
Evaluación de la actividad hipotensora del *Maytenus Krukovii* (Chuchuhuasi) en rata consciente

MAYTENUS KRUKOVII (CHUCHUHUASI) EFFECTS ON BLOOD PRESSURE AND CARDIAC FREQUENCY IN CONSCIOUS RATS

Salazar-Granara Alberto ¹, Milla-Flores D., Morales-Gutiérrez V. ², Velarde-Barrantes L., Villanueva-Espinoza A., Segura-Carrillo K., Casquero-Del Castillo D., Vargas-Pareja Y., Vela-González Y., Sánchez-Alarcón V. ³, Manrique Mejía R. ⁴.

RESUMEN

Maytenus krukovii (chuchuhuasi), oriunda de la amazonia sudamericana, tradicionalmente se le atribuye acción analgésica, antiinflamatoria, afrodisíaca entre otros; investigaciones reportan acción analgésica con intermediación de receptores opiáceos, efecto antipirético, antiinflamatorio y gastroprotector. El presente estudio experimental indagó acerca de la acción sobre la presión arterial y frecuencia cardíaca del chuchuhuasi en rata consciente. Se utilizaron 10 ratas albinas machos, a las que se les administró vía oral, 1000 mg/Kg. de extracto metanólico de chuchuhuasi, se registraron básicas y controles de presión arterial y frecuencia cardíaca a las 1, 3, 4 y 24 horas, utilizando el LE 5000 Meter Pressure. Los resultados obtenidos muestran comparados con los valores básicos, actividad hipotensora del *Maytenus Krukovii* destacándose el máximo efecto a la hora de administración, presión arterial sistólica (238 vs. 181 mmhg), diastólica (200 vs. 129 mmhg) y media (299 vs. 187 mmhg); respecto a la frecuencia cardíaca *Maytenus krukovii* mostró actividad bradicárdica, siendo su máximo efecto a las 3 horas de administrado el chuchuhuasi (430 vs. 386 latidos por minuto). Se concluye en que *Maytenus krukovii* presenta acción hipotensora y cronotropa negativa.

Palabras Clave: *Maytenus Krukovii*, presión arterial, frecuencia cardíaca.

SUMMARY

Maytenus krukovii (chuchuhuasi), is originary from the South American Amazonian Forest. Traditionally, anti-inflammatory, analgesic, aphrodisiac properties are attributed to this plant. Research reports suggest analgesic action by intermediation of opioid receptors, antipyretic effects, anti-inflammatory and gastro protective actions. The present experimental study inquired about the action of chuchuhuasi on blood pressure and cardiac frequency on conscious rats. Ten male albino rats were administered orally with 1000mg/kg of methanolic extract of chuchuhuasi. Basal, blood pressure and cardiac frequency were registered at hour 1, 3, 4 and 24, using LE 5000 Meter Pressure. Results obtained show comparative values regarding basal values, with hypotensive activity of *Maytenus krukovii*. The maximum value is detected at the first hour of administration, systolic blood pressure (238 vs. 181 mmhg), diastolic (200 vs. 129 mmhg) and media (299 vs. 187 mmhg) were obtained. Regarding cardiac frequency, *Maytenus krukovii* showed bradycardic activity, the highest effect recorded after 3 hours (430 vs. 386 beats/minute). We conclude that *Maytenus krukovii* has hypotensive action and negative chronotropic effects.

Key words: *Maytenus krukovii*, blood pressure, cardiac frequency

1 Médico Cirujano, Docente Investigador, Instituto de Investigación, Facultad de Medicina Humana, Universidad de San Martín de Porres. Lima – Perú.

2 Médico-Cirujano, Egresado Facultad de Medicina Humana, Universidad de San Martín de Porres. Lima – Perú.

3 Estudiantes de la Cátedra de Farmacología, Facultad de Medicina Humana, Universidad de San Martín de Porres. Lima – Perú.

4 Doctor, Médico Internista, Jefe del Centro de Investigación de Medicina Tradicional y Farmacología, Profesor de Farmacología, Facultad de Medicina Humana de la Universidad de San Martín de Porres. Lima – Perú.

INTRODUCCIÓN

Las investigaciones de los efectos medicinales del *Maytenus krukovii* (Chuchuhuasi), comenzaron en la época del antiguo Perú, siendo este folclóricamente recomendado entre otros como antiinflamatorio, analgésico, diurético y afrodisíaco^{1,2,3,4}. *Maytenus krukovii* por fitoquímica cualitativa se sabe presenta alcaloides, flavonoides, saponitas, taninos entre otros; asimismo se le ha comprobado *In vivo* a dosis de 1000 mg/kg, de extracto puro, acción antipirética, antiinflamatoria, analgésica y por anatomía patológica mínimas lesiones gástricas, sugiriendo gastroprotección^{5,6}.

Por otra parte en ensayos experimentales de dolor *In vivo*, se ha observado supresión total del efecto analgésico del *Maytenus krukovii*, por afecto de Clorhidrato de Naloxona, determinando la intermediación de receptores opiáceos en su acción analgésica, y estudios de toxicidad aguda demostraron una DL50 de 1710 mg/kg con DS de 211 mg/kg, siendo clasificada según los criterios de Williams como de leve toxicidad^{7,13}. Otras especies de *Maytenus* cuentan con investigaciones que han dado resultados que difieren desde la marcha fitoquímica, toxicidad, actividad antipirética, y efectos sobre la presión arterial^{8,9,10,11,12}.

Existen modelos experimentales *In vivo*, en los que se determinan los efectos sobre la presión arterial, estos se hacen en animales anestesiados y no anestesiados; *Maytenus forsskaoliana* presentó acción hipotensora e inotrópica positiva, en rata anestesiada^{12,13,14,15,16}.

Teniendo en cuenta estos antecedentes, se estudió la acción sobre la presión arterial y frecuencia cardíaca, del extracto metanólico de *Maytenus krukovii*, a dosis de 1000 mg/kg, en un modelo experimental *In vivo* no estresante y en animal no anestesiado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales de Experimentación

Se Utilizaron 10 ratas albinas, machos de un peso aproximado entre 200-250 gr, las cuales procedieron del Centro Nacional de Producción de Biológicos del Ministerio de Salud del Perú, estas se acondicionaron al Bioterio de la

Facultad de Medicina Humana de la USMP a una T° de 22 °C (+-3) con una humedad promedio de 30 – 70%.

Preparación del Extracto Metanólico

El extracto se preparó a partir del material seco y molido de la corteza del *Maytenus Krukovii* (Chuchuhuasi); se maceró por una semana en metanol solución al 20%, posteriormente la mixtura fue filtrada y secada a temperatura ambiente por un periodo de 48 horas promedio hasta obtener un polvo muy fino, el mismo se almacenó en envases herméticos para su posterior disolución en NaCl al 9 o/oo a las concentraciones que se requirió en las experiencias del presente estudio. Adicionalmente la muestra fue sometida a control microbiológico; el cual fue realizado en el Centro de Microbiología y Parasitología de la FMH – USMP, el cual calificó como óptima para las experiencias que se requieran.

Determinación de La Actividad Hipotensora en Rata Consciente

La medida de la presión arterial y frecuencia cardíaca se realizó de modo indirecto desde la cola del animal mediante esfigmomanometría, utilizando para este fin el Instrumento LE 5000 Meter Pressure, dado que la presión arterial fluctúa a lo largo del día, se realizó la determinación de esta en horas prefijadas; los pasos a seguir fueron los siguientes:

Los animales durante dos o tres días pasaron por un periodo de adaptación a las condiciones experimentales del ensayo y recibieron una dieta estándar, durante las 18 horas previas al ensayo se mantuvieron en ayunas con agua de bebida *ad libitum*.

La medida de presión arterial sistólica y frecuencia cardíaca se realiza de modo indirecto desde la cola del animal previo calentamiento de la misma en estufa con el fin de obtener un flujo sanguíneo abundante que facilite la lectura de presión.

Se colocó el manguito en la cola del animal que permitió detectar, una vez insuflado, la presión arterial del mismo.

Se determinaron los valores basales de presión sistólica y frecuencia cardíaca antes de la administración de *Maytenus Krukovii* (Chuchuhuasi) y a las 1, 3, 4, y 24 horas después del tratamiento.

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Los datos obtenidos fueron tabulados y expresados en frecuencias, medias y desviación estándar, usando el programa estadístico SPSS versión 10 y Microsoft Excel versión Windows 2000.

RESULTADOS

FRECUENCIA CARDIACA

- La frecuencia cardiaca basal tuvo una media de 430.90 y una DS de +/- 71.99.
- La frecuencia cardiaca tras una hora de la administración del *Maytenus krukovii* (Chuchuhuasi) tuvo una media de 422.70 y una DS de +/- 88.25.
- La frecuencia cardiaca a tres horas de la administración del *Maytenus krukovii* (Chuchuhuasi) tuvo una media de 386.40 y una DS de +/- 60.89.
- La frecuencia cardiaca tras cuatro horas de la administración del *Maytenus krukovii* (Chuchuhuasi) tuvo una media de 402.00 y una DS de +/- 62.03.
- La frecuencia cardiaca tras veinticuatro horas de la administración del *Maytenus krukovii* (Chuchuhuasi) tuvo una media de 429.10 y una DS de +/- 46.22.
- Comparando estos promedios con los obtenidos por el grupo basal, se observa tras una hora de la administración del *Maytenus krukovii* (Chuchuhuasi), una disminución del porcentaje de la frecuencia cardiaca de 1.86%, 10.3 % a las 3 horas, 6.7 % a las 4 horas y 0.4 % a las 24 horas.

Tabla N° 1: Frecuencia Cardiaca de los grupos experimentales					
	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
FCB	10	284	548	430.9	71.99297805
FC1H	10	310	550	422.7	80.24967982
FC3H	10	279	460	386.4	60.88824006
FC4H	10	325	541	402	62.0268759
FC24H	10	356	493	429.1	46.21555775

FCB = Frecuencia Cardiaca Basal.
 FC1H = Frecuencia Cardiaca a las 3 horas.
 FC4H = Frecuencia Cardiaca a las 4 horas.
 FC24H = Frecuencia cardiaca a las 24 horas.

PRESIÓN ARTERIAL SISTÓLICA

- La presión arterial sistólica basal tuvo una media de 238.90 y una DS de +/- 51.41.
- La presión arterial sistólica tras una hora de la administración del *Maytenus krukovii* (Chuchuhuasi) tuvo una media de 181.30 mmHg y una DS de +/- 36.68.
- La presión arterial sistólica a tres horas de la administración del *Maytenus krukovii* (Chuchuhuasi) tuvo una media de 229.80 mmHg y una DS de +/- 90.31.
- La presión arterial sistólica tras cuatro horas de la administración del *Maytenus krukovii* (Chuchuhuasi) tuvo una media de 227.10 mmHg y una DS de +/- 60.47.
- La presión arterial sistólica tras veinticuatro horas de la administración del *Maytenus krukovii* (Chuchuhuasi) tuvo una media 227.10 mmHg y una DS de +/- 74.14.
- Comparando estos promedios con los obtenidos por el grupo basal, se observa tras una hora de la administración del *Maytenus Krukovii* (Chuchuhuasi), una disminución del porcentaje de la presión arterial sistólica de 24.1% a la hora, 3.8 % a las 3 horas, 4.9 % a las 4 horas y 4.9 % a las 24 horas.

Tabla N° 2: Presión arterial sistólica de los grupos experimentales.					
	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
PASB	10	120	314	238.9	51.40568494
PAS1H	10	105	221	181.3	36.67893734
PAS3H	10	83	411	229.8	90.31278979
PAS4H	10	117	295	227.1	60.46670342
PAS24H	10	96	297	227.1	74.14467839
PASB = Presión Arterial Sistólica Basal. PAS1H = Presión Arterial Sistólica a las 3 horas. PAS4H = Presión Arterial Sistólica a las 4 horas. PAS24H = Presión Arterial Sistólica a las 24 horas.					

PRESIÓN ARTERIAL DIASTÓLICA

- La presión arterial diastólica basal tuvo una media de 200.60 mmHg y una DS de +/- 49.72.
- La presión arterial diastólica tras una hora de la administración del *Maytenus krukovii* (Chuchuhuasi) tuvo una media de 129.60 mmHg y una DS de +/- 39.02.
- La presión arterial diastólica tras tres horas de la administración del *Maytenus krukovii* (Chuchuhuasi) tuvo una media de 176.60 mmHg y una DS de +/- 73.42.
- La presión arterial diastólica a cuatro horas de la administración del *Maytenus krukovii* (Chuchuhuasi) tuvo una media de 184.80 mmHg y una DS de +/- 50.61.
- La presión arterial diastólica tras veinticuatro horas de la administración del *Maytenus krukovii* (Chuchuhuasi) tuvo una media 181.00 mmHg y una DS de +/- 70.72
- Comparando estos promedios con los obtenidos por el grupo basal, se observa tras una hora de la administración del *Maytenus krukovii* (Chuchuhuasi), una disminución del porcentaje de la presión arterial diastólica de 35.4% a la hora, 12 % a las 3 horas, 7.9% a las 4 horas y 9.8 % a las 24 horas.

Tabla N° 3: Presión Arterial Diastólica de los grupos de Investigación					
	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
PADB	10	109	292	200.6	49.71742373
PAD1H	10	52	170	129.6	39.02193116
PAD3H	10	58	297	176.6	73.41692206
PAD4H	10	104	238	184.8	50.60698239
PAD24H	10	65	246	181	70.72481884
PADB = Presión Arterial Diastólica Basal. PAD1H = Presión Arterial Diastólica a las 3 horas. PAD4H = Presión Arterial Diastólica a las 4 horas. PAD24H = Presión Arterial Diastólica a las 24 horas.					

PRESIÓN ARTERIAL MEDIA

- La presión arterial media basal tuvo una media de 213.00 mmHg y una DS de +/- 47.96
- La presión arterial media tras una hora de la administración del *Maytenus krukovii* (Chuchuhuasi) tuvo una media de 147.10 mmHg y una DS de +/- 37.39.
- La presión arterial media a tres horas de la administración del *Maytenus krukovii* (Chuchuhuasi) tuvo una media de 188.20 mmHg y una DS de +/- 67.08.
- La presión arterial media tras cuatro horas de la administración del *Maytenus krukovii* (Chuchuhuasi) tuvo una media de 199.60 mmHg y una DS de +/- 53.89.
- La presión arterial media tras veinticuatro horas de la administración del *Maytenus krukovii* (Chuchuhuasi) tuvo una media 194.70 mmHg y una DS de +/- 71.68
- Comparando estos promedios con los obtenidos por el grupo basal, se observa tras una hora de la administración del *Maytenus krukovii* (Chuchuhuasi), una disminución del porcentaje de la presión arterial media de 30.9 % a la hora, 11.6 % a las 3 horas, 6.3% a las 4 horas y 8.6 % a las 24 horas.

Tabla N° 4: Presión arterial de los grupos experimentales					
	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
PAMB	10	112	299	213	47.960632
PAM1H	10	69	187	147.1	37.3911754
PAM3H	10	66	270	188.2	67.0833644
PAM4H	10	108	256	199.6	53.8871248
PAM24H	10	67	262	194.7	71.6752708

PAMB = Presión Arterial Media Basal.
 PAM1H = Presión Arterial Media a las 3 horas.
 PAM4H = Presión Arterial Media a las 4 horas.
 PAM24H = Presión Arterial Media a las 24 horas.

DISCUSIÓN

En el Perú, se utiliza, empíricamente, alrededor de 1400 especies de plantas con fines medicinales, cuyo uso popular se registra durante miles de años^{17,18}. Chuchuhuasi (*Maytenus krukovii*), es un árbol que crece en la amazonía de nuestro territorio; folclóricamente es usado como planta medicinal, desde la época del antiguo Perú y se le atribuye propiedades antiinflamatorias, analgésicas, diuréticas, afrodisíacas entre otras.^{1,2,3,4}

Maytenus krukovii (chuchuhuasi) a dosis de 1000 mg/kg, posee acción analgésica, antiinflamatoria, antipiretica comprobadas, en ensayos experimentales estresantes *In vivo*^{5,6,7,13}, otras especies de *Maytenus*, en animal anestesiado demostraron acción hipotensora y bradicardizante^{15,16}. Estos mismos efectos fueron corroborados en nuestro estudio con *Maytenus krukovii*, en un modelo experimental *In vivo* no estresante, vale decir en animal sin anestesia, se resalta que ambos efectos se dieron en picos, siendo mas sostenido el efecto sobre la presión arterial que sobre la frecuencia cardiaca.

Son conocidos los efectos sobre la presión arterial y frecuencia cardiaca, de algunos alcaloides usados en humanos, como por ejemplo la morfina, utilizada como vasodilatador esplancnico en eventos de insuficiencia cardiaca, por su efecto de disminución de la pre carga^{19,20,21}, suponemos por los antecedentes de intermediación de receptores opiáceos, en la acción antinociceptiva del *Maytenus krukovii*, que la acción hipotensora de la planta, sea también mediada por estos receptores opioides, y que los efectos sobre la FC pudieran ser producto de reflejos fisiológicos; ambas hipótesis deben ser exploradas en el futuro.

Sin embargo, se sabe a la actualidad que *Maytenus krukovii*, presenta como fitoelementos alcaloides, flavonoides, taninos, entre otros^{5,6,12}. Estudios reportan activación de receptores opioides por fitoalcaloides (Ej. morfina) y flavonoides^{22,23,24,25}, esta investigación aplicó todo el pool de elementos fitoquímicos del *Maytenus krukovii*, también se sabe de efectos a nivel de la presión arterial y frecuencia

cardíaca, por otros fitoelementos como los flavonoides^{26,27}, por lo que futuros ensayos deberán dilucidar estas interrogantes, con el afán de delimitar el o los principios activos más importantes, así como diseñar una nueva droga, proveniente de nuestra biodiversidad.

CONCLUSIONES

- *Maytenus krukovii* (Chuchuhuasi) posee actividad hipotensora a dosis de 1000 mg/kg, mostrando su máximo efecto hipotensor sobre la PAS, PAD y PAM en la primera hora.
- *Maytenus krukovii* (Chuchuhuasi) posee actividad bradicárdica a dosis de 1000 g/kg, mostrando su máximo efecto bradicardisante en la tercera hora.

CORRESPONDENCIA

Alberto Alcibíades Salazar Granara. Dirección postal, Instituto de Investigación, Facultad de Medicina Humana de la Universidad San Martín de Porres, Av. El Corregidor N° 1531, La Molina, Lima-Perú. Correo electrónico: alberto.salazar@gmail.com. Teléfono: (01) 365-2300 anexo 114.

AGRADECIMIENTOS

Los autores estamos reconocidos, por la excelencia en la guía y enseñanza, del Dr. Renán Manrique Mejía, y a nuestras Autoridades Universitarias, por acogernos, brindándonos apoyo en infraestructura, logística y financiero.

BIBLIOGRAFÍA

- 1 Schultes, Richard Evans y Robert E. Raffauf, 1990., El Bosque Curativo, las Plantas Medicinales y Tóxicas de la amazonía del noroeste (Portland, O la Prensa de Dioscorides).
- 2 Easterling, J. Los Usos Tradicionales de Rainforest Botánico, 1992
- 3 El duque, las Mermeladas A. y Rodolfo Vásquez, 1994., Diccionario de Amazonian Ethnobotanical (Boca Ratón, FL: la Prensa de CRC) : 114.
- 4 Kember Mejia y Elsa Reng, Usos Medicinales de Plantas de uso popular en la amazonía Peruana. AECI y IIAP, Lima, Perú. 1995
- 5 Jara P, Lengua L, Liu H, Rubio J, Salazar A et. Al, Comparación de la Actividad Analgésica y Antiulcerogénica del *Maytenus Krukovii* (Chuchuhuasi), frente a la fármaco terapéutica convencional. 2001, IMTAA-FMH USMP.
- 6 Rivas E., Lengua L., Liu H., Salazar A., Román L., et. Al, Estudios de la Actividad Analgésica de Extractos Metanólicos de *Maytenus Krukovii* (Chuchuhuasi), *Alchornea castaneifolia* (Hiporuro), *Sambucus nigra* (Saúco), y *Aristeguetia discolor* (Pulmonaria) en ratones frente al Ibuprofeno. 2002, IMTAA FMH USMP.
- 7 Salazar-Granara A., Santa María-Alvarez J, et al. Antinoci-cepción opioide del extracto metanólico del Chuchuhuasi (*Maytenus krukovii*) en un modelo de dolor visceral en ratón". Horizonte Medico, Vol.6-2, 135, 2006.
- 8 Viale S., Thorndike F, Neuman J., Efecto Antipirético de la Infusión del *Maytenus Abenfolia* (Chuchuhuasi) en conejos albinos de experimentación, frente a la farmacoterapia convencional. 2003, IMTAA FMH USMP.
- 9 Oliveira MG, Monteiro MG, Macaubas C, Barbosa VP, Carlini EA. Pharmacologic and toxicologic effects of two *Maytenus* species in laboratory animals. J Ethnopharmacol. 1991 Aug; 34(1):29-41.
- 10 Gonzalez FG, Portela TY, Stipp EJ, Di Stasi LC. Antiulcerogenic and analgesic effects of *Maytenus aquifolium*, *Sorocea bomplandii* and *Zolernia ilicifolia*. J Ethnopharmacol. 2001 Sep; 77(1):41-7.
- 11 Kimura E, Albiero AL, Cuman RK, Caparroz-Assef SM, Oga S, Bersani-Amado CA. Effect of *Maytenus aquifolium* extract on the pharmacokinetic and antiinflammatory effectiveness of piroxicam in rats. Phytomedicine. 2000 Apr; 7(2):117-21.
- 12 Kadriya S. El Deeb, Rwaida A. et. Al, Phytochemical and pharmacological studies of *maytenus forsskaoliana*, Saudi Pharmaceutical Journal, Vol. 11, No. 4, October 2003
- 13 Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED). Manual de Técnicas de Investigación. Marzo 1995.
- 14 Sosa B., Israel A., Papel Permisivo de la Angiotensina II en la respuesta simpática al Estrés, AVFT v.21 n.1 Caracas ene. 2002

- 15 Israel A, Cierco M, Sosa B. Angiotensin AT₂ receptors mediate vasodepressor response to footshock in rats: role of kinins, nitric oxide and prostaglandins. *European J Pharmacol* 2000; 394: 103-108.
- 16 Cierco M, Israel A. Role of AT₁ receptor in the cardiovascular response to footshock. *European J Pharmacol* 1994; 251: 103-106.
- 17 Brak Egg A. Tratado de libre comercio y biodiversidad en el Perú. Junio del 2004.
- 18 Palacios Lozada EE. Economía y plantas medicinales. Facultad De Ciencias Económicas, UNMSM. CSI, Vol 52. 2004.
- 19 Reisine T, Pasternak G. Opioid analgesics and antagonists. In: Hardman JC, Goodman Gilman A, Limbird LE (Eds.). Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics. New York, McGraw-Hill. 1996. 521-555.
- 20 Stein Ch, Yassouridis A. Acción analgésica periférica de la morfina. *Rev. Soc. Esp. Dolor* 5: 3-7, 1998.
- 21 Antonijevic I, Mousa SA, Schafer M, Stein C. Perineurial defect and peripheral opioid analgesia in inflammation. *J. Neurosci.*, 1995 (15) 165-172.
- 22 Thirugnanasambantham P, Viswanathan S, Ramaswamy S, Krishnamurthy V, Mythirayee CI, Ramachandran S, Kameswaran L. Involvement of calcium in flavonoid analgesia. *Eur J Pharmacol*. Aug 1988 2;152(3):367-369.
- 23 Bittar M, De Souza MM, Yunes RA, Lento R, Delle Monache F, Cechinel Filho V. Antinociceptive activity of I3,II8-binarigenin, a biflavonoid present in plants of the guttiferæ. *Planta Med* 2000, 66:84-86.
- 24 Ramesh M, Rao YN, Rao AV, Prabhakar MC, Rao CS, Muralidhar N, Reddy BM. Antinociceptive and anti-inflammatory activity of a flavonoid isolated from *Caralluma attenuata*. *J. Ethnopharmacol* 1998, 62:63-66.
- 25 Hossein Hosseinzadeh, Hani M Younesi. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Crocus sativus* L. stigma and petal extracts in mice. *BMC Pharmacology* 2002, 2:7.
- 26 Benito S, Lopez D, Saiz M, Buxaderas S, Sánchez J, Puig-Parellada P, et al. A flavonoid-rich diet increases nitric oxide production in rat aorta. *Brit J Pharmacology*. 2002;135:910-6.
- 27 Freedman J, Parker C, Li L, Perlman J, Ivanov V, Deak L. Select flavonoids and whole juice from purple grapes inhibit platelet function and enhance nitric oxide release. *Circulation*. 2001;103:2792.