lower amounts in the hippocampus, KOR activation effectively reduces the activity of excitatory afferents at this level (Chavkin, 2013). It also inhibits dopamine release from VTA afferents to the prefrontal cortex, and the activity of serotonergic and noradrenergic neurotransmission (Schwarzer, 2009). The dynorphin-KOR system has been involved in stress responses, reward and addiction and various psychiatric disorders (Schwarzer, 2009; Tejada et al., 2012; Chavkin, 2013).

KOR agonism in the temporal and parietal cortices could underlie the visual and auditory modifications (temporal cortex) and the altered experience of the body (parietal cortex). Posterior parietal areas in collaboration with subcortical structures and the premotor cortex play a role in the multisensory experience of the body by codifying it into an axis of reference (e.g. hands, arms, or head). In one study in which the right angular was electrically stimulated, out-of-body experiences were elicited (Blanke et al., 2002). In addition, the medial posterior parietal cortex is a key structure within the default mode network, which has been proposed to be associated with the intimate sense of self (Raichle et al., 2001; Raichle, 2011).

The most likely structure mediating the loss of contact with external reality is the thalamus, which shows high KOR levels in humans (Simonin et al., 1995). Studies in rodents have shown that the centromedian, paraventricular, and centrolateral nuclei of the thalamus are particularly rich in these receptors and cell bodies expressing them (Le Merrer et al., 2009). While the first two nuclei play an important role controlling arousal and the overall level of cortical activity, the paraventricular nucleus is associated with viscerolimbic functions (Van der Werf et al., 2002). Lesions in the centrolateral nucleus lead to widespread reductions in activation of the reticular system, additional thalamic nuclei, and extensive limbic and cortical areas (Raos et al., 1995). A KOR-mediated inhibitory effect of salvinorin-A at this level could block the relay of perceptual and somatic information to the cortex and explain the loss of contact with external reality and with one's own body as reported by participants.

Alternatively, the claustrum, a sheet of neurons neighboring the insula, also shows high KOR levels. Stiefel and coworkers have proposed that salvinorin-A could disrupt cerebral integration processes taking place at this level and lead to the effects of disconnection from reality induced by the drug (Stiefel et al., 2014). Future studies should use neuroimaging techniques to provide direct evidence of the brain areas targeted by salvinorin-A.

Limitations

The study included a relatively small number of subjects with extensive experience with psychedelics. Thus, our results may not be generalized to less experienced individuals. Additionally, as mentioned in the Methods section, the doses were administered in ascending order. Although the position of the placebo was varied randomly, this design may have influenced the results. In addition, the study had five female and three male participants. Due to the sex differences found in distribution and elimination of salvinorin-A, (Schmidt et al., 2005), the effects may have been more intense in the female than the male participants. However, the small sample size precludes the statistical analysis comparison between the two groups.

Conclusions

The inhalation of vaporized salvinorin-A led to very strong psychotropic effects of rapid onset and short duration. Perceptual modifications included the visual domain, and in contrast with 5HT_{2A} agonists, auditory hallucinations were very common. Also in contrast with the classical serotonergic psychedelics, loss of contact with external reality was prominent with the participants being unreactive to external visual and verbal cues, especially after the medium and high doses. While at the low and medium doses there was an increase in bodily sensations, at 1.0mg there was an almost complete loss of body ownership and an increase in out-of-body experiences. These results suggest that the dynorphins – KOR system may play a previously underestimated role in the regulation of sensory perception, interoception, and the sense of body ownership in humans.

Acknowledgments

This work was supported by grant "P112/02758" from the "Instituto de Salud Carlos III" of the Spanish Government, which is co-funded by FEDER. Marta Valle is supported by the "Fondo de Investigación Sanitaria" through grant CP04/00121 from the Spanish Ministry of Health in collaboration with Institut de Recerca de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona.

The authors would like to thank the study volunteers for their participation.

Statement of Interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- Addy PH (2012) Acute and post-acute behavioral and psychological effects of salvinorin A in humans. *Psychopharmacology (Berl)* 220:195–204.
- Addy PH, Garcia-Romeu A, Metzger M, Wade J (2015) The subjective experience of acute, experimentally-induced *Salvia divinorum* inebriation. *J Psychopharmacol* 29:426–435.
- Baggott MJ, Erowid E, Erowid F, Galloway GP, Mendelson J (2010) Use patterns and self-reported effects of *Salvia divinorum*: an internet-based survey. *Drug Alcohol Depend* 111:250–256.
- Blanke O, Ortigue S, Landis T, Seeck M (2002) Stimulating illusory own-body perceptions. *Nature* 419:269–270.
- Bücheler R, Gleiter CH, Schwoerer P, Gaertner I (2005) Use of nonprohibited hallucinogenic plants: increasing relevance for public health? A case report and literature review on the consumption of *Salvia divinorum* (Diviner's Sage). *Pharmacopsychiatry* 38:1–5.

- Chavkin C (2013) Dynorphin--still an extraordinarily potent opioid peptide. *Mol Pharmacol* 83:729-736.
- Craig ADB (2009) How do you feel--now? The anterior insula and human awareness. *Nat Rev Neurosci* 10:59-70.
- Dittrich A (1998) The standardized psychometric assessment of altered states of consciousness (ASCs) in humans. *Pharmacopsychiatry* 31(Supp 2):80-84.
- González D, Riba J, Bouso JC, Gómez-Jarabo G, Barbanoj MJ (2006) Pattern of use and subjective effects of *Salvia divinorum* among recreational users. *Drug Alcohol Depend* 85:157-162.
- Griffiths RR, Richards WA, McCann U, Jesse R (2006) Psilocybin can occasion mystical-type experiences having substantial and sustained personal meaning and spiritual significance. *Psychopharmacology (Berl)* 187:268-283; disc 284-292.
- Hanes KR (2001) Antidepressant effects of the herb *Salvia divinorum*: a case report. *J Clin Psychopharmacol* 21:634-635.
- Johnson MW, MacLean KA, Reissig CJ, Prisinzano TE, Griffiths RR (2011) Human psychopharmacology and dose-effects of salvinorin A, a kappa opioid agonist hallucinogen present in the plant *Salvia divinorum*. *Drug Alcohol Depend* 115:150-155.
- Lamas X, Farré M, Llorente M, Camí J (1994) Spanish version of the 49-item short form of the Addiction Research Center Inventory (ARC-I). *Drug Alcohol Depend* 35:203-209.
- Le Merrer J, Becker JA, Befort K, Kieffer BL (2009) Reward processing by the opioid system in the brain. *Physiol Rev* 89:1379-1412.
- Luke DP, Terhune DB (2013) The induction of synaesthesia with chemical agents: a systematic review. *Front Psychol* 4:753.
- MacLean KA, Johnson MW, Reissig CJ, Prisinzano TE, Griffiths RR (2013) Dose-related effects of salvinorin A in humans: dissociative, hallucinogenic, and memory effects. *Psychopharmacology (Berl)* 226:381-392.
- Martin WR, Sloan JW, Sapira JD, Jasinski DR (1971) Physiologic, subjective, and behavioral effects of amphetamine, methamphetamine, ephedrine, phenmetrazine, and methylphenidate in man. *Clin Pharmacol Ther* 12:245-258.
- Mehling WE, Price C, Daubenmier JJ, Acree M, Bartmess E, Stewart A (2012) The Multidimensional Assessment of Interoceptive Awareness (MAIA). *PLOS One* 7:e48230.
- Mehling WE, Daubenmier J, Price CJ, Acree M, Bartmess E, Stewart AL (2013) Self-reported interoceptive awareness in primary care patients with past or current low back pain. *J Pain Res* 6:403-418.
- Ott J (1995) Ethnopharmacognosy and human pharmacology of *Salvia divinorum* and salvinorin A. *Curare* 18:103-129.
- Paulus MP, Stein MB (2010) Interoception in anxiety and depression. *Brain Struct Funct* 214:451-463.
- Prisinzano TE (2005) Psychopharmacology of the hallucinogenic sage *Salvia divinorum*. *Life Sci* 78:527-531.
- Raichle ME (2011) The restless brain. *Brain Connect* 1:3-12.
- Raichle ME, MacLeod AM, Snyder AZ, Powers WJ, Gusnard DA, Shulman GL (2001) A default mode of brain function. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:676-682.
- Ranganathan M, Schnakenberg A, Skosnik PD, Cohen BM, Pittman B, Sewell RA, D'Souza DC (2012) Dose-related behavioral, subjective, endocrine, and psychophysiological effects of the kappa opioid agonist Salvinorin A in humans. *Biol Psychiatry* 72:871-879.
- Raos VC, Dermon CR, Savaki HE (1995) Functional anatomy of the thalamic centrolateral nucleus as revealed with the [¹⁴C] deoxyglucose method following electrical stimulation and electrolytic lesion. *Neuroscience* 68:299-313.
- Riba J, Rodríguez-Fornells A, Barbanoj MJ (2002) Effects of ayahuasca on sensory and sensorimotor gating in humans as measured by P50 suppression and prepulse inhibition of the startle reflex, respectively. *Psychopharmacology (Berl)* 165:18-28.
- Riba J, Rodríguez-Fornells A, Strassman RJ, Barbanoj MJ (2001a) Psychometric assessment of the Hallucinogen Rating Scale. *Drug Alcohol Depend* 62:215-223.
- Riba J, Rodríguez-Fornells A, Urbano G, Morte A, Antonijoan R, Montero M, Callaway JC, Barbanoj MJ (2001b) Subjective effects and tolerability of the South American psychoactive beverage Ayahuasca in healthy volunteers. *Psychopharmacology (Berl)* 154:85-95.
- Roth BL, Baner K, Westkaemper R, Siebert D, Rice KC, Steinberg S, Ernsberger P, Rothman RB (2002) Salvinorin A: a potent naturally occurring nonnitrogenous kappa opioid selective agonist. *Proc Natl Acad Sci USA* 99:11934-11939.
- Schmidt MD, Schmidt MS, Butelman ER, Harding WW, Tidgewell K, Murry DJ, Kreek MJ, Prisinzano TE (2005) Pharmacokinetics of the plant-derived kappa-opioid hallucinogen salvinorin A in nonhuman primates. *Synapse* 58:208-210.
- Schwarzer C (2009) 30 years of dynorphins--new insights on their functions in neuropsychiatric diseases. *Pharmacol Ther* 123:353-370.
- Seisdedos N (2002) STAI Cuestionario de ansiedad estado-rasgo. Adaptación española del cuestionario y redacción del manual. Madrid, Spain: TEA Ediciones, SA.
- Siebert DJ (1994) *Salvia divinorum* and salvinorin A: new pharmacologic findings. *J Ethnopharmacol* 43:53-56.
- Simonin F, Gaveriaux-Ruff C, Befort K, Matthes H, Lannes B, Micheletti G, Mattei MG, Charron G, Bloch B, Kieffer B (1995) kappa-Opioid receptor in humans: cDNA and genomic cloning, chromosomal assignment, functional expression, pharmacology, and expression pattern in the central nervous system. *Proc Natl Acad Sci USA* 92:7006-7010.
- Spielberger CD, Gorsuch RL, Lushene RE (1970) Manual for the state-trait anxiety inventory. Palo Alto, CA: Consulting Psychologists.
- Stiefel KM, Merrifield A, Holcombe AO (2014) The claustrum's proposed role in consciousness is supported by the effect and target localization of *Salvia divinorum*. *Front Integr Neurosci* 8:20.
- Strassman RJ, Qualls CR, Uhlenhuth EH, Kellner R (1994) Dose-response study of N,N-dimethyltryptamine in humans. II. Subjective effects and preliminary results of a new rating scale. *Arch Gen Psychiatry* 51:98-108.
- Tejeda HA, Shippenberg TS, Henriksson R (2012) The dynorphin/kappa-opioid receptor system and its role in psychiatric disorders. *Cell Mol Life Sci* 69:857-896.
- Valdés LJ, Díaz JL, Paul AG (1983) Ethnopharmacology of ska María Pastora (*Salvia divinorum*, Epling and Játiva-M.). *J Ethnopharmacol* 7:287-312.
- Van der Werf YD, Witter MP, Groenewegen HJ (2002) The intralaminar and midline nuclei of the thalamus. Anatomical and functional evidence for participation in processes of arousal and awareness. *Brain Res Brain Res Rev* 39:107-140.
- Verdejo-García A, Clark L, Dunn BD (2012) The role of interoception in addiction: a critical review. *Neurosci Biobehav Rev* 36:1857-1869.
- Walsh SL, Strain EC, Abreu ME, Bigelow GE (2001) Enadoline, a selective kappa opioid agonist: comparison with butorphanol and hydromorphone in humans. *Psychopharmacology (Berl)* 157:151-162.

RESULTADOS

Naltrexone but Not Ketanserin Antagonizes the Subjective, Cardiovascular, and Neuroendocrine Effects of Salvinorin-A in Humans

International Journal of Neuropsychopharmacology, 2016, 1–13



RESEARCH ARTICLE

Naltrexone but Not Ketanserin Antagonizes the Subjective, Cardiovascular, and Neuroendocrine Effects of Salvinorin-A in Humans

Ana Elda Maqueda, MSc; Marta Valle, PhD; Peter H. Addy, PhD; Rosa Maria Antonijoan, PhD; Montserrat Puentes, MD; Jimena Coimbra, MD; Maria Rosa Ballester, MSc; Maite Garrido, MSc; Mireia González, MSc; Judit Claramunt, MSc; Steven Barker, PhD; Izabela Lomnicka, PhD; Marian Waguespack, PhD; Matthew W. Johnson, PhD; Roland R. Griffiths, PhD; Jordi Riba, PhD

Human Neuropsychopharmacology Group, Sant Pau Institute of Biomedical Research (IIB-Sant Pau), Sant Antoni Maria Claret, Barcelona, Spain (Ms Maqueda and Dr Riba); Centre d'Investigació de Medicaments, Servei de Farmacologia Clínica, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain (Dr Valle, Dr Puentes, Dr Coimbra, Ms Ballester, Ms Garrido, Ms González, Ms Claramunt, and Dr Riba); Departament de Farmacologia i Terapèutica, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain (Drs Valle, Antonijoan, and Riba); Centro de Investigación Biomédica en Red de Salud Mental, CIBERSAM, Spain (Drs Valle, Antonijoan, and Riba); Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Modelling and Simulation, IIB Sant Pau, Sant Antoni Maria Claret, Barcelona, Spain (Dr Valle); Medical Informatics, VA Connecticut Healthcare System, West Haven, CT (Dr Addy); Medical Informatics, Yale University School of Medicine, New Haven, CT (Dr Addy); Department of Comparative Biomedical Sciences, School of Veterinary Medicine, Louisiana State University, Skip Bertman Drive at River Road, Baton Rouge, LA (Drs Barker, Lomnicka, and Waguespack); Behavioral Pharmacology Research Unit, Department of Psychiatry and Behavioral Sciences, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD (Drs Johnson and Griffiths); Department of Neuroscience, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD (Dr Griffiths).

Correspondence: Jordi Riba, PhD, Human Neuropsychopharmacology Group, IIB-Sant Pau.C/Sant Antoni Maria Claret, 167.08025, Barcelona, Spain (jriba@santpau.cat).

Abstract

Background: Salvinorin-A is a terpene found in the leaves of the plant *Salvia divinorum*. When administered to humans, salvinorin-A induces an intense but short-lasting modified state of awareness, sharing features with those induced by the classical serotonin-2A receptor agonist psychedelics. However, unlike substances such as psilocybin or mescaline, salvinorin-A shows agonist activity at the kappa-opioid receptor rather than at the serotonin-2A receptor. Here, we assessed the involvement of kappa-opioid receptor and serotonin-2A agonism in the subjective, cardiovascular, and neuroendocrine effects of salvinorin-A in humans.

Received: December 5, 2015; Revised: January 13, 2016; Accepted: February 5, 2016

© The Author 2016. Published by Oxford University Press on behalf of CINP.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>), which permits non-commercial re-use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. For commercial re-use, please contact journals.permissions@oup.com

1

Methods: We conducted a placebo-controlled, randomized, double-blind study with 2 groups of 12 healthy volunteers with experience with psychedelic drugs. There were 4 experimental sessions. In group 1, participants received the following treatment combinations: placebo+placebo, placebo+salvinorin-A, naltrexone+placebo, and naltrexone+salvinorin-A. Naltrexone, a nonspecific opioid receptor antagonist, was administered at a dose of 50 mg orally. In group 2, participants received the treatment combinations: placebo+placebo, placebo+salvinorin-A, ketanserin+placebo, and ketanserin+salvinorin-A. Ketanserin, a selective serotonin-2A antagonist, was administered at a dose of 40 mg orally.

Results: Inhalation of 1 mg of vaporized salvinorin-A led to maximum plasma concentrations at 1 and 2 minutes after dosing. When administered alone, salvinorin-A severely reduced external sensory perception and induced intense visual and auditory modifications, increased systolic blood pressure, and cortisol and prolactin release. These effects were effectively blocked by naltrexone, but not by ketanserin.

Conclusions: Results support kappa opioid receptor agonism as the mechanism of action underlying the subjective and physiological effects of salvinorin-A in humans and rule out the involvement of a serotonin-2A-mediated mechanism.

Keywords: Salvinorin-A, naltrexone, ketanserin, kappa opioid receptor antagonism, serotonin-2A antagonism, human pharmacology

Introduction

Salvinorin-A is a terpene compound thought to be the main psychoactive component present in the leaves of the plant *Salvia divinorum* (Labiatae), a mint endemic to the Sierra Madre Oriental of Oaxaca, Mexico. The plant has been used for centuries by the Mazatec people who inhabit the region in the treatment of various medical conditions and for spiritual purposes, divination, and shamanic healing (Valdés et al., 1983; Ott, 1995).

S. divinorum preparations have attracted the interest of users of psychoactive drugs worldwide, leading to widespread experimentation with the plant. The dried leaves and fortified extracts can be smoked or administered sublingually, inducing brief but intense psychotropic effects (González et al., 2006). Ortega et al. (1982) and later Valdés et al. (1984) isolated salvinorin-A from *S. divinorum*, which was shown to be psychoactive in a series of laboratory studies. The effects induced by the drug in humans include prominent modifications in audio-visual perception and, at higher doses, intense dissociation with disconnection from external reality and loss of contact with the body (Johnson et al., 2011; MacLean et al., 2013; Addy et al., 2015; Maqueda et al., 2015).

Salvinorin-A shows remarkable pharmacological characteristics. Although its profile of effects in humans has analogies to that of classical serotonergic psychedelics, salvinorin-A does not show affinity in vitro for the serotonin-2A (5-HT_{2A}) receptor. Unlike drugs such as LSD, mescaline, or psilocybin, salvinorin-A instead shows high affinity for the kappa opioid receptor (KOR) (Roth et al., 2002; Prisinzano, 2005). Salvinorin-A is also an unusual KOR agonist. In contrast with drugs such as pentazocine and enadoline, the salvinorin-A molecule does not contain nitrogen. Additionally, in contrast with these nitrogenated compounds, salvinorin-A displays perception-modifying rather than somato-dysphoric effects (Walsh et al., 2001), although salvinorin-A has not been compared directly with synthetic kappa agonists within one study.

Animal studies further suggest the KOR-specific profile of salvinorin-A effects. In adult rhesus monkeys, salvinorin-A induces prolactin release (Butelman et al., 2007), facial relaxation, and ptosis (Butelman et al., 2009) as well as discriminative stimulus effects (Butelman et al., 2010). All these effects are blocked by pretreatment with the KOR partial agonist nalmefene (Butelman et al., 2007, 2009) and the antagonist quadazocine (Butelman et al., 2010), but not by pretreatment with the 5-HT_{2A} antagonist ketanserin (Butelman et al., 2007, 2009, 2010) or the cannabinoid antagonist rimonibant (Butelman et al., 2009).

Analogous results have been obtained in mice (Walentiny et al., 2010). However, despite the evidence from in vitro assays and animal studies, to date no studies have been published demonstrating in vivo that the pharmacological effects of salvinorin-A in humans are indeed mediated by the KOR.

In the present study, we sought to investigate further the pharmacology of salvinorin-A in humans by assessing the involvement of KOR and 5-HT_{2A} agonism in the subjective, cardiovascular, and neuroendocrine effects induced by the drug. To do so, we conducted a study involving salvinorin-A administration to experienced psychedelic drug users following pretreatment with the opioid antagonist naltrexone or the 5-HT_{2A} antagonist ketanserin. In addition to subjective effects measures, we utilized several outcomes known to be sensitive to KOR agonists in humans, including neuroendocrine variables such as plasma cortisol and prolactin (sensitive to salvinorin-A; Ranganathan et al., 2012) and growth hormone (GH) (sensitive to the synthetic KOR agonist spiradoline; Ur et al., 1997).

Materials and Methods

Ethics

The study was conducted in accordance with the Declarations of Helsinki and its updates concerning experimentation on humans and was approved by the hospital's ethics committee and the Spanish Ministry of Health. All participants gave their written informed consent prior to participation.

Participants

The study included 24 volunteers with previous experience in the use of psychedelics. The final participant sample had at least 10 previous experiences with psychedelics and no history of adverse effects from their use. Exclusion criteria included a current or past history of psychiatric disorders, alcohol or other substance dependence, evidence of significant illness, and pregnancy. Participants underwent a complete physical examination that included a medical history, laboratory tests, ECG, and urinalysis. Cannabis users were requested to abstain from cannabis use since enrollment and until the end of the study. This was verified by urinalysis (see below). Twelve

participants were allocated to group 1 involving the administration of naltrexone and 12 to group 2 involving the administration of ketanserin. The first 12 participants were allocated to group 1 (naltrexone pretreatment group) and the subsequent 12 to group 2 (ketanserin pretreatment group). Additional details on the study participants are provided in the [supplementary information file](#).

Drugs

A fully psychoactive dose of 1 mg vaporized pure (>99%) salvinorin-A was chosen for the study based on results from a previous trial (Maqueda et al., 2015). Oral capsules were prepared containing either 50 mg naltrexone, 40 mg ketanserin, or lactose placebo. The chosen naltrexone dose is the standard clinical daily dose. The ketanserin dose was chosen based on a previous study that showed that 40 mg blocked the subjective effects of a high dose of psilocybin (Vollenweider et al., 1998). These capsules were administered 1 hour prior to salvinorin-A vaporization and inhalation (see study design below). Additional information is provided in the [supplementary file](#).

Study Design

The study was carried out in a double-blind, randomized, cross-over fashion. It involved 4 experimental sessions 1 week apart. Two weeks before the beginning of the experimental sessions, volunteers were instructed to abstain from all medications (including prescription drugs) and illicit drugs and remain drug-free throughout the study. Upon arrival in the morning to the research unit, breath analysis for alcohol, urinalysis for illicit drug use, and a urine pregnancy test (for women only) were administered. An i.v. catheter was placed in a vein of the left arm for drawing blood samples. Pretreatment capsules were administered, and 1 hour later, salvinorin-A or placebo was administered by vaporization and inhalation.

Participants received the following treatment combinations: oral placebo+vaporized placebo (placebo+placebo), oral placebo+vaporized salvinorin-A (placebo+salvinorin), oral study drug+vaporized placebo (antagonist+placebo), and oral study drug+vaporized salvinorin-A (antagonist+ salvinorin). Participants received either naltrexone (group 1) or ketanserin (group 2) as their study drug. The order in which the different treatment combinations were administered was counterbalanced between subjects according to a randomization table. For further details on study design, see the [supplementary information file](#).

Outcome Measures

Psychological effects were captured using the Hallucinogen Rating Scale (HRS) (Strassman et al., 1994), the Altered States of Consciousness questionnaire (Aussergewöhnliche Psychische Zustände [APZ]) (Dittrich, 1998), and the state version of the State-Trait Anxiety Inventory (STAI) (Spielberger et al., 1970). Finally, self-administered Visual Analogue Scales (VAS) were used to retrospectively rate the following peak effects during the session: any effect, good effects, bad effects, sudden start of effects, fear, time, changes in dimensionality, changes in external reality, loss of contact with external reality, and visions. See the [supplementary information file](#) for further details. All questionnaires and VAS items were administered in Spanish.

Cardiovascular effects were captured by measuring systolic and diastolic blood pressure (SBP and DBP, respectively) and heart rate (HR) while volunteers were in a recumbent position.

Neuroendocrine effects were captured by measuring cortisol, prolactin and GH. Salvinorin-A plasma levels were also assessed and pharmacokinetic parameters calculated. The limits of quantification were 1 µg/dL for cortisol, 0.6 ng/mL for prolactin, 0.05 ng/mL for GH, and 0.035 mg/mL for salvinorin A.

Additional information on outcome measures is provided in the [supplement](#).

Statistical Analyses

The statistical analyses were conducted using the SPSS software. Descriptive and inferential statistics were used on all measures. Scores on each questionnaire subscale and VAS item were calculated for each participant and dosing condition. Means and standard errors of the mean were used in the figures. Data were analyzed using repeated-measures ANOVAs with treatment as a repeated factor (placebo + placebo, placebo + salvinorin-A, antagonist+placebo, antagonist+salvinorin-A). When a significant effect of treatment was found, posthoc pair-wise comparisons between treatments were conducted using the Bonferroni correction as implemented in SPSS.

For cardiovascular and neuroendocrine data, preadministration (baseline) values were subtracted from postadministration measures. Subsequently, peak effect (maximum absolute change from baseline values) and area under the curve of effect vs time were calculated: from 0 to 120 min for cardiovascular measures; and from 0 to 240 minutes for hormone concentrations. The obtained values were analyzed using the aforementioned repeated-measures ANOVA followed by posthoc comparisons between treatments using the Bonferroni correction.

Pharmacokinetic parameters were expressed for each group (group 1 and group 2) and pretreatment (placebo, naltrexone, ketanserin) as mean and standard deviations. To examine any possible pharmacokinetic interaction between salvinorin-A and the active pretreatments, pharmacokinetic parameters for salvinorin-A were compared in the absence and presence of the antagonists (naltrexone and ketanserin). Comparisons were conducted for each pharmacokinetic parameter using Student's *t* tests followed.

Results for the ANOVAs are given following Greenhouse-Geisser correction. Results were considered significant for $P < .05$.

Results

All 24 participants completed the 4 experimental sessions, and there were no drop-outs in the course of the study. Pharmacokinetic and neuroendocrine data from one volunteer in group 1 (naltrexone) could not be obtained. This was due to malfunction of the i.v. catheter in the experimental session in which the participant received salvinorin-A alone.

Psychological Effects

HRS

Mean scores on all subscales of the HRS for each group and treatment are shown in [Figure 1](#). In group 1 (naltrexone), significant effects of treatment were observed in all subscales of the HRS: somaesthesia $F(3,33) = 24.68, P < .001$; affect $F(3,33) = 21.25, P < .001$; perception $F(3,33) = 22.39, P < .001$; cognition $F(3,33) = 21.33, P < .001$; volition $F(3,33) = 29.74, P < .001$; and intensity $F(3,33) = 28.59, P < .001$. While salvinorin-A increased scores in all subscales, naltrexone effectively blocked these effects. Posthoc comparisons using the Bonferroni correction showed significant naltrexone-induced reductions of the effects of salvinorin-A in all subscales: somaesthesia $P < .01$; affect

RESULTADOS

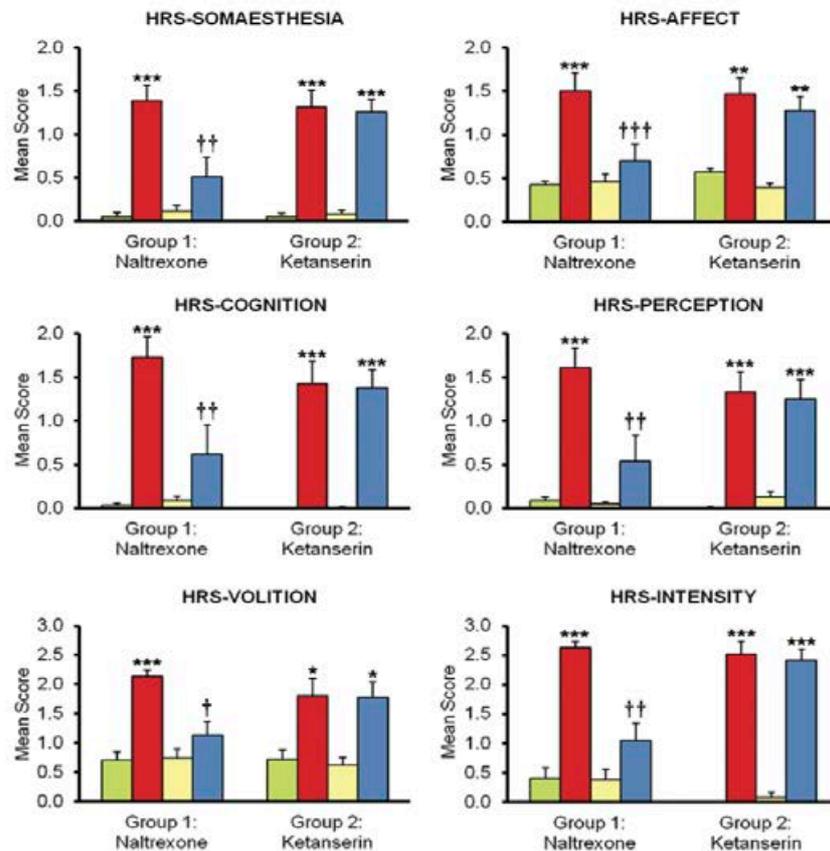


Figure 1. Mean scores on the 6 Hallucinogen Rating Scale (HRS) subscales. Participants in group 1 received placebo (green), 1 mg salvinorin-A (red), 50 mg naltrexone (yellow), and the combination naltrexone+salvinorin-A (blue). Participants in group 2 received placebo (green), 1 mg salvinorin-A (red), 40 mg ketanserin (yellow), and the combination ketanserin+salvinorin-A (blue). Error bars denote 1 SEM (n=12 in each group). Significant differences from placebo are denoted as *P<.05, **P<.01, and ***P<.001. Significant differences between salvinorin-A alone and salvinorin-A after pretreatment with an antagonist (naltrexone or ketanserin) are denoted as †P<.05, ††P<.01, and †††P<.001.

P<.001; perception P<.01; cognition P<.01; volition P<.01; and intensity P<.01. Scores for the combination were not different from placebo (Figure 1).

In group 2 (ketanserin), a significant effect of treatment was again observed in all subscales: somaesthesia F(3,33) = 42.10, P<.001; affect F(3,33) = 21.08, P<.001; perception F(3,33) = 22.05, P<.001; cognition F(3,33) = 30.26, P<.001; volition F(3,33) = 16.99, P<.001; and intensity F(3,33) = 110.74, P<.001. Salvinorin-A increased scores on the HRS, and ketanserin coadministration did not modify this effect. The posthoc comparisons using the Bonferroni correction showed no significant variations in any subscale. To the contrary, scores for the combination were significantly different from placebo in all cases (Figure 1).

APZ

Mean scores on all subscales of the APZ are shown in Figure 2. In group 1 (naltrexone), significant effects of treatment

were observed in the 3 subscales: Oceanic Boundlessness (OSE) F(3,33) = 18.40, P<.001; Dread of Ego Dissolution (AIA) F(3,33) = 10.72, P<.01; Visionary Restructuralization (VUS) F(3,33) = 28.61, P<.001. Salvinorin-A led to significant increases in the scores of the 3 subscales. Naltrexone again blocked these effects. Posthoc comparisons using the Bonferroni correction showed naltrexone-induced significant reductions: OSE P<.01; AIA P<.05; VUS P<.001.

In group 2 (ketanserin), a significant effect of treatment was also observed in all subscales: OSE F(3,33) = 34.75, P<.001; AIA F(3,33) = 10.71, P<.01; VUS F(3,33) = 19.34, P<.001. Ketanserin had no effect when it was administered in combination with salvinorin-A. The posthoc comparisons using the Bonferroni correction showed no significant variations in any subscale. Scores for the combination remained significantly different from placebo for the OSE and VUS subscales and showed a trend for AIA (Figure 2).

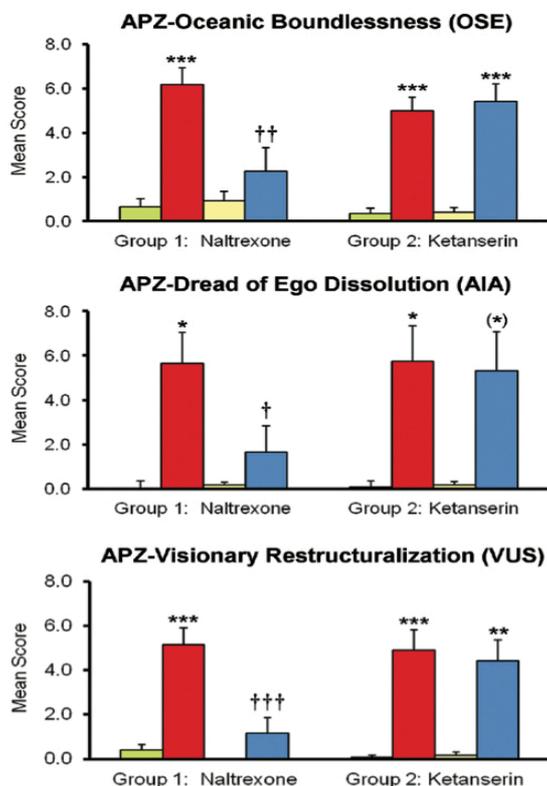


Figure 2. Mean scores on the Altered States of Consciousness (Aussergewöhnliche Psychische Zustände [APZ]) questionnaire. Participants in group 1 received placebo (green), 1 mg salvinorin-A (red), 50 mg naltrexone (yellow), and the combination naltrexone + salvinorin-A (blue). Participants in group 2 received placebo (green), 1 mg salvinorin-A (red), 40 mg ketanserin (yellow), and the combination ketanserin + salvinorin-A (blue). Error bars denote 1 SEM (n = 12/group). Significant differences from placebo are denoted as *P < .1, †P < .05, **P < .01, and ***P < .001. Significant differences between salvinorin-A alone and salvinorin-A after pretreatment with an antagonist (naltrexone or ketanserin) are denoted as †P < .05, ††P < .01, and †††P < .001.

State STAI

Mean scores on the state STAI are shown in Figure 3. In group 1 (naltrexone), the ANOVA showed a main effect of treatment $F(3,33) = 5.90, P < .05$. Mean anxiety scores were highest after salvinorin-A. However, the posthoc comparisons using the Bonferroni correction did not find differences with placebo for any treatment, and neither did the comparison between salvinorin-A alone and the salvinorin-A plus naltrexone combination.

In group 2 (ketanserin), a significant effect of treatment was observed $F(3,33) = 10.47, P < .01$. In this sample, the salvinorin-induced increases in STAI mean values were marginally significant ($P = .051$). Ketanserin coadministration had no effect on the anxiogenic effects of salvinorin-A. On the contrary, scores for the combination showed less inter-subject variability and were significantly higher than placebo (Figure 3).

VAS

Mean scores on all VAS items are shown in Figure 4. In group 1 (naltrexone), significant effects of treatment were observed in all but one item: any effect, $F(3,33) = 67.11, P < .001$; good effects, $F(3,33) = 10.78, P < .01$; sudden start of effects, $F(3,33) = 81.23, P < .001$; fear, $F(3,33) = 4.82, P < .05$; altered time perception, $F(3,33) = 68.81, P < .001$; altered body dimensionality, $F(3,33) = 43.13, P < .001$; altered external reality, $F(3,33) = 43.51, P < .001$; lost contact with external reality, $F(3,33) = 124.88, P < .001$; and visual effects, $F(3,33) = 43.01, P < .001$. The item “bad effects” only showed a trend [$F(3,33) = 4.44, P = .059$]. Salvinorin-A increased scores in all subscales, whereas naltrexone effectively blocked these effects. Posthoc comparisons using the Bonferroni correction showed significant score reductions in the 7 subscales showing the highest elevations after salvinorin: any effect, $P < .001$; sudden start of effects, $P < .001$; altered time perception, $P < .001$; altered body dimensionality, $P < .001$; altered external reality, $P < .001$; lost contact with external reality, $P < .001$; and visual effects, $P < .001$. Nonsignificant reductions were found for good effects, bad effects, and fear, the scales showing the smallest effects when salvinorin-A was administered alone. Scores for the naltrexone + salvinorin-A combination on all subscales were not different from placebo (Figure 4).

In group 2 (ketanserin), a significant effect of treatment was observed in all VAS items: any effect, $F(3,33) = 133.98, P < .001$; good effects, $F(3,33) = 20.04, P < .01$; bad effects, $F(3,33) = 6.54, P < .001$; sudden start of effects, $F(3,33) = 64.82, P < .001$; fear, $F(3,33) = 7.37, P < .01$; altered time perception, $F(3,33) = 27.18, P < .001$; altered body dimensionality, $F(3,33) = 42.43, P < .001$; altered external reality, $F(3,33) = 28.99, P < .001$; lost contact with external reality, $F(3,33) = 31.98, P < .001$; visual effects, $F(3,33) = 23.17, P < .001$. Ketanserin administration had no effect on the salvinorin-induced increases. The posthoc comparisons using the Bonferroni correction found no significant variations in any subscale. Scores for the combination were significantly different from placebo in all cases, except for bad effects and fear, which showed only trends (Figure 4).

Cardiovascular Effects

The time course of cardiovascular measures is shown in Figure 5. In both groups, SBP, DBP, and HR values increased above the preadministration baseline following salvinorin-A administration. This increase was very sharp and short lived, peaking after the first measurement point and decreasing thereafter. The results of the statistical analyses are shown in Tables 1 and 2. SBP increases in peak values reached statistical significance in both groups, whereas DBP increases were only significant in group 2. The brief nature of these increases is highlighted by the fact that the AUC values between 0 and 2 hours were not significantly different from placebo in either group; neither were changes in HR peak and AUC after salvinorin-A.

In group 1, naltrexone blocked the increases in SBP and DBP peak value, significantly reducing both values when it was administered together with salvinorin-A compared with when salvinorin-A was administered alone.

In group 2, mean peak values after ketanserin + salvinorin-A were lower than those obtained after salvinorin-A alone. However, in contrast with the findings in group 1, these reductions were not statistically significant.

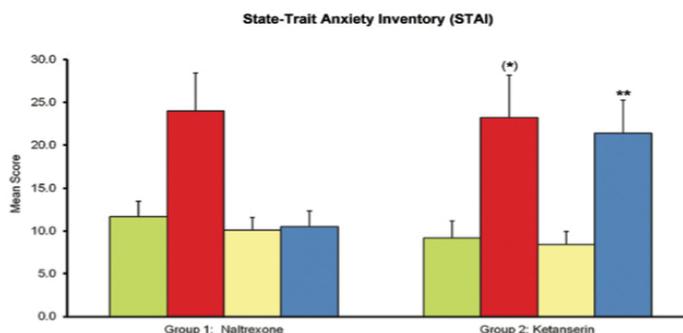


Figure 3. Mean scores on the state State-Trait Anxiety Inventory (STAI) questionnaire. Participants in group 1 received placebo (green), 1 mg salvinorin-A (red), 50 mg naltrexone (yellow), and the combination naltrexone+salvinorin-A (blue). Participants in group 2 received placebo (green), 1 mg salvinorin-A (red), 40 mg ketanserin (yellow), and the combination ketanserin+salvinorin-A (blue). Error bars denote 1 SEM (n=12/group). Significant differences from placebo are denoted as *P < .05, **P < .01, and ***P < .001. Significant differences between salvinorin-A alone and salvinorin-A after pretreatment with an antagonist (naltrexone or ketanserin) are denoted as †P < .05, ††P < .01, and †††P < .001.

Neuroendocrine Effects

The concentration-time curves for cortisol, GH, and prolactin are shown in Figure 6 and the results of the statistical analyses in Tables 1 and 2. In group 1, the i.v. catheter did not work properly, and blood samples could not be obtained from one of the participants during the experimental session in which salvinorin-A was administered alone. Thus, hormone levels could not be assessed for this participant, and results are shown for only 11 volunteers.

In both groups, hormone levels increased above preadministration values following salvinorin-A administration. However, statistical significance was attained only for cortisol and prolactin.

In group 1, naltrexone reduced cortisol and prolactin levels when it was administered together with salvinorin-A compared with when salvinorin-A was administered alone. However, statistical significance was only attained for prolactin.

In group 2, cortisol levels were lower for the ketanserin+salvinorin-A combination than for salvinorin-A alone. However, this reduction was not significant for peak values and showed a trend only for the AUC. In the case of prolactin, ketanserin did not inhibit its release. In fact, mean values were higher for the combination ketanserin+salvinorin-A than for salvinorin-A alone. However, these differences were not statistically significant.

Pharmacokinetics

The time course of salvinorin-A plasma concentrations and the calculated pharmacokinetic parameters are shown in Figure 7 and Table 3, respectively. As indicated above, blood samples could not be obtained from one of the participants in group 1 when salvinorin-A was administered alone. Results are shown for 11 volunteers only.

As shown in the graphs and tables, drug levels were highest in the first and second measurement points after the start of the inhalation. Values decreased rapidly thereafter, falling below 1 ng/mL at 2 hours after dosing. The statistical comparison of pharmacokinetic parameters in each group did not show any

significant differences between the placebo+salvinorin-A and the antagonist+salvinorin-A sessions.

Discussion

Our results confirm the involvement of opioid receptors in the human pharmacology of salvinorin-A. The administration of naltrexone blocked the modified state of awareness induced by salvinorin-A in humans. On the contrary, pretreatment with the 5-HT_{2A} antagonist ketanserin had no effect on the nature and intensity of the subjective experience.

The 1-mg dose of salvinorin-A and the route of administration chosen here induced a pattern of subjective effects of fast onset and short duration that replicated previous research conducted by our group in 2 different laboratories (Johnson et al., 2011; MacLean et al., 2013; Maqueda et al., 2015). The effects induced were reflected as significant increases in all 3 subscales of the APZ questionnaire, in the 6 subscales of the HRS, and in an extensive battery of VAS items previously shown to be sensitive to salvinorin-A (Maqueda et al., 2015). The efficacy of vaporization followed by inhalation was further evidenced by the measurable levels of salvinorin-A found in plasma. The drug was rapidly absorbed reaching its maximum concentrations in the first 2 measurement time points at 1 and 2 minutes after dosing, in line with previous data in humans (Johnson et al., 2016). This peak was followed by a rapid decrease. Assuming a parallel between plasma and CNS, these results suggest a rapid clearance from the brain, in line with observations in monkeys using nuclear medicine techniques (Hooker et al., 2008). This concentration-time pattern paralleled the time course of subjective effects described in previous studies using the same administration route (Johnson et al., 2011; MacLean et al., 2013; Maqueda et al., 2015).

The present findings support the involvement of the KOR in the subjective effects induced by salvinorin-A. The KOR and the dynorphins, its endogenous ligands, are broadly distributed throughout the central nervous system (Simonin et al., 1995). An agonist-mediated inhibitory effect of salvinorin-A on KOR-rich nuclei of the thalamus (Le Merrer et al., 2009) could explain the characteristic blockade of external audiovisual stimuli observed.

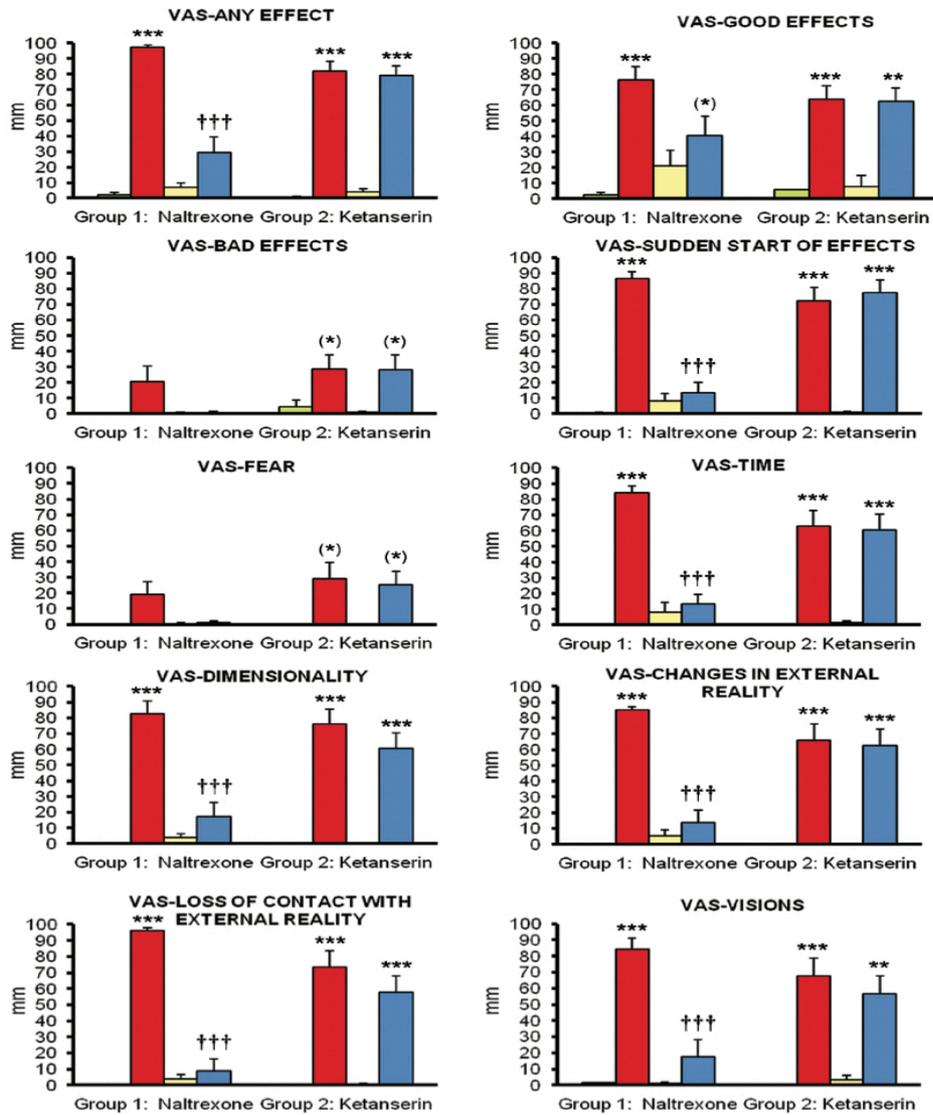


Figure 4. Mean scores on the self-administered visual analogue scales (VAS) items. Participants in group 1 received placebo (green), 1 mg salvinorin-A (red), 50 mg naltrexone (yellow), and the combination naltrexone + salvinorin-A (blue). Participants in group 2 received placebo (green), 1 mg salvinorin-A (red), 40 mg ketanserin (yellow), and the combination ketanserin + salvinorin-A (blue). Error bars denote 1 SEM (n = 12/group). Significant differences from placebo are denoted as *P < .1, **P < .05, ***P < .01, and ****P < .001. Significant differences between salvinorin-A alone and salvinorin-A after pretreatment with an antagonist (naltrexone or ketanserin) are denoted as †P < .05, ††P < .01, and †††P < .001.

On the other hand, a study in rodents has shown that salvinorin-A increases fluorodeoxyglucose uptake in the sensory cortex (Hooker et al., 2009). Activation of neocortical areas of the temporal lobe could underlie the vivid visual imagery and auditory

phenomena reported here. As hypothesized, naltrexone pretreatment blocked most aspects of the subjective experience (HRS, APZ, VAS, STAI), whereas ketanserin had no effect on any of these measures. Thus, salvinorin-A was shown to exert its effects on

RESULTADOS

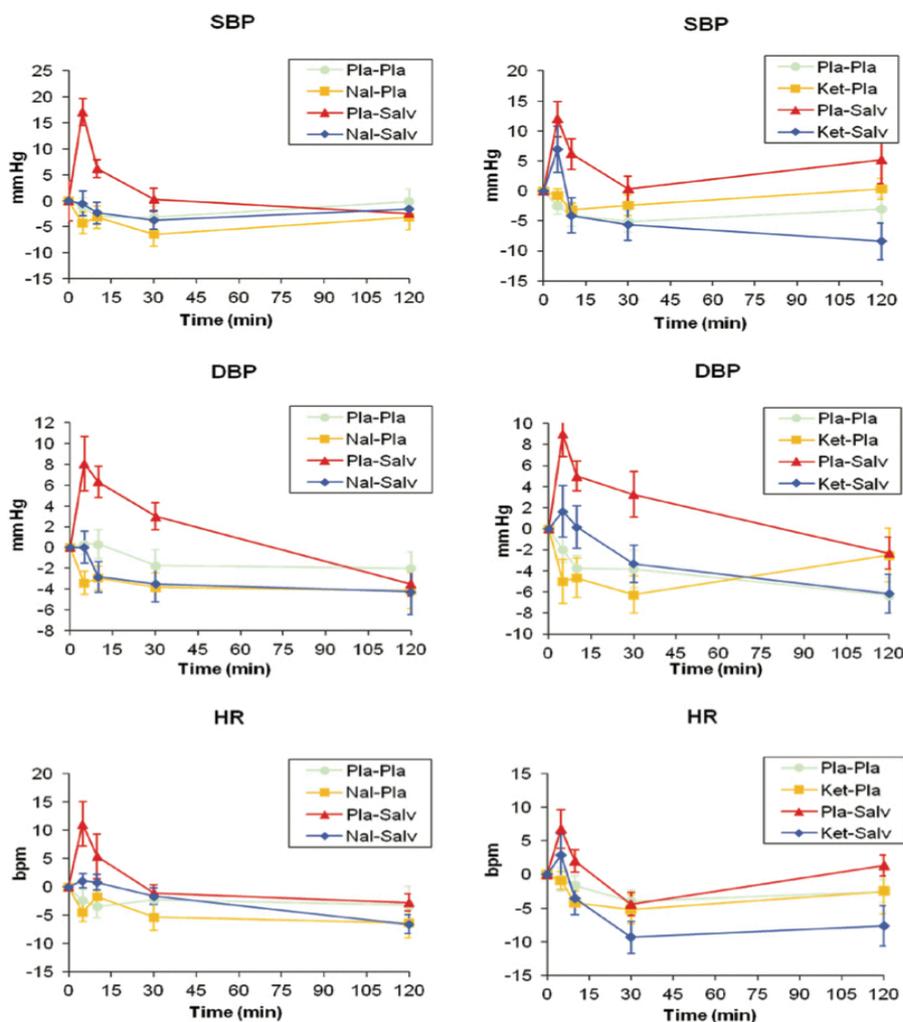


Figure 5. Time course of cardiovascular measures. Panels on the left show mean data for SBP, DBP, and heart rate (HR) for group 1 (naltrexone, n=12). Panels on the right show mean data for SBP, DBP, and HR for group 2 (ketanserin, n=12). The plots show data following placebo + placebo (circle), antagonist (naltrexone or ketanserin) + placebo (square), placebo + salvinorin (triangle), and antagonist + salvinorin (diamond). Error bars denote ± 1 SEM.

human perception, cognition, and emotion via opioidergic processes, without the involvement of serotonergic processes. Naltrexone is a nonspecific opioid receptor antagonist with the highest affinity for the mu and kappa receptors ($\mu:\kappa$ relative affinity of 1.7) and the lowest for the delta receptor ($\mu:\delta$ relative affinity of 550) (Wentland et al., 2009). Naltrexone was administered at the 50-mg standard clinical dose. Doses of 25 to 30 mg had proved effective in previous studies to block the kappa-related effects of the opiates butorphanol and pentazocine (Preston and Bigelow, 1993; Walsh et al., 2008).

In addition to the thalamus and the neocortex, high KOR levels are also found in more primitive regions of the brain such as the hypothalamus, the ventral tegmental area, and the nucleus accumbens (Simonin et al., 1995), associated with homeostasis, reward, and motivation. In fact, besides its characteristic perceptual-cognitive effects, salvinorin-A also induced a series of cardiovascular and neuroendocrine effects when given alone. At the 1-mg dose, salvinorin-A consistently increased SBP, cortisol, and prolactin levels in the 2 participant groups. While previous studies had not found effects of

Table 1. Cardiovascular and Hormone Data from Group 1

Cardiovascular	Pairwise Comparisons (Bonferroni)										
	PL	SA	NA	NASA	F(3,33)	P	PL:SA	PL:NA	PL:NASA	SA:NA	SA:NASA
SBP_pk (mm Hg)	-1.17 (6.19)	17.08 (14.41)	-4.25 (7.34)	-0.50 (8.24)	15.10	<.001	.006	NS	NS	.003	.001
SBP_AUC (mm Hg·min)	-123.75 (365.36)	133.54 (308.24)	-270.83 (406.70)	-147.08 (335.64)	2.69	.096	NS	NS	NS	NS	NS
DBP_pk (mm Hg)	0.33 (3.50)	8.08 (9.06)	-3.42 (3.96)	0.00 (5.34)	8.64	.002	NS	NS	NS	.019	.016
DBP_AUC (mm Hg·min)	-67.92 (256.38)	142.08 (217.08)	-211.88 (234.13)	-186.67 (304.83)	4.48	.020	NS	NS	NS	.030	.036
HR_pk (bpm)	-2.42 (6.84)	11.08 (13.59)	-4.42 (5.90)	1.08 (4.27)	6.97	.009	NS	NS	NS	.047	NS
HR_AUC (bpm·min)	-159.79 (470.13)	53.75 (275.17)	-272.29 (418.65)	-125.63 (211.35)	1.68	.205	NS	NS	NS	NS	NS
Hormones											
Cort_pk (µg/dL)	-0.65 (3.01)	8.73 (2.29)	1.65 (7.05)	5.25 (3.36)	9.02	.002	<.001	NS	.023	.037	NS
Cort_AUC (µg/dL·min)	-66.4 (419.4)	539.1 (405.9)	4.48 (774.7)	324.6 (540.9)	3.02	.075	.012	NS	NS	NS	NS
GH_pk (ng/mL)	2.96 (3.49)	7.62 (7.51)	2.88 (3.00)	6.81 (6.48)	2.88	.082	NS	NS	.081	NS	NS
GH_AUC (ng/mL·min)	221.6 (231.7)	513.7 (521.4)	207.5 (243.8)	569.5 (520.2)	2.75	.093	NS	NS	.040	NS	NS
ProL_pk (ng/mL)	3.55 (2.22)	27.09 (19.84)	3.49 (5.54)	7.24 (12.61)	12.63	.001	.05	NS	NS	.021	.003
ProL_AUC (ng/mL·min)	192.7 (314.4)	1848.6 (1169.0)	142.9 (585.6)	390.3 (892.1)	14.74	<.001	.03	NS	NS	.011	.007

Abbreviations: AUC, area under the curve; Cort, cortisol; DBP, diastolic blood pressure; GH, growth hormone; HR, heart rate; NA, naltrexone + placebo; NASA, naltrexone + salvinorin A; pk, peak value; PL, placebo + placebo, SA, placebo + salvinorin-A; SBP, systolic blood pressure; ProL, prolactin.
 Effects induced by placebo (placebo+placebo), salvinorin-A (placebo+salvinorin-A), naltrexone (naltrexone+placebo), and naltrexone+salvinorin-A on cardiovascular and neuroendocrine measures. Means (SD) of values obtained (n=12 for cardiovascular measures and n=11 for hormones) and results of the statistical analyses performed. The comparison naltrexone vs naltrexone+salvinorin-A has been omitted.

Table 2. Cardiovascular and Hormone Data from Group-2

Cardiovascular	Pairwise Comparisons (Bonferroni)										
	PL	SA	KET	KETSA	F(3,33)	P	PL:SA	PL:KET	PL:KETSA	SA:KET	SA:KETSA
SBP_pk (mm Hg)	-2.50 (5.00)	12.00 (10.14)	-0.75 (3.82)	6.92 (13.38)	8.13	.003	.013	NS	NS	.011	NS
SBP_AUC (mm Hg·min)	-236.88 (288.58)	222.92 (504.39)	-98.75 (259.67)	-281.88 (496.15)	4.59	.012	NS	NS	NS	NS	.070
DBP_pk (mm Hg)	-2.00 (4.20)	9.00 (7.48)	-5.00 (7.19)	1.67 (8.49)	12.25	<.001	.004	NS	NS	.001	.062
DBP_AUC (mm Hg·min)	-247.71 (266.43)	153.75 (280.70)	-277.08 (357.59)	-165.83 (281.18)	5.58	.007	.058	NS	NS	.008	.039
HR_pk (bpm)	-0.75 (5.99)	6.75 (10.01)	-0.92 (4.62)	2.83 (10.88)	2.71	.083	NS	NS	NS	NS	NS
HR_AUC (bpm·min)	-162.08 (277.20)	-31.67 (268.53)	-223.33 (383.41)	-371.88 (437.46)	2.03	.144	NS	NS	NS	NS	NS
Hormones											
Cort_pk (µg/dL)	-0.66 (5.62)	6.06 (7.44)	-3.74 (5.61)	4.75 (6.43)	7.44	.004	.009	NS	NS	.081	NS
Cort_AUC (µg/dL·min)	-269.1 (600.9)	425.0 (691.3)	-750.0 (569.8)	83.7 (562.5)	11.98	.001	.005	NS	NS	.013	.078
GH_pk (ng/mL)	1.60 (1.66)	4.71 (3.80)	1.83 (2.77)	3.67 (3.23)	3.55	.032	NS	NS	NS	NS	NS
GH_AUC (ng/mL·min)	162.2 (213.2)	304.9 (278.4)	135.4 (184.7)	206.9 (225.3)	1.51	.233	NS	NS	NS	NS	NS
Prol_pk (ng/mL)	0.78 (4.45)	20.78 (14.81)	1.48 (5.69)	28.18 (18.10)	20.79	<.001	.007	NS	NS	.012	NS
Prol_AUC (ng/mL·min)	-26.2 (547.5)	1231.1 (903.8)	182.8 (776.4)	1698.9 (1216.4)	18.48	<.001	.002	NS	NS	.034	NS

Abbreviations: AUC, area under the curve; Cort, cortisol; DBP, diastolic blood pressure; GH, growth hormone; HR, heart rate; KET, ketanserin; KETSA, ketanserin + salvinorin-A; pk, peak value; PL, placebo + placebo; Prol, prolactin; SA, placebo + salvinorin-A; SBP, systolic blood pressure.
Effects induced by placebo (placebo + placebo), salvinorin-A (placebo + salvinorin-A), ketanserin (ketanserin + placebo), and ketanserin + salvinorin-A on cardiovascular and neuroendocrine measures. Means (SD) of values obtained (n=12), and results of the statistical analyses performed. The comparison, ketanserin vs ketanserin + salvinorin-A has been omitted.

salvinorin-A on blood pressure and HR (Johnson et al., 2011; Addy, 2012; MacLean et al., 2013), increases in cortisol and prolactin had been reported (Johnson et al., 2016; Ranganathan et al., 2012). The absence of significant results on cardiovascular measures in the previous studies may be due to the small size of 2 of the studies (Johnson et al., 2011; MacLean et al., 2013), the length of time between measurements (Addy, 2012), and differences in the vaporization method used that may have led to lower absorption and drug levels in plasma (Ranganathan et al., 2012).

The increased blood pressure and cortisol release observed could be a direct effect of salvinorin-A at the KOR sites. Synthetic KOR agonists increase cortisol in humans (Ur et al., 1997) and adrenocorticotropic and cortisol levels in monkeys (Pascoe et al., 2008). However, despite this evidence of a direct effect, a non-specific stress reaction cannot be entirely ruled out, as these increases have also been reported for a broad range of psychoactive drugs with diverse mechanisms of action. They have been described, for instance, for the psychostimulant d-amphetamine, which increases noradrenergic and dopaminergic neurotransmission, and for 5-HT_{2A} agonist psychedelics such as ayahuasca (Dos Santos et al., 2011) and psilocybin (Hasler et al., 2004). Agonism at the KOR is able on its own to stimulate the hypothalamus (Hooker et al., 2009), potentially facilitating a direct drug effect on cortisol levels. Whereas KOR antagonists attenuate the physiological reactions to stress in rats (Fassini et al., 2015), agonists have been shown to induce large increases in vasopressin release in some but not all human subjects (Pfeiffer et al., 1986). This inter-subject variability in vasopressin response could provide another potential explanation for the disparity of results observed between laboratories regarding salvinorin-A effects on blood pressure.

Salvinorin-A administered alone increased prolactin plasma concentration, as previously reported for this drug (Johnson et al., 2016) and other KOR agonists such as spiradoline (Ur et al., 1997). Prolactin release is physiologically under inhibitory control by dopaminergic neurotransmission, with amphetamine and other pro-dopaminergic drugs effectively blocking its release (Samuels et al., 2007; Dos Santos et al., 2011). The increase in prolactin concentrations induced by salvinorin-A could be secondary to the inhibition of dopamine release in the tuberoinfundibular pathway. KORs are localized on dopaminergic neurons where they exert a tonic inhibitory effects (Chefer et al., 2005). Several studies have shown that kappa agonists decrease dopamine release in the NAcc (Spanagel et al., 1992; Maisonneuve et al., 1994), the ventral tegmental area (Margolis et al., 2003), and the prefrontal cortex (Heijna et al., 1990; Margolis et al., 2006). Additionally, repeated administration of kappa agonists leads to reductions in the levels of dopamine-2 receptors in the ventral striatum (Izenwasser et al., 1998). Animal research has shown that naltrexone administered alone reduces basal prolactin levels (Enjalbert et al., 1979), and here it effectively reduced prolactin release. By contrast, ketanserin pretreatment had no effect on this measure.

Mean GH plasma levels increased after salvinorin-A, but these were not statistically significant. In humans, GH may be regulated by KOR, as levels increase following the administration of the synthetic KOR agonist spiradoline (Ur et al., 1997). Possibly the effect is not robust enough following salvinorin-A administration to be detected with the sample size used in the present study.

The global pattern of effects emerging from the present study is in accordance with animal studies that support the involvement of the KOR in salvinorin-A effects. Salvinorin-A induces hypolocomotion and antinociception effects that can be blocked

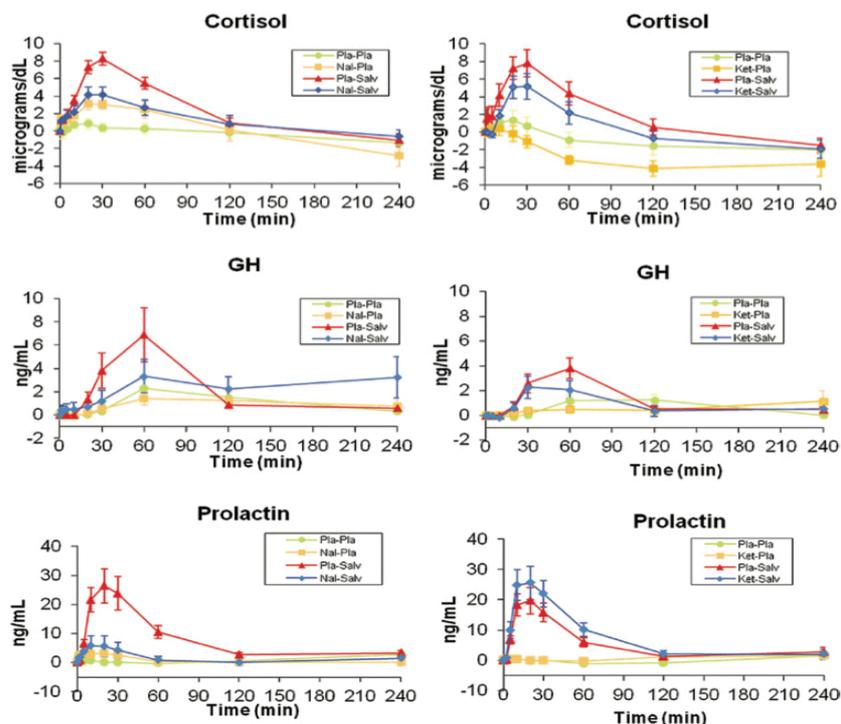


Figure 6. Time course of neuroendocrine measures. Panels on the left show mean data for cortisol, growth hormone (GH), and prolactin for group 1 (naltrexone, n = 11). Panels on the right show mean data for cortisol, GH, and prolactin for group 2 (ketanserin, n = 11). The plots show data following placebo + placebo (circle), antagonist (naltrexone or ketanserin) + placebo (square), placebo + salvinorin (triangle), and antagonist + salvinorin (diamond). Error bars denote ± 1 SEM.

Table 3. Pharmacokinetic Parameters for Salvinorin-A for Each Group (1 and 2) and Experimental Session in which It Was Administered (Placebo + Salvinorin-A and Antagonist + Salvinorin-A)

Group 1 (n = 11)				
Parameter	Placebo + Salvinorin-A	Naltrexone + Salvinorin-A	t(10)	P
T _{max} (min)	1.36 (0.50)	1.36 (0.50)	0.00	NS
C _{max} (ng/mL)	31.28 (13.38)	40.34 (36.95)	-1.06	NS
AUC _{0-240 min} (ng/mL·min)	463.61 (132.77)	436.76 (106.58)	0.71	NS
AUC _{0-∞} (ng/mL·min)	487.36 (142.24)	457.06 (113.82)	0.76	NS
t _{1/2α} (min)	50.44 (14.79)	56.96 (7.77)	-2.12	NS
Cl/F (L/min)	2.33 (1.17)	2.32 (0.62)	0.03	NS
V _d /F (L)	166.32 (77.47)	188.80 (46.00)	-1.06	NS
Group 2 (n = 12)				
Parameter	Placebo + Salvinorin-A	Ketanserin + Salvinorin-A	t(11)	P
T _{max} (min)	1.50 (0.52)	1.42 (0.51)	0.432	NS
C _{max} (ng/mL)	31.25 (15.4)	50.04 (37.64)	-1.89	NS
AUC _{0-240 min} (ng/mL·min)	358.29 (162.69)	423.82 (215.71)	-0.90	NS
AUC _{0-∞} (ng/mL·min)	371.14 (168.91)	440.40 (219.39)	0.93	NS
t _{1/2α} (min)	49.21 (15.58)	56.24 (16.80)	-1.28	NS
Cl/F (L/min)	3.32 (1.60)	2.83 (1.51)	0.95	NS
V _d /F (L)	237.08 (133.90)	223.00 (100.75)	0.41	NS

Abbreviations: T_{max}: time taken to reach the maximum concentration; C_{max}: maximum concentration; AUC₀₋₂₄₀: area under the concentration-time curve from 0 to 240 min; AUC_{0-∞}: area under the concentration-time curve from 0 to infinity; t_{1/2α}: terminal half-life; Cl/F: clearance; V_d/F: apparent volume of distribution. Values indicate mean (SD). In group 1, values were calculated for 11 volunteers only. Pairwise comparisons were conducted using within-subjects Student's t tests.

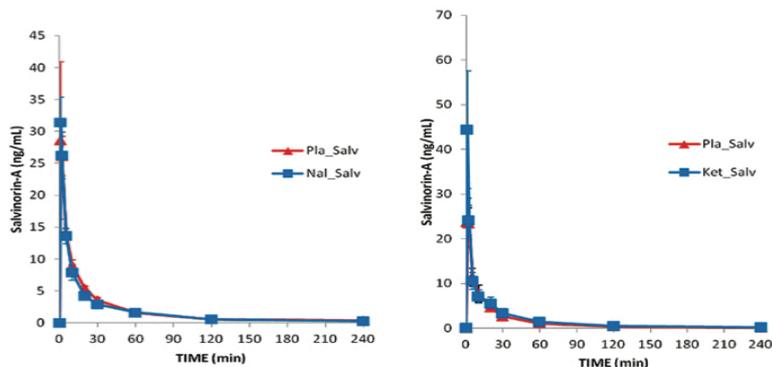


Figure 7. Time course of salvinorin-A concentrations. The left panel shows mean data for group 1 (salvinorin-A and salvinorin-A + naltrexone, n = 11). The right panel shows mean data for group 2 (salvinorin-A and salvinorin-A + ketanserin, n = 12).

by a selective KOR antagonist, but not by rimonabant (Walentiny et al., 2010). In rhesus monkeys, salvinorin-A stimulates prolactin release (Butelman et al., 2007), facial relaxation and ptosis (Butelman et al., 2009), as well as discriminative stimulus effects (Butelman et al., 2010). All these effects can be prevented by the KOR partial agonist nalmefene (Butelman et al., 2007, 2009) and the antagonist quadazocine (Butelman et al., 2010). However, they cannot be blocked by ketanserin (Butelman et al., 2007, 2009, 2010) or rimonabant (Butelman et al., 2009).

To sum up, naltrexone but not ketanserin effectively blocked the subjective, cardiovascular, and neuroendocrine effects of salvinorin-A in humans. The 2 pharmacological interaction studies conducted demonstrate the involvement of opioidergic, rather than serotonergic neurotransmission in the effects of salvinorin-A in humans. These results are consistent with agonist actions of salvinorin-A at the KOR.

Acknowledgements

The authors thank Laboratorio Echevarne for the neuroendocrine determinations and the study volunteers for their participation.

This work was supported by grant PI12/02758 from the Instituto de Salud Carlos III of the Spanish Government, which is cofunded by FEDER. Marta Valle is supported by the Fondo de Investigación Sanitaria through grant CP04/00121 from the Spanish Ministry of Health in collaboration with Institut de Recerca de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona. Support for Dr. Griffiths was provided by NIDA Grant R01DA003889.

Statement of Interest

Dr Griffiths is member of the Board of Directors of the Heffter Research Institute, which also supports some of his research. Dr Griffiths and the rest of the authors declare no biomedical financial interests or potential conflicts of interest.

References

Addy PH (2012) Acute and post-acute behavioral and psychological effects of salvinorin A in humans. *Psychopharmacology (Berl)* 220:195–204.

Addy PH, Garcia-Romeu A, Metzger M, Wade J (2015) The subjective experience of acute, experimentally-induced Salvia divinorum inebriation. *J Psychopharmacol (Oxf)* 29:426–435.

Butelman ER, Mandau M, Tidgewell K, Prisinzano TE, Yuferov V, Kreek MJ (2007) Effects of salvinorin A, a kappa-opioid hallucinogen, on a neuroendocrine biomarker assay in nonhuman primates with high kappa-receptor homology to humans. *J Pharmacol Exp Ther* 320:300–306.

Butelman ER, Prisinzano TE, Deng H, Rus S, Kreek MJ (2009) Unconditioned behavioral effects of the powerful kappa-opioid hallucinogen salvinorin A in nonhuman primates: fast onset and entry into cerebrospinal fluid. *J Pharmacol Exp Ther* 328:588–597.

Butelman ER, Rus S, Prisinzano TE, Kreek MJ (2010) The discriminative effects of the kappa-opioid hallucinogen salvinorin A in nonhuman primates: dissociation from classic hallucinogen effects. *Psychopharmacology (Berl)* 210:253–262.

Chefer VI, Czyzyk T, Bolan EA, Moron J, Pintar JE, Shippenberg TS (2005) Endogenous kappa-opioid receptor systems regulate mesoaccumbal dopamine dynamics and vulnerability to cocaine. *J Neurosci* 25:5029–5037.

Dittrich A (1998) The standardized psychometric assessment of altered states of consciousness (ASCs) in humans. *Pharmacopsychiatry* 31 Suppl 2:80–84.

Dos Santos RG, Valle M, Bouso JC, Nomdedéu JF, Rodríguez-Espinosa J, McIlhenny EH, Barker SA, Barbanoj MJ, Riba J (2011) Autonomic, neuroendocrine, and immunological effects of ayahuasca: a comparative study with d-amphetamine. *J Clin Psychopharmacol* 31:717–726.

Fassini A, Scopinho AA, Resstel LBM, Corrêa FMA (2015) κ -opioid receptors in the infralimbic cortex modulate the cardiovascular responses to acute stress. *Exp Physiol* 100:377–387.

González D, Riba J, Bouso JC, Gómez-Jarabo G, Barbanoj MJ (2006) Pattern of use and subjective effects of Salvia divinorum among recreational users. *Drug Alcohol Depend* 85:157–162.

Hasler F, Grimberg U, Benz MA, Huber T, Vollenweider FX (2004) Acute psychological and physiological effects of psilocybin in healthy humans: a double-blind, placebo-controlled dose-effect study. *Psychopharmacology (Berl)* 172:145–156.

Heijna MH, Padt M, Hogenboom F, Portoghese PS, Mulder AH, Schoffelmeyer AN (1990) Opioid receptor-mediated inhibi-

- tion of dopamine and acetylcholine release from slices of rat nucleus accumbens, olfactory tubercle and frontal cortex. *Eur J Pharmacol* 181:267–278.
- Hooker JM, Xu Y, Schiffer W, Shea C, Carter P, Fowler JS (2008) Pharmacokinetics of the potent hallucinogen, salvinorin A in primates parallels the rapid onset and short duration of effects in humans. *NeuroImage* 41:1044–1050.
- Hooker JM, Patel V, Kothari S, Schiffer WK (2009) Metabolic changes in the rodent brain after acute administration of salvinorin A. *Mol Imaging Biol MIB Off Publ Acad Mol Imaging* 11:137–143.
- Izenwasser S, Acri JB, Kunko PM, Shippenberg T (1998) Repeated treatment with the selective kappa opioid agonist U-69593 produces a marked depletion of dopamine D2 receptors. *Synapse* 30:275–283.
- Johnson MW, MacLean KA, Reissig CJ, Prisinzano TE, Griffiths RR (2011) Human psychopharmacology and dose-effects of salvinorin A, a kappa opioid agonist hallucinogen present in the plant *Salvia divinorum*. *Drug Alcohol Depend* 115:150–155.
- Johnson MW, MacLean KA, Caspers MJ, Prisinzano TE, Griffiths RR (2016) Time course of pharmacokinetic and hormonal effects of inhaled high-dose salvinorin A in humans. *J Psychopharmacol (Oxf)*. In press.
- Le Merrer J, Becker JAJ, Befort K, Kieffer BL (2009) Reward processing by the opioid system in the brain. *Physiol Rev* 89:1379–1412.
- MacLean KA, Johnson MW, Reissig CJ, Prisinzano TE, Griffiths RR (2013) Dose-related effects of salvinorin A in humans: dissociative, hallucinogenic, and memory effects. *Psychopharmacology (Berl)* 226:381–392.
- Maisonneuve IM, Archer S, Glick SD (1994) U50,488, a kappa opioid receptor agonist, attenuates cocaine-induced increases in extracellular dopamine in the nucleus accumbens of rats. *Neurosci Lett* 181:57–60.
- Maqueda AE, Valle M, Addy PH, Antonijoan RM, Puentes M, Coimbra J, Ballester MR, Garrido M, González M, Claramunt J, Barker S, Johnson MW, Griffiths RR, Riba J (2015) Salvinorin-A induces intense dissociative effects, blocking external sensory perception and modulating interoception and sense of body ownership in humans. *Int J Neuropsychopharmacol* 18 pii: pyv065.
- Margolis EB, Hjelmstad GO, Bonci A, Fields HL (2003) Kappa-opioid agonists directly inhibit midbrain dopaminergic neurons. *J Neurosci* 23:9981–9986.
- Margolis EB, Lock H, Chefer VI, Shippenberg TS, Hjelmstad GO, Fields HL (2006) Kappa opioids selectively control dopaminergic neurons projecting to the prefrontal cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:2938–2942.
- Ortega A, Blount JF, Manchand PS (1982) Salvinorin, a new trans-neoclerodane diterpene from *Salvia divinorum* (Labiatae). *J Chem Soc [Perkin 1]*:2505–2508.
- Ott J (1995) Ethnopharmacognosy and human pharmacology of *Salvia divinorum* and salvinorin A. *Curare* 18:103–129.
- Pascoe JE, Williams KL, Mukhopadhyay P, Rice KC, Woods JH, Ko M-C (2008) Effects of mu, kappa, and delta opioid receptor agonists on the function of hypothalamic-pituitary-adrenal axis in monkeys. *Psychoneuroendocrinology* 33:478–486.
- Pfeiffer A, Knepel W, Braun S, Meyer HD, Lohmann H, Brantl V (1986) Effects of a kappa-opioid agonist on adrenocorticotrophic and diuretic function in man. *Horm Metab Res* 18:842–848.
- Preston KL, Bigelow GE (1993) Differential naltrexone antagonism of hydromorphone and pentazocine effects in human volunteers. *J Pharmacol Exp Ther* 264:813–823.
- Prisinzano TE (2005) Psychopharmacology of the hallucinogenic sage *Salvia divinorum*. *Life Sci* 78:527–531.
- Ranganathan M, Schnakenberg A, Skosnik PD, Cohen BM, Pittman B, Sewell RA, D'Souza DC (2012) Dose-related behavioral, subjective, endocrine, and psychophysiological effects of the kappa opioid agonist Salvinorin A in humans. *Biol Psychiatry* 72:871–879.
- Roth BL, Baner K, Westkaemper R, Siebert D, Rice KC, Steinberg S, Ernsberger P, Rothman RB (2002) Salvinorin A: a potent naturally occurring nonnitrogenous kappa opioid selective agonist. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99:11934–11939.
- Samuels ER, Hou RH, Langley RW, Szabadi E, Bradshaw CM (2007) Comparison of pramipexole with and without domperidone co-administration on alertness, autonomic, and endocrine functions in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol* 64:591–602.
- Simonin F, Gaveriaux-Ruff C, Befort K, Matthes H, Lannes B, Micheletti G, Mattei MG, Charron G, Bloch B, Kieffer B (1995) kappa-Opioid receptor in humans: cDNA and genomic cloning, chromosomal assignment, functional expression, pharmacology, and expression pattern in the central nervous system. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92:7006–7010.
- Spanagel R, Herz A, Shippenberg TS (1992) Opposing tonically active endogenous opioid systems modulate the mesolimbic dopaminergic pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89:2046–2050.
- Spielberger, CD, Gorsuch, RL, Lushene, RE (1970) Manual for the State-Trait Anxiety Inventory. Palo Alto (CA): Consulting Psychologists.
- Strassman RJ, Qualls CR, Uhlenhuth EH, Kellner R (1994) Dose-response study of N,N-dimethyltryptamine in humans. II. Subjective effects and preliminary results of a new rating scale. *Arch Gen Psychiatry* 51:98–108.
- Ur E, Wright DM, Bouloux PM, Grossman A (1997) The effects of spiradoline (U-62066E), a kappa-opioid receptor agonist, on neuroendocrine function in man. *Br J Pharmacol* 120:781–784.
- Valdes LJ, Butler WM, Hatfield GM, Paul AG, Koreeda M (1984) Divinorin A, a psychotropic terpenoid, and divinorin B from the hallucinogenic Mexican mint, *Salvia divinorum*. *J Org Chem* 49:4716–4720.
- Valdés LJ, Díaz JL, Paul AG (1983) Ethnopharmacology of *Salvia divinorum* (Salvia divinorum, Epling and Jativa-M.). *J Ethnopharmacol* 7:287–312.
- Vollenweider FX, Vollenweider-Scherpenhuyzen MF, Bähler A, Vogel H, Hell D (1998) Psilocybin induces schizophrenia-like psychosis in humans via a serotonin-2 agonist action. *Neuroreport* 9:3897–3902.
- Walentiny DM, Vann RE, Warner JA, King LS, Seltzman HH, Navarro HA, Twine CE, Thomas BF, Gilliam AF, Gilmour BP, Carroll FI, Wiley JL (2010) Kappa opioid mediation of cannabinoid effects of the potent hallucinogen, salvinorin A, in rodents. *Psychopharmacology (Berl)* 210:275–284.
- Walsh SL, Chausmer AE, Strain EC, Bigelow GE (2008) Evaluation of the mu and kappa opioid actions of butorphanol in humans through differential naltrexone blockade. *Psychopharmacology (Berl)* 196:143–155.
- Walsh SL, Strain EC, Abreu ME, Bigelow GE (2001) Enadoline, a selective kappa opioid agonist: comparison with butorphanol and hydromorphone in humans. *Psychopharmacology (Berl)* 157:151–162.
- Wentland MP, Lou R, Lu Q, Bu Y, Denhardt C, Jin J, Ganorkar R, VanAlstine MA, Guo C, Cohen DJ, Bidlack JM (2009) Syntheses of novel high affinity ligands for opioid receptors. *Bioorg Med Chem Lett* 19:2289–2294.

Resumen de los resultados

Primer estudio de búsqueda de dosis, y resultados sobre efectos subjetivos y sobre la interocepción:

- La SA fue claramente psicoactiva por debajo del milígramo, por lo que estaría en un rango de potencia similar al de la LSD.
- A las dosis administradas (0.25, 0.50 y 1 mg), la SA mostró un patrón de efectos subjetivos de rápida instauración y corta duración.
- Se observaron cambios dosis-dependientes a nivel perceptivo, afectivo, cognitivo y somático. La administración de SA produjo elevaciones significativas respecto a placebo en todas las subescalas de los cuestionarios HRS y APZ, en concordancia con los alucinógenos clásicos. También se observaron efectos significativos en el cuestionario ARCI en la subescala BG tras la dosis media y alta, y en la subescala LSD tras todas las dosis. En el cuestionario STAI de ansiedad se encontraron diferencias entre la dosis baja, media y el placebo. También se observaron efectos significativos asociados al tratamiento en las puntuaciones de las VAS. En concreto en los ítems Algún Efecto, Buenos Efectos, Inicio Rápido y Cambios en la realidad externa a todas las dosis. Para las escalas Malos efectos y Miedo el efecto solamente fue significativo para la dosis alta, y en las escalas Tiempo, Pérdida de Contacto con la realidad, Dimensionalidad y Visiones tras las dosis medias y altas. Para el VAS tras pregunta, hubo un claro efecto dosis-respuesta y se alcanzó la puntuación máxima de 100 a los 2 minutos tras la dosis alta. Los efectos fueron disminuyendo hasta desvanecerse a los 20 minutos.
- En los informes escritos se encontraron alusiones repetidas a estados y experiencias que coinciden con el perfil alucinógeno y disociativo de la SA. Los efectos más mencionados fueron: inicio rápido de los efectos, efectos somático-disfóricos (por ejemplo, aumentos en la temperatura corporal u hormigueos), cambios en la percepción del tiempo, desrealización, despersonalización, buenos efectos, somatoestesia, efectos sobre la percepción como alucinaciones auditivas, disminuciones en la capacidad para interactuar con el entorno en dosis altas, y comentarios sobre la intensidad de la experiencia y sobre su brevedad. También transformaciones en objetos, lateralización de los efectos,

RESULTADOS

sensaciones de ser empujado, dividido o de presión, sensación de presencias o seres, risas, experiencias de fuera del cuerpo en dosis altas, y cambios en la dimensionalidad.

- También se observó un tipo particular de sinestesia visual-propioceptiva, consistente en la percepción de transformarse en o fundirse con el objeto que se está observando.
- Efectos sobre la interocepción: En el test MAIA, se encontró un efecto significativo de la dosis para Body Listening y Trusting. La dosis alta produjo una disminución importante de Body Listening comparado con placebo, y la dosis baja y la media produjeron un aumento significativo en Trusting comparado con placebo. Así, se produjo un patrón bifásico de efectos en la consciencia corporal, que se vio aumentada en dosis bajas y medias, y disminuida en dosis altas.
- Los efectos psicológicos de la SA fueron análogos a los de los de la LSD o la psilocibina, psicodélicos clásicos que actúan como agonistas de los receptores 5-HT_{2A}. Sin embargo, la SA muestra características propias como son la corta duración de los efectos, y una elevada disociación y pérdida de contacto con la realidad en dosis altas. Estos últimos efectos respaldarían la implicación de los receptores kappa opioides en sus efectos en humanos.

Segundo estudio de bloqueo de los efectos farmacológicos:

- En el grupo 1 (naltrexona), la administración de la SA produjo elevaciones en todas las subescalas de los cuestionarios HRS y APZ. Para el VAS, se encontraron efectos significativos de la SA en todos los ítems salvo en Malos efectos. La co-administración de naltrexona junto a la SA bloqueó eficazmente estos efectos, no encontrándose diferencias con placebo. Las comparaciones post-hoc empleando la corrección de Bonferroni mostraron reducciones no significativas en el VAS para Buenos efectos, Malos efectos, y Miedo, que fueron las escalas con menor significación cuando se inhaló la SA sola. Para el cuestionario de ansiedad estado (STAI), las puntuaciones medias fueron más altas después de la SA. Sin embargo, las comparaciones post-hoc usando la corrección de Bonferroni no encontraron diferencias con placebo para ningún tratamiento, ni tampoco para la comparación entre la SA sola y la combinación SA más naltrexona.
- En el grupo 2 (ketanserina), la inhalación de SA también elevó las puntuaciones de todas las subescalas del HRS, y de todos los ítems del VAS. En el caso del APZ, las subescalas OSE y VUS tuvieron significación estadística, mostrando solo una tendencia para AIA. La combinación de ketanserina y SA no modificó estos efectos, las puntuaciones fueron significativamente diferentes de placebo en todos los casos, excepto para Malos efectos y Miedo (VAS), que mostraron solo una tendencia. Las comparaciones post-hoc empleando la corrección de Bonferroni no mostraron variaciones significativas en ninguna subescala. Para el cuestionario de ansiedad estado (STAI), los aumentos producidos por la SA en la escala fueron marginalmente significativos. La co-administración de ketanserina no modificó los efectos ansiógenos de la SA. Por el contrario, las puntuaciones de la combinación mostraron menos variabilidad inter sujetos y fueron significativamente mayores que placebo.
- Cuando se administró sola, la dosis de 1mg de SA empleada en el estudio redujo la percepción sensorial externa, e indujo modificaciones visuales y auditivas intensas en ambos grupos.

RESULTADOS

- La SA aumentó la presión arterial sistólica, diastólica, y la frecuencia cardíaca en ambos grupos. Este aumento fue muy pronunciado y de corta duración, alcanzando su punto máximo después del primer punto de medición (minuto 1) y disminuyendo a partir de entonces. Los aumentos en la presión arterial sistólica tuvieron significación estadística en ambos grupos, mientras que los aumentos en la diastólica fueron solamente significativos en el grupo 2. La brevedad de estos aumentos se ve resaltada por el hecho de que los valores de la AUC entre 0 y 2 horas no fueron significativamente diferentes de placebo en ninguno de los grupos, ni tampoco lo fueron los cambios en el pico de la frecuencia cardíaca y de la AUC después de la inhalación de la SA sola.
- En el grupo 1, la naltrexona bloqueó los aumentos en la presión arterial sistólica y diastólica, reduciendo significativamente ambos valores cuando fue combinada con la SA, en comparación a cuando la SA fue administrada sola.
- En el grupo 2, los valores medios cardiovasculares después de la kentaserina+SA fueron más bajos que los obtenidos después de la SA sola. Sin embargo, y en contraste con los hallazgos en el grupo 1, estas reducciones no fueron estadísticamente significativas.
- Las áreas bajo la curva de las concentraciones plasmáticas en función del tiempo para el cortisol, la hormona de crecimiento y para la prolactina, no pudieron ser obtenidas por el mal funcionamiento del catéter intravenoso de un voluntario del grupo 1 durante la sesión experimental con SA inhalada, por lo que los resultados que dependen de muestras de sangre son para 11 voluntarios del grupo 1.
- En ambos grupos, los niveles de hormonas aumentaron por encima de los niveles basales tras la inhalación de la SA, pero la significación estadística sólo se obtuvo para el cortisol y la prolactina.

- En el grupo 1, la naltrexona redujo los niveles de cortisol y prolactina cuando fue administrada junto a la SA, en comparación a cuando la SA fue inhalada sola. Sin embargo, la significación estadística sólo se obtuvo para la prolactina.
- En el grupo 2, los niveles de cortisol fueron más bajos para la combinación ketanserina+SA que para la SA sola. Esta reducción no fue significativa para valores máximos y mostró solo una tendencia para el AUC. En el caso de la prolactina, la ketanserina no inhibió su liberación. De hecho, los valores medios fueron más elevados para la combinación ketanserina+SA que para la SA sola, aunque estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.
- Los niveles de SA más elevados se encontraron en la primera y la segunda medición (minutos 1 y 2) después de la inhalación. Los valores disminuyeron después rápidamente, cayendo por debajo de 1ng/mL a las 2 horas después de la dosificación. La comparación estadística de los parámetros farmacocinéticos de cada grupo no mostró diferencias significativas entre las sesiones de placebo+SA y del antagonista+SA.

DISCUSIÓN

El presente trabajo recoge los resultados de los dos estudios clínicos realizados por nuestro grupo de investigación para evaluar el perfil de la salvinorina A en humanos. En el primer estudio hemos analizado en detalle las características psicoactivas únicas y distintivas de este compuesto. En cuanto a sus efectos subjetivos, hemos hecho especial hincapié en la capacidad de la salvinorina A para modificar la interocepción, un aspecto poco estudiado hasta el momento, y que revela claves importantes sobre los cambios en la percepción mediados por la activación de los receptores kappa opioides. En el segundo estudio hemos analizado sus efectos endocrinos y autonómicos, así como su farmacocinética.

Primer estudio

Para el primer estudio se decidió emplear el mismo método de administración que había resultado eficaz en la literatura previa con SA (Johnson et al., 2011, 2016; MacLean et al., 2013). Este método consiste en la vaporización e inhalación del principio activo. En todas las dosis, los efectos máximos se alcanzaron a los 2 minutos después de la inhalación, seguido de un decremento progresivo, hasta casi desaparecer después de 20 minutos. Este patrón es análogo al de investigaciones anteriores (Johnson et al., 2011, 2016; MacLean et al., 2013; Ranganathan et al., 2012). El único alucinógeno que tiene un patrón de efectos similar en cuanto a su rápido inicio y su corta duración es la DMT (Strassman et al., 1994). En nuestro estudio, los efectos de la SA fueron dependientes de la dosis, conllevando las dosis medias y altas los efectos perceptivos, afectivos y somáticos más pronunciados y duraderos.

Los efectos subjetivos de la SA pudieron ser evaluados por los cuestionarios utilizados. Nuestros resultados en el cuestionario HRS son similares a estudios que utilizaron alucinógenos serotoninérgicos como la psilocibina (Griffiths et al., 2006), la ayahuasca (Valle et al., 2016), o la 4-bromo-2,5-dimetoxifeniletamina (2C-B), un compuesto similar en estructura a la mescalina (Papaseit et al., 2018). La SA indujo una mezcla de efectos mixtos de alteraciones en la percepción típicos de los agonistas 5-HT_{2A}, confirmando su perfil psicodélico. No obstante, existen algunas diferencias con estos compuestos, como por ejemplo las alucinaciones auditivas con significado. Éstas incluyeron escuchar música y ser contactados verbalmente por presencias o seres. Las alucinaciones auditivas también se han registrado con la DMT, pero no fueron elaboradas, sino sonidos agudos o crujidos (Strassman et al., 1994). Para la escala de Intensidad del HRS, la SA mostró una elevada intensidad de efectos en dosis medias y altas, similar a la DMT (Strassman et al., 1994).

DISCUSIÓN

El cuestionario que empleamos para medir la ansiedad, el STAI, mostró puntuaciones altas para las dosis baja y media, pero no para la dosis alta. Esto podría deberse al orden ascendente en el que se administraron las dosis. Nuestros resultados son similares a investigaciones anteriores (Johnson et al., 2011; MacLean et al., 2013), que encontraron una falta de afecto negativo y baja ansiedad. Los voluntarios de nuestro estudio informaron de un estado de ánimo mejorado que duró varios días, incluyendo relajación y calma, como en estudios previos (Maclean et al., 2013). Los participantes describieron estados de afecto positivos como “la experiencia ha sido muy positiva” y “he disfrutado mucho la experiencia”. No hay referencias directas en los informes escritos a momentos de ansiedad o miedo durante la experiencia.

El marcado perfil de efectos disociativos y de desconexión con la realidad en dosis altas, reflejado en la subescala de disforia relacionada con el cuerpo del cuestionario ARCI (LSD), mostró puntuaciones más bajas en comparación con estudios previos (González et al., 2006; MacLean et al., 2013). La dosis alta de SA aumentó la despersonalización y la desrealización (subescala OSE del APZ), y disminuyó el control del cuerpo y del pensamiento (subescala AIA del APZ). La escala LSD del ARCI también resultó aumentada en un estudio con 2C-B (Papaseit et al., 2018), y con DMT (Strassman et al., 1994).

Los informes escritos o narrativas personales reflejaron temas comunes de la experiencia con SA, como en estudios previos (Siebert, 1994; González et al., 2006; Baggott et al., 2010; Johnson et al., 2011; Addy, 2012; Ranganathan et al. 2012; MacLean et al., 2013; Addy et al., 2015). Por ejemplo, un voluntario describió las modificaciones somáticas que se suelen experimentar como “una presión por mi espalda y otra en mis piernas me hicieron plegarme bidimensionalmente”. Otros efectos característicos de la SA son las visiones inorgánicas y geométricas, como edificios y construcciones, visiones de túnel o ventana, paredes y superficies luminosas, u objetos metálicos o plásticos. También las visiones o recuerdos de la infancia. Tanto la presencia de seres con aspecto peculiar como los efectos disociativos parecen comunes entre la SA y la DMT (Strassman et al., 1994). En nuestro estudio, un voluntario explica que “había seres mágicos en aquel otro mundo, vistiendo ropas como de un bufón de la corte real”. Estos seres o presencias suelen interactuar con los participantes. Los voluntarios del estudio de Strassman suelen hacer referencia a personajes con aspecto élfico. Los efectos disociativos de la experiencia con dosis altas son detallados exactamente igual en nuestro estudio y en el estudio con DMT de Strassman: “Mi cuerpo desapareció; era un ser de pura conciencia” y “dejé de tener un cuerpo”. En las narrativas personales se pueden encontrar otros efectos como risa incontrolable, y sensación de estar en dos lugares a un tiempo.

La risa incontrolable es una característica de la SA que no es común a otros agonistas de los KOR. Se ha propuesto que este efecto pudiera ser mediado por la acción de la SA sobre los receptores de DA D2, o sobre los receptores muscarínicos de acetilcolina 2 (Xu et al., 2016).

Otra característica notable de la SA es la sinestesia. En nuestro estudio se experimentó un tipo particular de sinestesia visual-propioceptiva que se ha registrado previamente fumando *S. divinorum* (Addy et al., 2015). Mientras que la sinestesia visual-auditiva es común con las sustancias serotoninérgicas y no serotoninérgicas, la sinestesia visual-propioceptiva es muy raramente descrita (Luke y Terhune, 2013). Este efecto consiste en que los objetos percibidos con los ojos abiertos o cerrados se asocian con el cuerpo. Por ejemplo, al ver modificaciones externas en la realidad, éstas se aproximaban al cuerpo del voluntario doblándolo o afectándolo: “Los efectos de la sustancia se acercaban a mí, como una corriente de aire, desde la izquierda (...) y distorsionaban los objetos en la habitación y también mi cuerpo y sensaciones”. Un voluntario describió que sintió con el cuerpo el concepto de un cuadrado presente en su mente: “Una fuerza presionaba el lado derecho de mi cuerpo (...), y mi sensación era ser un cuadrado. Visualmente no estaba viendo ninguna imagen, pero ese cuadrado estaba conceptualmente presente en mi mente”. Otra característica peculiar que fue descrita por los voluntarios, recogida en las dos citas recién mencionadas, fue la lateralización de los efectos. Este efecto ha sido descrito en nuestro estudio por primera vez en toda la literatura. Parece ser que la distribución de las redes neuronales que expresan los receptores KOR en los hemisferios cerebrales derecho e izquierdo son asimétricas, lo que pudiera dar cuenta de este efecto (Watanabe et al., 2013).

Efectos sobre la interocepción

La capacidad de modificar profundamente la conciencia corporal es una característica única de la SA en comparación con otros alucinógenos u otros compuestos psicomiméticos. Como ya se ha comentado, este efecto podría ser debido a su actividad sobre la ínsula, un área con elevada densidad de KOR responsable, entre otras funciones, del control motor y de la percepción de nuestros cuerpos. Esta hipótesis podría ser explorada en futuros estudios de neuroimagen con humanos. Por este motivo, en este estudio empleamos un cuestionario específico para evaluar la interocepción, el MAIA. Los resultados muestran que la SA en dosis altas reduce la capacidad de los participantes para mantener y controlar la atención a sus sensaciones corporales debido a los efectos de disociación y pérdida de la conciencia corporal. Por el contrario, las dosis bajas y

DISCUSIÓN

medias aumentaron de manera notable el experimentar el propio cuerpo como seguro y digno de confianza, reflejado en el aumento de las puntuaciones de Confianza (Trust). Estas puntuaciones se han correlacionado inversamente con la experiencia de dolor lumbar crónico, estrés percibido, depresión, y ansiedad rasgo. Y se ha correlacionado directamente con tener una práctica mente-cuerpo y fuertes habilidades para escuchar al cuerpo (Mehling et al., 2012, 2013). Recientemente, se ha estudiado con técnicas de neuroimagen el efecto de la 3,4-metilenedioximetanfetamina (MDMA) en humanos, analizando sus efectos sobre la ínsula (Walpola et al., 2017). Los resultados mostraron una disminución en la conectividad en la ínsula derecha, lo que se ha relacionado con estados de ansiedad y experiencias de sensaciones alteradas del propio cuerpo.

En resumen, de lo recogido en nuestro estudio, y teniendo en cuenta la sensibilidad individual a la sustancia, que pudiera provocar efectos más fuertes o más débiles, con una dosis baja de 0.25 mg de SA pura los efectos subjetivos incluyeron: aumento de la conexión con el cuerpo, relajación, calma, visiones a ojos cerrados, y cambios en sensaciones corporales. Con una dosis media (0.50 mg), hay una mayor conciencia interoceptiva, visuales a ojos cerrados que incluyen escenas de carnaval o de fantasía y visiones caleidoscópicas o fractales, y efectos somáticos-disfóricos. Y con una dosis alta (1 mg), los voluntarios informaron de una profunda inmersión en la experiencia, no siendo capaces de mantenerse presentes en la realidad consensuada, que generalmente se plegaba y se arrugaba al comienzo de la experiencia. Los sujetos describen que sus cuerpos están siendo empujados por fuerzas o por entidades, siendo retorcidos, y doblados al pasar por conductos, antes de ser arrojados a otras dimensiones, donde ya no tienen un cuerpo físico. En esas otras dimensiones, describen la sensación de ser mente pura, conciencia pura o energía. Una vez que la experiencia ha terminado, tan abruptamente como comenzó, algunos voluntarios informan de vagos recuerdos del viaje que no sean escenarios extremadamente extraños, aterradores o difíciles de explicar que parecían repetirse sin fin, y que no obedecían las leyes de la física comunes. Por otro lado, otros sujetos pueden detallar haber visitado universos remotos y maravillosos, habiendo hablado con entidades y logrado nuevos y valiosos conocimientos personales o filosóficos.

Substratos neurales de los efectos de la SA

El agonismo de los KOR en las cortezas temporal y parietal podría ser la causa de las modificaciones visuales y auditivas (corteza temporal), y de la experiencia alterada del cuerpo (corteza parietal) de los efectos de la SA. Las áreas parietales posteriores, en colaboración con

estructuras subcorticales y la corteza premotora, juegan un papel importante en la experiencia multisensorial del cuerpo al codificarlo en un eje de referencia (por ejemplo, manos, brazos o cabeza). En un estudio en el cual el angular derecho fue estimulado eléctricamente, se produjeron experiencias fuera del cuerpo (Blanke et al., 2002). Además, la corteza parietal posterior medial es una estructura clave dentro de la Red Neuronal por Defecto, que ha sido propuesta como asociada al sentido íntimo del yo (Raichle et al., 2001; Raichle, 2011).

Una de las estructuras probables que media la pérdida de contacto con la realidad externa es el tálamo, que muestra altos niveles de KOR en los seres humanos (Simonin et al., 1995). Estudios en roedores han mostrado que los núcleos centromedianos, centrolaterales y paraventriculares del tálamo son particularmente ricos en estos receptores y en cuerpos celulares que los expresan (Le Merrer et al., 2009). Mientras que los dos primeros núcleos desempeñan un papel importante en el control de la excitación y en el nivel general de actividad cortical, el núcleo paraventricular se asocia con funciones viscerolímbicas (Van der Werf et al., 2002). Las lesiones en el núcleo centrolateral conducen a reducciones generalizadas en la activación del sistema reticular, en núcleos talámicos adicionales y en extensas áreas límbicas y corticales (Raos et al., 1995). Un efecto inhibitorio de la SA mediado por los KOR en este nivel podría bloquear la transmisión de la información perceptual y somática a la corteza, y explicar la pérdida de contacto con la realidad externa.

Otra de las posibles explicaciones sobre la pérdida de contacto con la realidad y las experiencias sinestésicas o de mezcla de modalidades sensoriales pudiera ofrecerla el claustró. El claustró es una delgada capa de neuronas que se encuentran entre la ínsula y el cuerpo estriado, y que tiene una concentración de KOR muy elevada. Es una de las áreas más intrigantes del cerebro. Está conectado con la mayoría de áreas corticales, incluyendo la corteza motora, somatosensorial, visual, auditiva, límbica, asociativa y prefrontal. Además, recibe estímulos neuromoduladores de estructuras subcorticales. Su función sería similar a la del tálamo: funcionaría como una estación de relevo de estímulos sensoriales, enviando dicha información sensorial a diferentes áreas en la corteza. Tálamo y claustró comparten proyecciones a áreas en el córtex. Hace una década, Francis Crick y Christof Koch propusieron que el claustró es el asiento de la conciencia, con una importante función en la atención. Según estos autores, el claustró sería un integrador de información multimodal de mayor nivel que el tálamo, para dar lugar a una única experiencia integrada de conciencia. Más recientemente, se ha propuesto que el claustró actúa modulando la saliencia de las representaciones

DISCUSIÓN

de cada una de las modalidades sensoriales. Controlaría qué modalidades son atendidas, primando su novedad más que su contenido, como por ejemplo el movimiento en la periferia del campo visual. Así, podría tener un importante rol en definir cómo el individuo percibe e interactúa con el mundo exterior. La hipótesis de Crick y Koch no ha sido descartada, y aunque se sigue sin conocer con claridad el rol del claustró, pudiera efectivamente ser como un director de orquesta de información de orden superior (Goll, Atlan y Citri, 2015). Stiefel y colaboradores han propuesto que la SA podría interrumpir o desinhibir los procesos de integración cerebral de diferentes modalidades que tienen lugar en el claustró, y conducir a los efectos de desconexión de la realidad y sinestesia inducida por la sustancia (Stiefel et al., 2014). No obstante, tampoco se puede descartar una función parcial del cerebelo en los efectos somáticos de la SA (Hooker et al., 2008).

Segundo estudio

Nuestros resultados del segundo estudio confirmaron la participación de los KOR en la farmacología humana de la SA. La administración de naltrexona bloqueó el estado de conciencia inducido por la SA en los seres humanos. Por el contrario, el pretratamiento con el antagonista 5-HT_{2A} ketanserina no tuvo efecto sobre la naturaleza e intensidad de la experiencia subjetiva.

La dosis de 1 mg de SA y la vía de administración elegida indujeron un patrón de efectos subjetivos de inicio rápido y de corta duración que replicaron la investigación anterior realizada por nuestro grupo y otros laboratorios (Johnson et al., 2011; MacLean et al., 2013; Maqueda et al., 2015). Los efectos inducidos se reflejaron como aumentos significativos en las 3 subescalas del cuestionario APZ, en las 6 subescalas del HRS, y en una batería extensa de ítems del VAS previamente demostrados sensibles a la SA (Maqueda et al., 2015). El compuesto se absorbió rápidamente alcanzando concentraciones máximas en los primeros 2 puntos de tiempo de medición a 1 y 2 minutos después de la dosificación, en línea con datos previos en humanos (Johnson et al., 2016). Este pico fue seguido por una disminución rápida. Suponiendo un paralelismo entre el plasma y el SNC, estos resultados sugieren una rápida eliminación del cerebro, en línea con las observaciones en monos utilizando técnicas de medicina nuclear (Hooker et al., 2008). Este patrón de concentración-tiempo es paralelo al curso temporal de los efectos subjetivos descritos en estudios previos usando la misma vía de administración (Johnson et al., 2011; MacLean et al., 2013; Maqueda et al., 2015).

Tal y como habíamos hipotetizado, el pretratamiento con naltrexona bloqueó la mayoría de los aspectos de la experiencia subjetiva (HRS, APZ, VAS, STAI), mientras que la ketanserina no tuvo efecto sobre ninguna de estas medidas. La naltrexona es un antagonista inespecífico del receptor opioide con la mayor afinidad para los receptores mu y kappa ($\mu:\kappa$ afinidad relativa de 1.7), y la más baja para el receptor delta ($\mu:\delta$ afinidad relativa de 550) (Wentland et al., 2009). Se administró naltrexona a la dosis clínica estándar de 50 mg. Dosis de 25 a 30 mg resultaron ser eficaces en estudios previos para bloquear los efectos relacionados con los KOR de los opiáceos butorfanol y pentazocina (Preston y Bigelow, 1993; Walsh et al., 2008).

DISCUSIÓN

Efectos neuroendocrinos y autonómicos

Como hemos mencionado, además del tálamo y el neocórtex, también se encuentran altos niveles de KOR en las regiones más primitivas del cerebro, como el hipotálamo, el área tegmental ventral y el núcleo accumbens (Simonin et al., 1995), asociadas con la homeostasis, la recompensa y la motivación. De hecho, además de sus efectos perceptivo-cognitivos característicos, la SA también indujo una serie de efectos cardiovasculares y neuroendocrinos cuando se administró sola. A la dosis de 1 mg, la SA aumentó consistentemente la presión arterial sistólica, así como los niveles de cortisol y prolactina en los dos grupos de participantes. Aunque estudios previos no han encontrado efectos de la SA en la presión arterial ni en la tasa cardíaca (Johnson et al., 2011; Addy, 2012; MacLean et al., 2013), sí se encontraron aumentos de cortisol y prolactina (Johnson et al., 2016; Ranganathan et al., 2012). La ausencia de resultados significativos en medidas cardiovasculares en estudios previos pudiera ser debida al reducido tamaño de la muestra en tres de los estudios (Johnson et al., 2011; MacLean et al., 2013; Johnson et al., 2016), el tiempo transcurrido entre las mediciones (Addy, 2012), y a diferencias en el método de vaporización empleado que pudieran implicar una menor absorción y menor nivel de la sustancia en el plasma (Ranganathan et al., 2012). El aumento de la presión arterial observado en nuestro estudio podría ser un efecto directo de la acción de la SA en los KOR. Los agonistas sintéticos de los KOR aumentan el cortisol en los seres humanos (Ur et al., 1997), y los niveles adrenocorticotrópico y de cortisol en monos (Pascoe et al., 2008). En ratas, no se observaron efectos significativos en la frecuencia cardíaca, la temperatura corporal o en la respuesta galvánica de la piel después de la administración crónica de SA, aunque se registró un aumento en la presión del pulso (Mowry et al., 2003). Sin embargo, a pesar de esta evidencia de un efecto directo, una reacción de estrés no específica no puede ser totalmente descartada, ya que estos aumentos también han sido encontrados para una amplia gama de fármacos psicoactivos con diversos mecanismos de acción. Se han descrito, por ejemplo, para el psicoestimulante d-anfetamina, que incrementa la neurotransmisión noradrenérgica y dopaminérgica, y para los psicodélicos agonistas 5-HT_{2A} tales como la ayahuasca (Dos Santos et al., 2011) y la psilocibina (Hasler et al., 2004). El agonismo en los KOR es capaz por sí solo de estimular el hipotálamo (Hooker et al., 2009), facilitando potencialmente un efecto directo del compuesto sobre los niveles de cortisol. Mientras que los antagonistas de los KOR atenúan las reacciones fisiológicas al estrés en ratas (Fassini et al., 2015), se ha demostrado que los

agonistas inducen aumentos importantes en la liberación de vasopresina en algunos, pero no en todos los sujetos humanos (Pfeiffer et al., 1986). Esta variabilidad entre sujetos en la respuesta de la vasopresina podría proporcionar otra explicación potencial de la disparidad de los resultados observados entre los laboratorios con respecto a los efectos de la SA sobre la presión sanguínea.

La SA administrada sola aumentó la concentración plasmática de prolactina, tal como se informó anteriormente para este compuesto (Johnson et al., 2016), y para otros agonistas KOR tales como la espiradolina (Ur et al., 1997). La liberación de prolactina está fisiológicamente bajo control inhibitorio por neurotransmisión dopaminérgica, bloqueando efectivamente su liberación la anfetamina y otros fármacos pro-dopaminérgicos (Samuels et al., 2007; Dos Santos et al., 2011). El aumento de las concentraciones de prolactina inducido por la SA podría ser secundario a la inhibición de la liberación de dopamina en la vía tuberoinfundibular. Además, la administración repetida de agonistas kappa conduce a reducciones en los niveles de receptores de dopamina-2 en el estriado ventral (Izenwasser et al., 1998). La investigación en animales ha demostrado que la naltrexona administrada sola reduce los niveles basales de prolactina (Enjalbert et al., 1979), y aquí efectivamente redujo la liberación de prolactina. Por el contrario, el pretratamiento con ketanserina no tuvo efecto sobre esta medida. Los niveles plasmáticos medios de la hormona de crecimiento (GH) aumentaron después de la administración de la SA, pero éstos no fueron estadísticamente significativos. En humanos, la GH pudiera ser regulada por los KOR, ya que sus niveles aumentan después de la administración del agonista sintético KOR espiradolina (Ur et al., 1997). Es posible que con el tamaño de muestra utilizado en nuestro estudio el efecto no sea lo suficientemente robusto para ser detectado después de la administración de la SA.

El patrón global de efectos que emergen del presente estudio está de acuerdo con estudios en animales que apoyan la implicación de los KOR en los efectos de la SA. La SA induce efectos hipolocomotivos y antinociceptivos que pueden ser bloqueados por un antagonista selectivo de los KOR, pero no por rimonabant (Walentiny et al., 2010). Como hemos visto, en monos *rhesus* la SA estimula la liberación de prolactina (Butelman et al., 2007), la relajación facial y ptosis (Butelman et al., 2009), y efectos de estímulos discriminativos (Butelman et al., 2010). Todos estos efectos pueden prevenirse mediante el agonista parcial de los KOR nalmefeno (Butelman et al., 2007, 2009) y el antagonista quadazocina (Butelman et al., 2010). Sin embargo, no pueden ser bloqueados por ketanserina (Butelman et al., 2007, 2009, 2010) o rimonibant (Butelman et al., 2009).

CONCLUSIONES

- La SA es el principio activo responsable de los efectos subjetivos de la planta *S. divinorum*. La inhalación de SA vaporizada condujo a efectos psicotrópicos muy fuertes de inicio rápido y corta duración.
- La SA produjo modificaciones perceptivas y cognitivas de tipo alucinógeno. Las modificaciones perceptuales incluyeron el dominio visual, y en contraste con los agonistas 5-HT_{2A}, las alucinaciones auditivas fueron muy comunes. También en contraste con los psicodélicos serotoninérgicos clásicos, la despersonalización y la pérdida de contacto con la realidad externa fue prominente, siendo los participantes no reactivos a las señales visuales y verbales externas especialmente después de las dosis media y alta.
- La SA mostró un marcado perfil de efectos somáticos. Mientras que en las dosis bajas y medias hubo un aumento en las sensaciones corporales, en la dosis alta de 1 mg se dio una pérdida casi completa del sentido de poseer un cuerpo y un aumento de las experiencias de fuera del cuerpo. Estos resultados sugieren que el sistema KOR-dinorfinas pudiera desempeñar un papel previamente subestimado en la regulación de la percepción sensorial, la interocepción y el sentido de propiedad del cuerpo en los seres humanos.
- El curso temporal de los efectos farmacodinámicos siguió el de los niveles plasmáticos. Los niveles de SA en plasma más elevados se encontraron en el minuto 1 y 2 después de la inhalación. Los valores disminuyeron después rápidamente, cayendo por debajo de 1ng/mL a las 2 horas después de la dosificación.
- La naltrexona, pero no la ketanserina, bloqueó efectivamente los efectos subjetivos, cardiovasculares y neuroendocrinos de la SA en los seres humanos. Los dos estudios de interacción farmacológica realizados demuestran la participación de la neurotransmisión opioidérgica, en lugar de serotoninérgica, en los efectos de la SA en los seres humanos. Estos resultados son consistentes con acciones agonistas de la SA en los KOR.

REFERENCIAS

- Aardvark, D. (Ed.) (2002). *Salvia divinorum* and salvinorin A. In *The best of Entheogen Review 1992–2000 (2nd ed.)*. Sacramento, CA: Entheogen Review.
- Addy, P. H. (2012). Acute and post-acute behavioral and psychological effects of salvinorin A in humans. *Psychopharmacology (Berl)* 220:195–204.
- Addy, P. H., Garcia-Romeu, A., Metzger, M., Wade, J. (2015). The subjective experience of acute, experimentally-induced *Salvia divinorum* inebriation. *Journal of Psychopharmacol (Oxf)* 29:426– 435.
- Albertson, D. N., & Grubbs, L. E. (2009). Subjective effects of *Salvia divinorum*: LSD-like or marijuana-like? *Journal of Psychoactive Drugs*, 41(3), 213-217.
- Al-Hasani, R., McCall, J. G., Shin, G., Gomez, A. M., Schmitz, G. P., Bernardi, J. M., ... Bruchas, M. R. (2015). Distinct Subpopulations of Nucleus Accumbens Dynorphin Neurons Drive Aversion and Reward. *Neuron*, 87(5), 1063-1077
- Ansonoff, M. A., Zhang, J., Czyzyk, T., Rothman, R. B., Stewart, J, Xu, H. (2006). Antinociceptive and hypothermic effects of salvinorin A are abolished in a novel strain of K-opioid receptor-1 knockout mice. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 318(2), 641-648.
- Aviello, G., Borrelli, F., Guida, F., Romano, B., Lewellyn, K., De Chiaro, M., Capasso, R. (2011). Ultrapotent effects of salvinorin A, a hallucinogenic compound from *Salvia divinorum*, on LPS-stimulated murine macrophages and its anti-inflammatory action in vivo. *Journal of Molecular Medicine (Berlin)*, 89(9), 891–902.
- Baggott, M., Erowid, E., & Erowid, F. (2004). A survey of *Salvia divinorum* users. *Erowid Extracts*, 6, 12-14.
- Baggott, M. J., Erowid, E., Erowid, F., Galloway, G. P., Mendelson, J. (2010). Use patterns and self-reported effects of *Salvia divinorum*: an internet-based survey. *Drug and Alcohol Dependence* 111:250–256.
- Baker, L.E., Panos, J. J., Killinger, B. A., Peet, M. M., Bell, L. M., Haliw, L. A., Walker, S. L., (2009). Comparison of the discriminative stimulus effects of salvinorin A and its derivatives to U69,593 and U50,488 in rats. *Psychopharmacology (Berl.)* 203, 203–211.
- Beerepoot, P., Lam, V., Luu, A., Tsoi, B., Siebert, D., and Szechtman, H. (2008). Effects of salvinorin A on locomotor sensitization to D2/D3 dopamine agonist quinpirole. *Neuroscience Letters*, Volume 446, pp. 101–104.
- Biglete, S. A., Lai, E. P., Lee, D. Y., Nyi, P. P., Torrecer, G. I., Anderson, I. B. (2009). Influence of age on *Salvia divinorum* abuse: results of an Internet survey. *Clinical Toxicology*, Volume 47, p. 712.
- Blanke, O., Ortigue, S., Landis, T., Seeck, M. (2002). Stimulating illusory own-body perceptions. *Nature* 419:269–270.
- Braida, D., Limonta, V., Pegorini, S., Zani, A., Guerini-Rocco, C., Gori, E. (2007). Hallucinatory and rewarding effect of salvinorin A in zebrafish: K-opioid and CB1- cannabinoid receptor involvement. *Psychopharmacology (Berl)*, 190(4), 441-448.

REFERENCIAS

- Braida, D., Limonta, V., Capurro, V. (2008). Involvement of κ -opioid and endocannabinoid system on salvinorin A-induced reward. *Biological Psychiatry*, Volume 63, pp. 286–292.
- Braida, D., Capurro, V., Zani, A. (2009). Potential anxiolytic and antidepressant-like effects of salvinorin A, the main active ingredient of *Salvia divinorum*, in rodents. *British Journal of Pharmacology*, Volume 157, pp. 844–853.
- Braida, D., Donzelli, A., Martucci, R., Capurro, V., Sala, M., (2011). Learning and memory impairment induced by salvinorin A, the principal ingredient of *Salvia divinorum*, in wistar rats. *Int. J. Toxicol.* 30,650–661.
- Bromm, B., Ganzel, R., Herrmann, W., M, Meier, W., Scharein, E. (1986). Pentazocine and Flupirtine Effects on Spontaneous and Evoked EEG Activity. *Neuropsychobiology* 16:152-156
- Bücheler, R., Gleiter, C. H., Schwoerer, P., Gaertner, I. (2005). Use of nonprohibited hallucinogenic plants: increasing relevance for public health? A case report and literature review on the consumption of *Salvia divinorum* (Diviner's Sage). *Pharmacopsychiatry* 38:1–5.
- Butelman, E. R., Harris, T. J., Kreek, M. J. (2004). The plant-derived hallucinogen, salvinorin A, produces kappa- opioid agonist-like discriminative effects in rhesus monkeys. *Psychopharmacology (Berl)*. 172, 220- 224.
- Butelman, E. R., Mandau, M., Tidgewell, K., Prisinzano, T. E., Yuferov, V., Kreek, M. J. (2007). Effects of salvinorin A, a kappa-opioid hallucinogen, on a neuroendocrine biomarker assay in nonhuman primates with high kappa-receptor homology to humans. *J Pharmacol Exp Ther* 320:300–306.
- Butelman, E. R., Prisinzano, T. E., Deng, H., Rus, S., Kreek, M. J. (2009). Unconditioned behavioral effects of the powerful kappa-opioid hallucinogen salvinorin A in nonhuman primates: fast onset and entry into cerebrospinal fluid. *J Pharmacol Exp Ther* 328:588–597.
- Butelman, E. R., Rus, S., Prisinzano, T. E., Kreek, M. J. (2010). The discriminative effects of the kappa-opioid hallucinogen salvinorin A in nonhuman primates: dissociation from classic hallucinogen effects. *Psychopharmacology (Berl)* 210:253–262.
- Butelman, E. R., Caspers, M., Lovell, K. M., Kreek, M. J., & Prisinzano, T. E. (2012). Behavioral Effects and Central Nervous System Levels of the Broadly Available κ -Agonist Hallucinogen Salvinorin A Are Affected by P-Glycoprotein Modulation In Vivo. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 341(3), 802–808.
- Butelman, E. R., & Kreek, M. J. (2015). Salvinorin A, a kappa-opioid receptor agonist hallucinogen: pharmacology and potential template for novel pharmacotherapeutic agents in neuropsychiatric disorders. *Frontiers in Pharmacology*, 6, 190.
- Capasso, R., Borrelli, F., Capasso, F., Siebert, D. J., Stewart, D. J., Zjawiony, J. K., Izzo, A.A., (2006). The hallucinogenic herb *Salvia divinorum* and its active ingredient salvinorin A inhibit enteric cholinergic transmission in the guinea-pig ileum. *Neurogastroenterol. Motility* 18,69-75.

- Capasso, R., Borrelli, F., Cascio, M. G., Aviello, G., Huben, K., Zjawiony, J. K., Marini, P., Romano, B., DiMarzo, V., Capasso, F., Izzo, A. A., (2008a). Inhibitory effect of salvinorin A, from *Salvia divinorum*, on ileitis-induced hypermotility: cross-talk between κ -opioid and cannabinoid CB1 receptors. *Br.J. Pharmacol.*155, 681–689.
- Capasso, R., Borrelli, F., Zjawiony, J., Kutrzeba, L., Aviello, G., Sarnelli, G., Capasso, F., Izzo, A. A., (2008b). The hallucinogenic herb *Salvia divinorum* and its active ingredient salvinorin A reduce inflammation-induced hypermotility in mice. *Neurogastroenterol. Motility* 20,142–148.
- Carhart-Harris, R. L., Roseman, L., Haijen, E., Erritzoe, D., Watts, R., Branchi, I., Kaelen, M. (2018). Psychedelics and the essential importance of context. *J Psychopharmacol.*
- Carhart-Harris, R. L., Muthukumaraswamy, S., Roseman, L., Kaelen, M., Droog, W., Murphy, K., Nutt, D. J. (2016). Neural correlates of the LSD experience revealed by multimodal neuroimaging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(17), 4853–4858.
- Carlezon, W. A., Beguin, C., DiNieri, J. A., Baumann, M. H., Richards, M. R., Todtenkopf, M. S. (2006). Depressive-like effects of the κ -opioid receptor agonist salvinorin A on behavior and neurochemistry in rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 316(1), 440–447
- Carrera Guzmán, Celso. (2011). Acercamiento gramatical a la lengua mazateca de Mazatlán Villa de Flores, Oaxaca. México. *INALI*
- Casselmann, I., & Heinrich, M. (2011). Novel use patterns of *Salvia divinorum*: Unobtrusive observation using YouTube. *Journal of Ethnopharmacology*, 151(2), 662–667.
- Casselmann, I., Nock, C. J., Wohlmuth, H., Weatherby, R. P., & Heinrich, M. (2014). From local to global: Fifty years of research on *Salvia divinorum*. *Journal of Ethnopharmacology*, 151(2), 768–783.
- Chartoff, E. H., Potter, D., Damez-Werno, D., Cohen, B. M., Carlezon, W. A. (2008). Exposure to the Selective κ -Opioid Receptor Agonist Salvinorin A Modulates the Behavioral and Molecular Effects of Cocaine in Rats. *Jr. Neuropsychopharmacology*. 33(11):2676-87.
- Chavkin, C., Sud, S., Jin, W., Stewart, J., Zjawiony, J. K., Siebert, D. J., Toth, B. A., Hufeisen, S. J., Roth, B. L. (2004). Salvinorin A, an active component of the hallucinogenic sage *salvia divinorum* is a highly efficacious kappa-opioid receptor agonist: structural and functional considerations. *J Pharmacol Exp Ther.* 308, 1197-1203.
- Chavkin, C. (2013). Dynorphin--still an extraordinarily potent opioid peptide. *Mol Pharmacol* 83:729–736.
- Chefer, V. I., Czyzyk, T., Bolan, E. A., Moron, J., Pintar, J. E., Shippenberg, T. S. (2005). Endogenous kappa-opioid receptor systems regulate mesoaccumbal dopamine dynamics and vulnerability to cocaine. *J Neurosci* 25:5029–5037.
- Coffeen, U., Canseco, A, Simón-Arceo, K., Almanza, A., Mercado, F., Leon-Olea, M., Pellicer, F. (2017). Salvinorin A reduces neuropathic nociception in the insular cortex of the rat. *European Journal of Pain.* 22. 10.1002/ejp.1120.

REFERENCIAS

- Craig, A. D. B. (2009). How do you feel--now? The anterior insula and human awareness. *Nat Rev Neurosci* 10:59–70.
- Crowley, S. R., Riley, A. P., Groer, C. E., Shivaperumal, N., Biscaia, M., Paton, K. E., Schneider, S., Provasi, S. D., Kivell, B. M., Filizola, M., Prisinzano, T. E. (2016). Kurkinorin, a potent, selective, and centrally acting non-nitrogenous probe for mu-opioid receptors. *J Med Chem*, 59:11027-38.
- Cunningham, C.W., Rothman, R.B. & Prisinzano, T.E., (2011). Neuropharmacology of the naturally occurring kappa-opioid hallucinogen salvinorin A. *Pharmacological reviews*, 63(2), pp.316–47.
- Dittrich, A. (1998). The standardized psychometric assessment of altered states of consciousness (ASCs) in humans. *Pharmacopsychiatry* 31 Suppl 2:80–84.
- Dos Santos, R. G., Valle, M., Bouso, J. C., Nomdedéu, J. F., Rodríguez-Espinosa, J., McIlhenny, E. H., Barker, S. A., Barbanoj, M. J., Riba, J. (2011). Autonomic, neuroendocrine, and immunological effects of ayahuasca: a comparative study with d-amphetamine. *J Clin Psychopharmacol* 31:717–726.
- Dos Santos, R. G., Crippa, J. A., Machado-de-Sousa, J. P., & Hallak, J. E. (2015). Salvinorin A and related compounds as therapeutic drugs for psychostimulant-related disorders. *Current Drug Abuse Reviews*, 7(2), 128–132.
- Dr. Mercury & Dr. Feelodd. (2008) First look at a new psychoactive drug: symmetry (salvinorin B ethoxymethyl ether). *The Entheogen Review*; 16(4): 136-45
- Ebner, S. R., Roitman, M. F., Potter, D. N., Rachlin, A. B., & Chartoff, E. H. (2010). Depressive-like effects of the kappa opioid receptor agonist salvinorin A are associated with decreased phasic dopamine release in the nucleus accumbens. *Psychopharmacology*, 210(2), 241–252.
- Enjalbert, A., Ruberg, M., Arancibia, S., Priam, M., Kordon, C. (1979). Endogenous opiates block dopamine inhibition of prolactin secretion. *Nature*. 280. 595-7.
- Epling, C., & Játiva-M., C. D. (1962). A new species of *Salvia* from Mexico. *Botanical Museum Leaflets, Harvard University*, 20(3), 75–76.
- Ewald, A., Miller, J. H., Prisinzano, T. Kivell, B. (2015). The kappa opioid receptor agonist 16-bromosalvinorin a reduces cocaine seeking in rats. *Drug and Alcohol Dependence*. 156.
- Fantegrossi, W. E., Kugle, K. M., Valdes, L. J., Koreeda, M., Woods, J. H. (2005). Kappa- opioid receptor-mediated effects of the plant-derived hallucinogen, salvinorin A, on inverted screen performance in the mouse. *Behavioural Pharmacology*, 16, 627–633.
- Fassini, A., Scopinho, A. A., Resstel, L. B. M., Corrêa, F. M. A. (2015). κ -opioid receptors in the infralimbic cortex modulate the cardiovascular responses to acute stress. *Exp Physiol* 100:377–387.
- Fichna, J., Dickey, M., Hirota, S. A., Traboulsi, D., Macdonald, J. A., Janecka, A., Beck, P. L., Zjawiony, J. K., Macnaughton, W. K., Storr, M. A., (2011). Differential effects of salvinorin A on endotoxin-induced hypermotility and neurogenic ion transport in mouse ileum. *Neurogastroenterol. Motility* 23, e212–e583.

- Freeman, K.B., Naylor, J.E., Prisinzano, T.E. (2014). Assessment of the kappa opioid agonist, salvinorin A, as a punisher of drug self-administration in monkeys. *Psychopharmacology* 231: 2751.
- Gehrke, B.J., Chefer, V.I., Shippenberg, T.S., (2008). Effects of acute and repeated administration of salvinorin A on dopamine function in the rat dorsal striatum. *Psychopharmacology (Berl.)* 197, 509–517.
- Gómez Pompa, A. (1957). *Salvia divinorum* herbarium sheets. A. Gómez Pompa 87556 and 93216. Mexico, D.F: *National Herbarium* (UNAM).
- González, D., Riba, J., Bouso, J. C., Gómez-Jarabo, G., Barbanoj, M. J. (2006). Pattern of use and subjective effects of *Salvia divinorum* among recreational users. *Drug Alcohol Depend* 85:157–162.
- Gouzoulis-Mayfrank, E., Heekeren, K., Neukirch, A., Stoll, M., Stock, C., Obradovic, M., (2005). Psychological effects of (s)-ketamine and N,N-dimethyltryptamine (DMT): A double-blind, cross-over study in healthy volunteers. *Pharmacopsychiatry*, 38, 201-311.
- Greco, M.A, Fuller, P., Jhou, T., Martin-Schild, S., E Zadina, J. Hu, Z., Shiromani, P., Lu, J. (2008). Opioidergic projections to sleep-active neurons in the ventrolateral preoptic nucleus. *Brain research*. 1245.
- Griffiths, R. R., Richards, W. A., McCann, U., Jesse, R. (2006). Psilocybin can occasion mystical-type experiences having substantial and sustained personal meaning and spiritual significance. *Psychopharmacology (Berl)* 187:268–283; disc 284–292.
- Grilli, M., Neri, E., Zappettini, S., Massa, F., Bisio, A., Romussi, G., Marchi, Pittaluga. (2009). Salvinorin A exerts opposite presynaptic controls on neurotransmitter exocytosis from mouse brain nerve terminals. *Neuropharmacology*. 523-30.
- Gruber, J.W., Siebert, D.J., Der Marderosian, A.H., Hock, R.S. (1999). High performance liquid chromatographic quantification of salvinorin A from tissues of *Salvia divinorum* Epling & Jativa-M. *Phytochem. Anal.* 10, 22–25.
- Guida, F., Luongo, L., Aviello, G., Palazzo, E., De Chiaro, M., Gatta, L., Maione, S. (2012). Salvinorin A reduces mechanical allodynia and spinal neuronal hyperexcitability induced by peripheral formalin injection. *Molecular Pain*, 8, 60.
- Hanes, K. R. (2001). Antidepressant effects of the herb *Salvia divinorum*: a case report. *J Clin Psychopharmacol* 21:634–635.
- Hanes, K. R. (2003). *Salvia divinorum*: Clinical and research potential. *MAPS Bulletin*, 13(1), 18–20.
- Hanna, J. (1999). Growing *Salvia divinorum* from seed. *The Entheogen Review*, 8(3), 110–124.
- Harden, M., Scott, S., Niehoff, J., Mccurdy, C., T Taylor, G. (2012). Antidepressive effects of the opioid receptor agonist salvinorin A in a rat model of anhedonia. *Behavioural pharmacology*. 23. 710-5. 10.1097/FBP.0b013e3283586189.
- Hasler, F., Grimberg, U., Benz, M. A., Huber, T., Vollenweider, F. X. (2004). Acute psychological and physiological effects of psilocybin in healthy humans: a double-blind, placebo-controlled dose- effect study. *Psychopharmacology (Berl)* 172:145–156.

REFERENCIAS

- Hatipoglu, S. D., Yalcinkaya, B., Akgoz, M., Ozturk, T., Goren, A. C., and Topcu, G. (2017). Screening of Hallucinogenic Compounds and Genomic Characterisation of 40 Anatolian *Salvia* Species. *Phytochem. Anal.*, 28: 541–549.
- Heijna, M. H., Padt, M., Hogenboom, F., Portoghese, P. S., Mulder, A. H., Schoffelmeer, A. N. (1990). Opioid receptor-mediated inhibition of dopamine and acetylcholine release from slices of rat nucleus accumbens, olfactory tubercle and frontal cortex. *Eur J Pharmacol* 181:267–278.
- Hofmann, A., & Tschertter, H. (1960). Isolation of lysergic acid alkaloids from the Mexican drug ololiuqui (*Rivea corymbosa* (L.) Hall.f.) *Experientia*, 16, 414.
- Hooker, J. M., Xu, Y., Schiffer, W., Shea, C., Carter, P., Fowler, J. S. (2008). Pharmacokinetics of the potent hallucinogen, salvinorin A in primates parallels the rapid onset and short duration of effects in humans. *NeuroImage* 41:1044–1050.
- Hooker, J. M., Patel, V., Kothari, S., Schiffer, W. K. (2009). Metabolic changes in the rodent brain after acute administration of salvinorin A. *Mol Imaging Biol MIB Off Publ Acad Mol Imaging* 11:137–143.
- Hutton, F., Kivell, B., Boyle, O. (2016). "Quite a Profoundly Strange Experience": An Analysis of the Experiences of *Salvia divinorum* Users. *J Psychoactive Drugs*. (3):206-13
- Inan S., Lee, DYW, Liu-Chen, L. Y., Cowan, A., (2009), Comparison of the diuretic effects of chemically diverse kappa opioid agonists in rats: nalfurafine, U50,488H, and salvinorin A. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*. 379:263–270.
- Izenwasser, S., Acri, J. B., Kunko, P. M., Shippenberg, T. (1998). Repeated treatment with the selective kappa opioid agonist U-69593 produces a marked depletion of dopamine D2 receptors. *Synapse* 30:275–283.
- Jenks, A. A., Walker, J. B., & Kim, S. C. (2010). Evolution and origins of the Mazatec hallucinogenic sage, *Salvia divinorum* (Lamiaceae): A molecular phylogenetic approach. *Journal of Plant Research*, 124(5), 593–600.
- John, T. F., French, L. G., & Erlichman, J. S. (2006). The antinociceptive effect of salvinorin A in mice. *European Journal of Pharmacology*, 545, 129-133.
- Johnson, J. B. (1939). The elements of Mazatec witchcraft. *Göteborgs Etnografiska Museum. Etnologiska Studier*, 9, 119–149.
- Johnson, M. W., MacLean, K. A., Reissig, C. J., Prisinzano, T. E., Griffiths, R. R. (2011). Human psychopharmacology and dose-effects of salvinorin A, a kappa opioid agonist hallucinogen present in the plant *Salvia divinorum*. *Drug Alcohol Depend* 115:150–155.
- Johnson, M. W., MacLean, K. A., Caspers, M. J., Prisinzano, T. E., Griffiths, R. R. (2016). Time course of pharmacokinetic and hormonal effects of inhaled high-dose salvinorin A in humans. *J Psychopharmacol (Oxf)*. In press.
- Kelly, B. C. (2011). Legally tripping: A qualitative profile of *Salvia divinorum* use among young adults. *Journal of Psychoactive Drugs*, 43, 46–54.
- Killinger, B. A., Peet, M. M., Baker, L. E., (2010). Salvinorin A fails to substitute for the discriminative stimulus effects of LSD or ketamine in Sprague-Dawley rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 96,260–265.

- Kivell, B.M., Ewald, A.W.M. & Prisinzano, T.E. (2014). Salvinorin A analogs and other kappa-opioid receptor compounds as treatments for cocaine abuse. *Advances in pharmacology (San Diego, Calif.)*, 69, pp.481–511.
- Lamas, X., Farré, M., Llorente, M., Camí, J. (1994). Spanish version of the 49-item short form of the Addiction Research Center Inventory (ARCI). *Drug Alcohol Depend* 35:203–209.
- Lange, J. E., Daniel, J., Homer, K., Reed, M. B., & Clapp, J. D. (2010). *Salvia divinorum*: Effects and use among YouTube users. *Drug and Alcohol Dependence*, 108, 138-140.
- Le Merrer, J., Becker, J. A. J., Befort, K., Kieffer, B. L. (2009). Reward processing by the opioid system in the brain. *Physiol Rev* 89:1379–1412.
- Li, J. X., Rice, K. C., France, C. P. (2008). Discriminative stimulus effects of 1-(2,5-dimethoxy-4-ethylphenyl)-2-aminopropane (DOM) in rhesus monkeys: antagonism and apparent pA2 analyses. *J Pharmacol Exp Ther.* 976-81.
- Li, R., Morris-Natschke, S. L., & Lee, K. H. (2016). Clerodane diterpenes: Sources, structures, and biological activities. *Natural Product Reports*, 33(10), 1166-1226.
- Listos, J., Merska, A., & Fidecka, S. (2011). Pharmacological activity of Salvinorin A, the major component of *Salvia divinorum*. *Pharmacology Reports*, 63, 1305-1309.
- Liu, N. J., Schnell, S., Wessendorf, M. W., Gintzler, A. R. (2013). Sex, Pain, and Opioids: Interdependent Influences of Sex and Pain Modality on Dynorphin-Mediated Antinociception in Rats. *J Pharmacol Exp Ther* 344:522–530.
- Luke, D. P., Terhune, D. B. (2013). The induction of synaesthesia with chemical agents: a systematic review. *Front Psychol* 4:753.
- MacLean, K. A., Johnson, M. W., Reissig, C. J., Prisinzano, T. E., Griffiths, R. R. (2013). Dose-related effects of salvinorin A in humans: dissociative, hallucinogenic, and memory effects. *Psychopharmacology (Berl)* 226:381–392.
- Maisonneuve, I. M., Archer, S., Glick, S. D. (1994). U50,488, a kappa opioid receptor agonist, attenuates cocaine-induced increases in extracellular dopamine in the nucleus accumbens of rats. *Neurosci Lett* 181:57–60.
- Maqueda, A. E., Valle, M., Addy, P. H., Antonijoan, R. M., Puntos, M., Coimbra, J., et al. (2015). Salvinorin-A induces intense dissociative effects, blocking external sensory perception and modulating interoception and sense of body ownership in humans. *Int J Neuropsychopharmacol* 18. pii: pyv065.
- Maqueda, A. E., Valle, M., Addy, P. H., Antonijoan, R. M., Puntos, M., Coimbra, J., et al. (2016). Naltrexone but not ketanserin antagonizes the subjective, cardiovascular, and neuroendocrine effects of salvinorin-A in humans. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 19 (7), 1-13.
- Margolis, E. B., Hjelmstad, G. O., Bonci, A., Fields, H. L. (2003). Kappa-opioid agonists directly inhibit midbrain dopaminergic neurons. *J Neurosci* 23:9981–9986.
- Margolis, E. B., Lock, H., Chefer, V. I., Shippenberg, T. S., Hjelmstad, G. O., Fields, H. L. (2006). Kappa opioids selectively control dopaminergic neurons projecting to the prefrontal cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:2938–2942.

REFERENCIAS

- Martin, W. R., Sloan, J. W., Sapira, J. D., Jasinski, D. R. (1971). Physiologic, subjective, and behavioral effects of amphetamine, methamphetamine, ephedrine, phenmetrazine, and methylphenidate in man. *Clin Pharmacol Ther* 12:245–258.
- McCurdy, C. R., Sufka, K. J., Smith, G. H., Warnick, J. E., & Nieto, M. J. (2006). Antinociceptive profile of salvinorin A, a structurally unique kappa opioid receptor agonist. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 83(1), 109–113.
- Medana, C., Massolino, C., Pazzi, M., Baiocchi, C. (2006). Determination of salvinorins and divinorins in *Salvia divinorum* leaves by liquid chromatography/multistage mass spectrometry. *Rapid Comm Mass Spectrom* 20:131–6
- Mehling, W. E., Price, C., Daubenmier, J. J., Acree, M., Bartmess, E., Stewart, A. (2012). The Multidimensional Assessment of Interoceptive Awareness (MAIA). *PLOS One* 7: e48230.
- Mehling, W. E., Daubenmier, J., Price, C. J., Acree, M., Bartmess, E., Stewart, A. L. (2013). Self-reported interoceptive awareness in primary care patients with past or current low back pain. *J Pain Res* 6:403–418.
- Mei, F., Mayoral, S., Nobuta, H., Fei, W., Despons, C., Lorrain, X., Green, A. J., Rowitch, D., Whistler, J., R. Chan, Jonah. (2016). Identification of the Kappa-Opioid Receptor as a Therapeutic Target for Oligodendrocyte Remyelination. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*. 36. 7925–7935.
- Mendelson, J. E., Coyle, J. R., Lopez, J. C., Baggott, M. J., Flower, K., Everhart, E. T., Munro, T. A., Galloway, G. P., Cohen, B. M., (2011). Lack of effect of sublingual salvinorin A, a naturally occurring kappa opioid, in humans: a placebo-controlled trial. *Psychopharmacology*, 1–7.
- Miller, B.L., Griffin, O. H., Gibson, C. L., Khey, D. N. (2009). Trippin on Sally D: exploring predictors of *Salvia divinorum* experimentation. *J Crim Jus*, 37, pp.396–403.
- Morani, A.S., Kivell, B., Prisinzano, T. E., Schenk, S., (2009). Effect of kappa-opioid receptor agonists U69593, U50488H, spiradoline and salvinorin A on cocaine-induced drug-seeking in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 94,244–249.
- Morani, A. S., Schenk, S., Prisinzano, T. E., & Kivell, B. (2012). Single injection of novel kappa opioid receptor agonist salvinorin A attenuates expression of cocaine induced behavioral sensitization in rats. *Behavioural Pharmacology*, 23(2), 162–170.
- Mowry, M., Mosher, M., & Briner, W. (2003). Acute physiologic and chronic histologic changes in rats and mice exposed to the unique hallucinogen salvinorin A. *Journal of Psychoactive Drugs*, 35, 379-382.
- Munro, T.A., Rizzacasa, M.A. (2003). Salvinorins D–F, new neoclerodane diterpenoids from *Salvia divinorum*, and an improved method for the isolation of Salvinorin A. *Journal of Natural Products* 66, 703–705
- Munro, T.A., Rizzacasa, M.A., Roth, B.L., Toth, B.A., Yan, F., (2005). Studies toward the pharmacophore of salvinorin A, a potent kappa opioid receptor agonist. *J. Med. Chem.* 48, 345–348.
- Munro, T. A. (2006). *The chemistry of Salvia divinorum*. Unpublished doctoral dissertation, University of Melbourne, Victoria, Australia.

- Munro, T.A., Duncan, K.K., Xu, W., Wang, Y., Liu-Chen, L.Y., Carlezon Jr., W.A., Cohen, B.M., Beguin, C., (2008). Standard protecting groups create potent and selective kappa opioids: salvinorin B alkoxyethyl ethers. *Bioorg. Med. Chem.* 16, 1279–1286.
- Nemeth, C. L., Paine, T. A., Rittiner, J. E., Beguin, C., Carroll, F. I., Roth, B. L., Cohen, B. M., and Carlezon, W. A. (2010). Role of kappa-opioid receptors in the effects of Salvinorin A and ketamine on attention in rats. *Psychopharmacology*, 210, 263-274.
- Nygård, E. A. (2007). Listening to the sage: The experience of learning from the *Salvia divinorum* altered state (Unpublished doctoral dissertation). *Institute of Transpersonal Psychology*, Palo Alto, CA.
- Ortega, A., Blount, J. F., Manchand, P. S. (1982). Salvinorin, a new trans-neoclerodane diterpene from *Salvia divinorum* (Labiatae). *J Chem Soc [Perkin 1]*:2505–2508.
- Orton, E., & Liu, R. (2014). Salvinorin A: A mini review of physical and chemical properties affecting its translation from research to clinical applications in humans. *Translational Perioperative and Pain Medicine Journal*, 1(1), 9–11.
- Ott, J. (1995). Ethnopharmacognosy and human pharmacology of *Salvia divinorum* and salvinorin A. *Curare* 18:103–129.
- Pahnke, W. N. (1969). Psychedelic drugs and mystical experience. *Int Psychiatry Clin.*
- Papasseit, E., Farre, M., Perez-Mañá, C., Torrens, M., Ventura, M., Pujadas, M., González, D. (2018). Acute pharmacological effects of 2C-B in humans: an observational study. *Frontiers in pharmacology*, 9, 206
- Pascoe, J. E., Williams, K. L., Mukhopadhyay, P., Rice, K. C., Woods, J. H., Ko, M-C. (2008). Effects of mu, kappa, and delta opioid receptor agonists on the function of hypothalamic-pituitary-adrenal axis in monkeys. *Psychoneuroendocrinology* 33:478–486.
- Paulus, M. P., Stein, M. B. (2010). Interoception in anxiety and depression. *Brain Struct Funct* 214:451–463.
- Paulzen, M., Gründer, G. (2008). Toxic Psychosis after intake of the hallucinogen salvinorin A. *J Clin Psychiatry*
- Pfeiffer, A., Knepel, W., Braun, S., Meyer, H. D., Lohmann, H., Brantl, V. (1986). Effects of a kappa-opioid agonist on adrenocorticotrophic and diuretic function in man. *Horm Metab Res* 18:842–848.
- Phipps, S.M., Butterweck, V. (2010) A new digitized method of the compulsive gnawing test revealed dopaminergic activity of salvinorinA in vivo. *Planta Med.* 76,1405–1410.
- Pichini, S., Abanades, S., Farre, M., Pellegrini, M., Marchei, E., Pacifici, R., (2005). Quantification of the plant-derived hallucinogen salvinorin A in conventional and non-conventional biological fluids by gas chromatography/mass spectrometry after *Salvia divinorum* smoking. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 19, 1649-1656.
- Placzek, M. S., Van de Bittner, G. C., Wey, H. Y., Lukas, S. E., Hooker, J. M. (2015). Immediate and Persistent Effects of Salvinorin A on the Kappa Opioid Receptor in Rodents. *Neuropsychopharmacology*
- Preston, K. L., Bigelow, G. E. (1993). Differential naltrexone antagonism of hydromorphone and pentazocine effects in human volunteers. *J Pharmacol Exp Ther* 264:813–823.

REFERENCIAS

- Prisinzano, T. E. (2005). Psychopharmacology of the hallucinogenic sage *Salvia divinorum*. *Life Sci* 78:527–531.
- Prisinzano, T. E. (2013). 2012 David W. Robertson Award for Excellence in Medicinal Chemistry: Neoclerodanes as Atypical Opioid Receptor Ligands. *Journal of Medicinal Chemistry*, 56(9), 3435–3443.
- Raichle, M. E., MacLeod, A. M., Snyder, A. Z., Powers, W. J., Gusnard, D. A., Shulman, G. L. (2001). A default mode of brain function. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:676–682.
- Raichle, M. E. (2011). The restless brain. *Brain Connect* 1:3–12.
- Ranganathan, M., Schnakenberg, A., Skosnik, P. D., Cohen, B. M., Pittman, B., Sewell, R. A., D'Souza, D. C. (2012). Dose-related behavioral, subjective, endocrine, and psychophysiological effects of the κ opioid agonist Salvinorin A in humans. *Biol Psychiatry* 72:871–879.
- Raos, V. C., Dermon C. R., Savaki, H. E. (1995). Functional anatomy of the thalamic centrolateral nucleus as revealed with the [14C] deoxyglucose method following electrical stimulation and electrolytic lesion. *Neuroscience* 68:299–313.
- Rasakham, K., & Liu-Chen, L. Y. (2011). Sex Differences in Kappa Opioid Pharmacology. *Life Sciences*, 88(0), 10.1016/j.lfs.2010.10.007.
- Reisfield, A. S. (1993). The Botany of *Salvia divinorum* (Labiatae). *SIDA* 15(3): 349366.
- Reko, B. P. (1945). *Mitobotanica Zapoteca*. Tacubaya, Mexico: Private printing.
- Riba, J., Rodríguez-Fornells, A., Strassman, R. J., Barbanoj, M. J. (2001a). Psychometric assessment of the Hallucinogen Rating Scale. *Drug Alcohol Depend* 62:215–223.
- Riba, J., Rodríguez-Fornells, A., Urbano, G., Morte, A., Antonijoan, R., Montero, M., Callaway, J. C., Barbanoj, M. J. (2001b). Subjective effects and tolerability of the South American psychoactive beverage Ayahuasca in healthy volunteers. *Psychopharmacology (Berl)* 154:85–95.
- Riba, J., Rodríguez-Fornells, A., Barbanoj, M. J. (2002). Effects of ayahuasca on sensory and sensorimotor gating in humans as measured by P50 suppression and prepulse inhibition of the startle reflex, respectively. *Psychopharmacology (Berl)* 165:18–28.
- Roach, J. J., Shenvi, R.A. (2018). A review of salvinorin analogs and their kappa opioid receptor activity. *Bioorg Med Chem Lett*;28(9):1436-1445.
- Rossi, A., Pace, S., Tedesco, F., Pagano, E., Guerra, G., Troisi, F., Capasso, R. (2016). The hallucinogenic diterpene salvinorin A inhibits leukotriene synthesis in experimental models of inflammation. *Pharmacological Research Journal*, 106, 64–71.
- Roth, B. L., Baner, K., Westkaemper, R., Siebert, D., Rice, K. C., Steinberg, S., Ernsberger, P., Rothman, R. B. (2002). Salvinorin A: a potent naturally occurring nonnitrogenous kappa opioid selective agonist. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99:11934–11939.
- Rothman, R. B., Murphy, D. L., Xu, H., Godin, J. A., Dersch, C. M., Partilla, J. S., Tidgewell, K., Schmidt, M., Prisinzano, T. E. (2007). Salvinorin A: allosteric interactions at the mu-opioid receptor. *J Pharmacol Exp Ther.*; 320(2):801-10.

- Russell, S. E., Rachlin, A. B., Smith, K. L., Muschamp, J., Berry, L., Zhao, Z., & Chartoff, E. H. (2014). Sex differences in sensitivity to the depressive-like effects of the kappa opioid receptor agonist U-50488 in rats. *Biological Psychiatry*, 76(3), 213–222.
- Samuels, E. R., Hou, R. H., Langley, R. W., Szabadi, E., Bradshaw, C. M. (2007). Comparison of pramipexole with and without domperidone co-administration on alertness, autonomic, and endocrine functions in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol* 64:591– 602.
- Schartner, M. M, Carhart-Harris, R. L., Barrett, A. B., Seth, A. K., Muthukumaraswamy, S. D. (2017) Increased spontaneous MEG signal diversity for psychoactive doses of ketamine, LSD and psilocybin. *Scientific Reports*.
- Schmidt, M. S., Prisinzano, T. E., Tidgewell, K., Harding, W., Butelman, E. R., Kreek, M. J., (2005). Determination of salvinorin A in body fluids by high performance liquid chromatography–atmospheric pressure chemical ionization. *Journal of Chromatography B*, 818(2), 221–225
- Schmidt, M. D., Schmidt, M. S., Butelman, E. R., Harding, W. W., Tidgewell, K., Murry, D. J., Prisinzano, T. E. (2005). Pharmacokinetics of the plant-derived kappa-opioid hallucinogen salvinorin A in nonhuman primates. *Synapse*, 58(3), 208–210.
- Schwarzer, C. (2009). 30 years of dynorphins – new insights on their functions in neuropsychiatric diseases. *Pharmacology & Therapeutics*, 123(3), 353–370.
- Seeman, P., Guan, H., Hirbec, H. (2009). Dopamine D2 receptors stimulated by phencyclidines, lysergic acid diethylamide, salvinorin A, and modafinil. *Synapse*, 63: 698-704.
- Seisdedos, N. (2002). STAI Cuestionario de ansiedad estado-rasgo. Adaptación española del cuestionario y redacción del manual. Madrid, Spain: *TEA Ediciones, SA*.
- Serra, V., Fattore, L., Scherma, M., Collu, R., Spano, M. S., Fratta, W., & Fadda, P. (2015). Behavioral and neurochemical assessment of Salvinorin A abuse potential in the rat. *Psychopharmacology*, 232(1), 91–100.
- Sheffler, D. J., Roth, B. L., (2003). Salvinorin A: the “magic mint” hallucinogen finds a molecular target in the kappa opioid receptor. *Trends Pharmacol. Sci.* 24,107–109.
- Siebert, D. J. (1994). *Salvia divinorum* and salvinorin A: New pharmacologic findings. *Journal of Ethnopharmacology*, 43(1), 53–56.
- Siebert, D. J. (1999). Clones of *Salvia divinorum*. <http://www.lycaem.org/salvia/clones.html>
- Siebert, D. J. (2003). The history of the first *Salvia divinorum* plants cultivated outside of Mexico. *The Entheogen Review*, 12(4), 117–118. Retrieved from <http://www.sagewisdom.org/salviahistory.html>
- Siebert, D. J. (2004). Localization of salvinorin A and related compounds in glandular trichomes of the psychoactive sage, *Salvia divinorum*. *Annals of Botany*, 93(6), 763–777.
- Simón-Arceo, K., González-Trujano, M. E., Coffeen, U., Fernández-Mas, R., Mercado, F., Almanza, A., Pellicer, F. (2017). Neuropathic and inflammatory antinociceptive effects and electrocortical changes produced by *Salvia divinorum* in rats. *Journal of Ethnopharmacology*

REFERENCIAS

- Simonin, F., Gaveriaux-Ruff, C., Befort, K., Matthes, H., Lannes, B., Micheletti, G., Mattei, M. G., Charron, G., Bloch, B., Kieffer, B. (1995). kappa-Opioid receptor in humans: cDNA and genomic cloning, chromosomal assignment, functional expression, pharmacology, and expression pattern in the central nervous system. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92:7006–7010.
- Simonson, B., Morani, A., Ewald, A., Walker, L., Kumar, N., Simpson, D., Miller, J. H., Prisinzano, T., Kivell, B. (2014). Pharmacology and anti-addiction effects of the novel κ opioid receptor agonist Mesyl Sal B, a potent and long-acting analogue of salvinorin A. *British Journal of Pharmacology*. 172.
- Singh, S. (2007). Adolescent salvia substance abuse. *Addiction*
- Soutar, I., & Strassman, R. (2000). Meditation with *Salvia divinorum*/Salvinorin A. Retrieved from <http://www.maps.org/researcharchive/salvia/sdmeditation.html>
- Spanagel, R., Herz, A., Shippenberg, T. S. (1992). Opposing tonically active endogenous opioid systems modulate the mesolimbic dopaminergic pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89:2046– 2050.
- Spielberger, C. D., Gorsuch, R. L., Lushene, R. E. (1970). Manual for the State-Trait Anxiety Inventory. *Palo Alto (CA): Consulting Psychologists*.
- Stiefel, K. M., Merrifield, A., & Holcombe, A. O. (2014). The claustrum's proposed role in consciousness is supported by the effect and target localization of *Salvia divinorum*. *Frontiers in Integrative Neuroscience*, 8, 20.
- Strassman, R. J., Qualls, C. R., Uhlenhuth, E. H., Kellner, R. (1994). Dose- response study of N,N-dimethyltryptamine in humans. II. Subjective effects and preliminary results of a new rating scale. *Arch Gen Psychiatry* 51:98–108.
- Strassman, R. J. (1996). Human psychopharmacology of N,N-dimethyltryptamine. *Behavioural Brain Research*, 73, 121-124.
- Su, D., Riley, J., Kiessling, W. J., Armstead, W. M., & Liu, R. (2011). Salvinorin A produces cerebrovasodilation through activation of nitric oxide synthase, κ receptor, and adenosine triphosphate-sensitive potassium channel. *Anesthesiology*, 114(2), 374–379.
- Sun, J., Zhang, Y., Lu, J., Zhang, W., Yan, J., Yang, L., Zhou, C., Liu, R., Chen, C. (2018). Salvinorin A ameliorates cerebral vasospasm through activation of endothelial nitric oxide synthase in a rat model of subarachnoid hemorrhage. *Microcirculation*. 25.
- Sumnall, H. R., Measham, F., Brandt, S. D., Cole, J. C. (2011). *Salvia divinorum* use and phenomenology: results from an online survey. *Journal of Psychopharmacology*. Vol. 25 Issue 11, pp. 1496
- Taylor, G. T., & Manzella, F. (2016). Kappa opioids, Salvinorin A and major depressive disorder. *Current Neuropharmacology Journal*, 14(2), 165–176.
- Tejeda, H. A., Shippenberg, T. S., y Henriksson, R. (2012). The dynorphin/kappa-opioid receptor system and its role in psychiatric disorders. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 69(6), 857–896.

- Teksin, Z.S., Lee, I.J., Nemieboka, N.N., Othman, A.A., Upreti, V.V., Hassan, H.E., Syed, S.S., Prisinzano, T.E., Eddington, N.D., (2009). Evaluation of the transport, in vitro metabolism and pharmacokinetics of Salvinorin A, a potent hallucinogen. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 72, 471–477.
- Tsujikawa, K., Kuwayama, K., Miyaguchi, H., Kanamori, T., Iwata, Y. T., Yoshida, T., Inoue, H. (2008). Determination of salvinorin A and salvinorin B in *Salvia divinorum*-related products circulated in Japan. *Forensic Sci Int* 180:105
- Ur, E., Wright, D. M., Bouloux, P. M., Grossman, A. (1997). The effects of spiradoline (U-62066E), a kappa-opioid receptor agonist, on neuroendocrine function in man. *Br J Pharmacol* 120:781–784.
- Valdes, J. L., III, Diaz, J. L., & Paul, A. G. (1983). Ethnopharmacology of ska Maria Pastora (*Salvia divinorum* Epling and Jativa-M). *Journal of Ethnopharmacology*, 7(3), 287-312.
- Valdes, J. L., III, Butler, W. M., Hatfield, G. M., Paul, A. G., & Koreeda, M. (1984). Divinorin A, a psychotropic terpenoid, and divinorin B from the hallucinogenic Mexican mint *Salvia divinorum*. *Journal of Organic Chemistry*, 49, 4716–4720.
- Valdes, J. L., III, Hatfield, G. M., Koreeda, M., & Paul, A. G. (1987). Studies of *Salvia divinorum* (Lamiaceae), an hallucinogenic mint from the Sierra Mazateca in Oaxaca, Central Mexico. *Economic Botany*, 41(2), 283–291.
- Valle, M., Maqueda, A. E., Rabella, M., Rodríguez-Pujadas, A., Antonijoan, R. M., Romero, S., Riba, J. (2016). Inhibition of alpha oscillations through serotonin-2A receptor activation underlies the visual effects of ayahuasca in humans. *European Neuropsychopharmacology*, 26(7), 1161–1175
- Van der Werf, Y. D., Witter, M. P., Groenewegen, H. J. (2002). The intralaminar and midline nuclei of the thalamus. Anatomical and functional evidence for participation in processes of arousal and awareness. *Brain Res Brain Res Rev* 39:107–140.
- Vasiljevik, T., Groer, C. E., Lehner, K., Navarro, H., & Prisinzano, T. E. (2014). Studies toward the development of antiproliferative neoclerodanes from Salvinorin A. *Journal of Natural Products*, 77(8), 1817–1824.
- Verdejo-Garcia, A., Clark, L., Dunn, B. D. (2012). The role of interoception in addiction: a critical review. *Neurosci Biobehav Rev* 36:1857– 1869.
- Vollenweider, F. X., Vollenweider-Scherpenhuyzen, M. F., Bäbler, A., Vogel, H., Hell, D. (1998). Psilocybin induces schizophrenia-like psychosis in humans via a serotonin-2 agonist action. *Neuroreport* 9:3897–3902.
- Walentiny, D. M., Vann, R. E., Warner, J. A., King, L. S., Seltzman, H. H., Navarro, H. A., Twine, C. E., Thomas, B. F., Gilliam, A. F., Gilmour, B. P., Carroll, F. I., Wiley, J. L. (2010). Kappa opioid mediation of cannabinoid effects of the potent hallucinogen, salvinorin A, in rodents. *Psychopharmacology (Berl)* 210:275–284.
- Walpola, I. C., Nest, T., Roseman, L., Erritzoe, D., Feilding, A., Nutt, D. J., & Carhart-Harris, R. L. (2017) Altered Insula Connectivity Under MDMA. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*

REFERENCIAS

- Walsh, S. L., Strain, E. C., Abreu, M. E., Bigelow, G. E. (2001). Enadoline, a selective kappa opioid agonist: comparison with butorphanol and hydromorphone in humans. *Psychopharmacology (Berl)* 157:151–162.
- Walsh, S. L., Chausmer, A. E., Strain, E. C., Bigelow, G. E. (2008). Evaluation of the mu and kappa opioid actions of butorphanol in humans through differential naltrexone blockade. *Psychopharmacology (Berl)* 196:143–155.
- Wang, Y., Tang, K., Inan, S., Siebert, D., Holzgrabe, U., Lee, D. Y. W. (2005). Comparison of pharmacological activities of three distinct k ligands (salvinorin A, TRK- 820 and 3FLB) on k opioid receptors in vitro and their antipruritic and antinociceptive activities in vivo. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 312(1), 220- 230.
- Wang, Y., Chen, Y., Xu, W., Zhongze, M., Rawls, S. M., Cowan, A., Liu-Chen, L. (2008). 2-Methoxymethyl-Salvinorin B Is a Potent κ Opioid Receptor Agonist with Longer Lasting Action in Vivo Than Salvinorin A. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 324 (3) 1073-1083
- Wang, Z., Ma, N., Riley, J., Armstead, W. M., Liu, R. (2012), Salvinorin A Administration after Global Cerebral Hypoxia/Ischemia Preserves Cerebrovascular Autoregulation via Kappa Opioid Receptor in Piglets. *PLoS ONE* 7(7): e41724.
- Wasson, R. G. (1962). A new Mexican psychotropic drug from the mint family. *Botanical Museum Leaflets Harvard University*, 20(3), 77–84.
- Watanabe, H., Fitting, S., Hussain, M. Z., Kononenko, O., Iatsyshyna, A., Yoshitake, T., Bakalkin, G. (2015). Asymmetry of the Endogenous Opioid System in the Human Anterior Cingulate: a Putative Molecular Basis for Lateralization of Emotions and Pain. *Cerebral Cortex (New York, NY)*, 25(1), 97–108
- Wee, S., and Koob, G.F. (2010). The role of the dynorphin-kappa opioid system in the reinforcing effects of drugs of abuse. *Psychopharmacology (Berl.)* 210, 121–135.
- Weitlaner, R. J. (1952). Curaciones mazatecas [Mazatec cures]. *Anales del Instituto Nacional de Antropología e Historia*, 4, 279–285.
- Wentland, M. P., Lou, R., Lu, Q., Bu, Y., Denhardt, C., Jin, J., Ganorkar, R., VanAlstine, M. A., Guo, C., Cohen, D. J., Bidlack, J. M. (2009). Syntheses of novel high affinity ligands for opioid receptors. *Bioorg Med Chem Lett* 19:2289–2294.
- Wolowich, W. R., Perkins, A. M., & Cienki, J. J. (2006). Analysis of the psychoactive terpenoid salvinorin A content in five *Salvia divinorum* herbal products. *Pharmacotherapy*, 26(9), 1268-1272.
- Wu, H., Wacker, D., Katritch, V., Mileni, M., Han, G. W., Vardy, E., Stevens, R. C. (2012). Structure of the human kappa opioid receptor in complex with JDTic. *Nature*, 485(7398), 327–332.
- Xin, J., Zhang, Y., He, Z., Wang, Z. (2016). Highly selective non-opioid kappa opioid receptor (KOR) agonist salvinorin A protects against forebrain ischemia-induced brain injury in rats. *Brain Research*
- Xu, Xiaomeng. (2015) Chemogenomics Knowledgebase and Systems Pharmacology for Hallucinogen Target Identification -Salvinorin A as a Case Study. *Master's Thesis, University of Pittsburgh. (Unpublished)*

-
- Yan, F., Mosier, P. D., Westkaemper, R. B., Stewart, J., Zjawiony, J. K., Vortherms, T. A., Sheffler, D. J., Roth, B. L. (2005). Identification of the molecular mechanisms by which the diterpenoid salvinorin A binds to kappa-opioid receptors. *Biochemistry*. 44: 8643-8651.
- Zhang, Y., Butelman, E. R., Schlussman, S. D., Ho, A., & Kreek, M. J. (2005). Effects of the plant-derived hallucinogen salvinorin A on basal dopamine levels in the caudate putamen and in a conditioned place aversion assay in mice: agonist actions at kappa opioid receptors. *Psychopharmacology*, 179, 551-558.
- Zhou, Y., Cowley, R. S., Ben, K., Prisinzano, T. E., & Kreek, M. J. (2017). Synergistic blockade of alcohol escalation drinking in mice by a combination of novel kappa opioid receptor agonist Mesyl Salvinorin B and naltrexone. *Brain Research*, 1662, 75–86.
- Zhou Y., Crowley R., Prisinzano T., Kreek M. J. (2018). Effects of mesyl salvinorin B alone and in combination with naltrexone on alcohol deprivation effect in male and female mice. *Neurosci Lett*. 673:19-23.

