



**Centro de Investigación en Alimentación y  
Desarrollo, A.C.**

**ACTIVIDAD ANTIHIPERTENSIVA DE EXTRACTOS DE  
ORÉGANO MEXICANO (*Lippia graveolens*) EN UN MODELO  
MURINO**

---

Por:

**LN Beatriz Johanna López Romero**

TESIS APROBADA POR LA

COORDINACIÓN DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE PRODUCTOS AGRÍCOLAS PARA  
ZONAS TROPICALES Y SUBTROPICALES

Como requisito parcial para obtener el grado de

**MAESTRA EN CIENCIAS**

## APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Beatriz Johanna López Romero, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestra en Ciencias



---

Dr. José Basilio Heredia  
Director



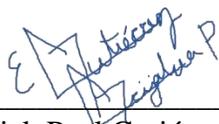
---

Dr. Noé Ontiveros Apodaca  
Co-director



---

Dra. Josefina León Félix  
Integrante del comité de tesis



---

Dr. Erick Paul Gutiérrez Grijalva  
Integrante del comité de tesis

## DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en la tesis "Actividad Antihipertensiva de Extractos de Orégano Mexicano (*Lippia graveolens*) en un Modelo Murino" es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial de la autora Beatriz Johanna López Romero, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita de quien ocupe la titularidad de la Dirección General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del director(a) de tesis.



CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN  
ALIMENTACIÓN Y DESARROLLO, A.C.  
Coordinación de Programas Académicos

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "G. Caire", is written over a horizontal line.

Dra. Graciela Caire Juvera  
Directora General

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por el apoyo económico otorgado durante mis estudios de maestría.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A. C. (CIAD) por mi formación como Maestra en Ciencias, por permitirme utilizar sus instalaciones y por los conocimientos adquiridos.

A Dios porque todo es por Él y para Él, por habilitarme y permitirme desarrollarme profesionalmente.

A mis papás, Alberto y Beatriz por siempre apoyar mis metas y sueños, por darme las herramientas, por creer en mí y siempre sacarme adelante y sobre todo por ser siempre mis más grandes maestros.

A Jose Carlos, por todo su apoyo, amor, palabras y ánimos, por su paciencia en tiempos de estrés, por siempre creer en mí y por ser el mejor compañero que pudiera tener, siempre apoyando mis metas y proyectos.

A mi abuela Carmen por siempre animarme con sus palabras siempre, por apoyarme y alimentarme.

Agradezco al Dr. Jose Basilio Heredia por aceptarme como su alumna, darme su confianza para realizar este proyecto, siempre escucharme y mostrarse atento, por todos los conocimientos que me transmitió en esta línea de investigación, por sus consejos, su paciencia y por guiarme durante esta etapa. Agradezco también al Dr. Noé Ontiveros por su dirección y por todo el conocimiento adquirido, por aceptarme como su alumna, por siempre estar atento y siempre estar disponible cada que necesité de su apoyo. Todo mi respeto y admiración para ambos.

A la Dra. Laura, a la Dra. Nayely y al Dr. Erick por todo su apoyo, por sus consejos, por compartir su conocimiento conmigo y por siempre mostrarse accesibles cuando necesité ayuda.

Al M.C. Gilberto Arámburo y al M.C. Oscar Figueroa por todo su apoyo durante la fase

experimental y en el análisis de resultados, por su amistad y por siempre estar cuando necesité ayuda y por siempre resolver mis dudas. Agradezco también al Dr. Feliznando Cárdenas por recibirme en su laboratorio y por hacer posible la colaboración CIAD-UAS para la realización de este proyecto de investigación y a todos mis amigos y compañeros del Laboratorio Francisco Cabrera Chávez de la Facultad de Ciencias de la Nutrición y Gastronomía por toda su ayuda en la etapa de experimentación.

Agradezco a mis compañeros y amigos del Laboratorio de Alimentos Funcionales y Nutraceuticos, sobre todo a aquellos que me apoyaron con los experimentos y con el análisis de resultados, Alicia, Melissa, Manuel P., Manuel B., Luis Aurelio, Marilyn, María Magdalena, Octavio, Juan Pablo y Jorge. A Roxana y Saraí por su amistad, por darme ánimos, por su ayuda y por todo su apoyo.

Agradezco al Dr. José Benigno Valdez por asesorarme con la parte estadística y por siempre mostrarse accesible para brindarme ayuda y al M.I. Pedro Bastidas por su apoyo con el análisis UPLC-MS/MS, siempre mostrándose muy amable y accesible y a todos los maestros que, dentro o fuera del aula de clases, participaron en mi formación durante estos años.

Quisiera agradecer también a los grandes amigos que he hecho gracias a la ciencia, a Jordi y Mario, que a pesar de ya no compartir laboratorio, me siguen apoyando y aclarando mis dudas cuando lo necesito. Gracias por sus consejos y por siempre explicarme con mucha paciencia.

Agradezco al Laboratorio de Alimentos Funcionales y Nutraceuticos del CIAD por permitirme usar las instalaciones, material y realizar la etapa experimental *in vitro* y al Laboratorio Francisco Cabrera Chávez de la Facultad de Ciencias de la Nutrición y Gastronomía de la Universidad Autónoma de Sinaloa por permitirme hacer uso de sus instalaciones para la etapa experimental *in vivo*.

## **DEDICATORIA**

*A quien me ha hecho saberme capaz de poder alcanzar cualquier sueño o meta que me proponga, por más grandes o pequeños que sean. A mi más grande ejemplo de esfuerzo, inteligencia y dedicación, mi mejor amigo y mi pilar más fuerte...*

*Alberto López*

*Te amo papá*

## CONTENIDO

<b>DECLARACIÓN INSTITUCIONAL</b> .....	3
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	4
<b>DEDICATORIA</b> .....	6
<b>CONTENIDO</b> .....	7
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	9
<b>LISTA DE CUADROS</b> .....	10
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	14
<b>2. ANTECEDENTES</b> .....	16
2.1. Hipertensión .....	16
2.1.1. Clasificación .....	16
2.1.2. Epidemiología de la Hipertensión .....	17
2.1.3. Etiología de la Hipertensión .....	18
2.1.4. Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona.....	19
2.1.5 Estrés Oxidativo.....	21
2.1.5.1 Daño a las macromoléculas.....	21
2.1.5.2 Especies reactivas de oxígeno en la hipertensión .....	22
2.1.5.3 Estrés oxidativo en la hipertensión .....	23
2.1.6 Tratamiento de la Hipertensión.....	25
2.1.6.1 Fármacos inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina.....	26
2.2 Nutracéuticos .....	27
2.3 Compuestos Fenólicos.....	29
2.4 Orégano .....	30
2.4.1 Distribución e Importancia Económica .....	30
2.4.2 Composición Química de <i>L. graveolens</i> .....	32
2.4.2.1 Flavonoides .....	34
2.4.3 Actividad Biológica y Nutracéutica del Orégano .....	34
2.4.3.1 Actividad antioxidante .....	36
2.4.3.2 Inhibición enzimática.....	36
2.4.3.3 Actividad biológica <i>in vivo</i> .....	37
<b>3. HIPÓTESIS</b> .....	39
<b>4. OBJETIVOS</b> .....	40
4.1 Objetivo General.....	40
4.2 Objetivos Específicos .....	40
<b>5. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	41
5.1 Material Vegetal .....	41
5.2 Elaboración de los Extractos .....	41
5.3 Capacidad Antioxidante .....	42

## CONTENIDO (continuación)

5.3.1 Método ORAC .....	42
5.3.2 Método FRAP .....	42
5.3.3 Método ABTS .....	43
5.4 Contenido de Compuestos .....	43
5.4.1 Compuestos Fenólicos Totales .....	43
5.4.2 Flavonoides Totales .....	44
5.4.3 Análisis UPLC-MS/MS .....	44
5.5 Determinación del Porcentaje de Inhibición de la ECA-I y de la Concentración Inhibidora Media Máxima. ....	45
5.6 Ensayos <i>in vivo</i> .....	46
5.6.1 Animales y Cuestiones Éticas .....	46
5.6.2 Efecto en la Presión Sanguínea .....	46
5.7 Análisis Estadístico .....	47
<b>6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>48</b>
<b>7. CONCLUSIONES</b> .....	<b>63</b>
<b>8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>64</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
1	Sistema renina-angiotensina-aldosterona y sus implicaciones en la fisiopatología de la hipertensión.....	19
2	Orégano mexicano ( <i>Lippia graveolens</i> ). A) Arbusto de <i>Lippia graveolens</i> , B) Tallo, flor y hoja C) Acercamiento a la hoja, D) Tejido seco.....	31
3	Mapa de distribución de especies de orégano en México.....	33
4	Estructura química de las flavonas comúnmente identificadas en el orégano. (a) apigenina, (b) luteolina, (c) escutelareína, (d) apigenina-7-O-glucósido, (e) luteolina-7-glucósido, (f) luteolina-7-O-glucurónido.....	35
5	Resultados de capacidad antioxidante de los extractos hidrofílicos de orégano mexicano con método ORAC.....	49
6	Resultados de capacidad antioxidante de los extractos hidrofílicos de orégano mexicano con método FRAP.....	49
7	Resultados de capacidad antioxidante de los extractos hidrofílicos de orégano mexicano con método ABTS.....	51
8	Resultados del contenido de compuestos fenólicos totales de los extractos hidrofílicos de orégano mexicano.....	53
9	Resultados del contenido de flavonoides totales de los extractos hidrofílicos de orégano mexicano.....	53
10	IC <sub>50</sub> de los extractos hidrofílicos de orégano mexicano.....	57
11	Efecto de los extractos hidrofílicos (100 mg/kg peso corporal) de orégano mexicano en la presión sanguínea de ratas espontáneamente hipertensas.....	59
12	Efecto de los extractos hidrofílicos (200 mg/kg peso corporal) de orégano mexicano en la presión sanguínea de ratas espontáneamente hipertensas.....	59

## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadros</b>		<b>Página</b>
1	Clasificación de la hipertensión arterial por clase o grado, mm Hg.....	18
2	Principales especies reactivas de oxígeno y nitrógeno.....	24
3	Taxonomía del orégano mexicano.....	32
4	Resultados de la identificación y cuantificación de flavonoides con UPLC-MS/-MS de los extractos hidrofílicos de orégano mexicano.....	54

## RESUMEN

La hipertensión es uno de los más grandes desafíos en salud pública a nivel mundial y es una de las principales causas de muerte prematura en el mundo. Se ha reportado que existen compuestos dietarios que ejercen importantes efectos benéficos en la salud cardiovascular, entre los que podemos mencionar a los flavonoides. El orégano mexicano se caracteriza por ser una fuente importante de flavonoides y otros compuestos fenólicos, por lo cual, el objetivo de esta investigación fue evaluar la actividad antihipertensiva de extractos de orégano mexicano (*Lippia graveolens*) en un modelo murino. Se determinó la capacidad antioxidante de los extractos utilizados (acuoso e hidroetanólico) mediante los métodos ORAC, FRAP y ABTS, así como el contenido de compuestos fenólicos totales y flavonoides totales mediante ensayos colorimétricos. Además, se identificaron y cuantificaron los flavonoides en los extractos mediante análisis UPLC-MS/MS. La capacidad de los extractos para inhibir a la enzima convertidora de angiotensina, así como su efecto en la presión sanguínea de ratas espontáneamente hipertensas, también fueron evaluados. El extracto hidroetanólico mostró mayor capacidad antioxidante que el extracto acuoso en todos los métodos (ORAC, FRAP y ABTS) con resultados de  $1823.10 \pm 50.26$ ,  $532.6 \pm 11.74$  y  $926.1 \pm 4.32$   $\mu\text{mol ET/g}$  muestra, respectivamente. Asimismo, el extracto hidroetanólico tuvo mayor contenido de compuestos fenólicos totales ( $63.70 \pm 5.18$  mg EAG/g muestra) y flavonoides totales ( $30.78 \pm 0.59$  mg EQ/g muestra). Los flavonoides más abundantes en los extractos fueron naringenina para el extracto hidroetanólico y floridzina para el extracto acuoso. El extracto acuoso tuvo un  $\text{IC}_{50}$  de 0.183 mg/mL y el hidroetanólico de 0.138 mg/mL, siendo este último el que tuvo mayor capacidad inhibitoria de la enzima convertidora de angiotensina in vitro. Los extractos acuoso e hidroetanólico lograron disminuir la presión sanguínea de ratas espontáneamente hipertensas después de 3 horas de administrados. Ambos extractos disminuyeron gradualmente la presión sanguínea a dosis de 200 mg/kg peso corporal. Sin embargo, solo el extracto acuoso logró mantener hasta por siete horas el efecto antihipertensivo en niveles similares al fármaco captopril. Los resultados de esta investigación sugieren que los extractos de orégano mexicano tienen compuestos con capacidad antioxidante potente y exhiben actividad antihipertensiva en ratas espontáneamente hipertensas. Por lo tanto, podrían ser útiles para el desarrollo de nutraceuticos coadyuvantes en el tratamiento de la hipertensión arterial.

**Palabras claves:** hipertensión, oregano mexicano, antioxidantes, flavonoides

## ABSTRACT

Hypertension is one of the greatest public health challenges worldwide and is one of the leading causes of premature death. It has been reported that there are dietary compounds, such as flavonoids, that have important beneficial effects on cardiovascular health. Mexican oregano (*Lippia graveolens*) is an important source of phenolic compounds, mainly flavonoids. Thus, the objective of this research was to evaluate the antihypertensive activity of Mexican oregano hydrophilic extracts in a murine model. The antioxidant capacity of the extracts used (aqueous and hydroethanolic) was determined by the ORAC, FRAP, and ABTS methods. The content of phenolic compounds and total flavonoids was determined by colorimetric assays; and the flavonoids in the extracts were identified and quantified by UPLC-MS/MS analysis. The inhibitory capacity of the angiotensin-converting enzyme was determined, and the effect of the extracts on the blood pressure of spontaneously hypertensive rats was evaluated. The hydroethanolic extract showed greater antioxidant capacity than the aqueous one, in all the ORAC, FRAP, and ABTS methods, with results of  $1823.10 \pm 50.26$ ,  $532.6 \pm 11.74$ , and  $926 \pm 4.32$  TE  $\mu\text{mol/g}$  sample, respectively. Likewise, the hydroethanolic extract had a higher content of total phenolic ( $63.70 \pm 5.18$  GAE mg/g sample) and flavonoid compounds ( $30.78 \pm 0.59$  QE/g sample) than the aqueous one. The most abundant flavonoids in the extracts were naringenin for the hydroethanolic extract and phlorizin for the aqueous extract. The aqueous extract showed an  $\text{IC}_{50}$  of 0.183 mg/mL and the hydroethanolic one of 0.138 mg/mL, the latter being the one with the highest enzyme inhibitory capacity. Both extracts managed to lower the blood pressure of spontaneously hypertensive rats from time three, observing a gradual decrease in blood pressure at the dose of 200 mg/kg body weight. However, only the aqueous extract maintained the antihypertensive effect until time seven without showing significant differences with the antihypertensive drug captopril. The results of this research suggest that the extracts of Mexican oregano contain compounds with both a potent antioxidant capacity and an antihypertensive activity in spontaneously hypertensive rats, for which they could be useful for the development of adjuvant nutraceuticals in the treatment of arterial hypertension.

**Keywords:** hypertension, mexican oregano, antioxidants, flavonoids

## 1. INTRODUCCIÓN

La presión arterial es la fuerza con la que la sangre golpea las paredes de las arterias. Cuando la presión arterial es mayor de 140 mmHg en presión sanguínea sistólica y/o la presión diastólica excede los 90 mmHg el evento se conoce como hipertensión (OMS, 2023). Existen diversos factores de riesgo asociados al desarrollo de hipertensión, los cuales pueden ser modificables, como dietas no saludables (consumo excesivo de sal, dieta alta en grasas saturadas y grasas trans, bajo consumo de frutas y vegetales), sedentarismo, consumo de tabaco y alcohol y padecer sobrepeso u obesidad. Entre los no modificables se incluyen los antecedentes familiares, la edad (mayor a 65 años) y el padecimiento de otras enfermedades como la diabetes y enfermedad renal. Ya que muchas de las personas que viven con hipertensión no son diagnosticadas porque no muestran síntomas, la hipertensión es conocida como el “asesino silencioso”, y es por esto que es importante la toma de la presión arterial de manera regular (OMS, 2021, 2023).

La terapia combinada, como el uso de bloqueadores de los canales de calcio e inhibidores del sistema renina-angiotensina-aldosterona, ha mostrado ser eficaz para mantener la presión arterial en niveles adecuados, reduciendo la morbilidad y mortalidad por enfermedad cardiovascular (Da Silva Pinto *et al.*, 2010). Notablemente, existen constituyentes dietarios que pueden contribuir a la salud cardiovascular (Wu *et al.*, 2012) y los compuestos fenólicos son algunos de ellos. Estos metabolitos secundarios de las plantas se producen en respuesta a la radiación UV y ataques de microorganismos, entre otros tipos de estrés (Rahman *et al.*, 2021). Los flavonoides son sustancias naturales que pertenecen al grupo de los compuestos fenólicos y se ha reportado que ejercen importantes efectos cardioprotectores, los cuales se atribuyen principalmente a su actividad antioxidante y vasodilatadora (Atucha *et al.*, 2022). Estos compuestos son abundantes en frutas, semillas y plantas y son responsables de características como su fragancia y sabor (Dias *et al.*, 2021).

El orégano se ha utilizado en la medicina herbolaria para aliviar condiciones como el asma, bronquitis, tos, diarrea, indigestión, dolores menstruales y estomacales, así como para tratar enfermedades infecciosas y otras relacionadas con la inflamación y diabetes. Asimismo, se ha

reportado que el orégano mexicano (*Lippia graveolens*) presenta propiedades biológicas como antioxidante (Gutiérrez-Grijalva *et al.*, 2017), anti-mutagénica (Martínez-Rocha *et al.*, 2008), fotoquimioprotectora (García-Bores *et al.*, 2017), y antimicrobiana (Avila-Sosa *et al.*, 2010), entre otras. Los beneficios a la salud de esta hierba aromática se han atribuido principalmente a su contenido de fitoquímicos, básicamente flavonoides y ácidos fenólicos (Gutiérrez-Grijalva *et al.*, 2017). Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto antihipertensivo de extractos hidrofílicos de orégano (*Lippia graveolens*) en ratas espontáneamente hipertensas.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1. Hipertensión

La hipertensión es una condición en la que la presión de los vasos sanguíneos está elevada durante periodos constantes y puede llegar a ser grave si no se trata (OMS, 2023; Carey *et al.*, 2022). La hipertensión es el principal factor de riesgo de enfermedad cardiovascular (ECV) y su control subóptimo se asocia a enfermedad cerebrovascular, incluidos los accidentes cerebrovasculares hemorrágicos (58 %), e isquémicos (50 %), cardiopatía isquémica (55 %) y otras formas de ECV (58 %), incluyendo insuficiencia cardíaca y enfermedad arterial periférica. Asimismo, la hipertensión es una de las principales causas de enfermedad renal, así como de demencia debido a la alteración de los vasos sanguíneos cerebrales (Carey *et al.*, 2019). La hipertensión usualmente no presenta signos ni síntomas y muchas personas no saben que la padecen. Así, la medición regular de la presión arterial es la única forma de poder diagnosticar este padecimiento (CDC, 2021). La hipertensión se desarrolla con el tiempo, sin embargo, existen factores de riesgo modificables y no modificables para el desarrollo de esta. Los factores modificables incluyen las dietas con exceso de sal, ricas en grasas saturadas y grasas trans, ingesta insuficiente de frutas y hortalizas, la inactividad física, el consumo de tabaco y alcohol, así como padecer sobrepeso y obesidad. Por otro lado, se encuentran los factores no modificables, como los antecedentes familiares de hipertensión, la edad superior a los 65 años y la ocurrencia de otras enfermedades como diabetes o nefropatías (OMS, 2023). Adicionalmente, la hipertensión también puede presentarse en mujeres durante el embarazo (CDC, 2021).

#### 2.1.1. Clasificación

La definición de hipertensión arterial se basa en todas las guías disponibles sobre presión arterial. Aunque la definición de hipertensión arterial difiere entre las guías de la Sociedad Europea de

Cardiología (SEC) de 2018, de la Sociedad Europea de Hipertensión (SEH), de la Sociedad Americana de Cardiología (SAC) de 2017, las pautas del Colegio de Cardiología – Asociación Americana del Corazón (AAC), y las pautas de la Sociedad Internacional de la Hipertensión (SIH) 2020 (Cuadro 1), las indicaciones para la terapia antihipertensiva son similares. Los pacientes con presión arterial de al menos 140/90 mm Hg deben ser tratados si el riesgo cardiovascular es alto o si hay signos de daños en órganos diana (Brouwers *et al.*, 2021). En pacientes con hipertensión grado 1 (las definiciones varían según la guía), con riesgo cardiovascular de bajo a moderado y sin evidencia de daño orgánico mediado por hipertensión, se recomienda tratamiento farmacológico para disminuir la presión arterial si el paciente continúa hipertenso después de un periodo de intervención en el estilo de vida. Todas las guías recomiendan realizar varias mediciones de la presión arterial para diagnosticar correctamente la hipertensión arterial (Brouwers *et al.*, 2021)

### **2.1.2. Epidemiología de la Hipertensión**

Anualmente, en la región de las Américas ocurren alrededor de 1.6 millones de muertes por enfermedades cardiovasculares. Entre las defunciones, alrededor de medio millón son personas menores de 70 años, lo cual se considera una muerte prematura y evitable. La hipertensión afecta entre el 20 y 40 % de la población adulta, lo cual significa que alrededor de 250 millones de personas la padecen. Particularmente, uno de cada cuatro mexicanos padece hipertensión arterial. En hombres, la prevalencia es de 24.9 % y en mujeres, esta es de 26.1 %. La prevalencia estimada es de 30 % conforme al criterio de 140/90 mm Hg, lo que equivale alrededor de 30 millones de personas hipertensas por cada 100 millones (Piña-Pozas *et al.*, 2020). De acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud Pública y Nutrición de Medio Camino, 2016, realizada por el Instituto Nacional de Salud Pública (INSP) y la Secretaría de Salud, el 25.5 % de la población mexicana es hipertensa y alrededor del 40 % de esta población no sabe que lo es. Además, de los que saben que son hipertensos (alrededor del 60%), solamente la mitad tiene la presión arterial controlada.

**Cuadro 1.** Clasificación de la hipertensión arterial por clase o grado.

**Presión arterial sistólica y diastólica en mm Hg**

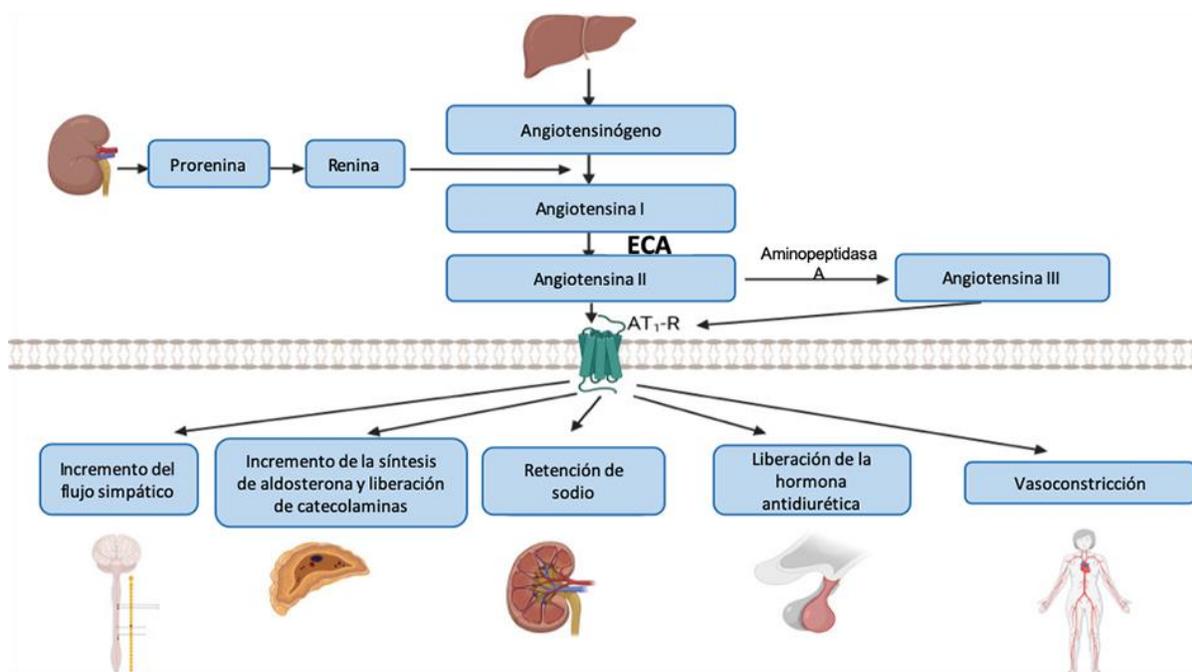
<b>Colegio Americano de Cardiología – Asociación Americana del Corazón</b>	
Normal	<120 and <80
Elevada	120-129 y <80
Hipertensión estadio 1	130-139 o 80-89
Hipertensión estadio 2	≥140 o ≥90
<b>Sociedad Europea de Cardiología – Sociedad Europea de Hipertensión</b>	
Optima	<120 y <80
Normal	120 – 129 o 80 – 84, o ambas
Elevada – normal	130 – 139 o 85 – 89, o ambas
Hipertensión estadio 1	140 – 159 o 90 – 99, o ambas
Hipertensión estadio 2	160 – 179 o 100 – 179, o ambas
Hipertensión estadio 3	≥180 o ≥110, o ambas
Hipertensión sistólica aislada	≥140 y <90
<b>Sociedad Internacional de Hipertensión</b>	
Normal	<130 y <85
Elevada – normal	130 – 139 o 85 – 89, o ambas
Hipertensión grado 1	140 – 159 o 90 – 99, o ambas
Hipertensión grado 2	≥160 o ≥100, o ambas

### 2.1.3. Etiología de la Hipertensión

La hipertensión se puede clasificar como esencial o secundaria, siendo la hipertensión esencial la más común (95 % de los casos) (Carretero & Oparil, 2000). Este padecimiento es de naturaleza multifactorial con determinantes ambientales, genéticos y sociales que pueden contribuir a su desarrollo (Carey *et al.*, 2018). Existen diversos factores de riesgo para esta enfermedad, siendo los más conocidos la obesidad, la inactividad física, consumo excesivo de sodio, la contaminación del aire y estrés crónico, alto consumo de alcohol, bajo consumo de potasio y calcio, entre otros (Carretero & Oparil, 2000; Fuks *et al.*, 2017; Haikerwal *et al.*, 2020; Kanda *et al.*, 2020; Münzel *et al.*, 2017). Los mecanismos inmunitarios y la inflamación sistémica también son importantes en la patogénesis de la hipertensión (Drummond *et al.*, 2019; Rodríguez-Iturbe *et al.*, 2017), así como la composición de la microbiota intestinal (Li *et al.*, 2017; Mell *et al.*, 2015).

### 2.1.4. Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona

El sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA) es un regulador crítico del volumen sanguíneo y de la resistencia vascular sistémica. Este sistema se compone de una serie de proteínas y angiotensinas (I, II, III y IV) con actividad propia y específica (Wagner-Grau, 2010) (Figura 1). Mientras que el reflejo barorreceptor responde a corto plazo a la disminución de la presión arterial, el SRAA es responsable de alteraciones crónicas. Este sistema consta de tres principales componentes: renina, angiotensina II y aldosterona. Estos tres elementos actúan para elevar la presión arterial en respuesta a su disminución, la disminución del suministro de sal al túbulo contorneado distal, y/o el beta-agonismo. Mediante estos mecanismos, el organismo puede elevar la presión arterial de manera prolongada (Fountain *et al.*, 2023). La función del SRAA está principalmente asociada a la regulación de la presión arterial por la modulación del volumen sanguíneo, la reabsorción de los iones de sodio, la secreción de potasio, la absorción de agua y el tono vascular. Otras funciones del SRAA incluyen la inflamación, apoptosis y fibrosis (Fountain *et al.*, 2023).



**Figura 1.** Sistema renina-angiotensina-aldosterona y sus implicaciones en la fisiopatología de la hipertensión. Adaptado de (Shahoud, 2022).

El SRAA comienza con la producción y liberación de renina por las células yuxtaglomerulares del riñón, que responden a la disminución de la presión arterial, la actividad del sistema nervioso simpático, y a la reducción de los niveles de sodio dentro de los túbulos contorneados distales de las nefronas. Una vez en el torrente sanguíneo, la renina tiene contacto con el angiotensinógeno, el cual es producido continuamente por el hígado. El angiotensinógeno se convierte en angiotensina I por la acción de la renina. Posteriormente, la angiotensina I alcanza los vasos sanguíneos del pulmón, en donde el tejido endotelial produce la enzima convertidora de angiotensina (ECA) (Shahoud *et al.*, 2022).

La ECA lleva a cabo la conversión de angiotensina I en angiotensina II, la cual causa un aumento de la presión arterial. Este aumento ocurre mediante distintos efectos, tales como una potente vasoconstricción en las arteriolas del organismo y la vasoconstricción de las arteriolas de los glomérulos del riñón. Lo anterior resulta en el mantenimiento de la tasa de filtración glomerular, incremento en la reabsorción de los iones de sodio mediante los tubulos renales, la liberación de la hormona antidiurética (HAD) de la glándula pituitaria posterior, y la liberación de aldosterona de la zona glomerulosa de la corteza suprarrenal de las glándulas suprarrenales. Particularmente, la reabsorción de los iones de sodio resulta en una reabsorción pasiva de agua por osmosis, lo cual causa un incremento en el volumen sanguíneo y en la presión arterial en consecuencia. Así mismo, la aldosterona aumenta la presión arterial a través de la regulación positiva de las bombas de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  del túbulo contorneado distal y el conducto colector dentro de la nefrona. Esta actividad en el túbulo contorneado distal conduce a una mayor reabsorción de sodio, así como a una mayor secreción de potasio. El aumento de la reabsorción de sodio conduce a la reabsorción pasiva de agua y al aumento de la presión arterial (Shahoud *et al.*, 2022).

El rol de la regulación de la presión sanguínea es mantener suficiente presión que permita la perfusión adecuada de los órganos y sus tejidos, sin embargo, esta debe ser adecuada y sin llegar a niveles elevados que puedan causar daños al organismo. Cuando el cuerpo entra en un estado de hipotensión aguda, la función barorreflexora tiende a regresar la presión arterial a niveles estables que permitan una perfusión continua (Zhang *et al.*, 2001). Entonces, el organismo entra en un estado de hipertensión crónica, pero en muchos casos no existe una causa identificable por ser este padecimiento multifactorial. El término utilizado para esta condición es hipertensión esencial

(Carretero & Oparil, 2000; Oparil *et al.*, 2003) y representa aproximadamente el 95 % de los casos de hipertensión. El tratamiento de la hipertensión es crítico ya que puede resultar en complicaciones cerebrales, cardíacas y renales. La primera línea de tratamiento para la hipertensión esencial incluye los bloqueadores de calcio, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, los bloqueadores de los receptores de la enzima convertidora de angiotensina, y los diuréticos (Shahoud *et al.*, 2022).

### **2.1.5 Estrés Oxidativo**

La hipertensión es un factor de riesgo modificable para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, especialmente para infarto cardíaco. La enfermedad puede resultar en daños tisulares graves, particularmente a la microvasculatura de la retina, cerebro y riñones, y es una causa importante de ceguera, demencia y falla renal crónica (Yamamoto-Moreno *et al.*, 2020). Asimismo, se ha sugerido que el estrés oxidativo es un factor importante en la patogénesis de la hipertensión (Baradaran *et al.*, 2014; Griendling *et al.*, 2021; Grossman, 2008). Notablemente, las especies reactivas de oxígeno (ERO) tienen un papel importante en la homeostasis de la pared vascular, por lo tanto, podrían ser parte de los mecanismos que promueven el desarrollo de hipertensión (Rodrigo *et al.*, 2011).

2.1.5.1 Daño a las macromoléculas. En cantidades excesivas, los radicales libres y oxidantes dan lugar a un fenómeno conocido como estrés oxidativo, el cual es un proceso dañino que puede afectar negativamente las estructuras celulares, como las membranas, y moléculas, como los lípidos, proteínas, lipoproteínas y ácidos desoxirribonucleicos (ADN) (Pizzino *et al.*, 2017). El estrés oxidativo emerge cuando ocurre un desbalance entre la formación de radicales libres y la incapacidad de las células para neutralizarlos. Existen diversos mecanismos mediante los cuales las macromoléculas de importancia biológica se ven afectadas por los radicales libres. Por ejemplo, un exceso de radical hidroxilo y peroxinitritos pueden causar peroxidación lipídica dañando las lipoproteínas y membranas celulares. Esto último, conducirá a la formación de malonaldehído y

compuestos dienos conjugados, los cuales se conocen por ser citotóxicos y mutagénicos (Dröge, 2002; Genestra, 2007; Pacher *et al.*, 2007; Pizzino *et al.*, 2017; Willcox *et al.*, 2004). Al ser una reacción en cadena de radicales, la peroxidación lipídica se propaga muy rápidamente afectando a una gran cantidad de lípidos. Las proteínas pueden verse dañadas por el estrés oxidativo sufriendo modificaciones conformacionales, las cuales podrían determinar una pérdida o deterioro de su actividad enzimática. El ADN también es propenso a sufrir lesiones relacionadas con el estrés oxidativo, siendo la más representativa la formación de 8-oxo-2'-desoxiguanosina, la cual es una lesión del ADN particularmente perniciosa, que puede promover mutagénesis (Nishida *et al.*, 2013). Lo anterior puede acompañarse de pérdida en la información epigenética, probablemente debido a un impariamiento en la metilación de la isla CpG, activas en los promotores de los genes (Yasui *et al.*, 2014).

2.1.5.2 Especies reactivas de oxígeno en la hipertensión. Se cree que el estrés oxidativo está involucrado en muchos procesos patológicos (Baradaran *et al.*, 2014). Las ERO comprenden una gran variedad de moléculas con diferentes funciones sobre la función celular. Las ERO y las especies reactivas de nitrógeno (ERN) regularmente se forman como resultado del exceso de estrés oxidativo e incluso como producto de funciones orgánicas normales (Cuadro 2). En cualquier sistema biológico debe haber un equilibrio entre la formación de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno y sus neutralizadores (Rafieian-Kopaei *et al.*, 2013). Las especies reactivas como el superóxido ( $O_2^-$ ), radical hidroxilo ( $HO\bullet$ ), peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), peroxinitrito ( $ONOO^-$ ), óxido nítrico ( $NO\bullet$ ) y el ácido hipocloroso ( $HOCl$ ) se producen en reacciones metabólicas normales y son neutralizados por los antioxidantes. Sin embargo, las ERO pueden ocasionar daño celular en cantidades excesivas. En el sistema vascular, el superóxido y el peróxido de hidrógeno son particularmente importantes para mantener el equilibrio redox celular, los órganos se protegen de la toxicidad causada por el exceso de ERO de diversas formas, en las que se incluye el uso de antioxidantes endógenos y exógenos (Touyz, 2004). El sistema antioxidante endógeno, el cual es la línea de defensa del organismo contra los daños oxidativos, se compone de antioxidantes enzimáticos, como la superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), y glutatión peroxidasa (GPx), y no enzimáticos, como el glutatión (GHS), mientras que los antioxidantes exógenos son aquellos que el organismo obtiene a través de fuentes exógenas, como los alimentos, entre los que destacan

las vitaminas C y E, los carotenoides y los polifenoles (Bouayed & Bohn, 2010).

2.1.5.3 Estrés oxidativo en la hipertensión. Como se mencionó anteriormente, existe una fuerte asociación entre la presión sanguínea y los parámetros relacionados con el estrés oxidativo. En ratones, alteraciones genéticas que causan deficiencias en las enzimas generadoras de ERO conllevan a valores más bajos de presión sanguínea comparado con sus contrapartes, apoyando la idea de que una menor producción o presencia de ERO podría estar relacionada con valores de presión arterial normales (Gavazzi *et al.*, 2006). Por otro lado, se ha observado en aislados de arterias de humanos y animales con hipertensión que la actividad antioxidante está reducida, la señalización redox-dependiente está amplificadas, y la producción de ERO potencializada (Touyz & Schiffrin, 2001). En estos casos, los efectos benéficos de los agentes antihipertensivos como los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina I, bloqueadores de receptores de angiotensina II, los beta-adrenérgicos, y los bloqueadores de los canales de calcio, podrían estar mediados, al menos parcialmente, por la disminución del estrés oxidativo vascular (Ardalan & Vahedi, 2013; Ghorbani *et al.*, 2013; Hernandez & Nasri, 2014; Nasri *et al.*, 2014; Yoshida *et al.*, 2004).

**Cuadro 2.** Principales especies reactivas de oxígeno y nitrógeno.

<b>Radicales libres</b>	<b>No radicales</b>
<b>ERO</b> Superóxido $O_2^{\bullet-}$ Hidroxil $OH^{\bullet}$ Hidroperoxil $HO_2^{\bullet}$ Peroxil $RO_2^{\bullet}$ Alcoxil $RO^{\bullet}$ Singulete $O_2\ ^1\Sigma_g^+$	<b>ERO</b> Peróxido de hidrógeno $H_2O_2$ Ácido hipobromoso $HOBr$ Ácido hipocloroso $HOCl$ Ozono $O_3$ Peróxidos orgánicos $ROOH$
<b>ERN</b> Óxido nítrico $NO^{\bullet}$ Dióxido de nitrógeno $NO_2$ Radical nitrato $NO_3$	<b>ERN</b> Ácido nitroso $HNO_2$ Cation nitrosil $NO^+$ Anión nitrosil $NO^-$ Tetra óxido di-nitrógeno $NO_2O_4$ Tri óxido di-nitrógeno $NO_2O_3$ Peroxinitrito $ONOO$ Peroxinitrato $O_2NOO$ Ácido peroxinitroso $ONOOH$ Alquil peroxinitrito $ROONO$ Alquil peroxinitrato $RO_2ONO$

Tomado de (Sánchez-Valle, 2018).

Existen distintas fuentes de ERO en los vasos sanguíneos, una de las más conocidas es la NADPH oxidasa. Otras enzimas como la óxido nítrico sintasa (NOs), la xantina oxidasa y las enzimas mitocondriales también contribuyen a la generación de ERO. La vasculatura del organismo y del riñón son fuentes ricas de ERO derivadas de la acción de la NADPH, teniendo un rol importante en el daño vascular y en la disfunción renal (Fairheller *et al.*, 2009). Este sistema funciona como un donador de electrones y cataliza la reducción de oxígeno por la NADPH, el cual incrementa la generación de superóxido por la regulación a la alta de la NADPH oxidasa en pacientes con hipertensión (Fairheller *et al.*, 2009).

La función del superóxido que se produce por la acción de la NADPH oxidasa es inactivar al óxido nítrico (NO), el cual actúa como vasodilatador en una reacción que genera peroxinitrito. Esta molécula causa alteraciones negativas en la vasodilatación dependiente del endotelio, en la que participa activamente el NO. La activación de la NADPH oxidasa se ha relacionado fuertemente

con la hipertensión (Lassègue & Clempus, 2003). La oxidación o la deficiencia de tetrahidrobiopterina (BH<sub>4</sub>) y L-arginina, dos cofactores de óxido nítrico sintasa derivados del endotelio (eNOS), se han asociado con el desacoplamiento de la vía L-arginina-NO, que da como resultado una mayor generación de superóxido causado por el incremento en la generación de eNOS y una disminución de la formación de NO (Baradaran *et al.*, 2014).

La NADPH oxidasa es la fuente inicial de ERO como el superóxido. El superóxido se combina con el NO, el cual es sintetizado por la eNOS para formar peroxinitrito. A su vez, el peroxinitrito oxida y desestabiliza la eNOS para producir superóxido adicional (Laursen *et al.*, 2001). BH<sub>4</sub> es muy sensible a la oxidación y en caso de oxidarse causaría la producción excesiva de ERO. Por otro lado, la xantina oxidasa también se considera una fuente importante de ERO en el endotelio vascular ya que cataliza los últimos dos pasos del metabolismo de las purinas y la reducción del oxígeno a superóxido (Lassègue & Clempus, 2003). En ratas, el incremento en los niveles de ERO y de xantina oxidasa se asocian con incremento en el tono arteriolar (Fairheller *et al.*, 2009) que puede ocasionar daños a los órganos de pacientes con hipertensión (Baradaran *et al.*, 2014). En general, existen diversas fuentes de producción de ERO. Sin embargo, las más importantes en hipertensión son la NADPH oxidasa, la eNOS, la mitocondria, la xantina oxidasa, la citocromo P450 epoxigenasa, las ciclooxigenasas 1 y 2, y los metales de transición como el hierro (Hool & Corry, 2007; Jégou *et al.*, 2006; Kimura *et al.*, 2005).

### **2.1.6 Tratamiento de la Hipertensión**

Con el diagnóstico de hipertensión con valores de presión arterial sistólica  $\geq 140$  mm Hg y presión arterial diastólica  $\geq 90$  mm Hg se ha estimado que aproximadamente 1.4 billones de adultos padecen hipertensión a nivel mundial, pero menos del 14 % tiene tratamiento; y en países de ingresos medianos y bajos la cifra se reduce a menos del 8 % (Al-Makki *et al.*, 2022). Las últimas guías sobre el tratamiento de la hipertensión no recomiendan en primera instancia la terapia farmacológica, sino que se enfatiza específicamente en las modificaciones en el estilo de vida y en el hecho de que solo aquellos con riesgo de accidente cardiovascular global  $\geq 10$  % deben ser

tratados farmacológicamente y modificar su estilo de vida. El manejo no farmacológico que se recomienda para reducir los niveles de presión arterial incluye la pérdida de peso, modificaciones dietéticas como la disminución del consumo de sodio y el aumento del consumo de potasio, aumento de la actividad física, y la reducción del consumo de alcohol (Valenzuela *et al.*, 2021; Verma *et al.*, 2020). Por otro lado, el tratamiento farmacológico de la hipertensión incluye el uso de fármacos inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA), bloqueadores de los canales de calcio, bloqueadores de los receptores de angiotensina, y algunos diuréticos, según la OMS (Al-Makki *et al.*, 2022).

Existe evidencia de que el tratamiento antihipertensivo reduce tanto la morbilidad cardiovascular como los eventos fatales relacionados con la presión arterial elevada. Asimismo, existe suficiente evidencia de que los beneficios de los tratamientos antihipertensivos se deben al efecto de reducción en la presión sanguínea y sus mecanismos varían según el tipo de fármaco empleado. Las pautas ESH/ESC de 2013, que reiteran las indicaciones mencionadas en párrafos anteriores, confirman que cinco clases de fármacos (inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, bloqueadores de los canales de calcio, bloqueadores de los receptores de angiotensina, los beta-antagonistas y los diuréticos) utilizados como monoterapia o en combinación son aceptables para iniciar el tratamiento antihipertensivo (Cuspidi *et al.*, 2018).

2.1.6.1 Fármacos inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina. Los inhibidores de la ECA son los fármacos más utilizados a nivel mundial con cientos de miles de pacientes expuestos a esta clase de fármacos cada año (Na Takuathung *et al.*, 2022). La angiotensina II causa vasoconstricción directa de las arteriolas y venulas postcapilares, inhibe la recaptación de la norepinefrina, estimula la liberación de catecolaminas de la medula adrenal, reduce la excreción de sodio y agua por medio de la orina, estimula la síntesis y liberación de aldosterona, y estimula la hipertrofia de las células del músculo vascular liso y los miocitos cardiacos. El mecanismo exacto de los inhibidores de la ECA no se conoce del todo. Estos fármacos logran interferir en el sistema renina-angiotensina-aldosterona, pero su efecto no está relacionado directamente con los niveles de renina en sangre (Herman *et al.*, 2023).

Como su nombre lo indica, los IECA bloquean a la enzima convertidora de angiotensina, la cual

convierte a la angiotensina I en angiotensina II. La disminución en la producción de angiotensina II mejora la natriuresis, disminuye la presión sanguínea y previene la remodelación de los miocitos del músculo liso y cardíaco. Además, existe la hipótesis de que los inhibidores de la ECA interfieren con la degradación de la bradicinina, un péptido que provoca la vasodilatación (Herman *et al.*, 2023). Asimismo, la enzima convertidora de angiotensina regula el equilibrio entre las propiedades vasodilatadoras y natriuréticas de la bradicina y las propiedades vasoconstrictoras y de retención de sodio de la angiotensina II. Los inhibidores de la ECA alteran este equilibrio al disminuir la formación de angiotensina II y la degradación de la bradicina. Los inhibidores de la ECA también alteran la formación y degradación de varias otras sustancias vasoactivas, como la sustancia P, pero la contribución de estos compuestos a los efectos terapéuticos o adversos de los inhibidores de la ECA es incierta (Herman *et al.*, 2023).

Desde que el captopril, el primer inhibidor de la ECA, comenzó a comercializarse en 1981, esta clase de fármacos ha sido extensamente utilizada para tratar una variedad de enfermedades cardiovasculares (Messerli *et al.*, 2018). Los fármacos inhibidores de la ECA incluyen al benazepril, (lotensina), captopril (capoten), enalapril, enalaprilat (vasotec, oral e inyectable), fosinopril (monopril), lisinopril (zestril y prinivil), moexipril (univasc), perindopril (aceon), quinapril (accupril), ramipril (altace), y trandolapril (mavik) (FDA, 2015). Sin embargo, estos fármacos pueden causar efectos secundarios que resultan en la suspensión del tratamiento (Alderman, 1996; Elliott, 1996; Qiao *et al.*, 2019). De acuerdo con un metaanálisis reciente, el tratamiento con inhibidores de la ECA incrementa el riesgo de tos seca, hipotensión, mareos e hipercalcemia en 2.66, 1.98, 1.46 y 1.24 veces, respectivamente (Takuathung *et al.*, 2022). Dichos tratamientos también pueden llegar a ocasionar efectos secundarios mayores como angioedema en cara, lengua, labios y mucosas orales, ya que la inhibición de la ECA ocasiona la acumulación de bradicinina, la cual es un péptido con efectos vasodilatadores que aumenta la permeabilidad vascular (Jayasinghe *et al.*, 2022).

## 2.2 Nutracéuticos

En la última década, la industria alimentaria se ha centrado en la identificación y caracterización

de moléculas bioactivas contenidas en alimentos o en matrices naturales, las cuales pueden utilizarse para tratar enfermedades además de aportar nutrientes a la dieta. Este proceso cobra relevancia bajo la premisa de que los compuestos naturales desencadenarán menos efectos secundarios en comparación con las terapias farmacológicas. La expectativa es que las personas adopten como estilo de vida el consumo de alimentos funcionales para prevenir el desarrollo de algunas enfermedades, coadyuvar en el tratamiento de estas, o simplemente mejorar su salud. Con base en estas consideraciones, los últimos diez años vieron la expansión y comercialización rápida de una nueva clase de productos, los cuales se basan en una mezcla enriquecida o concentrada de compuestos bioactivos de origen natural. Dichos productos, llamados “nutracéuticos”, se encuentran en la brecha entre la nutrición y la terapia farmacológica y poseen una o varias propiedades saludables comprobadas experimentalmente (Carrizzo *et al.*, 2020).

El término “nutracéuticos” fue presentado por Stephen DeFelice, fundador y presidente de la Fundación para la Innovación en Medicina (Foundation for Innovation in Medicine) en 1989. Un nutracéutico es definido como “un alimento o parte de un alimento que provee beneficios médicos o para la salud, incluyendo la prevención o el tratamiento de la enfermedad” (DeFelice, 1995). Particularmente, los medicamentos elaborados a partir de ingredientes naturales se engloban en el término “nutracéuticos” (Sosnowska *et al.*, 2017). Los polifenoles, carotenoides, ácidos grasos poliinsaturados, y péptidos naturales son parte de los compuestos nutracéuticos (Carrizzo *et al.*, 2020). Estos productos pueden ser utilizados como agentes preventivos o como adyuvantes de la terapia tradicional. Aunque la definición de nutracéuticos se superpone en parte a la de alimentos funcionales y los dos términos a menudo se consideran sinónimos, los nutracéuticos son caracterizados por venderse de forma dosificada y en presentaciones como tabletas, cápsulas y polvos (Granato *et al.*, 2020; Roberfroid, 2000). Lo anterior los diferencia de los suplementos dietarios, cuyo objetivo de uso es integrar a la dieta micro y macronutrientes como aminoácidos, minerales y vitaminas (Carrizzo *et al.*, 2020).

Los nutracéuticos pueden ser agregados a diferentes alimentos y bebidas (alimentos fortificados) o tomados en preparaciones líquidas, tabletas, etc. (Rivellese *et al.*, 2019). Debido a la fuerte correlación entre las dietas basadas en plantas y menor incidencia de ECV (Visioli *et al.*, 2005), se han dirigido esfuerzos para mejorar nuestro entendimiento sobre las actividades biológicas de los

fitoquímicos, principalmente de los compuestos fenólicos, los cuales están dotados de propiedades biológicas importantes demostradas *in vitro* e *in vivo* (Zhang *et al.*, 2022). Notablemente, la industria nutracéutica ha orientado dicho conocimiento a la elaboración de productos para el tratamiento y prevención de enfermedades cardiovasculares, siendo común encontrarlos en el mercado como productos antioxidantes (Tome-Carneiro & Visioli, 2016).

### 2.3 Compuestos Fenólicos

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios de las plantas, los cuales se producen a partir del ácido shikímico y de las pentosas fosfato por medio de rutas como la del ácido shikímico y la del acetato-malonato (Randhir *et al.*, 2004; Martín-Gordo, 2018). Estos compuestos contienen anillos de benceno con uno o más sustituyentes hidroxilo, yendo desde moléculas fenólicas simples hasta compuestos altamente polimerizados (Velderrain-Rodríguez *et al.*, 2014). Los compuestos fenólicos están relacionados con los mecanismos de defensa de las plantas y participan en distintos procesos como la incorporación de sustancias para acelerar la polinización, promover la coloración para evitar a los herbívoros, y realizar funciones antibacteriales y antifúngicas (Acamovic & Brooker, 2005; Alasalvar *et al.*, 2001; Edreva *et al.*, 2007; Lin *et al.*, 2016).

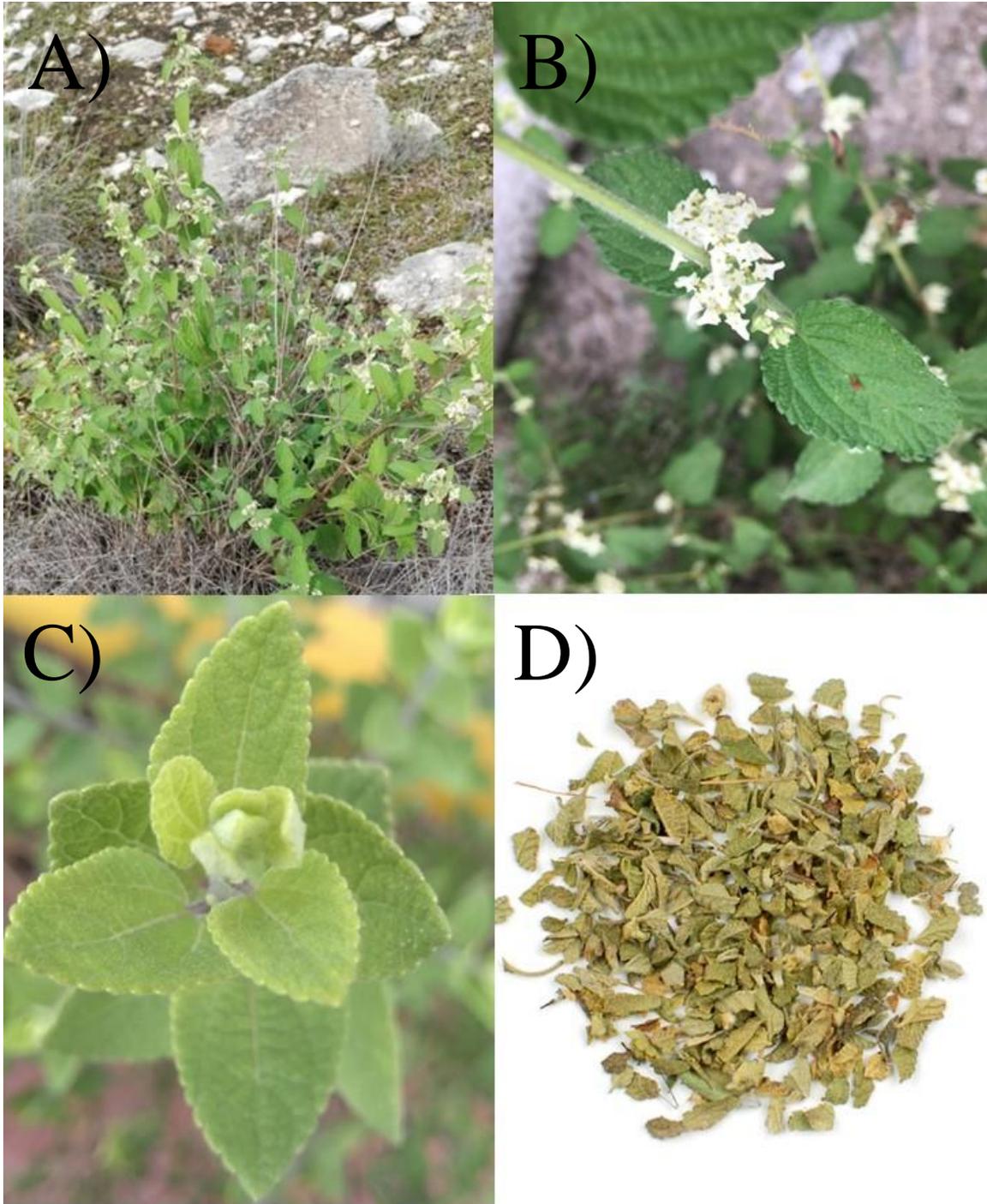
La reducción del riesgo cardiovascular y desordenes metabólicos se ha asociado con las dietas saludables, en parte por su contenido de fitoquímicos bioactivos con propiedades antioxidantes y antiinflamatorias (Del Rio *et al.*, 2010). Los polifenoles dietarios han sido objeto de intensa investigación científica debido a su presencia en una amplia cantidad de alimentos consumidos usualmente, así como a su asociación con resultados positivos en el marco de la salud humana (Godos *et al.*, 2019; Grosso *et al.*, 2017). En cuanto a la hipertensión, se ha informado que clases específicas de compuestos fenólicos o sus metabolitos pueden mejorar la disfunción endotelial a través de su actividad antioxidante. Incluso, actuando directamente sobre el metabolismo del óxido nítrico, o reduciendo la vasoconstricción al actuar sobre los receptores de la enzima convertidora de angiotensina y la angiotensina II (Clark *et al.*, 2015; Hügel *et al.*, 2016).

## 2.4 Orégano

El orégano es una planta herbácea, perenne y aromática cultivada en varias regiones del mundo. El valor comercial del orégano se debe a sus características como especia, condimento y propiedades medicinales (Figura 2). Su aceite es de gran importancia industrial y farmacéutica. En la industria se utiliza como fragancia para jabones, cosméticos, saborizantes, entre otros (García-Pérez, 2012). Además, el orégano posee propiedades antibacteriales, antifúngicas, antiparasitarias, antimicrobianas, y antioxidantes (Rivero-Cruz *et al.*, 2011). Taxonómicamente, el orégano tiene cuatro familias: *Asteraceae*, *Fabaceae*, *Verbenaceae* y *Lamiaceae*, siendo estas dos últimas las más conocidas (García-Pérez, 2012). El nombre “orégano” comprende a más de dos decenas de especies de plantas, con flores y hojas que presentan un olor característico a “especioso”, siendo las hojas secas del *Origanum vulgare* y *Lippia graveolens*, nativas de Europa y México, respectivamente (Cuadro 3), de uso culinario común (Arcila-Lozano *et al.*, 2004).

### 2.4.1 Distribución e Importancia Económica

La producción global de orégano se estima en 15 000 toneladas aproximadamente, siendo México el segundo principal productor. A pesar del lugar que ocupa nuestro país como productor de orégano, la capacidad para industrializarlo y generar productos de alto valor nutricional por su composición fitoquímica y propiedades nutraceuticas es limitada (García-Pérez *et al.*, 2012). México, cuenta con alrededor de 40 especies conocidas de orégano, siendo algunas de ellas endémicas, las cuales se distribuyen en varios estados de la república mexicana (Figura 3). La producción anual en nuestro país es de 3 000 toneladas aproximadamente, de las cuales 2000 son exportadas a Estados Unidos de América. Otra parte del orégano mexicano se exporta al Reino Unido, Alemania, Francia y Canadá (García-Pérez *et al.*, 2012).



**Figura 2.** Orégano mexicano (*Lippia graveolens*). A) Arbusto de *Lippia graveolens*, B) Tallo, flor y hoja C) Acercamiento a la hoja, D) Tejido seco.

### Cuadro 3. Taxonomía del orégano mexicano

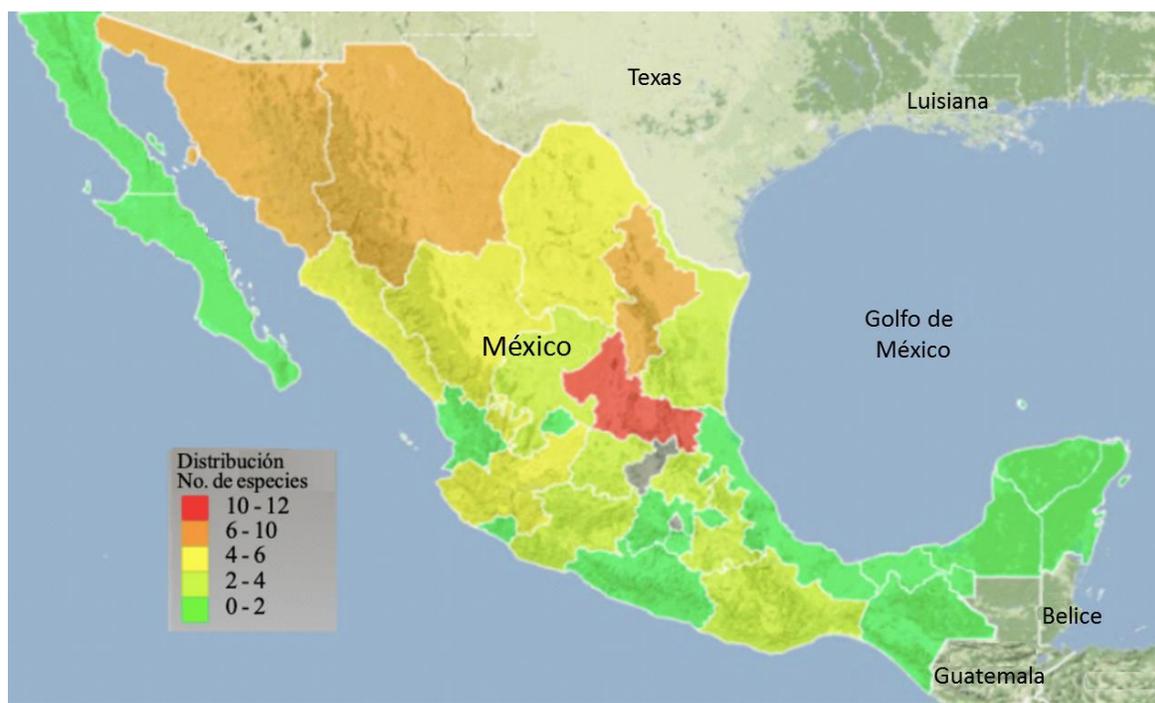
Taxonomía de <i>L. graveolens</i>	
<b>Reino</b>	<b>Plantae</b>
<b>Phylum o división</b>	Tracheophyta
<b>Clase</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Orden</b>	<i>Lamiales</i>
<b>Familia</b>	<i>Verbenaceae</i>
<b>Género</b>	<i>Lippia</i>
<b>Especie</b>	<i>Lippia graveolens</i>
<b>Nombre científico</b>	<i>Lippia graveolens</i> Kunth

#### 2.4.2 Composición Química de *L. graveolens*

Por su contenido de fitoquímicos, el orégano se ha utilizado tradicionalmente en la medicina popular para tratar asma, bronquitis, tos, diarrea, indigestión, dolor de estómago, trastornos menstruales, e infecciones generales relacionadas con la inflamación y la diabetes (Leyva-López *et al.*, 2016; Pascual *et al.*, 2001). Los fitoquímicos son una clase heterogénea de compuestos derivados del metabolismo secundario de las plantas, por lo que la mayoría de ellos no parecen participar en funciones metabólicas esenciales. Se acepta que la principal función de los fitoquímicos es servir como mecanismo de defensa contra los patógenos de las plantas, los herbívoros, la luz ultravioleta, y el estrés oxidativo (Lattanzio *et al.*, 2012; Vermerris & Nicholson, 2006). El contenido de estos compuestos en las plantas depende de factores como el cultivar, la ubicación geográfica, el clima, la luz del día, la temperatura, las condiciones del suelo, el estrés hídrico, y el tiempo de cosecha, por mencionar algunos (Gutiérrez-Grijalva *et al.*, 2017).

Los fitoquímicos más importantes en el orégano se agrupan en dos categorías según sus propiedades hidrofílicas o lipofílicas. (compuestos fenólicos y aceites esenciales (Gutiérrez-Grijalva *et al.*, 2017). Generalmente, se estudian los aceites esenciales del orégano, aunque solo representan uno de los grupos de los fitoquímicos que se encuentran en este (Gutiérrez-Grijalva *et al.*, 2017; Leyva-López *et al.*, 2017). Así, se tiende a dejar de lado el estudio de los compuestos hidrofílicos del orégano. Los flavonoides y los ácidos fenólicos son los principales fitoquímicos presentes en el orégano (Lin *et al.*, 2007). Estos compuestos se caracterizan por tener al menos un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilo y han sido estudiados por su potencial terapéutico,

el cual ha sido parcialmente atribuido a sus propiedades antioxidantes (Gonçalves *et al.*, 2017; Leyva-López *et al.*, 2017). Con base en su estructura química, los compuestos fenólicos se pueden clasificar en flavonoides (flavonoles, flavonas, flavan-3-oles, antocianidinas, flavanonas, isoflavonas y otros) y no flavonoides (ácidos fenólicos, ácidos hidroxicinámicos, ácidos hidroxibenzóicos, estilbenos, entre otros, que se encuentran generalmente de forma conjugada con azúcares y ácidos orgánicos) (Cartea *et al.*, 2010; Haminiuk *et al.*, 2012; Khoddami *et al.*, 2013).



**Figura 3.** Mapa de distribución de especies de orégano en México. Tomado de García-Pérez *et al.* (2012)

Con la evidencia creciente de la actividad biológica de los flavonoides y de los ácidos fenólicos del orégano, la identificación de estos compuestos ha cobrado relevancia (Gutiérrez-Grijalva *et al.*, 2017). Las flavonas son uno de los subgrupos más abundantes de flavonoides, seguido de los flavonoles (Figura 4), flavanonas y los flavonoles. Entre los ácidos fenólicos más abundantes en el orégano se encuentran los derivados de los ácidos hidroxicinámicos e hidroxibenzóicos, entre otros fenólicos (Lin *et al.*, 2007). En cuanto a los flavonoides, los principales en orégano son la apigenina, luteolina, quercetina, escutelareína y sus derivados, y el principal ácido fenólico, el ácido rosmarínico (Leyva-López *et al.*, 2016; Lin *et al.*, 2007).

2.4.2.1 Flavonoides. Entre los compuestos fenólicos más estudiados encontramos a los flavonoides, los cuales representan a la clase más heterogénea en términos de estructura química y bioactividad (Del Rio *et al.*, 2013). Esta clase de compuestos fenólicos se caracteriza por tener una estructura que consta de 3 anillos C6-C3-C6 sustituidos con una gran variedad en el número de grupos hidroxilo. La biodisponibilidad, el metabolismo y la actividad biológica de los flavonoides depende de su configuración, número total de grupos hidroxilo, sustituciones o conjugación de sus grupos funcionales, y su grado de polimerización (Del Rio *et al.*, 2013; Kumar & Pandey, 2013). La clase de los flavonoides se compone de distintas subclases. Entre dichas subclases encontramos las antocianinas, isoflavonas, flavonas, flavonoles, flavanonas, flavan-3-oles y las proantocianidinas oligoméricas relacionadas. Cada una de estas subclases se encuentra en patrones de diferentes alimentos, principalmente en frutas y algunos vegetales, pero también en té y algunas bebidas alcohólicas, que han mostrado ser benéficas para la salud humana (Ullah *et al.*, 2020).

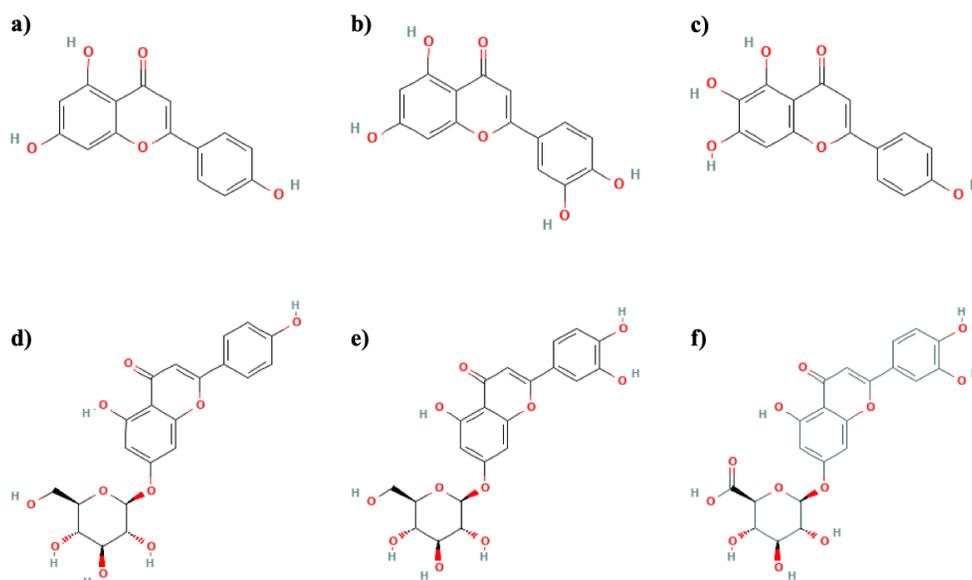
Por su actividad antioxidante, los flavonoides ofrecen propiedades benéficas para la salud, específicamente para el sistema cardiovascular (Mena *et al.*, 2014). Sin embargo, los flavonoides también actúan de forma específica como moléculas de señalización interactuando con receptores celulares o proteínas que están vinculadas en respuestas fisiológicas o en la regulación de la expresión génica (Mena *et al.*, 2014). En cuanto a sus potenciales efectos sobre la función endotelial y la regulación de los procesos vasodilatadores asociados con el flujo sanguíneo, los flavonoides pueden actuar como inhibidores de la NADPH oxidasa endotelial, la cual se ha relacionado con la regulación de los niveles de NO en el endotelio vascular a través de la inhibición de la producción de superóxido (Guerrero *et al.*, 2012; Sánchez-Recillas *et al.*, 2019).

### **2.4.3 Actividad Biológica y Nutracéutica del Orégano**

Además de su uso como condimento, el orégano también ha sido utilizado en la medicina tradicional para una gran variedad de enfermedades como infecciones bacterianas, desórdenes digestivos y enfermedades inflamatorias, entre otras. (Bautista-Hernández *et al.*, 2021). Adicionalmente, el orégano se considera una fuente valiosa de compuestos fenólicos, los cuales

están vinculados con capacidad biológica y promotora de la salud (Bautista-Hernández *et al.*, 2021). Debido a las propiedades bioactivas de los extractos de plantas, la planta de *L. graveolens* ha sido comúnmente utilizada en la medicina tradicional como un potente auxiliar para tratar infecciones por microorganismos o procesos inflamatorios (Bautista-Hernández *et al.*, 2021; Gutiérrez-Grijalva *et al.*, 2017).

Los principales componentes de los extractos de orégano se han asociado con la capacidad de control bacteriano, incluso contra cepas resistentes a los antibióticos (Bautista-Hernández *et al.*, 2021). En este contexto, la actividad antibacteriana de los aceites esenciales de orégano contra *Staphylococcus aureus* es a través de mecanismos que involucran la disrupción de la membrana, interacciones negativas en enzimas importantes de la cadena respiratoria, e interacciones del carvacrol con el ADN y la inhibición del factor de virulencia de la leucocidina de Panton-Valentine (Cui *et al.*, 2019).



**Figura 4.** Estructura química de las flavonas comúnmente identificadas en el orégano. (a) apigenina, (b) luteolina, (c) escutelareína, (d) apigenina-7-O-glucósido, (e) luteolina-7-O-glucósido, (f) luteolina-7-O-glucurónido. (PubChem, 2023)

Similarmente, los extractos etanólicos de *O. vulgare* tienen un alto contenido de compuestos bioactivos como ácido rosmarínico, la quercetina, la apigenina y el carvacrol (Bautista-Hernández

*et al.*, 2021), que también se encuentran en plantas de *L. graveolens*. Estas plantas han sido analizadas en términos de respuesta inflamatoria por *Propionibacterium acnés*, demostrando una inhibición de 32 a 37 % de la inflamación. Lo anterior se atribuyó al potencial antimicrobiano y una disminución en el ARNm de interleucinas involucradas en procesos inflamatorios, como la IL-8 e IL-1 $\beta$  (Dávila-Rodríguez *et al.*, 2020).

Adicionalmente, Criollo-Mendoza *et al.* (2022) evaluaron los efectos citotóxicos de extractos de *L. graveolens* en una línea no cancerosa de fibroblastos NIH3T3, así como su potencial antiproliferativo en células de cáncer de mama (MDA-MB-231 y MCF-7). Se observó que los extractos poseen una importante capacidad antioxidante y lograron inhibir significativamente la proliferación de las células en concentraciones no citotóxicas para células normales con un efecto similar al del cisplatino, un fármaco utilizado para el tratamiento del cáncer.

2.4.3.1 Actividad antioxidante. Tanto la fracción hidrofílica como lipofílica del orégano han sido ampliamente estudiadas debido a sus potentes capacidades antioxidantes demostradas en estudios *in vitro* (Gutiérrez-Grijalva *et al.*, 2019; Leyva-López *et al.*, 2017; Spiridon *et al.*, 2011). Se ha observado que los extractos de orégano mexicano tienen la capacidad de regular los desórdenes ocasionados por la acumulación de ERO en el organismo; un efecto atribuido a su contenido de metabolitos secundarios con capacidad antioxidante. Leyva-López *et al.* (2016) observaron que *L. graveolens*, *L. palmeri* y *H. patens* lograron reducir en un 59-87 % los niveles de ERO involucrados en actividades inflamatorias, logrando un efecto inhibitorio del 78.2 % y 81.7 % de las ciclooxigenasas 1 y 2, respectivamente. Asimismo, Spiridon *et al.* (2011) reportaron que los extractos de *O. vulgare* ejercían uno de los efectos antioxidantes más potentes contra el radical DPPH específicamente y asociaron este efecto a la presencia de compuestos fenólicos. Similarmente, Gutiérrez-Grijalva *et al.* (2019) también reportaron el efecto antioxidante potente de los polifenoles de *L. graveolens* y *L. palmeri* en células Caco-2.

2.4.3.2 Inhibición enzimática. Además de sus potentes efectos antioxidantes, los compuestos presentes en el orégano han mostrado capacidad para inhibir enzimas digestivas. Gamboa-Gómez

et al. (2022) reportaron que extractos etanólicos de *L. graveolens* pueden inhibir la actividad de lipasas y  $\alpha$ -amilasas teniendo potenciales efectos benéficos a la salud como moduladores de los triglicéridos séricos. Similarmente, Gutiérrez-Grijalva et al. (2019) evaluaron las propiedades hipoglicémicas e hipolipidémicas de *H. patens*, *L. graveolens* y *L. palmeri* mediante la inhibición de enzimas digestivas. Los hallazgos muestran que los extractos polifenólicos de estos tipos de orégano exhiben propiedades antioxidantes, hipoglucémicas e hipolipidémicas aún después de someterse a una digestión *in vitro*.

En cuanto a enzimas relacionadas con la hipertensión, Kwon et al. (2006) evaluaron el efecto de hierbas clonales de la familia *Lamiaceae* para el manejo de la hipertensión y diabetes utilizando ensayos de inhibición enzimática. Sus resultados muestran que los extractos acuosos de *O. vulgare* pueden inhibir a la  $\alpha$ -glucosidasa en un 93.7 % y a la enzima convertidora de angiotensina en un 37.4 %. Los extractos obtenidos con etanol inhibieron a la enzima convertidora de angiotensina en un 18.5 %. Los efectos inhibidores fueron atribuidos al contenido de fitoquímicos presentes en los extractos de orégano (Gutiérrez-Grijalva et al., 2019; Kwon et al., 2006).

2.4.3.3 Actividad biológica *in vivo*. Los efectos benéficos de los extractos de orégano y sus fracciones hidrofílicas y lipofílicas también han sido evaluados en estudios con animales de experimentación. Un ejemplo de esto es que los extractos de *L. graveolens* han sido evaluados como posibles agentes protectores contra radiación UV. Estos extractos lograron disminuir las lesiones por radiación UV en ratas de laboratorio comparado con el grupo control (García-Bores et al., 2016). Asimismo, Wei et al. (2015) observaron que el tratamiento oral con aceites esenciales de orégano redujo el estrés oxidativo inducido con diquat en el yeyuno de ratas, ejerciendo potentes efectos antiinflamatorios y antioxidantes. Por otro lado, el tallo de *L. graveolens* ha sido reportado con importantes efectos protectores contra el síndrome metabólico, logrando reducir los biomarcadores relacionados con este padecimiento en un modelo murino (Frías-Zepeda et al., 2022). Coelho et al. (2015) estandarizaron la extracción etanólica de compuestos como narigenina de *L. origanoides* y evaluaron los efectos antihipertensivos del extracto tras su administración oral e intravenosa en ratas hembra Wistar. Se reportó una disminución de la presión arterial en los animales de experimentación mediante ambas rutas de administración, sin observar efectos

adversos o tóxicos. Por lo cual, los autores proponen que los extractos etanólicos de *L. organoides* pueden ejercer efectos farmacológicos importantes, lo que los hace aptos para el desarrollo de medicinas herbolarias con potencial para utilizarse como adyuvantes en el tratamiento de la hipertensión.

### **3. HIPÓTESIS**

La administración oral de extractos hidrofílicos de orégano mexicano (*L. graveolens*) disminuyen la presión sanguínea de ratas espontáneamente hipertensas.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo General

Evaluar la actividad antihipertensiva de extractos de orégano (*L. graveolens*) en ratas espontáneamente hipertensas.

### 4.2 Objetivos Específicos

1. Identificar y cuantificar los flavonoides presentes en los extractos hidrofílicos de orégano mexicano
2. Determinar la capacidad inhibitoria de la enzima convertidora de angiotensina de los extractos hidrofílicos de orégano mexicano
3. Evaluar el efecto antihipertensivo de los extractos hidrofílicos de orégano mexicano en ratas espontáneamente hipertensas.

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1 Material Vegetal

Se utilizaron plantas silvestres de *Lippia graveolens* de Santa Gertrudis, Durango, México (coordenadas: N 23 ° 32' 43.8'' W 104 ° 22' 20.8''). Las partes aéreas del orégano (hojas, flores y tallos pequeños) se secaron en un deshidratador de alimentos Excalibur Parallax Hyperware (Sacramento, CA) a 40 °C durante 24 horas. Se trituraron todas las partes aéreas de la planta (hojas, flores y tallos) y se molieron en un molinillo Ika Werke M20 (Ika, Alemania) hasta obtener un polvo fino. Posteriormente las muestras se almacenaron a temperatura ambiente hasta su uso.

### 5.2 Elaboración de los Extractos

Los extractos acuosos e hidroetanólico se obtuvieron de manera convencional según lo reportado por Gutierrez-Grijalva et al. (2017), con algunas modificaciones. Dos muestras de polvo de orégano (2 g para el extracto acuoso y 4 g para el extracto hidroetanólico) se mezclaron con 20 mL de agua (extracto acuoso) y 20 mL de etanol:agua 80:20 v/v (extracto hidroetanólico). Las muestras se agitaron constantemente en una placa de agitación ELMI DOS-10L (ELMI, EE.UU.) a 250 rpm durante 2 horas. Posteriormente, las mezclas se centrifugaron a 10,000 rpm (9,390 g) durante 20 minutos utilizando una centrífuga Sorvall Legend XTR (Thermo Scientific, EE. UU). Los sobrenadantes se recolectaron y se filtraron utilizando papel Whatman No. 2 y se almacenaron a -20 °C hasta su uso. Todas las extracciones se realizaron en triplicado.

## 5.3 Capacidad Antioxidante

### 5.3.1 Método ORAC

La capacidad absorción de radicales de oxígeno (ORAC) se determinó de acuerdo con lo reportado por Huang et al. (2002). En los pocillos de la periferia (40) de una microplaca de 96 pozos se depositaron 225  $\mu\text{L}$  de agua destilada 37  $^{\circ}\text{C}$ , los cuales fueron utilizados exclusivamente para mantener la temperatura en los pocillos del interior. Posteriormente, en los pocillos donde se realizó el ensayo, se agregaron 25  $\mu\text{L}$  de los extractos diluidos 1:1500 en buffer de fosfato 75 mM, 25  $\mu\text{L}$  de buffer de fosfatos 75 mM (blanco), y 25  $\mu\text{L}$  de una curva estándar de Trolox. Una vez llena la placa, se colocó en un lector de microplacas modelo Synergy HT (BioTek, Inc, EE. UU.) atemperado a 37  $^{\circ}\text{C}$ . De forma automatizada, el equipo dispensó en cada pozo 200  $\mu\text{L}$  de Fluoresceína 0.96  $\mu\text{M}$  y 75  $\mu\text{L}$  de 2,2'-azobis,2-amidino-propano dihidrocloro (AAPH) 95.8  $\mu\text{M}$ , iniciando la reacción una vez adicionando este último reactivo. La fluoresceína se midió por 70 min con intervalos de 70 segundos a una excitación de 485 nm y emisión de 580 nm. Los cálculos se realizaron usando una ecuación de regresión lineal de una curva estándar de Trolox (6.25, 12.5, 25, 50, 75 y 100  $\mu\text{M}$ ) y el área bajo la curva de la pérdida de fluoresceína. Las determinaciones se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron en  $\mu\text{mol}$  equivalentes de Trolox por gramo de muestra seca.

### 5.3.2 Método FRAP

La cuantificación del poder antioxidante expresado como reducción férrica se realizó según lo descrito por Ghasemzadeh et al. (2012), con algunas modificaciones. En una microplaca de 96 pozos se colocaron 30  $\mu\text{L}$  de los extractos y de los estándares utilizados. Posteriormente, se adicionaron 110  $\mu\text{L}$  del reactivo FRAP (1 mL de TPTZ 30 mM y 1 mL de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  60 Mm en 10 mL de buffer de acetato) y se homogenizó con una micropipeta multicanal. La microplaca se incubó por 4 minutos a temperatura ambiente en ausencia de luz y se agitó a velocidad media por

1 minuto en el lector de microplacas. Las absorbancias se leyeron a 630 nm en un lector de microplacas modelo Synergy HT (BioTek, Inc, EE. UU.). La capacidad antioxidante basada en la reducción de iones férricos se calculó a partir de una curva de calibración de Trolox de 0 a 0.9 mmol/mL. Las determinaciones se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron como mmoles equivalentes de Trolox por g de muestra seca.

### **5.3.3 Método ABTS**

El ensayo de capacidad antioxidante con el método ABTS se realizó de acuerdo con lo propuesto por Thaipong et al. (2006). Se preparó una solución stock de ABTS 7.4 mM pesando 0.0046 g de ABTS y se aforó a 1 mL con agua destilada. Se preparó una solución stock de persulfato de potasio 2.6 mM pesando 0.0007 g de persulfato de potasio y se aforó a 1 mL con agua destilada. Para la preparación del radical ABTS, cantidades iguales de ambas soluciones stock se homogenizaron y la mezcla resultante se dejó en reposo durante 12 h a temperatura ambiente. Para formar la solución de reacción, 100  $\mu$ L de la mezcla anterior se diluyeron en 2900  $\mu$ L de etanol al 80 %. En una microplaca de 96 pozos se colocaron alícuotas de 10  $\mu$ L de los extractos y se le adicionaron 190  $\mu$ L de la solución de reacción (radical ABTS<sup>\*+</sup>). Posteriormente, se incubó en la oscuridad por 2 horas para después leer la absorbancia a 734 nm (Synergy HT, BioTek, Inc, EE. UU.). Para el cálculo de los resultados se utilizó una curva estándar de Trolox de 0 a 0.9 mmol/mL y los resultados fueron expresados como mmol equivalentes de Trolox por g de muestra seca.

## **5.4 Contenido de Compuestos**

### **5.4.1 Compuestos Fenólicos Totales**

El ensayo de capacidad reductora total se llevó a cabo siguiendo la metodología reportada por Swain y Hillis (1959). Diez  $\mu$ L de los extractos, 10  $\mu$ L de etanol 80 % (blanco) y 10  $\mu$ L de una

curva estándar de ácido gálico se colocaron en una microplaca de 96 pozos. Posteriormente, se agregaron 230  $\mu\text{L}$  de agua destilada y 10  $\mu\text{L}$  del reactivo de Folin-Ciocalteu 2N. Se incubó por 3 minutos a temperatura ambiente ( $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) para después agregar 25  $\mu\text{L}$  de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  4N. Se dejó incubar por 2 horas a temperatura ambiente y después de este tiempo se midió la absorbancia a 725 nm (Synergy HT, BioTek, Inc, EE. UU.). La capacidad reductora total se determinó a partir de una curva estándar de ácido gálico a concentraciones de 0 a 0.4 mg/mL. Las determinaciones se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido gálico por g de muestra seca.

### **5.4.2 Flavonoides Totales**

El análisis del contenido de flavonoides totales se realizó de acuerdo con la metodología descrita por Chang et al. (2002), con ligeras modificaciones. Se agregaron en placa de 96 pozos 30  $\mu\text{L}$  de extracto, 10  $\mu\text{L}$  de etanol 80% (blanco) y 10  $\mu\text{L}$  de una curva estándar de quercetina. Posteriormente, se agregaron 250  $\mu\text{L}$  de agua destilada, 10  $\mu\text{L}$  de cloruro de aluminio al 10 %, y 10  $\mu\text{L}$  de acetato de potasio 1M. Se incubó en la oscuridad por 30 minutos y transcurrido este tiempo se leyó la absorbancia a 415 nm (Synergy HT, BioTek, Inc, EE. UU). El contenido de flavonoides totales se determinó a partir de una curva estándar de quercetina a concentraciones de 0 a 0.4 mg/mL. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de quercetina por gramo de muestra seca. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

### **5.4.3 Análisis UPLC-MS/MS**

La identificación y cuantificación de flavonoides se llevó a cabo de acuerdo con lo reportado por Bernal-Millan et al. (2022), con algunas modificaciones. Se utilizó un equipo UPLC clase H (Waters Corp., Milford, MA, USA) acoplado a un analizador de masas XEVO-TQS (triple cuadrupolo) y a una columna fenil BeH 1.7 mm x 2.1 x 100 a  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Los compuestos fueron

separados con un gradiente de elusión que consistió en lo siguiente: solución A (agua y formiato de amonio 5 mM pH 3) y solución B (acetonitrilo-0.5 % ácido fórmico), velocidad de flujo de 0.3 mL/min. La elusión del gradiente fue el siguiente: 0 min, 90 % (A); 5 min, 10% (A); 5.10 min, 90 % (A); y 8 min, 90 % (A). La fuente de ionización utilizada fue electrospray (ESI). Para el análisis de los compuestos, los parámetros utilizados fueron: 1.5 kV de voltaje capilar con cono de muestreo a 30 V, temperatura de 500 °C, y desolvatación de gas a 800 (L/h). La identificación y cuantificación de flavonoides por UPLC se realizó con base en el tiempo de retención y el área bajo la curva del máximo pico de absorción. Se utilizaron curvas multinivel de calibración utilizando estándares de apigenina, quercetina, luteolina, luteolina-7-glucósido, naringenina, fletina, floridzina, kaempferol, hesperidina, rutina, naringenina y genisteína y el contenido de flavonoides fue expresado en mg/g muestra seca.

### **5.5 Determinación del Porcentaje de Inhibición de la ECA-I y de la Concentración Inhibidora Media Máxima.**

El porcentaje de inhibición de la ECA-I fue determinado con un kit de actividad de ECA-I (Sigma-Aldrich CS0002, Saint Louis, MI, USA). El ensayo se fundamenta en la capacidad de la ECA-I para hidrolizar un sustrato fluorogénico generando así un producto fluorescente. Primeramente, el sustrato fluorogénico y la ECA-I se diluyeron en el buffer de ensayo proporcionado con el kit siguiendo las instrucciones del fabricante. Se agregaron en placa de 96 pozos 10 µL de muestra en cada uno de los pocillos. Posteriormente, se agregaron 5 µL de la ECA-I y 40 µL del buffer de ensayo en todos los pocillos. Finalmente, se agregaron 50 µL del sustrato fluorogénico para comenzar la reacción. Se consideraron como control positivo los pozos donde había ausencia de la muestra/inhibidor (ECA-I: 5 µL, buffer de ensayo: 50 µL, sustrato fluorogénico: 50 µL). La actividad de la ECA-I se midió a una excitación de 320 y emisión de 405 nm. Se calculo el área bajo la curva considerando una cinética en el tiempo de reacción donde el control positivo alcanzaba el 100% de actividad de la ECA-I. El porcentaje de inhibición de la ECA-I se determinó utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de inhibición ECA} - I = \frac{(A - B)}{(A)} \times 100$$

Donde:

A= área bajo la curva del control positivo (muestra sin presencia de un inhibidor)

B= área bajo la curva de la muestra (muestra con presencia de un inhibidor)

## 5.6 Ensayos *in vivo*

### 5.6.1 Animales y Cuestiones Éticas

Ratas macho espontáneamente hipertensas (SHR) de 8 semanas de edad y con un peso corporal de 300-350 g fueron adquiridas del Instituto de Fisiología Celular de la Universidad Nacional Autónoma de México. Las ratas fueron colocadas en jaulas de plástico con tapas de acero inoxidable y se mantuvieron a una temperatura de 22 °C con ciclos de luz-oscuridad de 12:12 h en el bioterio del Laboratorio de Investigación II Francisco Cabrera Chávez de la Facultad de Ciencias de la Nutrición y Gastronomía de la Universidad Autónoma de Sinaloa. Agua y alimento (LabDiet 5001) estuvieron disponibles ad libitum. El protocolo experimental para evaluar compuestos de origen natural con potencial antihipertensivo en animales de laboratorio fue aprobado por el comité de ética de la Facultad de Ciencias de la Nutrición y Gastronomía de la Universidad Autónoma de Sinaloa (CE-UACNYG-2015-SEP-001).

### 5.6.2 Efecto en la Presión Sanguínea

El efecto en la presión sanguínea se evaluó de acuerdo con lo reportado por Ramírez-Torres et al.

(2017). Ocho ratas macho espontáneamente hipertensas fueron evaluadas tras la administración de los tratamientos de forma intragástrica. Los tratamientos fueron como sigue: (1) Grupo DMSO 10% (control negativo), (2) Grupo extracto acuoso de orégano mexicano (100 y 200 mg/kg de peso corporal), (3) Grupo extracto hidroetanólico de orégano mexicano (100 y 200 mg/kg de peso corporal) y (4) Grupo captopril (control positivo). La presión arterial se midió al tiempo cero y cada hora por un periodo de 7 horas tras la administración de los tratamiento (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 horas). Para las mediciones de la presión arterial, se utilizó un monitor no invasivo adaptado a la cola de los animales (CODA, Kent Scientific Corp., Torrington, CT, EE. UU.).

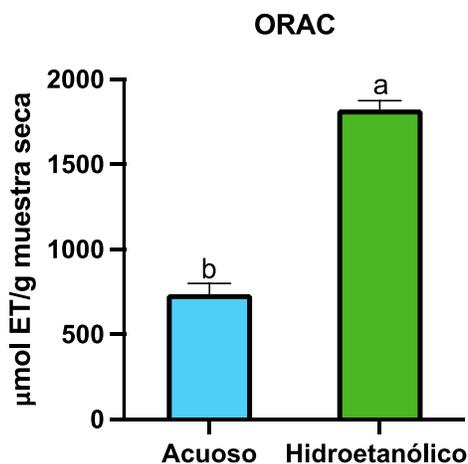
### 5.7 Análisis Estadístico

Se utilizó un diseño cruzado de medidas repetidas en el tiempo con dos factores (extracto y tiempo) para la aplicación de los tratamientos, donde la unidad experimental fue cada una de las ratas. El análisis estadístico se realizó utilizando el software GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). Se utilizó una prueba t-student para comparaciones de los resultados de capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos. Los valores de IC<sub>50</sub> se compararon mediante la prueba F de suma extra de cuadrados de líneas de regresión no lineal. Para los resultados *in vivo*, se analizó la distribución de los datos utilizando la prueba de Shapiro-Wilk. Las diferencias en la presión arterial sistólica entre tratamientos se obtuvieron mediante una prueba de Friedman con un procedimiento de incremento lineal en dos etapas de Benjamini, Krieger y Yekutieli para comparaciones múltiples. Un valor de  $p \leq 0.05$  se consideró estadísticamente significativo.

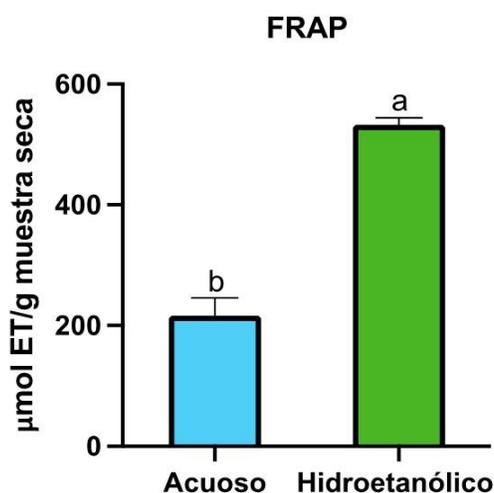
## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La evaluación de la capacidad antioxidante de los componentes alimentarios provee información relacionada al mantenimiento de la homeostasis redox, el aporte de compuestos con capacidad antioxidante, y también sobre los posibles efectos antioxidantes que estos pudieran ejercer una vez ingeridos y biodisponibles (Huang *et al.*, 2005; Serrano *et al.*, 2007). Existen diversos métodos para evaluar la actividad antioxidante de los componentes alimentarios debido a que los antioxidantes son compuestos químicos complejos con grandes diferencias entre sus estructuras y grupos funcionales, y otros factores como su polaridad, comportamiento químico, y los posibles efectos sinérgicos o antagonistas (Öztürk *et al.*, 2007). Por lo tanto, la misma muestra debe ser analizada por distintos métodos.

Las Figuras 5, 6 y 7 muestran los resultados de la capacidad antioxidante de los extractos hidrofílicos de orégano mexicano. El método de capacidad antioxidante del radical oxígeno (ORAC) consiste en la medición de la habilidad de los antioxidantes presentes en la muestra para proteger a la proteína fluoresceína de la pérdida de fluorescencia por daños oxidativos ocasionados por radicales peroxilo (ROO●) (Zulueta *et al.*, 2009). El extracto hidroetanólico mostró un 59.6 % más de capacidad antioxidante que el acuoso (1,823 µg ET/g muestra seca vs. 736 µg ET/g muestra seca). Este mismo comportamiento se observó utilizando los métodos FRAP y ABTS, los cuales miden la capacidad antioxidante basada en la transferencia de electrones, y no la capacidad donadora de protones (H<sup>+</sup>) como ORAC. Desde un punto de vista biológico, el Fe<sup>3+</sup> juega un papel importante en varios procesos de oxidación (Benzie & Strain, 1999).



**Figura 5.** Resultados de capacidad antioxidante de los extractos hidrofílicos de orégano mexicano con método ORAC. Los resultados fueron expresados como medias; las barras indican la desviación estándar. Las letras diferentes indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ).



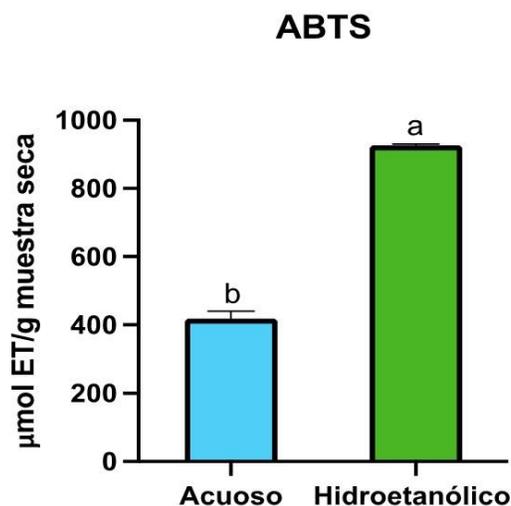
**Figura 6.** Resultados de capacidad antioxidante de los extractos hidrofílicos de orégano mexicano con método FRAP. Los resultados fueron expresados como medias; las barras indican la desviación estándar. Las letras diferentes indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ).

Entre los métodos de determinación de la capacidad antioxidante, existen métodos que miden la capacidad de reducción del ion férrico a su estado ferroso, como el método de capacidad antioxidante reductora férrica (FRAP), un método colorimétrico que utiliza la capacidad de los antioxidantes para reducir  $Fe^{3+}$  a  $Fe^{2+}$  (Benzie & Strain, 1999). De los extractos hidrofílicos evaluados, el extracto hidroetanólico mostró mayor capacidad reductora tanto por el método FRAP como por el método ORAC. El extracto hidroetanólico mostró el doble de la capacidad reductora

(59.4 %) del ion férrico con un valor de 532  $\mu\text{g ET/g}$  muestra seca en comparación con el extracto acuoso, el cual obtuvo un valor de 216  $\mu\text{g ET/g}$  muestra seca. Otros reportaron en extractos hidroetanólicos de orégano griego (*O. vulgare subsp. hirtum*) y oregano común (*O. vulgare subsp. vulgare*) valores de capacidad antioxidante (FRAP) inferiores a los informados en el presente estudio ( $381.09 \pm 2.40$  y  $397.22 \pm 2.90$ , respectivamente) (Kosakowska *et al.*, 2021). Por otro lado, el método ABTS (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-ácido sulfónico)) se basa en la capacidad de los antioxidantes presentes en la muestra para neutralizar el catión radical  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  (Zulueta *et al.*, 2009). La capacidad antioxidante de los extractos hidroetanólicos también fue mayor que la de los extractos acuosos ( $p < 0.05$ ) (926 vs. 418  $\mu\text{g ET/g}$  muestra seca, respectivamente) (Figura 7).

Este comportamiento sugiere que la polaridad de los solventes está relacionada con la capacidad antioxidante de los extractos (Kosakowska *et al.*, 2021; Zheng, 2001). Anteriormente, ha sido reportado que los extractos etanólicos de *O. vulgare* tienen mayor capacidad antioxidante que aquellos obtenidos con otros solventes (Ličina *et al.*, 2013). Sin embargo, existen algunas inconsistencias con estos resultados, ya que otros autores han reportado que la mayor capacidad antioxidante la presentan los extractos acuosos (Kaurinovic *et al.*, 2011; Martins *et al.*, 2014).

Los resultados de actividad antioxidante de *L. graveolens* obtenidos en el presente estudio fueron mayores que los reportados por Gutiérrez-Grijalva *et al.* (2017), (1,823 Vs. 812  $\mu\text{g ET/g}$  muestra seca y 926 Vs. 350  $\mu\text{g ET/g}$  muestra seca; métodos ORAC y ABTS, respectivamente), pero menores que los reportados por Criollo-Mendoza *et al.* (2022) (1,823 Vs. 3,870  $\mu\text{g ET/g}$  muestra seca; método ORAC).



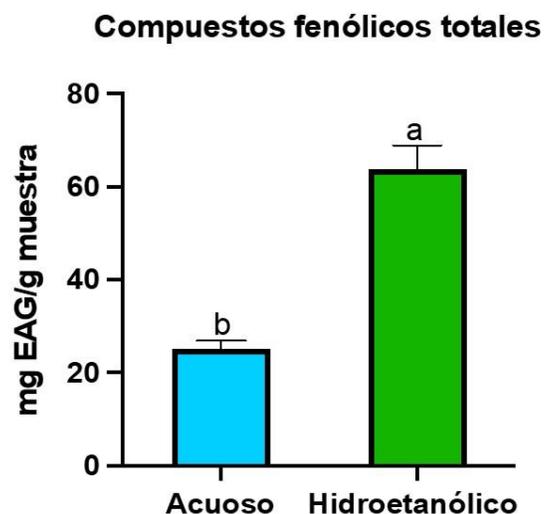
**Figura 7.** Resultados de capacidad antioxidante de los extractos hidrofílicos de orégano mexicano con método ABTS. Los resultados fueron expresados como medias; las barras indican la desviación estándar. Las letras diferentes indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ).

La capacidad antioxidante de los extractos se relaciona con el contenido de compuestos fenólicos (Lebedev *et al.*, 2022; Paixão *et al.*, 2007) ya que estos son buenos donadores de electrones por la presencia de grupos hidroxilo (OH) en su estructura. Particularmente, los compuestos fenólicos exhiben propiedades neutralizadoras de los radicales libres como el radical oxígeno, descomposición de peróxidos, e inactivación de los metales (Babbar *et al.*, 2015; Bendary *et al.*, 2013; Côté *et al.*, 2010). Adicionalmente, otros mecanismos como la estimulación de las enzimas antioxidantes presentes dentro de las células podrían contribuir a la capacidad antioxidante de los fenólicos.

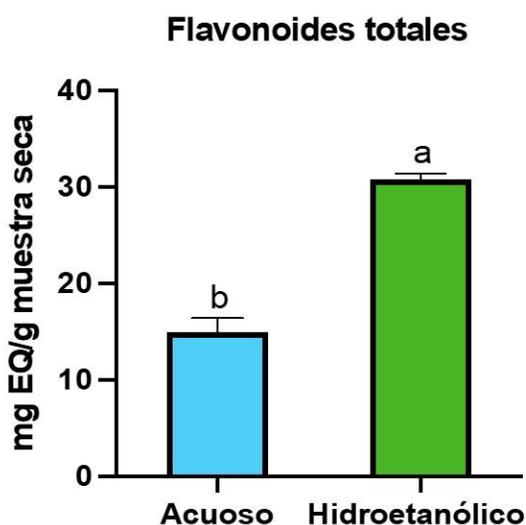
El contenido de compuestos fenólicos y flavonoides totales en los extractos acuosos e hidroetanólicos se muestran en las Figuras 8 y 9, respectivamente. El extracto hidroetanólico tuvo más compuestos fenólicos que el extracto acuoso, con un resultado de  $63.70 \pm 5.18$  mg EAG/g muestra seca, el cual fue 60.3 % mayor que el resultado de compuestos fenólicos totales en el extracto acuoso, el cual obtuvo un contenido de  $25.05 \pm 1.78$  mg EAG/g muestra seca. En cuanto al contenido de flavonoides totales, el comportamiento fue similar al observado en el contenido de compuestos fenólicos totales, ya que el extracto hidroetanólico tuvo 50 % más ( $30.78 \pm 0.59$  mg EAG/g muestra seca) que el extracto acuoso ( $15.0 \pm 1.40$  mg EQ/g muestra seca).

Las diferencias observadas en el contenido de compuestos fenólicos totales entre los extractos evaluados podrían deberse a la afinidad de los compuestos de interés por los solventes utilizados para la elaboración de los extractos. Los principales compuestos fenólicos presentes en el orégano mexicano son los ácidos fenólicos y los flavonoides, siendo estos últimos los predominantes. No obstante, los flavonoides pueden mostrar distintas afinidades por los solventes de extracción (Ferreira & Pinho, 2012).

La selección de un solvente y un protocolo de extracción adecuados son la clave para un aislamiento exitoso de compuestos biológicamente activos en plantas medicinales. Los solventes de extracción se escogen de acuerdo a su polaridad, así como por su habilidad para extraer distintos tipos de compuestos con distintas estructuras y propiedades fitoquímicas. Los solventes aceptados para las formulaciones farmacéuticas son el agua, etanol y el glicerol (Grodowska *et al.*, 2010). Generalmente, los compuestos fenólicos en sus formas de agliconas altamente hidroxiladas son solubles en agua, alcoholes como el metanol y etanol y mezclas entre los mismos, mientras que los compuestos tipo agliconas altamente metoxiladas se extraen con solventes menos polares como el acetato de etilo, acetona y cloroformo (Dorta *et al.*, 2012; Lafka *et al.*, 2007). Debido a que los grupos hidroxilo de los compuestos fenólicos contribuyen a sus propiedades antioxidantes, los extractos polares muestran mayor actividad antioxidante (Dominika *et al.*, 2021). Los resultados obtenidos en este estudio difieren de lo anteriormente mencionado, ya que a pesar de que el agua tiene mayor polaridad que el solvente hidroetanólico, el extracto hidroetanólico presentó mayor contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante. Esto podría deberse al perfil fitoquímico del orégano, en el que se encuentran compuestos más afines a la polaridad del extracto hidroetanólico en comparación con el agua. Además, existe la posibilidad de que el solvente hidroetanólico, por su polaridad, esté logrando extraer compuestos con capacidad antioxidante distintos de los compuestos fenólicos, como aquellos presentes en la fracción lipofílica (carvacrol, timol,  $\rho$ -cimeno y  $\gamma$ -terpineno) (Arcila-Lozano *et al.*, 2004). Así mismo ha sido reportado que los extractos que contienen etanol también son eficaces en la extracción de terpenoides (Kumar *et al.*, 2017; Malik & Khan, 2017; Subhan *et al.*, 2010).



**Figura 8.** Contenido de compuestos fenólicos totales en extractos hidrofílicos de orégano mexicano. Los resultados fueron expresados como medias; las barras indican la desviación estándar. Las letras diferentes indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ).



**Figura 9.** Contenido de flavonoides totales en extractos hidrofílicos de orégano mexicano. Los resultados fueron expresados como medias; las barras indican la desviación estándar. Las letras diferentes indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ).

El contenido de compuestos fenólicos totales de los extractos acuoso e hidroetanólico fue mayor que lo reportado anteriormente por Gutiérrez-Grijalva et al. (2017), quienes determinaron un contenido de 51.26 mg EAG/g muestra seca en extractos metanólicos (80 %) de *L. graveolens*. Similarmente, García-Carrasco et al. (2022) reportaron un contenido de 50 mg EAG/g muestra seca

en extractos metanólicos. Nuestros extractos obtuvieron mayor contenido de flavonoides totales que lo reportado por Gutiérrez-Grijalva et al. (2017) y García-Carrasco et al. (2022) (11.30 y 0.59 mg EQ/g muestra seca, respectivamente) en extractos metanólicos de *L. graveolens*. Las diferencias observadas con lo reportado por otros autores podría deberse a que los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios de las plantas, los cuales se producen en respuesta al estrés biótico y abiótico al que es sometida la planta. Las plagas de insectos, hongos, virus y malezas, así como la salinidad del suelo, las sequías, los metales pesados, plaguicidas, radiación ultravioleta y temperaturas extremas son algunos tipos de estrés a los que pueden ser sometidas las plantas (Sharma et al., 2019). Otro tipo de factores que también influyen en el contenido de compuestos en matrices vegetales son el tipo de extracción y el tipo de solvente utilizado (Ajibaye & Fakoya, 2011; Boeing et al., 2014).

Para dimensionar los efectos benéficos potenciales de los extractos de orégano es necesario conocer su perfil de flavonoides. Los flavonoides identificados y cuantificados con UPLC-MS/MS fue diez veces mayor en el extracto hidroetanólico que en su contraparte, el extracto acuoso (Cuadro 4). Esto podría deberse a que los flavonoides presentes en *L. graveolens* son en su mayoría flavanonas (naringenina, hesperidina), flavonoles (quercetina), isoflavonas (genisteína) y flavonas (apigenina), las cuales son agliconas que son mayormente extraídas con solventes no polares o ligeramente polares (Silva et al., 2022). Por lo tanto, estos compuestos mostraron mayor afinidad por el extracto hidroetanólico en comparación con el extracto acuoso. El flavonoide más abundante en el extracto hidroetanólico fue la naringenina, la cual es un flavonoide en su forma de aglicona que por sus características insolubles es extraída de forma eficaz con solventes con polaridad media, como el etanol 80 %.

**Cuadro 4.** Identificación y cuantificación de flavonoides en extractos hidrofílicos de orégano mexicano con UPLC-MS/-MS.

<b>Flavonoides</b>	<b>Extracto acuoso</b>	<b>Extracto hidroetanólico</b>
Naringenina	15.3615.36 ± 5.60	4027 ± 626.76
Floridzina	658.33 ± 88.11	2824 ± 559.20
Hesperidina	60.77 ± 32.35	1701.05 ± 390.86
Quercetina	5.76 ± 0.81	1106.10 ± 45.42
Luteolina-7-glucósido	257.71 ± 18.08	581.79 ± 10.86
Apigenina	0.45 ± 0.14	151.41 ± 19.18
Genisteína	0.21 ± 0.05	92.42 ± 10.17
Luteolina	5.43 ± 2.58	88.96 ± 6.24
Kaempferol	4.53 ± 0.28	59.36 ± 3.10

Rutina	17.28 ± 2.59	35.81 ± 4.70
Quercetina-3-rhamnósido	3.68 ± 0.28	13.55 ± 1.82
Floretina	ND	13.22 ± 2.46
<b>Total</b>	<b>1029.51</b>	<b>10694.67</b>

\*Flavonoide más abundante en el extracto

Los resultados se expresan como medias (n = 3) y ± desviación estándar; letras diferentes indican diferencias significativas del contenido de flavonoides entre extractos. El total representa la suma de las medias del contenido de cada flavonoide. Los resultados corresponden a µg/g muestra seca.

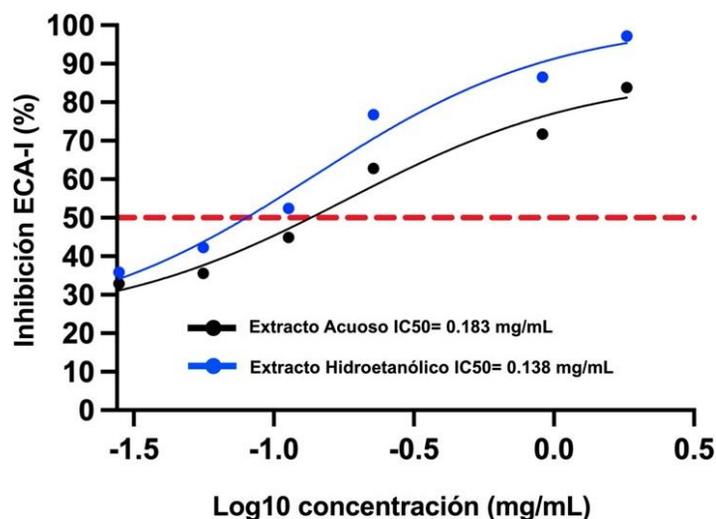
Por otro lado, a pesar de no tener la misma capacidad de extracción de compuestos que el extracto hidroetanólico, el extracto acuoso parece ser eficaz para la extracción de compuestos en sus formas glucosiladas (Silva *et al.*, 2022). De acuerdo a lo observado en este estudio, el extracto acuoso estuvo constituido principalmente de flavonoides como la floridzina (flavonoide más abundante en el extracto acuoso) y luteolina-7-glucósido. Al ser la floridzina una dihidroxichalcona y la luteolina-7-glucósido un flavonoide en su forma glucosilada, el agua mostró ser un mejor solvente para la extracción de estos compuestos debido a su polaridad (Tian *et al.*, 2021). Existen diversos tipos de glucósidos de flavonoides que podrían estar presentes en el extracto acuoso de orégano mexicano. Sin embargo, nuestra identificación y cuantificación de flavonoides se enfocó principalmente en agliconas y flavonoides de naturaleza no polar quedando limitada la identificación y cuantificación de compuestos de naturaleza hidrofílica.

Se ha reportado la capacidad de ciertos flavonoides para inhibir la actividad de la enzima convertidora de angiotensina, la cual desempeña un papel importante en la regulación de la presión arterial (Guerrero *et al.*, 2012; Kumar *et al.*, 2010). Esta es una dipeptidil carboxipeptidasa dependiente de zinc, cuya principal función es la conversión de la angiotensina I en angiotensina II, un potente vasoconstrictor. Al mismo tiempo, la enzima convertidora de angiotensina cataliza la inactivación del péptido vasodilatador bradicinina (Kumar *et al.*, 2010). Así, la inactivación de dicha enzima puede generar un efecto antihipertensivo y, de hecho, inhibirla es una de las estrategias terapéuticas para controlar la hipertensión arterial. Los resultados obtenidos de la capacidad inhibitoria de la enzima convertidora de angiotensina (IC<sub>50</sub>) de los extractos evaluados de orégano mexicano se muestran en la Figura 10. El extracto acuoso tuvo un IC<sub>50</sub> de 0.183 mg/mL y el extracto hidroetanólico de 0.138 mg/mL.

Este hallazgo puede deberse a que el extracto hidroetanólico tiene una mayor cantidad de

compuestos fenólicos y flavonoides, los cuales podrían favorecer el efecto antihipertensivo. De acuerdo con los resultados obtenidos de la identificación y cuantificación de flavonoides con análisis UPLC-MS/MS, el perfil de flavonoides es diferente en los extractos, ya que el extracto hidroetanólico aporta un mayor contenido de naringenina (aglicona) y el extracto acuoso está constituido principalmente por floridzina (glucósido). En cuanto a bioactividad y potenciales efectos benéficos, las agliconas tienden a mostrar una mayor potencia en distintas actividades biológicas (Ajebli & Eddouks, 2020; Kawakami *et al.*, 2005) que los flavonoides en sus formas glucosiladas.

La actividad inhibitoria de la enzima convertidora de angiotensina de los flavonoides presentes en los extractos hidroetanólicos de orégano mexicano, como la luteolina, quercetina, rutina, kaempferol y apigenina, ha sido reportada. Guerrero *et al.* (2012) evaluaron la capacidad inhibitoria de la enzima convertidora de angiotensina de distintos flavonoides. Estos autores reportaron que los IC<sub>50</sub> de los flavonoides mencionados fueron de 23, 43, 64, 178, 183 y 196  $\mu\text{M}$ , respectivamente, siendo el flavonoide luteolina el que mostró mayor capacidad inhibitoria de la enzima. Características como el grupo catecol en el anillo B, el doble enlace entre los C2 y C3 en el anillo de carbonos, y la presencia del grupo cetona en el C4 del anillo de carbonos son importantes en la estructura de los flavonoides con capacidad inhibitoria de la enzima convertidora de angiotensina (Guerrero *et al.*, 2012). El extracto que mostró mayor contenido de los flavonoides reportados con mayor capacidad inhibitoria de la enzima convertidora de angiotensina fue el extracto hidroetanólico. Esta podría ser la razón por la que el extracto hidroetanólico fue el que mostró mayor capacidad inhibitoria en comparación con el extracto acuoso. Además, se debe tomar en cuenta la posibilidad de un efecto sinérgico sobre la inhibición de la enzima convertidora de angiotensina entre los flavonoides y otros fitoconstituyentes presentes en los extractos crudos elaborados con etanol (Santos *et al.*, 2020).



**Figura 10.** IC<sub>50</sub> de los extractos hidrofílicos de orégano mexicano. Se utilizó una prueba F de extra suma de cuadrados de regresiones no lineales para comparar los IC<sub>50</sub> obtenidos de ambos extractos.

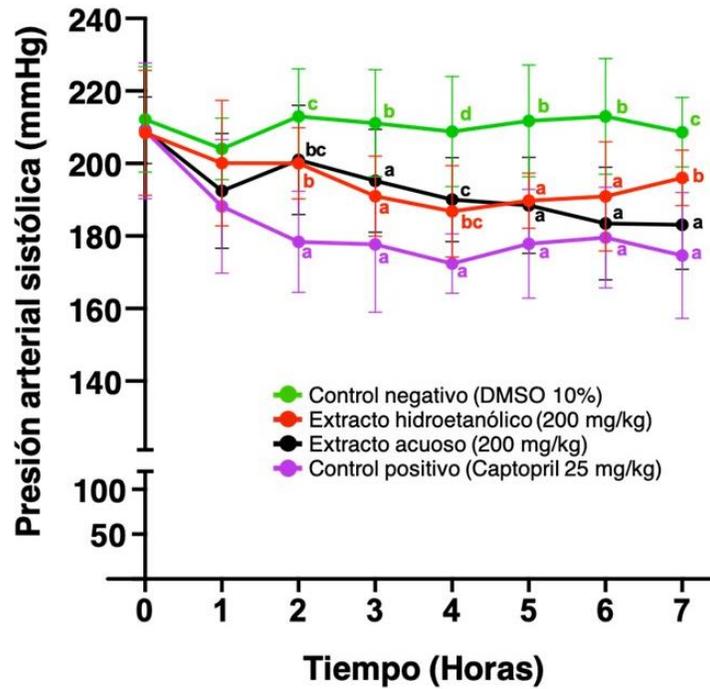
Los extractos hidrofílicos de orégano tuvieron una mayor capacidad inhibitoria de la enzima convertidora de angiotensina que lo reportado en extractos de otras plantas medicinales o comúnmente utilizadas como tratamientos alternativos. El IC<sub>50</sub> del extracto hidroetanólico de orégano mexicano (0.138 mg/mL) y del extracto acuoso (0.183 mg/mL) fue menor que lo reportado por Khan & Kumar (2019) en *Cynara scolimus*, con un IC<sub>50</sub> de 0.356 mg/mL y Sakaida et al. (2007) en *Camelia synensis* (té verde) (0.125mg/mL), siendo este último más potente que el extracto acuoso de orégano mexicano. Sin embargo, los resultados de IC<sub>50</sub> de la capacidad inhibitoria de la enzima convertidora de angiotensina de los extractos fue mayor que lo reportado en *Hibiscus sabdariffa* (IC<sub>50</sub> de 0.091 mg/mL) (Ojeda et al., 2010).

A pesar de tener datos prometedores que destacan el potencial de los extractos para controlar la hipertensión y que podrían colocarlos como posibles alternativas de tratamiento o como coadyuvantes para el tratamiento de la hipertensión, los estudios *in vitro* cuentan con limitaciones y no son suficientes para asegurar su eficacia. Así, los estudios *in vivo* son necesarios para conocer el comportamiento y la eficacia de los metabolitos secundarios en modelos vivos.

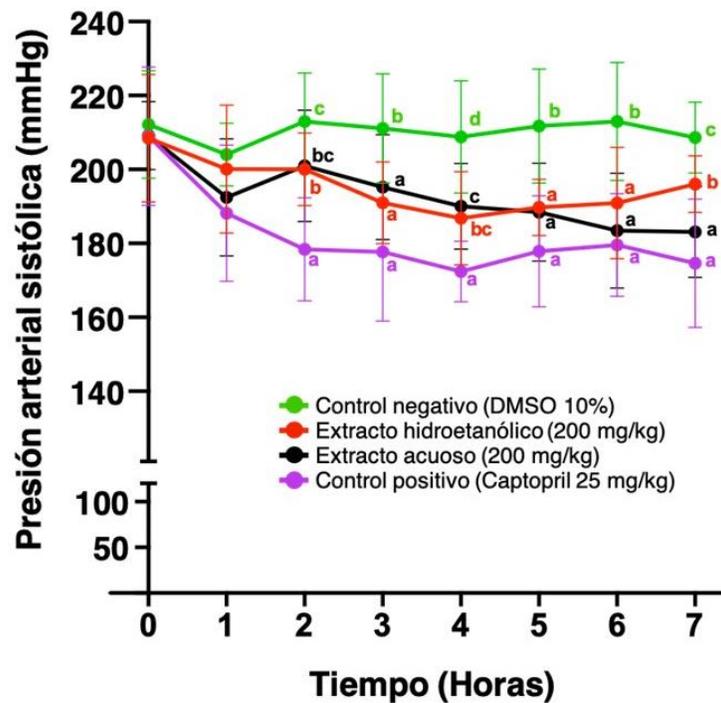
Los resultados de las evaluaciones *in vivo* se muestran en las Figuras 11 y 12. Ambos extractos

lograron reducir la presión sanguínea en ratas espontáneamente hipertensas después de la primera hora de su administración intragástrica. En los resultados de la dosis administrada de 100 mg/kg se observó una disminución gradual de la presión sanguínea a partir de la cuarta hora. Sin embargo, el extracto acuoso fue el que mostró un mejor efecto en la reducción de la presión sanguínea en comparación con el hidroetanólico mostrando un efecto similar al control positivo en los tiempos seis ( $p=0.31$ ) y siete ( $p=0.09$ ). La reducción de la presión arterial fue de hasta -27 mm Hg en el tiempo seis y -25 mm Hg en el tiempo siete (comparado con el valor de la presión sanguínea del modelo animal (215 mm Hg) en el tiempo cero). Por otro lado, los extractos administrados a dosis de 200 mg/kg peso corporal mostraron una reducción más pronunciada de la presión arterial que los extractos administrados a dosis de 100 mg/kg, lo que sugiere que el efecto de los extractos es dosis dependiente. De manera similar a los resultados con dosis de 100 mg/kg peso corporal, ambos extractos a dosis de 200 mg/kg peso corporal mostraron una disminución gradual de la presión sanguínea a partir del tiempo tres. El efecto antihipertensivo fue gradual hasta el tiempo seis tanto para el extracto hidroetanólico como el acuoso, sosteniendo el extracto acuoso el efecto antihipertensivo hasta el tiempo siete. Notablemente, el extracto acuoso no mostró diferencias significativas con respecto al control positivo a partir de la hora tres, mostrando un potencial antihipertensivo similar al del captopril (Figura 12).

Los flavonoides poseen potentes efectos biológicos *in vitro* y puede ser que no se observen los mismos efectos en estudios *in vivo*. Esto es porque factores como la absorción, el metabolismo y la distribución de los compuestos deben ser considerados. Los glucósidos poseen mejor biodisponibilidad que las agliconas en estudios *in vivo* (Plaza *et al.*, 2014; Liang *et al.*, 2020). Por lo tanto, evaluar la biodisponibilidad de los flavonoides es esencial para poder atribuirles los efectos benéficos a la salud. De acuerdo con el análisis cromatográfico, el extracto hidroetanólico es rico en agliconas como la naringenina (37.6 %), y el extracto acuoso, a pesar de tener un menor contenido de flavonoides, es rico en floridzina (63.9 %) y luteolina-7-glucósido (24.9 %), ambos de naturaleza glucosídica. Mladenka *et al.* (2010) sugieren que el grupo cetona en el C4 de los flavonoides es esencial para que ejerzan propiedades vasodilatadoras potentes. En nuestros extractos, se detectaron tres flavonoides que cumplen con este requisito; la naringenina, quercetina luteolina, y pinocembrina.



**Figura 11.** Efecto de los extractos hidrofílicos (100 mg/kg peso corporal) de orégano mexicano en la presión sanguínea de ratas espontáneamente hipertensas. Los resultados se muestran como medianas y rangos intercuartílicos. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ).



**Figura 12.** Efecto de los extractos hidrofílicos (200 mg/kg peso corporal) de orégano mexicano en la presión sanguínea de ratas espontáneamente hipertensas. Los resultados se muestran como medianas y rangos intercuartílicos. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ).

La estructura de los flavonoides es un factor vital que afecta su bioaccesibilidad. En este contexto, la glucosilación, en la que se incluye el tipo de enlace glucosídico (O-glucósido o C-glucósido), así como el tipo y número de fracciones de azúcares y el sitio de glucosilación son relevantes (Czubinski *et al.*, 2019). Adicionalmente, los flavonoides glucosilados muestran mayor presencia y permanencia en plasma que las agliconas. El efecto de la glucosilación en los flavonoides puede afectar la bioactividad *in vitro*, pero los efectos *in vivo* no son predecibles (Xiao, 2017). Según la polaridad de los solventes utilizados, el extracto podría tener un mayor arrastre de flavonoides y compuestos glucosilados, lo cual podría explicar la mejor persistencia de la capacidad antihipertensiva *in vivo* del extracto acuoso.

Nuestros hallazgos sugieren que la actividad antihipertensiva no está relacionada con la capacidad antioxidante ni con el contenido de compuestos fenólicos totales (Kwon *et al.*, 2006). Asimismo, son similares a lo reportado por Coelho *et al.* (2015), quienes evaluaron la capacidad antihipertensiva del extracto hidroetanólico de *O. vulgaris* tras su administración de forma oral e intravenosa. En dicho estudio se reportó una disminución de la presión sanguínea de ratas hembra Wistar, pero el efecto antihipertensivo solo se mantuvo por 5 horas. Cabe destacar que en el presente estudio el efecto antihipertensivo se mantuvo hasta por 7 horas tras la administración del extracto acuoso. Por otro lado, Phillips *et al.* (2006) reportaron que los extractos acuosos de *Tribulus terrestris* son más eficaces que los extractos hidroetanólicos para disminuir la presión sanguínea en modelos murinos de hipertensión, comportamiento similar al observado en el presente estudio. Una reducción de 10 mm Hg de la presión arterial sistólica logra reducir el riesgo de eventos mayores cardiovasculares en un 20 %, enfermedad coronaria en un 17 %, infartos en un 27 %, falla cardíaca en un 28 %, y muerte por cualquier causa cardiovascular en un 13 % (Ettehad *et al.*, 2016). Notablemente, tanto el extracto acuoso como el hidroetanólico evaluados en el presente estudio lograron disminuir la presión arterial en más de 10 mm Hg (Figuras 11 y 12). Así, los resultados de esta investigación sugieren que los extractos hidrofílicos de orégano mexicano no solo poseen efectos antioxidantes, sino también capacidad antihipertensiva fisiológicamente relevante en ratas espontáneamente hipertensas, abriendo la posibilidad de utilizarlos para el desarrollo de nutraceuticos con potencial antihipertensivo.

## 7. CONCLUSIONES

- Los flavonoides más abundantes en los extractos acuoso e hidroetanólico fueron floridzina y naringenina, respectivamente.
- Los extractos acuoso e hidroetanólico de orégano mexicano muestran importantes capacidades inhibitorias de la enzima convertidora de angiotensina, siendo el extracto hidroetanólico el que mostró mayor capacidad inhibitoria *in vitro*.
- Los extractos acuoso e hidroetanólico disminuyeron eficazmente los valores de presión sanguínea en ratas espontáneamente hipertensas, con un efecto dosis dependiente, sin embargo, solo el extracto acuoso logró mantener el efecto antihipertensivo hasta por siete horas.

## 8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acamovic, T., & Brooker, J. D. 2005. Biochemistry of plant secondary metabolites and their effects in animals. *Proceedings of the Nutrition Society*, 64(3), 403-412. <https://doi.org/10.1079/pns2005449>
- Adaptado de "Shahoud, J. S., Sanvictores, T., & Addula, N.R. 2022. Physiology, Arterial Pressure Regulation (StatPearls, Ed.). National Library of Medicine." <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538509/>
- Ajebli, M., & Eddouks, M. 2020. Effect of Aglycon and Glycoside Flavonoid-Enriched Extracts Obtained from *Buxus sempervirens* L. on Glucose and Lipid Metabolism in Diabetic Rats. *Cardiovascular Hematoogical Agents Medical Chemistry*, 18(1), 55-69. <https://doi.org/10.2174/1871525718666200109102241>
- Ajibaye, O., & Fakoya, O. T. (2011). Effect of Extraction Solvents on Phenolic, Flavonoid and Antioxidant activities of Three Nigerian Medicinal Plants. *Nature and Science of Sleep*, 9(9),7
- Al-Makki, A., DiPette, D., Whelton, P. K., Murad, M. H., Mustafa, R. A., Acharya, S., Beheiry, H. M., Champagne, B., Connell, K., Cooney, M. T., Ezeigwe, N., Gaziano, T. A., Gidio, A., Lopez-Jaramillo, P., Khan, U. I., Kumarapeli, V., Moran, A. E., Silwimba, M. M., Rayner, B., Apichard, S., Yu, J., Saraffzadegan, K., Reddy, S.K. & Khan, T. 2022. Hypertension Pharmacological Treatment in Adults: A World Health Organization Guideline Executive Summary. *Hypertension*, 79(1), 293-301. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.121.18192>
- Alasalvar, C., Grigor, J. M., Zhang, D., Quantick, P. C., & Shahidi, F. 2001. Comparison of volatiles, phenolics, sugars, antioxidant vitamins, and sensory quality of different colored carrot varieties. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49(3), 1410-1416. <https://doi.org/10.1021/jf000595h>
- American Heart Association Joint Committee on Clinical Practice Guidelines. 2022. 2022/AHA/ACC/HFSA Guideline for the Management of Heart Failure: A Report of the American College of Cardiology. *Journal of the American Journal of Cardiology*, 79(17), e263-e421.
- Alderman, C. P. 1996. Adverse effects of the angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Annals of Pharmacotherapy*, 30(1), 55-61. <https://doi.org/10.1177/106002809603000110>
- Arcila-Lozano, C. C., Loarca-Piña, G., Lecona-Uribe, S., & González de Mejía, E. 2004. El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 54, 100-111. [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0004-06222004000100015&nrm=iso](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222004000100015&nrm=iso)
- Ardalan, M., & Vahedi, A. 2013. Antiphospholipid syndrome: A disease of protean face. *Journal of Nephropathology*, 2(1), 81-84. <https://doi.org/10.5812/nephropathol.9001>
- Atucha, N. M., Romecín, P., Vargas, F., & García-Estañ, J. 2022. Effects of Flavonoids in

Experimental Models of Arterial Hypertension. *Current Topics Medicinal Chemistry*, 22(9), 735-745. <https://doi.org/10.2174/1568026621666211105100800>

Avila-Sosa, R., Gastélum-Franco, M. G., Camacho-Dávila, A., Torres-Muñoz, J. V., & Nevárez-Moorillón, G. V. 2010. Extracts of Mexican oregano (*Lippia berlandieri Schauer*) with antioxidant and antimicrobial activity. *Food and Bioprocess Technology*, 3(3), 434-440.

Babbar, N., Oberoi, H. S., & Sandhu, S. K. 2015. Therapeutic and nutraceutical potential of bioactive compounds extracted from fruit residues. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(3), 319-337. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.653734>

Baradaran, A., Nasri, H., & Rafieian-Kopaei, M. 2014. Oxidative stress and hypertension: Possibility of hypertension therapy with antioxidants. *Journal of Research in Medical Sciences*, 19(4), 358-367.

Bautista-Hernández, I., Aguilar, C. N., Martínez-Ávila, G. C. G., Torres-León, C., Iliina, A., Flores-Gallegos, A. C., Kumar Verma, D., & Chávez-González, M. L. 2021. Mexican Oregano (*Lippia graveolens Kunth*) as Source of Bioactive Compounds: A Review. *Molecules*, 26(17). <https://doi.org/10.3390/molecules26175156>

Bendary, E., Francis, R. R., Ali, H. M. G., Sarwat, M. I., & El Hady, S. 2013. Antioxidant and structure–activity relationships (SARs) of some phenolic and anilines compounds. *Annals of Agricultural Sciences*, 58(2), 173-181. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aogas.2013.07.002>

Benzie, I. F., & Strain, J. J. 1999. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in Enzymology*, 299, 15-27. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(99\)99005-5](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(99)99005-5)

Bernal-Millán, M. de J., Carrasco-Portugal, M. del C., Heredia, J. B., Bastidas-Bastidas, P. de J., Gutiérrez-Grijalva, E. P., León-Félix, J., & Angulo-Escalante, M. Á. 2023. Green Extracts and UPLC-TQS-MS/MS Profiling of Flavonoids from Mexican Oregano (*Lippia graveolens*) Using Natural Deep Eutectic Solvents/Ultrasound-Assisted and Supercritical Fluids. *Plants*, 12(8), 1692. <http://dx.doi.org/10.3390/plants12081692>

Boeing, J. S., Barizão, É. O., e Silva, B. C., Montanher, P. F., de Cinque Almeida, V., & Visentainer, J. V. 2014. Evaluation of solvent effect on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacities from the berries: application of principal component analysis. *Chemistry Central Journal*, 8(1), 48. <https://doi.org/10.1186/s13065-014-0048-1>

Bouayed J, Bohn T. 2010. Exogenous antioxidants--Double-edged swords in cellular redox state: Health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 3(4):228-37. <https://doi.org/10.4161/oxim.3.4.12858>

Brouwers, S., Sudano, I., Kokubo, Y., & Sulaica, E. M. 2021. Arterial hypertension. *Lancet*, 398(10296), 249-261. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00221-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00221-X)

Carey, R. M., Moran, A. E., & Whelton, P. K. 2022. Treatment of Hypertension: A Review. *Jama*, 328(18), 1849-1861. <https://doi.org/10.1001/jama.2022.19590>

Carey, R. M., Muntner, P., Bosworth, H. B., & Whelton, P. K. 2019. Prevention and Control of

- Hypertension: JACC Health Promotion Series. *Journal of the American College of Cardiology*, 72(11), 1278-1293. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.07.008>
- Carretero, O.A., Oparil, S. 2000. Essential Hypertension Part I: Definition and Etiology. *Clinical Cardiology: New Frontiers*, 101, 329-335.
- Carrizzo, A., Izzo, C., Forte, M., Sommella, E., Di Pietro, P., Venturini, E., Ciccarelli, M., Galasso, G., Rubattu, S., Campiglia, P., Sciarretta, S., Frati, G., & Vecchione, C. 2020. A Novel Promising Frontier for Human Health: The Beneficial Effects of Nutraceuticals in Cardiovascular Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(22). <https://doi.org/10.3390/ijms21228706>
- Centers for Disease Control and Prevention. 2021. High Blood Pressure Symptoms and Causes. [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)  
<https://www.cdc.gov/bloodpressure/about.htm>
- Cartea, M. E., Francisco, M., Soengas, P., & Velasco, P. 2010. Phenolic compounds in Brassica vegetables. *Molecules*, 16(1), 251-280. <https://doi.org/10.3390/molecules16010251>
- Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M. Chern, J.C. 2002. Estimation of the total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10,178-182.
- Clark, J. L., Zahradka, P., & Taylor, C. G. 2015. Efficacy of flavonoids in the management of high blood pressure. *Nutrition Reviews*, 73(12), 799-822. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuv048>
- Coelho, A. G., Lima Neto, J. S., Moura, A. K. S., Sousa, T. O. d., Morais, I. C. P. S., Carvalho, G. D., Cunha, F. V. M., Medeiros, M. d. G. F., Vasconcelos, E. A. F., Oliveira, A. P., Arcaño, D. D. R., Nunes, L. C. C., & Citó, A. M. G. L. 2015. Optimization and standardization of extraction method from *Lippia organoides* H.B.K.: Focus on potential anti-hypertensive applications. *Industrial Crops and Products*, 78, 124-130.  
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.10.033>
- Côté, J., Caillet, S., Doyon, G., Sylvain, J. F., & Lacroix, M. 2010. Bioactive compounds in cranberries and their biological properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(7), 666-679. <https://doi.org/10.1080/10408390903044107>
- Criollo-Mendoza, M. S., Ramos-Payán, R., Contreras-Angulo, L. A., Gutiérrez-Grijalva, E. P., León-Félix, J., Villicaña, C., Angulo-Escalante, M. A., & Heredia, J. B. 2022. Cytotoxic Activity of Polyphenol Extracts from Three Oregano Species: *Hedeoma patens*, *Lippia graveolens* and *Lippia palmeri*, and Antiproliferative Potential of *Lippia graveolens* against Two Types of Breast Cancer Cell Lines (MDA-MB-231 and MCF-7). *Molecules*, 27(16), 5240. <https://www.mdpi.com/1420-3049/27/16/5240>
- Cui, H., Zhang, C., Li, C., & Lin, L. 2019. Antibacterial mechanism of oregano essential oil. *Industrial Crops and Products*, 139, 111498. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111498>
- Cuspidi, C., Tadic, M., Grassi, G., & Mancia, G. 2018. Treatment of hypertension: The ESH/ESC guidelines recommendations. *Pharmacological Research*, 128, 315-321. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2017.10.003>

- Czubinski, J., Wroblewska, K., Czyzniejewski, M., Górnaś, P., Kachlicki, P., & Siger, A. 2019. Bioaccessibility of defatted lupin seed phenolic compounds in a standardized static in vitro digestion system. *Food Research International*, 116, 1126-1134. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.09.057>
- Da Silva Pinto, M., Kwon, Y. I., Apostolidis, E., Lajolo, F. M., Genovese, M. I., & Shetty, K. 2010. Evaluation of red currants (*Ribes rubrum L.*), black currants (*Ribes nigrum L.*), red and green gooseberries (*Ribes uva-crispa*) for potential management of type 2 diabetes and hypertension using in vitro models. *Journal of Food Biochemistry*, 34(3), 639-660.
- Dávila-Rodríguez, M., López-Malo, A., Palou, E., Ramírez-Corona, N., & Jiménez-Munguía, M. T. 2020. Essential oils microemulsions prepared with high-frequency ultrasound: physical properties and antimicrobial activity. *Journal of Food Science and Technology*, 57(11), 4133-4142. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04449-8>
- DeFelice, S. L. 1995. The nutraceutical revolution: its impact on food industry R&D. *Trends in Food Science & Technology*, 6, 59-61. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(00\)88944-X](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0924-2244(00)88944-X)
- Del Rio, D., Costa, L. G., Lean, M. E., & Crozier, A. 2010. Polyphenols and health: what compounds are involved? *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*, 20(1), 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2009.05.015>
- Del Rio, D., Rodriguez-Mateos, A., Spencer, J. P., Tognolini, M., Borges, G., & Crozier, A. 2013. Dietary (poly)phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxidants and Redox Signaling*, 18(14), 1818-1892. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.4581>
- Dias, M. C., Pinto, D., & Silva, A. M. S. 2021. Plant Flavonoids: Chemical Characteristics and Biological Activity. *Molecules*, 26(17). <https://doi.org/10.3390/molecules26175377>
- Kaczorová D., Karalija E., Dahija S., Bešta-Gajević R., Parić A., Čavar Zeljković S. 2021. Influence of extraction solvent on the phenolic profile and bioactivity of two *Achillea* species. *Molecules*, 26, 1601. <https://doi.org/10.3390/molecules26061601>
- Dorta, E., Lobo, M. G., & Gonzalez, M. 2012. Reutilization of mango byproducts: study of the effect of extraction solvent and temperature on their antioxidant properties. *Journal of food science*, 77(1), C80–C88. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02477.x>
- Dröge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*, 82(1), 47-95. <https://doi.org/10.1152/physrev.00018.2001>
- Drummond, G. R., Vinh, A., Guzik, T. J., & Sobey, C. G. 2019. Immune mechanisms of hypertension. *Nature Reviews Immunology*, 19(8), 517-532. <https://doi.org/10.1038/s41577-019-0160-5>
- Edreva, A., Velikova, V., Tsonev, T., Dagnon, S., Gürel, A. L., & Aktas, L. 2007. Stress-protective role of secondary metabolites: Diversity of functions and mechanisms. *General and Applied Plant Physiology*, 34.
- Elliott, W. J. 1996. Higher incidence of discontinuation of angiotensin converting enzyme inhibitors due to cough in black subjects. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 60(5), 582-

588. [https://doi.org/10.1016/s0009-9236\(96\)90155-1](https://doi.org/10.1016/s0009-9236(96)90155-1)

- Ettehad, D., Emdin, C. A., Kiran, A., Anderson, S. G., Callender, T., Emberson, J., Chalmers, J., Rodgers, A., & Rahimi, K. 2016. Blood pressure lowering for prevention of cardiovascular disease and death: a systematic review and meta-analysis. *Lancet*, 387(10022), 957-967. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)01225-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)01225-8)
- Fearheller, D. L., Brown, M. D., Park, J. Y., Brinkley, T. E., Basu, S., Hagberg, J. M., Ferrell, R. E., & Fenty-Stewart, N. M. 2009. Exercise training, NADPH oxidase p22phox gene polymorphisms, and hypertension. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 41(7), 1421-1428. <https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e318199cee8>
- Ferreira, O., & Pinho, S. P. 2012. Solubility of Flavonoids in Pure Solvents. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 51(18), 6586-6590. <https://doi.org/10.1021/ie300211e>
- Food & Drug Administration. 2015. Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors (ACE inhibitor) Drugs. [www.fda.gov/drugs](http://www.fda.gov/drugs)
- <https://www.fda.gov/drugs/postmarket-drug-safety-information-patients-and-providers/angiotensin-converting-enzyme-inhibitor-ace-inhibitor-drugs>
- Fountain, J., Kaur, J. & Lappin, S.L. 2023. Physiology, Renin Angiotensin Sytem (StatPearls, Ed.) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470410/>
- Frías-Zepeda, M. E., Rosales-Castro, M., Escalona-Cardoso, G. N., & Paniagua-Castro, N. 2022. Ethanolic extract of *Lippia graveolens* stem reduce biochemical markers in a murine model with metabolic syndrome. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(12), 103422. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.103422>
- Fuks, K. B., Weinmayr, G., Basagaña, X., Gruzieva, O., Hampel, R., Oftedal, B., Sørensen, M., Wolf, K., Aamodt, G., Aasvang, G. M., Aguilera, I., Becker, T., Beelen, R., Brunekreef, B., Caracciolo, B., Cyrus, J., Elosua, R., Eriksen, K. T., Foraster, M., Fratioglini, L., Hilding, A., Houthuijs, D., Korek, M., Kunzli, N., Marrugat, J., Nieuwenhuijsen, M., Ostenson, C., Penell, J., Pershagen, G. Raaschou-Nielsen, O., Swart, W.J.R., Peters, A. & Hoffmann, B. 2017. Long-term exposure to ambient air pollution and traffic noise and incident hypertension in seven cohorts of the European study of cohorts for air pollution effects (ESCAPE). *European Heart Journal*, 38(13), 983-990. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehw413>
- Gamboa-Gómez, C. I., Denise-Herrera, M., Simental-Mendía, L. E., Zamilpa-Alvarez, A., González-Cortazar, M., Martínez-Aguilar, G., Alvarado-Aguilar, P., Morales-Castro, E. P., Ávila-Soto, J. A., Amador-Herrera, J. A., & Guerrero-Romero, F. 2022. Inhibitory effect of Mexican oregano (*Lippia graveolens* Kunth) extracts on digestive enzymes in vitro, and beneficial impact on carbohydrates and lipids absorption in vivo. *Journal of Ethnopharmacology*, 297, 115527. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115527>
- García-Bores, A., Espinosa-González, A., Reyna-Campos, A., Cruz-Toscano, S., Benítez-Flores, J., Hernández-Delgado, C., Flores-Maya, S., Urzúa-Meza, M., Peñalosa-Castro, I., & Céspedes-Acuña, C. 2017. *Lippia graveolens* photochemopreventive effect against UVB radiation-induced skin carcinogenesis. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 167, 72-81.
- Garcia-Carrasco, M., Picos-Corrales, L. A., Gutiérrez-Grijalva, E. P., Angulo-Escalante, M. A.,

- Licea-Claverie, A., & Heredia, J. B. 2022. Loading and Release of Phenolic Compounds Present in Mexican Oregano (*Lippia graveolens*) in Different Chitosan Bio-Polymeric Cationic Matrixes. *Polymers*, 14(17), 3609. <https://www.mdpi.com/2073-4360/14/17/3609>
- García-Pérez, E., Castro-Alvarez, F.F., Gutiérrez-Urbe, J.A. & García-Lara, S. 2012. Revisión de la composición fitoquímica y propiedades nutraceuticas del orégano mexicano. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3(2), 339-353.
- Gavazzi, G., Banfi, B., Deffert, C., Fiette, L., Schappi, M., Herrmann, F., & Krause, K. H. 2006. Decreased blood pressure in NOX1-deficient mice. *FEBS Letters*, 580(2), 497-504. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2005.12.049>
- Genestra, M. 2007. Oxyl radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants. *Cell Signal*, 19(9), 1807-1819. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2007.04.009>
- Ghasemzadeh, A., Omidvar, V., Jaafar, H.Z.E. 2012. Polyphenolic content and their antioxidant activity in leaf extract of sweet potato (*Ipomoea batatas*) *Jornal of Medicinal Plants Research*. 6(15), 2971-2876.
- Ghorbani, A., Rafieian-Kopaei, M., & Nasri, H. 2013. Lipoprotein (a): More than a bystander in the etiology of hypertension? A study on essential hypertensive patients not yet on treatment. *Journal of Nephropathology*, 2(1), 67-70. <https://doi.org/10.5812/nephropathol.9092>
- Godos, J., Vitale, M., Micek, A., Ray, S., Martini, D., Del Rio, D., Riccardi, G., Galvano, F., & Grosso, G. 2019. Dietary Polyphenol Intake, Blood Pressure, and Hypertension: A Systematic Review and Meta-Analysis of Observational Studies. *Antioxidants (Basel)*, 8(6). <https://doi.org/10.3390/antiox8060152>
- Gonçalves, S., Moreira, E., Grosso, C., Andrade, P. B., Valentão, P., & Romano, A. 2017. Phenolic profile, antioxidant activity and enzyme inhibitory activities of extracts from aromatic plants used in Mediterranean diet. *Journal of Food Science and Technology*, 54(1), 219-227. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2453-z>
- Granato, D., Barba, F. J., Bursać Kovačević, D., Lorenzo, J. M., Cruz, A. G., & Putnik, P. 2020. Functional Foods: Product Development, Technological Trends, Efficacy Testing, and Safety. *Annual Review of Food Science and Technology*, 11, 93-118. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-032519-051708>
- Griendling, K. K., Camargo, L. L., Rios, F. J., Alves-Lopes, R., Montezano, A. C., & Touyz, R. M. 2021. Oxidative Stress and Hypertension. *Circulation Research*, 128(7), 993-1020. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.121.318063>
- Grodowska, K., & Parczewski, A. 2010. Organic solvents in the pharmaceutical industry. *Acta poloniae pharmaceutica*, 67(1), 3-12.
- Grossman, E. 2008. Does Increased Oxidative Stress Cause Hypertension? *Diabetes Care*, 31(Supplement\_2), S185-S189. <https://doi.org/10.2337/dc08-s246>
- Grosso, G., Micek, A., Godos, J., Pajak, A., Sciacca, S., Galvano, F., & Giovannucci, E. L. 2017. Dietary Flavonoid and Lignan Intake and Mortality in Prospective Cohort Studies: Systematic Review and Dose-Response Meta-Analysis. *American Journal of Epidemiology*, 185(12), 1304-1316. <https://doi.org/10.1093/aje/kww207>
- Guerrero, L., Castillo, J., Quiñones, M., Garcia-Vallvé, S., Arola, L., Pujadas, G., & Muguera, B.

2012. Inhibition of angiotensin-converting enzyme activity by flavonoids: structure-activity relationship studies. *PLOS One*, 7(11), e49493. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0049493>

Gutiérrez-Grijalva, E. P., Angulo-Escalante, M. A., León-Félix, J., & Heredia, J. B. 2017. Effect of In Vitro Digestion on the Total Antioxidant Capacity and Phenolic Content of 3 Species of Oregano (*Hedeoma patens*, *Lippia graveolens*, *Lippia palmeri*). *Journal of Food Science*, 82(12), 2832-2839. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/1750-3841.13954>

Gutiérrez-Grijalva, E. P., Antunes-Ricardo, M., Acosta-Estrada, B. A., & Gutiérrez-Urbe, J. A., Heredia, J.B. 2019. Cellular antioxidant activity and in vitro inhibition of  $\alpha$ -glucosidase,  $\alpha$ -amylase and pancreatic lipase of oregano polyphenols under simulated gastrointestinal digestion. *Food Research International*, 116, 676-686. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.08.096>

Gutiérrez-Grijalva, E. P., Picos-Salas, M. A., Leyva-López, N., Criollo-Mendoza, M. S., Vazquez-Olivo, G., & Heredia, J. B. 2017. Flavonoids and Phenolic Acids from Oregano: Occurrence, Biological Activity and Health Benefits. *Plants*, 7(1), 2. <https://www.mdpi.com/2223-7747/7/1/2>

Haikerwal, A., Doyle, L. W., Cheung, M. M., Wark, J. D., Opie, G., Roberts, G., Patton, G., & Cheong, J. L. Y. 2020. High Blood Pressure in Young Adult Survivors Born Extremely Preterm or Extremely Low Birthweight in the Post Surfactant Era. *Hypertension*, 75(1), 211-217. <https://doi.org/10.1161/hypertensionaha.119.13780>

Haminiuk, C. W. I., Maciel, G. M., Plata-Oviedo, M. S. V., & Peralta, R. M. 2012. Phenolic compounds in fruits – an overview. *International Journal of Food Science & Technology*, 47(10), 2023-2044. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03067.x>

Herman, L. L., Padala, S. A., Ahmed, I., & Bashir, K. 2023. Angiotensin Converting Enzyme Inhibitors (ACEI). In *StatPearls*. StatPearls Publishing

Copyright © 2023, StatPearls Publishing LLC.

Hernandez, G. T., & Nasri, H. 2014. World Kidney Day 2014: increasing awareness of chronic kidney disease and aging. *Journal of Renal Injury Prevention*, 3(1), 3-4. <https://doi.org/10.12861/jrip.2014.02>

Hool, L. C., & Corry, B. 2007. Redox control of calcium channels: from mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxidants & Redox Signal*, 9(4), 409-435. <https://doi.org/10.1089/ars.2006.1446>

Huang, D., Hampsch-Woodill, O.B. & Prior, R. 2002. High-throughput Assay of Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with the microplate fluorescence reader in 96-well format. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50, 4437-4444.

Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. 2005. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1841-1856. <https://doi.org/10.1021/jf030723c>

Hügel, H. M., Jackson, N., May, B., Zhang, A. L., & Xue, C. C. 2016. Polyphenol protection and treatment of hypertension. *Phytomedicine*, 23(2), 220-231.

<https://doi.org/10.1016/j.phymed.2015.12.012>

Instituto Nacional de Salud Pública. 2016. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición - MC 2016. ENSANUT INSP

<https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanut2016/index.php>

Jahan, N. 2012. Cardioprotective and Antilipidemic Potential of *Cyperus rotundus* in Chemically Induced Cardiotoxicity. *International Journal of Agricultural and Biology*, 14(6).

Jayasinghe, M., Caldera, D., Prathiraja, O., Jena, R., Coffie-Pierre, J. A., Agyei, J., Silva, M. S., Kayani, A. M. A., & Siddiqui, O. S. 2022. A Comprehensive Review of Bradykinin-Induced Angioedema Versus Histamine-Induced Angioedema in the Emergency Department. *Cureus*, 14(11), e32075. <https://doi.org/10.7759/cureus.32075>

Jégou, S., Cartier, D., Dubessy, C., Gonzalez, B. J., Chatenet, D., Tostivint, H., Scalbert, E., LePrince, J., Vaudry, H., & Lihmann, I. 2006. Localization of the urotensin II receptor in the rat central nervous system. *The Journal of Comparative Neurology*, 495(1), 21-36. <https://doi.org/10.1002/cne.20845>

Kanda, T., Murai-Takeda, A., Kawabe, H., & Itoh, H. 2020. Low birth weight trends: possible impacts on the prevalences of hypertension and chronic kidney disease. *Hypertension Research*, 43(9), 859-868. <https://doi.org/10.1038/s41440-020-0451-z>

Kaurinovic, B., Popovic, M., Vlasisavljevic, S., & Trivic, S. 2011. Antioxidant Capacity of *Ocimum basilicum* L. and *Origanum vulgare* L. Extracts. *Molecules*, 16(9), 7401-7414. <https://www.mdpi.com/1420-3049/16/9/7401>

Kawakami, Y., Tsurugasaki, W., Nakamura, S., & Osada, K. 2005. Comparison of regulative functions between dietary soy isoflavones aglycone and glucoside on lipid metabolism in rats fed cholesterol. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 16(4), 205-212. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2004.11.005>

Khan, M. Y., & Kumar, V. 2019. Mechanism & inhibition kinetics of bioassay-guided fractions of Indian medicinal plants and foods as ACE inhibitors. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 9(1), 73-84. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2018.02.001>

Khoddami, A., Wilkes, M. A., & Roberts, T. H. 2013. Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*, 18(2), 2328-2375. <https://doi.org/10.3390/molecules18022328>

Kimura, S., Zhang, G. X., Nishiyama, A., Shokoji, T., Yao, L., Fan, Y. Y., Rahman, M., & Abe, Y. 2005. Mitochondria-derived reactive oxygen species and vascular MAP kinases: comparison of angiotensin II and diazoxide. *Hypertension*, 45(3), 438-444. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000157169.27818.ae>

Kosakowska, O., Weglarz, Z., Pioro-Jabrucka, E., Przybyl, J. L., Krasniewska, K., Gniewosz, M., & Baczek, K. 2021. Antioxidant and Antibacterial Activity of Essential Oils and Hydroethanolic Extracts of Greek Oregano (*O. vulgare* L. subsp. *hirtum* (Link) Ietswaart) and Common Oregano (*O. vulgare* L. subsp. *vulgare*). *Molecules*, 26(4). <https://doi.org/10.3390/molecules26040988>

Kumar, R., Kumar, A., Sharma, R., & Baruwa, A. 2010. Pharmacological review on natural ACE inhibitors. *Der Pharmacia Lettre*, 2(2), 273-293.

- Kumar, S., & Pandey, A. K. 2013. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The Scientific World Journal*, 2013, 162750. <https://doi.org/10.1155/2013/162750>
- Kumar, S., Singh, A. & Kumar, B. 2017. Identification and characterization of phenolics and terpenoids from ethanolic extracts of *Phyllanthus* species by HPLC-ESI-QTOF-MS/MS. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 7(4), 214-222. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2017.01.005>
- Kwon, Y. I., Vattem, D. A., & Shetty, K. 2006. Evaluation of clonal herbs of Lamiaceae species for management of diabetes and hypertension. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 15(1), 107-118.
- Lafka, T.I., Sinanoglou, V. & Lazos, E.S. 2007. On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes. *Food chemistry*, 104(3), 1206-1214. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.01.068>
- Lassègue, B., & Clempus, R. E. 2003. Vascular NAD(P)H oxidases: specific features, expression, and regulation. *American Journal of Physiology, Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 285(2), R277-297. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00758.2002>
- Lattanzio, V., Cardinali, A., & Linsalata, V. 2012. Plant Phenolics: A Biochemical and Physiological Perspective. *Recent Advances in Polyphenol Research*, (3). <https://doi.org/10.1002/9781118299753.ch1>
- Laursen, J. B., Somers, M., Kurz, S., McCann, L., Warnholtz, A., Freeman, B. A., Tarpey, M., Fukai, T., & Harrison, D. G. 2001. Endothelial regulation of vasomotion in apoE-deficient mice: implications for interactions between peroxynitrite and tetrahydrobiopterin. *Circulation*, 103(9), 1282-1288. <https://doi.org/10.1161/01.cir.103.9.1282>
- Lebedev, V. G., Lebedeva, T. N., Vidyagina, E. O., Sorokopudov, V. N., Popova, A. A., & Shestibratov, K. A. 2022. Relationship between Phenolic Compounds and Antioxidant Activity in Berries and Leaves of Raspberry Genotypes and Their Genotyping by SSR Markers. *Antioxidants*, 11(10), 1961. <https://www.mdpi.com/2076-3921/11/10/1961>
- Leyva-López, N., Gutiérrez-Grijalva, E. P., Vazquez-Olivo, G., & Heredia, J. B. 2017. Essential Oils of Oregano: Biological Activity beyond Their Antimicrobial Properties. *Molecules*, 22(6). <https://doi.org/10.3390/molecules22060989>
- Leyva-López, N., Nair, V., Bang, W. Y., Cisneros-Zevallos, L., & Heredia, J. B. 2016. Protective role of terpenes and polyphenols from three species of Oregano (*Lippia graveolens*, *Lippia palmeri* and *Hedeoma patens*) on the suppression of lipopolysaccharide-induced inflammation in RAW 264.7 macrophage cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 187, 302-312. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.04.051>
- Li, J., Zhao, F., Wang, Y., Chen, J., Tao, J., Tian, G., Wu, S., Liu, W., Cui, Q., Geng, B., Zhang, W., Weldon, R., Auguste, K., Yang, L., Liu, X., Chen, L., Yang, X., Zhu, B., & Cai, J. 2017. Gut microbiota dysbiosis contributes to the development of hypertension. *Microbiome*, 5(1), 14. <https://doi.org/10.1186/s40168-016-0222-x>
- Liang, S., Xu, Z., Ruan, Y., Niu, T., Guo, W., Jiang, W., & Hou, J. 2020. Isoquercitrin Attenuates Renal Ischemia/Reperfusion Injury Through Antioxidation, Anti-inflammation, and Antiapoptosis in Mice. *Transplantation Proceedings*, 52(3), 1014-1019. <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2019.12.038>

- Ličina, B. Z., Stefanović, O. D., Vasić, S. M., Radojević, I. D., Dekić, M. S., & Čomić, L. R. 2013. Biological activities of the extracts from wild growing *Origanum vulgare* L. Food Control, 33(2), 498-504. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.03.020>
- Lin, D., Xiao, M., Zhao, J., Li, Z., Xing, B., Li, X., Kong, M., Li, L., Zhang, Q., Liu, Y., Chen, H., Qin, W., Wu, H., & Chen, S. 2016. An Overview of Plant Phenolic Compounds and Their Importance in Human Nutrition and Management of Type 2 Diabetes. Molecules, 21(10). <https://doi.org/10.3390/molecules21101374>
- Lin, L. Z., Mukhopadhyay, S., Robbins, R. J., & Harnly, J. M. 2007. Identification and quantification of flavonoids of Mexican oregano (*Lippia graveolens*) by LC-DAD-ESI/MS analysis. Journal of Food Composition and Analysis, 20(5), 361-369. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.09.005>
- Malik, S.K. & Khan, F. 2017. Qualitative and quantitative estimation of terpenoid contents in some important plants of Punjab, Pakistan. Pakistan Journal of Science, 69(2).
- Martín Gordo, D. A. 2018. Los Compuestos Fenólicos, Un Acercamiento A Su Biosíntesis, Síntesis Y Actividad Biológica. Revista De Investigación Agraria y Ambiental, 9(1), 81–104. <https://doi.org/10.22490/21456453.1968>
- Martínez-Rocha, A., Puga, R., Hernández-Sandoval, L., Loarca-Piña, G., & Mendoza, S. 2008. Antioxidant and antimutagenic activities of Mexican oregano (*Lippia graveolens* Kunth). Plant Foods for Human Nutrition, 63(1), 1-5. <https://doi.org/10.1007/s11130-007-0061-9>
- Martins, N., Barros, L., Santos-Buelga, C., Henriques, M., Silva, S., & Ferreira, I. C. F. R. 2014. Decoction, infusion and hydroalcoholic extract of *Origanum vulgare* L.: Different performances regarding bioactivity and phenolic compounds. Food Chemistry, 158, 73-80. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.099>
- Mell, B., Jala, V. R., Mathew, A. V., Byun, J., Waghulde, H., Zhang, Y., Haribabu, B., Vijay-Kumar, M., Pennathur, S., & Joe, B. 2015. Evidence for a link between gut microbiota and hypertension in the Dahl rat. Physiological Genomics, 47(6), 187-197. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00136.2014>
- Mena, P., Domínguez-Perles, R., Gironés-Vilaplana, A., Baenas, N., García-Viguera, C., & Villaño, D. 2014. Flavan-3-ols, anthocyanins, and inflammation. IUBMB Life, 66(11), 745-758. <https://doi.org/10.1002/iub.1332>
- Messerli, F. H., Bangalore, S., Bavishi, C., & Rimoldi, S. F. 2018. Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors in Hypertension: To Use or Not to Use? Journal of American College of Cardiology, 71(13), 1474-1482. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.01.058>
- Mladenka, P., Zatloukalová, L., Filipský, T., & Hrdina, R. 2010. Cardiovascular effects of flavonoids are not caused only by direct antioxidant activity. Free Radical Biology and Medicine, 49(6), 963-975. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.06.010>
- Mueller, M., Lukas, B., Novak, J., Simoncini, T., Genazzani, A. R., & Jungbauer, A. 2008. Oregano: A Source for Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  $\gamma$  Antagonists. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56(24), 11621-11630. <https://doi.org/10.1021/jf802298w>
- Münzel, T., Sørensen, M., Gori, T., Schmidt, F. P., Rao, X., Brook, J., Chen, L. C., Brook, R. D.,

- & Rajagopalan, S. 2017. Environmental stressors and cardio-metabolic disease: part I-epidemiologic evidence supporting a role for noise and air pollution and effects of mitigation strategies. *European Heart Journal*, 38(8), 550-556. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehw269>
- Na Takuathung, M., Sakuludomkan, W., Khatsri, R., Dukaew, N., Kraivisitkul, N., Ahmadmusa, B., Mahakkanukrauh, C., Wangthaweesap, K., Onin, J., Srichai, S., Buawangpong, N., & Koonrungsesomboon, N. 2022. Adverse Effects of Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors in Humans: A Systematic Review and Meta-Analysis of 378 Randomized Controlled Trials. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(14). <https://doi.org/10.3390/ijerph19148373>
- Nasri, H., Behradmanesh, S., Maghsoudi, A. R., Ahmadi, A., Nasri, P., & Rafieian-Kopaei, M. 2014. Efficacy of supplementary vitamin D on improvement of glycemic parameters in patients with type 2 diabetes mellitus; a randomized double blind clinical trial. *Journal of Renal Injury Prevention*, 3(1), 31-34. <https://doi.org/10.12861/jrip.2014.10>
- Nishida, N., Arizumi, T., Takita, M., Kitai, S., Yada, N., Hagiwara, S., Inoue, T., Minami, Y., Ueshima, K., Sakurai, T., & Kudo, M. 2013. Reactive oxygen species induce epigenetic instability through the formation of 8-hydroxydeoxyguanosine in human hepatocarcinogenesis. *Digestive Diseases*, 31(5-6), 459-466. <https://doi.org/10.1159/000355245>
- Ojeda, D., Jiménez-Ferrer, E., Zamilpa, A., Herrera-Arellano, A., Tortoriello, J., & Alvarez, L. 2010. Inhibition of angiotensin convertin enzyme (ACE) activity by the anthocyanins delphinidin- and cyanidin-3-O-sambubiosides from *Hibiscus sabdariffa*. *Journal of Ethnopharmacology*, 127(1), 7-10. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.09.059>
- Oparil, S., Zaman, M. A., & Calhoun, D. A. 2003. Pathogenesis of hypertension. *Annals of Internal Medicine*, 139(9), 761-776. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-139-9-200311040-00011>
- Organización Mundial de la Salud (2023) Hipertensión. [www.who.int https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hypertension#:~:text=Se%20habla%20de%20hipertensi%C3%B3n%20cuando,es%20tomarse%20la%20tensi%C3%B3n%20arterial](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hypertension#:~:text=Se%20habla%20de%20hipertensi%C3%B3n%20cuando,es%20tomarse%20la%20tensi%C3%B3n%20arterial).
- Organización Mundial de la Salud (2021) Más de 700 millones de personas con hipertensión sin tratar. [www.who.int https://www.who.int/news/item/25-08-2021-more-than-700-million-people-with-untreated-hypertension](https://www.who.int/news/item/25-08-2021-more-than-700-million-people-with-untreated-hypertension)
- Öztürk, M., Aydoğmuş Öztürk, F., Duru, M., & Topcu, G. 2007. Antioxidant activity of stem and root extracts of Rhubarb (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant. *Food Chemistry*, 103, 623-630. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.09.005>
- Pacher, P., Beckman, J. S., & Liaudet, L. 2007. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiological Reviews*, 87(1), 315-424. <https://doi.org/10.1152/physrev.00029.2006>
- Paixão, N., Perestrelo, R., Marques, J. C., & Câmara, J. S. 2007. Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red, rosé and white wines. *Food Chemistry*, 105(1), 204-214. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.04.017>

- Pascual, M. E., Slowing, K., Carretero, E., Sánchez Mata, D., & Villar, A. 2001. *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. *Journal of Ethnopharmacology*, 76(3), 201-214. [https://doi.org/10.1016/s0378-8741\(01\)00234-3](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(01)00234-3)
- Phillips, O. A., Mathew, K. T., & Oriowo, M. A. 2006. Antihypertensive and vasodilator effects of methanolic and aqueous extracts of *Tribulus terrestris* in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 104(3), 351-355. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.09.027>
- Piña-Pozas, M., Araujo-Pulido, G., Castillo-Castillo. 2020. Hipertensión arterial un problema de salud pública en México. Instituto Nacional de Salud Pública. <https://www.insp.mx/avisos/5398-hipertension-arterial-problema-salud-publica.html>
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., & Bitto, A. 2017. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cell Longevity*, 2017, 8416763. <https://doi.org/10.1155/2017/8416763>
- Plaza M., Pozzo T., Liu J., Gulshan Ara K.Z., Turner C., Nordberg Karlsson E. 2014. Substituent effects on *in vitro* antioxidizing properties, stability, and solubility in flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 3321–3333. doi: 10.1021/jf405570u.
- Qiao, Y., Shin, J. I., Sang, Y., Inker, L. A., Secora, A., Luo, S., Coresh, J., Alexander, G. C., Jackson, J. W., Chang, A. R., & Grams, M. E. 2019. Discontinuation of Angiotensin Converting Enzyme Inhibitors and Angiotensin Receptor Blockers in Chronic Kidney Disease. *Mayo Clinic Proceedings*, 94(11), 2220-2229. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2019.05.031>
- Rafieian-Kopaei, M., Baradaran, A., & Rafieian, M. 2013. Plants antioxidants: From laboratory to clinic. *Journal of Nephropathology*, 2(2), 152-153. <https://doi.org/10.12860/jnp.2013.26>
- Rahman, M. M., Rahaman, M. S., Islam, M. R., Rahman, F., Mithi, F. M., Alqahtani, T., Almikhlaifi, M. A., Alghamdi, S. Q., Alruwaili, A. S., Hossain, M. S., Ahmed, M., Das, R., Emran, T. B., & Uddin, M. S. 2021. Role of Phenolic Compounds in Human Disease: Current Knowledge and Future Prospects. *Molecules*, 27(1). <https://doi.org/10.3390/molecules27010233>
- Ramírez-Torres, G., Ontiveros, N., Lopez-Teros, V., Ibarra-Diarte, J. A., Reyes-Moreno, C., Cuevas-Rodríguez, E. O., & Cabrera-Chávez, F. (2017). Amaranth Protein Hydrolysates Efficiently Reduce Systolic Blood Pressure in Spontaneously Hypertensive Rats. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 22(11), 1905. <https://doi.org/10.3390/molecules22111905>
- Randhir, R., Lin, Y.-T., & Shetty, K. 2004. Stimulation of phenolics, antioxidant and antimicrobial activities in dark germinated mung bean sprouts in response to peptide and phytochemical elicitors. *Process Biochemistry*, 39(5), 637-646. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00197-3](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00197-3)
- Rivellese, A. A., Ciciola, P., Costabile, G., Vetrani, C., & Vitale, M. 2019. The Possible Role of Nutraceuticals in the Prevention of Cardiovascular Disease. *High Blood Pressure & Cardiovascular Prevention*, 26(2), 101-111. <https://doi.org/10.1007/s40292-019-00309-5>
- Rivero-Cruz, I., Duarte, G., Navarrete, A., Bye, R., Linares, E., & Mata, R. 2011. Chemical composition and antimicrobial and spasmolytic properties of *Poliomintha longiflora* and *Lippia graveolens* essential oils. *Journal of Food Science*, 76(2), C309-317.

<https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.02022.x>

- Roberfroid, M. B. 2000. A European consensus of scientific concepts of functional foods. *Nutrition*, 16(7-8), 689-691. [https://doi.org/10.1016/s0899-9007\(00\)00329-4](https://doi.org/10.1016/s0899-9007(00)00329-4)
- Rodrigo, R., Gonzalez, J., & Paoletto, F. 2011. The role of oxidative stress in the pathophysiology of hypertension. *Hypertension Research*, 34(4), 431-440. <https://doi.org/10.1038/hr.2010.264>
- Rodriguez-Iturbe, B., Pons, H., & Johnson, R. J. 2017. Role of the Immune System in Hypertension. *Physiological Reviews*, 97(3), 1127-1164. <https://doi.org/10.1152/physrev.00031.2016>
- Sakaida, H., Nagao, K., Higa, K., Shirouchi, B., Inoue, N., Hidaka, F., Kai, T., & Yanagita, T. 2007. Effect of *Vaccinium ashei* reade leaves on angiotensin converting enzyme activity in vitro and on systolic blood pressure of spontaneously hypertensive rats *in vivo*. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 71(9), 2335-2337. <https://doi.org/10.1271/bbb.70277>
- Sánchez-Recillas, A., Gonzalez, N., Barrera, V., Ibarra-Barajas, M., Estrada-Soto, S., & Ortiz-Andrade, R. 2019. Vasorelaxant and Antihypertensive Activities of Citroflavonoids (Hesperidin/Naringenin Mixture): Potential Prophylactic of Cardiovascular Endothelial Dysfunction. *Pharmacognosy Magazine*, 15, S84-91. <https://doi.org/10.4103/pm.pm.489.18>
- Sánchez-Valle, V. & Méndez-Sánchez, N. 2018. Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad. *Revista de Investigación Médica Sur*, 20(3), 161-168.
- Santos, M. C., Toson, N. S. B., Pimentel, M. C. B., Bordignon, S. A. L., Mendez, A. S. L., & Henriques, A. T. 2020. Polyphenols composition from leaves of *Cuphea* spp. and inhibitor potential, in vitro, of angiotensin I-converting enzyme (ACE). *Journal of Ethnopharmacology*, 255, 112781. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112781>
- Serrano, J., Goñi, I., & Saura-Calixto, F. 2007. Food antioxidant capacity determined by chemical methods may underestimate the physiological antioxidant capacity. *Food Research International*, 40, 15-21. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2006.07.010>
- Sharma, A., Shahzad, B., Rehman, A., Bhardwaj, R., Landi, M., & Zheng, B. (2019). Response of Phenylpropanoid Pathway and the Role of Polyphenols in Plants under Abiotic Stress. *Molecules*, 24(13), 2452. <https://www.mdpi.com/1420-3049/24/13/2452>
- Silva, T. M. S., Camara, C. A., & de Fátima Agra, M. 2022. Flavonoid Aglycones in Species of *Solanum*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 32(2), 201-210. <https://doi.org/10.1007/s43450-022-00244-y>
- Sociedad Europea de Cardiología. 2017. Guía sobre el tratamiento del infarto agudo de miocardio en pacientes con elevación del segmento ST. *Revista Española de Cardiología*, 70(12), 1082e1-e61. <https://doi.org/10.1016/j.recesp.2017.10.048>
- Sociedad Europea de Cardiología & European Society of Hipertensión. 2018. Guía ESC/ESH 2018 sobre el diagnóstico y tratamiento de la hipertensión arterial. *Revista Española de Cardiología*, 72(2), 160e1-178. <https://doi.org/10.1016/j.recesp.1016/j.recesp.2018.11.022>

- Sosnowska, B., Penson, P., & Banach, M. 2017. The role of nutraceuticals in the prevention of cardiovascular disease. *Cardiovascular Diagnosis & Therapy*, 7(Suppl 1), S21-S31. <https://doi.org/10.21037/cdt.2017.03.20>
- Spiridon, I., Colceru, S., Anghel, N., Teaca, C. A., Bodirlau, R., & Armatu, A. 2011. Antioxidant capacity and total phenolic contents of oregano (*Origanum vulgare*), lavender (*Lavandula angustifolia*) and lemon balm (*Melissa officinalis*) from Romania. *Natural Product Research*, 25(17), 1657-1661. <https://doi.org/10.1080/14786419.2010.521502>
- Subhan, F., Karim, N, Gilani, A.S. & Sewell, R. 2009. Terpenoid content of *Valeriana wallichii* extracts and antidepressantlike response profiles. *Phytotherapy Research*, 25(5), 686-691. <https://doi.org/10.1002/ptr.2980>
- Swain, T. & Hillis, W.E. 1959. The phenolics constituents of *Prunus domestica* I. The quantitative analysis of phenolics constituents. *Journal of Science in Food and Agriculture*. 10, 63-68.
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevalos, L. Byrne, D.H. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 669-675.
- Tian, L., Cao, J., Zhao, T., Liu, Y., Khan, A., & Cheng, G. 2021. The Bioavailability, Extraction, Biosynthesis and Distribution of Natural Dihydrochalcone: Phloridzin. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(2). <https://doi.org/10.3390/ijms22020962>
- Tome-Carneiro, J., & Visioli, F. 2016. Polyphenol-based nutraceuticals for the prevention and treatment of cardiovascular disease: Review of human evidence. *Phytomedicine*, 23(11), 1145-1174. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2015.10.018>
- Touyz, R. M. 2004. Reactive oxygen species, vascular oxidative stress, and redox signaling in hypertension: what is the clinical significance? *Hypertension*, 44(3), 248-252. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000138070.47616.9d>
- Touyz, R. M., & Schiffrin, E. L. 2001. Increased generation of superoxide by angiotensin II in smooth muscle cells from resistance arteries of hypertensive patients: role of phospholipase D-dependent NAD(P)H oxidase-sensitive pathways. *Journal of Hypertension*, 19(7), 1245-1254. <https://doi.org/10.1097/00004872-200107000-00009>
- Ullah, A., Munir, S., Badshah, S. L., Khan, N., Ghani, L., Poulson, B. G., Emwas, A. H., & Jaremko, M. 2020. Important Flavonoids and Their Role as a Therapeutic Agent. *Molecules*, 25(22). <https://doi.org/10.3390/molecules25225243>
- Unger, T., Borghi, C., Charchar, F., Khan, N.A., Poulter, N.R., Prabhakaran, D., Ramirez, A., Schlaich, M., Stergiou, G.S., Tomaszewski, M., Wainford, R.D. Williams, B. & Schutte, A.E. 2020. 2020 International Society of Hypertension Global Hypertension Practice Guidelines. *Hypertension*, 75(6)1334-1357. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.15026>
- Valenzuela, P. L., Carrera-Bastos, P., Galvez, B. G., Ruiz-Hurtado, G., Ordovas, J. M., Ruilope, L. M., & Lucia, A. 2021. Lifestyle interventions for the prevention and treatment of hypertension. *Nature Reviews Cardiology*, 18(4), 251-275. <https://doi.org/10.1038/s41569-020-00437-9>
- Velderrain-Rodríguez, G. R., Palafox-Carlos, H., Wall-Medrano, A., Ayala-Zavala, J. F., Chen, C.

- Y., Robles-Sánchez, M., Astiazaran-García, H., Alvarez-Parrilla, E., & González-Aguilar, G. A. 2014. Phenolic compounds: their journey after intake. *Food & Function*, 5(2), 189-197. <https://doi.org/10.1039/c3fo60361j>
- Verma, N., Rastogi, S., Chia, Y. C., Siddique, S., Turana, Y., Cheng, H. M., Sogunuru, G. P., Tay, J. C., Teo, B. W., Wang, T. D., Tsoi, K. K. F., & Kario, K. 2020. Non-pharmacological management of hypertension. *The Journal of Clinical Hypertension*, 23(7), 1275-1283. <https://doi.org/10.1111/jch.14236>
- Vermerris, W., & Nicholson, R. 2006. Phenolic Compounds and their Effects on Human Health. In W. Vermerris & R. Nicholson (Eds.), *Phenolic Compound Biochemistry* (pp. 235-255). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5164-7\\_7](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5164-7_7)
- Visioli, F., Bogani, P., Grande, S., & Galli, C. 2005. Mediterranean food and health: building human evidence. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 56 Suppl 1, 37-49.
- Wagner-Grau, P. 2010. Fisiopatología de la hipertensión arterial. *Anales de la Facultad de Medicina*, 71(4), 225-229.
- Wei, H.-k., Chen, G., Wang, R.-J., & Peng, J. 2015. Oregano essential oil decreased susceptibility to oxidative stress-induced dysfunction of intestinal epithelial barrier in rats. *Journal of Functional Foods*, 18, 1191-1199. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.02.035>
- Willcox, J. K., Ash, S. L., & Catignani, G. L. 2004. Antioxidants and prevention of chronic disease. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(4), 275-295. <https://doi.org/10.1080/10408690490468489>
- World Health Organization. 2014. Global status report on noncommunicable diseases. 2014. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/148114>
- Wu, M.P., Wu, S.F.V., Wang, T.C., Kao, M.J., & Yang, W.L. 2012. Effectiveness of a community-based health promotion program targeting people with hypertension and high cholesterol. *Nursing & Health Sciences*, 14(2), 173-181. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1442-2018.2011.00675.x>
- Xiao, J. 2017. Dietary flavonoid aglycones and their glycosides: Which show better biological significance?. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(9), 1874-1905. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1032400>
- Yamamoto-Moreno, J. A., Navarro-Rodríguez, S. A., Ruiz-Pérez, S., Godínez-Reyes, J. C., & Mendoza-Rojo, M. 2020. Hypertension Awareness, Treatment, and Control in Mexico: An Opportunistic Medical Student-led Blood Pressure Screening Campaign – A Cross-sectional Study. *International Journal of Medical Students*, 8(3), 263-272. <https://doi.org/10.5195/ijms.2020.639>
- Yasui, M., Kanemaru, Y., Kamoshita, N., Suzuki, T., Arakawa, T., & Honma, M. 2014. Tracing the fates of site-specifically introduced DNA adducts in the human genome. *DNA Repair*, 15, 11-20. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2014.01.003>
- Yoshida, J., Yamamoto, K., Mano, T., Sakata, Y., Nishikawa, N., Nishio, M., Ohtani, T., Miwa, T., Hori, M., & Masuyama, T. 2004. AT1 receptor blocker added to ACE inhibitor provides benefits at advanced stage of hypertensive diastolic heart failure. *Hypertension*, 43(3), 686-691. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000118017.02160.f0>

- Zhang, R., Behbehani, K., Crandall, C. G., Zuckerman, J. H., & Levine, B. D. 2001. Dynamic regulation of heart rate during acute hypotension: new insight into baroreflex function. *The American Journal of Physiology Heart and Circulation Physiology*, 280(1), H407-419. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.2001.280.1.H407>
- Zhang, Y., Cai, P., Cheng, G., & Zhang, Y. 2022. A Brief Review of Phenolic Compounds Identified from Plants: Their Extraction, Analysis, and Biological Activity. *Natural Product Communications*, 17(1), 1934578X211069721. <https://doi.org/10.1177/1934578x211069721>
- Zheng, W. W. S. Y. 2001. Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(11), 5165-5170.
- Zulueta, A., Esteve, M. J., & Frígola, A. 2009. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chemistry*, 114(1), 310-316. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.033>