



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“DETERMINACIÓN DEL EFECTO VASODILATADOR DE
PLANTAS Y PROPÓLEOS UTILIZADOS EN LA MEDICINA
TRADICIONAL MEXICANA PARA EL TRATAMIENTO DE
ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA

JUAN CARLOS CASTILLO ESPINOSA

DIRIGIDA POR

Dr. CÉSAR IBARRA ALVARADO

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2014.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“DETERMINACIÓN DEL EFECTO
VASODILATADOR DE PLANTAS Y PROPÓLEOS
UTILIZADOS EN LA MEDICINA TRADICIONAL MEXICANA
PARA EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES
CARDIOVASCULARES”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

PRESENTA

JUAN CARLOS CASTILLO ESPINOSA

DIRIGIDA POR

Dr. CÉSAR IBARRA ALVARADO

SINODALES

Dr. CÉSAR IBARRA ALVARADO
DIRECTOR

Dra. ALEJANDRA ROJAS MOLINA
SINODAL

Dra. JUANA ISELA ROJAS MOLINA
SINODAL

Dr. MOUSTAPHA BAH
SINODAL

ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
ÍNDICE GENERAL	i
ÍNDICE DE CUADROS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
RESUMEN	
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	2
2.1 Enfermedades cardiovasculares y su importancia en México	2
2.2 Plantas medicinales y su uso terapéutico	4
2.3 Generalidades de las especies vegetales y propóleos	6
2.3.1. <i>Haematoxylon brasiletto</i> (palo de Brasil)	6
2.3.2. <i>Chenopodium murale</i> (quelite)	8
2.3.3. <i>Psittacanthus calyculatus</i> (injerto o muérdago mexicano)	12
2.3.4. <i>Prunus serotina</i> (capulín)	14
2.3.5. <i>Crataegus mexicana</i> (tejocote)	19
2.3.6. <i>Eriobotrya japonica</i> (níspero)	22
2.3.7. <i>Cladocolea Ioniceroides</i> (muérdago)	22
2.3.8. <i>Propolis</i> (Propóleo)	23
2.4. Vaso sanguíneo	24
2.4.1 Endotelio vascular	24
2.4.2 Músculo liso	25
2.5. Mecanismos de relajación	26
2.5.1. Óxido nítrico y su mecanismo de relajación	26
2.5.2. Prostaciclina y su mecanismo de relajación	28
2.5.3 Factor hiperpolarizante derivado de endotelio (FHDE)	29
3. HIPÓTESIS	30
4. OBJETIVOS	31

4.1. GENERAL	31
4.2. ESPECÍFICOS	31
5. METODOLOGÍA	32
5.1. Materiales	32
5.1.1. Especímenes biológicos	32
5.1.1.1. Extractos y propóleos	32
5.1.1.2. Animales de experimentación	33
5.1.2. Compuestos químicos y solventes	33
5.2. Métodos	33
5.2.1. Evaluación <i>in vitro</i> de los diferentes extractos y propóleos	33
5.2.1.1. Solución de Krebs-Heinseleit	33
5.2.1.2. Ensayo de aorta aislada de rata	34
5.2.1.3. Análisis de los datos obtenidos en la evaluación farmacológica	34
6. RESULTADOS	36
6.1. Determinación del efecto vasodilatador de propóleos sobre la aorta aislada de rata.	36
6.2. Determinación del efecto vasodilatador de flavonoides sobre la aorta aislada de rata.	38
6.3. Determinación del efecto vasodilatador de triterpenos sobre la aorta aislada de rata.	40
6.4. Determinación del efecto vasodilatador de diferentes extractos sobre la aorta aislada de rata.	41
7. DISCUSIÓN	44
8. CONCLUSIONES	47
9. REFERENCIAS	48

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Flavonoides aislados e identificados en <i>H. brasiletto</i>	7
2	Compuestos aislados en <i>C. murale</i>	9
3	Compuestos aislados en <i>P. calyculatus</i>	13
4	Compuestos presentes en <i>P. serotina</i>	16
5	Compuestos aislados en el género <i>Crataegus spp.</i>	20
6	Origen y su clave de identificación de extractos y propóleos	32
7	CE ₅₀ y E _{max} del efecto relajante inducido por los extractos a partir de los diferentes propóleos.	36
8	CE ₅₀ y E _{max} del efecto relajante inducido por los extractos a partir de los diferentes propóleos.	39
9	CE ₅₀ y E _{max} del efecto relajante inducido por los triterpenos.	41
10	CE ₅₀ y E _{max} del efecto relajante inducido por los extractos Trojes y F1F6HN	41
11	Porcentaje de relajación máxima de los diferentes extractos evaluados	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Resultados de la Encuesta Nacional de Salud 2000	3
2	Prevalencia de hipertensión arterial por Estado	4
3	El árbol de <i>Haematoxylon brasiletto</i>	6
4	El árbol de <i>Prunus serotina</i> y su fruto	14
5	El árbol de <i>Crataegus mexicana</i>	19
6	Curva concentración-respuesta del efecto relajante de los propóleos Acuex, Búho, Trojes y Valentín.	37
7	Curva concentración-respuesta del efecto relajante de los propóleos Nico, Cuetzalán, Guanajuato y Pinotepa	38
8	Curvas concentración respuesta para los flavonoides acacetina, crisina y 4',7-dimetil-naringenina.	39
9	Curvas concentración respuesta para los triterpenos ácido oleanólico y ácido corosólico.	40
10	Curvas concentración respuesta para los extractos Trojes y F1 F6 HN.	42
11	Efecto vasodilatador de los extractos CLA hojas, CLA ramas, EtOH hojas, EtOH tallos y HN.	42

RESUMEN

México posee una gran diversidad de especies vegetales, muchas de las cuales han sido empleadas desde la época prehispánica para el tratamiento de diversos padecimientos, tales como las enfermedades cardiovasculares. Sin embargo, sólo se tiene un conocimiento empírico de la mayoría de las especies utilizadas en la medicina tradicional mexicana, careciendo de los estudios sistemáticos tendientes a caracterizar sus principios activos y sus efectos farmacológicos. En este contexto, se planteó el presente proyecto de investigación cuyo objetivo fue determinar el efecto vasodilatador, mediante el ensayo de aorta aislada de rata, de los extractos obtenidos de plantas empleadas tradicionalmente para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, propóleos y compuestos puros, aislados de estos productos naturales. Los extractos evaluados fueron obtenidos de las especies *Cladocolea loniceroides* (muérdago) y *Eriobotrya japonica* (níspero); solamente el extracto F1-F6 HN del níspero indujo una relajación, dependiente de la concentración de la aorta aislada de rata; el extracto CLA Hojas (muérdago) produjo un aumento del tono vascular, mientras que los extractos restantes mostraron un efecto bifásico. Los propóleos evaluados Nico, Cuetzalán, Guanajuato, Pinotepa, Acuex, Búho, Trojes y Valentín, también indujeron una relajación, dependiente de la concentración, de la aorta aislada de rata. Finalmente, en relación a los compuestos puros obtenidos de estos propóleos y extractos, los flavonoides acacetina, 4',7-dimetil-naringenina y crisina; y los triterpenos ácido oleanólico y ácido corosólico también indujeron un efecto relajante de la musculatura lisa vascular.

1. INTRODUCCIÓN

La flora mexicana, con su gran diversidad y riqueza, constituye indudablemente el principal recurso terapéutico empleado en la medicina tradicional de nuestro país. Estudios recientes indican que en México existen siete mil especies vegetales, botánicamente clasificadas, que son utilizadas por la población mexicana con fines curativos. Estas especies incluyen un grupo básico de 1000 plantas, mismo que ha sido empleado en la medicina tradicional durante siglos. La gran mayoría de estos vegetales son utilizados para el tratamiento de enfermedades comunes tales como infecciones, desórdenes gastrointestinales, hipertensión, dolor y diabetes así como para inducir el sueño o el parto.

Sin embargo, sólo se tiene un conocimiento empírico de la mayoría de estas especies; considerándose que sólo se conoce, con criterios experimental y científico, las propiedades farmacológicas de 1.5% de ellas.

Si bien la medicina actual muestra grandes avances en algunas regiones del mundo; en los países en vías de desarrollo grandes sectores de la población todavía dependen de curanderos, plantas medicinales, medicamentos herbolarios y recursos tradicionales para el alivio de sus enfermedades; en este sentido, la OMS estima que 1500 millones de seres humanos recurren a medicinas y terapias tradicionales para la atención primaria de la salud, siendo el 95% de estas terapias de origen vegetal. Por otra parte, durante los últimos años se ha observado un creciente interés por las terapias vegetales tradicionales en los países industrializados, por lo que es posible afirmar que el uso de las plantas medicinales y medicamentos herbolarios se encuentra en plena expansión, reconociéndose el valor clínico de las plantas utilizadas en las prácticas médicas alternativas.

Con base en estos antecedentes se planteó el presente proyecto de tesis que tiene por objetivo evaluar la actividad vasodilatadora de extractos obtenidos de diferentes plantas y propóleos, así como de compuestos puros aislados de éstos. Las especies seleccionadas para este estudio fueron las siguientes: *Haematoxylon brasiletto* (palo de Brasil), *Chenopodium murale* (quelite), *Psittacanthus*

calyculathus (injerto o muérdago mexicano), *Prunus serotina* (capulín), *Crataegus mexicana* (tejocote), *Cladocolea Ioniceroides* (muérdago) y *Eriobotrya japonica* (níspero) Por otra parte, se seleccionaron varios propóleos (propolis) recolectados en diferentes localidades del centro de México. Todos estos productos se emplean en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares.

2. ANTECEDENTES

2.1 Enfermedades cardiovasculares y su importancia en México

En México, las enfermedades crónico-degenerativas son los padecimientos que predominan entre la población de edad adulta y constituyen las principales causas de mortalidad general. La diabetes, las dislipidemias y la hipertensión arterial destacan entre estos padecimientos por su elevada prevalencia y graves complicaciones; entre éstas se encuentran las enfermedades del corazón, la enfermedad cerebrovascular, las neoplasias y las nefropatías. Estas enfermedades ocuparon el 1º, 2º, 5º y 10º lugar, respectivamente en los registros de causas de mortalidad en 1999. En 1993 la Encuesta Nacional de Enfermedades Crónicas (ENEC) encontró una prevalencia de tabaquismo de 25% y alcoholismo (ingesta mayor a 30 ml de etanol por día) del 66%, ambos considerados dentro de los factores de riesgo para las enfermedades cardiovasculares (Frenk y col., 2001).

A este respecto, recientemente se indicó que la tasa de mortalidad en México por enfermedad cardiovascular es de las más altas con 16.4%; y en lo tocante al perfil de morbilidad, se muestra una prevalencia de hipertensión hasta de 30% en la población mexicana, ubicándose así en el primer lugar como principal motivo de consulta externa en el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS). Además, se calcula una inversión anual por esta enfermedad hasta de 51% del presupuesto total destinado a la salud y 2.62% del PIB en su escenario extremo a nivel nacional (Juárez-García y col. 2007).

Los diversos estudios realizados en nuestro país muestran de manera consistente un incremento en la prevalencia de la hipertensión arterial (HTA). De tal manera que en la actualidad, la HTA es uno de los factores desencadenantes de enfermedad cardiovascular de mayor prevalencia en nuestro país. (Frenk y col., 2001).

En la ENEC de 1993 (ENEC, 1993), la prevalencia de hipertensión (cifras iguales o superiores a 140 y/o 90 mmHg) fue de 26.6%. En la Figura 1 se muestran los resultados de la Encuesta Nacional de Salud 2000, donde la prevalencia actual de hipertensión arterial es de 30.05%; siendo en el sexo masculino de 34.20% y en el femenino de 26.30% (Juárez-García y col., 2007; Frenk y col., 2001).

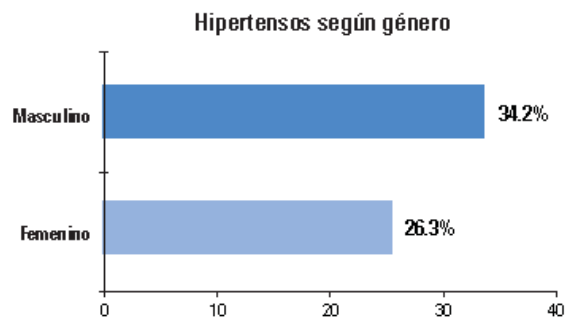


Figura 1. Resultados de la Encuesta Nacional de Salud 2000

La prevalencia de la hipertensión aumenta en cada grupo de edad; aparece desde la juventud hasta llegar a afectar a más de la mitad de la población después de los 55 años de edad. Esta situación es reflejo de un estilo de vida que incluye una dieta rica en grasa de origen, el hábito de fumar cigarrillos, la reducción de la actividad física y el estrés; factores que actúan de manera sinérgica a lo largo de la vida. (Velázquez-Monroy y col., 2003).

En países en desarrollo como México, la transición epidemiológica de las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) del adulto genera ya un doble problema de salud pública (Velázquez-Monroy y col., 2003).

En nuestro país la mayor prevalencia de hipertensión arterial se presenta en los estados de la región norte. De acuerdo a estimaciones de la ENSA 2000, Baja California fue el estado con mayor prevalencia (36.4%) y la menor prevalencia se presentó en Oaxaca (23.2%). Querétaro se encuentra por encima de la media nacional con un 33.6%, como se muestra en la Figura 2.

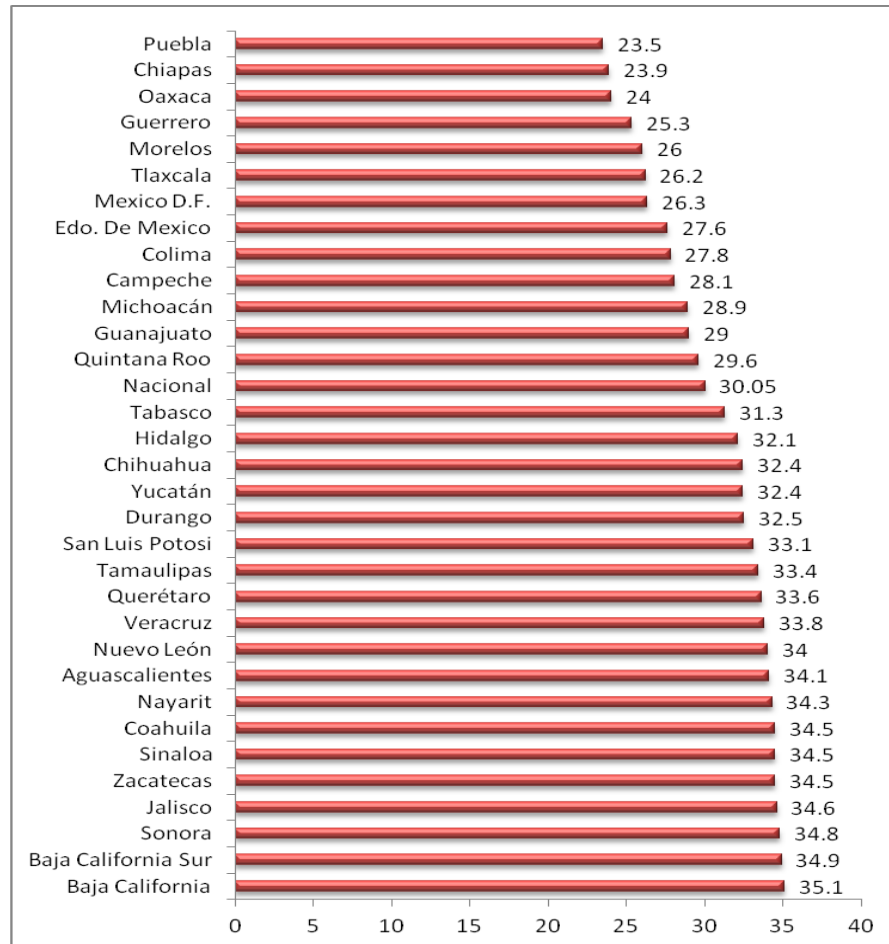


Figura 2. Prevalencia de hipertensión arterial por Estado.

2.2 Plantas medicinales y su uso terapéutico

Desde su origen el hombre ha mantenido íntimo contacto con las plantas y los animales, pues de ello ha dependido su subsistencia; esto es particularmente notable en el conocimiento que tienen las comunidades indígenas del uso de las

diferentes especies para el tratamiento de diversas enfermedades (Martínez-Moreno y col., 2006); dicho conocimiento constituye una base importante para la conservación de la biodiversidad global y para su uso sustentable (Magaña, 2010).

Las plantas medicinales contienen principios activos, que si bien son los responsables de las propiedades terapéuticas que se les atribuyen, también lo son de las intoxicaciones y reacciones adversas que pueden aparecer si se emplean en dosis inadecuadas o por períodos prolongados. La falta de información objetiva y actualizada sobre los posibles riesgos y beneficios que puede provocar el uso de las plantas medicinales, es una de las causas principales de que la población la utilice de forma indiscriminada, argumentando que son inocuas y más seguras, por el simple hecho de ser naturales (Pacheco y col., 2006).

En la actualidad existe un gran interés por la medicina tradicional y natural que algunos llaman complementaria, holística o alternativa la cual continúa jugando un papel esencial en la salud (Oramas y Rodríguez, 1999). La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha estimado que aproximadamente el 80% de los habitantes a nivel mundial ha utilizado la medicina tradicional en sus cuidados de salud (Laza, 2003). Particularmente en nuestro país, se estima que se emplean cerca de 7000 especies con fines terapéuticos (Martínez-Moreno y col., 2006).

La riqueza de la naturaleza de nuestro país y la necesidad de encontrar recursos accesibles para tratar diversos padecimientos, han dado como resultado que las plantas medicinales sean parte esencial de las estrategias generadas por la población para enfrentar diversos padecimientos (Pacheco, 2011). Entre las plantas utilizadas en la medicina tradicional para tratar enfermedades cardiovasculares como la hipertensión arterial, encontramos *Haematoxylon brasiletto* (palo Brasil), *Chenopodium murale* (quelite cenizo), *Psittacanthus calyculathus* (injerto), *Prunus serotina* (capulín) *Crataegus mexicana* (tejocote), *Cladocolea Ioniceroides* (muérdago) y *Eriobotrya japonica* (níspero); junto a estas especies también se emplea el propóleo.

2.3 Generalidades de las especies vegetales y propóleos

2.3.1. *Haematoxylon brasiletto* (palo de Brasil)

Haematoxylon brasiletto Karts (*Leguminosae*) es un árbol que llega a medir hasta 15 m de altura (Figura 3). Tiene una corteza café claro a rojiza y el centro del tallo es café intenso; las hojas, tienen forma de moños y están divididas en seis hojuelas; los frutos son legumbres aplanadas más largas que anchas y no abren al madurar; sus semillas son alargadas (Bautista, 2007). Su distribución natural es desde México hasta Colombia y Venezuela. Esta especie fue objeto de comercialización exhaustiva durante siglos por el colorante extraído de su duramen (Boshier y Cordero, 2010).



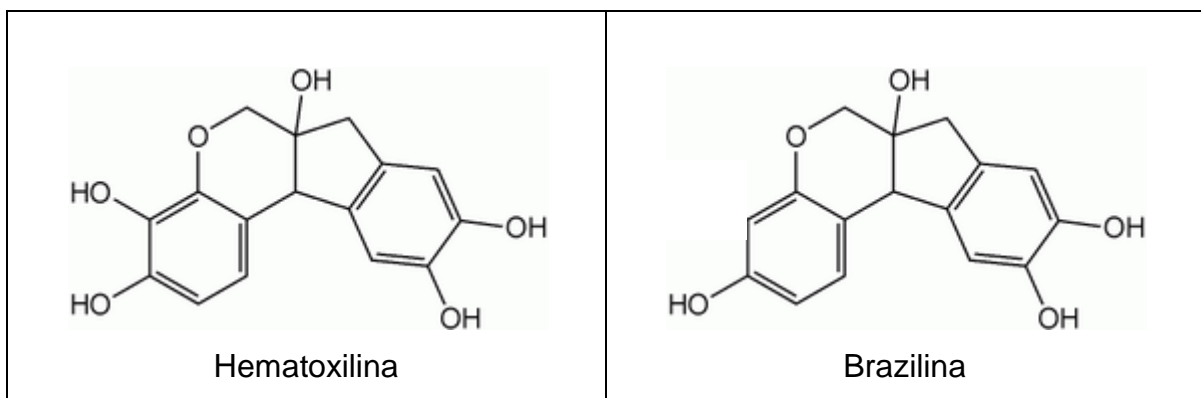
Figura 3. Árbol de *Haematoxylon brasiletto* (Pedraza-Bucio y col., 2011)

De acuerdo al atlas de las plantas de la medicina tradicional, esta especie vegetal también es conocida como azulillo, palo de Brasil, palo de tinta, palo tinto, corteza de Brasil y Campeche. Con suma frecuencia se indica el empleo del tallo del árbol, ya sea la corteza, madera o corazón del trono, para el tratamiento de

padecimientos de los sistemas cardiovascular, renal, gastrointestinal y pulmonar (Argueta, 1994).

Estudios previos indicaron la presencia de los compuestos hematoxilina (Sanchez-Marroquin y col., 1958) y brazilina (Pratt y col., 1959) en *H. brasiletto* (Cuadro 1), los cuales presentaron actividad antimicrobiana contra *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Brucella suis* y *Shigella flexneri*. En estudios recientes, Heredia y col., (2005) indicaron que el extracto etanólico de la corteza de *Haematoxylon brasiletto* inhibe el crecimiento de *Escherichia coli* O157:H7, la producción de veratoxina y la adhesión de *Escherichia coli* O157:H7 a las células HeLa. Posteriormente, Rivero Cruz (2008) demostró que compuestos aislados del extracto metanólico de *H. brasiletto* tienen un importante efecto antimicrobiano.

Cuadro 1. Flavonoides aislados e identificados en *H. brasiletto*



Estudios realizados recientemente indicaron que el extracto metanólico de *H. brasiletto* contiene compuestos que relajan la musculatura lisa arterial de manera dependiente de la concentración ($CE_{50} = 111.5 \pm 8.4 \mu\text{g/ml}$; $E_{\text{max}} = 98.3 \pm 1.7\%$) determinándose que su mecanismo de acción involucra una vía dependiente de endotelio, en la que participa la vía del NO/GMPc y otra vía independiente de endotelio, en la que interviene la activación de los canales de K^+ activados por Ca^{2+} . Adicionalmente, se identificó que la hematoxilina, el flavonoide mayoritario del extracto, contribuye al efecto vasodilatador observado (Córdova, 2009) mediante un

mecanismo que involucra las vías del NO/GMPc y de la PGI₂/AMPc y la activación de los canales de potasio (Mendoza, 2011).

2.3.2. *Chenopodium murale* (quelite)

Las investigaciones fitoquímicas de género *Chenopodium* han brindado compuestos con gran variedad de estructuras químicas.

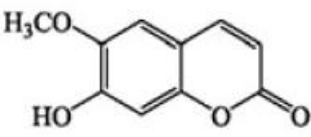
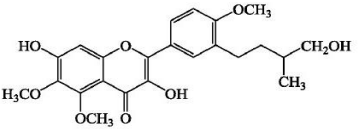
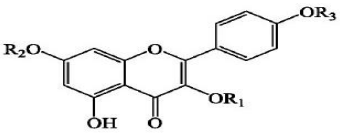
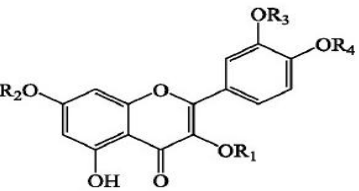
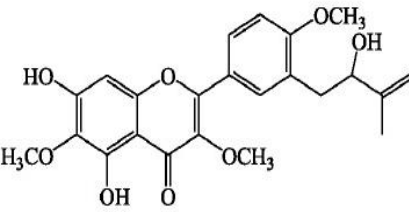
Las plantas pertenecientes a este género tienen amplias aplicaciones en la medicina popular, como antihelmíntico, antiespasmódico, diaforético, emenagogo, para el dolor de la amenorrea, como un abortifaciente y para el alivio del asma, el catarro y la migraña (Ahmed y Elmazar, 1997).

Chenopodium murale L., mejor conocido como “hojas de ortiga en pata de gallo” perteneciente a la familia *Chenopodiaceae*, es una maleza herbácea anual nativa de Eurasia, que se ha extendido a varias partes del mundo infestando cultivos en 57 países (Batish y col., 2007). *C. murale* es una planta de crecimiento anual, de hasta 60 cm de altura. Sus hojas son de 2 a 8 cm de ancho, ovadas, lados angulares, lobuladas, fuertemente dentadas; flores en espigas delgadas, formando racimos axilares densos (Figura 4) (Bashir y col., 2003).

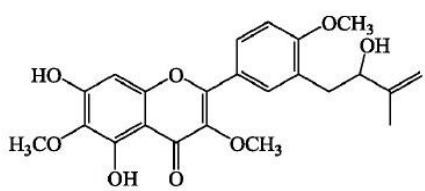
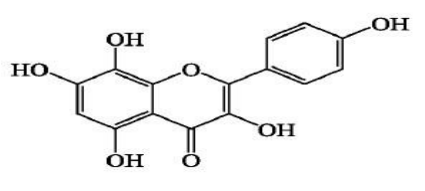
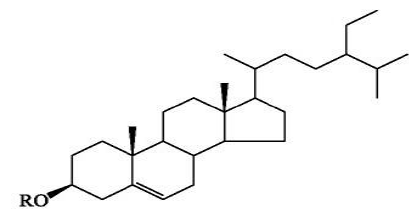
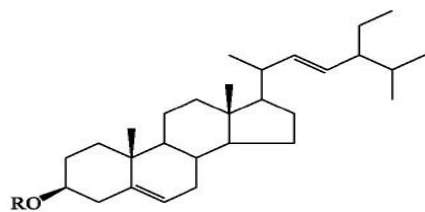

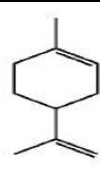
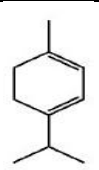
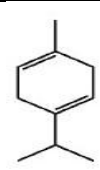
Desde el punto de vista fitoquímico, *C. murale* contiene flavonoides, saponinas, terpenos, esteroides y alcaloides (cuadro 2) (Kokanova-Nedialkova y col., 2009).

Estudios previos indican que los extractos etanólicos obtenidos de *C. murale* poseen actividad analgésica significativa en ratas (Batish y col., 2007).


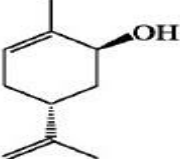
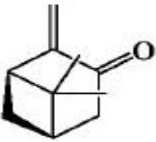
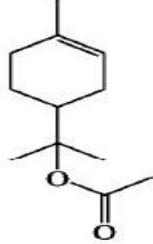
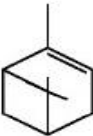
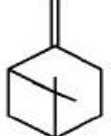
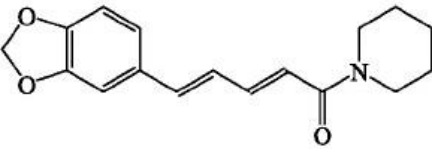
Cuadro 2. Compuestos aislados de *C. murale*.

Compuestos		
Fenoles		
	 <p>a) $R_1=H, R_2=H, R_3=H$ b) $R_1=H, R_2=Ramnosil, R_3=H$ c) $R_1=R_2=Ramnosil, R_3=H$ d) $R_1=Ramnosil, R_2=Glucosil, R_3=H$ e) $R_1=\beta\text{-D-glucopiranosil}, R_2=\alpha\text{-L-ramnopiranosil}, R_3=H$ f) $R_1=4\text{-}\beta\text{-D-xilopiranosil-}\alpha\text{-L-ramnopirosil}, R_2=\alpha\text{-L-ramnopirosil}, R_3=H$ g) $R_1=4\text{-}\beta\text{-D-apiofuraranosil-}\alpha\text{-L-ramnopirosil}, R_2=\alpha\text{-L-ramnopirosil}, R_3=H$ h) $R_1=2\text{-}\beta\text{-D-glucopiranosil-}\alpha\text{-L-ramnopirosil}, R_2=\alpha\text{-L-ramnopirosil}, R_3=H$ i) $R_1=\alpha\text{-L-ramnopirosil}, R_2=\beta\text{-D-xilopiranosil-(1}\rightarrow\text{2)-O-}\alpha\text{-L-ramnopirosil}, R_3=H$</p>	 <p>a) $R_1=H, R_2=H, R_3=H, R_4=H$ b) $R_1=\beta\text{-D-glucopiranosil}, R_2=H, R_3=H, R_4=H$ c) $R_1=Ramnoglucosil, R_2=H, R_3=H, R_4=H$</p>
		

Cuadro 2. Compuestos aislados de *C. murale* (Continuación).

		
		
Esteroles	 R= Glucosil	 R= Glucosil
Terpenos		
		

Cuadro 2. Compuestos aislados de *C. murale* (Continuación).

		
		
		
Alcaloides		

Adicionalmente se evaluó el efecto de la Kaempferitrina y una mezcla de flavonoides obtenidos de las partes aéreas de esta especie sobre la presión arterial y la frecuencia cardiaca. Tanto el compuesto aislado como la mezcla indujeron hipotensión y bradicardia, de una manera dependiente de la dosis (Batish y col., 2007).

2.3.3. *Psittacanthus calyculatus* (injerto o muérdago mexicano)

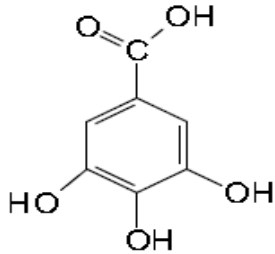
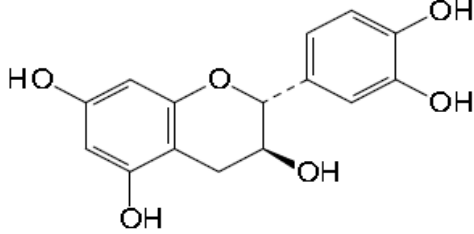
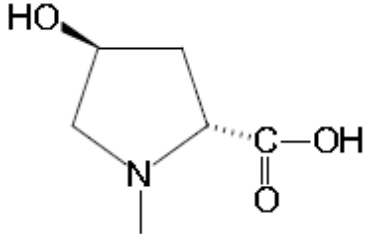
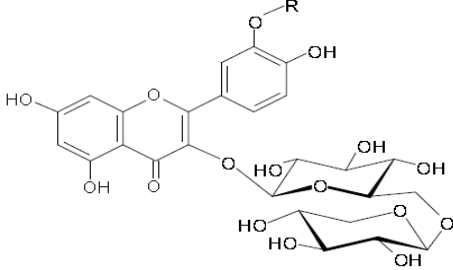
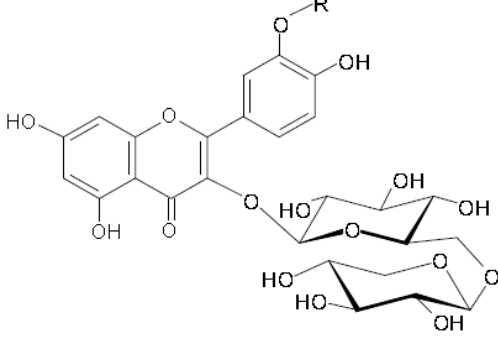
Psittacanthus es el único género de la familia *Loranthaceae* que se considera una plaga importante de bosques y tierras de cultivo en México y Centroamérica.

Psittacanthus calyculatus (DC.) G. Don (*Loranthaceae*) es ampliamente utilizado en la medicina tradicional mexicana para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares (Bah y col., 2011). Esta planta es un arbusto erecto de ramas gruesas y cuadradas, de hojas alargadas y gruesas. Sus flores, de color rojo anaranjado, son numerosas; parecen cerillos en las ramas. Sus frutos al madurar son negros (Lara y Azpeitia., 2006).

Habita áreas entre 2000–2400 m sobre el nivel del mar parasitando varias especies de árboles, tales como *Alnus acuminata* (aile), *Salix babylonica* (Sauce) y *Populus spp* (Álamo), así como árboles de interés económico como *Crataegus pubescens* (tejocote), *Persea americana* (aguacate), *Prunus serotina* (capulín) y *Malus domestica* (Lara y Azpeitia., 2006).

Estudios previos han señalado que el extracto acuoso obtenido de los tallos, hojas y flores de *P. calyculatus* presenta actividad hipoglucémica (Argueta, 1994). Posteriormente se determinó que el extracto etanólico de *P. calyculatus* produce una relajación, dependiente de la concentración, de la aorta aislada de rata, mediante un mecanismo dependiente de endotelio involucrando la vía de NO/GMPc (Rodríguez-Cruz y col., 2003). Por otra parte, Bah y col. (2011) aislaron 5 compuestos del extracto metanólico de *P. calyculatus* (Cuadro 3)

Cuadro 3. Compuestos aislados de *P. calyculatus*. (Bah y col., 2011)

Compuestos	
 <p>Acido gálico</p>	 <p>Catequina</p>
 <p><i>Trans</i>-4-hidroxi-<i>N</i>-metilprolina</p>	 <p>R= CH₃ Isoramnetina</p>
 <p>R=H quercetina-3-O-β-D-xilopiranosil (1→6)-β-D-glucopiranosido</p>	

2.3.4. *Prunus serotina* (capulín)

Prunus serotina es un árbol o arbusto monopódico, perennifolio o caducifolio, de 5 a 15 m de altura con un diámetro a nivel del pecho de hasta 1.2 m. Tiene copa ancha de forma ovoide que produce una sombra densa. Sus hojas son estipuladas, simples, alternas, cortamente pecioladas, ovadas a lanceoladas, de 5 a 16 cm de largo por 2 a 5 cm de ancho, margen aserrado, haz verde oscuro y brillante. Su tronco es largo y recto en el bosque, pero en los claros es corto y ancho. Las ramas son alternas, erguido-extendidas, lampiñas, escabrosas por la presencia de muchas lenticelas esparcidas. Tiene corteza café o grisácea casi lisa y glabra, exceptuando las ramas tiernas que a veces son pubescentes. Tiene numerosas flores, pequeñas y blancas, agrupadas en racimos axilares colgantes y largos, de 10 a 15 cm, con pedicelos de 5 a 10 mm de largo. Su fruto es color negro rojizo en la madurez, de 12 a 20 mm de diámetro, sabor agridulce y algo astringente; conteniendo una sola semilla. La semilla es esférica y rodeada por un endocarpio o hueso leñoso (almendra) de sabor amargo (Figura 4) (McVaugh, 1951).



Figura 4. El árbol de *P. serotina* y su fruto (Alveano, 2010).

Sus nombres comunes son: Capulín, Capulín Blanco (Rep. Mex.); Capulín (Mesa Central); Cerezo (Ario de Rosales, Mich.); Shencua, Shengua, Xengua (l. tarasca, Mich.); Cusabi (l. tarahumara, Chih.); Uasiqui, Jeco (l. guarigia, Chih.); Pakshumk (l.

mixe, Oax.); T-nundaya (l. mixteca, Oax.); Tzu'uri (l. cora, Nay.); Paté, Shimal-ma-lu (l. chontal, Oax.); Capuli taunday (l. zapoteco, Oax.); Xeugua (Mich.); Detze, Ghohto (l. Otomí). Este árbol se localiza en las regiones montañosas de México (McVaugh, 1951).

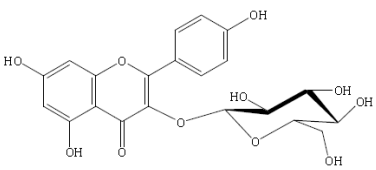
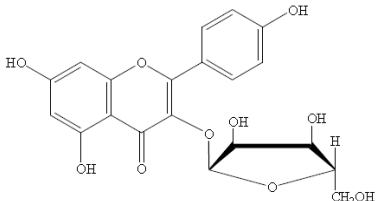
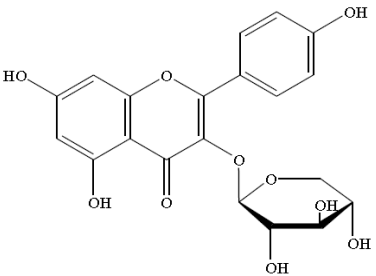
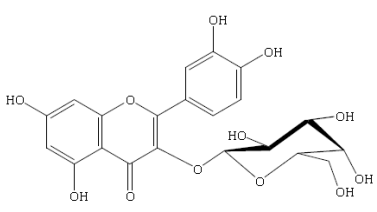
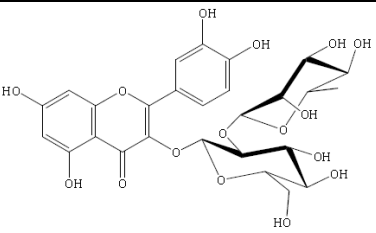
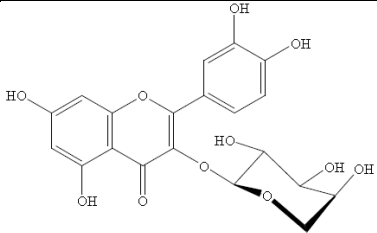
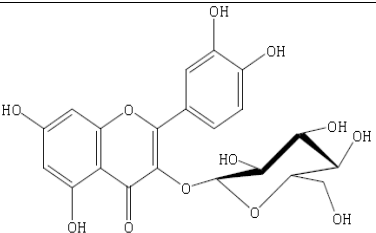
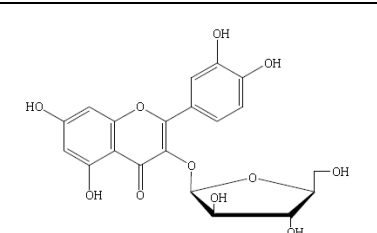
Estudios previos han reportado la purificación del aldehído ursólico y de un derivado de éste en las hojas de *P. serotina* (Biessels y col., 1974); también se han identificado glicósidos de quercetina, camferol e isoramnetina (Olszewska, 2005) (Cuadro 4). Estudios recientes de *P. serotina* permitieron la obtención de tres compuestos: dos flavonoides (el hiperósido y la prunina) y un triterpeno (el ácido ursólico) a partir del extracto metanólico de las hojas. Estos tres compuestos indujeron una relajación, dependiente de la concentración, de la aorta aislada de rata (Ibarra-Alvarado y col., 2009).

Por otra parte, se han encontrado los glicósidos cianogénicos prunasina y amigdalina en las semillas (Santamour y col., 1998).

En cuanto al fruto se ha reportado la presencia de antocianinas en la piel de éste (Ordaz-Galindo y col., 1999) y recientemente se han llevado a cabo estudios fitoquímicos y farmacológicos enfocados a identificar la presencia de compuestos con actividad vasodilatadora en el fruto de esta especie.

El estudio fitoquímico de los extractos no polares obtenidos del fruto permitió purificar tres triterpenos de tipo ursano que fueron identificados, mediante métodos espectroscópicos y espectrométricos, como el ácido ursólico, el aldehído ursólico y el uvaol (Luna, 2009). El análisis del aceite esencial indicó la presencia de cinamaldehído, alcohol cinámico, benzaldehído y alcohol bencílico como componentes mayoritarios. El análisis farmacológico de estos compuestos indicó que presentaban una relajación, dependiente de la concentración de la aorta aislada de rata (Luna, 2009; Ibarra-Alvarado y col., 2009). Adicionalmente se realizó el análisis de compuestos fenólicos del fruto identificando la presencia de hiperósido y el ácido clorogénico como los compuestos mayoritarios (Luna-Vázquez y col., 2013).

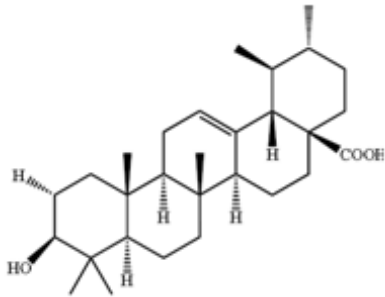
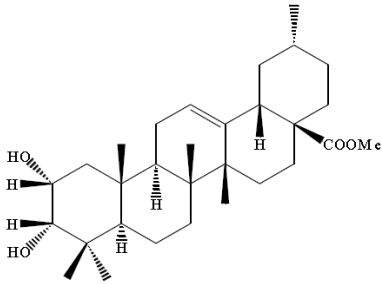
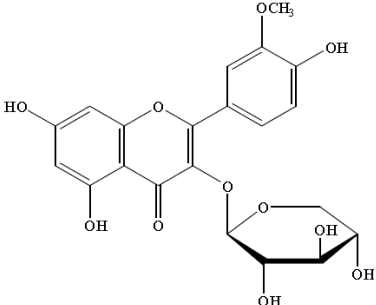
Cuadro 4. Compuestos presentes en *P. serotina*

Compuestos	
 <p>camferol-3-O-β-D-glucopiranosido (astragalina)</p>	 <p>camferol-3-O-α-L-arabinofuranosido (juglanina)</p>
 <p>camferol-3-O-β-D-xilopiranosido</p>	 <p>quercetina-3-O-galactosido (Hiperina)</p>
 <p>quercetina-3-O-(2''-O-α-L-ramnopiranosil)-β-D-glucopiranosido</p>	 <p>camferol-3-O-α-L-arabinopiranosido (guajaverina)</p>
 <p>quercetina-3-O-β-glucopiranosido (isoquercetrina)</p>	 <p>quercetina-3-O-α-L-arabinofuranosido (avicularina)</p>

Cuadro 4. Compuestos presentes en *P. serotina* (Continuación)

<p>Quercetina-3-O-rutinósido (rutina)</p>	<p>quercetina-3-O-(2''-O-α-L- ramnopiranosil)-β-D-galactopiranosido</p>
<p>isoramnetina-3-O-α-arabinofuranósido</p>	<p>isoramnetina-3-O-rutinósido</p>
<p>cianidina-3-O-glucósido</p>	<p>cianidina-3-O-rutinósido</p>
<p>Prunasina</p>	<p>Amigdalina</p>

Cuadro 4. Compuestos presentes en *P. serotina* (Continuación)

 <p>Aldehído ursólico</p>	 <p>2α,3α-dihidroxi-urs-12-en 28-ato de metilo</p>
 <p>isoramnetina-3-O-β-D-xilopiranosido</p>	

En otra serie de experimentos se encontró que el extracto acuoso del fruto de *P. serotina* relaja la musculatura lisa arterial de la rata, así como segmentos de tráquea e íleon de cobayo (Pacheco, 2011). Además, se determinó que el extracto acuoso del fruto presentó un efecto hipotensor en ratas con hipertensión inducida con L-NAME. Estos efectos farmacológicos son causados, en parte, por la presencia de una alta concentración de fenoles y flavonoides (Luna-Vázquez y col., 2013).

2.3.5. *Crataegus mexicana* (tejocote)

Crataegus mexicana Moc. Sessé, es un árbol de 4 a 8 m de altura, de crecimiento moderado que vive hasta 40 años. Sus hojas poseen pecíolos hasta de 1 cm de largo y tiene forma de láminas pecioladas, alternas, simples, romboideo-elípticas, ovadas u oblongas, de 3-11 cm de largo por 1-5 cm de ancho, ápice agudo u obtuso, borde aserrado, base cuneada, haz verde oscuro poco piloso o glabro, envés más pálido, esparcida o densamente pubescente; corimbos de pocas flores; sépalos, lanceolados, tomentosos, de alrededor de 5 mm de largo, subenteros o glanduloso-aserrados; pétalos, blancos, de 1 cm de largo o menos; fruto semejando una pequeña manzana amarillo-anaranjada, de 2-3 cm de diámetro; semillas cafés, lisas (Figura 5).

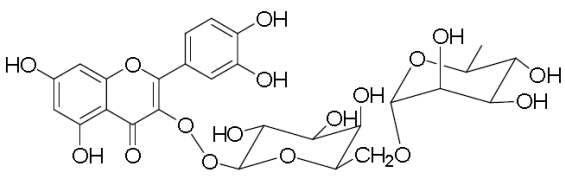
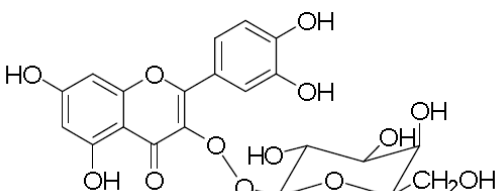
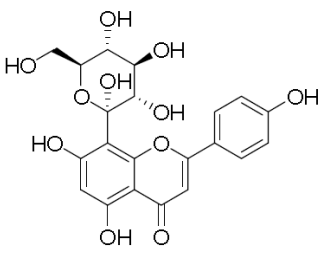
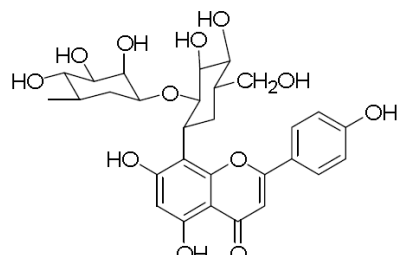
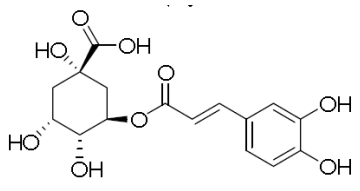
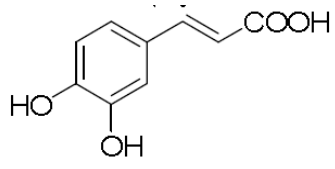


Figura 5. El árbol de *Crataegus mexicana* (tejocote)

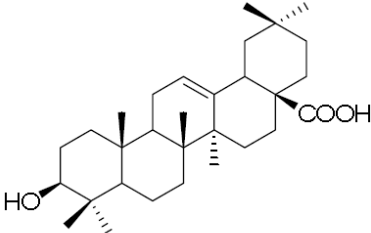
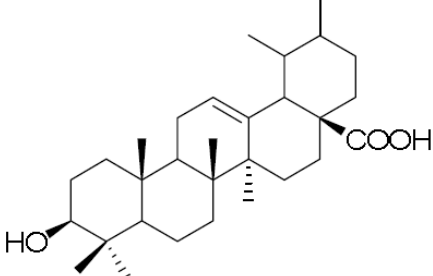
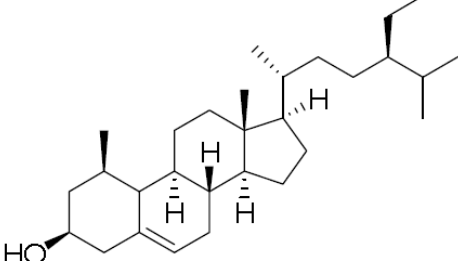
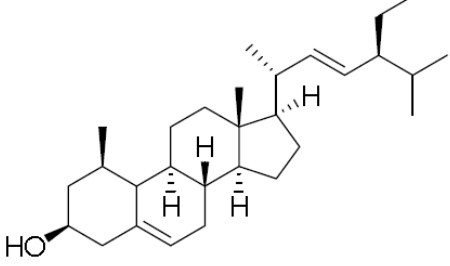
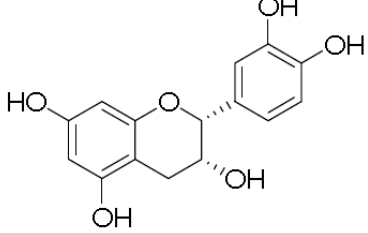
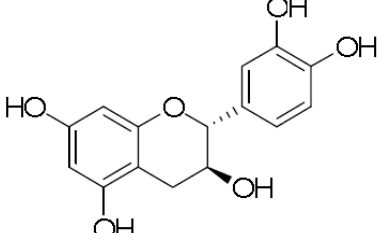
Sus nombres comunes son Beloui (lengua zapoteca, Oax.); caiasa, carasu (lengua tarasca, Mich.); el-pate-shima-lo (lengua chontal, Oax); pedyi (lengua mazahua, Méx.); tejocote (mesa central); pelo-uj, yaga-be-lohui (lengua zapoteca, Oax.); texócotl (lengua náhuatl, Méx.) (CONABIO, 2013).

El fruto del tejocote ha sido consumido en México desde tiempos prehispánicos y actualmente su cultivo, considerado de importancia económica menor, se encuentra distribuido principalmente en los estados de México, Puebla, Tlaxcala, Chiapas, Michoacán, Hidalgo y Morelos (Franco y col., 2009).

Cuadro 5. Compuestos aislados del género *Crataegus spp.*

Contenido	
 <p style="text-align: center;">Rutina</p>	 <p style="text-align: center;">Hiperósido</p>
 <p style="text-align: center;">Vitexina</p>	 <p style="text-align: center;">Ramnosido de vitexina</p>
 <p style="text-align: center;">Ácido Clorogénico</p>	 <p style="text-align: center;">Ácido caféico</p>

Cuadro 5. Compuestos aislados del género *Crataegus spp* (Continuación).

 <p>Ácido oleanólico</p>	 <p>Ácido ursólico</p>
 <p>sitosterol</p>	 <p>Estigmasterol</p>
 <p>Epicatequina</p>	 <p>Catequina</p>

Hasta el momento no hay reportes de estudios fitoquímicos de *C. mexicana*; sin embargo, en las hojas, flores, frutos y raíces de otras especies de *Crataegus* se han encontrado altas concentraciones de diversos metabolitos secundarios (Cuadro 5), tales como flavonoides, procianidinas oligoméricas de flavanoles, ácidos

fenólicos, ácidos triterpénicos, ácidos orgánicos y esteroides, así como epicatequina y catequina (Kumar y col., 2012).

En estudios previos, se demostró que los extractos alcohólicos de la hoja, flor, fruto, corteza y raíz del tejocote indujeron una disminución, dependiente de la concentración, de la contractilidad cardíaca sobre el corazón aislado de tortuga. El efecto más intenso fue provocado por las hojas, seguido por la corteza, las flores, las raíces y el fruto, en orden descendente (Argueta, 1994). Adicionalmente, se determinó que *Crataegus* puede mejorar el flujo sanguíneo de la arteria coronaria y las contracciones del músculo cardíaco. Por lo tanto, el extracto de esta especie vegetal es ampliamente utilizado en trastornos cardiovasculares como arritmia, infarto de miocardio, insuficiencia cardíaca congestiva (Kumar y col., 2012).

2.3.6. *Eriobotrya japonica* (níspero)

El níspero es un árbol de hasta 8 m de alto, con tronco pequeño de corteza café lisa con algunas cicatrices transversales. Copa globosa y densa y follaje permanente. Hojas ovaladas, de 25 x 10 cm, rugosas, cubiertas de terciopelo blanco a rojizo en el envés. Flores blancas bisexuales perfumadas, de hasta 1.7 cm, crecen en racimos cubiertos de terciopelo rojizo en la punta de las ramas. Fruto carnoso, jugoso y de sabor agridulce, amarillo al madurar y de 2 cm de diámetro, con 1 a 4 semillas café oscuro lustrosas. Actualmente es muy cultivado en regiones templadas de México. Utilizado como alimento, medicinal y productor de miel. Su fruto se come fresco y se utiliza en la elaboración de mermeladas (CONABIO; 2014).

2.3.7. *Cladocolea loniceroides* (muérdago)

Este tipo de muérdago son arbustos por lo general dioicos, usualmente glabros, parásitos de plantas leñosas; tallos cilíndricos o aplanados, erguidos o volubles; hojas laminares, opuestas o alternas, penninervadas; sus flores comúnmente están dispuestas en racimos. Pueden presentar raíces epicorticales sobre el tallo, en la

base de la planta o estar ausentes. Es una planta hemiparásita que en teoría sólo utiliza a sus hospedantes para extraer agua; sin embargo, en la zona chinampera de Xochimilco se observa que altos niveles de daño por *C. Ioniceroides* contribuyen en gran medida a la muerte de los árboles o los hace más susceptibles al ataque de otros agentes. Se distribuye en la zona central de México abarcando los estados de Jalisco, Michoacán, Guerrero, Oaxaca, Morelos y el Distrito Federal (Alvarado-Rosales, D. y Saavedra-Romero, L., 2005).

2.3.8. *Propolis (Propóleo)*

La palabra propóleo se deriva del griego *pro* (en defensa de) y *polis* (ciudad); con ella se designa la sustancia que recubre la colmena o *polis* de las abejas y cumple funciones defensivas. El propóleo es una sustancia resinosa y altamente adhesiva, recolectada, transformada y usada por las abejas para sellar los agujeros, fijar los panales de miel, pulir las paredes interiores y proteger la entrada contra los intrusos (Palomino y col., 2009; Bertelli y col., 2011).

Recientemente, los propóleos han ganado popularidad en la preparación de productos de uso tópico y también como nutraceuticos, es decir, como un producto aislado o purificado a partir de un material alimentario o biológico que proporciona beneficios a la salud o protección contra enfermedades crónicas. A los propóleos se les atribuye una amplia gama de actividades, tales como antibacteriana, antiinflamatoria, antineoplásica y efectos antioxidantes (Bertelli y col., 2011).

Su composición química es compleja y depende de la flora presente en el área de recolección; sin embargo, se han identificado como principales componentes: alcoholes, aldehídos, aminoácidos, ácidos alifáticos, ácidos aromáticos, ésteres aromáticos, flavonoides, ácidos grasos, ácidos *p*-cumáricos prenilados, ácidos cafeoilquínicos, lignanos, ácidos diterpénicos, triterpenos, esteroides y azúcares. Berterlli y col. (2011) realizaron un estudio de identificación de los componentes presentes en 65 muestras de propóleos. Los componentes mayoritarios

identificados fueron crisina, galangina, campferol, quercetina, ácido p-cumárico, naringenina, ácido cafeico, apigenina, pinostrobin y pinocebrina.

En relación a su efecto sobre el sistema cardiovascular, se han llevado a cabo experimentos para evaluar su actividad antihipertensiva. Los resultados obtenidos sugieren que los propóleos pueden producir un efecto antihipertensivo posiblemente mediado por la potenciación de la vasodilatación inducida por acetilcolina. (Yoko y col., 2004).

2.4. Vaso sanguíneo

2.4.1 Endotelio vascular

El endotelio vascular, un órgano estructuralmente simple y funcionalmente complejo, es una capa unicelular que cubre la superficie interna de los vasos sanguíneos y conforma la pared de los capilares. Lejos de ser sólo una barrera mecánica entre la sangre y los tejidos, es un órgano activamente comprometido en una gran variedad de procesos fisiológicos y patológicos. Debido a su ubicación estratégica detecta cambios en las fuerzas hemodinámicas que actúan sobre la pared vascular, así como señales químicas transportadas por la sangre y responde a ellas liberando sustancias vasoactivas, algunas de las cuales tienen funciones antagónicas como vasodilatadores y vasoconstrictores o hemostáticos y antihemostáticos (Vittone y Mundiña-Weilenmann, 2010).

El endotelio controla la respuesta vascular mediante la liberación de sustancias vasodilatadoras entre las que se incluyen la prostaciclina (PGI_2), el óxido nítrico (NO) y el factor hiperpolarizante derivado de endotelio (EDHF), así como de sustancias vasoconstrictoras como el tromboxano A₂ y las endotelinas (Yangisawa y col., 1988). La liberación de estos factores causada por diversos estímulos, desempeña un papel importante en la regulación local del flujo sanguíneo mediante

el balance entre las sustancias vasoconstrictoras y vasodilatadoras. (Moncada y col., 1988; Ochoa, 2008).

2.4.2 Músculo liso

Existen dos tipos de músculo liso, el más común es el músculo liso visceral (unitario), que se encuentra en las láminas de envoltura que forman parte de las paredes de arterias y venas pequeñas, así como de vísceras huecas. El músculo liso es autorrítico. Las fibras se conectan unas con otras mediante uniones de aberturas (nexos), de modo que el potencial de acción muscular se disemina por toda la red. Cuando un neurotransmisor, hormona o señal autorrítica estimula a una fibra, el potencial de acción muscular se disemina a las fibras circundantes, que se contraen al unísono, como una unidad. El otro tipo de músculo liso es el multiunitario, que se compone de fibras separadas, cada una con sus propias terminales de motoneuronas y unas cuantas uniones de hendiduras entre fibras adyacentes. La estimulación de una fibra muscular visceral produce contracción de muchas fibras adyacentes, mientras que la de una sola fibra multiunitaria hace que solo se contraiga dicha fibra. El músculo liso multiunitario es parte de las paredes de las grandes arterias, vías respiratorias hasta el nivel de los pulmones, músculos erectores del pelo en los folículos pilosos, músculos del iris y cuerpo ciliar (Tortora y Grabowsky, 2006).

Cada fibra (célula) contiene un núcleo de forma ovalada y en ubicación central. El sarcoplasma (citoplasma) de las fibras de músculo liso posee filamentos gruesos de miosina y filamentos delgados de actina, en proporción de 1:10 y 1:15, distribuidos en el sarcoplasma. Las fibras del músculo liso también contienen filamentos proteicos intermedios. Puesto que los filamentos no se superponen con regularidad, las fibras de músculo liso no poseen estrías, de lo cual ese deriva el calificativo de liso. Además carecen de túbulos T y en ellas es escaso el retículo sarcoplásmico para almacenar calcio. En comparación con la de músculo estriado, la contracción en las fibras de músculo liso se inicia con mayor lentitud y dura mucho más tiempo.

El modelo aceptado de contracción de las fibras musculares lisas establece que los filamentos delgados de actina, asociados a filamentos gruesos de miosina, se anclan por un extremo a cuerpos densos adheridos al sarcolema (membrana citoplasmática) y por el otro a filamentos intermedios a través de cuerpos densos citoplasmáticos. Por añadidura, el músculo liso se puede acortar y estirar en mayor grado que los otros tipos de músculo. (Tortora y Grabowsky, 2006).

Al aumentar la concentración de Ca^{2+} en el citosol de las fibras de músculo liso, empieza a contraerse. Los iones Ca^{2+} fluyen al citosol desde el líquido extracelular y el retículo sarcoplásmico, pero no hay túbulos transversos en las fibras de músculo liso, de modo que se requiere más tiempo para que el Ca^{2+} llegue a los filamentos del centro de la fibra y active el proceso de contracción (Tortora y Grabowsky, 2006)

2.5. Mecanismos de relajación

2.5.1. Óxido nítrico y su mecanismo de relajación

Furchgott y Zawadski descubrieron en 1980 el papel fundamental del endotelio como regulador de la vasodilatación, al describir el fenómeno de la relajación del músculo liso vascular dependiente de endotelio. Ellos demostraron que anillos arteriales previamente contraídos se podían relajar en respuesta a la acetilcolina sólo si las células endoteliales estaban intactas. Eliminando el endotelio anulaban la vasodilatación producida por acetilcolina, lo cual sugería que su efecto estaba mediado por alguna sustancia derivada de endotelio que se denominó EDRF (factor relajante derivado de endotelio). Posteriormente, se demostró que el EDRF era el NO (Vittone y Mundiña-Weilenmann, 2010).

El NO es lipofílico y se forma a partir del grupo guanidino del aminoácido semiesencial L-arginina en su conversión a L-citrulina, gracias a la acción de la enzima NO sintetasa (NOS); para su síntesis se requiere la presencia de cofactores

como: flavin mononucleótido (FMN), flavin adenina dinucleótido (FAD), tetrahidrobiopterina (BH₄) y NADPH. Se han identificado tres isoformas de NOS: la endotelial (NOSe) y la neuronal (NOSn) que son constitutivas y una inducible (NOSi). Las enzimas se codifican a partir de los cromosomas 7, 12 y 17, respectivamente. Las formas constitutivas forman parte de las células y su expresión es dependiente del calcio, en tanto que la forma inducible es expresada principalmente en condiciones de inflamación o infección y es independiente de este catión. La enzima endotelial está ubicada en la membrana celular y en algunas ocasiones en el citoplasma, mientras que la NOSn es fundamentalmente citosólica (Benavides y Pinzón, 2008).

A nivel intracelular, el NO activa la guanilato ciclasa soluble (sGC) y produce un cambio conformacional en el sitio catalítico, lo cual permite la conversión de guanosina-5-trifosfato a guanosina-3,5-monofosfato cíclica (GMPc), esta acción incrementa la concentración de GMPc celular hasta en 100 veces y reduce la cantidad de calcio intracelular, permitiendo la relajación muscular mediada por la proteína cinasa dependiente de GMPc (Benavides y Pinzón, 2008).

La activación de la sGC por la unión del NO a su grupo hemo origina diferentes respuestas en las células dianas o efectoras: vasodilatación, inhibición plaquetaria y aumento del GMPc (Leiva y col., 2000).

En el músculo liso vascular, los efectos del GMPc son mediados a través de proteínas cinasas y canales iónicos. El GMPc hiperpolariza la membrana celular, inhibiendo el influjo de calcio y disminuyendo la sensibilidad de los miofilamentos al mismo (Benavides y Pinzón, 2008).

El efecto vasodilatador de esta molécula es estimulado por diferentes factores entre los que se encuentran: la hipoxia, el flujo sanguíneo, la tensión de estiramiento, la histamina, la bradiquinina, la trombina, los ácidos grasos insaturados y la PGI₂; es inhibido a su vez por las endotelinas. Se han identificado además inhibidores de la

síntesis de NO entre los cuales se destacan: la hemoglobina, el azul de metileno y la N-monometil-L-arginina (L-NMMA) (Leiva y col., 2000).

2.5.2. Prostaciclina y su mecanismo de relajación

Los prostanoideos son una familia de mediadores lipídico bioactivos, formados por la ciclooxigenasa (COX) a partir del el ácido araquidónico (AA), contenido en la membrana celular de todas las células del cuerpo. Están involucrados en numerosas actividades fisiológicas, incluyendo la agregación plaquetaria, la vasodilatación y la vasoconstricción, la respuesta inflamatoria local y la adhesión celular de leucocitos al endotelio (Morita, 2002; Hinz, 2002).

Recientemente, varios tipos de receptores para PGE₂, PGF_{2α}, PGI₂, PGD₂, y tromboxano A₂ han sido caracterizados usando enfoques farmacológicos y bioquímicos. Los receptores de prostaglandinas son miembros de la superfamilia de receptores acoplados a proteínas G que parece contar con una estructura única que consta de siete segmentos transmembranales (Kimura y col., 2009).

La prostaciclina (PGI₂) es el prostanoide más abundante generado por las paredes vasculares y es producido por las células endoteliales a partir del ácido araquidónico, derivado de la prostaglandina H₂, a través de la acción de la enzima COX-PGI₂ sintetasa. La PGI₂ es descrita como un vasodilatador derivado de endotelio que, por estimulación del receptor PGI₂ (receptor IP) y la activación de la adenilato ciclasa (AC), induce un incremento en la concentración intracelular de AMPc a partir de ATP, provocando la activación de una proteína quinasa específica llamada proteína quinasa dependiente de AMPc (PKA), de manera que produce relajación del músculo liso. Además, la elevación de los niveles de AMPc produce hiperpolarización, la cual es causada por la abertura de uno o más tipos de canales de potasio. Por lo tanto, la relajación inducida por PGI₂ puede estar asociada con K-

ATP, BK_{Ca} y canales de potasio rectificadores de entrada (Feletou y Vanhoutte, 2006).

Los principales factores capaces de estimular la síntesis y la liberación de PGI₂ son la angiotensina II, la acetilcolina (ACh) o la bradiquinina (BK), así como productos liberados de las plaquetas como la serotonina y el factor de crecimiento liberado de plaquetas (Navarro-Cid y col., 1999).

2.5.3 Factor hiperpolarizante derivado de endotelio (FHDE)

El factor hiperpolarizante derivado de endotelio produce vasodilatación mediante un mecanismo de acción independiente del NO y de los prostanoideos, y está asociado con la hiperpolarización de células del musculo liso vascular, sin embargo no se ha caracterizado completamente. Evidencia experimental demuestra que la vasodilatación provocada por el EDHF inicia con la activación de los canales de potasio (K_{Ca} y K_{ATP}) que conduce a la hiperpolarización del músculo liso vascular (Crane y col., 2003).

La hiperpolarización dificulta la apertura de los canales de Ca²⁺ voltaje dependiente del musculo liso, la cual conduce a una caída de concentración intracelular de Ca²⁺ y por último, a relajación. Se ha observado que la vasodilatación puede ser producida por una serie de EDHFs, entre los que se encuentran los ácidos epoxieicosatrienoicos generados por el citocromo P450 (ETTs) (metabolitos del AA), productos de la lipoxigenasa, el NO, el peróxido de hidrógeno, el AMPc y posiblemente los péptidos natriuréticos. Por otra parte, la contribución de estos posibles EDHFs a la respuesta vasodilatadora, dependientes de endotelio, parece variar considerablemente entre los diferentes lechos vasculares y especies, y es probable que existan varios EDHFs diferentes que pueden actuar por separado o interactuar sinérgicamente (Grgic y col., 2009).

3. HIPÓTESIS

Los extractos preparados a partir de las plantas *Cladocolea Ioniceroides* (muérdago) y *Eriobotrya japonica* (níspero) y propóleos, así como los flavonoides y triterpenos identificados en las especies *Haematoxylon brasiletto* (palo Brasil), *Chenopodium murale* (quelite cenizo), *Psittacanthus calyculathus* (injerto), *Prunus serotina* (capulín), *Crataegus mexicana* (tejocote), usados en la medicina tradicional para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, relajan el músculo liso vascular.

4. OBJETIVOS

4.1. GENERAL

Determinar el efecto vasodilatador de los extractos obtenidos de las especies *Cladocolea loniceroides* (muérdago) y *Eriobotrya japonica* (níspero) y de 8 propóleos, utilizados en la medicina tradicional mexicana, así como de 3 flavonoides y 2 triterpenos identificados en las especies vegetales *Haematoxylon brasiletto* (palo Brasil), *Chenopodium murale* (quelite cenizo), *Psittacanthus calyculathus* (injerto), *Prunus serotina* (capulín), *Crataegus mexicana* (tejocote) y en los propóleos.

4.2. ESPECÍFICOS

- Determinar, mediante el ensayo de aorta aislada de rata, el efecto relajante de los extractos obtenidos de las hojas, las ramas y los tallos de *Cladocolea loniceroides*, así como de los extractos obtenidos de *Eriobotrya japonica*.
- Determinar, mediante el ensayo de aorta aislada de rata, el efecto relajante de 8 diferentes propóleos obtenidos del centro de México.
- Determinar, mediante el ensayo de aorta aislada de rata, el efecto relajante de los flavonoides acacetina, 4'-7-dimetil-naringenina y crisina y los triterpenos ácido oleanólico y ácido corosólico.

5. METODOLOGÍA

5.1. Materiales

5.1.1. Especímenes biológicos

5.1.1.1. Extractos y propóleos

Las especies seleccionadas para su evaluación farmacológica fueron: *Haematoxylon brasiletto* (palo Brasil), *Chenopodium murale* (quelite cenizo), *Psittacanthus calyculathus* (injerto), *Prunus serotina* (capulín), *Crataegus mexicana* (tejocote), *Cladocolea loniceroides* (muérdago) y *Eriobotrya japonica* (níspero) y propóleos (acuex, búho, valentín, trojes, nico, cuetzalán, pinotepa y guanajuato), las cuales fueron proporcionadas por el Dr. José Fausto Rivero Cruz del Departamento de Farmacia de la Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México.

Cuadro 6. Origen y su clave de identificación de extractos y propóleos

Muestra	Origen
Propóleo Acuex	Delegación Milpa Alta
Propóleo Buho	Delegación Milpa Alta
Propóleo Valentín	Delegación Milpa alta
Propóleo Trojes	Delegación Milpa Alta
Propóleo Nico	Delegación Tlalpan
Propóleo Cuetzalán	Cuetzalán Puebla
Propóleo Pinotepa	Pinotepa Nacional, Oaxaca
Propóleo Guanajuato	Silao, Guanajuato
Acacetina	Aislado de los propóleos de la Delegación Milpa Alta
4',7-dimetil-naringenina	Aislado de los propóleos de la Delegación Milpa Alta
Crisina	Aislado de los propóleos de Puebla y Delegación Milpa Alta

Cuadro 6. Origen y su clave de identificación de extractos y propóleos (Continuación)

Ácido oleanólico	Aislado de hojas de capulín y del níspero
Ácido corosólico	Aislado de hojas de capulín y del níspero
CLA hojas	Extracto de las hojas de <i>Cladocolea Ioniceroides</i>
CLA ramas	Extracto de las ramas de <i>Cladocolea Ioniceroides</i>
EtOH hojas	Extracto etanólico de las hojas de <i>Cladocolea Ioniceroides</i>
EtOH tallos	Extracto etanólico de los tallos de <i>Cladocolea Ioniceroides</i>
Extracto HN	Extracto de las hojas de níspero
F1-F6HN	Fracción derivada del extracto de níspero

5.1.1.2. Animales de experimentación

Se utilizaron ratas macho (250-300 g) de la cepa Wistar.

5.1.2. Compuestos químicos y solventes

La fenilefrina (Phe), la acetilcolina (ACh) y las sales que se utilizaron para preparar la solución fisiológica empleada en los ensayos de aorta aislada de rata (solución de Krebs-Heinseleit), así como el resto de los reactivos que se utilizaron en las evaluaciones farmacológicas se obtuvieron de Sigma o J.T Baker.

5.2. Métodos

5.2.1. Evaluación *in vitro* de los diferentes extractos y propóleos

5.2.1.1. Solución de Krebs-Heinseleit

126.8 mM NaCl, 5.9 mM KCl, 2.5 mM CaCl₂, 1.2 mM MgCl₂, 30 mM NaHCO₃, 1.2 mM NaH₂PO₄ y 5.0 mM D-glucosa.

5.2.1.2. Ensayo de aorta aislada de rata

Se anestesiaron las ratas con cloroformo y se sacrificaron por decapitación. Después se removió la aorta torácica descendente y se colocó en una solución fría de Krebs-Henseleit. Posteriormente se eliminó todo el tejido adiposo y conectivo y se cortó en anillos de 4 a 5 mm. Los anillos se montaron en cámaras de tejido aislado de 7 ml conteniendo solución de Krebs-Henseleit a 37°C, las cuales se burbujearon constantemente con una mezcla de oxígeno-dióxido de carbono 95:5. Las contracciones mecánicas se registraron isométricamente por medio de transductores de fuerza Grass modelo FTO3, acoplados a un polígrafo Grass de 6 canales modelo 7-8 P. El tejido se dejó equilibrar realizando tres lavados con solución de Krebs-Henseleit a 37°C a intervalos de 10 minutos y sometiénolo a una tensión de reposo (basal) de 1.5 g. Una vez que el tejido alcanzó el equilibrio, los segmentos se pre-contrajeron con KCl (100 mM) por aproximadamente 10 minutos. Se realizaron otros tres lavados con solución Krebs-Henseleit a 37°C a intervalos de 10 minutos; después del último lavado los anillos se llevaron a la tensión basal de 1.5 g. Los segmentos de aorta se contrajeron con 1 μ M de fenilefrina (Phe) por 20 minutos y se evaluaron los diferentes extractos, propóleos y compuestos puros en un rango de concentraciones de 1-1000 μ g/ml, preparados a partir de una solución concentrada de 30 mg de extracto, propóleo o compuesto puro disueltos en 50 μ L de dimetilsulfoxido (DMSO) y 1750 μ L de agua tridestilada. A partir de esta solución se prepararon dos diluciones 1:10 y 1:100 para obtener las diferentes concentraciones de prueba que se adicionaron a las cámaras de tejido aislado cada 10 minutos. Las evaluaciones se realizaron empelando la Ach como control positivo.

5.2.1.3 Análisis de los datos obtenidos en la evaluación farmacológica

Se realizaron al menos 4 evaluaciones para cada una de las concentraciones de los extractos o compuestos de prueba. En cada caso se calcularon los promedios \pm SEM (Error estándar del promedio). La construcción de las curvas concentración respuesta (CCR), se realizó mediante un programa de ajuste no lineal (PRISMA

5.0). Se calculó la concentración efectiva media (CE_{50}) y el efecto máximo (E_{max}). Las diferencias estadísticas entre las CE_{50} se analizaron mediante la prueba de t Student para muestras no pareadas.

6. RESULTADOS

6.1 Determinación del efecto vasodilatador de propóleos sobre la aorta aislada de rata.

Se realizaron las curvas concentración-respuesta para las muestras de propóleos observándose un efecto relajante, dependiente de la concentración, de la aorta aislada de rata como se muestra en las Figuras 6 y 7; la acetilcolina (ACh) se empleó como control positivo. El efecto máximo (E_{max}) y la concentración efectiva media (CE_{50}) se muestran en el Cuadro 7.

Cuadro 7. CE_{50} y E_{max} del efecto relajante inducido por los extractos a partir de los diferentes propóleos.

Muestra	E_{max} (%)	EC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
ACh	67.6 ± 3.2	8.6 ± 1.4
Propóleo Acuex	100.0 ± 1.5	603.5 ± 37.8
Propóleo Buho	100.0 ± 2.2	70.1 ± 8.6
Propóleo Valentín	79.3 ± 5.1	150.4 ± 12.3
Propóleo Trojes	88.1 ± 4.9	139.6 ± 15.7
Propóleo Nico	100.0 ± 2.0	242.9 ± 18.7
Propóleo Cuetzalán	23.9 ± 1.2	7.52 ± 2.1
Propóleo Pinotepa	50.3 ± 2.9	71.22 ± 6.2
Propóleo Guanajuato	115.7 ± 2.7	231.9 ± 18.3

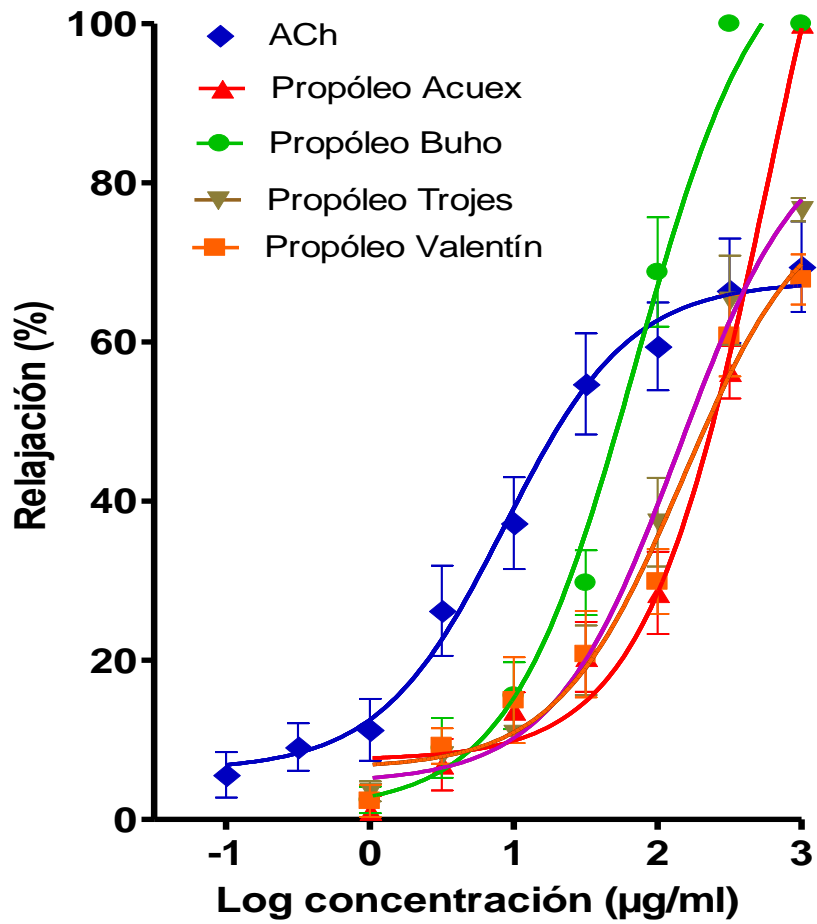


Figura 6. Curva concentración-respuesta del efecto relajante de los propóleos Acuex, Búho, Trojes y Valentín.

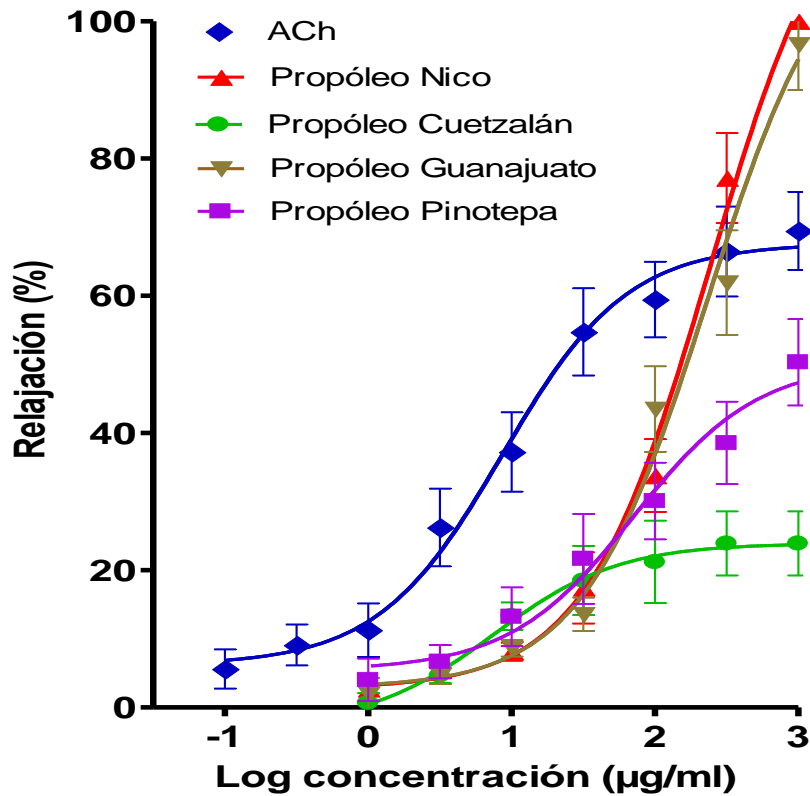


Figura 7. Curva concentración-respuesta del efecto relajante de los propóleos Nico, Cuetzalán, Guanajuato y Pinotepa.

6.2 Determinación del efecto vasodilatador de flavonoides sobre la aorta aislada de rata.

Se realizaron las curvas concentración-respuesta para los flavonoides acacetina, crisina y 4',7- dimetil-naringenina, compuestos puros extraídos a partir de un propóleo obtenido en el apiario de Trojes obteniéndose como resultado una relajación, dependiente de la concentración, de la aorta aislada de rata. También se empleó la ACh como control positivo como se muestra en la figura 8. En el cuadro 8 se muestran el efecto máximo (E_{max}) y la concentración efectiva media (CE_{50}) de los tres compuestos.

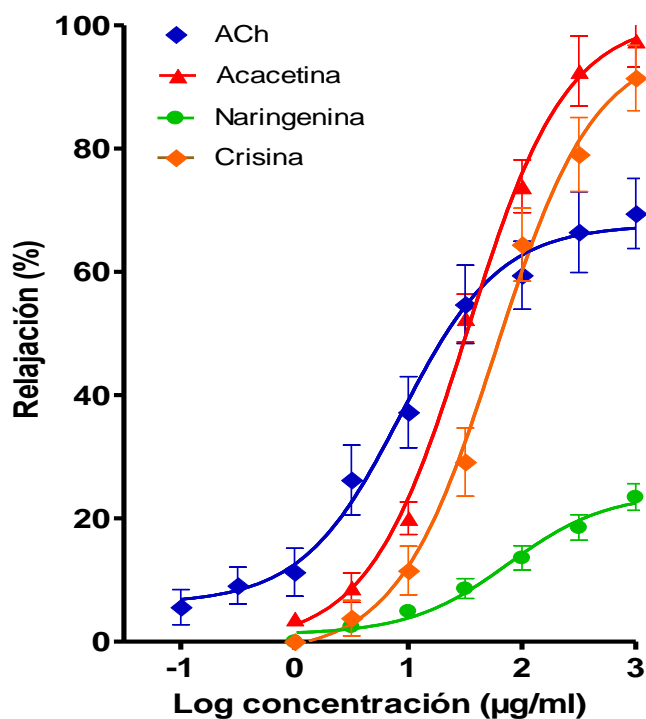


Figura 8. Curvas concentración respuesta para los flavonoides acacetina, crisina y 4',7-dimetil-naringenina.

Cuadro 8. CE_{50} y E_{max} del efecto relajante inducido por los extractos a partir de los diferentes propóleos.

Muestra	E_{max} (%)	EC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
ACh	67.6 ± 3.2	8.6 ± 1.4
Acacetina	100.0 ± 1.3	33.18 ± 4.2
4',7-dimetil-naringenina	24.1 ± 2.5	76.10 ± 8.1
Crisina	96.7 ± 2.6	59.1 ± 3.7

6.3 Determinación del efecto vasodilatador de triterpenos sobre la aorta aislada de rata.

Se evaluaron los triterpenos ácido oleanólico y ácido corosólico, observándose una relajación, dependiente de la concentración, de la aorta aislada de rata como se muestra en la figura 9. Se utilizó la acetilcolina (ACh) como control positivo. En el cuadro 9 se muestra el efecto máximo (E_{max}) y la concentración efectiva media (CE_{50}) de dichos triterpenos.

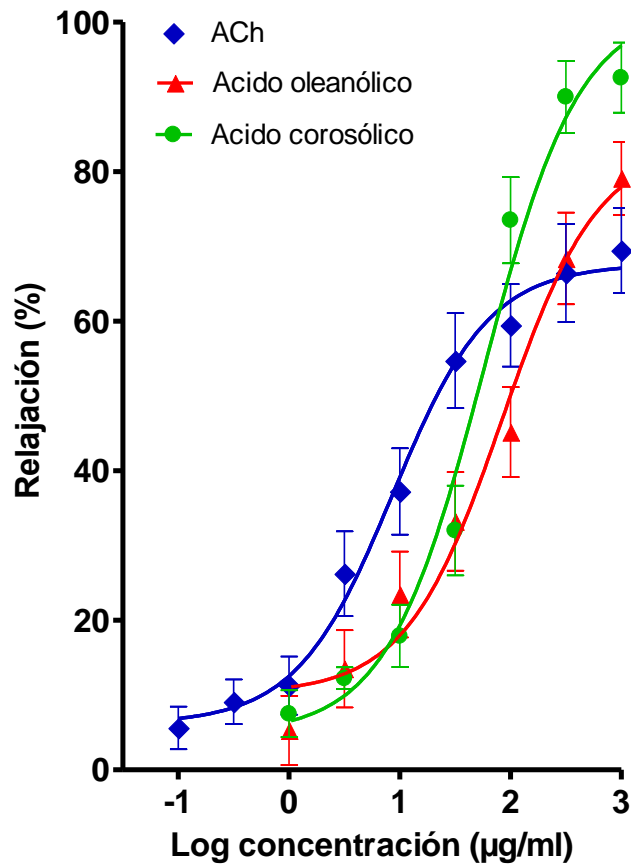


Figura 9. Curvas concentración respuesta para los triterpenos ácido oleanólico y ácido corosólico.

Cuadro 9. CE_{50} y E_{max} del efecto relajante inducido por los triterpenos

Muestra	E_{max} (%)	EC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
ACh	67.6 ± 3.2	8.6 ± 1.4
Ácido oleanólico	83.7 ± 4.4	84.5 ± 4.2
Ácido corosólico	87.5 ± 4.2	57.3 ± 2.8

6.4 Determinación del efecto vasodilatador de diferentes extractos sobre la aorta aislada de rata.

Adicionalmente se realizaron las evaluaciones farmacológicas de los extractos obtenidos de *Cladocolea loniceroides* (muérdago) y *Eriobotrya japonica* (níspero) observándose una relajación, dependiente de la concentración, de la aorta aislada de rata para la muestra F1 F6 HN (níspero) (Figura 10). Los extractos HN y EtOH tallos presentaron un efecto vasodilatador que disminuye al aumentar la concentración; los extractos EtOH hojas y CLA ramas muestran un efecto relajante de la musculatura lisa arterial que no es proporcional a la concentración (Figura 11). El extracto hojas presentó un ligero efecto vasoconstrictor que disminuye a concentraciones altas. En los cuadros 10 y 11 se muestran el efecto máximo (E_{max}) y la concentración efectiva media (CE_{50}) de dichos extractos.

Cuadro 10. CE_{50} y E_{max} del efecto relajante inducido por el extracto F1F6HN

Muestra	E_{max} (%)	EC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
ACh	67.6 ± 3.2	8.6 ± 1.4
F1 F6 HN	64.1 ± 4.0	112.3 ± 9.3

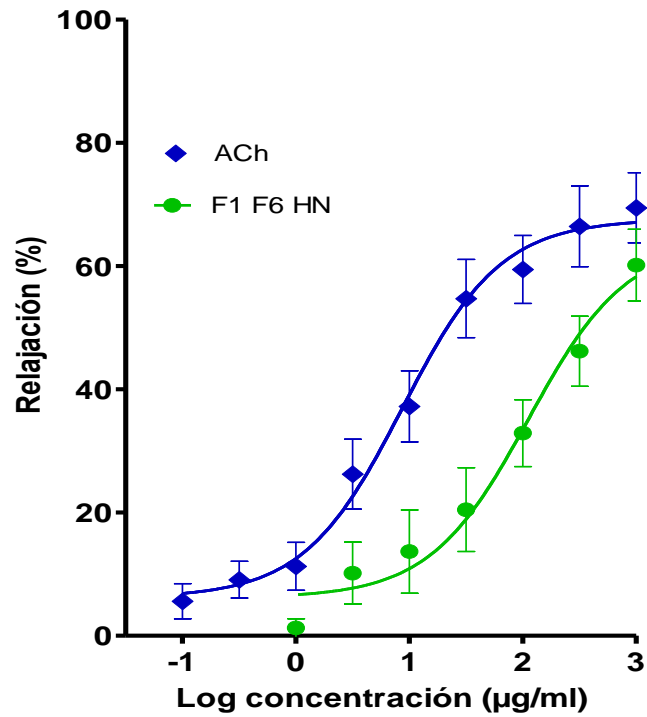


Figura 10. Curvas concentración respuesta para los extractos Trojes y F1 F6 HN.

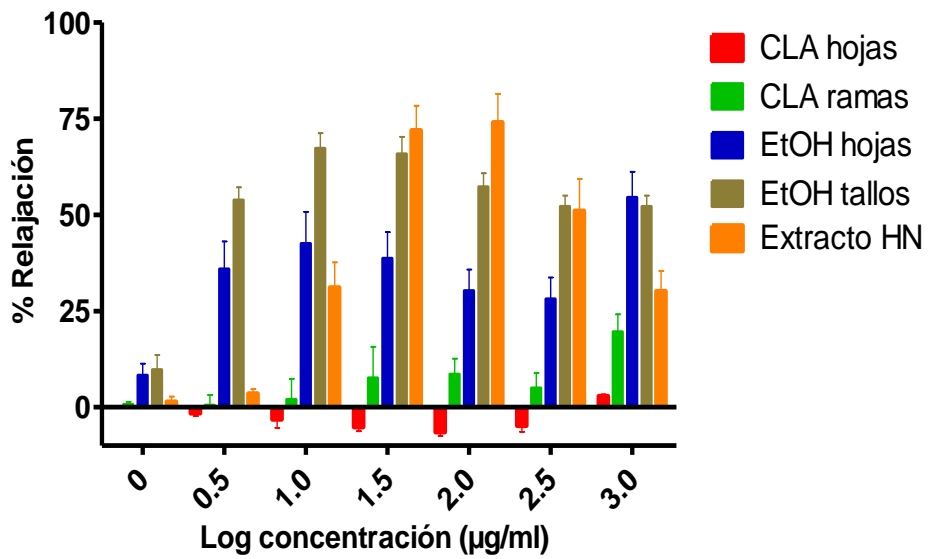


Figura 11. Efecto vasodilatador de los extractos CLA hojas, CLA ramas, EtOH hojas, EtOH tallos y HN.

Cuadro 11. Porcentaje de relajación máxima de los diferentes extractos evaluados

Extracto	% Relajación máxima
ACh	67.6 ± 3.2
CLA hojas	2.8 ± 0.5
CLA ramas	19.6 ± 4.5
EtOH hojas	54.4 ± 6.7
EtOH tallos	65.8 ± 4.4
Extracto HN	74.0 ± 7.4

7. DISCUSIÓN

El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto vasodilatador de los extractos de plantas y propóleos que se emplean en la medicina tradicional mexicana para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares.

Con tal finalidad se evaluó el efecto que tenían las sustancias a prueba sobre las contracciones inducidas por fenilefrina en la aorta aislada de rata. Este método constituye un modelo sencillo que nos permite evaluar el efecto que tienen las sustancias sobre el tono vasomotor.

Los resultados obtenidos indicaron que los extractos, propóleos y compuestos puros evaluados ejercen tres tipos de efectos sobre el tono del músculo liso arterial: un efecto relajante, un efecto contráctil y un efecto bifásico. Los propóleos, los flavonoides, los triterpenos y el extracto F1H1F6 producen una relajación, dependiente de la concentración, de la aorta aislada de rata. En contraste, el extracto CLA hojas presenta un efecto contráctil. Finalmente, los extractos de CLA ramas, EtOH hojas, EtOH tallos y HN inducen un efecto bifásico caracterizado por una fase inicial de relajación, seguida de una variación en la relajación a diferentes concentraciones.

En las Figura 6 y 7 se muestran las curvas de concentración-respuesta del efecto relajante de los propóleos Nico, Cuetzalán, Guanajuato, Pinotepa, Acuex, Búho, Trojes y Valentín. A partir de estas curvas se obtuvieron los valores de la concentración efectiva media (CE_{50}) y el efecto máximo (E_{max}). Al observar el Cuadro 7 con los valores de las CE_{50} y haciendo una comparación entre los ocho propóleos podemos notar que el más potente es el de Cuetzalán ($CE_{50} = 7.52 \pm 2.1$) y el menos potente es el Acuex ($CE_{50} = 603.5 \pm 37.8$). Por otra parte, con relación al valor de E_{max} , el cual se relaciona con la efectividad de las sustancias de prueba, se determinó que el propóleo con un mayor efecto relajante fue el Guanajuato con una $E_{max} = 115.7 \pm 2.7$, seguido de los propóleos Acuex ($E_{max} = 100.0 \pm 1.5$), Nico ($E_{max} = 100.0 \pm 2.0$) y Buho ($E_{max} = 100.0 \pm 2.2$). El propóleo que induce un menor efecto relajante es el Cuetzalán ($E_{max} = 23.9 \pm 1.2$).

Respecto a los flavonoides evaluados (acacetina, 4',7-dimetil-naringenina y la crisina) las curvas concentración-respuesta de estos compuestos indican una relajación, dependiente de la concentración, de la aorta aislada de rata. Al calcular su CE_{50} y el E_{max} se puede observar una correlación entre la potencia y la eficacia, siendo el flavonoide con mayor potencia y eficacia la Acacetina ($CE_{50}= 33.18 \pm 4.2$ y $E_{max}= 100.0 \pm 1.3$) mientras que la 4',7-dimetil-naringenina fue la menos potente y eficaz ($CE_{50}= 76.10 \pm 8.1$ y $E_{max}= 24.1 \pm 2.5$). Estos resultados sugieren que los flavonoides ejercen un efecto relajante de la musculatura lisa vascular de manera dependiente de la estructura del compuesto. El principal mecanismo de acción parece relacionado con la inhibición de la PKC o con alguno de los procesos activados por ésta, aunque la inhibición de otras cinasas, de las PDE de nucleótidos cíclicos y el bloqueo de la entrada de calcio, pueden contribuir al efecto en mayor o menor medida (Álvarez y Orallo, 2003).

Por otra parte, se realizaron las curvas concentración-respuesta de los ácidos oleanólico y corosólico, pertenecientes al grupo de los triterpenos (Figura 9), observándose que el compuesto que presentó mayor potencia fue el ácido corosólico ($CE_{50}= 57.3 \pm 2.4$ y $E_{max}= 87.5 \pm 4.2$); sin embargo, aunque el ácido oleanólico presentó menor potencia, ésta fue 30 veces mayor que el valor reportado por Rodríguez-Rodríguez y col. (2004).

Respecto a la evaluación de la actividad vasodilatadora de los extractos en estudio, los resultados indicaron que sólo el extracto F1-F6 HN (Figura 10) indujo un efecto relajante de la musculatura lisa arterial presentando una potencia 14 veces menos potente ($CE_{50}= 112.3 \pm 9.3$ y $E_{max}= 64.1 \pm 4.0$) que el control positivo

Con relación al extracto de obtenido de las hojas de *Cladoclea*, éste indujo un efecto contráctil sobre la aorta aislada de rata; sin embargo, a concentración alta se presentó un efecto relajante logrando una $E_{max}= 2.8 \pm 0.5$. En contraste, el extracto obtenido de las ramas de esta especie indujo un efecto bifásico con una relajación máxima de 19.6 ± 4.5 .

Finalmente, los extractos etanolicos de *Cladocolea Ioniceroides* de hojas y tallos, al igual que el extracto de hojas níspero presentaron un efecto bifásico sobre el tono del músculo liso arterial de rata. Este efecto se caracterizó por una relajación inicial, seguida por una disminución en la relajación (Figura 11); sin embargo, en los tres casos el efecto relajante fue más pronunciado que el contráctil, debido a que posiblemente en dichos extractos exista una mezcla de compuestos que induzcan de manera preferente la relajación vascular junto a otros que probablemente posean un efecto contráctil.

Los resultados obtenidos apoyan la hipótesis que señala que estos extractos y compuestos puros efectivamente poseen un efecto relajante de la musculatura lisa arterial y por lo tanto, pueden ser útiles en el tratamiento y prevención de algunas enfermedades cardiovasculares.

8. CONCLUSIONES

Los propóleos Nico, Cuetzalán, Guanajuato, Pinotepa, Acuex, Búho, Trojes y Valentín, mostraron una relajación del músculo liso vascular.

Los flavonoides acacetina, 4',7-dimetil-naringenina y crisina indujeron un efecto relajante de la musculatura lisa vascular, siendo la acacetina el compuesto con mayor eficacia y potencia.

Los ácidos oleanólico y corosólico presentaron un efecto relajante en la aorta aislada de rata, siendo el ácido corosólico el triterpeno con mayor potencia y eficacia.

El extracto F1-F6 HN fue el único extracto evaluado que indujo una relajación, dependiente de la concentración, de la aorta aislada de rata.

Los extractos CLA Ramas, EtOH hojas y tallos, así como el extracto HN, indujeron un efecto bifásico, caracterizado por una fase inicial de relajación, seguida de una fase de aumento del tono muscular.

El extracto CLA Hojas contiene compuestos capaces de inducir un aumento en el tono muscular de la aorta.

Los resultados derivados del presente estudio muestran que los propóleos evaluados así como los flavonoides, triterpenos y el extracto F1-F6 HN presentan un efecto vasodilatador significativo que corrobora el uso de estos productos naturales en el tratamiento de algunos padecimientos del sistema cardiovascular.

9. REFERENCIAS

- Ahmed**, A. y Elmazar, A. **1997**. Isolation of Hypotensive Flavonoids from *Chenopodium* Species Growing in Egypt. *Phytotherapy research*. 11: 564-567.
- Alvarado-Rosales**, D. y Saavedra-Romero, L. de L. El género Cladocolea (Loranthaceae) en México: muérdago verdadero o injerto. **2005**. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*. 11 (1): 5-9.
- Álvarez**, C. y Orallo, C. **2003**. Actividad biológica de los flavonoides, acción cardiovascular y sanguínea. Facultad de Farmacia. Universidad de Santiago. 22: 102-110.
- Alveano**, A. I. **2010**. Estudio químico y farmacológico de la semilla de *Prunus serotina*. Santiago de Querétaro. Universidad Autónoma de Querétaro. 4-14.
- Argueta**, A. **1994**. www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/atlas.php
- Bah**, M., Gutiérrez-Avella D., Fuentes-Ordaz R., Castañeda-Moreno R., Martínez M. **2011**. Chemical Constituents of the Mexican Mistletoe (*Psittacanthus calyculatus*). *Molecules*. 16: 9397-9403
- Bashir**, A., Qasim, J., Bashir, S., Nisar, M. **2003**. Pharmacological and biological investigation of *Chenopodium murale* Linn. *Asian Journal of Plant Sciences*. 2: 1107-1111.
- Bashir** A., Qasim, J., Bashir, S., Nisar, M. **2003**. Phytochemical evaluation of *Chenopodium murale* Linn. *Asian Journal of Plant Sciences*. 2: 1072-1078.
- Batish** D., Lavanya, K., Ravinder, K. **2007**. Phenolic allelochemicals released by *Chenopodium murale* affect the growth, nodulation and macromolecule content in chickpea and pea. *Plant Growth Regul.* 51:119-128.
- Bautista** M. **2007**. Monografías de plantas utilizadas como anti cancerígenas en la medicina tradicional hidalguense, Pachuca. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. 59-62.
- Benavides** M. y Pinzón, A. **2008**. Óxido nítrico: implicaciones fisiopatológicas. *Rev. Col. Anest.* 36: 45-52.

Bertelli, D., Papotti, G., Bortolotti, L., Marcazzan, G. y Plessi, M. 2012. H-NMR Simultaneous Identification of Health- Relevant Compounds in Propolis Extracts. *Phytochemical Analysis*. 23: 260–266

Biessels, H. W. A., Van Der Kerk-Van Hoof, A. C., Kettens-Van Den Bosch, J. J., and Salemink, C. A. 1974. Triterpenes of *Prunus Serotina* and *Prunus Lusitanica*. *Phytochemistry*. 13: 203-207.

Boshier, D., Cordero, J. 2010. www.arbolesdecentroamerica.info **2010.**

CONABIO. Comisión Nacional para el Conocimiento de la Biodiversidad. Marzo 7 de **2013.**

CONABIO. Biodiversidad Mexicana. Níspero.
[http://www.biodiversidad.gob.mx/Difusion/cienciaCiudadana/urbanos/ficha.php?item=Eriobotrya japónica](http://www.biodiversidad.gob.mx/Difusion/cienciaCiudadana/urbanos/ficha.php?item=Eriobotrya_japónica). Fecha de acceso: 12 de marzo de **2014.**

Córdova, T. 2009. Estudio farmacológico del extracto metanólico y de la hematoxilina obtenida a partir de la corteza de *Haematoxylon brasiletto* (Palo de Brasil). Santiago de Querétaro. Universidad Autónoma de Querétaro. 25-39.

Crane, G., Gallagher N., Dora K., Garland C. 2003. Small and intermediate conductance calcium-activated K⁺ channels provide different facets of endothelium depend hyperpolarization in rat mesenteric artery. *Journal of physiology*. 553(1). 183-189.

Feletou, M., Vanhoutte, P. 2006. Endothelium-derived hyperpolarizing factor where are we now? *Arteriosclerosis, thrombosis and vascular biology*. 8(1): 11-25.

Franco-Mora, O., Aguirre-Ortega, S., Morales-Rosales, E., González-Huerta A. y Gutiérrez-Rodríguez F. 2009. Caracterización morfológica y bioquímica de frutos de tejocote (*Crataegus mexicana* DC.) de Lerma y Ocoyoacac, México. *Ciencias Naturales y Agropecuarias*. 17: 61-66.

Frenk, J., Ruelas, E. 2001. Programa de acción. Enfermedades cardiovasculares e hipertensión arterial. 1: 16-22.

Grgic, I., Kaistha, P., Hoyer, J., Kohler, R. 2009. Endothelial Ca²⁺ activated K⁺ channels in normal and impaired EDHF-dilator responses relevance to cardiovascular pathologies and drug discovery. *British Journal of Pharmacology*. 157: 509-526.

Heredia, N., Escobar, M., Rodríguez-Padilla, C. y García, S. 2005. Extracts of *Haematoxylon brasiletto* inhibit growth, verotoxin production, and adhesion of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 to HeLa cells. *Journal of Food Protection*. 68:1346-1351.

Hinz, B., Brune, K. 2002. Cyclooxygenase-2: 10 years later. *The Journal Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 300: 367-375.

Huerta, Z. 2005. Rastreo farmacológico de plantas usadas en la medicina tradicional Mexicana para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares. Universidad Autónoma de Querétaro.

Ibarra-Alvarado, C., Rojas, A., Luna, F., Rojas, J. I., Rivero-Cruz, B., y Rivero-Cruz, F. 2009. Vasorelaxant constituents of the leaves of *Prunus serotina* "capulín". *Revista Latinoamericana de Química*. 37(2):164-173.

Ibarra-Alvarado, C., Rojas, A., Mendoza, S., Bah, M., Gutiérrez, D., Hernández-Sandoval, L., Martínez, M. 2010. Vasoactive and antioxidant activities of plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of cardiovascular diseases. *Pharmaceutical Biology*. 48(7): 732–739.

Juárez-García, A. 2007. Factores psicosociales laborales relacionados con la tensión arterial y síntomas cardiovasculares en personal de enfermería en México. *Salud Publica Mex*. 49: 109-117.

Kimura, M., Okamoto, H., Natsume, H., Ogihara, M. 2009. IP Receptor Agonist-Induced DNA synthesis and proliferation in primary cultures of adult rat hepatocytes: the involment of endogenous transforming growth factor- α . *Journal of Pharmacological Sciences*. 109: 618-629.

Kokanova-Nedialkova, Z., Nedialkov, P., Nikolov, S. 2009. The genus *chenopodium*: Phytochemistry, ethnopharmacology and pharmacology. *Pharmacognosy Rev*. 3:280-306

Kubota, Y., Umegaki, K., Kobayashi, K., Tanaka, N., Kagota, S., Nakamura, K., Kunitomo, M. y Shinozuka, K. 2004. Anti-hypertensive effects of brazilian propolis in spontaneously hypertensive rats. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 31: 29-30.

- Kumar, D., Arya, V., Ahmad, N., Prasad, D. 2012.** The genus *Crataegus*: chemical and pharmacological perspectives. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 22(5): 1187-1200
- Lara, C., Azpeitia, F. 2006.** Reproductive Biology and Pollination of the Parasitic Plant *Psittacanthus Calyculatus* (loranthaceae) in Central México. *The Journal of the Torrey Botanical Society*. 133(3):429-438.
- Leiva-Suero, L., Pozo-Jeréz, H. y Pérez-Caballero, D. 2000.** Óxido nítrico y su relación con la hipertensión arterial. *Revista Cubana Médica*. 39(3):174-9.
- Luna, V. F. J. 2009.** Caracterización química y farmacológica de compuestos vasoactivos presentes en el fruto de *Prunus serotina*. Facultad de Química, Maestría en Ciencia y Tecnología de alimentos. Querétaro.
- Luna-Vázquez, F.J.; Ibarra-Alvarado, C., Rojas-Molina, A., Rojas-Molina, J.I., Yahia, E.M., Rivera-Pastrana, D.M., Rojas-Molina, A. y Zavala-Sánchez, M.A. **2013.** Nutraceutical value of *Prunus serotina* Ehrh. fruits: antioxidant and antihypertensive properties. *Molecules*. 18, 14597-14612.
- Magaña-Alejandro, A., Gama-Campillo, L., Mariaca-Méndez, R. 2010.** El uso de las plantas medicinales en las comunidades mayachontales de nacajuca, Tabasco, México. 29: 213-262.
- Martínez-Moreno, D., Alvarado-Flores, R., Mendoza-Cruz, M., Basurto-Peña, F. 2006.** Plantas medicinales de cuatro mercados del estado de Puebla, México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 79: 79-87.
- Maruyama, H., Sumitou, Y., Sakamoto, T., Araki, Y., y Hara, H. 2009.** Antihypertensive Effects of Flavonoids Isolated from Brazilian Green Propolis in Spontaneously Hypertensive Rats. *Pharmaceutical Society of Japan*. 39:1244-1250.
- McVaugh, R. 1951.** A revision of the North American Black cherries (*Prunus serotina* ehrh, and relatives). *Brittonia*. 7:279-315.
- Mendoza, D. 2011.** Caracterización del mecanismo de acción del efecto vasodilatador producido por la Hematoxilina obtenida a partir de la corteza de *Haematoxylon brasiletto* (Palo de Brasil), Santiago de Querétaro. Universidad Autónoma de Querétaro. 6-19.

Moncada, S., Radomski, M., Palmer, R. 1988. Endothelium-derived relaxing factor. Identification as nitric oxide and role in the control of vascular tone and platelet function. *Biochemical Pharmacology*. 37(13): 2495-2501.

Morita, I., 2002. Distinct functions of COX-1 and COX-2. *Prostaglandins other lipid mediat*. 68/69: 165-175.

Navarro-Cid, J., Cachofeiro, V., Maeso, R., Lahera, V. 1999. Fisiología de la pared vascular, McGraw-Hill Interamericana, México. 525, 532-539.

Ochoa, J. 2008. La contracción isométrica aumenta la actividad de la sintasa de óxido nítrico endotelial de forma dependiente del complejo Ca^{2+} /calmodulina, en la aorta de rata. Instituto Politécnico Nacional. Tesis para obtener el grado de Maestro en ciencias en Farmacología. 19-25.

Olszewska, M. 2005. Flavonoids from *Prunus serotina* Ehrh. *Acta Poloniae Pharmaceutica*. 62:127-133

Oramas-Díaz, J., Rodríguez, I. 1999. La información científica y la medicina tradicional y natural. *RESUMED* 12(1):39-46.

Ordaz-Galindo, A., Wesche, E., Wrolstad, R., Rodriguez, S., Argaiz, 1999. J. Purification and identification of Capulin (*Prunus serotina* Ehrh) anthocyanins. *Food Chemistry*. 65: 201-206.

Pacheco, A., González, Y., Viso, F. 2006. Las reacciones adversas de las plantas medicinales y sus interacciones con medicamentos. *MEDISAN*. 10: 4-11

Pacheco, U. G. 2011. Estudio farmacológico del fruto de *Prunus serotina* (Capulín). Santiago de Querétaro. Universidad Autónoma de Querétaro.

Palomino, G., García, P., Gil, G., Rojano, B., Durango, R. 2009. Determination of phenolic content and evaluation of antioxidant activity of propolis from antioquia (Colombia). *Revista de la Facultad de Química Farmacéutica*. 16: 388-395.

Pedraza-Bucio, F., Rutiaga-Quiñones, J. 2011. Extracto Tánico de la Madera de Palo de Brasil. *Conciencia Tecnológica*. 42: 36-41.

Pratt, R. y Yuzuriha, Y. 1959. Antibacterial activity of the heartwood of *Haematoxylon brasiletto*. *Journal of the American Pharmaceutical Association*. 48: 69-72.

- Rivero-Cruz, F. 2008.** Antimicrobial compounds isolated from *Haematoxylon brasiletto*. Journal of Ethenopharmacology. 2008; 119: 99-103.
- Rodriguez-Cruz, M., Perez-Ordaz, B., Serrato-Barajas, M., Juarez-Oropeza, D., Paredes-Carbajal, C. 2003.** Endothelium-dependent effects of the ethanolic extract of the mistletoe *Psittacanthus calyculatus* on the vasomotor responses of rata aortic rongs. Journal of Ethnopharmacology. 86: 213-218.
- Sanchez-Marroquin, A., García, L., Méndez, M. 1958.** Brazilin, antibacterial substance from *Haematoxylon brasiletto*. Revista Latinoamericana de Microbiología. 1:225-232.
- Tortora, J, Grabowsky, R. 2006.** Principios de anatomía y fisiología. 9ª Ed. Oxford University Press. México D.F. 297-300; 677-678; 692-693.
- Velázquez-Monroy, O, Rosas-Peralta, M., Lara-Esqueda, A., Pastelín-Hernández, G., Grupo ENSA 2000,* Sánchez-Castillo, C. 2003.** Prevalencia e interrelación de enfermedades crónicas no transmisibles y factores de riesgo cardiovascular en México: Resultados finales de la Encuesta Nacional de Salud (ENSA) 2000. Archivos de Cardiología de México. 73: 62-77.
- Vittone, L. y Mundiña-Weilenmann, C. 2010.** Endotelio vascular e hipertensión. Sección hipertensión arterial.
- Yangisawan, M., Kurihara, H., Kimura, S., Goto, K., Masaki, T. 1988.** A novel peptide vasoconstrictor, endoteilin, is produced by vascular endothelium and modulates smooth muscle Ca^{2+} channels. Journal of Hypertension Supplement. 6(4): 188-191.