



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO
VITEXINAS: C-HETERÓSIDOS DE
FLAVONOIDES DE INTERÉS TERAPÉUTICO

Autor: María Poza Ramírez

Fecha: Junio 2019

Tutor: María Teresa Ortega Hernández - Agero

RESUMEN.

Las vitexinas son unos tipos de flavonoides presentes en algunas plantas medicinales. Desde hace pocos años la comunidad científica está dirigiendo su atención hacia ellas, responsabilizándolas de algunos de los efectos de las plantas medicinales que las contienen. Debido a las propiedades farmacológicas de las vitexinas, se han realizado muchos trabajos para estudiar los mecanismos de acción por los que ejercen su actividad antiinflamatoria, antioxidante, antitumoral, cardioprotectora, neuroprotectora, metabólica (en patologías como diabetes u obesidad) y endocrina (en patologías como alteraciones de la función tiroidea). Gracias a estos estudios se ha podido saber más sobre las actividades farmacológicas de las vitexinas y la relación existente entre algunas de ellas.

Palabras clave: “vitexina”, “vitexina inflamación”, “vitexina oxidación”, “vitexina cáncer”, “vitexina cardioprotección”, “vitexina neuroprotección”, “vitexina diabetes”, “vitexina obesidad”.

Abstract.

Vitexins are a type of flavonoid to which the scientific community has been directing its attention lately, holding them responsible for some of the activities of the medicinal plants that contain them. Due to the interest towards their pharmacological properties, many works have been carried out to study the mechanisms of action through which they exercise their anti-inflammatory, antioxidant, antitumoral, cardioprotective and neuroprotective activities, and activities on metabolic pathologies such as diabetes or obesity and on endocrine pathologies such as thyroid function disturbances. As a result of these studies, it has been possible to learn more about the pharmacological activities of vitexins and the relationship between some of them.

Key words: “vitexin”, “vitexin inflammation”, “vitexin oxidative”, “vitexin cancer”, “vitexin cardioprotective”, “vitexin neuroprotective”, “vitexin diabetes”, “vitexin obesity”.

1. INTRODUCCIÓN.

Las vitexinas son compuestos de naturaleza fenólica que se encuentran en muchas plantas medicinales. Son concretamente unos tipos de flavonoides. Los flavonoides, originados mediante una ruta biosintética mixta a través de la ruta del ácido shikímico (anillos B y C) y la ruta de los policétidos (anillo A), poseen una estructura general de 2-fenilcromona. En la naturaleza pueden estar en forma de geninas libres o combinados con azúcares como heterósidos. Se clasifican en función del estado de oxidación del anillo central (C en figura 1) en distintos grupos como flavonas, flavonoles, flavanonas, antocianidinas, flavanoles y flavandioles. Las vitexinas son heterósidos de flavonas, por lo general apigenina (figura 1) que tienen la particularidad de establecer el enlace heterosídico a través de un carbono (C8) y no por medio de un grupo hidroxílico fenólico (figura 2) (Martínez-Florez *et al.* 2002; Miao He *et al.* 2016).

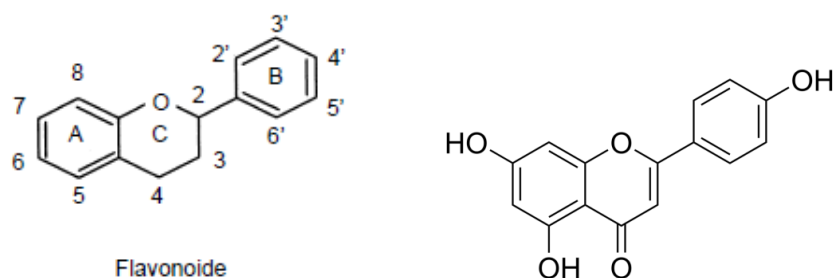


Figura 1.- Estructura básica de los flavonoides y de apigenina (Martínez-Florez *et al.*, 2002; Gradolatto *et al.*, 2005).

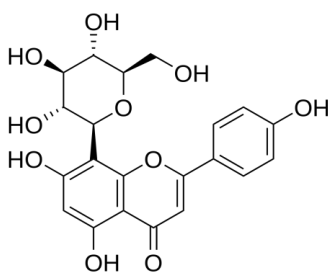


Figura 2.- Estructura química de vitexina (Xiao *et al.*, 2016).

Las vitexinas fueron aisladas por primera vez por Perkin de *Vitex lucens* Kirk (Verbenaceae) en 1898 y su estructura descrita por Briggs en 1958 (Venturini *et al.* 2018).

Las isovitexinas (apigenina-6-C-glucósido) son unos isómeros de las vitexinas que establecen el enlace heterosídico a través del carbono en la posición 6C en lugar del de la posición 8C de las vitexinas. Las isovitexinas también han demostrado tener varias actividades biológicas como antioxidante, antiinflamatoria o antidiabética. Ejercen efectos farmacológicos parecidos a los de las vitexinas, debido en parte a su similar estructura química (Miao He *et al.* 2016).

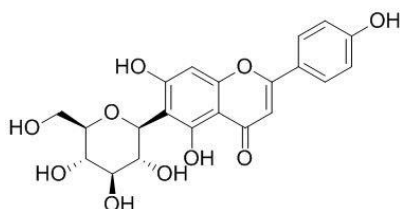


Figura 3.- Estructura química de isovitexina (Xiao *et al.*, 2016).

Las vitexinas se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza, muchas de ellas en drogas de uso tradicional como los frutos de sauzgatillo (*Vitex agnus castus*), sumidad de pasiflora (*Passiflora caerulea*) y sumidad de espino (*Crataegus monogyna*). También se han identificado en legumbres y cereales como maíz, trigo, arroz o cebada (M. He *et al.* 2016).

Desde hace pocos años la comunidad científica está dirigiendo su atención hacia este tipo de compuestos, responsabilizándoles de algunas de las actividades de las plantas medicinales que les contienen.

2. OBJETIVOS.

En este trabajo se plantea una profundización en el conocimiento de las actividades farmacológicas y efectos de este grupo de flavonoides, que están tomando en los últimos años mayor importancia entre las investigaciones de la comunidad científica. En base a ello se establecen como objetivos de esta revisión los siguientes:

- I. Profundizar en el conocimiento de los últimos avances científicos relacionados con las actividades farmacológicas de las vitexinas.
- II. Conocer los mecanismos de acción por los cuales las vitexinas ejercen sus diversas actividades biológicas.
- III. Evaluar en base a dichos estudios su posible empleo en terapéutica.

3. METODOLOGÍA.

Para la realización del trabajo se ha realizado una búsqueda bibliográfica en fuentes primarias y secundarias de información. Se han consultado tratados de Farmacognosia, Fitoquímica y Fitoterapia y se ha realizado una búsqueda de publicaciones científicas referenciadas en bases de datos como PubMed y ScienceDirect.

Como palabras clave en la búsqueda de fuentes fueron empleadas “vitexinas”, “vitexinas inflamación”, “vitexinas oxidación”, “vitexinas cáncer”, “vitexinas cardioprotección”, “vitexinas neuroprotección”, “vitexinas diabetes”, “vitexinas obesidad”.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Tras la búsqueda en bases de datos se observa cómo el número de trabajos científicos ha incrementado en los últimos años. El primer trabajo indexado en el que figura el nombre de “vitexin” o “isovitexin” es del año 1965, pero no es hasta el año 2000 cuando comienza a observarse un aumento importante que crece año a año.

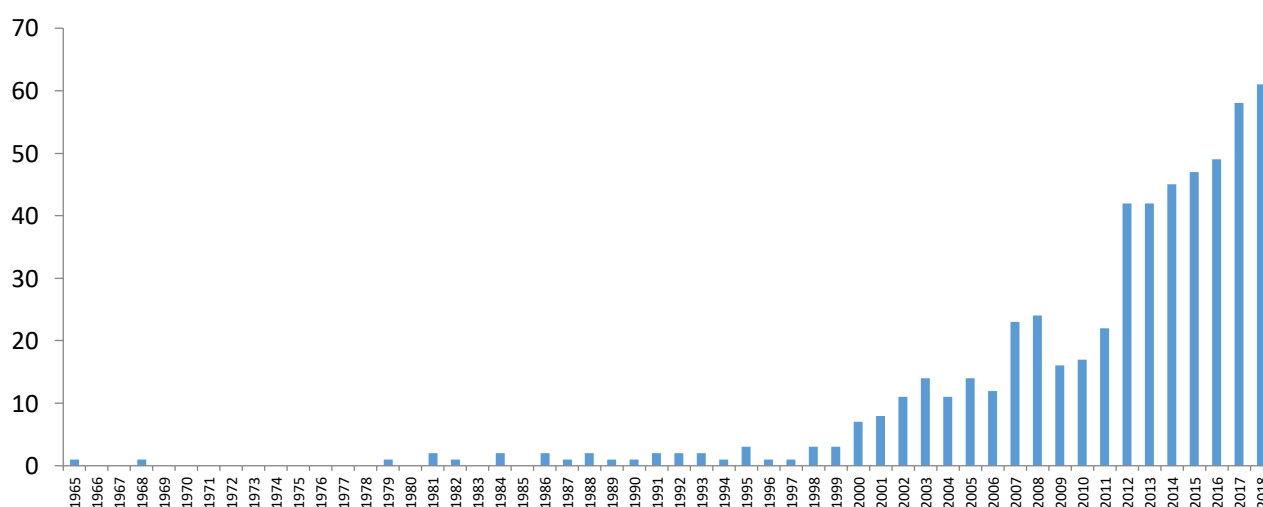


Figura 4.- Resultados por año de búsqueda de “vitexin” en PubMed (modificado de PubMed).

Hasta el momento las actividades farmacológicas atribuidas a las vitexinas más destacadas son antiinflamatoria, antioxidante, cardioprotectora, neuroprotectora, antitumoral, metabólica y endocrina.

Actividad antiinflamatoria.

In vitro: Según el estudio realizado por Rosa *et al.* (2016) en líneas celulares de macrófagos de ratón, las vitexinas atenúan la activación de las vías de las proteín-quinasa activadas por mitógeno (MAPKs): p38 (39.2% a la dosis de 25 µg/ml), quinasa c-Jun N-terminal (JNK) (75.1% a la dosis de 25 µg/ml) y proteín-quinasa 1 y 2 reguladas extracelularmente (ERK1/2) (81.2% a la dosis de 50 µg/ml). Estas vías están relacionadas con la expresión de genes que regulan la respuesta inflamatoria, por lo que el efecto antiinflamatorio de las vitexinas también está relacionado con la inactivación de p38, ERK1/2 y JNK. La vía de p38 juega un papel importante en la migración de células y en la producción de citocinas como TNF- α , IL-1 β o IL-10; JNK media la regulación post-traducciona de citocinas y ERK1/2 regula la expresión de citocinas mediante mecanismos transcripcionales y post-transcripcionales.

Según el trabajo realizado por Abd Nikfarjam *et al.* (2017), las vitexinas, aplicadas a neutrófilos sanguíneos periféricos humanos aislados activados, inducen una disminución significativa en la producción del factor α de necrosis tumoral (TNF- α) (80.94%) y de óxido nítrico (NO) (86.74%). En esas mismas células tratadas con vitexinas la actividad de mieloperoxidasa (MPO) se redujo en 87.3%. De este modo se descubre que el pretratamiento de neutrófilos con vitexinas puede reducir significativamente la producción de NO, TNF- α y MPO. Sin embargo, aún se desconoce el mecanismo celular y molecular por el cual las vitexinas ejercen la acción antiinflamatoria por esta vía.

In vivo: El estudio realizado por Guirra Rosa *et al.* (2016) corrobora los resultados obtenidos *in vitro*, ya que la administración oral de vitexinas en ratones redujo la concentración de TNF- α en el fluido peritoneal (69.9% a la dosis de 30 mg/kg). También redujo significativamente el número de neutrófilos en el foco inflamatorio, indicando una inhibición de su migración, y la concentración de IL-1 β en el fluido peritoneal (56.4% a la dosis de 15 mg/kg). Los neutrófilos juegan un papel importante en la defensa inmunitaria del huésped al eliminar los posibles patógenos mediante la fagocitosis. Los fagosomas formados se destruirán mediante la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) vía MPO, una enzima prooxidante que se encuentra en los gránulos de los neutrófilos y cuyo principal deber es destruir microorganismos. Sin embargo, bajo ciertas condiciones, se produce un exceso de oxidantes como son las ROS que causan daño tisular. Además, tanto NO como TNF- α son moléculas también producidas por los neutrófilos que intervienen en el proceso inflamatorio durante la respuesta inmune (Abd Nikfarjam *et al.*, 2017). Por tanto, si se inhibe la migración leucocitaria al foco de la inflamación, se conseguirá llevar a cabo una acción antiinflamatoria. Algunas citocinas como el propio TNF- α o IL-1 β pueden inducir otros mediadores proinflamatorios, como la formación de NO por medio de la sintasa de óxido nítrico 2 (NOS2), o quemquinas.

Cabe destacar que los efectos de las vitexinas no son dosis dependientes. Esto se puede explicar porque al ser la vitexina una molécula pleitrópica actúa en diferentes moléculas diana y su unión a receptores es mediante procesos complejos que dependen de variables distintas, no solo de la dosis. Además, altas dosis de vitexinas pueden provocar diversos mecanismos de respuesta fisiológica que pueden alterar sus concentraciones efectivas y por tanto modular sus

efectos por mecanismos compensatorios para mantener la homeostasis (Guirra Rosa *et al* 2016).

Según el mismo estudio, la administración oral de vitexinas en ratones inhibe la producción de la prostaglandina E₂ (PGE₂) (75.2% a la dosis de 25 µg/ml). La inhibición de PGE₂ está relacionada con la acción antiinflamatoria de las vitexinas. El NO que se produce en la inflamación activa a su vez a las ciclooxigenasas (COX), llevando así a la sobreproducción de prostaglandinas como la PGE₂. Así se explica cómo las vitexinas al inhibir la producción de NO inhiben la producción de PGE₂, la cual media indirectamente la migración de neutrófilos y potencia la producción de mediadores proinflamatorios como las citocinas (Guirra Rosa *et al* 2016). También se ha demostrado una contribución significativa de las vitexinas en los efectos inhibitorios de la expresión del mRNA de COX-2, una enzima proinflamatoria (Xiao *et al*, 2016).

Como conclusión, la actividad antiinflamatoria de las vitexinas es multi-diana, ya que ejercen esta acción actuando sobre distintos mecanismos. Su actividad antiinflamatoria se debe principalmente a la inhibición de la migración de leucocitos, particularmente de neutrófilos, y a la inactivación de la cascada de tres vías proinflamatorias (p38, ERK1/2 y JNK) que supone a su vez la inhibición de citocinas como TNF- α o IL-1 β y de NO, con la consecuente inhibición de la liberación de PGE₂ (Guirra Rosa *et al*, 2016).

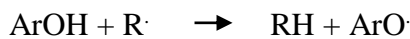
Vista su potente actividad antiinflamatoria, también se ha estudiado su importancia en patologías directamente relacionadas con los mecanismos de inflamación como es el asma. Según el estudio realizado por Venturini *et al* (2018), el tratamiento oral de ratones con vitexinas redujo la concentración de IL-3 (65%), IL-4 (64%) e IL-5 (96%). Los principales mediadores de la respuesta alérgica crónica inflamatoria son las células Th₂, que producen citocinas como IL-4, IL-5 o IL-13. Estas citocinas controlan el aumento de la migración de leucocitos, en particular eosinófilos, a las vías aéreas. La IL-5 se encarga del desarrollo de los eosinófilos en la médula espinal, mientras que la IL-4 promueve la diferenciación de LT a Th₂, la diferenciación de LB hacia la síntesis de IgE y la atracción química de los leucocitos al foco inflamatorio. En relación con las vías MAPKs previamente descritas, una elevación de las vías de ERK y descenso de p38 y JNK llevarían a la desviación de la inflamación al tipo Th₂, mientras que una elevación de p38 y JNK y un descenso de ERK llevarían a la desviación de la inflamación al tipo Th₁. Por tanto, al inhibir las tres vías, las vitexinas atenúan tanto la inflamación inmediata hipersensible como la aguda, debido a la inhibición de ambas diferenciaciones, Th₁ y Th₂. Como el asma es una respuesta alérgica, los niveles de IgE también estarán elevados en esta patología y están estrechamente relacionados con el incremento de las citocinas producidas por Th₂. En ese mismo trabajo se compararon los resultados obtenidos al tratar oralmente a los ratones con dexametasona (corticoide inhalado usado habitualmente como tratamiento del asma) y con vitexinas, y se demostró que a dosis menores de vitexinas se obtienen los mismos niveles de IgE, siendo estos más reducidos que si no hubiese tratamiento.

Actividad antioxidante.

La actividad antioxidante de las vitexinas, como la de cualquier otro flavonoide, depende de su estructura molecular, del grado de hidroxilación y glucosilación y de la posición de los grupos hidroxilo y glucosilo (Kim *et al*, 2005).

In vitro: Según el estudio realizado por Praveena *et al.* (2013), las vitexinas que se encontraron en el extracto metanólico de hojas y raíces de *Rhynchosia capitata* presentaron actividad captadora de radicales. Los radicales libres se producen durante los procesos de la oxidación que se dan en nuestro metabolismo y consisten en la transferencia de electrones de un átomo a otro. Los radicales libres más comunes son conocidos como especies reactivas de oxígeno (ROS) e incluyen moléculas como superóxido (O_2^-) y otras ya nombradas como óxido nítrico (NO) o hidroxil (HO^\cdot). El peligro de estas sustancias es que son químicamente muy inestables y causan daño a los lípidos de membrana, proteínas celulares y ácidos nucleicos, provocando así la patogénesis de diversas enfermedades. Los flavonoides como las vitexinas pueden captar esos radicales libres mediante dos mecanismos. Para que ambas reacciones sean termodinámicamente estables, se debe tener en cuenta la estabilidad del radical formado.

- En el primer caso, mediante la ruptura del enlace O-H se transfiere el hidrógeno de la molécula al radical:



- En el segundo caso, se transfiere un electrón de la molécula al radical. En esta cuanto menor es el potencial de ionización del catión radical, mayor es la actividad antioxidante:



Gracias a esa capacidad de donar un electrón o un átomo de hidrógeno las vitexinas ejercen su capacidad antioxidante.

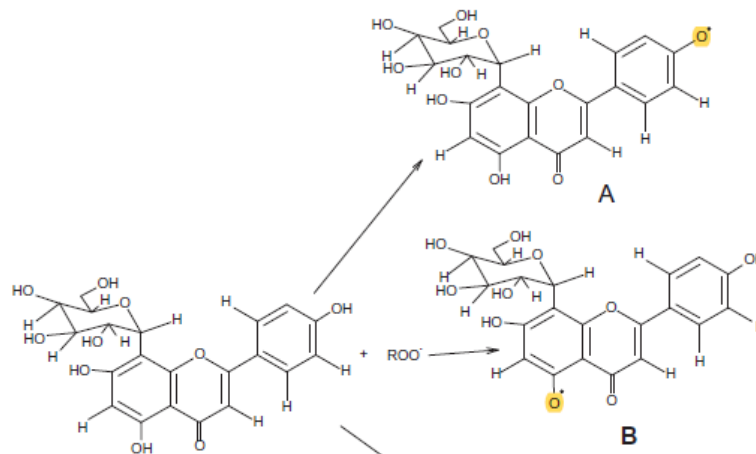


Figura 5.- Mecanismos de reacción de vitexinas con radicales por extracción del átomo de hidrógeno de diferentes posiciones (Praveena *et al.* 2013).

En cuanto a su estructura, la actividad antioxidante de la vitexina se debe a su grupo hidroxilo en la posición 4 del anillo B. La captación del átomo de hidrógeno de ese grupo hidroxilo es más fácil respecto a la captación de los grupos hidroxilo en las posiciones 5 y 7 del anillo A. Esto se debe a que el doble enlace entre las posiciones 2 y 3 y el grupo oxo en la posición 4 del anillo C suprimen la actividad captadora de radicales del anillo A en general. Además, el grupo glucósido de C-8 influye en la capacidad donadora de hidrógeno del anillo B, aumentando así la potencia antioxidante de la vitexina (Praveena *et al.*, 2013).

Según el estudio realizado por Hwa Kim *et al.* (2005), los fibroblastos dérmicos humanos del prepucio de un recién nacido tratados con vitexinas alcanzan mayores porcentajes de actividad captadora de radicales libres y disminuyen los niveles de ROS (37%). En ese estudio se compararon los efectos captadores de la vitexina con otros antioxidantes como butilhidroxitolueno (BHT), observándose que la actividad antioxidante de la vitexina era superior en las tres dosis empleadas que la de BHT, ya que se alcanzaban mayores porcentajes de actividad captadora de radicales superóxido. Anteriormente Savini *et al.* (1999) comprobaron en una línea celular de queratinocito inmortal aneuploide de piel humana adulta que la exposición a UVB incrementa el contenido intracelular de peróxido, aumentando el estrés oxidativo. Siguiendo esta afirmación, Kim *et al.* (2005) demostraron que las células expuestas exógenamente a ácido ascórbico (vitamina C) pueden prevenir totalmente ese incremento de peróxido intracelular inducido por UVB. Además, se descubrió que el efecto de 60 µg/ml de vitexina era similar al de 30 µg/ml de vitamina C (M. He *et al.*, 2016). Por último, para comprobar si las vitexinas también captaban los ROS inducidos por UVB, se midieron los niveles intracelulares de ROS en células previamente tratadas con vitexinas y se observó que los niveles de ROS disminuyeron en aproximadamente un 37% en respuesta a las vitexinas.

Esta capacidad antioxidante de las vitexinas tiene una aplicación directa en algunas enfermedades como pueden ser las de la piel, ya que la exposición de las células de la piel a la radiación ultravioleta B (UVB) puede inducir la producción de radicales libres y ROS relacionados, dañándose así componentes celulares (M. He *et al.*, 2016).

Actividad antitumoral.

A pesar de los múltiples estudios realizados acerca de la actividad antitumoral de las vitexinas, todavía no está claro cómo impactan estas en las células tumorales. Por ejemplo, no se sabe la forma en la que la vitexina pasa al citoplasma de la célula cancerígena (M. He *et al.*, 2016). Cabe destacar que las propiedades antioxidantes y antiinflamatorias de las vitexinas afectan a múltiples vías de señalización relevantes para el crecimiento metastásico y la progresión del tumor (Ganesan *et al.* 2017).

In vitro: Según el estudio realizado por Liu *et al.* (2019), el tratamiento de líneas celulares de cáncer de pulmón no microcítico con vitexinas reduce de manera dosis-dependiente los niveles de p-PI3K, p-AKT y p-mTOR, induciendo de esta manera la apoptosis, y aumenta la pérdida de metaloproteinasas de la matriz extracelular (MMP), induciendo la disfunción mitocondrial y perjudicando así la viabilidad celular. La señalización PI3K/AKT/mTOR es una de las vías intracelulares más importantes que ejerce un papel regulador crítico en el comportamiento de varios tumores clave. La sobreactivación de esta vía se observa en múltiples tumores, como el cáncer no microcítico de pulmón.

En ese mismo estudio se demostró que las vitexinas inhiben el crecimiento tumoral de las células del cáncer de pulmón no microcítico y reducen de manera dosis-dependiente la viabilidad celular y por tanto el crecimiento del tumor de pulmón no microcítico.

De acuerdo al estudio realizado por Zhou *et al.* (2010), el tratamiento de células cancerígenas de mama, próstata y ovario con vitexinas disminuye significativamente la expresión de Bcl-2, a la par que aumenta los niveles proteicos de Bax. Esto supone un aumento en la proporción Bax/Bcl-2, favoreciéndose la apoptosis. Al reducirse la proporción Bcl-2/Bax, se produce la liberación del citocromo c desde la mitocondria al citosol, lo que conlleva la escisión de la

caspara-3. Esto refuerza la idea anterior de que las vitexinas inducen la apoptosis en parte mediante una vía dependiente de mitocondria (Liu *et al.* 2019). Los miembros de la familia proteica de Bcl-2 son reguladores críticos de la vía apoptótica, pues se han identificado como potentes supresores de la apoptosis. Esto justifica que se hayan encontrado niveles extraordinariamente elevados de Bcl-2 en más de la mitad de todos los tumores humanos (Zhou *et al.* 2010). Bcl-2 se localiza principalmente en la cara citoplasmática de la membrana mitocondrial externa, retículo endoplasmático y envoltura nuclear, y actúa en los tumores formando un heterodímero con la proteína pro-apoptótica Bax, neutralizando de esta forma sus efectos apoptóticos. Esta proteína Bax normalmente se encuentra en el citosol, pero cuando es provocada por ciertos estímulos se traslada a la mitocondria. Bax forma un gran número de canales en la membrana externa de la mitocondria, induciendo la liberación del citocromo c y la consecuente activación de las caspasas. Esa formación de canales puede ser prevenida por Bcl-2 (Dong *et al.* 2011). Bcl-2 también ha demostrado suprimir el flujo del citocromo c desde la mitocondria e inhibir la liberación de calcio desde el retículo endoplasmático. Parece que Bcl-2 regula la generación de radicales reactivos de oxígeno, ya que puede prevenir la muerte celular inducida por agentes dañinos oxidativos (Dong *et al.* 2011).

Según el estudio realizado por Bhardwaj *et al.* (2017), el tratamiento de células de un carcinoma colorrectal humano con vitexinas aumenta la activación de caspara-3 y caspara-9. Las caspasas son una familia enzimática que son activadas de una manera tipo cascada con señales proapoptóticas, como algunos agentes quimioterápicos o las propias vitexinas. Estas señales activan caspasas iniciadoras, como la caspara-9, para comenzar la cascada proteolítica. Las caspasas iniciadoras activan a su vez caspasas efectoras, como la caspara-3, llevando finalmente a los cambios bioquímicos y morfológicos característicos de la apoptosis (Bhardwaj *et al.* 2017).

De acuerdo al estudio realizado por Yang *et al.* (2012) en células de cáncer oral humano, las vitexinas incrementan la acumulación de PPAR- γ y de esta forma también inducen la apoptosis. PPAR- γ (receptor activado por proliferadores de peroxisomas) está altamente expresado en muchos tipos de tumores humanos y su sobreexpresión disminuye la proliferación celular e induce la apoptosis espontánea (Yang *et al.* 2012).

Según el estudio realizado por Bhardwaj *et al.* (2017), el tratamiento de células de cáncer colorrectal con vitexinas inhibe la formación de autofagosomas y disminuye la expresión de proteínas marcadoras de autofagia y la conversión de LC3-I a LC3-II (proteínas asociadas a microtúbulos de cadena ligera). La autofagia es un proceso celular altamente conservado en el que componentes citoplasmáticos son envueltos en vesículas y enviados a los lisosomas para su degradación. Por tanto, la autofagia juega un papel fundamental tanto en el mantenimiento de la homeostasis celular como en el reciclaje de orgánulos dañados y proteínas mal plegadas. La formación de autofagosomas depende del procesamiento de varios marcadores, como los reguladores ATG5 y ATG7, y de la conversión de LC3-I a LC3-II (Bhardwaj *et al.* 2017).

En otro estudio realizado por Bhardwaj *et al.* (2015), se demostró que las líneas celulares de carcinoma epitelial pulmonar humano tratadas con vitexinas aumentan la expresión de Hsp90 y la consiguiente activación de estrés en el retículo endoplasmático, promoviendo también la autofagia.

De acuerdo al estudio realizado por Ganesan *et al.* (2017), la administración de vitexinas en células de feocromocitoma de la glándula adrenal de ratas inhibe al factor inducible de hipoxia 1 α (HIF-1 α) y disminuye los genes inducidos por hipoxia. Dichos genes codifican al

factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), aldolasa A, factor de crecimiento transformante (TGF- β 1), gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH), colágeno III, enolasa 1 y al factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF- α). La disminución de todos ellos supone la reducción del potencial metastásico de la angiogénesis, es decir, la reducción de la neovascularización. Así se demuestra que las vitexinas también ejercen efectos antineoplásicos actuando sobre la metástasis.

Según el estudio realizado por Yang *et al.* (2012), las vitexinas han demostrado disminuir en células de cáncer oral humano la viabilidad y migración celular por la vía de la cascada p53-PAI1-MMP2. P53 es una proteína supresora de tumores conocida como “guardián del genoma” capaz de inducir programas celulares como la apoptosis al activar la expresión de genes proapoptóticos. Esta proteína regula el aumento de la expresión de PAI-1 (inhibidor del activador del plasminógeno-1). A su vez, las vitexinas inducen la expresión del PAI-1 y disminuyen la acumulación activa de MMP-2. Por medio de esta cascada ejercen en parte su efecto antimetastásico, tal y como se muestra en la figura 5 (Yang *et al.* 2012).

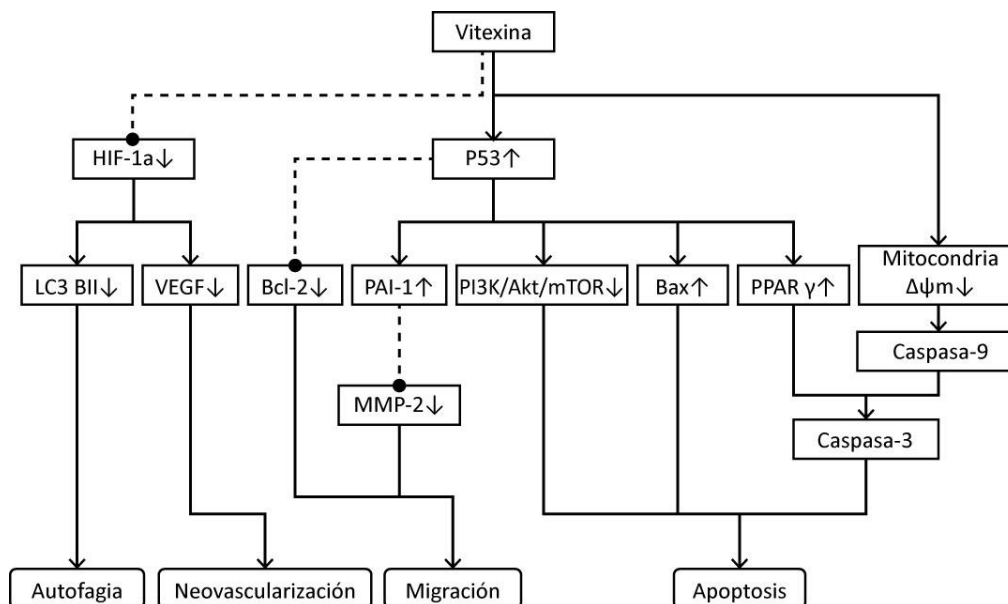


Figura 6.- Vías de señalización implicadas en los efectos antineoplásicos de las vitexinas (modificado de M. He *et al.* 2016).

En conclusión, las vitexinas han demostrado ser inhibidores potenciales de líneas celulares cancerígenas humanas como mama, hígado, colon, laringe, esófago, próstata, ovario, cervical, células leucémicas, glioblastoma o páncreas, demostrando su capacidad para inducir la apoptosis en células cancerígenas (Ganesan *et al.* 2017; Zhou *et al.* 2010; Liu *et al.* 2019). Los mecanismos de acción anteriormente descritos por los que actúan las vitexinas son distintos en cada tipo de cáncer.

Se ha demostrado que las vitexinas tienen tendencia a unirse a la transferrina, una glucoproteína de unión al hierro muy expresada en células de rápido crecimiento como lo son las células tumorales. Por tanto, las vitexinas también pueden ejercer su efecto antineoplásico con una diana del receptor de transferrina (M. He *et al.*, 2016).

In vivo: Hien *et al.* (2002) realizaron un ensayo clínico randomizado con pacientes con cáncer de mama en estadíos II y III en tratamiento con radioterapia. Se dividió a estos pacientes en dos grupos, los componentes de uno de ellos tratados con cápsulas de vitexinas y los componentes del otro con cápsulas de placebo. Con los resultados obtenidos de este ensayo se observó que en el grupo tratado con vitexinas no aparecían efectos secundarios a la radioterapia, tales como dolor de cabeza, fatiga, mal descanso o poco apetito. También se observó que las vitexinas mejoran los niveles de eritrocitos, leucocitos, plaquetas y hemoglobina. La conclusión que se puede obtener de este ensayo clínico es que el tratamiento con vitexinas mejora el estado de salud general de pacientes con cáncer de mama mediante la restauración de células de sangre periférica. Este efecto probablemente se dé por la actividad antioxidante de las vitexinas al inhibir la peroxidación lipídica por parte de los radicales libres. El efecto radioprotector de las vitexinas observado en este ensayo clínico sugiere que el cáncer y el estrés oxidativo están relacionados.

Actividad cardioprotectora.

In vitro: Gracias a los resultados del estudio realizado por Dong *et al.* (2011) en corazones aislados de ratas, se ha demostrado que las vitexinas inhiben la expresión de Bax y aumentan la de Bcl-2, inhiben la liberación de citocinas inflamatorias como TNF- α e IL-1 β y reducen la expresión de la proteína NF- κ B. En ese mismo estudio se demostró que las vitexinas mejoran significativamente el flujo coronario. Al contrario de lo que ocurría en la actividad antitumoral de las vitexinas, en este caso disminuyen la expresión de Bax tras isquemia-reperusión, mientras que aumentan la de Bcl-2. Por tanto, las vitexinas inhiben la apoptosis cardiaca inducida por isquemia-reperusión mediante el aumento de la proporción Bcl-2/Bax. De esta manera, las vitexinas han demostrado tener efectos protectores frente al daño miocárdico por isquemia-reperusión mediante la anti-apoptosis, ya que el daño miocárdico de isquemia-reperusión se puede aliviar mediante la inhibición de la apoptosis de los cardiomiocitos. Aunque es necesaria la restauración del flujo sanguíneo tras una isquemia cardiaca, esta restauración también produce una explosión oxidativa localizada y una respuesta inflamatoria local que puede provocar daño miocárdico mayor, el daño miocárdico por isquemia-reperusión. Este proceso incluye por tanto la generación y liberación de ROS y citocinas inflamatorias como TNF- α , que tal y como se ha demostrado son inhibidas por las vitexinas. El daño letal de la reperusión posiblemente consiste en dos formas de muerte celular: necrosis y apoptosis. El proceso apoptótico comienza poco después del inicio de la isquemia y aumenta notablemente durante la reperusión. Por tanto, la inhibición de la apoptosis atenúa el daño irreversible en relación con la reperusión. (Dong *et al.* 2011).

Según el estudio realizado por Pahlavan *et al.* (2017), el tratamiento con vitexinas de células madre embrionarias y células madre pluripotentes inducidas reduce significativamente el aumento β_1 -adrenérgico que se da en la frecuencia de latido durante las arritmias. De este modo, las vitexinas demuestran presentar un efecto cronotrópico negativo dosis dependiente.

In vivo: El estudio realizado por Dong *et al.* (2013) corrobora los estudios realizados *in vitro*, ya que la administración oral de vitexinas en ratas también reduce la expresión proteica de NF- κ B y TNF- α . Además aumenta los niveles de fosforilación de ERK1/2 y disminuye los de JNK. La expresión miocárdica de TNF- α aumenta significativamente tras el daño miocárdico por isquemia-reperusión, pero tal y como se ha explicado anteriormente en la actividad antiinflamatoria, las vitexinas pueden reducir este aumento de TNF- α en el tejido miocárdico (Dong *et al.* 2011). Este hecho es beneficioso, ya que altas concentraciones de TNF- α

también contribuyen a alteraciones estructurales en corazones dañados (como hipertrofia cardiaca), aumento de la apoptosis de cardiomiocitos y fibrosis cardiaca (Dong *et al.* 2013). Durante el proceso de isquemia-reperfusión la mitocondria produce ROS que activan cascadas inflamatorias moleculares como son ERK1/2, JNK y p38. En el sistema cardiovascular ERK1/2 media la supervivencia vascular, mientras que JNK está asociado con la apoptosis de los cardiomiocitos. Al aumentar las vitexinas los niveles de fosforilación de ERK1/2 y disminuir los de JNK, manifiestan su efecto antioxidativo y antiinflamatorio durante el daño miocárdico por isquemia-reperfusión mediante la vía de señalización MAPK.

Según el estudio realizado por Che *et al.* (2016), la administración intravenosa de vitexinas a ratas inhibe significativamente la elevación de la altura del segmento ST del electrocardiograma (ECG), reduce la liberación de malondialdehído (MDA), eleva las actividades de nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) y superóxido dismutada (SOD), disminuye la producción de Bax, Epac1 y Rap1 y aumenta la de Bcl-2 y mejora la tensión sistólica en la aorta. Todos estos mecanismos demuestran el efecto cardioprotector de las vitexinas frente al daño miocárdico de isquemia-reperfusión.

En el proceso de isquemia-reperfusión se da una elevación del segmento ST del ECG, hecho que disminuyen las vitexinas tal y como se ha demostrado. MDA, SOD y NADPH son marcadores séricos indicadores del nivel oxidativo. MDA es un sustrato enzimático de la peroxidación lipídica considerado como índice de la tasa de peroxidación lipídica y que se encuentra a niveles elevados en la isquemia-reperfusión, ya que este proceso de isquemia-reperfusión contribuye a la generación de ROS y conlleva indirectamente a la peroxidación de lípidos. Por tanto, las vitexinas mejoran la integridad celular al reducir la peroxidación lipídica. SOD es una enzima que cataliza la dismutación de superóxido en oxígeno y peróxido de oxígeno, siendo una importante defensa antioxidante y encontrándose disminuida en isquemia-reperfusión. NADPH es una enzima antioxidante y un factor importante en la generación de ROS, encontrándose también disminuida en el proceso de isquemia-reperfusión. Por tanto, la actuación de las vitexinas sobre estos tres marcadores demuestra que las vitexinas protegen frente al daño miocárdico crónico de isquemia-reperfusión en ratas. Epac-Rap1 participan en la vía de señalización cAMP en el tejido miocárdico regulando el metabolismo de las células del miocardio y la función de la barrera endotelial. Epac1 aumenta la concentración intracelular de calcio, colaborando Rap1 en ese aumento. Al disminuir las vitexinas estos dos factores se inhibe la apoptosis, ya que niveles elevados de calcio promueven la apoptosis celular. Por tanto, el tratamiento con vitexinas mejora la función del miocardio y atenúa el daño miocárdico de isquemia-reperfusión mediante la mejora del sistema de defensa antioxidante, la inhibición del aumento de calcio y la supresión de la apoptosis miocárdica.

Todos los resultados obtenidos en estos trabajos anteriores se vieron reforzados por el estudio realizado por Ashokkumar *et al.* (2018), en el que además se demuestra que el tratamiento oral de ratas con vitexinas también aumenta los niveles de otras enzimas antioxidantes como son catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (GPx) y de compuestos antioxidantes como vitamina C, vitamina E y glutatión (GSH), disminuye los niveles de lactato deshidrogenasa (LDH) y creatin quinasa (CK), reduce significativamente la expresión de la proteína de unión a inmunoglobulina (GRP-78) y de CHOP, disminuye los niveles de Mst1 y su fosforilación, disminuye la expresión de Bad y Bnip3 y de caspasa-3, caspasa-7 y caspasa-9.

Enzimas antioxidantes como CAT y GPx catalizan la eliminación de radicales libres generados por el retículo endoplasmático. La sobreexpresión de CAT disminuye el estrés del retículo endoplasmático mediado por la apoptosis de las células del miocardio. Cuando el

estrés del retículo endoplasmático es prolongado, tal y como ocurre en condiciones patológicas como hipoxia o daño miocárdico de isquemia-reperfusión, lleva a la apoptosis en el corazón. La vitamina C capta ROS y GSH es un componente esencial para la regeneración de vitamina C. La filtración de LDH y CK del tejido cardiaco al torrente sanguíneo es un marcador para determinar la severidad de daño miocárdico, por lo que la disminución de sus niveles remarca el efecto cardioprotector de las vitexinas. GRP-78 es un regulador crítico del estrés del retículo endoplasmático. La disfunción cardiaca mediada por el estrés del retículo endoplasmático depende de la actividad transcripcional de CHOP y la consecuente estimulación de la apoptosis, ya que disminuye la expresión de Bcl-2. Mst1 es una quinasa que induce la apoptosis y es activada por el estrés oxidativo que se da durante el daño miocárdico de isquemia-reperfusión. Bad y Bnip3 al igual que Bax desencadenan la apoptosis. Bnip3 está asociado con la mitocondria y regula la apoptosis mediante la liberación citoplasmática del citocromo c. Durante la isquemia miocárdica aumentan sus niveles para promover la apoptosis. La apoptosis de los cardiomiocitos también se ve incrementada por el aumento de caspasa-12 durante el fallo cardiaco. Además la caspasa-12 estimula a caspasa-3 y caspasa-9. Al reducir las vitexinas la expresión de Bnip3 reducen también la expresión de caspasa-3, promoviendo la supervivencia celular. Por tanto, las vitexinas presentan efectos cardioprotectores al disminuir la apoptosis de cardiomiocitos mediante la regulación del estrés del retículo endoplasmático (Ashokkumar *et al.* 2018).

Según el estudio realizado por Lu *et al.* (2013), el tratamiento intraperitoneal de ratones con vitexinas inhibe el crecimiento hipertrófico, reduce en células cardiacas los niveles de ANP, BNP y β -MHC, inhibe en células cardiacas el aumento de la expresión de calcineurina, NFATc3 y p-CaMKII y disminuye el aumento de calcio intracelular. Por tanto, estos resultados demuestran que las vitexinas median los efectos inhibitorios en la hipertrofia cardiaca interrumpiendo las vías de señalización de calcineurina-NFAT y CaMKII. ANP y BNP son péptidos natriuréticos considerados importantes marcadores de la hipertrofia, donde se encuentran elevados. β -MHC (β miosina de cadena pesada) también es un marcador que se encuentra elevado en la hipertrofia. Calcineurina y CaMKII (quinasa calmodulina) se activan por los incrementos que se dan del calcio intracelular durante la hipertrofia persistente, actuando ambas en la modulación del desarrollo de la hipertrofia cardiaca. La calcineurina es una fosfatasa que al activarse se une al factor nuclear de células T activadas (NFAT), induciendo la respuesta hipertrófica en el corazón. Así, la inhibición de esta vía revierte el proceso de la hipertrofia cardiaca. La sobreexpresión de CaMKII provoca hipertrofia cardiaca y daño en el corazón, suponiendo la supresión de la vía en la que participa el retraso de la progresión de la hipertrofia del corazón. Por tanto, demostraron que las vitexinas ejercen efectos protectores frente a hipertrofia cardiaca mediante la interrupción de las vías mediadas por calcio Ca^{2+} -calcineurina-NFATc3 y Ca^{2+} -CaMKII.

De acuerdo al estudio realizado por Sun *et al.* (2016), la administración oral de vitexinas a ratas disminuye los niveles de IL-1 β e IL-6, disminuye significativamente la actividad de MPO y aumenta la expresión de los niveles de p-FOXO3a. La función de MPO es matar microorganismos, pero bajo ciertas condiciones produce exceso oxidativo llevando a un daño del tejido. FOXO3a es una proteína que está relacionada con la resistencia al estrés oxidativo y con el proceso de apoptosis al modular la expresión de los niveles de proteínas proapoptóticas y antiapoptóticas. FOXO3a ejerce un papel importante en los mecanismos que protegen a la célula de la muerte celular inducida por el estrés oxidativo. FOXO3a está regulada por varias vías de señalización como ERK o Akt y regula los niveles de enzimas antioxidantes, incluyendo SOD.

Actividad neuroprotectora.

In vitro: Según el estudio realizado por Choi *et al.* (2014) sobre los efectos de las vitexinas en la enfermedad de Alzheimer, el tratamiento de macrófagos murinos con vitexinas inhibe la acetilcolinesterasa (AChE), butirilcolinesterasa (BChE) y β -secretasa (BACE1), que interviene en la formación del péptido β -amiloide. La restauración de la función colinérgica, que se encuentra alterada en la enfermedad de Alzheimer, se logra mediante la inhibición de la hidrólisis por acetilcolinesterasas, que prolongan la disponibilidad de acetilcolina en la hendidura sináptica. Por tanto, al inhibir estas enzimas, las vitexinas ejercen su efecto neuroprotector frente a la enfermedad de Alzheimer.

Tal y como se demostró en el estudio realizado por Hu *et al.* (2018) sobre los efectos de las vitexinas en la enfermedad de Parkinson, el tratamiento de neuroblastomas humanos (inducidos con la enfermedad de Parkinson) con vitexinas mejora la viabilidad celular de manera dosis dependiente, disminuye significativamente la proporción Bax/Bcl-2 y la actividad de caspasa-3 protegiendo a las células de la apoptosis, y suprime la apoptosis por la vía de señalización PI3K/Akt. La degeneración de las neuronas dopaminérgicas es la característica principal de la enfermedad de Parkinson y las vitexinas han demostrado proteger esas neuronas dopaminérgicas de la apoptosis mediante la vía PI3K/Akt. Cuando la vía PI3K/Akt se encuentra inhibida, tal y como ocurre en la enfermedad de Parkinson, hay una alta actividad de caspasa-3 y aumento de la proporción Bax/Bcl-2, favoreciéndose la apoptosis.

In vivo: Según el estudio realizado por Hu *et al.* (2018), la administración oral de vitexinas a ratas con enfermedad de Parkinson inducida disminuye significativamente el tiempo de actividad locomotora total previniendo la bradicinesia. Además corrobora los estudios realizados *in vitro*, ya que demuestra que las vitexinas inhiben la inhibición de la vía PI3K/Akt que se da en la enfermedad de Parkinson, atenuando la apoptosis en la sustancia negra de las ratas. También atenúan la apoptosis al disminuir la proporción Bax/Bcl-2 y la actividad de caspasa-3. Por tanto, las vitexinas ejercen su efecto neuroprotector en la enfermedad de Parkinson protegiendo a las neuronas dopaminérgicas frente a la neurotoxicidad mediante la activación de la vía de señalización PI3K/Akt y la consecuente inhibición de la apoptosis de las neuronas dopaminérgicas

De acuerdo al estudio realizado por Wang *et al.* (2014), la administración intravenosa de vitexinas a ratones mejora los déficits neurológicos, atenúa el daño cortical y del hipocampo, incrementa significativamente la producción de p-ERK1/2 y disminuye los niveles de p-JNK y p-p38 tanto en la corteza como en el hipocampo, e incrementa los niveles de Bcl-2 y disminuye los de Bax también tanto en corteza como en hipocampo. La vía de señalización MAPK interviene en el daño isquemia-reperfusión. ERK1/2, JNK y p38 son los componentes principales de esta vía de señalización y funcionan contra el daño cerebral, siendo activadas en respuesta a la isquemia-reperfusión cerebral. La vía ERK1/2 participa en la proliferación celular incrementando la neurogénesis. Por su parte la activación de las vías p38 y JNK facilita la apoptosis neuronal desencadenada por un foco isquémico. Debe existir un balance dinámico entre ERK1/2 y p38/JNK para regular la supervivencia y la apoptosis celular y así adaptar la isquemia-reperfusión. Aumentos en la fosforilación de ERK1/2 inhiben el daño cerebral isquemia-reperfusión, mientras que aumentos en la fosforilación de JNK y p38 aumentan ese daño. Por tanto, las vitexinas producen efectos neuroprotectores de manera dosis-dependiente mediante la vía de señalización MAPK. La apoptosis celular es una consecuencia grave de la isquemia cerebral, siendo la prevención de la apoptosis un paso crítico para el tratamiento clínico. El aumento de Bcl-2 presenta efectos protectores frente al

daño isquemia-reperfusión cerebral, ya que es una proteína antiapoptótica. Por tanto, las vitexinas pueden proteger a las neuronas frente al daño isquemia-reperfusión cerebral mediante la modulación de la expresión de Bcl-2 y Bax.

Según el estudio realizado por Jiang *et al.* (2018), la administración intravenosa de vitexinas a ratas disminuye los niveles de caspasa-3 y Bax y eleva los de Bcl-2 y Ki67, suprimiendo la apoptosis cerebral. Además inhibe los niveles elevados en suero de LDH, MDA y NO aliviando el daño oxidativo y la inflamación, inhibe la expresión reducida de mTOR (diana de la rapamicina en las células de mamífero) y PPAR- γ y la elevada de Ulk1, reprime la expresión elevada de Beclin1 y atenuada de p62, y alivia la proporción incrementada de LC3II/LC3I. Ulk1, mTOR, PPAR- γ , Beclin1, p62 y LC3 son proteínas relacionadas con la autofagia. De este modo, las vitexinas suprimen la autofagia para atenuar un ictus cerebral isquémico vía mTOR/Ulk1.

En el estudio realizado por Min *et al.* (2015) se demostró que la administración intraperitoneal de vitexinas a ratas recién nacidas inhibe de manera dosis dependiente el porcentaje de volumen cerebral infartado, disminuye los contenidos de agua en el cerebro, inhibe HIF-1 α y VEGF, atenúa la pérdida de tejido ipsilateral cerebral y atenúa la atrofia y el daño cortical y cerebral en el hemisferio ipsilateral. Los efectos neuroprotectores de las vitexinas dependen de la inhibición temprana de HIF-1 α , ya que durante la hipoxia HIF-1 α juega un papel importante en la expresión de VEGF. Además, VEGF incrementa rápidamente durante la hipoxia severa. La inhibición de la expresión de VEGF durante el estadio temprano de isquemia o hipoxia cerebral protege la barrera hematoencefálica. La inhibición de HIF-1 α por parte de las vitexinas disminuye los niveles proteicos de HIF-1 α y VEGF que se encontraban significativamente elevados durante la hipoxia isquémica. Las vitexinas también atenúan la alteración de la barrera hematoencefálica y el consecuente edema cerebral tras la hipoxia isquémica. La inhibición de HIF-1 α está asociada con el descenso en los niveles de VEGF y la protección de la barrera hematoencefálica con una reducción en el edema cerebral. HIF-1 α es un regulador de las repuestas tanto proapoptóticas como antiapoptóticas a la hipoxia/isquemia en el Sistema Nervioso Central. La activación de HIF-1 α tras una isquemia cerebral consta de dos fases. La primera fase ocurre inmediatamente después del daño y está relacionado con el aumento de los genes proapoptóticos. Por su parte, en la segunda fase se ven envueltos más genes antiapoptóticos. La pérdida selectiva de la función de HIF-1 α en cultivos de astrocitos proporciona neuroprotección frente a la hipoxia, mientras que la pérdida de HIF-1 α neuronal incrementa la susceptibilidad a un daño inducido por hipoxia. Por tanto, la inhibición de HIF-1 α por vitexinas inmediatamente posterior al daño proporciona protección, tanto aguda como a largo plazo, en el cerebro en desarrollo al preservar la integridad de la barrera hematoencefálica. Así se demuestra otro mecanismo de acción por el cual las vitexinas tienen una potente actividad neuroprotectora.

Según el estudio realizado por Özkay *et al.* (2013), el tratamiento por vía oral de ratones con vitexinas aumenta el tiempo de reacción de los ratones en la prueba de la retirada de la cola y en la prueba de la placa caliente, reduce el número de estiramientos y convulsiones inducidas por ácido acético y ejerce una protección significativa frente a convulsiones. Además, el pretratamiento de ratones con naloxona (antagonista no selectivo de los receptores opioides) bloqueó el efecto antinociceptivo de las vitexinas. Los resultados de la prueba de la placa caliente demuestran que la administración de vitexinas incrementa el tiempo de reacción de los ratones en respuesta a una aplicación constante de calor, lo que indica que las vitexinas actúan en vías nociceptivas térmicas. Al medir dicha prueba principalmente respuestas organizadas supraespinalmente, estos resultados demuestran que el efecto antinociceptivo está

relacionado con mecanismos supraespinales. Del mismo modo, el aumento del tiempo de reacción que producen las vitexinas en la prueba de la retirada de la cola demuestra su actividad antinociceptiva en vías nociceptivas llevando el estímulo mecánico nocivo. Estos resultados también demuestran la localización del efecto antinociceptivo en la médula espinal, ya que esta prueba principalmente mide reflejos espinales. El efecto de las vitexinas sobre el dolor inducido por un estímulo nociceptivo químico se evalúa usando ácido acético, que induce convulsiones en los ratones. La reducción del número de convulsiones tras el tratamiento con vitexinas demuestra que su mecanismo de acción está relacionado con un descenso en la liberación de mediadores inflamatorios en tejidos periféricos y con el bloqueo directo de los receptores, resultando en un efecto antinociceptivo. Las vitexinas muestran actividad antinociceptiva mediada tanto central como periféricamente. Por último, para estudiar la posible implicación de mecanismos opioides en la actividad antinociceptiva de las vitexinas, se trataron a los ratones con naloxona. Naloxona antagonizó completamente la actividad antinociceptiva de las vitexinas en los tres test realizados que implicaban a los receptores opioides δ , κ y μ , indicando que hay mecanismos opioides que participan en la actividad antinociceptiva de las vitexinas. Por tanto, las vitexinas presentan efectos antinociceptivos mediante mecanismos vía espinal y supraespinal, e involucra a los subtipos de receptores opioides δ , κ y μ .

En el estudio realizado por Zhu *et al.* (2016) se administraron vitexinas intraperitonealmente a ratones con dolor portquirúrgico. Además, para examinar los posibles mecanismos farmacológicos de actividad antinociceptiva producida por las vitexinas, se administró bicucullina (antagonista de los receptores GABA_A), que bloqueó completamente los efectos nociceptivos de las vitexinas. Las neuronas GABAérgicas y los receptores GABA_A juegan un papel importante en la percepción del dolor. Al bloquear bicucullina la analgesia inducida por vitexinas, se demuestra que la activación de los receptores GABA_A también median la actividad antinociceptiva inducida por vitexinas. Por tanto, tanto los receptores opioides como los GABA_A están implicados en la analgesia inducida por vitexinas frente al dolor quirúrgico.

Según el estudio realizado por Rodrigues de Oliveira *et al.* (2014), la administración oral de vitexinas a ratas disminuye gradualmente el tiempo de adquisición de memoria. Esto se estudió al someter a las ratas a una descarga cuando se acercaban a una zona de la jaula donde se encontraban. Aquellas tratadas con vitexinas tardaban menos días en adquirir la memoria del miedo. Además, las vitexinas también demostraron en este mismo estudio mejorar la retención de la memoria del miedo. Por tanto, las vitexinas mejoran la adquisición de memoria del miedo.

Actividad metabólica y endocrina.

- Diabetes:

In vitro: Según el estudio realizado por Yang *et al.* (2014), las vitexinas inhiben de manera dosis dependiente la α -amilasa localizada en el intestino. Además demostraron que las alteraciones de la concentración de vitexina tras un tratamiento térmico son de un 9.3%, indicando que las vitexinas no se destruyen fácilmente durante el procesamiento de la comida. Encontraron también que esa actividad inhibitoria de las vitexinas está relacionada con el número de grupos hidroxilo en el anillo B y que moléculas con una estructura lineal son más similares al sustrato y encajan mejor en el sitio activo de la α -amilasa. La α -

amilasa es una enzima que cataliza la hidrólisis de los enlaces α -glucosídicos de algunos polisacáridos, liberando glucosa.

In vivo: De acuerdo al estudio realizado por Choo *et al.* (2012), la administración oral de vitexinas a ratones con diabetes inducida reduce el porcentaje de glucosa postprandial en sangre por la inhibición de la α -glucosidasa. Esta enzima descompone los carbohidratos en monosacáridos antes de la absorción al torrente sanguíneo. Por lo que al inhibir las vitexinas la α -glucosidasa retrasan la descomposición de los carbohidratos y reducen el incremento postprandial de glucemia.

- **Obesidad:**

In vitro: En el estudio realizado por Kim *et al.* (2010) se demostró que el tratamiento de adipocitos con vitexinas reduce la acumulación de gotas lipídicas (37%), disminuye la expresión de los niveles proteicos de C/EBP α y PPAR γ e inhibe la acumulación de triglicéridos (39.4%). Las vitexinas inhiben la adipogénesis al disminuir la expresión de los factores adipogénicos de transcripción C/EBP α (proteína α de unión al promotor CCAAT) y PPAR γ (receptor activado por los proliferadores de peroxisomas).

In vivo: Según el estudio realizado por Peng *et al.* (2019), la administración de vitexinas a ratones previene el aumento de peso corporal, reduce el peso del tejido retroperitoneal, del hígado y del epidídimo, disminuye los niveles de triglicéridos, previene la inflamación al reducir los niveles de TNF- α e IL-6 (dos citocinas proinflamatorias asociadas con el desarrollo de la obesidad), reduce el tamaño de los adipocitos del epidídimo, reduce los contenidos de lípidos en el hígado, aumenta la fosforilación de AMPK- α y reduce los niveles proteicos de C/EBP- α y FAS. AMPK- α es un regulador del metabolismo energético que inhibe la lipogénesis cuando se encuentra activado (fosforilado). AMPK- α también media la supresión de la expresión del gen adipogénico C/EBP- α (un regulador de la diferenciación de los adipocitos) y la expresión del gen lipogénico FAS (enzima que participa en la lipogénesis *de novo*) en adipocitos e hígado. Por tanto, las vitexinas inhiben la lipogénesis mediante la activación de la vía AMPK- α . También demostraron que las vitexinas tienen una baja biodisponibilidad debido al considerable efecto de primer paso que sufren en el intestino.

En este mismo estudio se comprobó que el estrés del retículo endoplasmático promueve la adipogénesis y por tanto las vitexinas también pueden inhibir la adipogénesis por esta vía. Además, la excesiva acumulación de grasas está relacionada con la inflamación, como el incremento de la liberación de TNF- α e IL-6. Por esta razón la actividad antiinflamatoria de las vitexinas también está muy relacionada con su actividad contra la obesidad.

- **Tiroides:**

In vitro: Según el estudio realizado por Gaitan *et al.* (1995), las vitexinas inhiben la peroxidasa tiroidea (TPO). La TPO es una enzima que cataliza la reacción de oxidación del ión yoduro a yodo, siendo importante en la producción de hormonas tiroideas. Por tanto las vitexinas alteran el metabolismo *in vivo* del yodo en tiroides. Además, al ser inhibidores de la actividad de TPO demuestran ser goitrógenos, sustancias que pueden interferir con la función de la glándula tiroideas.

In vivo: Además de los resultados obtenidos en esos estudios *in vitro*, en el estudio realizado por Gaitan *et al.* (1995) se demostró que la administración oral de vitexinas a

ratas sacrificadas que recibían una dieta rica en yodo eleva monoiodotirosina (MIT) y la proporción de diiodotirosina (DIT)/ T₃ y T₄ y disminuye las concentraciones de las hormonas T₃ y T₄. Las vitexinas por tanto inhiben la formación de hormonas tiroideas activas a partir de precursores de yodotirosina. La actividad antitiroidea de estos flavonoides puede verse incrementada en mamíferos como resultado de la conversión metabólica de los heterósidos a agliconas por microorganismos intestinales. Las agliconas son entre 3-7 veces más activas en los estudios *in vitro* de TPO que sus respectivos glucósidos.

5. CONCLUSIONES.

Las vitexinas, un tipo de flavonoides, son responsables de los efectos de algunas plantas medicinales especialmente usadas en Asia. Hasta el siglo XX han sido poco reconocidos como principios activos responsables de estos efectos, pero en la actualidad son un foco de atención para la comunidad científica.

Por esta razón, desde comienzos de este siglo han incrementado exponencialmente los trabajos experimentales, especialmente *in vivo*, evidenciando sus actividades antioxidantes, antiinflamatorias, antitumorales, cardioprotectoras, neuroprotectoras, metabólicas o endocrinas.

Cabe destacar que muchos de los mecanismos por los cuales las vitexinas ejercen sus efectos relacionan varias actividades, como la relación entre su actividad antiinflamatoria y su actividad contra la obesidad. También están relacionadas la actividad cardioprotectora y la neuroprotectora, ya que en ambos casos se inhibe la apoptosis al disminuir la proporción Bax/Bcl-2; la actividad antiinflamatoria y la cardioprotectora al inhibirse en ambos casos la aliberación de citocinas como TNF- α o IL-1 β ; la actividad neuroprotectora con la antiinflamatoria y la antioxidante en la protección frente al ictus cerebral; o la actividad antitumoral y la neuroprotectora al inhibir ambas a HIF-1 α y LC3BII.

Todos los efectos que tienen las vitexinas son los que explican su interés terapéutico actual, ya que tienen aplicación directa en patologías como el asma, la enfermedad de Parkinson, patologías de la piel o la enfermedad de Alzheimer. No solo tienen interés terapéutico por su alta eficacia y pocos efectos adversos al tratar estas patologías, sino que además, tal y como se ha demostrado en un ensayo clínico presentan gran interés como tratamiento paralelo a la radioterapia para disminuir los efectos secundarios de esta.

A pesar de los últimos avances que se han llevado a cabo en relación a las vitexinas, es necesario realizar más ensayos, principalmente en humanos, para demostrar su relevancia científica.

6. BIBLIOGRAFÍA.

Abd Nikfarjam B., Hajiali F., et al. Anti-inflammatory Effects of Quercetin and Vitexin on Activated Human Peripheral Blood Neutrophils - The effects of quercetin and vitexin on human neutrophils. - J. Pharmacopuncture 2017, **20** (2): 127-131.

Ashokkumar R., Jamuna S., Sadullah MS., et al. Vitexin protects isoproterenol induced post myocardial injury by modulating hisposignaling and ER stress responses. Biochem Biophys Res Commun 2018, **496** (1): 731-737.

Bhardwaj M., Paul S., Jakhar R., et al. Potential role of vitexin in alleviating heat stress-induced cytotoxicity: regulatory effect of Hsp90 on ER stress-mediated autophagy. Life Sci 2015, **142** (1): 36-48.

Bhardwaj M., Cho HJ., Paul S., et al. Vitexin induces apoptosis by suppressing autophagy in multi-drug resistant colorectal cancer cells. Oncotarget 2018, **9** (3): 3278-3291.

Che X., Wang X., Zhang J., et al. Vitexin exerts cardioprotective effect on chronic myocardial ischemia/reperfusion injury in rats via inhibiting myocardial apoptosis and lipid peroxidation. Am J Transl Res 2016, **8** (8): 3319-3328.

Choi JS., Islam MR., Ali MY., et al. Effects of C-glycosylation on anti-diabetic, anti-Alzheimer's disease and anti-inflammatory potential of apigenin. Food Chem Toxicol 2014, **64** (1): 27-33.

Choo CY., Sulong NY., Man F., et al. Vitexin and isovitexin from the leaves of *Ficus deltoidea* with *in-vivo* α -glucosidase inhibition. J. Ethnopharmacol 2012, **142** (1): 776-781.

Dong L., Fan Y., Shao X., et al. Vitexin protects against myocardial ischemia/reperfusion injury in Langendorff-perfused rat hearts by attenuating inflammatory response and apoptosis. Food Chem Toxicol 2011, **49** (1): 3211-3216.

Dong LY., Li S., Zhen YL., et al. Cardioprotection of vitexin on myocardial ischemia/reperfusion injury in rat via regulating inflammatory cytokines and MAPK pathway. Am J Chin Med 2013, **41** (6): 1251-1266.

Gaitan E., Cooksey RC., Legan J., et al. Antithyroid effects *in vivo* and *in vitro* of vitexin: a C-glucosylflavone in millet. J Clin Endocrinol Metab 1995, **80** (4): 1-4.

Ganesan K., Xu B. Molecular targets of vitexin and isovitexin in cancer therapy: a critical review. Ann N Y Acad Sci 2017, **1401**(1):102-113.

Hien TV., Huong NB., Hung PM., et al. Radioprotective Effects of Vitexina for Breast Cancer Patients Undergoing Radiotherapy With Cobalt-60. Integr Cancer Ther 2002, **1**(1): 38-43.

Hu M., Li F., Wang W., Vitexin protects dopaminergic neurons in MPTP-induced Parkinson's disease through PI3K/Akt signaling pathway. Drug Des Devel Ther 2018, **12** (1): 1-12.

Jiang J., Dai J., Cui H. Vitexin reverses the autophagy dysfunction to attenuate MCAO-induced cerebral ischemic stroke via mTOR/Ulk1 pathway. Biomed Pharmacother 2018, **99** (1): 583-590.

Kim JH., Lee BH., Sim GS., et al. The isolation and oxidative effects of vitexin from *Acer palmatum*. Arch Pharm Res 2005, **28** (2): 195-202.

Kim JP., Lee IS., Seo JJ., et al. Vitexin, orientin and other flavonoids from *Spirodela polyrhiza* inhibit adipogenesis in 3T3-L1 cells. Phytother Res 2010, **24**: 1543–1548.

Liu X., Jiang Q., et al. Vitexin induces apoptosis through mitochondrial pathway and PI3K/Akt/mTOR signaling in human non-small cell lung cancer A549 cells. Biol Res 2019, **52** (1): 1-7.

Lu C., Xu Y., Wu J., et al. Vitexin protects against cardiac hypertrophy via inhibiting calcineurin and CaMKII signaling pathways. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol 2013, **386** (1): 747-755.

Martínez-Florez S., González-Gallego J., et al. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutr Hosp 2002, **17** (6): 271-278.

Miao He, Jia-Wei Min, et al. A review on the pharmacological effects of vitexin and isovitexin. Phytother 2016, **115** (1): 74–85.

Min JW., Hu JJ., He M., et al. Vitexin reduces hypoxia-ischemia neonatal brain injury by the inhibition of HIF-1 α in a rat pup model. Neuropharmacol 2015, **99** (1): 38-50.

Özkay UM., Can OD. Anti-nociceptive effect of vitexin mediated by the opioid system in mice. Pharmacol Biochem Behav 2013, **109** (1): 23–30.

Pahlavan S., Tousi MS., Ayyari M., et al. Effects of hawthorn (*Crataegus pentagyna*) leaf extract on electrophysiologic properties of cardiomyocytes derived from human cardiac arrhythmia-specific induced pluripotent stem cells. FASEB J 2017, **32** (1): 1-13.

Peng Y., Sun Q., Xu W., et al. Vitexin ameliorates high fat diet-induced obesity in male C57BL/6J mice via the AMPK α -mediated pathway. Food Funct 2019, 1-28.

Praveena R., Sadasivam K., Kumaresan R., et al. Experimental and DFT studies on the antioxidant activity of a C-glycoside from *Rhynchosia capitata*. SAA Mol Biomol Spectrosc 2013, **103** (1): 442–452.

Rodrigues de Oliveira D., Zamberlam CR., Gaiardo RB., et al. Flavones from *Erythrina falcata* are modulators of fear memory. BMC 2014, **14** (1): 1-17.

Rosa SIG., Ríos-Santos F., Olaitan S., et al. Vitexin reduces neutrophil migration to inflammatory focus by down-regulating pro-inflammatory mediators via inhibition of p38, ERK1/2 and JNK pathway. Phytomed 2016, **23** (1): 9–17.

Savini I., Angelo I., Ranalli M., et al. Ascorbic acid maintenance in HaCaT cells prevents radical formation and apoptosis by UVB. Free Radic Biol Med 1999, **26** (1): 1172-1180

Sun Z., Yan B., Yu WY., et al. Vitexin attenuates acute doxorubicin cardiotoxicity in rats via the suppression of oxidative stress, inflammation and apoptosis and the activation of FOXO3a. Exp Ther Med 2016, **12** (1): 1879-1884.

Venturini CL., Macho A., Arunachalam K., et al. Vitexin inhibits inflammation in murine ovalbumin-induced allergic asthma. Biomed Pharmacother 2018, **97** (1): 143–151.

Wang Y., Zhen Y., Wu X., et al. Vitexin protects brain against ischemia/reperfusion injury via modulating mitogen-activated protein kinase and apoptosis signaling in mice. *Phytomed* 2015, **22** (1): 379–384.

Xiao J., Capanoglu E., et al. Advance on the flavonoid C-glycosides and health benefits. *Crit Rev in Food Sci and Nutr* 2016, **56** (1): 29–45.

Yang HP., He H., Lu YH. Four flavonoid compounds from *Phyllostachys edulis* leaf extract retard the digestion of starch and its working mechanism. *J. Agric. Food Chem.* 2014, **62** (1): 7760–7770.

Yang SH., Liao PH., Pan YF., et al. The novel p53-dependent metastatic and apoptotic pathway induced by vitexin in human oral cancer OC2 cells. *Phytother Res* 2012, 1-8.

Zhou YJ., Liu YE., Cao JG., et al. Vitexins, nature-derived lignin compounds, induce apoptosis and suppress tumor growth. *Clin Cancer Res* 2009, **15** (16): 5161–5169.

Zhu Q., Mao LN., Liu CP., et al. Antinociceptive effects of vitexin in a mouse model of postoperative pain. *Sci Rep* 2016, **6** (1): 1-10.