



UADY

UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA
DE YUCATÁN

POSGRADO INSTITUCIONAL EN CIENCIAS
QUÍMICAS Y BIOQUÍMICAS

**CARACTERIZACIÓN FARMACOLÓGICA DE
ESPECIES VEGETALES UTILIZADAS EN YUCATÁN
PARA EL TRATAMIENTO DE HIPERTENSIÓN
ARTERIAL**

TESIS

PRESENTADA POR

VÍCTOR YÁÑEZ PÉREZ

EN OPCIÓN AL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

MÉRIDA, YUCATÁN, MÉXICO

2018



UADY

UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA
DE YUCATÁN

POSGRADO INSTITUCIONAL EN CIENCIAS
QUÍMICAS Y BIOQUÍMICAS

**CARACTERIZACIÓN FARMACOLÓGICA DE
ESPECIES VEGETALES UTILIZADAS EN YUCATÁN
PARA EL TRATAMIENTO DE HIPERTENSIÓN
ARTERIAL**

TESIS

PRESENTADA POR

VÍCTOR YÁÑEZ PÉREZ

EN OPCIÓN AL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

MÉRIDA, YUCATÁN, MÉXICO

2018



UADY

POSGRADO
INSTITUCIONAL
EN CIENCIAS
QUÍMICAS Y
BIOQUÍMICAS

Mérida, Yuc., 22 de octubre de 2018
Oficio Num.: PICQB/492/2018

Asunto: Autorización de digitalización

La tesis "Caracterización farmacológica de especies vegetales utilizadas en Yucatán para el tratamiento de hipertensión arterial" presentada por Víctor Yañez Pérez, en cumplimiento parcial de los requisitos para optar por el grado de Maestro en Ciencias Químicas y Bioquímicas, ha sido aprobada en cuanto a su contenido científico y en cuanto a lo establecido en el Manual de Procedimientos del Posgrado Institucional en Ciencias Químicas y Bioquímicas, por lo que se le autoriza la digitalización de los ejemplares correspondientes.

Directores de la tesis

Dra. Amanda Sánchez Recillas

Dr. Rotffy Rubén Ortiz Andrade

Sinodales:

Dr. Julio Cesar Lara Riegos

Dra. Leydi Maribel Carrillo Cocom

Dr. Oswaldo Ignacio Hernández Abreu

Firmas

ATENTAMENTE
"LUZ, CIENCIA Y VERDAD"

DRA. MAIRA RUBI SEGURA CAMPOS
COORDINADORA DEL POSGRADO INSTITUCIONAL
EN CIENCIAS QUÍMICAS Y BIOQUÍMICAS



POSGRADO INSTITUCIONAL
EN CIENCIAS QUÍMICAS
Y BIOQUÍMICAS

c.c. Archivo
MRSC

Página Web: <http://www.picqb.uady.mx>
E-mail: picqb@correo.uady.mx

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)** por la beca para estudios de posgrado otorgada bajo el número de becario 452975.

Agradezco a mis directores de tesis, **Dra. Amanda Sánchez Recillas** y **Dr. Rolffy R. Ortiz Andrade** por la oportunidad brindada y la confianza depositada en mí para la realización de este trabajo. Gracias por compartir conmigo tanto conocimiento que ha permitido desarrollarme día a día en los ámbitos personal y profesional.

Al **Dr. Salvador Flores Guido** y al **Dr. Jesús Martín Kantún Balam** del Departamento de Botánica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Yucatán por su colaboración en la identificación de las especies vegetales estudiadas.

Al **Dr. Maximiliano Ibarra Barajas** de la Unidad de Biomedicina de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala de la Universidad Nacional Autónoma de México por habernos proporcionado los ejemplares de ratas de la cepa SHR para llevar a cabo los experimentos antihipertensivos.

Al **Dr. Samuel E. Estrada Soto** del Laboratorio 12 de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos por las facilidades otorgadas para la realización de los experimentos antihipertensivos.

A los miembros del Comité Revisor, **Dr. Julio César Lara Riegos**, **Dra. Leydi Maribel Carrillo Cocom** y **Dr. Oswaldo Hernández Abreu** agradezco sus consejos y asesoría durante la realización del presente trabajo.

A mis compañeros del Laboratorio de Farmacología **María José**, **Laura**, **Nubia**, **Verenice**, **Shirley**, **Isaac** y **Erika** por su apoyo en la fase experimental del presente trabajo.

Al **Laboratorio de Farmacología** de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Yucatán por brindarnos las facilidades e instalaciones necesarias para desarrollar la fase experimental de esta tesis.

Este trabajo fue realizado con el apoyo de una beca concedida por CONACyT (No. de becario: 452975) en el **Laboratorio de Farmacología** de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Yucatán y en el **Laboratorio 12 de Farmacognosia** de la Facultad de Farmacia de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, bajo la dirección de la **Dra. Amanda Sánchez Recillas** y del **Dr. Rolffy R. Ortiz Andrade** y formó parte del proyecto **Evaluación farmacológica ex vivo y estudio toxicológico de plantas medicinales de Yucatán utilizando musculatura lisa como modelo experimental** (Clave del proyecto SISTPROY: FQUI-2016-0007), financiado por la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Yucatán.

RESUMEN

Se estima que la hipertensión arterial afecta a uno de cada tres mexicanos adultos. Esto es solo un estimado, ya que en estas cifras los pacientes asintomáticos no son tomados en cuenta, por tanto la incidencia real es mayor.

La relación de la hipertensión arterial con otras enfermedades con tasas altas de morbimortalidad, como el accidente cerebro-vascular, el infarto agudo al miocardio y la falla renal, hacen que la investigación en este ámbito sea de gran relevancia. Aunado a estas enfermedades, se encuentra el fallo de la farmacoterapia, ya que solo el 51.2% de los adultos diagnosticados y que reciben tratamiento responden favorablemente a éste.

Debido a lo anterior, los pacientes de escasos recursos y que no cuentan con acceso a los servicios primarios de salud, recurren a la medicina tradicional como una alternativa terapéutica para controlar sus problemas de salud y mejorar su calidad de vida.

Con base en estudios previos realizados por nuestro grupo de investigación, el presente trabajo se diseñó con la finalidad de determinar el mecanismo de acción vasorrelajante *ex vivo* de dos especies vegetales utilizadas en la medicina tradicional Maya para tratar hipertensión arterial. Para ello se utilizaron anillos de aorta aislados de rata los cuales fueron colocados en un equipo isométrico vertical para tejido aislado. En el equipo, los anillos fueron expuestos a los extractos metanólicos de *Bursera graveolens* y *Citrus limonum*, en presencia de inhibidores y bloqueadores relacionados con el proceso contracción-relajación de las células de músculo liso cardiovasculares para determinar las curvas concentración-respuesta. Los inhibidores o bloqueadores empleados fueron atropina, L-NAME, ODQ, indometacina y tetraetilamonio. Por otra parte, también se realizaron experimentos enfocados a la determinación de la participación de canales de calcio.

Asimismo, se determinó el efecto antihipertensivo, del extracto de la especie que resultó ser más eficaz, en ratas de la cepa SHR (espontáneamente hipertensas). Para esto se emplearon cinco grupos de ratas que fueron administradas por vía intragástrica con las dosis 100, 200 y 400 mg/Kg del extracto metanólico de *Bursera graveolens* y 30 mg/Kg de Captopril disuelto en agua destilada, usado como control positivo. El grupo control recibió vehículo (agua destilada, 0.5 mL/100 g). La presión arterial sistólica, la presión arterial diastólica y la frecuencia cardíaca fueron medidas al inicio del experimento (tiempo cero) y a las 1, 3, 5 y 7 horas posteriores a la administración del tratamiento. Las mediciones se realizaron con un tensiómetro caudal no invasivo para roedor.

Los experimentos funcionales *ex vivo*, sugirieron que la especie vegetal *Bursera graveolens* indujo vasorrelajación mediante la producción de NO e incremento de GMPc, activación de PKG, fosforilación de canales BK_{Ca} y bloqueo de canales de calcio tipo L.

Por otra parte, la especie vegetal *Citrus limonum* ejerció efecto vasorrelajante mediante dos mecanismos independientes: la activación de la vía NO/GMPc con subsecuente producción de NO e incremento de GMPc lo que ocasionó la activación de PKG y fosforilación de canales BK_{Ca}; y en el músculo liso mediante el bloqueo directo de los canales de calcio dependientes de voltaje tipo L.

Los resultados de la determinación del efecto antihipertensivo sugirieron que la especie *Bursera graveolens* disminuyó de manera significativa la presión arterial sistólica y diastólica a las dosis 200 y 400 mg/Kg en ratas SHR, sin modificar la frecuencia cardíaca.

En conclusión, se caracterizó el efecto vasorrelajante de las especies *Bursera graveolens* y *Citrus limonum* y el efecto antihipertensivo de la especie *Bursera graveolens* utilizando modelos experimentales *ex vivo* e *in vivo* en roedor.

ABSTRACT

It is estimated that arterial hypertension affects one in three Mexican adults. But this is just an estimation because in this numbers are not included the asymptomatic patients, then the real incidence is higher.

The association between arterial hypertension and other illnesses with high rates of morbidity and mortality, like stroke, myocardial infarction and renal failure makes so relevant the investigation in this field. In addition to the association between arterial hypertension and other illnesses, there is the failure of the pharmacotherapy since only 51.2% of the diagnosed adults under treatment responds positively to this.

Due to the above, the poorest patients that haven't access to primary health services use traditional medicine as an alternative to control their health problems and improve their quality of life.

Based on previous studies made by our investigation group, the present work was designed with the purpose to determine the vasorelaxant mechanism of action (*ex vivo*) of two vegetal species used in Mayan traditional medicine for the treatment of arterial hypertension. For this, aortic rings isolated from rats were obtained and placed on an organ bath connected to isometric force transducers. Then, concentration-response curves of the methanolic extracts of *Bursera graveolens* and *Citrus limonum* were built in presence of inhibitors and blockers related to the contraction-relaxation process in cardiovascular smooth muscle cells, like atropine, L-NAME, ODQ, indomethacin, tetraethylammonium and experiments focused to determine the participation of calcium channels.

Likewise, it was determined the antihypertensive effect of the most effective species. For this, were used five groups of Spontaneously Hypertensive Rats (SHR) administered by intra-gastric route with doses 100, 200 and 400 mg/Kg of the methanolic extract of *Bursera graveolens* and 30 mg/Kg of Captopril dissolved in water, used as positive control. Control group received vehicle (distilled water, 5 mL/Kg). Systolic blood pressure, diastolic blood pressure and heart rate were measured at the beginning of the experiment (time zero) and at 1, 3, 5 and 7 hours after administration of the treatment. An automatic caudal blood pressure computer for rodents was used.

Bursera graveolens induced vasorelaxation through the activation of the NO/cGMP signal pathway with subsequent production of NO and increment in levels of cGMP, activation of PKG, phosphorylation of BK_{Ca} channels and calcium channel L type blockade. On the other hand, *Citrus limonum* cause vasorelaxant effect through two independent mechanisms: first, the activation of the NO/cGMP signal pathway with subsequent production of NO and increment in levels of cGMP causing the activation of PKG and phosphorylation of BK_{Ca} channels; and second in smooth muscle cells through a direct blockade of calcium channels type L.

Results on the determination of antihypertensive effect suggested that *Bursera graveolens* decrease systolic and diastolic blood pressure in a significant manner at doses 200 and 400 mg/Kg in spontaneously hypertensive rats without modifying the heart rate.

In conclusion, it was determined the vasorelaxant effect of vegetal species *Bursera graveolens* and *Citrus limonum* and the antihypertensive effect of *Bursera graveolens* using *ex vivo* and *in vivo* experimental models in rodents.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES	3
Organización funcional del aparato circulatorio	3
Hemodinamia	3
Vasos sanguíneos	3
Mecanismos humorales de regulación de la presión arterial	4
<i>Mecanismos independientes del endotelio vascular</i>	4
Catecolaminas	4
Vasopresina	6
<i>Mecanismos dependientes del endotelio vascular</i>	7
Óxido nítrico	7
Prostaciclina	8
Factor hiperpolarizante derivado de endotelio	8
Endotelinas	9
Angiotensina II	9
Endoperóxidos	10
Hipertensión arterial	10
Etiología	10
Epidemiología de la HTA	11
Tratamiento	11
Medicina tradicional	14
Especies vegetales en estudio	15
<i>Bursera graveolens</i> (Kunth) Triana & Planch (Nabanche')	15
<i>Citrus limonum</i> L. (Limón)	16

HIPÓTESIS	19
JUSTIFICACIÓN	21
OBJETIVO GENERAL Y PARTICULARES	23
Objetivo general	23
Objetivos particulares	23
MATERIALES Y MÉTODOS	25
Obtención de los extractos de las especies vegetales estudiadas	25
Animales empleados para las evaluaciones farmacológicas	27
Obtención del tejido animal	27
Sistema de registro	29
Proceso de estabilización y sensibilización	29
Evaluación del efecto vasorrelajante <i>ex vivo</i>	30
Elucidación del mecanismo de acción vasorrelajante <i>ex vivo</i>	31
<i>Determinación de la participación de receptores endoteliales</i>	31
<i>Determinación de la participación de prostaciclina</i>	31
<i>Determinación de la participación de la vía PGI₂-AC-AMPC-PKA</i>	31
<i>Determinación de la participación de canales de potasio de larga conductancia activados por calcio</i>	31
<i>Determinación de la participación de canales de calcio tipo L</i>	32
Evaluación del efecto antihipertensivo en ratas espontáneamente hipertensas	33
Análisis estadístico	34
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35

Determinación del mecanismo de acción vasorrelajante del extracto metanólico de <i>Bursera graveolens</i>	35
<i>Participación de PGI₂</i>	36
<i>Participación de la vía NO/GMPc</i>	37
<i>Participación de receptores muscarínicos</i>	38
<i>Participación de canales BK_{Ca}</i>	39
<i>Participación de canales de calcio</i>	40
Determinación del mecanismo de acción vasorrelajante del extracto metanólico de <i>Citrus limonum</i>	43
<i>Participación de la vía NO/GMPc</i>	44
<i>Participación de receptores muscarínicos</i>	45
<i>Participación de PGI₂</i>	46
<i>Participación de canales BK_{Ca}</i>	47
<i>Participación de canales de calcio</i>	48
Determinación del efecto antihipertensivo en ratas SHR del extracto metanólico de <i>Bursera graveolens</i>	51
<i>Efecto cardiovascular agudo sobre la presión arterial sistólica</i>	52
<i>Efecto cardiovascular agudo sobre la presión arterial diastólica</i>	53
<i>Efecto cardiovascular agudo sobre la frecuencia cardíaca</i>	55
CONCLUSIONES	57
REFERENCIAS	59
ANEXOS	67
Anexo 1. Estructuras de moléculas aisladas de <i>Bursera graveolens</i> (Kunth) Triana & Planch	67
Anexo 2. Estructuras de moléculas aisladas de <i>Citrus limonum</i> L.	71
Anexo 3. Lista de abreviaturas	73
Anexo 4. Presentaciones en congresos	76
Anexo 5. Estancias de investigación	79

OTROS ÍNDICES

Índice de figuras

Figura 1. Capas o túnicas que conforman los vasos sanguíneos.	4
Figura 2. Activación de respuestas por estimulación de receptores α_1 por las catecolaminas.	5
Figura 3. Activación e inhibición de adenilato ciclasa por agonistas que se unen a los receptores de catecolaminas.	6
Figura 4. Mecanismos de vasorrelajación dependientes del endotelio vascular.	8
Figura 5. Árbol completo, hojas y flores de <i>Bursera graveolens</i> (Kunth) Triana & Planch.	16
Figura 6. Árbol completo, hojas, flor y fruto de <i>Citrus limonum</i> L.	17
Figura 7. Metodología general para la obtención de extractos.	26
Figura 8. Metodología general para la evaluación farmacológica <i>ex vivo</i> de extractos vegetales.	28
Figura 9. Esquema del proceso de estabilización y sensibilización con noradrenalina [0.1 μ M] de los anillos aórticos.	30
Figura 10. Esquema del proceso de evaluación del efecto vasorrelajante.	30
Figura 11. Esquema de la determinación de la participación de canales de Ca^{2+} tipo L mediante contracción con KCl 80 mM.	32
Figura 12. Esquema de la determinación de la participación de canales de Ca^{2+} tipo L mediante contracción con $CaCl_2$.	33
Figura 13. Curva concentración respuesta de vasorrelajación del EMBg, en anillos de aorta pre-contraídos con NA [0.1 μ M].	35
Figura 14. Efecto vasorrelajante del EMBg en presencia de indometacina.	37
Figura 15. Efecto vasorrelajante del EMBg en presencia de L-NAME y ODQ.	38

Figura 16. Efecto vasorrelajante del <i>EMBg</i> en presencia de atropina.	39
Figura 17. Efecto vasorrelajante del <i>EMBg</i> en presencia de TEA.	40
Figura 18. Curva concentración respuesta de vasorrelajación del <i>EMBg</i> , en anillos de aorta precontraídos con KCl [80 mM].	41
Figura 19. Curva de contracción a CaCl ₂ en anillos de aorta E+ incubados con la CE ₅₀ del extracto metanólico de <i>Bursera graveolens</i> .	42
Figura 20. Curva concentración respuesta de vasorrelajación del <i>EMCl</i> , en anillos de aorta precontraídos con NA.	43
Figura 21. Efecto vasorrelajante del <i>EMCl</i> en presencia de L-NAME y ODQ.	45
Figura 22. Efecto vasorrelajante del <i>EMCl</i> en presencia de Atropina.	46
Figura 23. Efecto vasorrelajante del <i>EMCl</i> en presencia de Indometacina.	47
Figura 24. Efecto vasorrelajante del <i>EMCl</i> en presencia de TEA.	48
Figura 25. Curva concentración respuesta de vasorrelajación del <i>EMCl</i> , en anillos de aorta precontraídos con KCl [80 mM].	49
Figura 26. Curva de contracción a CaCl ₂ en anillos de aorta E+ y E- incubados con la CE ₅₀ del extracto metanólico de <i>Citrus limonum</i> .	50
Figura 27. Efecto cardiovascular agudo sobre la presión arterial sistólica inducido por dosis I.G. del <i>EMBg</i> (100, 200 y 400 mg/Kg) en ratas espontáneamente hipertensas.	53
Figura 28. Efecto cardiovascular agudo sobre la presión arterial diastólica inducido por dosis I.G. del <i>EMBg</i> (100, 200 y 400 mg/Kg) en ratas espontáneamente hipertensas.	54
Figura 29. Efecto cardiovascular agudo sobre la frecuencia cardíaca inducido por dosis I.G. del <i>EMBg</i> (100, 200 y 400 mg/Kg) en ratas espontáneamente hipertensas.	56

Índice de tablas

Tabla 1. Fármacos empleados en el tratamiento de la HTA y sus mecanismos de acción.	13
Tabla 2. Porcentajes de variación de la presión arterial sistólica con respecto a la hora cero (h0) obtenidos en la evaluación del efecto antihipertensivo de <i>Bursera graveolens</i> .	53
Tabla 3. Porcentajes de variación de la presión arterial diastólica con respecto a la hora cero (h0) obtenidos en la evaluación del efecto antihipertensivo de <i>Bursera graveolens</i> .	55
Tabla 4. Porcentajes de variación de la frecuencia cardíaca con respecto a la hora cero (h0) obtenidos en la evaluación del efecto antihipertensivo de <i>Bursera graveolens</i> .	56

INTRODUCCIÓN

La hipertensión arterial (HTA) es una de las enfermedades crónico-degenerativas con mayor impacto en la sociedad. Factores genéticos, ambientales y demográficos pueden ser los detonantes de la aparición de este padecimiento que afecta a más de un tercio de la población mexicana adulta, además de ser un importante factor de riesgo para el desarrollo de otras patologías que finalmente conducen a la muerte del paciente¹.

Los tratamientos farmacológicos actuales no están libres de efectos adversos, esto aunado a la falta de acceso de la población a los servicios de salud y farmacoterapia, fomenta que los pacientes recurran a tratamientos alternativos como el uso de la medicina tradicional².

El uso de la medicina tradicional, como una alternativa terapéutica a la medicina alópata, se practica en casi todo el mundo y México no es la excepción, ya que gracias a su variedad climatológica cuenta con una gran biodiversidad. Además, la riqueza cultural de nuestro país ha permitido poseer un arraigado conocimiento empírico sobre el uso de las plantas medicinales para el tratamiento de los principales problemas de salud^{3,4}.

Desde la perspectiva de los médicos tradicionales que han practicado la medicina tradicional ancestralmente hasta los estudios científicos sistemáticos desde el punto de vista químico y farmacológico, las plantas medicinales mantienen gran importancia, tanto para prevenir y tratar problemas de salud, como en la investigación y desarrollo de nuevos principios activos y medicamentos^{5,6}.

En la península de Yucatán existen varias especies vegetales que han sido utilizadas empíricamente en el tratamiento de la HTA, entre las que se encuentran: *Bursera graveolens* (Nabanche') y *Citrus limonum* (Limón), ya sea en decocción o infusión. Estudios previos realizados por nuestro grupo de trabajo, evidenciaron el potencial vasorrelajante de las especies vegetales en estudio. Por tal motivo, en el presente trabajo se pretendió determinar el mecanismo de acción funcional de dichas especies vegetales, utilizando para ello un modelo experimental *ex vivo* en aorta aislada de roedor.

ANTECEDENTES

Organización funcional del aparato circulatorio

El sistema circulatorio se clasifica en dos partes: la *circulación pulmonar*, que conduce la sangre a través de los pulmones y crea un vínculo con la función de intercambio de gases del aparato respiratorio, y la *circulación sistémica*, cuya función es irrigar a todos los tejidos del cuerpo. Además, la sangre contenida en el corazón y en la circulación pulmonar a veces es denominada *circulación central*, y la sangre que está fuera de la circulación central se denomina *circulación periférica*⁷.

Tanto la circulación pulmonar como la sistémica poseen una bomba, un sistema arterial, capilares y un sistema venoso. Las arterias y las arteriolas funcionan como un sistema de distribución que lleva la sangre hacia los tejidos. Los capilares actúan como sistema de intercambio para la transferencia de gases, nutrientes y sustancias de desecho y las vénulas y venas sirven como vasos que recogen y acumulan la sangre de regreso al corazón⁷.

Hemodinamia

Los factores más importantes que gobiernan la función del aparato circulatorio son el *volumen*, la *presión*, la *resistencia* y el *flujo*. Una función óptima del aparato circulatorio requiere un volumen suficiente para llenar el compartimento vascular y una presión suficiente para asegurar el flujo sanguíneo en todos los tejidos corporales⁷.

El flujo sanguíneo depende de dos factores: la diferencia de presión entre los dos extremos de un vaso o de un grupo de vasos y la resistencia que debe superar la sangre cuando se desplaza a través de uno o más vasos⁷.

La resistencia total que presenta la sangre a medida que fluye a través de la circulación sistémica se denomina resistencia vascular periférica (RVP) o resistencia vascular sistémica. En la circulación sistémica, la presión sanguínea depende del volumen por minuto cardíaco y de la RVP⁷.

Vasos sanguíneos

Todos los vasos sanguíneos, excepto los capilares, poseen paredes compuestas por tres capas o cubiertas, denominadas *túnicas* (**Figura 1**). Las capas de los distintos vasos sanguíneos varían de acuerdo con su función: La *túnica externa* o *túnica adventicia* es la cubierta más externa, está compuesta por tejido conectivo y tejido fibroso que proporciona sostén. La *túnica media*, o capa intermedia, está formada en su mayor parte por células de músculo liso, que se contraen o relajan para controlar el diámetro del vaso sanguíneo. La *túnica íntima*, o capa interna, tiene una capa elástica que se une con la media y una capa delgada de células endoteliales que está en contacto

con la sangre⁷. La capa endotelial provee una superficie interna lisa y resbaladiza que evita la adherencia de las plaquetas y la coagulación de la sangre mientras permanezca intacta; su localización estratégica permite percibir cambios en las fuerzas hemodinámicas y responder a estos cambios mediante la liberación de sustancias vasoactivas. Un balance crítico entre los factores relajantes y contráctiles derivados del endotelio mantiene la homeostasis vascular. Cuando este balance es interrumpido, los vasos sanguíneos se predisponen a vasoconstricción, adherencia leucocitaria, activación plaquetaria, mitogénesis, pro-oxidación, trombosis, coagulación alterada, inflamación vascular y aterosclerosis^{7,8}.

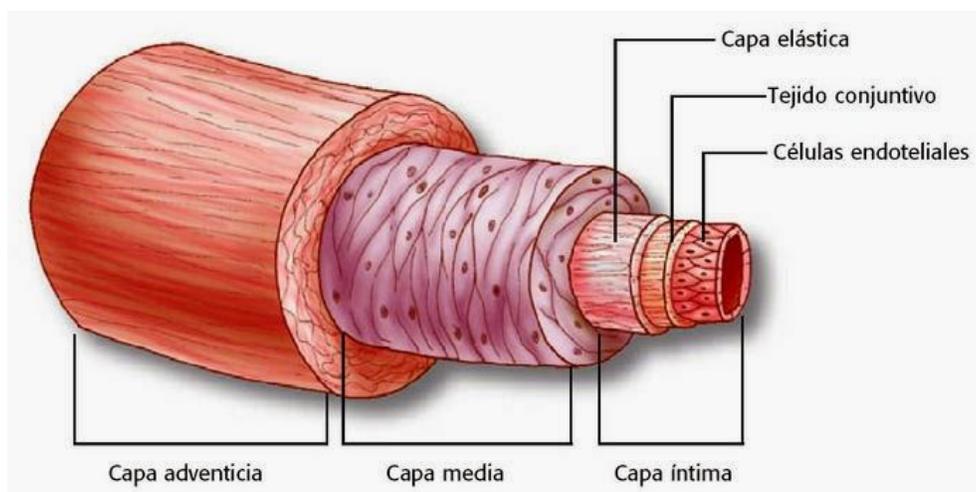


Figura 1. Capas o tunicas que conforman los vasos sanguíneos⁷.

Mecanismos humorales de regulación de la presión arterial

Mecanismos independientes del endotelio vascular

Catecolaminas

Las catecolaminas noradrenalina, adrenalina y dopamina son 3,4-hidroxi derivados de feniletilamina. Se encuentran ampliamente distribuidas en las células animales, principalmente en las células nerviosas. Las catecolaminas se encuentran en el sistema nervioso simpático, en la médula adrenal y en diferentes áreas del sistema nervioso central. También se encuentran en menor cantidad en las células cromafines distribuidas en todo el cuerpo⁹.

Los efectos de las catecolaminas son mediados por receptores que se encuentran en la superficie celular. Estos receptores se encuentran acoplados a proteína G, la cual es una proteína heterotrimérica con tres subunidades α , β y γ . La activación de receptores acoplados a proteína G por las catecolaminas (como la noradrenalina), promueve la disociación de la subunidad α de las subunidades β/γ , por medio de fosforilación de guanosín difosfato (GDP), catalizando la unión de la subunidad α a

guanósín trifosfato (GTP). Así, la subunidad α unida a GTP, regula la actividad de un efector enzimático¹⁰.

Los receptores adrenérgicos α_1 estimulan al efector fosfolipasa C (PLC) y éste participa en la hidrólisis de polifosfoinosítidos de membrana (derivados de fosfatidilinositol), tal como el fosfatidilinositol 4,5 bisfosfato (PIP₂) generando la formación de inositol 1,4,5-trifosfato (IP₃) y diacilglicerol (DAG). El IP₃ promueve la liberación de calcio secuestrado en el retículo sarcoplásmico (RS) con la consecuente contracción de células de músculo liso (CML)¹⁰. En un mecanismo diferente, DAG activa, en presencia de calcio liberado por el IP₃, la proteína cinasa C (PKC) la cual fosforila a la cadena ligera de miosina y por consiguiente, contracción de CML¹⁰, este mecanismo se ejemplifica en la **Figura 2**.

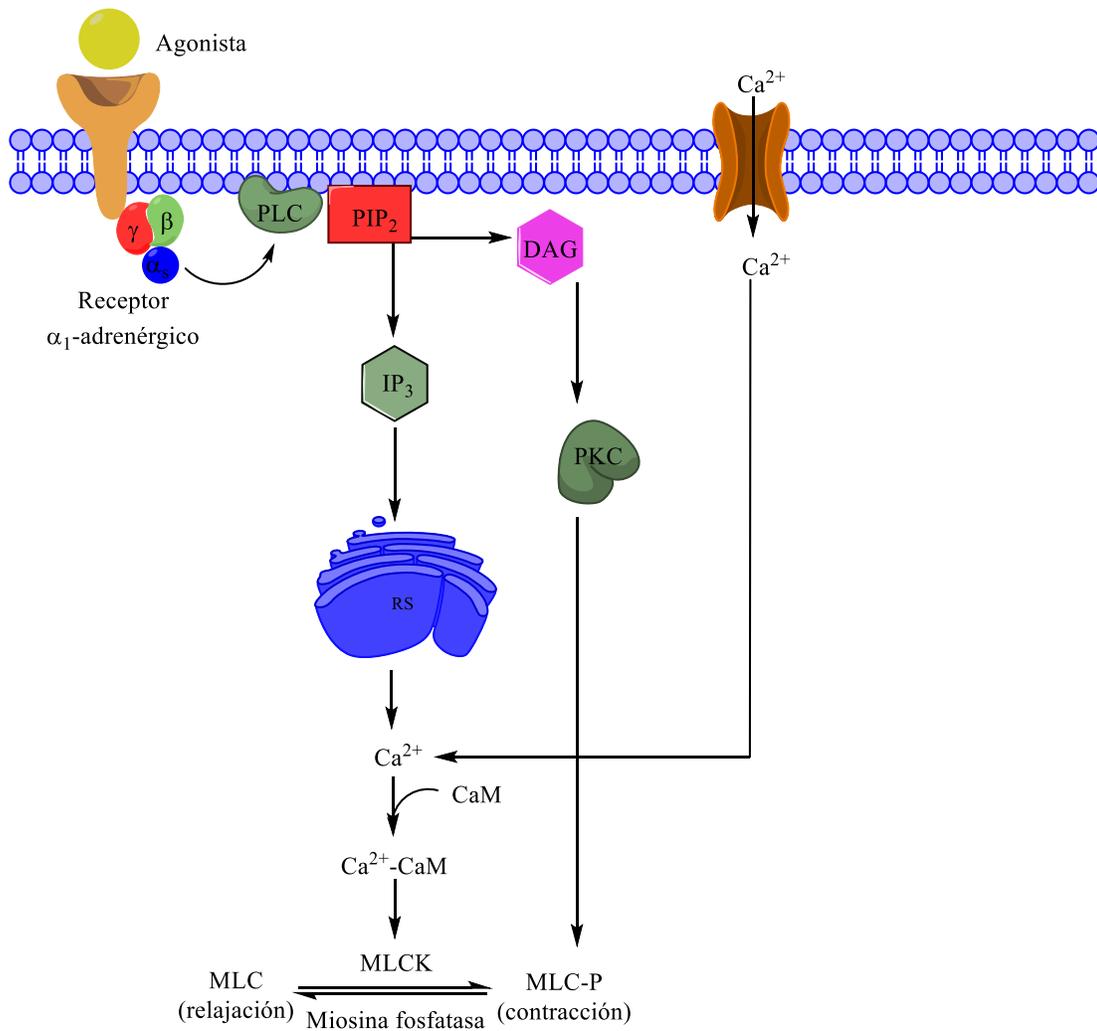


Figura 2. Activación de respuestas por estimulación de receptores α_1 por las catecolaminas.

Por otra parte, los receptores adrenérgicos α_2 inhiben la actividad de la enzima adenilato ciclasa (AC) inhibiendo el incremento de los niveles intracelulares de adenosín monofosfato cíclico (AMPc), ocasionando vasoconstricción, tal como se muestra en la **Figura 3**. En contraste, la activación por parte de un agonista de cualquier subtipo de los receptores β -adrenérgicos (β_1 , β_2 y β_3), resulta en activación de AC e incremento de la conversión de adenosín trifosfato (ATP) en AMPc, que es el principal segundo mensajero resultante de la activación de dichos receptores (ver **Figura 3**)¹⁰. Conforme aumentan los niveles intracelulares de AMPc, se induce un cambio conformacional en la proteína cinasa A (PKA), y ésta fosforila canales de calcio tipo L localizados en la membrana plasmática y a lo largo de los túbulos T, para dar lugar a un efecto inotrópico positivo debido a que se libera mayor concentración de calcio del sistema de túbulos longitudinales del RS, y como respuesta fisiológica se produce aumento de la fuerza de contracción del corazón¹¹⁻¹³. Los agonistas β también disminuyen la resistencia periférica por la activación de los receptores β_2 , que lleva a la vasodilatación en ciertos lechos vasculares.

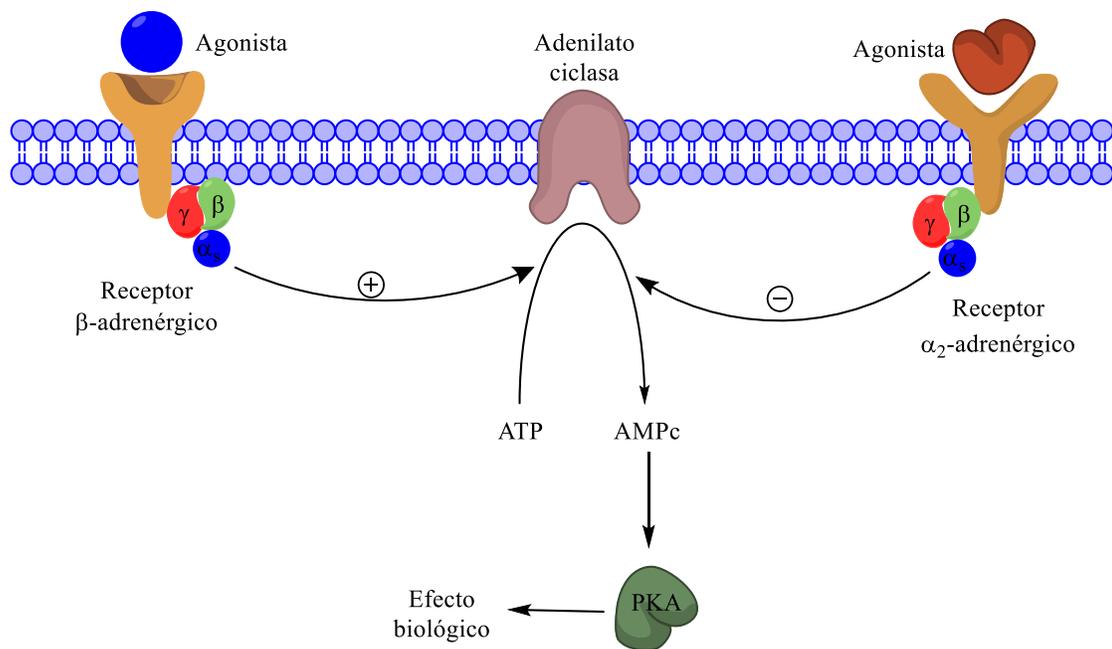


Figura 3. Activación e inhibición de adenilato ciclasa por agonistas que se unen a los receptores de catecolaminas.

Vasopresina

La vasopresina (hormona antidiurética, ADH) juega un rol importante en la regulación de la presión sanguínea a largo plazo, ésta ejerce su efecto a través del incremento en la reabsorción renal de agua. También participa en la regulación de la presión arterial (PA) a corto plazo por su acción vasoconstrictora¹⁰.

Han sido identificados tres subtipos de receptores de vasopresina (V_1 tipo a y b; V_2). Los receptores V_{1a} , que modulan la acción vasoconstrictora de la vasopresina; los receptores V_{1b} , que potencian la liberación de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) por la glándula pituitaria; y los receptores V_2 que median la acción antidiurética. Los efectos de la activación de V_{1a} son mediados por la activación de PLC, formación de IP_3 e incremento de la concentración intracelular de calcio ($[Ca^{2+}]_i$). Los efectos de la activación de V_2 son mediados por la activación de AC e incremento de AMPc con activación de PKA y posterior fosforilación de los canales de acuaporina 2 (AQP-2) provocando un efecto antidiurético e incrementando la resistencia vascular periférica¹⁰.

Mecanismos dependientes del endotelio vascular

Óxido nítrico

El óxido nítrico (NO) es un gas ligeramente soluble en agua, que puede difundir libremente a través de las membranas biológicas. Gran cantidad de células pueden sintetizar NO, esto a partir del grupo guanidino terminal de L-arginina en el endotelio vascular por acción de enzimas óxido nítrico sintasas (NOS). El endotelio vascular contiene al menos dos tipos de NOS. La síntesis de NO consiste en un primer paso, en el cual N^{ω} -hidroxi-L-arginina (L-OHArg) es formada por N-oxigenación de L-arginina y de un segundo paso por el cual la escisión oxidativa del enlace C=N de L-OHArg permite la formación de L-citrulina y NO. La síntesis y liberación de NO son procesos dependientes de calcio. Una variedad de estímulos, como liberación de 5-hidroxitriptamina (5-HT), acetilcolina (ACh), trombina, síntesis de ácido araquidónico (AA), cambios en la PA y estimulación eléctrica entre otros, son capaces de liberar NO de las células endoteliales. El NO difunde hacia las células de músculo liso vascular (CMLV) donde activa la enzima guanilato ciclasa soluble (GCs) incrementando los niveles de guanosín monofosfato cíclico (GMPc). El GMPc, otro segundo mensajero cíclico produce relajación por activación de los canales de potasio sensibles a calcio (BK_{Ca}) a través de la proteína cinasa G (PKG) mediante dos mecanismos: 1) fosforilación directa del canal del potasio y 2) la activación indirecta del canal de potasio por una disminución de $[Ca^{2+}]_i$ (STOCs) como se muestra en la **Figura 4**¹⁴⁻¹⁶.

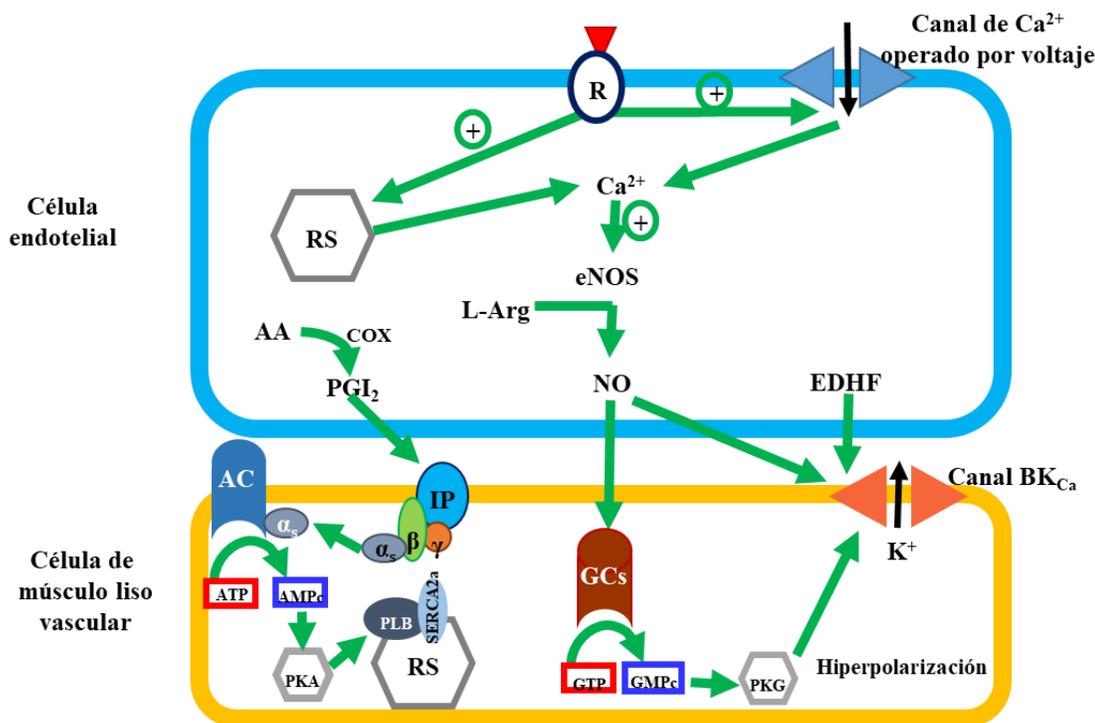


Figura 4. Mecanismos de vasorrelajación dependientes del endotelio vascular.

Prostaciclina

La prostaciclina (PGI_2) es el principal vasodilatador del grupo de las prostaglandinas (PG) producido por el endotelio vascular. La generación de prostanoides es inicialmente determinada por la movilización de AA desde la membrana plasmática por fosfolipasa A_2 (PLA_2). El AA es sustrato de la enzima prostaglandina sintasa H (PGGH) que posee actividad de ciclooxigenasa 2 (COX-2) permitiendo la síntesis de prostaglandina G_2 (PGG_2). En adición, PGGH posee actividad de peroxidasa (POX) que genera PGGH_2 , el precursor de todos los prostanoides, incluyendo las prostaciclina. Las acciones vasomotoras y hemostáticas de la prostaciclina son mediadas por receptores específicos en la membrana plasmática denominados receptores IP que están presentes en algunas CMLV (no en todas), elementos sanguíneos como las plaquetas y células endoteliales. Los receptores IP, que están acoplados a proteína G, activan la enzima AC e inducen la producción de AMPc y por lo tanto vasorrelajación (Figura 4)¹⁷.

Factor hiperpolarizante derivado de endotelio

En 1984, Bolton y cols. reportaron que una hiperpolarización dependiente de endotelio acompañaba la relajación del músculo liso vascular y se generaba por estimulantes endoteliales. En la actualidad se describe que esta hiperpolarización también envuelve una sustancia difusible diferente a los prostanoides denominada factor

hiperpolarizante derivado de endotelio (FHDE). El FHDE causa hiperpolarización mediante la apertura de canales de potasio de las CMLV (**Figura 4**). Esta respuesta, y la relajación causada es abolida por despolarización con altas concentraciones de potasio^{17,18}.

Endotelinas

Las endotelinas (ET) son péptidos que tienen potente actividad vasoconstrictora *in vivo* e *in vitro*. Existen tres isoformas de las endotelinas, sin embargo, las células endoteliales de la mayoría de los vasos sanguíneos parecen producir exclusivamente endotelina 1 (ET-1). Se conocen dos subtipos de receptores para ET-1, el receptor ET_A situado en las CMLV (regula la vasoconstricción), mientras que el receptor ET_B está situado en las células endoteliales vasculares, en donde median la liberación de prostaciclina y NO. El mecanismo de transducción desencadenado por la unión de ET-1 a sus receptores induce la estimulación de la PLC, formación de IP₃ y liberación de calcio del RS, ocasionando vasoconstricción^{10,19}.

Angiotensina II

La vía de síntesis del sistema renina-angiotensina se inicia con la acción de la renina sobre el angiotensinógeno. La renina es una enzima proteolítica que procede de una molécula mayor, la pro-renina. La transformación de pro-renina en renina se lleva a cabo mediante la acción de diversas peptidasas como la plasmina, la tonina, la calicreína, la elastasa, el activador tisular de plasminógeno (t-PA), la catepsina G y la enzima activadora de pro-renina derivada del endotelio. El *angiotensinógeno* es una α_2 -globulina de origen hepático, sobre la que actúa la renina generando un decapeptido inactivo, la *angiotensina I*. A su vez, la angiotensina I es el sustrato de la *enzima convertidora de angiotensina* (ECA), que da lugar a la *angiotensina II*, principal efectora del sistema¹¹.

La angiotensina II ejerce sus acciones a través de su unión a receptores específicos. Se han descrito diversos tipos de receptores para la angiotensina II entre los que se encuentran AT₁, AT₂, AT₃, AT₄ y receptores no AT₁ no AT₂ que se encuentran en el citosol y núcleo celular, pero los mejor descritos son los AT₁ y AT₂^{11,20}.

La angiotensina II participa en la regulación del tono vascular principalmente mediante su acción constrictora en CMLV y por su acción potenciadora de la liberación de noradrenalina (NA). La angiotensina II aumenta la concentración de calcio libre, estimulando su entrada desde el espacio extracelular a través de canales tipo L o T y su salida de los depósitos intracelulares del RS con la consecuente vasoconstricción¹¹.

Endoperóxidos

Se ha descrito que otras moléculas son potentes vasoconstrictores, tal es el caso de los radicales libres derivados de oxígeno (ERO) o de peróxido de hidrógeno (H_2O_2), que son producidos en células endoteliales ya sea como respuesta al estrés físico y/o a estimulantes químicos endoteliales. El anión superóxido inactiva el NO. Así, la enzima superóxido dismutasa (SOD) aumenta la relajación dependiente de endotelio, debido a sus propiedades antioxidantes, mientras que la inhibición endógena de la SOD reduce la liberación de NO, llevando a la vasoconstricción¹⁷.

Hipertensión arterial

La presión arterial es un rasgo característico que es variable y existe una correlación continua y fuertemente positiva entre la PA y el riesgo de enfermedades cardiovasculares (accidente cerebro vascular, infarto agudo al miocardio), falla renal y mortalidad, inclusive en el rango normotenso (120/80 mmHg). Esta correlación es más robusta con la presión arterial sistólica (PAS) que con la presión arterial diastólica (PAD). No existen niveles definidos de PA donde las complicaciones cardiovasculares y renales comienzan a ocurrir, en consecuencia, la definición de *hipertensión arterial* (HTA) es arbitraria, pero necesaria por razones prácticas en el diagnóstico y tratamiento del paciente²¹.

De esta manera, la Organización Mundial de la Salud (OMS) define a la hipertensión arterial como un trastorno en el que los vasos sanguíneos tienen una tensión persistentemente alta²². Se caracteriza por una tensión arterial sistólica ≥ 130 mmHg y/o una tensión arterial diastólica ≥ 90 mmHg²³. Además, como se mencionó con anterioridad, es uno de los principales factores de riesgo para padecer enfermedad cardiovascular, cerebrovascular y falla renal²⁴.

Etiología

A pesar de que con frecuencia se indica que las causas de HTA esencial son desconocidas, esto es parcialmente verdadero, porque en la actualidad se han descrito variaciones genéticas o genes que se encuentran sobre-expresados o sub-expresados así como los fenotipos intermediarios que estos regulan para causar HTA²¹.

Entre los factores que incrementan la PA se incluyen: obesidad, resistencia a la insulina, elevado consumo de alcohol, tabaquismo, elevado consumo de sal (en pacientes sensibles a la sal), envejecimiento, y tal vez el estilo de vida sedentario, estrés y bajo consumo de potasio y calcio. Además, varios factores son aditivos, como son la obesidad y el elevado consumo de alcohol²¹.

Epidemiología de la HTA

La hipertensión arterial es la enfermedad crónica esencial del adulto (ECEA) que tiene mayor prevalencia mundial. En 1993 se reportó en México una prevalencia del 25%; sin embargo, para el año 2000 la prevalencia informada de HTA entre los 20 y los 69 años fue del 30.05%, es decir, más de 15 millones de mexicanos de dicho grupo de edad la padecían. La Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino (ENSANUT Medio Camino) 2016 reportó que 25.5% de los mexicanos tenía hipertensión arterial, de los cuales el 40.0% desconocía que padecía esta enfermedad²⁵. Esta prevalencia, es aún mayor en adultos con enfermedades crónicas concomitantes como obesidad y/o diabetes, que afecta al 42.3% y 65.6% de los pacientes afectados, respectivamente²⁶.

En adición, la ENSANUT Medio Camino 2016 indica que la HTA afecta tanto a hombres como a mujeres en proporción similar, siendo 24.9% y 26.1% respectivamente^{25,26}.

En cuanto a la prevalencia de HTA por región, en la ENSANUT Medio Camino 2016 no se observaron diferencias estadísticamente significativas en la prevalencia de HTA entre las regiones geográficas ni entre las localidades rurales y urbanas²⁵. Aunque definitivamente se ha mejorado la detección, lamentablemente el 61% de las personas detectadas con HTA según la encuesta nacional 2000 desconocían ser portadores de HTA, situación que es de extrema importancia, ya que, en general, en México el paciente acude al médico cuando han transcurrido varios años desde el inicio de la HTA, y probablemente, ya habrá algún grado de daño en algún órgano blanco. Además, de los pacientes que tenían conocimiento de padecer HTA, solo la mitad estaba bajo tratamiento farmacológico antihipertensivo, y de estos, solo el 14.6% mostró cifras consideradas de control (<140/90 mmHg), es decir, recibir el tratamiento farmacológico no garantiza el control de la HTA^{26,27}.

Tratamiento

El tratamiento de la HTA tiene como objetivo la estabilización de la tensión arterial hasta sus niveles óptimos, para así prevenir complicaciones y mejorar la calidad de vida del paciente. Para ello, se debe iniciar con el tratamiento no farmacológico que incluye cambios en los hábitos alimenticios y modificaciones del estilo de vida del paciente^{28,29}.

Existen excepciones, en donde el paciente tiene alto riesgo cardiovascular, en cuyo caso es preciso iniciar inmediatamente la farmacoterapia^{28,29}.

El tratamiento farmacológico debe ajustarse individualmente a cada paciente, y debe iniciarse solo cuando el médico lo indique; se deben considerar varios aspectos en

la elección del medicamento, tales como el cuadro clínico, el mecanismo de acción del fármaco, las indicaciones y contraindicaciones, los efectos adversos, las interacciones farmacológicas, las enfermedades concomitantes y el costo económico^{28,29}.

La **Tabla 1** hace mención a los fármacos que en la actualidad se utilizan para el tratamiento de hipertensión arterial de acuerdo al *Joint National Committee on Prevention, Detection Evaluation and Treatment of High Blood Pressure* y cuyo objetivo es reducir de manera significativa los episodios cardiovasculares. Por consiguiente, todos estos fármacos resultan apropiados para el inicio y mantenimiento del tratamiento antihipertensivo, ya sea en monoterapia o en combinaciones entre sí²³. Por otra parte, existen otros fármacos para tratar cuadros hipertensivos específicos, por ejemplo, hidralazina, nitroprusiato de sodio, minoxidil y diazóxido.

Tabla 1. Fármacos empleados en el tratamiento de la hipertensión arterial y sus mecanismos de acción^{10,24,30-32}

Tipo	Mecanismo de Acción	Fármacos
Diuréticos tiacídicos	Inhiben la reabsorción de NaCl de la parte luminal de las células epiteliales en el túbulo contorneado distal, esto mediante el bloqueo del transportador Na ⁺ /Cl ⁻ .	Hidroclorotiacida Clortalidona Indapamida Metolazona Quinetazona
Betabloqueadores	Los fármacos antagonistas de los receptores β-adrenérgicos, actúan en dichos receptores a nivel de corazón y/o vasos sanguíneos y reducen competitivamente la ocupación por las catecolaminas y otros agonistas, disminuyendo la presión arterial como consecuencia de la disminución en el gasto cardíaco.	Propranolol Metroprolol
Antagonistas de calcio	Los fármacos antagonistas de calcio se unen con cierta selectividad a los canales de calcio tipo-L en los vasos sanguíneos impidiendo la entrada de estos iones a las CMLV.	Nifedipina Verapamilo Amlodipino
Inhibidores de la Enzima Convertidora de Angiotensina (ECA)	Inhiben la enzima que hidroliza angiotensina I en angiotensina II, un potente vasoconstrictor y estimulante de la secreción de aldosterona.	Enalapril Captopril Lisinopril
Antagonistas de receptores de angiotensina II (ARA II)	Bloquean los receptores de angiotensina II, con lo cual ésta no puede ejercer su efecto vasoconstrictor y estimulador de la secreción de aldosterona.	Losartán Valsartán Candesartán Telmisartán

Medicina tradicional

La medicina tradicional tiene una larga historia. Es la suma de los conocimientos, capacidades y prácticas basados en las teorías, creencias y experiencias propias de diferentes culturas, bien sean explicables o no, utilizadas para mantener la salud y prevenir, diagnosticar, mejorar o tratar enfermedades físicas y mentales³³. Por otra parte, el término <<medicina complementaria>> o <<medicina alternativa>> alude a un amplio conjunto de prácticas de atención de salud que no forman parte de la tradición ni de la medicina convencional de un país dado ni están completamente integradas en el sistema de salud predominante³³. De esta manera, el término <<medicina tradicional y complementaria>> fusiona los términos <<medicina tradicional>> y <<medicina complementaria>>, y abarca productos, prácticas y profesionales³³.

La medicina tradicional y complementaria se utiliza ampliamente en todo el mundo y se la aprecia por diversos motivos. En la conferencia Internacional sobre Medicina Tradicional para los países de Asia Sudoriental, celebrada en febrero de 2013, la Directora General de la OMS, Dra. Margaret Chan, declaró que <<los medicamentos tradicionales de calidad, seguridad y eficacia comprobada contribuyen a asegurar el acceso de todas las personas a la atención de salud. Para muchos millones de personas, los medicamentos hechos con base en hierbas representan la principal fuente de atención sanitaria, y a veces la única. Esta forma de atención está próxima a los hogares, es accesible y asequible. Además, es culturalmente aceptada y en ella confía una gran parte de la población mundial. La asequibilidad de la mayoría de los medicamentos tradicionales los hace más atractivos en el contexto del vertiginoso encarecimiento de la atención de la salud y de la austeridad casi universal. La medicina tradicional se destaca también como un medio para afrontar el incesante aumento de las enfermedades crónicas no transmisibles>>. Independientemente de los motivos por los que se recurre a la medicina tradicional y complementaria, es indudable que el interés por ellas ha aumentado, y seguramente seguirá aumentando en todo el mundo³³.

En otro contexto, las plantas han sido usadas por la humanidad desde el origen de la Tierra, tanto para aliviar dolencias como para el mantenimiento de la salud general².

El Sureste mexicano es una de las zonas más importantes donde la cultura Maya se desarrolló. Al igual de como pudo suceder en otros lugares de Mesoamérica, las actuales prácticas de medicina tradicional en la península de Yucatán se remontan a la época precolombina, y de ello dan amplia cuenta fuentes etnohistóricas como de Landa y Herrera y Tordesillas^{34,35}, en las que se señalan que desde el pasado, existían en la región sacerdotes médicos o especialistas en el arte de curar, los que además utilizaban una amplia variedad de plantas, hongos y animales con propiedades medicinales. En la actualidad, a pesar del transcurso de los siglos, aún se conserva el conocimiento empírico del uso de plantas medicinales para el tratamiento de enfermedades que aquejan al ser humano³⁶.

Especies vegetales en estudio

La selección de especies vegetales para la búsqueda de metabolitos secundarios con potencial terapéutico, se realiza con base en tres criterios de selección: ecológico, quimiotaxonómico o etnomédico. El criterio etnomédico, se basa en la selección de plantas con uso reconocido en la medicina tradicional; el quimiotaxonómico, en la selección de especies vegetales que pertenecen a la misma familia o género (similitud filogenética) de otras que contienen metabolitos secundarios bioactivos y el ecológico se fundamenta en la observación de los efectos resultantes de las interacciones entre dos o más especies vegetales³⁷.

Con base en el criterio de selección etnomédico, fueron seleccionadas las especies vegetales *Bursera graveolens* (Kunth) Triana & Planch y *Citrus limonum* L. ya que son utilizadas por el <<H-men>> en la comunidad de Yaxcabá, Yucatán para tratar <<presión arterial elevada>>, y en la medicina tradicional Maya para el tratamiento de otras enfermedades relacionadas con la HTA. En adición, también fueron seleccionadas estas especies vegetales ya que en un estudio previo realizado por nuestro grupo de trabajo se estableció su potencial antihipertensivo.

Bursera graveolens (Kunth) Triana & Planch (Nabanche')

En la medicina tradicional Maya, *B. graveolens* (**Figura 5**) es utilizada para aliviar el dolor de cabeza³⁸ y para el tratamiento de la hipertensión arterial³⁹. La resina se emplea contra hernias, torceduras de los pies y para extraer cuerpos extraños de la piel. Los extractos de hojas y cortezas son aplicados localmente para lavar heridas y en forma oral son usados contra el asma, diarrea y cálculos en el riñón⁴⁰.

Estudios fitoquímicos llevados a cabo en las resinas de *Bursera* spp. indican que se han aislado triterpenos⁴¹. De los tallos de *B. graveolens* se ha aislado burseranina, picropoligamaína (moléculas de tipo lignano), lupeol y epi-lupeol (triterpenos)⁴². De la misma manera, algunos estudios indican que de las hojas de *B. graveolens* se ha aislado luteolin 3'-O-rhamnopiranosídeos, astragalina, avicularina, hiperósido, kaempferol-3-O- β -xylopiranosídeo, β -sitosterol-3-O-glucopiranosídeo y α -amirina⁴³ (ver **Anexo 1**).

Asimismo, se han evaluado las capacidades antimicrobianas de extractos de esta especie. Al respecto, se ha demostrado que el extracto etanólico y la fracción de acetato de etilo de la corteza, presentan efecto inhibitorio frente a *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*, además, el mismo extracto presenta actividad antiinflamatoria⁴⁴.

Por otra parte, un estudio previo realizado por nuestro grupo de trabajo, indicó que el extracto metanólico de las hojas presentó efecto vasorrelajante al ser evaluado en experimentos *ex vivo* en anillos de aorta de rata⁴⁵.

A)



B)



Figura 5. (A) Árbol completo, hojas y (B) flores de *Bursera graveolens* (Kunth) Triana & Planch⁴⁶.

Citrus limonum L. (Limón)

En la medicina tradicional Maya se utilizan las hojas de *C. limonum* (**Figura 6**) para el tratamiento de varios padecimientos incluyendo la diabetes e hipertensión arterial³⁹.

Se ha reportado que los frutos del género *Citrus* contienen una gran variedad de agentes antioxidantes, antimutágenos, anticarcinógenos y antialérgicos, entre ellos se encuentran flavonoides, furanocumarinas y limonoides^{47,48}. De extractos metanólicos de la cáscara de la especie *Citrus limonum* se ha reportado, en estudios recientes, la presencia de cuatro nuevas cumarinas denominadas wakayamalimonol A-D y una nueva furanocumarina: wakayamalimonol E⁴⁹. De la misma manera, en el mismo extracto se ha determinado la presencia de dos nuevas oximas denominadas limonoximas I y II⁵⁰ (ver **Anexo 2**).

Además, estudios independientes llevados a cabo en la cáscara de frutos del género *Citrus limonum* han mostrado la presencia de flavonoides, saponinas, esteroides, terpenoides y alcaloides⁵¹.

En adición, extractos de pulpa y cáscara de *Citrus limonum* presentan actividad antioxidante⁵² y antimicrobiana⁵¹, y el extracto metanólico de las hojas presenta efecto vasorrelajante⁴⁵.

A)



B)



Figura 6. (A) Árbol completo (B) hojas, flor y fruto de *Citrus limonum* L.⁵³.

Se ha reportado un gran número de estudios de plantas que son utilizadas en la medicina tradicional de diferentes partes del mundo para tratar hipertensión arterial. En una revisión realizada en el año 2016 por Rawat y cols., se discuten 40 especies vegetales diferentes, las cuales muestran evidencia clínica de su potencial antihipertensivo y en algunos casos también se tiene evidencia de su mecanismo de acción. Especies como *Annona muricata*, *Moringa oleifera*, *Allium sativum*, *Apium graveolens*, *Avena sativa*, *Camellia sinensis*, *Hibiscus sabdariffa*, *Theobroma cacao* y *Psidium guajava*, entre otras, ejercen sus efectos antihipertensivos mediante diversos mecanismos entre los que se incluyen la producción de sulfuro de hidrógeno (H₂S), activación de la vía NO/GMPc, activación de canales de potasio, bloqueo de canales de calcio, regulación del sistema renina-angiotensina, entre otros. Estas especies vegetales son utilizadas en la medicina tradicional de países como India, China, México, Brasil, Etiopía, Ecuador, etc. para tratar hipertensión arterial. En esta misma revisión, los autores hacen mención de las partes de la planta utilizadas en los diversos estudios, que van desde las raíces hasta las partes aéreas, asimismo, se mencionan los diferentes tipos de extractos obtenidos⁵⁴.

En la actualidad, en varias partes del mundo, se presentan diversos problemas de salud y a pesar de que existen diversos fármacos disponibles para su tratamiento, comúnmente la población recurre a terapias alternativas y complementarias entre las que destaca el uso de plantas medicinales⁵⁵. Asimismo, la OMS recomienda a los países en vías de desarrollo el estudio de la medicina popular para coadyuvar al tratamiento de las enfermedades comunes⁵⁶.

HIPÓTESIS

Al menos alguna de las especies vegetales en estudio presentará potencial antihipertensivo en modelos experimentales murinos de hipertensión arterial.

JUSTIFICACIÓN

El crecimiento desmesurado en la prevalencia de las enfermedades crónico-degenerativas, como la hipertensión arterial, ha contribuido de manera considerable a la carga de los gastos en el sector salud. El impacto económico-social de estas enfermedades es devastador para cualquier sistema de salud en el mundo, ya que se trata de padecimientos no curables, con secuelas que en su mayoría serán incapacitantes²⁷. Aunado a esta problemática, y a pesar de que en la actualidad se cuenta con un gran número de medicamentos disponibles para el tratamiento de hipertensión arterial, un estimado de 10-15 % de la población general hipertensa no logra controlar sus niveles de presión arterial ante el uso de estos tratamientos²⁷.

Por otra parte, la medicina tradicional engloba los sistemas de conocimiento que han sido establecidos a través de generaciones, basados en los conceptos, creencias y prácticas nativas de diversas culturas anteriores a la era medicinal moderna⁵⁴. Así, debido a la accesibilidad, aceptación cultural y bajo costo que tiene el uso de la medicina tradicional y complementaria, la OMS recomienda a los países en vías de desarrollo, como México, realizar investigación en este ámbito con la finalidad de disminuir la prevalencia de las enfermedades crónico-degenerativas³³.

A pesar de que la medicina tradicional es considerada segura, la optimización de sus apropiadas dosis y usos, son cuestiones que se deberían considerar, ya que si es utilizada de manera incorrecta, se pueden presentar efectos adversos. Por lo tanto, es deseable una investigación detallada para establecer la seguridad y efectividad de las plantas que son utilizadas en los sistemas de medicina tradicional alrededor de todo el mundo⁵⁴, y así establecer alternativas terapéuticas de fácil acceso, efectivas y seguras al consumo humano.

Con base en lo anterior, es de gran importancia establecer líneas de investigación que contribuyan a los antecedentes de especies vegetales con potencial terapéutico antihipertensivo.

Adicionalmente, se requiere validar los efectos farmacológicos de las plantas medicinales utilizadas empíricamente, para de esta manera, sentar las bases farmacológicas que permitan el posible desarrollo de un potencial fitofármaco antihipertensivo.

OBJETIVO GENERAL Y PARTICULARES

Objetivo general

Caracterizar el potencial antihipertensivo de dos especies vegetales empleadas en la medicina tradicional Maya para el tratamiento de hipertensión arterial.

Objetivos particulares

- Evaluar el efecto vasorrelajante de los extractos metanólicos de *Bursera graveolens* y *Citrus limonum*.
- Determinar el mecanismo de acción en anillos de aorta aislados de rata de los extractos metanólicos de *Bursera graveolens* (EMBg) y *Citrus limonum* (EMCl), mediante experimentos funcionales que evalúen la participación de receptores endoteliales, la vía NO-GC_s-GMPC-PKG, prostaciclina, canales de potasio de larga conductancia activados por calcio (BK_{Ca}) y canales de calcio tipo L.
- Evaluar el efecto antihipertensivo agudo en ratas espontáneamente hipertensas (SHR) administradas con 100, 200 y 400 mg/Kg del extracto con el efecto vasorrelajante más eficaz.

MATERIALES Y MÉTODOS

El diseño experimental del presente trabajo, describe la obtención de los extractos orgánicos, las evaluaciones farmacológicas *ex vivo* para la elucidación del mecanismo de acción funcional vasorrelajante y las evaluaciones farmacológicas *in vivo* para la determinación del efecto antihipertensivo de las especies *Bursera graveolens* y *Citrus limonum* en ratas espontáneamente hipertensas. En este trabajo se emplearon extractos metanólicos debido a que el metanol es un disolvente orgánico capaz de romper la pared de las células vegetales y de esta manera poder extraer la mayor cantidad posible de metabolitos que se encuentran en el interior de estas. Además, el metanol posee una polaridad similar a la del agua, el disolvente que se emplea en la medicina tradicional para preparar infusiones y decocciones de consumo habitual.

Obtención de los extractos de las especies vegetales estudiadas

La colecta del material vegetal y preparación de los extractos metanólicos (**Figura 7**) fue realizada previamente por el grupo de trabajo del Dr. Rolffy Ortiz-Andrade siguiendo la metodología a continuación descrita:

El material vegetal (hojas) de *Bursera graveolens* y *Citrus limonum* fue recolectado en la ciudad de Mérida, Yucatán en diciembre de 2016 y fue identificado por el Dr. Salvador Flores-Guido del Departamento de Botánica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Yucatán. Una muestra de cada ejemplar fue depositada en el herbario Alfredo Barrera Marín de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UADY, donde se asignaron los siguientes números de *voucher*⁴⁵:

- *Bursera graveolens* (J.S 12867)
- *Citrus limonum* (J.S 12868)

El material vegetal de cada especie fue sometido a un proceso de secado en una habitación a temperatura ambiente (sin acondicionador de aire) y baja humedad; posteriormente fue molido hasta obtener un polvo fino utilizando un procesador de alimentos de la marca Moulinex®. El material vegetal seco y molido de cada especie (200 g de *Bursera graveolens* y 126 g de *Citrus limonum*) fue sometido a un proceso de extracción exhaustivo vía maceración con metanol en una proporción 1:10 (m/v). El disolvente utilizado para realizar la extracción fue seleccionado con base en los estudios previos realizados por nuestro grupo de trabajo. Se realizó la maceración exhaustiva con tres recambios de disolvente limpio cada 72 h. Ambos extractos fueron filtrados y se llevaron a sequedad total al vacío utilizando un rotaevaporador de la marca Büchi®. Finalmente, los extractos fueron sometidos a un proceso de liofilización mediante un sistema FreeZone® estilo consola de 6 L de Labconco® para asegurar la sequedad máxima^{57,58}. En la **Figura 7** se esquematiza dicho procedimiento. Finalmente, se calculó

el rendimiento porcentual de cada extracto, definido como la relación porcentual entre la cantidad de extracto obtenido de las hojas y la cantidad de material vegetal seco empleado para realizar dicho extracto, los cuales fueron los siguientes:

- Extracto metanólico de *Bursera graveolens* (EMBg): 16.29%
- Extracto metanólico *Citrus limonum* (EMCI): 12.86%

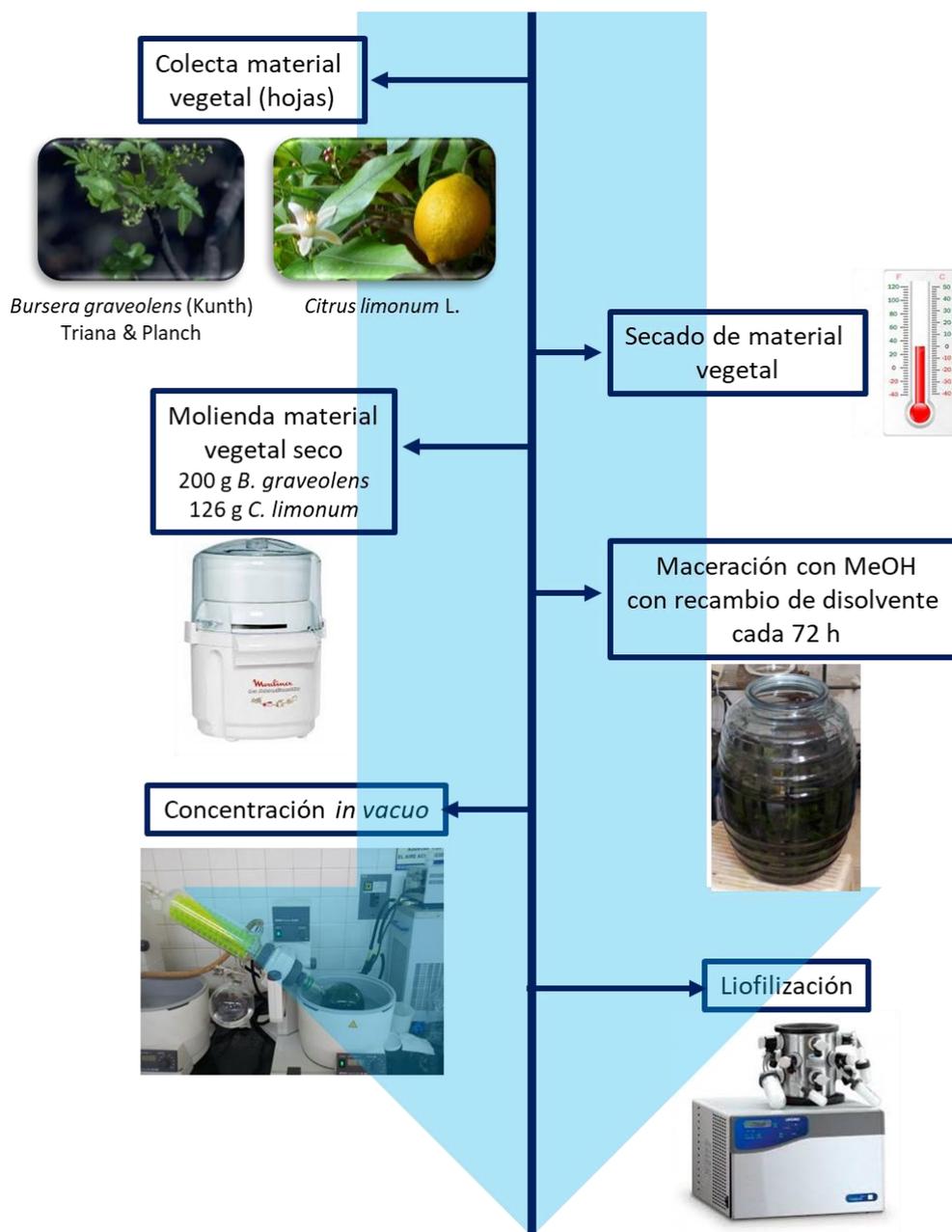


Figura 7. Metodología general para la obtención de extractos.

Animales empleados para las evaluaciones farmacológicas

Para las evaluaciones farmacológicas *ex vivo* fueron utilizadas ratas macho de la cepa Wistar con un peso aproximado entre 250-300 g, las cuales fueron obtenidas del bioterio de la División Académica de Ciencias de la Salud de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT). Para las evaluaciones farmacológicas *in vivo* fueron utilizadas ratas hipertensas espontáneamente de la cepa SHR (*Spontaneously Hypertensive Rats*, por sus siglas en inglés), macho, con un peso aproximado de 300-350 g, las cuales fueron obtenidas del bioterio de la Unidad de Biomedicina de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Estos animales se mantuvieron en condiciones estándar de bioterio con acceso a agua y alimento *ad libitum* y fotoperiodos controlados. Los animales de experimentación empleados en el transcurso del proyecto, fueron manipulados de acuerdo con la NOM-062-ZOO-1999 Regulación Federal para el Manejo y Experimentación de Animales emitida por la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA)⁵⁹.

Obtención del tejido animal

Las evaluaciones farmacológicas *ex vivo* fueron realizadas de acuerdo al esquema presentado en la **Figura 8**.

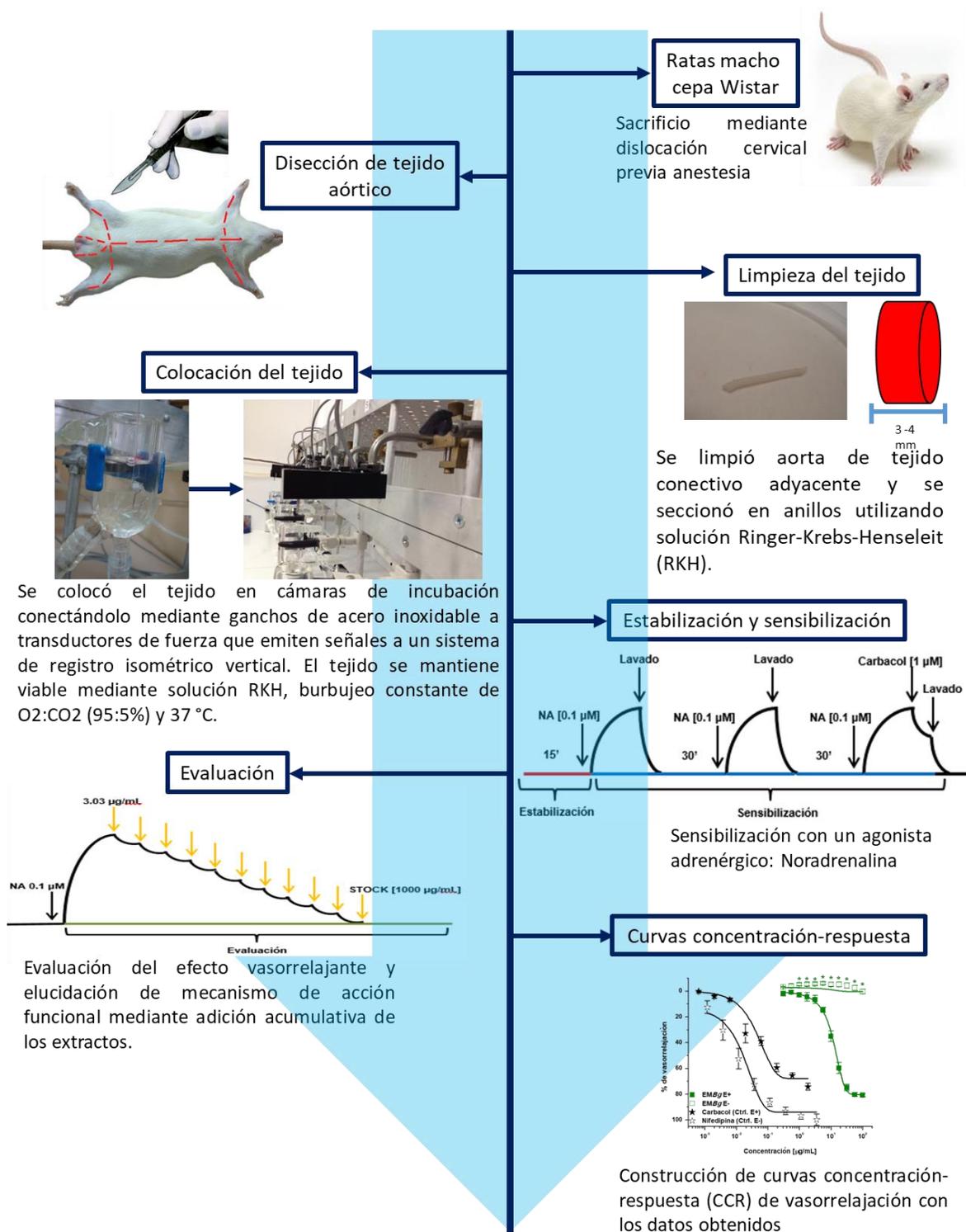


Figura 8. Metodología general para la evaluación farmacológica *ex vivo* de extractos vegetales.

Los animales fueron anestesiados con pentobarbital sódico (60 mg/Kg, vía intraperitoneal) y posteriormente fueron sacrificados por dislocación cervical. En seguida, se realizó una disección abdominal que permitió obtener la aorta torácica, la cual se mantuvo en una solución Ringer Krebs-Henseleit (RKH) con la siguiente composición (mM): NaCl 119, KCl 4.6, KH_2PO_4 1.2, MgSO_4 1.2, CaCl_2 1.5, NaHCO_3 20, glucosa 11.4 y EDTA 0.027. La solución fue preparada con agua destilada y fue ajustada a $\text{pH} \approx 7.4$, se mantuvo a 37°C y en constante burbujeo con una mezcla gaseosa de $\text{O}_2:\text{CO}_2$ (95:5%). La aorta fue limpiada de tejido adyacente/conectivo y posteriormente se cortaron anillos de 0.3 cm de longitud aproximadamente.

Para algunos experimentos fue necesario remover mecánicamente el endotelio vascular utilizando un estilete de acero inoxidable; la ausencia (E-) o presencia del endotelio (E+) fue corroborada mediante la relajación inducida al adicionar carbacol 1 μM (agonista colinérgico) a la cámara de incubación durante el periodo de sensibilización del tejido⁶⁰.

Sistema de registro

Para determinar el mecanismo de acción vasorrelajante de los extractos, se empleó un sistema de registro isométrico vertical para tejido aislado⁶¹. En este, los anillos de aorta se colocaron en una cámara de incubación de 10 mL con solución RKH burbujeada constantemente con $\text{O}_2:\text{CO}_2$ (95:5%) a una temperatura de 37°C (por baño recirculador). En estas condiciones, el tejido fue sujetado con un gancho de Nikrom[®] a la parte inferior de la cámara y en la parte superior a un transductor de fuerza marca Grass[®], el cual registra constantemente las señales mecánicas de la contracción y las envía a un sistema de detección de datos marca BIOPAC[®] de 6 canales. La fuerza de tensión inicial empleada para el tejido fue de 3 g.

Proceso de estabilización y sensibilización

Para la estabilización del tejido a las condiciones *ex vivo*, una vez colocados en las cámaras de incubación, los anillos se mantuvieron en solución RKH durante 15 min, con una tensión constante de 3 g. Posteriormente, cada anillo se sometió a un proceso de sensibilización con noradrenalina (NA) [0.1 μM] (agonista adrenérgico)⁶²; se realizaron 3 sensibilizaciones con intervalos de lavado de 30 min, la integridad del endotelio vascular fue confirmada mediante la adición de carbacol (un antagonista muscarínico [1 μM]) en la tercera sensibilización. El proceso de estabilización y sensibilización se esquematiza en la **Figura 9**.

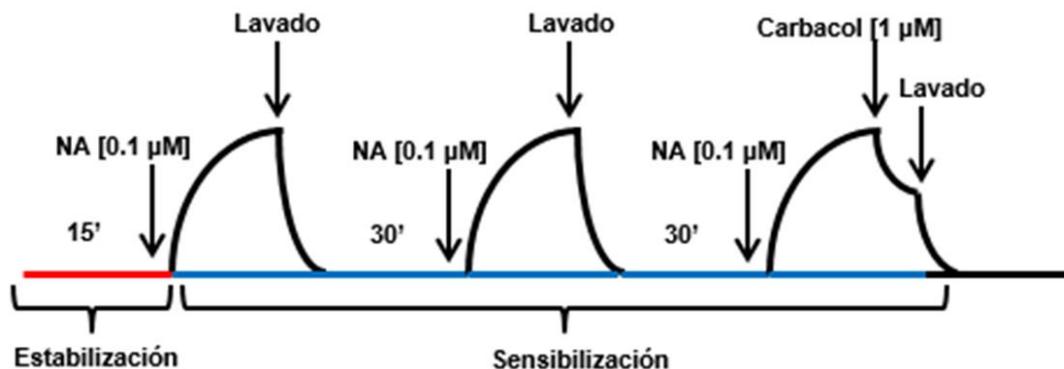


Figura 9. Esquema del proceso de estabilización y sensibilización con noradrenalina [0.1 µM] de los anillos aórticos.

Evaluación del efecto vasorrelajante *ex vivo*

Con la finalidad de confirmar el efecto vasorrelajante de los extractos metanólicos de las especies vegetales *Bursera graveolens* y *Citrus limonum* se realizaron las siguientes evaluaciones en experimentos independientes: se colocaron en las cámaras de incubación anillos de aorta de rata aislados con y sin endotelio, y posterior al proceso de estabilización y sensibilización, se indujo la contracción con NA [0.1 µM]. Después de alcanzada y mantenida la contracción máxima, se adicionaron a la cámara 10 concentraciones del extracto de forma acumulativa en intervalos de tres minutos, en orden creciente de concentración [3.03 a 1000 µg/mL] tal como se esquematiza en la **Figura 10**. Se registró el valor obtenido para cada concentración añadida, con la finalidad de construir una curva concentración-respuesta (CCR) de relajación⁴⁵. De las CCR se obtuvieron los parámetros farmacológicos concentración efectiva media (CE₅₀) definida como la concentración a la que se produce el 50% del efecto máximo y efecto máximo (E_{max}) que es la respuesta máxima del extracto⁶³.

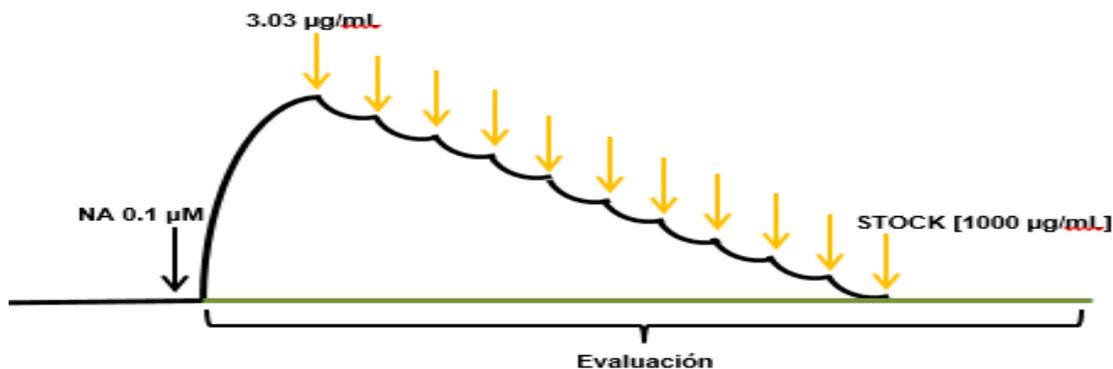


Figura 10. Esquema del proceso de evaluación del efecto vasorrelajante.

Elucidación del mecanismo de acción vasorrelajante *ex vivo*

Posterior al proceso de estabilización y sensibilización, se realizaron los experimentos que permitieron determinar el mecanismo de acción funcional de cada extracto vegetal, tal como se describe a continuación:

a) Determinación de la participación de receptores endoteliales

Para determinar la participación de receptores muscarínicos presentes en el endotelio vascular, se emplearon anillos E+ los cuales fueron incubados durante 15 min con **atropina** (un antagonista de receptores muscarínicos; [1 μ M])⁶⁴. Posteriormente, se indujo la contracción con NA [0.1 μ M] hasta alcanzar la contracción máxima, a continuación se adicionaron los extractos de prueba de manera acumulativa y en orden creciente de concentración [3.03-1000 μ g/mL], con la finalidad de construir CCR con las muestras de prueba.

b) Determinación de la participación de la vía NO-GCs-GMPc-PKG

Con la finalidad de determinar la participación de la vía de señalización NO-GCs-GMPc-PKG, anillos E+ que fueron incubados durante 15 min en experimentos independientes, con *N*^G-nitro-L-arginina metil éster (**L-NAME**) (un inhibidor de la enzima óxido nítrico sintasa; [100 μ M]) o [1*H*-[1, 2, 4]oxodiazolo[4, 3-*a*]quinoxalin-1-ona (**ODQ**) (un inhibidor de la enzima guanilato ciclasa soluble; [10 μ M])⁶⁵. Posteriormente, se indujo la contracción con NA [0.1 μ M] hasta alcanzar la contracción máxima, y a continuación se adicionaron los extractos prueba de forma acumulativa y en orden creciente de concentración [3.03-1000 μ g/mL], con la finalidad de construir CCR con las muestras de prueba.

c) Determinación de la participación de prostaciclina

Con la finalidad de determinar la participación de PGI₂, anillos E+ fueron pre-incubados durante 15 min con **indometacina** (un inhibidor inespecífico de ciclooxigenasa; [10 μ M])⁶⁴. Posteriormente, se indujo la contracción con NA [0.1 μ M] hasta alcanzar la contracción máxima, a continuación se adicionaron los extractos prueba de manera acumulativa y en orden creciente de concentración [3.03-1000 μ g/mL], con la finalidad de construir CCR con las muestras de prueba.

d) Determinación de la participación de canales de potasio de larga conductancia activados por calcio (BK_{Ca})

Con el objetivo de conocer la participación de los extractos en la apertura de este tipo de canales de potasio, anillos E+ fueron incubados durante 15 min con un bloqueador de canales de potasio: Tetraetilamonio (**TEA**) (un bloqueador de los canales de potasio sensibles a Ca²⁺; [10 mM]). Posteriormente, se indujo la contracción con NA [0.1 μ M] hasta alcanzar la contracción máxima, a continuación se adicionaron los

extractos prueba de manera acumulativa y en orden creciente de concentración [3.03-1000 µg/mL], con la finalidad de construir CCR con las muestras de prueba⁶⁵.

Se comparó el efecto vasorrelajante de las muestras de prueba en presencia y ausencia de atropina, L-NAME, ODQ, indometacina y TEA, respectivamente.

e) Determinación de la participación de canales de calcio tipo L

Para determinar el bloqueo de canales de calcio tipo L en el efecto vasorrelajante de las especies estudiadas se implementaron las siguientes metodologías:

Posterior al proceso de sensibilización, anillos E- fueron pre-contráidos por despolarización con una solución de Krebs con altas concentraciones de cloruro de potasio (KCl [80 mM]), hasta alcanzar la contracción máxima; después se adicionaron en orden creciente de concentración las diluciones de las muestras de prueba: extractos [3.03-1000 µg/mL] y control (nifedipina: bloqueador de canales de calcio [1.19×10^{-3} -3.46 µg/mL]), con la finalidad de construir CCR de relajación⁴⁵ tal como se esquematiza en la **Figura 11**.

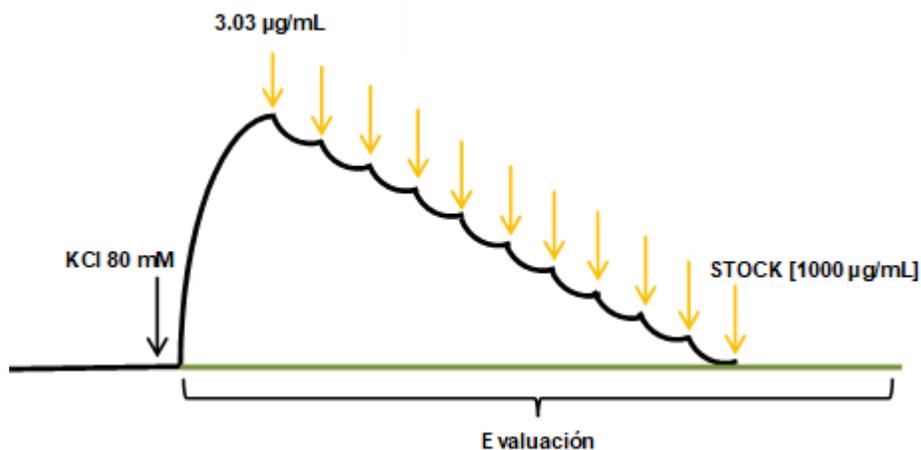


Figura 11. Esquema de la determinación de la participación de canales de Ca^{2+} tipo L mediante contracción con KCl 80 mM.

Posterior a la tercera sensibilización, anillos E- y/o E+ fueron lavados con solución KCl 80 mM de Krebs libre de calcio durante 30 min y posteriormente se agregó $CaCl_2$ [0.1 mM a 10 mM] de forma acumulativa a la cámara de incubación, con la finalidad de construir una curva CCR control a $CaCl_2$. Enseguida, el tejido fue lavado con solución KCl 80 mM de Krebs sin calcio y se dejó estabilizar durante 30 min. Cuando el tejido alcanzó nuevamente sus niveles basales de tensión, se incubó durante 15 min la CE_{50} de las especies estudiadas y se agregó de nuevo $CaCl_2$ de forma acumulativa a las mismas concentraciones para observar la reactividad de la aorta⁶⁶, tal como se

esquemática en la **Figura 12**. Las CCR de contracción fueron comparadas en presencia y ausencia del extracto. En este experimento se utilizó nifedipina [10 μ M] como control positivo.

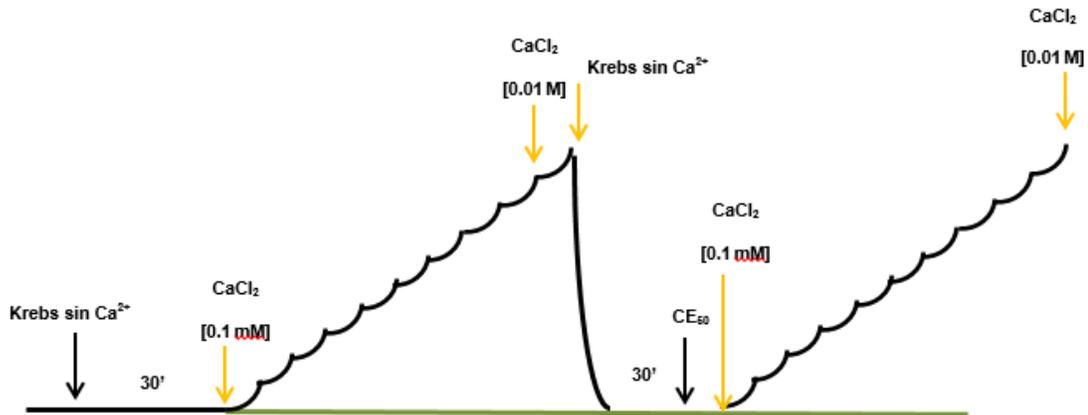


Figura 12. Esquema de la determinación de la participación de canales de Ca²⁺ tipo L mediante contracción con CaCl₂.

Evaluación del efecto antihipertensivo del extracto metanólico de *Bursera graveolens* en ratas espontáneamente hipertensas

Con base en los experimentos anteriores, se seleccionó el **extracto metanólico de *Bursera graveolens* (EMBg)** para realizar los experimentos *in vivo* ya que fue el que presentó mejor efecto vasorrelajante.

El ensayo de la actividad antihipertensiva se realizó de acuerdo al protocolo descrito por Hernández-Abreu y cols.⁶⁷ con algunas modificaciones. Para esto se utilizaron ratas macho adultas de la cepa SHR (espontáneamente hipertensas) con un peso aproximado de 300-350 g. Todos los experimentos se llevaron a cabo utilizando cinco animales por grupo. Las dosis empleadas fueron 100, 200 y 400 mg/Kg para el EMBg y 30 mg/Kg de Captopril (inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina) usado como control positivo, diluido en agua destilada; las dosis fueron administradas vía intragástrica (I.G.). El grupo control hipertenso recibió vehículo (agua destilada) a un mismo volumen (0.5 mL/100 g). La presión arterial sistólica (PAS), la presión arterial diastólica (PAD) y la frecuencia cardíaca (FC) fueron determinadas al inicio del experimento (tiempo cero) y a las 1 (h1), 3 (h3), 5 (h5) y 7 (h7) horas posteriores a la administración del tratamiento correspondiente, para lo cual se utilizó un tensiómetro caudal no invasivo para roedor (Pletismómetro Panlab[®] Harvard Apparatus; LE 5007 Automatic Blood Pressure Computer).

Análisis estadístico

Todos los resultados obtenidos en la determinación del mecanismo de acción vasorrelajante y en la determinación de la actividad antihipertensiva, fueron expresados como el promedio \pm el error estándar de la media de 6 réplicas para los experimentos *ex vivo* y 5 réplicas para los experimentos *in vivo*. La significancia estadística fue determinada utilizando una prueba de análisis de varianza (ANOVA) de una vía, seguida de un análisis *post hoc* de Tukey. Los valores de $p < 0.05$ fueron considerados estadísticamente significativos respecto al control⁶⁸. Todos los gráficos (curvas concentración-respuesta: CCR) y el análisis estadístico fueron realizados utilizando el programa STATGRAPHICS® Centurion XVI.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En estudios previos realizados por nuestro grupo de trabajo se obtuvieron los extractos metanólicos de dos especies vegetales colectadas en Yucatán, la especie *Bursera graveolens* (EMBg) y *Citrus limonum* (EMCI). Asimismo, se determinó el efecto vasorrelajante de dichas plantas, obteniendo porcentajes de vasorrelajación de 52.3% y 61.0% respectivamente⁴⁵. Este estudio previo sugirió su potencial antihipertensivo.

Determinación del mecanismo de acción funcional del extracto metanólico de *Bursera graveolens*

Inicialmente se determinó el efecto vasorrelajante, sobre la contracción inducida por noradrenalina (NA), del extracto metanólico de *Bursera graveolens* (EMBg). Estos experimentos fueron reproducidos con la finalidad de descartar posible degradación del extracto y pérdida del efecto reportado previamente. Los resultados obtenidos se describen a continuación. En la **Figura 13** se puede observar la CCR de relajación del EMBg en anillos de aorta E+ y E-. *B. graveolens* alcanzó un E_{max} de **80.8%** en anillos de aorta E+, este efecto es totalmente dependiente del endotelio vascular, ya que al evaluar el extracto en anillos E- el efecto vasorrelajante se pierde ($E_{max}=0.44\%$).

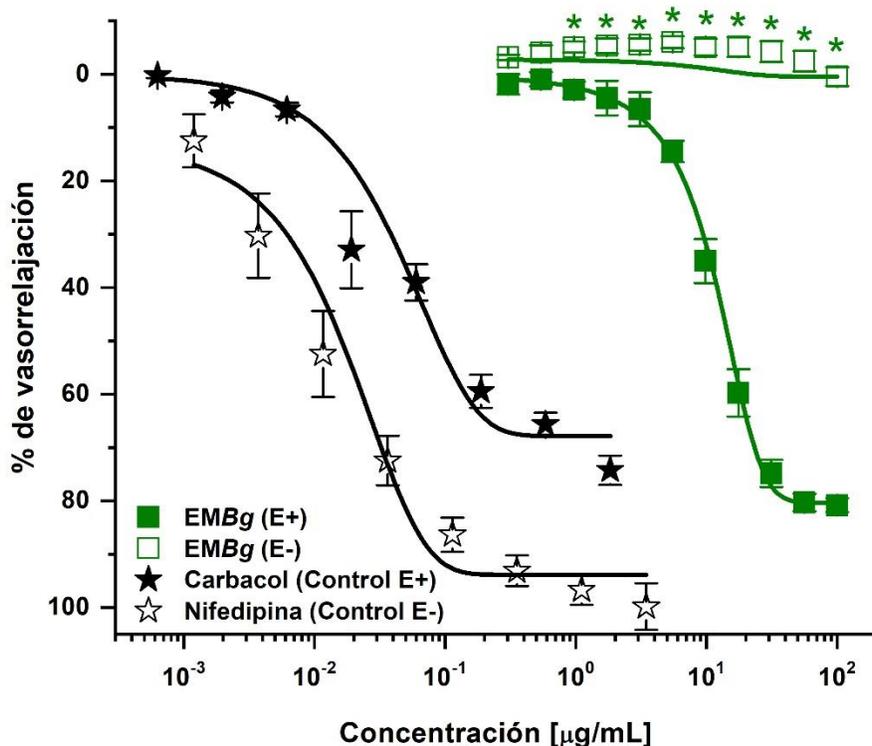


Figura 13. Curva concentración-respuesta de vasorrelajación del EMBg, en anillos de aorta pre-contráidos con NA [$0.1 \mu\text{M}$] ($n=6$, $*p<0.05$).

En la literatura científica no han sido reportados suficientes estudios fitoquímicos llevados a cabo en extractos metanólicos de hojas de la especie *Bursera graveolens*, sin embargo, Young y cols. reportaron en 2011 un estudio en el cual encontraron en aceites esenciales de esta especie, diversas moléculas de tipo terpenoide, sobre todo monoterpenos como **limoneno**, **α -terpineol**, **carvona** y **pulegona**⁶⁹, cuyas estructuras se presentan en el **Anexo 1**. En 2005, Nakanishi y cols. reportaron la presencia de **burseranina**, una podofilotoxina de tipo lignano y la presencia de **picropoligamaína**, también una molécula de tipo lignano, además de dos triterpenos conocidos, **lupeol** y **epi-lupeol** (**Anexo 1**) en un extracto metanólico obtenido de la corteza de *Bursera graveolens*⁴². Por otra parte, en estudios independientes de los anteriores, se han descrito los efectos farmacológicos sobre el sistema cardiovascular de moléculas tipo lignano como por ejemplo, la inhibición de la fosfodiesterasa de AMPc y el antagonismo de canales de calcio dependientes de voltaje tipo L⁷⁰. En adición, estudios realizados por otros grupos de trabajo reportaron que en otras especies del género *Bursera*, como *B. simaruba* y *B. morelensis*, entre otras, se han aislado diversos compuestos triterpénicos tales como **lupeol** y **α -amirina**⁴¹ así como fenilpropanoides, flavonoides y taninos hidrolizables⁷¹ (**Anexo 1**), de los cuales se ha reportado con anterioridad su potencial relajante *ex vivo* en aorta de rata^{72,73} e hipotensor y antihipertensivo^{67,74}, por lo que se podría atribuir el efecto presentado por el EMBg a la presencia de este tipo de moléculas en el extracto metanólico de *B. graveolens*.

Debido a que el efecto fue totalmente dependiente del endotelio vascular, se procedió a iniciar con aquellos experimentos enfocados a determinar la participación de factores relajantes derivados del endotelio vascular, tales como la prostaciclina (PGI₂) y la participación de la vía del óxido nítrico-GMP cíclico (NO/GMPc). Para ello, se evaluó el efecto vasorrelajante del EMBg en presencia de un inhibidor inespecífico de la síntesis de prostaglandinas (indometacina), un inhibidor de la síntesis de NO (L-NAME) y un inhibidor de la síntesis de GMPc (ODQ). En las **Figuras 14 y 15** se muestran las CCR de EMBg en presencia de los inhibidores antes mencionados.

Participación de PGI₂

En la **Figura 14** se muestra el efecto del EMBg en presencia de indometacina, en esta curva se observa un desplazamiento estadísticamente significativo hacia la izquierda respecto al control, sugiriendo una potenciación del efecto del EMBg. Esta potenciación podría atribuirse a la inhibición de la síntesis de factores contráctiles derivados del endotelio (FCDE) de la siguiente manera: el tono vascular normal es atendido por un balance muy fino entre factores relajantes y contráctiles, donde el endotelio participa activamente en su producción y liberación⁷⁵. Los factores relajantes derivados del endotelio (FRDE) están bien definidos y son: NO, factor hiperpolarizante derivado de endotelio (FHDE) y PGI₂, siendo el NO el mayor vasodilatador en los conductos arteriales⁷⁵. Las entidades químicas que fungen como FCDE son menos claras debido a su heterogeneidad en arterias de diferentes especies. Sin embargo, se

sugiere que en su mayoría, los FCDE son metabolitos derivados de ácido araquidónico por acción de ciclooxigenasas como por ejemplo: prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$), prostaglandina H_2 (PGH_2), prostaglandina E_2 (PGE_2), tromboxano A_2 (TxA_2) e isoprostanos⁷⁵. De esta manera, al ser indometacina un inhibidor inespecífico de la síntesis de prostaglandinas, podría estar inhibiendo tanto la producción de prostaglandinas vasorrelajantes, como la producción de prostaglandinas vasoconstrictoras que son las responsables de contrarrestar el efecto vasorrelajante del *EMBg*⁷⁶. Por otra parte, estos hallazgos sugieren que la producción de PGI_2 no está involucrada en el efecto vasorrelajante presentado por *EMBg*.

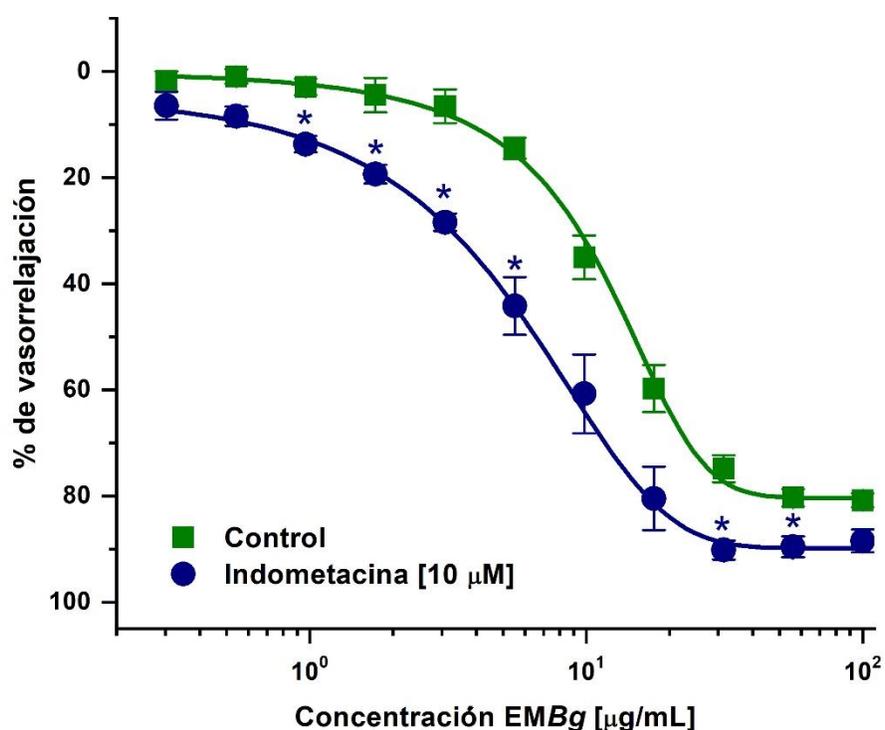


Figura 14. Efecto vasorrelajante del *EMBg* en presencia de indometacina (n=6, * $p < 0.05$ respecto a la CCR control).

Participación de la vía NO/GMPc

En la **Figura 15** se observa la CCR del efecto vasorrelajante del *EMBg* en presencia de L-NAME y ODQ, se observa disminución estadísticamente significativa del efecto vasorrelajante máximo de **80.8%** a **6.62%** y **2.36%**, respectivamente. Este comportamiento sugiere que el *EMBg* ejerce su efecto vasorrelajante mediante la activación de la enzima óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS) con subsecuente producción de NO e incremento de GMPc. Así, al estar inhibidos estos sitios, el efecto

del EMBg se pierde completamente. El NO es un gas que difunde libremente hacia células de músculo liso vascular (CMLV) y activa la enzima guanilato ciclasa soluble (GCs) ocasionando un aumento en la producción de GMPc, este segundo mensajero activa a la proteína cinasa dependiente de GMPc (PKG)⁷⁷. Estudios previos recopilados por Gollasch y Nelson en 1997, han reportado que PKG inhibe el influjo de Ca²⁺ en las CMLV, aumenta el secuestro de este mismo ion por parte del retículo sarcoplásmico (RS) en CMLV y ocurre una desensibilización a este ion⁷⁸. Por tanto, estos hallazgos sugieren que EMBg es capaz de activar la eNOS con subsecuente producción de NO. De la misma manera, la activación de eNOS por parte del EMBg conllevaría a incrementar los niveles de GMPc por activación de la enzima GCs.

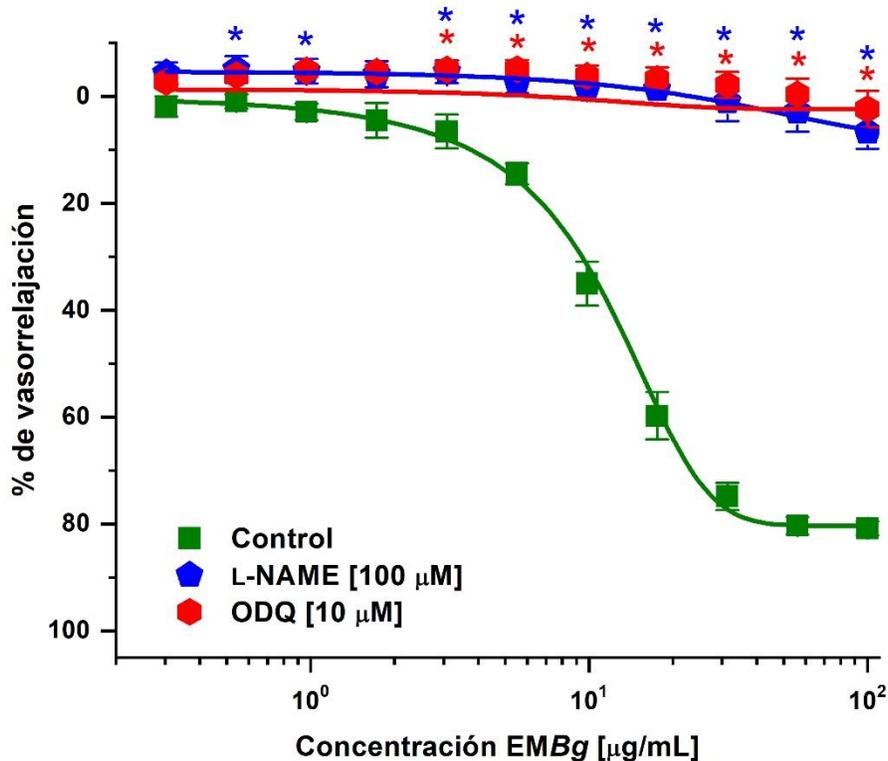


Figura 15. Efecto vasorrelajante del EMBg en presencia de L-NAME y ODQ (n=6, * $p < 0.05$ respecto a la CCR control).

Participación de receptores muscarínicos

El NO es continuamente liberado por eNOS presente en las células endoteliales como consecuencia del estrés generado por el flujo sanguíneo⁷⁹. Sin embargo, su liberación también es mediada por activación de receptores muscarínicos⁸⁰. La activación de este tipo de receptores acoplados a proteína G por fármacos análogos de acetilcolina como el carbacol, activa la cascada del IP₃ y del DAG con subsecuente

incremento de $[Ca^{2+}]_i$. La eNOS es activada en células endoteliales como respuesta a un incremento de $[Ca^{2+}]_i$.¹⁰

Con el propósito de conocer si el efecto del EMBg involucra la activación de receptores muscarínicos M_3 , se evaluó el efecto vasorrelajante de este extracto en presencia de atropina (un antagonista muscarínico M_3). En la **Figura 16** se muestra la CCR de vasorrelajación del EMBg en presencia de atropina, en ésta se observa disminución del E_{max} de **80.8%** a **63.4%**, este comportamiento es característico de un antagonismo no competitivo de receptores muscarínicos M_3 . La modificación en la eficacia de la CCR sugiere que el EMBg no compite con atropina por su receptor, es decir, ejerce su efecto vasorrelajante mediante la inhibición de un sitio alostérico al receptor, o un sitio en la cascada de señalización posterior a la activación del receptor M_3 , como sería la activación de la eNOS tal como lo sugieren los experimentos previos.

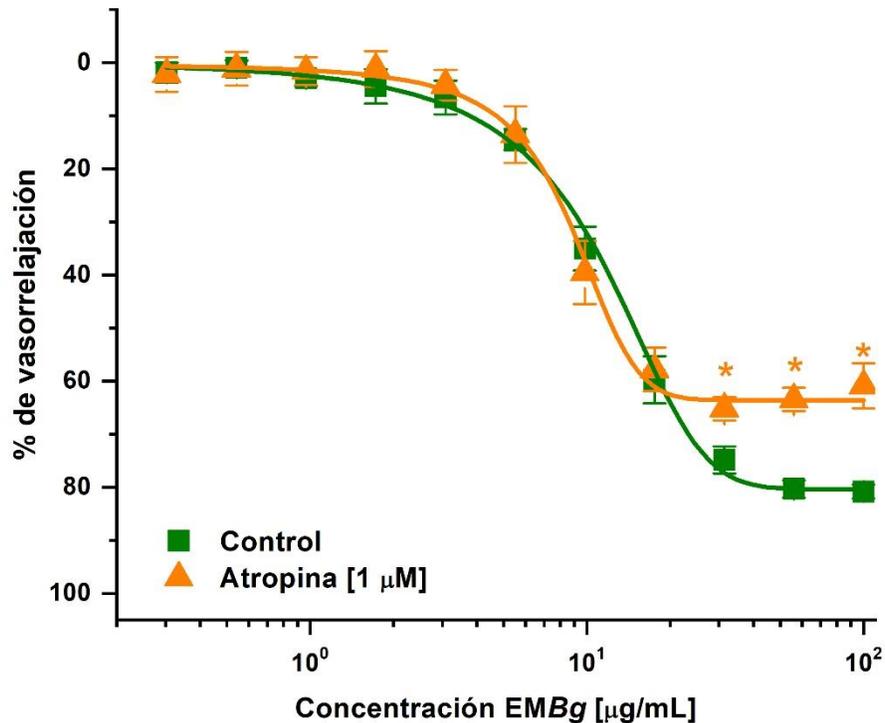


Figura 16. Efecto vasorrelajante del EMBg en presencia de atropina (n=6, * $p < 0.05$ respecto a la CCR control).

Participación de canales BK_{Ca}

La activación de PKG por parte de NO/GMPc ocasiona un decremento en los niveles intracelulares de Ca^{2+} por diversas vías, ya sea por inactivación de canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje tipo L o de manera indirecta por activación de los canales de

potasio sensibles a calcio (BK_{Ca}), cuya estimulación origina la hiperpolarización de la membrana celular y como consecuencia la disminución de la entrada de Ca^{2+} a través de los canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje tipo L⁸¹. En adición, también se ha reportado que el NO es capaz de activar directamente canales BK_{Ca} en tejido de músculo liso aórtico⁸².

Con la finalidad de determinar la participación de los canales BK_{Ca} en el efecto vasorrelajante del $EMBg$, se realizó una CCR de vasorrelajación en presencia de TEA (bloqueador de los canales de potasio sensibles a Ca^{2+}). La **Figura 17** muestra la CCR en presencia de TEA, en esta se observa una disminución estadísticamente significativa del E_{max} de **80.8%** a **50.52%** y modificación de la CE_{50} de **14.2** a **99.70** $\mu g/mL$, este comportamiento es característico de un antagonismo no competitivo por los canales BK_{Ca} , lo que podría ser indicio de la apertura de canales BK_{Ca} por parte de PKG, como resultado de la producción de NO^{81,83}.

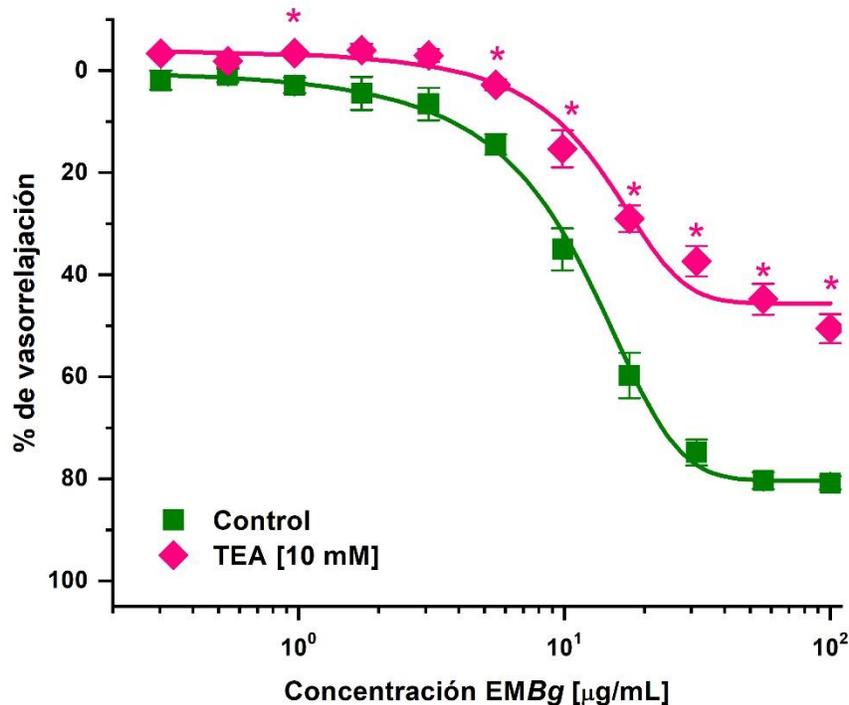


Figura 17. Efecto vasorrelajante del $EMBg$ en presencia de TEA ($n=6$, $*p<0.05$ respecto a la CCR control).

Participación de canales de calcio

El incremento en la producción de GMPc causa activación de PKG y ésta a su vez produce hiperpolarización y cierre de canales de calcio¹⁴, por dicha razón se determinó el bloqueo de canales de calcio en el efecto vasorrelajante del $EMBg$.

Para determinar la participación de canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje tipo L en el efecto del *EMBg*, se utilizó una solución fisiológica concentrada de KCl [80 mM], ésta induce contracción mediante despolarización de las membranas de CMLV con subsecuente apertura de canales de Ca^{2+} , entrada de Ca^{2+} y contracción⁸⁴. En la **Figura 18** se observa el efecto vasorrelajante inducido por el *EMBg* sobre la contracción inducida por KCl [80 mM], el cual alcanzó un $E_{\max}=73.98\%$ en anillos E+, corroborando de esta manera el cierre de canales de Ca^{2+} como resultado de la activación de PKG en la vía NO/GMPc. Se realizó el mismo experimento en anillos E-, en la misma figura se puede observar la CCR con una eficacia menor ($E_{\max}=27.39\%$), esto sugiere que el efecto vasorrelajante del *EMBg* también podría atribuirse al bloqueo directo de canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje tipo L presentes en la membrana de CMLV⁶⁶. Se ha demostrado que los bloqueadores de canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje (nifedipina) inducen relajación de forma importante en las contracciones inducidas por KCl, mientras que tienen un menor efecto sobre las contracciones inducidas por NA⁸⁵, es de esta manera como podría explicarse que *EMBg* no presentó efecto vasorrelajante al ser evaluado en anillos de aorta E- contraídos con NA (Figura 10).

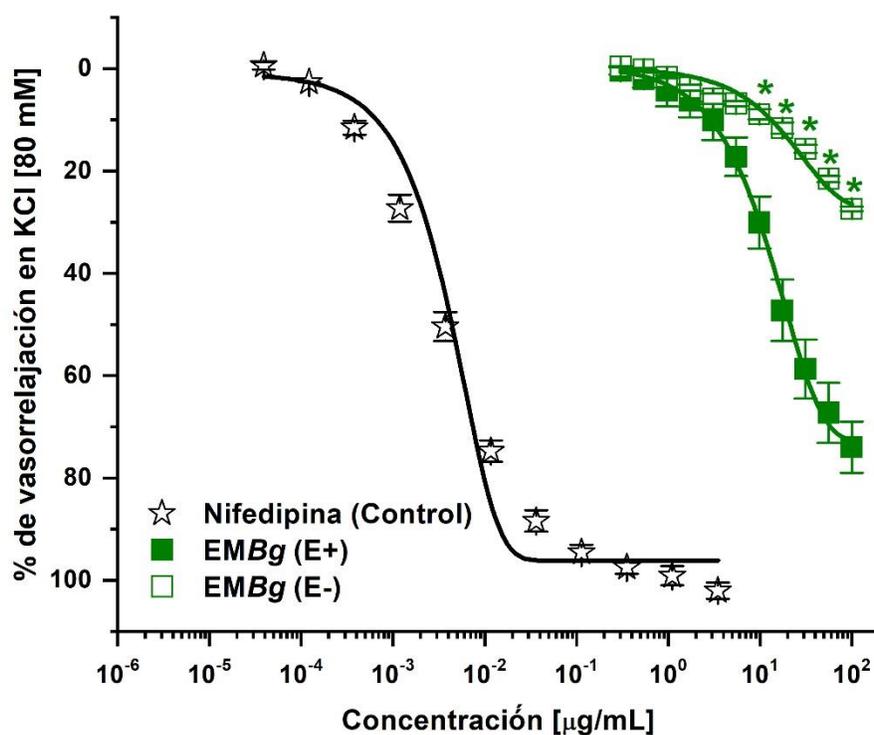


Figura 18. Curva concentración respuesta de vasorrelajación del *EMBg*, en anillos de aorta precontraídos con KCl [80 mM] ($n=6$, $*p<0.05$ respecto a la CCR E+).

A fin de reforzar los hallazgos anteriores que sugieren un bloqueo de canales de Ca^{2+} , se realizó una CCR de contracción con CaCl_2 , pre-incubando el EMBg ($\text{CE}_{50}=14.2 \mu\text{g/mL}$)⁶⁶. En la **Figura 19** podemos observar que EMBg ($\text{E}_{\text{max}}=1.46 \text{ g}$) inhibe significativamente la contracción máxima inducida por CaCl_2 en comparación con el control ($\text{E}_{\text{max}}=2.62 \text{ g}$), este comportamiento sugiere el bloqueo directo de canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje tipo L por parte de PKG.

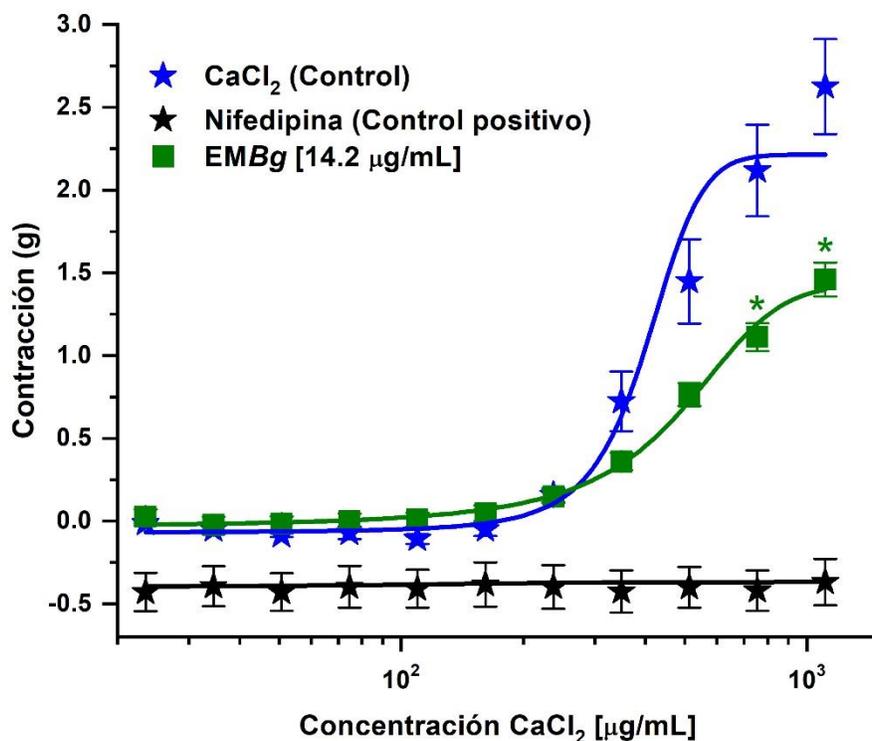


Figura 19. Curva de contracción a CaCl_2 en anillos de aorta E+ incubados con la CE_{50} del EMBg ($n=6$, $*p<0.05$ respecto al control de CaCl_2).

Determinación del mecanismo de acción vasorrelajante del extracto metanólico de *Citrus limonum*

Teniendo como antecedente el efecto vasorrelajante del extracto metanólico de *Citrus limonum* (EMCI) sobre la contracción inducida por NA, también se decidió evaluar nuevamente dicho extracto con la finalidad de descartar la degradación del mismo por el paso del tiempo y una subsecuente pérdida del efecto vasorrelajante.

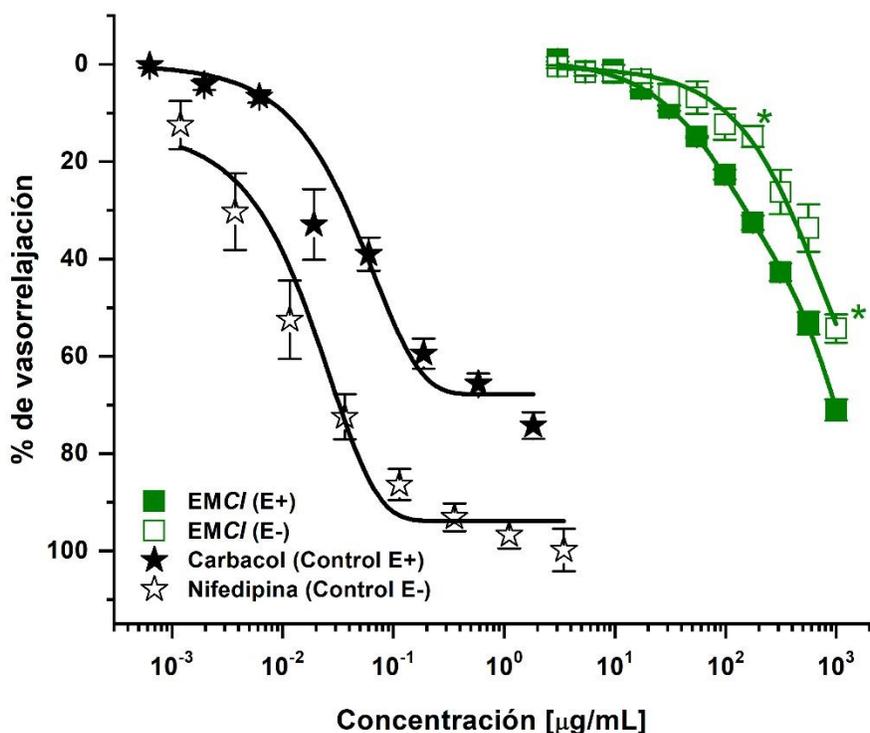


Figura 20. Curva concentración respuesta de vasorrelajación del EMCI, en anillos de aorta precontraídos con NA [$0.1 \mu\text{M}$] ($n=6$, $*p<0.05$).

En la **Figura 20** se muestra el efecto vasorrelajante del EMCI, el efecto fue dependiente de la concentración y parcialmente dependiente del endotelio vascular, sugiriendo que uno de los posibles mecanismos de acción está relacionado con la liberación de factores relajantes derivados del endotelio vascular, por lo que se procedió a iniciar con experimentos que determinen la participación de estos factores. Para ello, se evaluó el efecto vasorrelajante del EMCI en presencia de indometacina, L-NAME y OEQ de la misma manera en la que se realizó para el EMBg. Por otra parte, debido a que el efecto mostrado fue parcialmente dependiente del endotelio, no se puede descartar la participación simultánea de mecanismos de relajación que actúen directamente sobre células de músculo liso vascular. Por esta razón, se evaluó el efecto vasorrelajante del EMCI en anillos de aorta contraídos por despolarización de la

membrana y apertura de canales de calcio dependiente de voltaje tipo L con altas concentraciones de cloruro de potasio (KCl [80 mM]). Asimismo, se construyeron curvas de concentración a CaCl_2 pre-incubando la CE_{50} del EMC/ con la finalidad de determinar un posible bloqueo directo de canales de calcio. Finalmente, se evaluó el efecto vasorrelajante del EMC/ en presencia de un bloqueador no selectivo de canales de potasio (TEA).

Actualmente, no se cuenta con reportes que describan el contenido fitoquímico de las hojas de la especie *C. limonum*, sin embargo, se ha descrito la presencia de **flavonoides, terpenoides, alcaloides, esteroides y saponinas** en las cáscaras de varias especies del género *Citrus*, incluida la especie *limonum*⁵¹. Por otra parte, Lagha y Madani demostraron en otras especies del género *Citrus* como *Citrus sinensis* L. y *Citrus aurantium* L. la presencia y actividad antioxidante de **flavonoides, flavonoles, antocianinas, taninos y fenoles solubles**⁸⁶ cuyas estructuras se presentan en el **Anexo 2**. Además, se ha demostrado la potente actividad vasorrelajante *ex vivo* de diversos flavonoides a través de la inhibición de calmodulina⁷³, por lo que se podría atribuir el efecto del extracto metanólico de *C. limonum* a la presencia de este tipo de compuestos.

Participación de la vía NO/GMPc

En la **Figura 21** se muestra el efecto vasorrelajante del EMC/ en presencia de L-NAME y ODQ. Se observa disminución significativa del $E_{\text{máx}}$ de **71.03%** hasta **26.48%** y **36.31%**, respectivamente. Este resultado es indicio, de manera similar que en el EMBg, de que el EMC/ podría ejercer su efecto vasorrelajante mediante la activación de la enzima eNOS con producción de NO, incremento de GMPc y activación de PKG⁷⁷. Como se mencionó con anterioridad, la activación de PKG inhibe el influjo de Ca^{2+} en CMLV, aumenta el secuestro de este mismo ion por parte del retículo sarcoplásmico (RS) en CMLV y ocurre una desensibilización a este ion. De esta manera al inhibir la síntesis de NO con L-NAME y a la enzima GCs con ODQ, el efecto vasorrelajante del EMC/ disminuye significativamente. Sin embargo, el observar efectos vasorrelajantes de 26.48% (L-NAME) y 36.31% (ODQ) podría ser un indicio de la activación de otros puntos en la vía de señalización NO/GMPc como por ejemplo la activación de receptores muscarínicos y/o la participación de otros mecanismos que actúen directamente en células de músculo liso vascular.

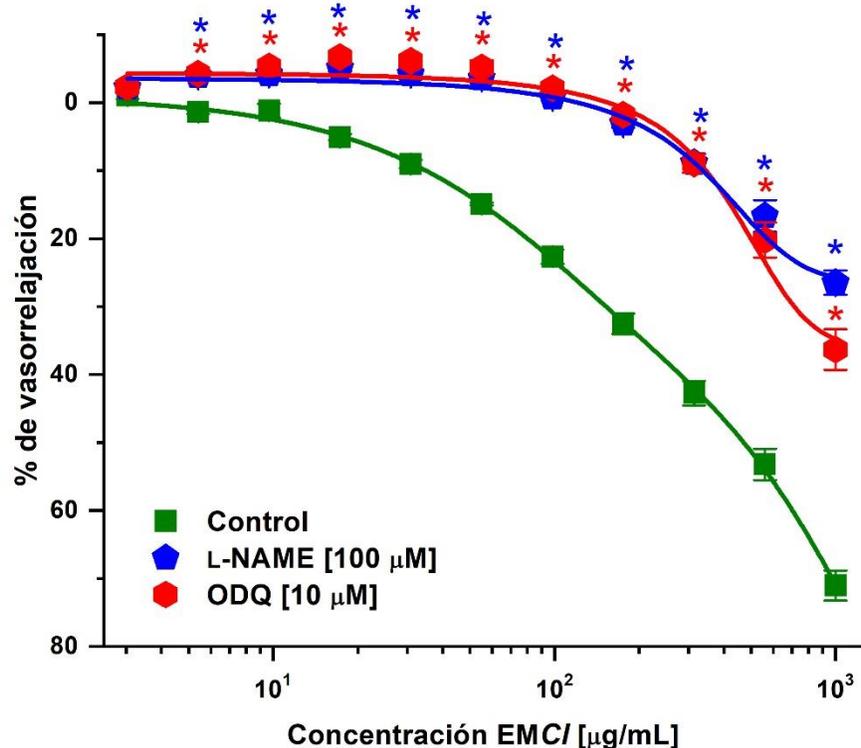


Figura 21. Efecto vasorrelajante del EMC/ en presencia de L-NAME y ODQ (n=6, * $p < 0.05$ respecto a la CCR control).

Participación de receptores muscarínicos

Como se mencionó con anterioridad la producción de NO puede estar mediada por activación de receptores muscarínicos, los cuales activan la cascada del IP_3 y DAG incrementando los niveles de $[Ca^{2+}]_i^{10,80}$. De esta manera, en la **Figura 22** se muestra el efecto vasorrelajante del EMC/ en presencia de atropina, un antagonista de los receptores muscarínicos M_3 . En la gráfica se observa efecto contráctil a bajas concentraciones que podría atribuirse a la acción de endotelina-1 (ET-1). Las endotelinas son péptidos que tienen potente actividad vasoconstrictora *in vivo* e *in vitro*. Existen tres isoformas de las endotelinas, sin embargo, las células endoteliales de la mayoría de los vasos sanguíneos parecen producir exclusivamente ET-1¹⁹. Cuando ET-1 se une a su receptor ET_B presente en células endoteliales, se activa la cascada de señalización para la producción de NO⁸⁷. En 1990, Boulanger y Lüscher demostraron que la estimulación de la producción de NO inhibe la expresión y la producción de ET-1⁸⁸. Por lo tanto, mientras las células endoteliales generen suficiente NO, la ET-1 no será capaz de jugar un rol principal en la homeostasis vascular⁸⁷. De esta manera, al inhibir la producción de NO mediante el antagonismo de receptores muscarínicos M_3 , ET-1 no es inhibida por NO y se desencadena su poder vasoconstrictor. Este supuesto fue corroborado

mediante la realización de este mismo experimento en anillos E- en los cuales no se observa vasoconstricción debido a la ausencia de ET-1. Así, los resultados obtenidos sugieren que el efecto vasorrelajante del EMC/ no está relacionado con la activación directa de receptores muscarínicos M₃.

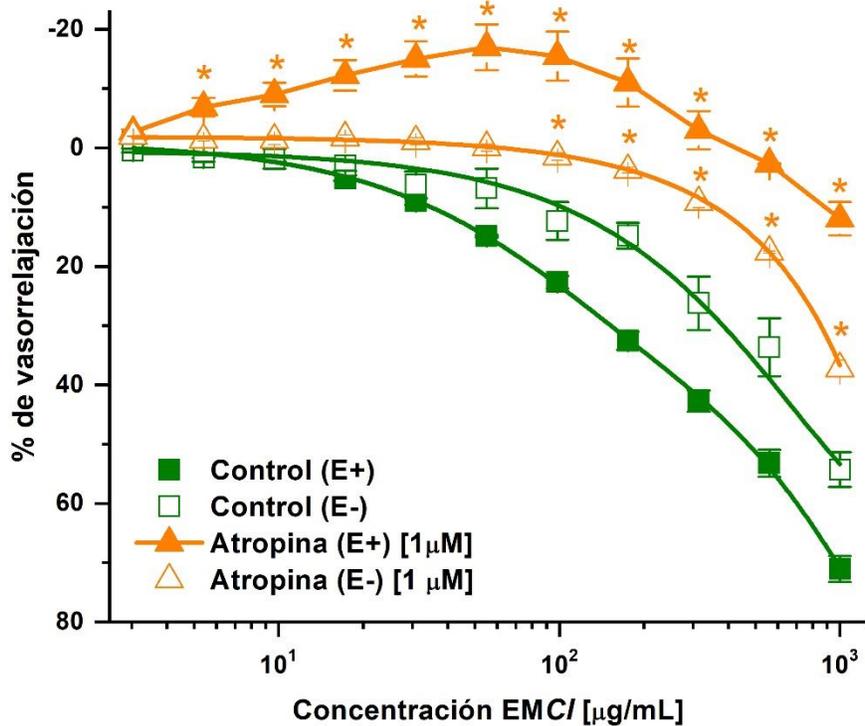


Figura 22. Efecto vasorrelajante del EMC/ en presencia de Atropina (n=6, * $p < 0.05$ respecto a la CCR control).

Participación de PGI₂

De manera similar a lo que sucede en el caso del NO, también ocurre una retroalimentación negativa entre la ET-1 y la PGI₂. Estudios realizados por Prins y cols. en 1994, reportan que ET-1 estimula la producción y liberación de PGI₂ a la vez que PGI₂ inhibe la producción y secreción de ET-1 en células endoteliales⁸⁹. En la **Figura 23** se muestra el efecto del EMC/ al ser incubados anillos de aorta E+ con indometacina (inhibidor inespecífico de COX), observándose un efecto contráctil que puede ser atribuido nuevamente a la síntesis de ET-1 en células endoteliales. Así, al inhibir la producción PGI₂, no se estaría inhibiendo la acción de ET-1 y por tanto se observan sus efectos contráctiles. Esta hipótesis fue corroborada al evaluar el efecto vasorrelajante del EMC/ en anillos E- pre-incubados con indometacina, en los cuales no se observa contracción debido a la ausencia de ET-1 producida en el endotelio vascular (**Figura 23**).

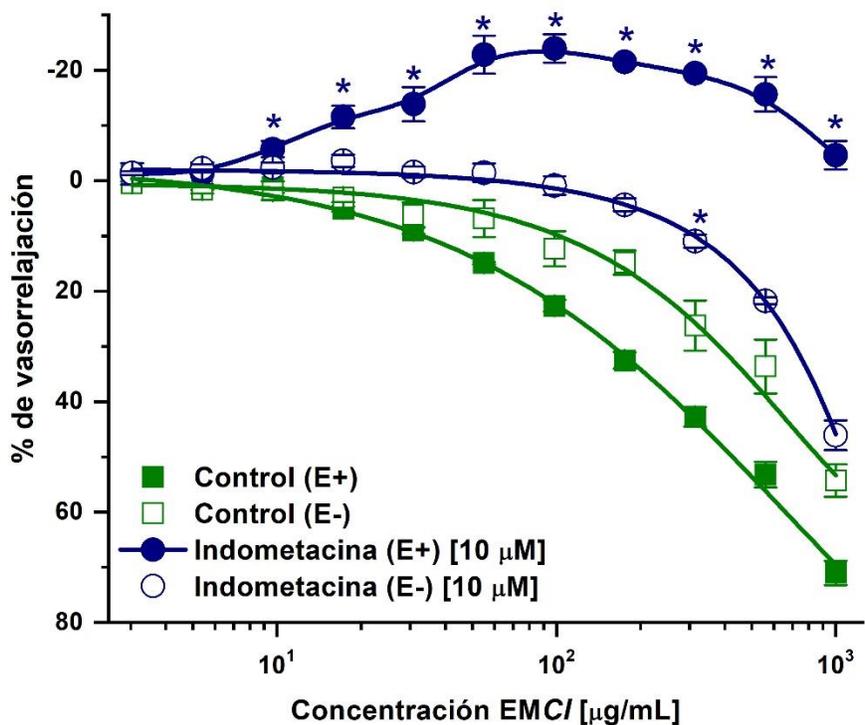


Figura 23. Efecto vasorrelajante del EMC/ en presencia de Indometacina (n=6, * $p < 0.05$ respecto a la CCR control).

Participación de canales BK_{Ca}

La producción de NO en el endotelio vascular ocasiona un aumento en la producción de GMPc y este a su vez causa la activación de PKG en CMLV. La activación de esta enzima ocasiona la apertura de canales BK_{Ca} con la subsecuente hiperpolarización de la membrana, cierre de canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje tipo L y por tanto vasorrelajación⁸¹. Algunos reportes también indican la posibilidad que tiene el NO de activar directamente canales BK_{Ca} en CMLV sin la participación de PKG⁸². En la **Figura 24** se muestra el efecto vasorrelajante del EMC/ en presencia de TEA (bloqueador de los canales de potasio sensibles a Ca^{2+}), donde podemos observar una disminución significativa del $E_{máx}$ desde **71.03%** a **31.97%** en anillos de aorta **E+**. Este comportamiento sugiere la posible apertura de canales BK_{Ca} como resultado de la producción de NO. Estos resultados confirman los hallazgos descritos en el primer apartado de esta sección.

Por otra parte, con la finalidad de evaluar una posible activación directa de canales de potasio por parte del EMC/, se evaluó el efecto vasorrelajante del mismo en anillos **E-** pre-incubados con TEA. En la **Figura 24**, la CCR del EMC/ no muestra

diferencias significativas al ser incubada con TEA, descartando la teoría de la apertura directa de canales de potasio.

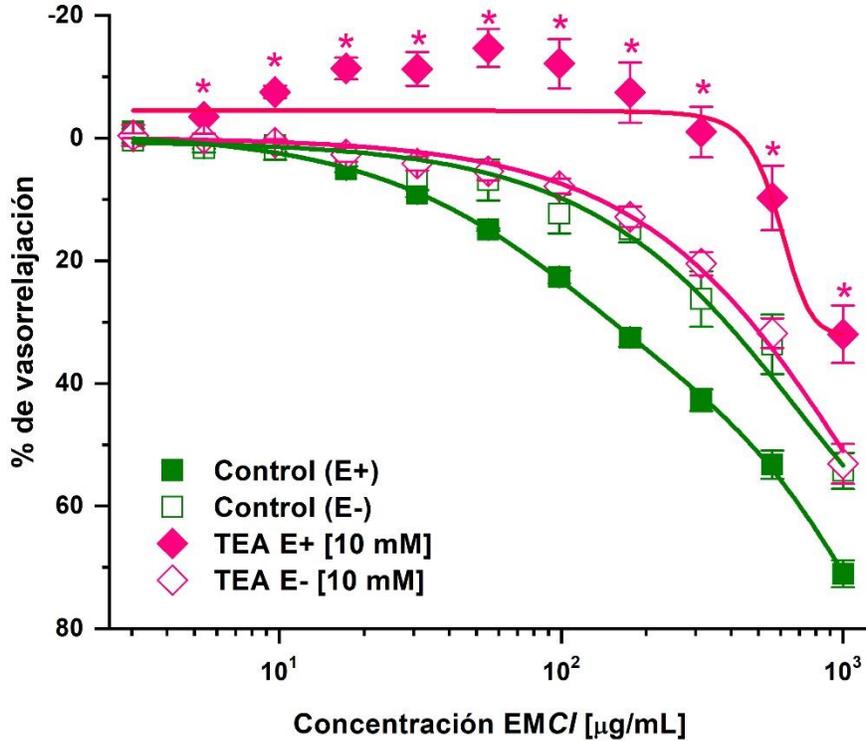


Figura 24. Efecto vasorrelajante del EMC/ en presencia de TEA ($n=6$, $*p<0.05$ respecto a la CCR control).

Participación de canales de calcio

Como se ha mencionado previamente, el resultado final de la activación de la vía NO/GMPc es el cierre de canales de Ca^{2+} ya sea de manera directa por parte de PKG o por acción indirecta a causa de hiperpolarización de la membrana¹⁴. Debido a esto, se decidió evaluar el efecto vasorrelajante del EMC/ bajo una contracción inducida por la apertura de canales de Ca^{2+} mediante despolarización de la membrana por acción de una solución fisiológica con altas concentraciones de KCl [80 mM]. Así, la **Figura 25** muestra el efecto vasorrelajante del EMC/ en el cual se observa un $E_{\text{máx}}$ de **64.04%** para anillos de aorta **E+** y **62.48%** para anillos de aorta **E-** sin encontrar diferencias estadísticamente significativas entre ambas curvas. Este hallazgo es indicio del bloqueo directo de canales de Ca^{2+} por parte del EMC/ sin la participación de PKG.

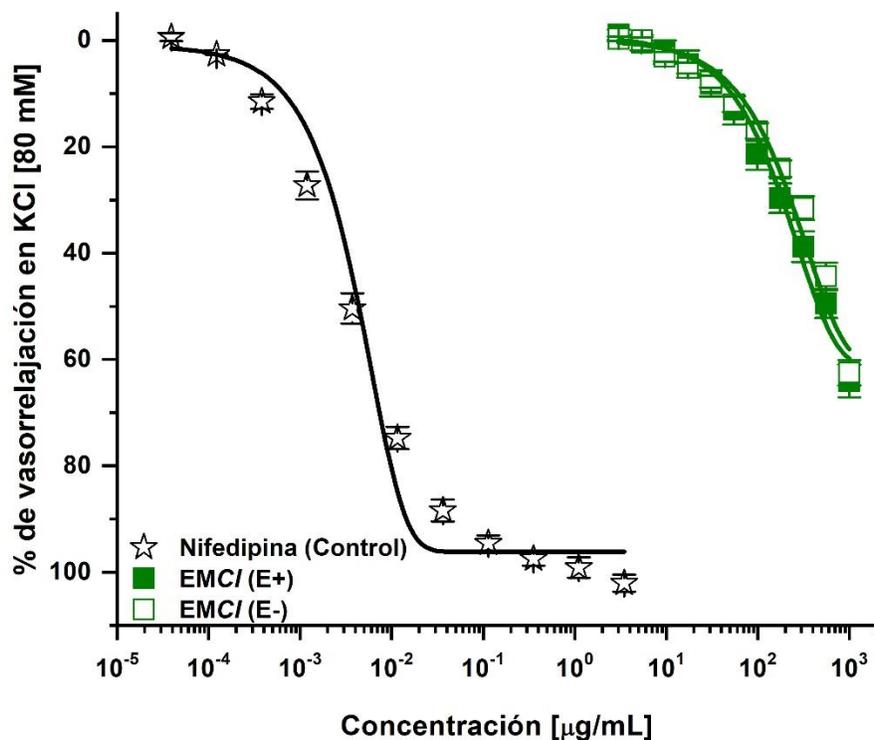


Figura 25. Curva concentración respuesta de vasorrelajación del EMC/, en anillos de aorta pre-contraídos con KCl [80 mM] (n=6, * $p < 0.05$ respecto a la CCR E+).

Con la finalidad de corroborar los hallazgos que sugieren un posible bloqueo directo de los canales de Ca^{2+} por parte del EMC/, se realizaron CCR de contracción a CaCl_2 pre-incubando la CE_{50} del EMC/ ($\text{CE}_{50} = 324.15 \mu\text{g/mL}$). En la **Figura 26** se muestra el efecto contráctil inducido por CaCl_2 en anillos en ausencia del extracto, alcanzando un $\text{E}_{\text{máx}}$ de **2.46 g** (CCR control). Al incubar el EMC/ y realizar la CCR a CaCl_2 se observa una disminución estadísticamente significativa del efecto máximo a **0.55 g** en anillos **E+** y **0.54 g** en anillos **E-**, indicando un posible bloqueo directo de canales de Ca^{2+} por parte del EMC/. Adicionalmente, no se observan diferencias estadísticamente significativas al comparar los experimentos en anillos E+ y E-, hecho que confirma el bloqueo directo de canales de calcio.

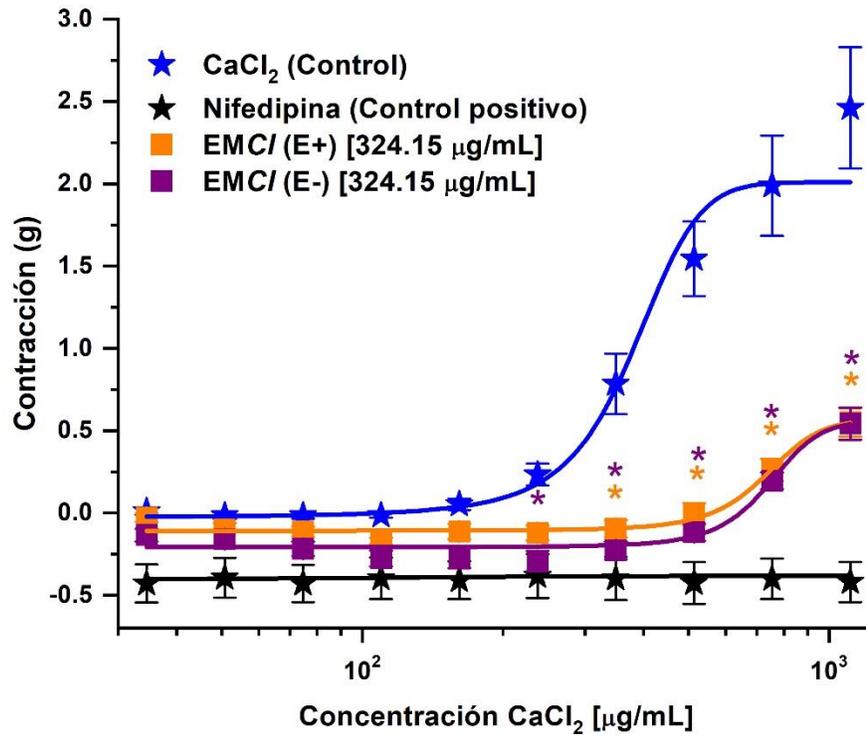


Figura 26. Curva de contracción a CaCl₂ en anillos de aorta E+ y E- incubados con la CE₅₀ del EMC/ (n=6, **p*<0.05 respecto al control de CaCl₂).

Determinación del efecto antihipertensivo del extracto metanólico de *Bursera graveolens* en ratas SHR

A pesar de los avances en la disponibilidad (más de 75 agentes antihipertensivos divididos en 9 clases) y calidad de los medicamentos antihipertensivos, así como de la institución de programas nacionales para educar a la población sobre de la seriedad de la hipertensión arterial, queda mucho por hacer. Los porcentajes de la población que están conscientes de su enfermedad, que se encuentran en tratamiento, y que están logrando un control adecuado de sus niveles de PA son desconcertantemente bajos a nivel mundial; encuestas en numerosos países han mostrado consistentemente que menos del 60% de la población afectada ha sido tratada para hipertensión arterial y menos del 30% logran controlar sus niveles de PA adecuadamente⁹⁰. Por lo tanto, la terapia antihipertensiva en el futuro cercano, debe estar dirigida hacia el mejoramiento en el control de la PA en pacientes hipertensos, mediante la investigación y el desarrollo de nuevas clases de moléculas antihipertensivas enfocándose en ampliar el armamento disponible para combatir la hipertensión arterial⁹¹, así como a la búsqueda de moléculas con más de un mecanismo de acción.

Por otra parte, el animal de experimentación constituye la unidad experimental en los estudios *in vivo* y su empleo está regido por regulaciones con vistas a un adecuado uso, según los requerimientos de estudio y tomando en cuenta principios éticos⁹². El modelo empleado en estos experimentos representa las condiciones fisiopatológicas de un sistema biológico completo y complejo similar al de los seres humanos.

Dado que el **EMBg** fue el que presentó mayor efecto vasorrelajante en experimentos *ex vivo* y se determinó con claridad su mecanismo de acción funcional, se decidió continuar con los experimentos *in vivo* con dicho extracto. Para esto se determinó el efecto antihipertensivo agudo *in vivo* en ratas espontáneamente hipertensas (SHR) y conscientes, utilizando un método no invasivo en la cola del roedor. Los animales fueron administrados vía intragástrica con las dosis 100, 200 o 400 mg/Kg del **EMBg**. Asimismo, se evaluó un grupo control hipertenso (vehículo) y un grupo control hipertenso tratado con Captopril (un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina usado como control positivo).

Posterior a un período de dos semanas de aclimatación, entrenamiento y manipulación de los roedores, se procedió a realizar el ensayo *in vivo*. Inicialmente se realizaron determinaciones de PAS, PAD y FC, de manera independiente para los cinco grupos y esto fue considerado como la **h0 (hora cero)**, con la finalidad de corroborar que las ratas presentaban niveles elevados de tensión arterial (> 140/90 mmHg). Inmediatamente después se administraron las tres dosis de prueba, el vehículo y captopril respectivamente a cada grupo. Posteriormente, se realizaron mediciones de los parámetros cardiovasculares (PAS, PAD y FC) a la **h1, h3, h5 y h7** posteriores a la

administración, con la finalidad de conocer la variación de la tensión arterial a través del tiempo.

Efecto cardiovascular agudo sobre la presión arterial sistólica

El efecto cardiovascular agudo del **EMBg** sobre la PAS se muestra en la **Figura 27** y los porcentajes de disminución de la PAS en la **Tabla 2**, en ella se observa una disminución estadísticamente significativa, en comparación con el grupo control (vehículo), para el grupo tratado con la dosis **200 mg/Kg**; se observa disminución de la PAS a partir de la **h1 (-15.4%)** y el efecto incrementa paulatinamente con el paso del tiempo hasta llegar a la **h7**, donde se obtiene el efecto máximo **(-26.2%)**. En la misma gráfica podemos observar el efecto mostrado tras la administración de **400 mg/Kg** del **EMBg**, se observa disminución estadísticamente significativa de la PAS comparado contra el vehículo a la **h1 (-29.9%)**, **3h (-23.6%)** y **5h (-21.6%)**, donde el efecto máximo se presentó una hora posterior a la administración del extracto y en la 7h regresa a sus valores basales. Debido a que la dosis intermedia de 200 mg/Kg produce un efecto antihipertensivo dependiente del tiempo y al aumentar la dosis a 400 mg/Kg dicho efecto solo se observa a la primera hora y se pierde conforme transcurre el tiempo, surge la hipótesis de la presencia de metabolitos biológicamente activos con efectos opuestos y potencias diferentes, así a la dosis de 200 mg/Kg actúan los metabolitos que inducen el efecto antihipertensivo (metabolitos más potentes), mientras que al incrementar la dosis a 400 mg/Kg pueden actuar los metabolitos menos potentes (que ahora están en mayor concentración) y que antagonizan o se oponen al efecto antihipertensivo observado en la dosis menor. En un estudio previo realizado por nuestro grupo de trabajo en 2016, se demostró el efecto vasorrelajante, en anillos de aorta aislada de roedor, del **EMBg** a concentraciones bajas, y el efecto vasoconstrictor al incrementar dichas concentraciones; esto podría explicar el comportamiento observado en el experimento *in vivo*⁹³. Así el efecto vasoconstrictor presentado a concentraciones elevadas es responsable de la elevación de la presión arterial o menor disminución de la PAS en la dosis de 400 mg/Kg ⁴⁵. Por otra parte, la disminución de la PAS a través del tiempo en la dosis de 200 mg/Kg, podría explicarse por la generación de metabolitos bioactivos resultantes del metabolismo hepático los cuales poseen mayor efecto.

Para los roedores administrados con la dosis **100 mg/Kg** no se observaron disminuciones estadísticamente significativas. En contraste, al ser comparados contra el fármaco control (Captopril), se observan diferencias estadísticamente significativas a las **h3**, **h5** y **h7**, siendo esto un indicativo de la ineficacia del **EMBg** a dicha dosis. Por otra parte, no se observaron diferencias estadísticamente significativas al comparar las dosis 200 y 400 mg/Kg contra Captopril, siendo esto indicativo de la similitud entre el efecto del **EMBg** a las dosis 200 y 400 mg/Kg y el efecto del fármaco control.

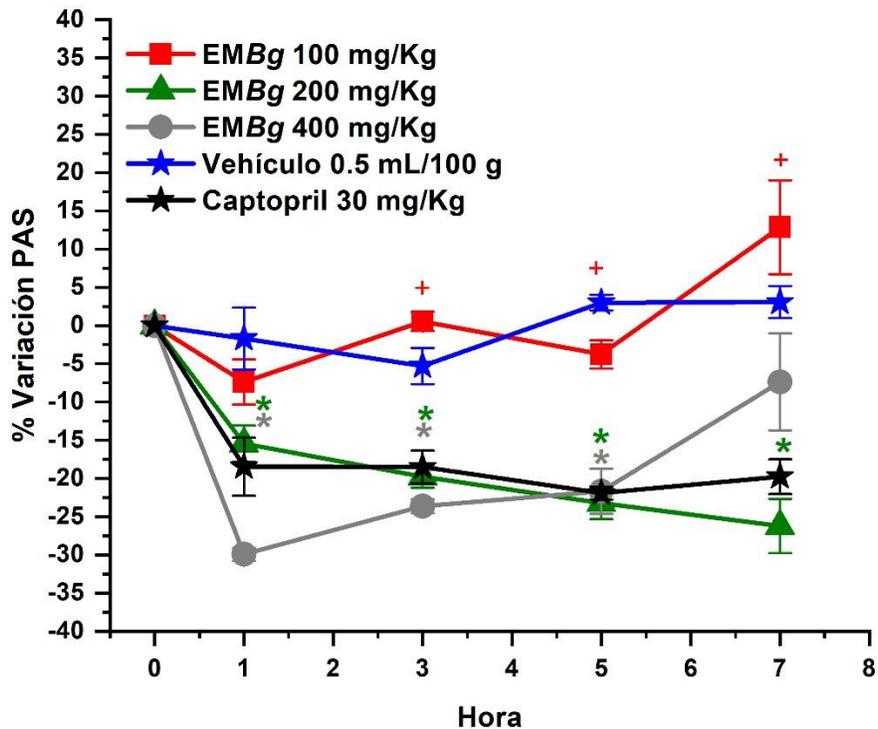


Figura 27. Efecto cardiovascular agudo sobre la presión arterial sistólica inducido por dosis I.G. del EMBg (100, 200 y 400 mg/Kg) en ratas espontáneamente hipertensas. Cada punto representa el promedio \pm el error estándar de cinco individuos ($n=5$; * $p<0.05$ comparado contra el vehículo; + $p<0.05$ comparado contra captopril).

Tabla 2. Porcentajes de variación de la presión arterial sistólica con respecto a la hora cero (h_0) obtenidos en la evaluación del efecto antihipertensivo de *Bursera graveolens*

Tiempo (hora)	Dosis 100 mg/Kg (%)	Dosis 200 mg/Kg (%)	Dosis 400 mg/Kg (%)	Vehículo (%)	Captopril (%)
h1	-7.38 \pm 2.95	-15.43 \pm 2.36*	-29.92 \pm 0.83*	-1.70 \pm 4.04	-18.47 \pm 3.78
h3	0.54 \pm 1.25+	-19.78 \pm 1.44*	-23.62 \pm 0.90*	-5.28 \pm 2.36	-18.50 \pm 2.13
h5	-3.76 \pm 1.83+	-23.23 \pm 2.06*	-21.67 \pm 2.95*	2.99 \pm 1.01	-21.92 \pm 0.82
h7	12.87 \pm 6.13+	-26.22 \pm 3.54*	-7.37 \pm 6.35	3.05 \pm 2.08	-19.75 \pm 2.26

$n=5$, * indica $p<0.05$ comparado con el vehículo, + indica $p<0.05$ comparado con captopril

Efecto cardiovascular agudo sobre la presión arterial diastólica

El efecto cardiovascular agudo del EMBg sobre la PAD se muestra en la **Figura 28** y los porcentajes de disminución de la PAD en la **Tabla 3**; en ella podemos observar un comportamiento similar al presentado sobre la PAS. A la dosis **200 mg/Kg** se observa disminución estadísticamente significativa de la PAD comparando contra el vehículo a la

h5 (-25.83%) y h7 (-24.84%), mientras que al aumentar la dosis a **400 mg/Kg** se observa disminución súbita de la PAD desde la **h1 (-24.53%)** y se mantiene hasta la **h7 (-19.90%)**. Ante esta situación podemos corroborar la hipótesis planteada con anterioridad de la presencia de metabolitos biológicamente activos con efectos opuestos y potencias diferentes con efecto antihipertensivo.

Para los roedores administrados con la dosis **100 mg/Kg** no se observaron disminuciones significativas en el porcentaje de variación de la PAD comparando contra el vehículo, sin embargo, se observa diferencia estadísticamente significativa a la **h7** comparando contra el fármaco control.

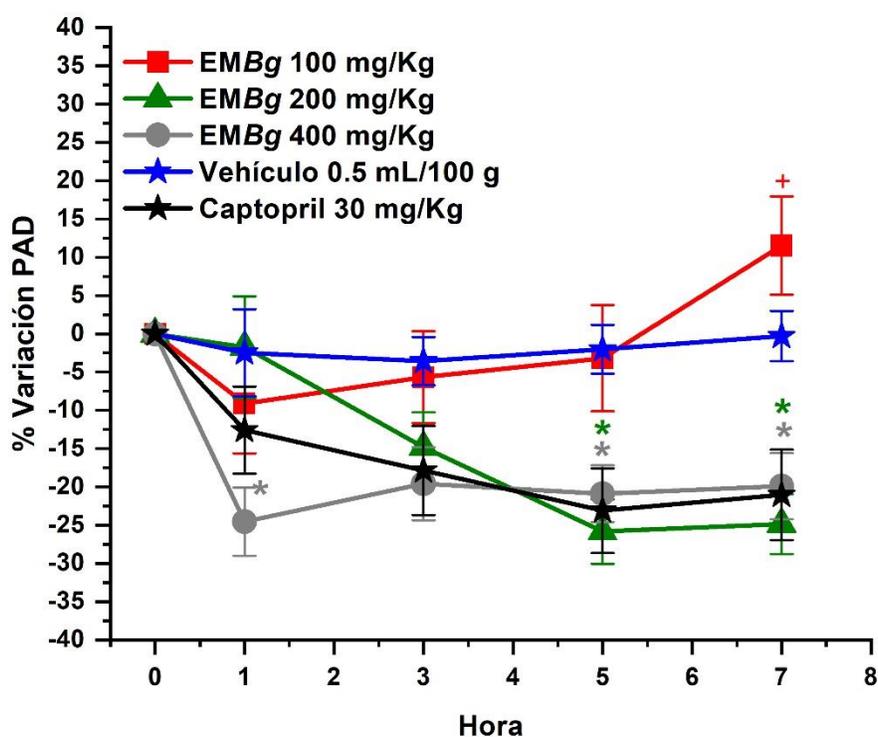


Figura 28. Efecto cardiovascular agudo sobre la presión arterial diastólica inducido por dosis I.G. del EMBg (100, 200 y 400 mg/Kg) en ratas espontáneamente hipertensas. Cada punto representa el promedio \pm el error estándar de cinco individuos (n=5; *p<0.05 comparado contra el vehículo; +p<0.05 comparado contra captopril).

Tabla 3. Porcentajes de variación de la presión arterial diastólica con respecto a la hora cero (h0) obtenidos en la evaluación del efecto antihipertensivo de *Bursera graveolens*

Tiempo (hora)	Dosis 100 mg/Kg (%)	Dosis 200 mg/Kg (%)	Dosis 400 mg/Kg (%)	Vehículo (%)	Captopril (%)
h1	-9.11 ± 6.49	-1.75 ± 6.62	-24.53 ± 4.46*	-2.46 ± 5.69	-12.59 ± 5.67
h3	-5.66 ± 5.99	-14.82 ± 4.58	-19.58 ± 4.76	-3.57 ± 3.13	-17.86 ± 5.81
h5	-3.19 ± 6.93	-25.83 ± 4.21*	-20.89 ± 3.71*	-2.03 ± 3.18	-23.11 ± 5.50
h7	11.52 ± 6.41+	-24.84 ± 3.91*	-19.90 ± 4.33*	-0.29 ± 3.28	-21.05 ± 5.90

*n=5, * indica p<0.05 comparado con el vehículo, + indica p<0.05 comparado con captopril*

Efecto cardiovascular agudo sobre la frecuencia cardíaca

Finalmente, es importante que un potencial tratamiento para la hipertensión arterial no modifique como efecto secundario la FC, ya que podría causar taquicardia o bradicardia. En la **Figura 29** y en la **Tabla 4** se observa el efecto del **EMBg** sobre la FC, la mayor variación se observa a la dosis 400 mg/Kg, esto 7 horas posteriores a la administración del extracto (**-13.46%**), sin embargo, el porcentaje de variación es similar al observado para el control de captopril (fármaco antihipertensivo) a la misma hora. Esto nos sugiere que el **EMBg** no induce cambios relevantes sobre la FC. Las diferencias estadísticamente significativas observadas a la **h5** para las dosis 100 mg/Kg y 400 mg/Kg comparando contra el vehículo, a la **h1** para la dosis 200 mg/Kg comparando contra Captopril y a la **h3** para la dosis 100 mg/Kg comparando contra Captopril podrían no deberse propiamente a la administración del **EMBg**, sino atribuirse a la manipulación de los roedores no anestesiados, es decir, un error experimental ya que el método de medición de la presión arterial requiere manipulación constante de los roedores, lo que ocasiona variación de la FC.

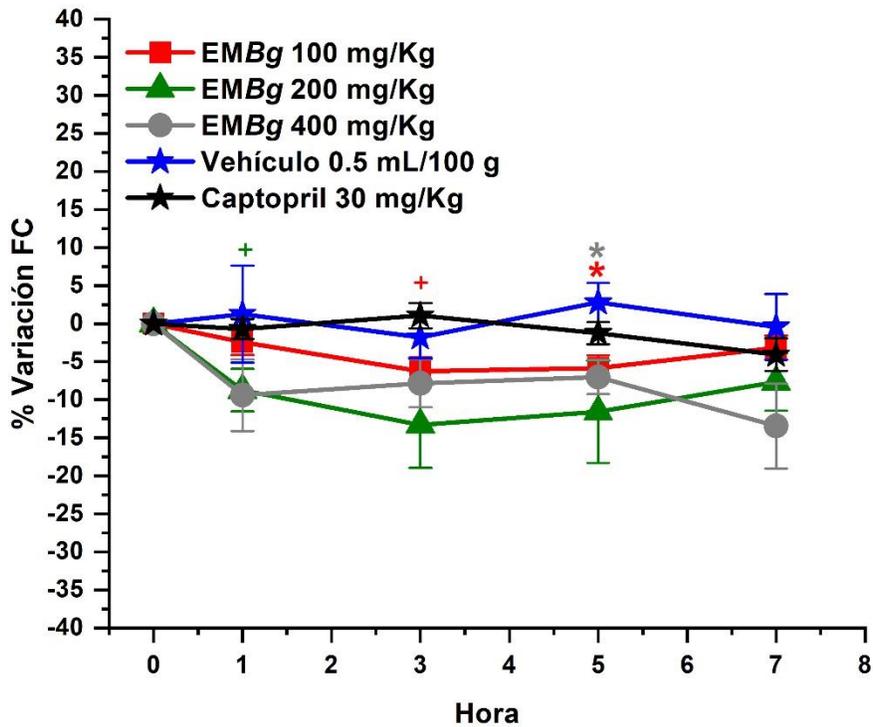


Figura 29. Efecto cardiovascular agudo sobre la frecuencia cardíaca inducido por dosis I.G. del EMBg (100, 200 y 400 mg/Kg) en ratas espontáneamente hipertensas. Cada punto representa el promedio \pm el error estándar de cinco individuos ($n=5$; * $p<0.05$ comparado contra el vehículo; + $p<0.05$ comparado contra captopril).

Tabla 4. Porcentajes de variación de la frecuencia cardíaca con respecto a la hora cero (h0) obtenidos en la evaluación del efecto antihipertensivo de *Bursera graveolens*

Tiempo (hora)	Dosis 100 mg/Kg (%)	Dosis 200 mg/Kg (%)	Dosis 400 mg/Kg (%)	Vehículo (%)	Captopril (%)
h1	-2.42 \pm 1.70	-8.75 \pm 2.79	-9.40 \pm 4.71	1.25 \pm 6.35	-0.71 \pm 1.33
h3	-6.25 \pm 1.80	-13.28 \pm 5.64	-7.82 \pm 3.17	-1.80 \pm 2.75	1.05 \pm 1.65
h5	-5.86 \pm 1.72*	-11.59 \pm 6.70	-7.01 \pm 2.26*	2.77 \pm 2.54	-1.25 \pm 1.45
h7	-3.17 \pm 1.58	-7.66 \pm 3.76	-13.46 \pm 5.58	-0.42 \pm 4.30	-4.07 \pm 2.13

*n=5, * indica $p<0.05$ comparado con el vehículo, + indica $p<0.05$ comparado con captopril*

CONCLUSIONES

El extracto metanólico de *Bursera graveolens* posee actividad vasorrelajante significativa a través de la vía NO/GMPc con subsecuente producción de NO e incremento de GMPc, activación de PKG, fosforilación de canales BK_{Ca} y bloqueo de canales de calcio tipo L.

El extracto metanólico de *Citrus limonum* posee actividad vasorrelajante significativa parcialmente dependiente del endotelio vascular debido a dos mecanismos independientes: la activación de la vía NO/GMPc con subsecuente producción de NO e incremento de GMPc lo que ocasiona la activación de PKG y fosforilación de canales BK_{Ca}. Y en el músculo liso mediante el bloqueo directo de los canales de calcio dependientes de voltaje tipo L.

El extracto metanólico de *Bursera graveolens* es igual de eficaz que captopril para disminuir la presión arterial sistólica a las dosis 200 y 400 mg/Kg, se observa efecto retardado en la disminución de la presión arterial diastólica en las dosis 200 y 400 mg/Kg. La frecuencia cardíaca no se modifica con la administración de 100, 200 y 400 mg/Kg del extracto.

Se caracterizó el efecto antihipertensivo de la especie vegetal *Bursera graveolens* utilizando modelos experimentales *ex vivo* e *in vivo* en roedor.

REFERENCIAS

1. Sistema de Información para la Vigilancia Epidemiológica de los Factores de Riesgo en Enfermedades Crónicas no Transmisibles: http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/doctos/reuniones_sinave/rojun13/viernes21/2_SVEECNT.pdf (consultado junio 2018).
2. Surya S.; Salam A.; Vallikattukuzhiyil D.; Carla B.; Arun R.; Sunil C. Diabetes mellitus and medicinal plants-a review. *Asian Pac. J. Trop. Dis.* **2014**, 4, 5, 337-347.
3. Biblioteca Digital de Medicina Tradicional Mexicana-UNAM: www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx (consultado junio 2018).
4. Alonso A.; Villareal M.; Salazar L.; Gómez M.; Dominguez F.; García A. Mexican medicinal plants used for cancer treatment: Pharmacological, phytochemical and ethnobotanical studies. *J. Ethnopharmacol.* **2011**, 133, 3, 945-972.
5. Morón-Rodríguez, F. J. ¿Son importantes las plantas medicinales en la actualidad? *Rev Cubana Plant Med*, **2010**, 15(2): 1-2.
6. Morón-Rodríguez, F. J. Necesidad de investigaciones sobre plantas medicinales. *Rev Cubana Plant Med*, **2007**, 12(4): 1-2.
7. Porth C. *Fisiopatología: salud-enfermedad, un enfoque conceptual*. 7ª ed.; Médica Panamericana, 2006; pp. 311-325.
8. Verma S.; Anderson T. J. Fundamentals of endothelial function for the clinical cardiologist. *Circulation* **2002**, 105, 546-549.
9. Molinoff P. B.; Axelrod J. Biochemistry of catecholamines. *Annu Rev Biochem* **1971**, 40, 465-500.
10. Katzung B. G., *Basic and Clinical Pharmacology*, 9ª ed.; Mc Graw Hill: USA, 2004; pp. 127-183, 241-258.
11. Fernandez P. L. *Farmacología básica y clínica*. 18ª ed.; Médica Panamericana, 2008; pp. 145-160.
12. Van der Heyden, M. A.; Wijnhoven, T. J.; Opthof, T. Molecular aspects of adrenergic modulation of cardiac L-type Ca²⁺ channels. *Cardiovasc Res* **2005**, 65, 1, 28-39.
13. Weiss, S.; Oz, S.; Benmocha, A.; Dascal, N. Regulation of cardiac L-type Ca²⁺ channel CaV1.2 via the β-adrenergic-cAMP-protein kinase. A pathway old dogmas, advances, and new uncertainties. *Circ Res* **2013**, 113, 5, 617-631.

14. Lincoln T. M.; Dey N.; Sellak H. Invited Review: cGMP-dependent protein kinase signaling mechanisms in smooth muscle: from the regulation of tone to gene expression. *J Appl Physiol* **2001**, 91, 1421–1430.
15. Marín J.; Rodríguez A. Role of vascular nitric oxide in physiological and pathological conditions. *Pharmacology and Therapeutics* **1997**, 75, 2, 111-134.
16. Cohen R. The role of nitric oxide and other endothelium-derived vasoactive substances in vascular disease. *Prog Cardiovasc Dis* **1995**, 38, 2, 105-128.
17. Vanhoutte P. M.; Mombouli J. V. Vascular endothelium: vasoactive mediators. *Prog Cardiovasc Dis* **1996**, 39, 3, 229-238.
18. Mombouli J. V.; Bissiriou I.; Agboton V.; Vanhoutte P. M. Endothelium-derived hyperpolarizing factor: a key mediator of the vasodilator action of bradykinin. *Immunopharmacology* **1996**, 33, 46-50.
19. Borges R.; Von Grafenstein H.; Knight D. E. Tissue selectivity of endothelin. *Eur J Pharmacol* **1989**, 165, 223-230.
20. Pérez-Díaz I.; Hiriart M.; Olivares-Reyes J. A.; Robles-Díaz G. Receptores para la angiotensina II diferentes a los clásicos receptores membranales AT₁ y AT₂: Características y su papel en el funcionamiento celular. *Rev Educ Bioquím* **2006**, 25, 55-60.
21. Carretero O. A.; Oparil S. Essential hypertension. Part I: Definition and etiology. *Circulation* **2000**, 101:329-335.
22. Organización Mundial de la Salud (OMS) <http://www.who.int/topics/hypertension/es/> (consultado junio 2018).
23. Whelton P. K. *et al.* 2017 ACC/ AHA/ AAPA/ ABC/ ACPM/ AGS/ APhA/ ASH/ ASPC/ NMA/ PCNA Guideline for the prevention, detection, evaluation, and management of high blood pressure in adults. *J. Hypertens.* **2017**, 31, 1281-1357.
24. Kones R.; Rumana U. Cardiovascular prevention: components, levels, early origins, and metrics. *Hosp Pract* **2014**, 42, 3, 84-95.
25. Instituto Nacional de Salud Pública (INSP), Secretaría de Salud (SS), 2016. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016. Ciudad de México, México.
26. Barquera S., Campos I., Hernández L., Medina C., Rojas R., Jiménez A. *Hipertensión arterial en adultos mexicanos: importancia de mejorar el diagnóstico oportuno y el control*; Encuesta Nacional en Salud y Nutrición. México, 2013.
27. Rosas-Peralta M. *et al.* Consenso de hipertensión arterial en México. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social* **2016**, 54 Supl 1:S6-51.

28. Norma Oficial Mexicana NOM-030-SSA-1999. Para la prevención tratamiento y control de la hipertensión arterial. Secretaría de Salud.
29. Kaplan N. *Hipertensión Clínica*. 10ª ed.; Lippincott Williams and Wilkings: USA, 2006.
30. Ernst M. E.; Moser M. Use of diuretics in patients with hypertension. *New Engl J Med* **2009**, 361:2153-64.
31. Abernethy D. R.; Schwartz J. B. Calcium-antagonist drugs. *New Engl J Med* **1999**, 341:1447-1457.
32. Goodfriend T. L.; Elliot M. E.; Catt K. J. Angiotensin receptors and their antagonists. *New Engl J Med* **1996**, 334:1649-1654.
33. Organización Mundial de la Salud (OMS), 2013. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023. Ginebra, Suiza.
34. De Herrera y Tordecillas, A. *Historia general de los hechos de los castellanos en las islas y tierra firme del mar*. 1ª ed. Imprenta Real de Nicolás Rodríguez Franco, con privilegio de su Majestad, 1726.
35. De Landa, D. *Relación de las cosas de Yucatán*. Edición de A. M. Garibay. Porrúa. 1986.
36. Manzanilla, A. Plantas medicinales en Oxkutzcab, un reencuentro con nuestras raíces mayas. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco, Edo. de México, Enero 2009.
37. Rivero-Cruz, I.; Pereda-Miranda, R.; Figueroa-Saldívar, M. A.; Madariaga, A.; Aguilar-Laurents, M. I.; Fragoso, M.; Mata-Essayag, R. *Manual de Prácticas de Laboratorio de Farmacognosia*. 1ª. Ed. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), 2014.
38. Méndez, M.; Durán, R.; Borges, A.; Peraza, S.; Dorantes, A.; Tapia, J.; Torres, W.; Ferrer, M. *Flora medicinal de los mayas peninsulares*. 1a ed. Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY), 2010; pp 17, 46, 70, 219.
39. Cob Balam J. B. Comunicación personal, Yaxcabá, Yucatán, México, 2013.
40. Berdunces J. *Plantas medicinales, descripción y aplicación*. 1a edición. Ed. Oceano, 2009, pp. 259, 401, 548, 677,1030, 1192.
41. Lucero P.; Mathe C.; Vieillescazes C.; Bucio L.; Belio I.; Vega R. Analysis of Mexican reference standards for *Bursera* spp. resins by gas chromatography–mass spectrometry and application to archaeological objects. *J Archaeol Sci* **2014**, 41, 679-690.

42. Nakanishi T.; Inatomi Y.; Murata H.; Shigeta K.; Iida N.; Inada A.; Murata J.; Farrera M.; Inuma M.; Tanaka T.; Tajima S.; Oku N. A new and known cytotoxic aryltetralin-type lignans from stems of *Bursera graveolens*. *Chem Pharm Bull* **2005**, 53, 229-231.
43. Nakanishi T.; Inatomi Y.; Arai S.; Yamada T.; Fukatsu H.; Murata H.; Inada A.; Matsuura N.; Ubukata M.; Murata J.; Inuma M.; Ferrea M.; Tanaka T. New luteolin 3'-O-acylated rhamnopyranosides from leaves of *Bursera graveolens*. *Heterocycles* **2003**, 60, 2077-2083.
44. Robles J.; Torrenegra R.; Gray A.; Piñeros G.; Ortiz L.; Sierra M. Triterpenos aislados de corteza de *Bursera graveolens* (Burseraceae) y su actividad biológica. *Rev Bras Farmacogn* **2005**, 15, 283-286.
45. Yáñez-Pérez, V. Determinación del efecto vasorrelajante e hipotensor de extractos vegetales de seis especies medicinales utilizadas en el tratamiento de la hipertensión arterial. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, Yucatán, Febrero 2016.
46. United States Department of Agriculture. Plants database: https://plants.sc.egov.usda.gov/core/profile?symbol=CILI5&photoID=cili_001_ahp.tif#.
47. Bruno L.; Spadafora N. D.; Iaria D.; Chiappetta A.; Bitonti M. B. Developmental stimuli and stress factors affect expression of CIGLP1, an emerging allergen-related gene in *Citrus limon*. *Plant Physiol Biochem* **2014**, 79: 31-40.
48. Lopes-Campêlo L. M.; Moura-Gonçalves F. C.; Mendes-Feitosa C.; Mendes de Freitas R. Antioxidant activity of *Citrus limon* essential oil in mouse hippocampus. *Pharm Biol* **2011**, 49(7): 709-715.
49. Matsumoto T.; Takahashi K. Kanayama S.; Nakano Y.; Imai H.; Kibi M.; Imahori D.; Hasei T.; Watanabe T. Structures of antimutagenic constituents in the peels of *Citrus limon*. *J Nat Med* **2017** 71: 735-744.
50. Matsumoto T.; Koike M.; Arai C.; Kitagawa T.; Inoue E.; Imahori D.; Watanabe T. Chemical structures and antimutagenic effects of unusual oximes from the peels of *Citrus limon*. *Phytochemistry Letters* **2018** 25: 118-121.
51. Ashok K.; Narayani M.; Subanthini A.; Jayakumar M. Antimicrobial activity and phytochemical analysis of *Citrus* fruit peels -utilization of fruit waste. *Int J Eng Sci Tech* **2011**, 3, 6, 5414-5421.
52. Mathew B.; Shajie D.; Wadhwa N.; Murthy K.; Rashmia M. Comparative antioxidant efficacy of *Citrus limonum* pulp and peel – An in vitro study. *Drug Invention Today* **2013**, 5, 4, 296-301.

53. Cornejo, X. Las especies emblemáticas de flora y fauna de la ciudad de Guayaquil y de la provincia del Guayas, Ecuador. *Rev Cient Cien Nat Ambien*, **2015**, 9(2): 56-71.
54. Rawat, P.; Kumar-Singh, P.; Kumar, V. Anti-hypertensive medicinal plants and their mode of action. *J Herb Med*, **2016**, 6: 107-118.
55. Balunas, M.; Kinghorn, D. Drug discovery from medicinal plants. *Life sciences*, **2005**. 78(5): 431-441.
56. Aguilar, A.; Camacho, J. R.; Chino, S.; Jácquez, P.; López, M. E. Herbario medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), 1994, Distrito Federal, México.
57. Siu-Montes, J. A. Determinación *in vitro* del potencial de inhibición de las enzimas α -glucosidasa y lipasas con extractos hidroalcohólicos de seis especies vegetales empleadas como antidiabéticos en la comunidad de Yaxcabá, Yucatán. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, Yucatán, 2014.
58. Romero-Vázquez, I. Y. Determinación de los efectos sobre la homeostasis de glucosa de un preparado tradicional utilizado por la comunidad de Yaxcabá en el tratamiento de la diabetes. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, Yucatán, 2015.
59. Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.
60. Magos G. A.; Vidrio H.; Reynolds W. F.; Enríquez R. G. Pharmacology of *Casimiroa edulis* IV. Hypotensive effects of compounds isolated from methanolic extracts in rats and guinea pigs. *J Ethnopharmacol* **1999**, 64, 35-34.
61. Vergara-Galicia J.; Ortiz-Andrade R.; Castillo-España P.; Ibarra-Barajas M.; Gallardo-Ortiz I.; Villalobos-Molina R.; Estrada-Soto S. Antihypertensive and vasorelaxant activities of *Laelia autumnalis* are mainly through calcium channel blockade. *Vascul Pharmacol* **2008**, 49, 1, 26-31.
62. Muramatsu, I. *et al.* α 1-adrenoceptor subtypes and two receptors systems in vascular tissues. *Life Sci* **1998**, 62, 1461-1465.
63. Aguirre-Crespo, F. J.; Sánchez-Salgado, J. C. ¿Qué sabe Ud. Acerca de... la curva dosis-respuesta? *Rev Mex Cien Farma* **2010**, 41(4): 57-59.
64. Holanda da Cunha G.; Odorico de Moraes M.; Vagnaldo Fehine F.; Frota Bezerra F. A.; Rocha Silveira E.; Marques Canuto K.; Amaral de Moraes M. E. Vasorelaxant and antihypertensive effects of methanolic fraction of the essential oil of *Alpinia Zerumbet*. *Vascul Pharmacol* **2013**, 58: 337-345.

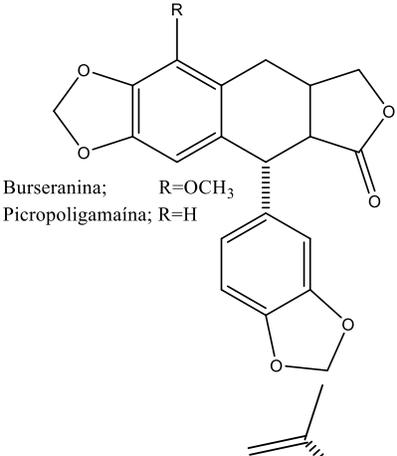
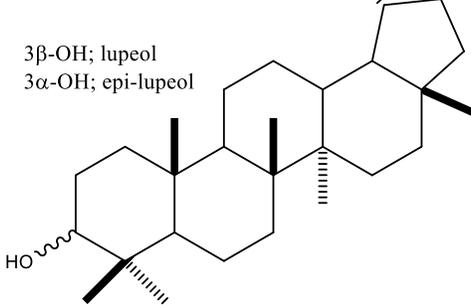
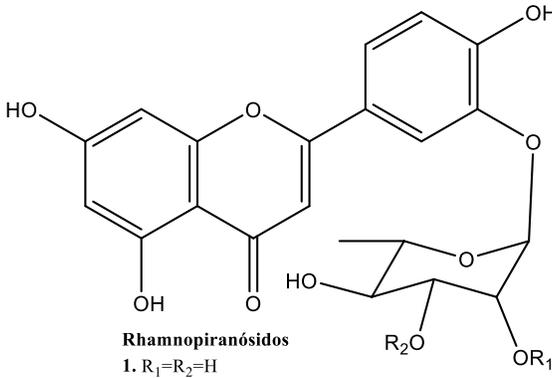
65. De C. V. de A. F. Da Silva R.; Crestani S.; de Souza P.; Boligon A. A.; Athayde M. L.; Santos A. R. S.; Andrade Marques M. C.; Kassuya C. A. L.; Da Silva Santos J. E. Endothelium-dependent and independent vasorelaxation induced by an n-butanolic fraction of bark of *Scutia buxifolia* Reiss (Rhamanaceae). *J Ethnopharmacol* **2012**, 141: 997-1004.
66. Vergara-Galicia J. Determinación del mecanismo de acción vasorrelajante a nivel funcional del extracto MeOH de *Laelia autumnalis*. Estudio comparativo del efecto vasorrelajante de la especie silvestre y generada *in vitro*. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Cuernavaca, Morelos, 2007.
67. Hernández-Abreu O.; Torres-Piedra M.; García-Jiménez S.; Ibarra-Barajas M.; Villalobos-Molina R.; Montes S.; Rembao D.; Estrada-Soto S. Dose-dependent antihypertensive determination and toxicological studies of tilianin isolated from *Agastache mexicana*. *J. Ethnopharmacol.* **2013**, 146: 187-191.
68. Montgomery D. *Diseño y análisis de experimentos*. 2ª ed. Limusa Wiley. 2004.
69. Young D. G.; Chao S.; Casablanca H.; Bertrand M. C.; Minga D. Essential oil of *Bursera graveolens* (Kunth) Triana et Planch from Ecuador. *J. Essent. Oil Res.* **2011**, 19: 525-526.
70. Ghisalberti E. L. Cardiovascular activity of naturally occurring lignans. *Phytomedicine.* **1997**, 4(2): 151-166.
71. Hernández T.; García-Bores A. M.; Serrano R.; Ávila G.; Dávila P.; Cervantes H.; Peñalosa I.; Flores-Ortiz C. M.; Lira M. Fitoquímica y actividades biológicas de plantas de importancia en la medicina tradicional del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. *TIP, Rev. Espec. Cienc. Quim.-Biol.* **2015**, 18(2): 116-121.
72. Ibarra-Alvarado C.; López-Vallejo F.; Solís-Gutiérrez M.; Luna-Vázquez F. J.; Rojas-Molina A. P76: Vasorelaxation induced by naturally occurring triterpenes involves NO and H₂S releasing: *ex vivo* and *in silico* studies. *Nitric Oxide* **2014**, 39, S38-S39.
73. Torres-Piedra M.; Figueroa M.; Hernández-Abreu O.; Ibarra-Barajas M.; Navarrete-Vázquez G.; Estrada-Soto, S. Vasorelaxant effect of flavonoids through calmodulin inhibition: *ex vivo*, *in vitro*, and *in silico* approaches. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, 19, 1, 542-546.
74. Hernández-Abreu O.; Castillo-España P.; León-Rivera I.; Ibarra-Barajas M.; Villalobos-Molina R.; González-Christen J.; Vergara-Galicia J.; Estrada-Soto S. Antihypertensive and vasorrelaxant effects of tilianin isolated from *Agastache mexicana* are mediated by NO/cGMP pathway and potassium channel opening. *Biochem. Pharmacol.* **2009**, 78: 54-61.

75. Vanhoutte P. *Cardiovascular Pharmacology: Endothelial control*. 1^a ed. Elsevier. 2010.
76. Ibarra M.; López-Guerrero J. J.; Mejía-Zepeda R.; Villalobos-Molina R. Endothelium-dependent inhibition of the contractile response is decreased in aorta from aged and spontaneously hypertensive rats. *Arch Med Res* **2006**, 37: 334-341.
77. Jin S. N.; Wen J. F.; Li X.; Kang D. G.; Lee H. S.; Cho K. W. The mechanism of vasorelaxation induced by ethanol extract of *Sophora flavescens* in rat aorta. *J Ethnopharmacol* **2011**, 137(1): 547-552.
78. Gollasch M.; Nelson M. T. Voltage-dependent Ca²⁺ channels in arterial smooth muscle cells. *Kidney Blood Press R* **1997**, 20(6): 355-371.
79. Rattman Y. D.; Crestani S.; Lapa F. R.; Miguel O. G.; Marques M. C. A.; da Silva-Santos J. E.; Santos A. R. S. Activation of muscarinic receptors by a hydroalcoholic extract of *Dicksonia sellowiana* Presl. Hook (Dicksoniaceae) induces vascular relaxation and hypotension in rats. *Vasc Pharm* **2009**, 50: 27-33.
80. Furchgott R. F.; Zawadski J. V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* **1980**, 288(5789): 373-376.
81. Nelson M. T.; Quayle J. M. Physiological roles and properties of potassium channels in arterial smooth muscle. *Am J Physiol* **1995**, 37: C799-C822.
82. Bolotina V. M.; Najibi S.; Palacino J. J.; Pagano P. J.; Cohen R. A. Nitric oxide directly activates calcium-dependent potassium channels in vascular smooth muscle. *Nature*. **1994**, 368(6474): 850-853.
83. Santos S. S.; Jesus R. L. C.; Simoes L. O.; Vasconcelos W. P.; Medeiros I. A.; Veras R. C.; Casais-E-Silva L. L.; Silva D. F. NO production and potassium channels activation induced by *Crotalus durissus cascavella* underlie mesenteric artery relaxation. *Toxicon* **2017**, 133: 10-17.
84. Ratz P. H.; Berg K. M.; 2-Aminoethoxydiphenyl borate inhibits KCl-induced vascular smooth muscle contraction. *Eur J Pharmacol* **2006**, 541(3): 177-183.
85. Hill M. A.; Zou H.; Potocnik S. J.; Meininger G. A.; Davis M. J. Invited review: arteriolar smooth muscle mechanotransduction: Ca²⁺ signaling pathways underlying myogenic reactivity. *J Appl Physiol* **2001**, 91(2): 973-983.
86. Lagha-Benamrouche S.; Madani K. Phenolic contents and antioxidant activity of orange varieties (*Citrus sinensis* L. and *Citrus aurantium* L.) cultivated in Algeria: peels and leaves. *Ind. Crop. Prod.* **2013**, 50, 723-730.

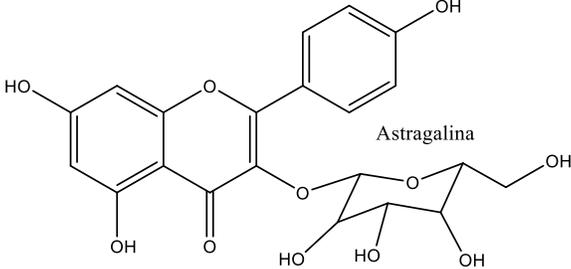
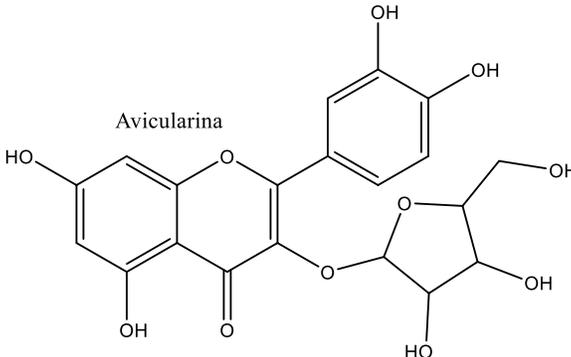
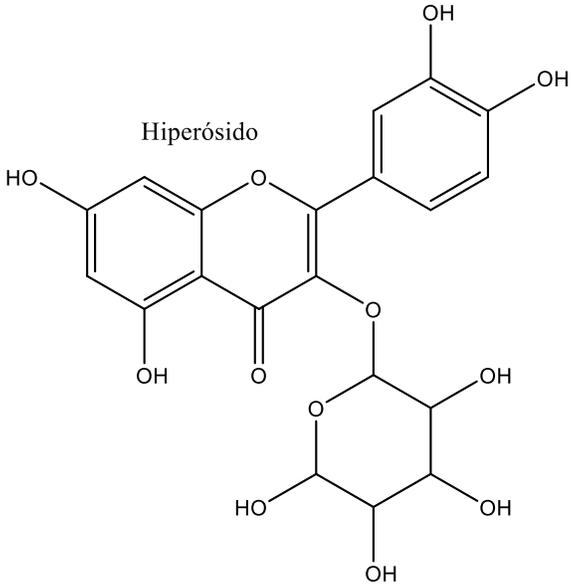
87. De Mey J. G. R.; Vanhoutte P. M. End O' the line revisited: moving on from nitric oxide to CGRP. *Life Sci* **2014**, 118: 120-128.
88. Boulanger C.; Lüscher T. F. Release of endothelin from the porcine aorta. *J Clin Invest* **1990**, 85: 587-590.
89. Prins B. A.; Hu R. M.; Nazario B.; Pedram A.; Frank H. J. L.; Weber M. A.; Levin E. R. Prostaglandin E₂ and prostacyclin inhibit the production and secretion of endothelin from cultured endothelial cells. *J Biol Chem* **1994**, 269(6): 11938-11944.
90. Julius S. Worldwide trends and shortcomings in the treatment of hypertension. *Am J Hypertens* **2000**, 13(5): 57S-61S.
91. Israili Z. H.; Hernández-Hernández R.; Velasco M. The Future of antihypertensive treatment. *Am J Ther*, **2007**, 14: 121-134.
92. Kannel, W. B., Gordon, T., & Schwartz, M. J. Systolic versus diastolic blood pressure and risk of coronary heart disease: the Framingham study. *Am J Cardiol* **1971**, 27, 4, 335-346.
93. Sánchez-Recillas, A., Yáñez-Pérez, V., Ibarra-Barajas, M., Flores-Guido, S., Rubio-Zapata, H. A., Ávila-Villarreal, G., Ortiz-Andrade R. Pharmacological and toxicological study of a traditional Mayan herbal preparation used as antihypertensive agent. *Eur J Med Plant*, **2018**, 23(3): 1-11.

ANEXOS

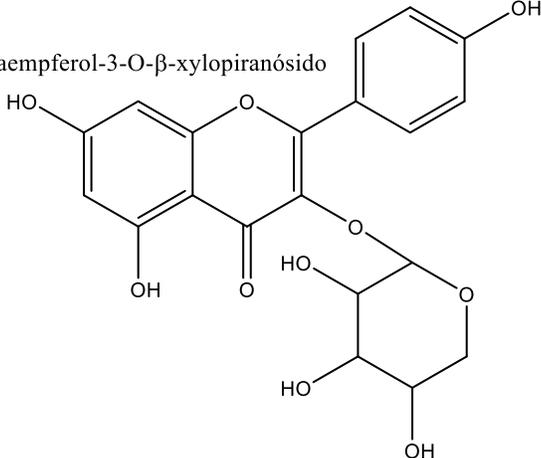
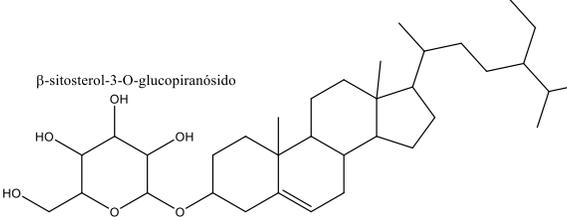
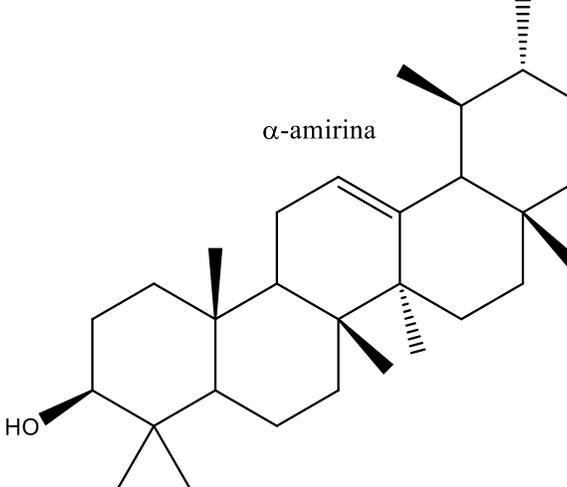
Anexo 1. Estructuras de moléculas aisladas de *Bursera graveolens* (Kunth) Triana & Planch^{42,43,69}.

Nombre	Estructura	Fuente de aislamiento
<p>Burseranina y picropoligamaína</p>	 <p>Burseranina; R=OCH₃ Picropoligamaína; R=H</p>	<p>Extracto metanólico de tallos</p>
<p>Lupeol y epi-lupeol</p>	 <p>3β-OH; lupeol 3α-OH; epi-lupeol</p>	<p>Extracto metanólico de tallos</p>
<p>Rhamnopiranosídeos de <i>B. graveolens</i></p>	 <p>Rhamnopiranosídeos 1. R₁=R₂=H 2. R₁=<i>p</i>-comaróilo, R₂=Ac 3. R₁=<i>p</i>-comaróilo, R₂=H 4. R₁=H, R₂=<i>p</i>-cumaróilo</p>	<p>Extracto metanólico de hojas</p>

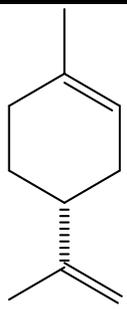
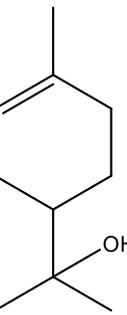
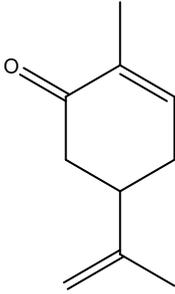
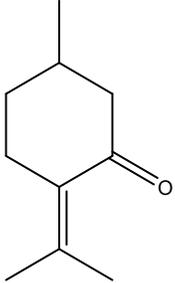
Continuación Anexo 1...

Nombre	Estructura	Fuente de aislamiento
Astragalina	 <p style="text-align: center;">Astragalina</p>	Extracto metanólico de hojas
Avicularina	 <p style="text-align: center;">Avicularina</p>	Extracto metanólico de hojas
Hiperósido	 <p style="text-align: center;">Hiperósido</p>	Extracto metanólico de hojas

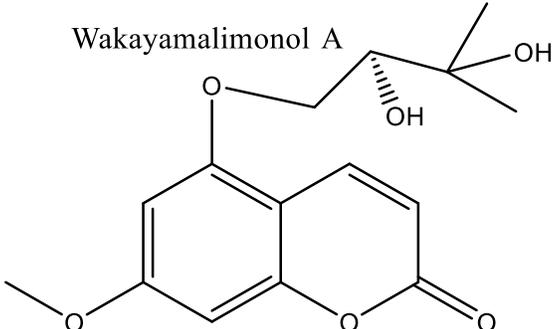
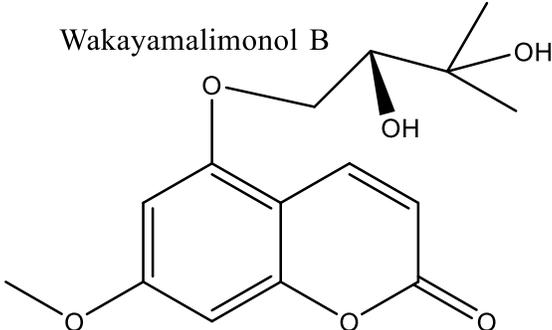
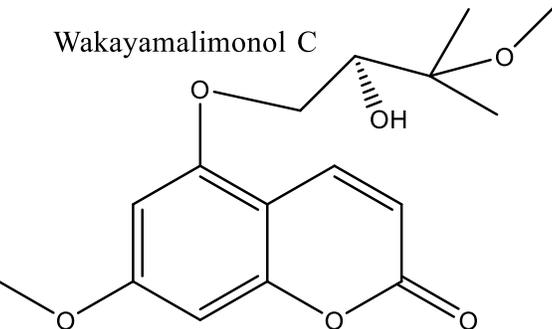
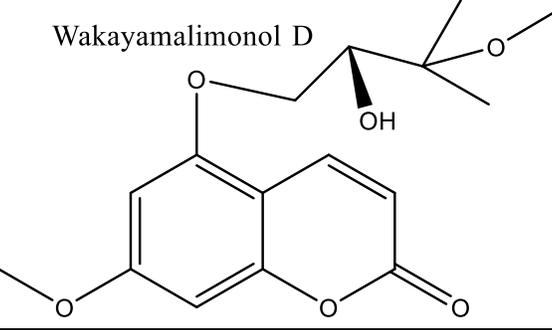
Continuación Anexo 1...

Nombre	Estructura	Fuente de aislamiento
Kaempferol-3-O-xilanopiranosido	<p data-bbox="522 394 873 422">Kaempferol-3-O-β-xylanopiranosido</p> 	Extracto metanólico de hojas
β -sitosterol-3-O-glucopiranosido	<p data-bbox="553 888 756 915">β-sitosterol-3-O-glucopiranosido</p> 	Extracto metanólico de hojas
α -amirina	<p data-bbox="781 1203 902 1230">α-amirina</p> 	Extracto metanólico de hojas

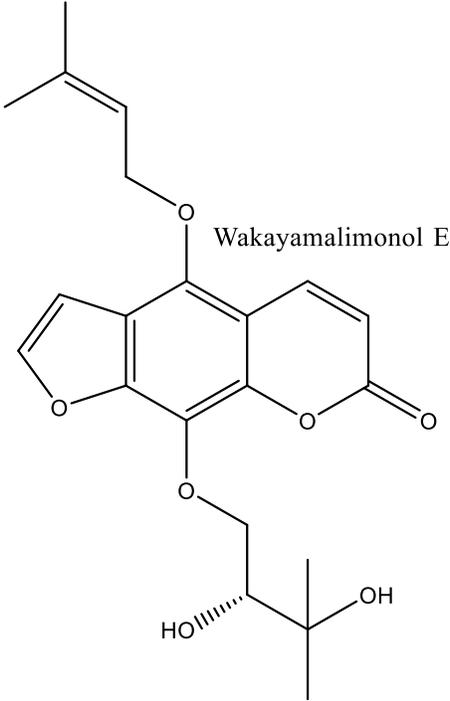
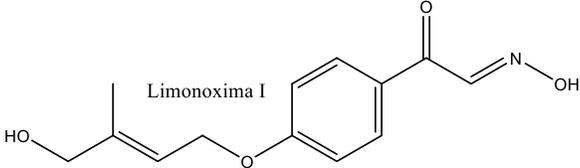
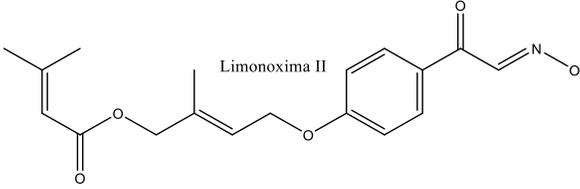
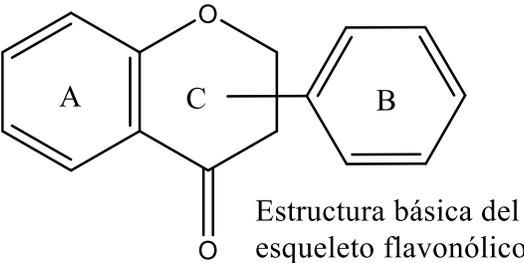
Continuación Anexo 1...

Nombre	Estructura	Fuente de aislamiento
Limoneno	 <p data-bbox="748 646 857 678">Limoneno</p>	Aceites esenciales
α -terpineol	 <p data-bbox="743 1016 870 1052">α-terpineol</p>	Aceites esenciales
Carvona	 <p data-bbox="792 1367 881 1398">Carvona</p>	Aceites esenciales
Pulegona	 <p data-bbox="732 1713 829 1745">Pulegona</p>	Aceites esenciales

Anexo 2. Estructuras de moléculas aisladas de *Citrus limonum* L.⁴⁹⁻⁵¹.

Nombre	Estructura	Fuente de aislamiento
Wakayamalimonol A	<p data-bbox="597 359 870 386">Wakayamalimonol A</p> 	Extracto metanólico de la cáscara
Wakayamalimonol B	<p data-bbox="586 705 862 732">Wakayamalimonol B</p> 	Extracto metanólico de la cáscara
Wakayamalimonol C	<p data-bbox="578 1052 854 1079">Wakayamalimonol C</p> 	Extracto metanólico de la cáscara
Wakayamalimonol D	<p data-bbox="578 1398 854 1425">Wakayamalimonol D</p> 	Extracto metanólico de la cáscara

Continuación Anexo 2...

Nombre	Estructura	Fuente de aislamiento
Wakayamalimonol E	 <p style="text-align: center;">Wakayamalimonol E</p>	Extracto metanólico de la cáscara
Limonoxima I	 <p style="text-align: center;">Limonoxima I</p>	Extracto metanólico de la cáscara
Limonoxima II	 <p style="text-align: center;">Limonoxima II</p>	Extracto metanólico de la cáscara
Estructura general de flavonoides	 <p style="text-align: center;">Estructura básica del esqueleto flavonólico</p>	

Anexo 3. Lista de abreviaturas.

[Ca²⁺]_i	Concentración intracelular de calcio
5-HT	5-hidroxitriptamina
AA	Ácido araquidónico
AC	Adenilato ciclasa
ACh	Acetilcolina
ACTH	Hormona adenocorticotrópica
ADH	Hormona antidiurética
AMPc	Adenosín monofosfato cíclico
ANOVA	Análisis de varianza
AQP-2	Canales de acuaporina 2
ARA II	Antagonista de receptores de angiotensina II
ATP	Adenosín trifosfato
BK_{Ca}	Canales de potasio sensibles a calcio
CCR	Curva concentración-respuesta
CE₅₀	Concentración efectiva media
CINVESTAV	Centro de Investigaciones y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional
CML	Células de músculo liso
CMLV	Células de músculo liso vascular
COX-2	Ciclooxigenasa-2
DAG	Diacilglicerol
E-	Ausencia de endotelio
E+	Presencia de endotelio
ECA	Enzima convertidora de angiotensina
ECEA	Enfermedad crónica esencial del adulto
E_{máx}	Efecto máximo
EMBg	Extracto metanólico de <i>Bursera graveolens</i>
EMCI	Extracto metanólico de <i>Citrus limonum</i>
eNOS	Enzima óxido nítrico sintasa endotelial
ENSANUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición

ERO	Radicales libres derivados de oxígeno
ET	Endotelina
FC	Frecuencia cardíaca
FCDE	Factores contráctiles derivados de endotelio
FHDE	Factor hiperpolarizante derivado de endotelio
FRDE	Factores relajantes derivados de endotelio
GCs	Guanilato ciclasa soluble
GDP	Guanosín difosfato
GMPc	Guanosín monofosfato cíclico
GTP	Guanosín trifosfato
HTA	Hipertensión arterial
IP₃	Inositol 1, 4, 5-trifosfato
L-NAME	N ^G -nitro-L-arginina metil éster
L-OHArg	N ^w -hidroxi-L-arginina
m/v	Masa/volumen
NA	Noradrenalina
NO	Óxido nítrico
NOS	Enzima óxido nítrico sintasa
ODQ	1 <i>H</i> -[1, 2, 4]oxodiazolo[4, 3- <i>a</i>]quinoxalin-1-ona
OMS	Organización Mundial de la Salud
PA	Presión arterial
PAD	Presión arterial diastólica
PAS	Presión arterial sistólica
PG	Prostaglandina
PGE₂	Prostaglandina E ₂
PGF_{2α}	Prostaglandina F _{2α}
PGG₂	Prostaglandina G ₂
PGGH	Enzima prostaglandina sintasa H
PGH₂	Prostaglandina H ₂
PGI₂	Prostaciclina
PIP₂	Fosfatidilinositol 4, 5-bisfosfato
PKA	Proteína cinasa A

PKC	Proteína cinasa C
PKG	Proteína cinasa G
PLA₂	Fosfolipasa A ₂
PLC	Fosfolipasa C
POX	Peroxidasa
RKH	Solución Ringer-Krebs-Henseleit
RS	Retículo sarcoplásmico
RVP	Resistencia vascular periférica
SAGARPA	Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación
SHR	Ratas espontáneamente hipertensas
SOD	Enzima superóxido dismutasa
TEA	Tetraetilamonio
t-PA	Activador tisular de plasminógeno
TxA₂	Tromboxano A ₂
UADY	Universidad Autónoma de Yucatán
UJAT	Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

Anexo 4. Presentaciones en congresos.

El presente trabajo fue presentado en los siguientes eventos:

13ª Reunión Internacional de Investigación en Productos Naturales. Asociación Mexicana de Investigación en Productos Naturales. Morelia, Michoacán. Mayo 2017.

LA UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO
Y LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE INVESTIGACIÓN EN PRODUCTOS NATURALES
extiende la presente

CONSTANCIA

A: Víctor Yáñez-Pérez, Rolffy R. Ortiz-Andrade, Salvador Flores-Guido, Amanda Sánchez-Recillas

Por su valiosa asistencia y presentación de la ponencia en Modalidad Cartel
Participación de la vía NO/GMPc en el mecanismo de acción funcional del efecto vasorrelajante de *Bursera graveolens*

En la 13a Reunión Internacional de Investigación en Productos Naturales celebrada del 17 al 20 de mayo de 2017 en Morelia, Michoacán, México.

Dra. Rosa Éva Norma del Río Torres
Presidente del Comité Organizador

Dr. Sergio Rubén Pezaza Sánchez
Presidente de AMIPRONAT

100 años
UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO
Cuna de líderes, crad of personalities

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICAS Y BIOLÓGICAS
IQUIBI

Amipronat

CONACYT

Reunión Internacional de Investigación en Productos Naturales
Dr. Juan Diego Hernández Hernández
Morelia, Michoacán, del 17 al 20 de mayo de 2017



EN REUNIÓN CONJUNTA DEL XXXIX CONGRESO NACIONAL DE FARMACOLOGÍA CON EL
CONGRESO ESTUDIANTIL DE FARMACOLOGÍA “DR. MARTE LORENZANA JIMÉNEZ” Y EL
XV CONGRESO DE INVESTIGACIÓN EN MEDICINA DE LA ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA DEL
INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL, OTORGAN CONSTANCIA A:

VÍCTOR YÁÑEZ PÉREZ, ROLFFY ORTIZ ANDRADE, SALVADOR FLORES GUIDO,
AMANDA SÁNCHEZ RECILLAS

TUTOR(A): D^{M(A)} AMANDA SÁNCHEZ RECILLAS

POR SU BRILLANTE PARTICIPACIÓN COMO PONENTES DEL TRABAJO LIBRE TITULADO:
PARTICIPACIÓN DE LA VÍA NO/GMPC EN EL MECANISMO DE ACCIÓN FUNCIONAL DEL
EFECTO VASORRELAJANTE DE BURSERA GRAVEOLENS

EN EL TEMA DE PRODUCTOS NATURALES, EN LA CATEGORÍA DE INVESTIGACIÓN EXPERIMENTAL DE POSTGRADO

Ciudad de México, 29 a 31 de Mayo de 2017.

Dra. Rosa Amalia Bobadilla Lugo
Presidenta AMEFAR A. C.



TL05

Concurso la Ciencia en 5 minutos. Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Yucatán. Mérida, Yucatán. Octubre 2017.

1833 2017 184 Aniversario Facultad de Medicina

Universidad Autónoma de Yucatán
Facultad de Medicina

OTORGA LA PRESENTE

CONSTANCIA

a
**Yáñez Pérez Victor, Ortiz Andrade Rolffy R., Flores Guido J. Salvador,
Sánchez Recillas Amanda**

Por haber obtenido el **PRIMER LUGAR** en el V Concurso "La Ciencia en Cinco Minutos" con el Trabajo de Investigación:

"Participación de la vía NO/GMPc en el mecanismo de acción funcional del efecto vasorrelajante de Citrus limonum", presentado en el "Encuentro Académico, Cultural y Deportivo de Ciencias de la Salud", celebrado del 15 al 21 de octubre de 2017, en el marco del 184 Aniversario de la Facultad de Medicina.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE YUCATÁN
ATEZAC, C. P. 97000 Mérida, Yucatán
"Luz, Ciencia y Verdad"

FACULTAD DE MEDICINA
DIRECCIÓN

FACULTAD DE MEDICINA

Dr. Guillermo Storey Montalvo
Director

Dr. Ramón Esperón Hernández
Secretario Académico

Anexo 5. Estancias de investigación

Durante la realización del presente trabajo se realizaron las siguientes estancias de investigación:

Estancia de investigación en el **Departamento de Química Orgánica II**, Facultad de Ciencia y Tecnología, Universidad del País Vasco. Bilbao, España. 1 de febrero al 30 de marzo de 2018.



KIMIKA ORGANIKOA II SAILA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA II

DOÑA CARMEN IRIONDO GABILONDO, DIRECTORA DEL DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA II DE LA UNIVERSIDAD DEL PAÍS VASCO / EUSKAL HERRIKO UNIBERTSITATEA

INFORMA:

Que D. VICTOR VÁÑEZ PÉREZ con pasaporte: G27487043, se ha incorporado al Departamento de Química Orgánica II, del 1 de Febrero al 31 de Marzo de 2018, como estudiante de Master y Doctorado.

Y para que así conste, expido el siguiente informe en Leioa, a 26 de Febrero de 2018.



Fdo.: Carmen Iriondo

Directora Dpto. de Química Orgánica II

carmen.iriondo@ehu.es
www.ehu.es

BIZKAIKO CAMPUSA
CAMPUS DE BIZKAIA
Samiena z/g
48940 Leioa
Bizkaia
T: 34 946 012634
F: 34 946 012748

Estancia de investigación en el **Laboratorio 12 de Farmacognosia**, Facultad de Farmacia, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Cuernavaca, Morelos. 2 al 20 de abril de 2018.



FACULTAD DE FARMACIA

Av. Universidad 1001 Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México.
C.P. 62210 Tel. (01 777) 329 7089 y 329 7000 Ext. 3365



Cuernavaca, Morelos., a 1 de Junio de 2018

**A QUIEN CORRESPONDA
PRESENTE**

Por este medio hago constar que el QFB. Víctor Yáñez Pérez realizó una estancia de investigación en el Laboratorio 12 de la Facultad de Farmacia de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos bajo mi dirección en el periodo comprendido entre el 2 y el 20 de abril del presente. El trabajo experimental que el QFB. Yáñez Pérez realizó fue la evaluación farmacológica de extractos derivados de plantas para establecer los potenciales efectos antihipertensivos.

Sin otro particular, agradezco la atención a la presente.

ATENTAMENTE
"POR UNA HUMANIDAD CULTA"

A handwritten signature in blue ink, appearing to be "S. Estrada Soto".

Dr. Samuel Enoch Estrada Soto
Profesor-Investigador Titular C de Tiempo
Completo
Investigador Nacional nivel 3



Estancia de investigación en el **Laboratorio 1 de Tecnología Farmacéutica**, Facultad de Farmacia, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Cuernavaca, Morelos. 7 de mayo al 29 de junio de 2018.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS



Facultad de Farmacia
Compromiso al servicio de la salud

FACULTAD DE FARMACIA

Secretaría Académica

Cuernavaca, Morelos, 25 de junio de 2018.

A quien corresponda:

Por medio de la presente informo a Usted que el alumno de posgrado **QFB. Víctor Yáñez Pérez** se encuentra realizando una estancia de investigación bajo mi dirección en el Laboratorio 1 de Tecnología Farmacéutica de la Facultad de Farmacia de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Dicha estancia se realiza en el periodo comprendido entre el 30 de abril al 29 de junio del presente año. Así mismo, durante el transcurso de su estancia el alumno desarrolla técnicas propias para la elaboración de tabletas a partir flavonoides. Dichas tabletas serán de utilidad para complementar el trabajo experimental propuesto en su proyecto de investigación.

Sin otro particular, quedo de Usted y me despido no sin antes enviarle saludos cordiales.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

DR. EFRÉN HERNÁNDEZ BALTAZAR
Director



C. c. p. M.P.D. Reyna América Serrano López, Secretaría Académica de la Facultad de Farmacia.
Archivo.
*Rasi.

Av. Universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca Morelos, México, 62209, Edificios 30.y 61,
Tel. (777) 329 7000 Ext. 3368 / reynas@uaem.mx

**UA
EM**

Una universidad de excelencia

RECTORÍA
2017-2023



UADY

UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA
DE YUCATÁN

POSGRADO INSTITUCIONAL EN CIENCIAS
QUÍMICAS Y BIOQUÍMICAS

**CARACTERIZACIÓN FARMACOLÓGICA DE
ESPECIES VEGETALES UTILIZADAS EN YUCATÁN
PARA EL TRATAMIENTO DE HIPERTENSIÓN
ARTERIAL**

TESIS

PRESENTADA POR

VÍCTOR YÁÑEZ PÉREZ

EN OPCIÓN AL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

MÉRIDA, YUCATÁN, MÉXICO

2018