

336427



UNIVERSIDAD DEL VALLE DE MEXICO

CAMPUS CHAPULTEPEC

CARRERA QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

INCORPORADA A LA UNAM

ACTIVIDAD ANTIGONADOTROPICA Y  
ANTITIROTROPICA DE

*Lithospermum officinale* Y *Lithospermum ruderales*

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA  
P R E S E N T A  
LUCIA SANCHEZ LOPEZ

DIRECTOR DE TESIS:

M. EN C. JAVIER ALFREDO CARBALLO PEREA

MÉXICO, D. F.

2004



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Para alcanzar las lejanas estrellas  
el gran infinito tendrás que cruzar;  
sin alas de ave, tú puedes hacerlo:  
si aprendes a darte, si sabes amar.

Tu espíritu forja impulsos de vida,  
y límpidamente tú debes subir;  
con júbilo siempre, con tenaz empeño;  
esfuérate en todo, no trates de huir.

Así como el alba enciende los cielos  
dejando en los seres su luz y calor;  
comparte con otros tu propia existencia,  
ofrécele al mundo tu genio creador.

Se justo, se bueno, valiente y honrado,  
las puertas del alma abre a los demás.  
Rompe las cadenas de infame egoísmo;  
y pronto en tu mano estrellas tendrás.

( "Como alcanzar las Estrellas" de Silvia Roche)

## **DEDICATORIAS:**

A mi papito lindo:

Por que desde muy pequeñita me ha enseñado lo que es la responsabilidad, la perseverancia, la bondad y lo maravilloso de aprender nuevas cosas de la vida, de las personas y de la ciencia; y sobre todo por enseñarme a amar las estrellas, desear alcanzarlas y no rendirme nunca en la persecución de mis sueños, camino en el que siempre, de una forma u otra, me ha guiado, apoyado y acompañado.

A mi mamita:

Por estar siempre a mi lado, apoyarme en todo y estar pendiente de mí en todo momento. Por ser mi madre, mi amiga, mi consejera, mi cómplice, mi maestra, mi guía y mi ejemplo en esta vida. Por enseñarme a ser agradecida, paciente, alegre y cariñosa. Por hacer de mi la persona que soy ahora.

A mi hermana Dianita:

Por ser mi compañera de la infancia, llenar mi niñez de alegrías y travesuras, y mi juventud de complicidades y compañerismo.

A mi hermana Fany:

Por llenar mi vida de ternura, dulzura y cariño, y por enseñarme lo maravilloso que es sentirse responsable de una personita.

A mi Esposo Fernando:

Por llenar mi vida de amor y alegría. Por apoyarme siempre. Por mostrarme lo maravilloso que es tener a la persona que te complementa a tu lado y tener su compañía y amor para toda la eternidad.

A Violeta, Mónica, Nancy, Margarita, Lidia y Mariana:

Por ser mis compañeras y amigas en esta larga travesía que ha sido la U.V.M. Por todo el apoyo que me han brindado en los momentos de desesperanza, y el aliento que me han brindado para seguir adelante.

A Elena y Ana:

Por ser mis compañeras en el largo trayecto de la escuela. Por compartir conmigo confidencias, tristezas, alegrías, horas de estudio y diversión. Simplemente por ser mis amigas.

Miriam, Lizbeth, Ángeles, Mina y Erika:

Por su sincera amistad, por todo el camino que recorrimos juntas tanto académicamente como en la vida, por llenar mi carrera de alegría, cantos, consejos, inspiración y ejemplos.

A Sergio:

Por ser un compañero en mi carrera y formar un verdadero equipo conmigo. Por compartir largas pláticas y su filosofía de la vida. Por ser mi amigo.

A Erick, Erik, Edgar, Isaac, Marco, Diego, Enrique y Simael:

Por dar a mi carrera un toque de alegría, diversión y un poco de baile. Por su amistad sincera, cariño y apoyo.

A mis abuelitos y abuelitas:

Por su cariño y apoyo a lo largo de toda mi vida.

A mi abuelita Taide:

Por enjugar mis lágrimas cuando fue necesario, por cuidarme, por su cariño incondicional, por escucharme y por estar siempre conmigo cuando la he necesitado.

A mi tía Gloria:

Por hacer de mí toda una damita, responsable y educada.

A todos mis maestros:

Por guiarme en las sendas del conocimiento.

A todos mis amigos y familiares:

Que en algún momento me brindaron su ayuda, cariño y apoyo

ACTIVIDAD ANTIGONADOTRÓPICA Y ANTITIROTRÓPICA DE

*Lithospermum officinale* Y *Lithospermum ruderale*

**Lucía Sánchez López**

DIRECTOR DE TESIS

M. en C. Javier Alfredo Carballo Perea

VOCAL

Q.F.B. Patricia Melchor Macías

SECRETARIO

Q.F.B. María Esperanza Hernández Koeling

PRIMER SUPLENTE

Q.F.B. Osvelia Gutiérrez Herrera

SEGUNDO SUPLENTE

Q.F.B. Martha Laura Luna Ontiveros

ASESOR Y REVISOR EXTERNO

**Doctor en Ciencias Jorge Enrique Sánchez Sánchez**

## INDICE

I.	<b>Introducción</b> .....	1
II.	<b>Objetivos</b> .....	6
	2.1 Objetivo General.....	7
	2.2 Objetivos Particulares .....	7
III.	<b>Botánica del Género <i>Lithospermum</i></b> .....	9
	3.1 Clasificación Taxonómica del Género <i>Lithospermum</i> .....	10
	3.1.1 Características botánicas del Género <i>Lithospermum</i> .....	10
	3.1.2 Botánica de <i>Lithospermum officinale</i> .....	13
	3.1.3 Botánica de <i>Lithospermum ruderales</i> .....	15
IV.	<b>Antecedentes Médicos y Fisiológicos</b> .....	17
	4.1 Ciclo hormonal y anticoncepción.....	18
	4.2 Tipos de cáncer dependientes de estrógenos.....	25
	4.3 Tiroxina e hipertiroidismo.....	29
	4.4 Enfermedad de Graves (bocio difuso tóxico).....	34
V.	<b>Propiedades Antigonadotrópicas de <i>Lithospermum</i></b> .....	37
	5.1 Actividad antigonadotrópica del <i>Lithospermum officinale</i> y <i>ruderales</i> .....	38
	5.2 Acción del <i>Lithospermum officinale</i> y <i>ruderales</i> a nivel pituitario.....	43

5.3	Constituyentes gonadotrópicamente activos de <i>Lithospermum officinale</i> y <i>runderale</i> .....	45
5.4	Actividad del ácido litospermico y del ácido litospermico oxidado...	47
5.5	Dosis efectiva.....	54
5.6	Constituyentes fenólicos del <i>Lithospermum officinale</i> y <i>runderale</i> .....	59
5.7	Otros constituyentes del <i>Lithospermum officinale</i> y <i>runderale</i> .....	66
5.8	Perspectivas para el uso antigonadotrópico de <i>Lithospermum officinale</i> y <i>runderale</i> .....	72
<b>VI.</b>	<b>Propiedades Antitirotrópicas de <i>Lithospermum</i></b> .....	<b>74</b>
6.1	Efectos Antitiroideos del <i>Lithospermum officinale</i> y <i>runderale</i> .....	75
6.2	Actividad antitiroidal del <i>Lithospermum officinale</i> y <i>runderale</i> .....	77
6.3	Principio activo de antitirotrópico de <i>Lithospermum officinale</i> y <i>runderale</i> .....	79
6.4	Pruebas de actividad de compuestos 3,4 dihidroxilados.....	80
6.5	Comparación de los compuestos puros con el FDE .....	85
6.6	Interacciones del FDE y los principios activos.....	87
6.7	Relación estructura actividad.....	89
6.8	El <i>Lithospermum officinale</i> y <i>runderale</i> contra hipertiroidismo y enfermedad de Graves.....	91

6.9	Perspectivas para el uso antitirotrópico de <i>Lithospermum</i> <i>officinale</i> y <i>runderale</i> .....	95
VII.	Conclusiones.....	97
VIII.	Comentarios.....	101
IX.	Definiciones.....	104
X.	Bibliografía.....	110

# I. INTRODUCCIÓN

## I. INTRODUCCIÓN.

Las plantas superiores son recursos muy importantes de metabolitos secundarios, los cuales tienen aplicaciones terapéuticas y farmacéuticas variadas. Estos metabolitos secundarios son específicos de especie y pueden ser llamados fitofarmacéuticos. Por lo que han sido parte de la salud humana por muchos siglos a través de todas las culturas. A pesar de los excelentes avances en la química orgánica sintética, las plantas siguen siendo el único recurso de cerca del 25% de las medicinas prescritas<sup>[5,35]</sup>.

Este trabajo promueve la búsqueda de nuevas sustancias útiles para el ser humano a partir de productos naturales, utilizando el criterio etnomédico para la selección del *Lithospermum*<sup>[35]</sup>, que escoge aquellas plantas que un determinado grupo humano utiliza tradicionalmente con fines terapéuticos y está basado en la etnomedicina, rama del conocimiento médico que estudia las nociones tradicionales o folklóricas de las enfermedades, y esta ligada a la etnobotánica, disciplina orientada al estudio de la utilización de las plantas por el ser humano como alimentos, medicamentos, materiales de construcción y otros fines de importancia económica<sup>[35]</sup>.

El *Lithospermum* ha sido usado en varias culturas como colorante para cosméticos, textiles y comida, así como en aplicaciones médicas, como agentes anticonceptivos<sup>[5,12,13,14,37,52,58]</sup>, antihipertiroideos<sup>[2,3,4,10,51]</sup>, antitumorales<sup>[6,20,22,31,32,57]</sup>,

antiinflamatorios<sup>[5,43]</sup>, antivirales<sup>[8,18,25,55]</sup> y antimicrobianos<sup>[35]</sup>, entre otros<sup>[17,21,24,26,49,54]</sup>.

Existen reportes de la influencia del *Lithospermum ruderale* sobre las hormonas, pues se sabe que los indios americanos "Shoshoni" de Nevada utilizaban esta planta con propósitos anticonceptivos; preparando una infusión en agua fría de sus raíces, que se tomaba como una bebida por un periodo de seis meses y con esto se aseguraba la esterilidad posteriormente<sup>[5,12,13,14,58]</sup>.

Los extractos de *Lithospermum officinale* han sido usados igualmente como remedios caseros en el antiguo Tibet y en China, así como en la época actual, en el tratamiento de hipertiroidismo, palpitaciones cardiacas, gota y enfermedad de Graves<sup>[2,3,4,10,43,51]</sup>.

En China desde el siglo V el *Lithospermum* ha sido usado para el tratamiento de tumores e inflamación, ya que es conocido como una medicina herbal usada para aumentar la respuesta del sistema inmune en ciertas condiciones, como cáncer y enfermedades agudas<sup>[6,20,22,31,32,57,43]</sup>, además se sabe que tiene propiedades que pueden ser útiles en el tratamiento de infecciones e inflamación (dolor, hinchazón y enrojecimiento)<sup>[43]</sup>, de igual manera se conocen sus efectos antibacterianos<sup>[21]</sup> y antivirales<sup>[8,18,25,55]</sup>, así como su uso para cortar hemorragias<sup>[43]</sup>.

Desde tiempos antiguos en el Lejano Oriente y Europa, los ungüentos preparados de sus raíces se han usado para quemaduras, inflamaciones, lesiones y úlceras, ya que esta planta muestra actividad antibacterial<sup>[21]</sup>, anti-inflamatoria<sup>[43]</sup>, antitumoral<sup>[6,20,22,31,32,57,43]</sup> y cicatrizante<sup>[5,43]</sup>.

El pigmento crudo de *Lithospermum* es usado para tratar enfermedades de psoriasis, verrugas, púrpura anafiláctica y hepatitis infectiva<sup>[21]</sup>.

Tomando en cuenta las actividades de esta planta actualmente se está probando su actividad anti-viral en la búsqueda de remedios naturales contra el VIH<sup>[8,18,25,55]</sup>.

Otra de las virtudes conocidas de esta planta es su actividad litotritica; es decir su capacidad para disolver cálculos urinarios y biliares; es usada también para limpiar los riñones. Se le atribuyen facultades diuréticas y estomacales, así como la propiedad de desintoxicar el hígado<sup>[5,17,50]</sup>.

Es tomado como infusión a manera de té, el cual es de color café claro de sabor amargo, y se prepara colocando un puñado de la hierba completa (tallos, hojas y flores ya granadas), en una taza de agua hirviendo. Para obtener el efecto deseado se toma una taza después de comer y de cenar<sup>[17,50]</sup>.

Conociendo el amplio uso que se le ha dado a las plantas del género *Lithospermum* a través de los años y de diversas culturas, se considera necesario profundizar más en el conocimiento de esta planta.

Por lo que es importante hacer una recopilación de estos conocimientos para mostrar un panorama más amplio de la gran potencialidad farmacológica de esta planta, y promover su uso basándose no únicamente en los conocimientos empíricos generacionales de la medicina tradicional, sino en sus actividades comprobadas científicamente, así como en sus mecanismos de acción, dosis y principios activos.

Muchas de estas actividades solo han sido comprobadas científicamente en estudios "*in vivo*" e "*in vitro*", en animales y en líneas celulares, sin llegar a estudios profundos de su actividad en humanos; sin embargo representan un antecedente para el aprovechamiento de *Lithospermum officinale* y *runderale* y sus metabolitos como:

- Principios activos aislados de la planta o sintetizados para ser utilizados en diversas formulaciones farmacéuticas.
- Prototipos para la creación de nuevos análogos sintéticos que tengan mayor actividad biológica.
- Drogas crudas mediante decocciones, infusiones, y maceraciones.

## **II. OBJETIVOS**

## II. OBJETIVOS.

### 2.1 Objetivo General.

- Describir los efectos Farmacológicos de *Lithospermum officinale* y *Lithospermum ruderale* a nivel gonadotrópico y tirotrópico, así como su posible mecanismo de acción, con el propósito de utilizarlo como una alternativa terapéutica humana.

### 2.2 Objetivos Particulares.

- Realizar una investigación bibliografía en revistas especializadas en el tema considerando de manera retrospectiva 25 años a la fecha.
- Análisis de la información bibliográfica recolectada.
- Describir los principales datos botánicos de *L. officinale* y *L. ruderale*
- Describir los procesos fisiológicos del ciclo hormonal, involucrados en la anticoncepción.
- Describir las principales características de los cánceres estrógeno dependientes en mujeres.
- Describir los procesos fisiológicos del ciclo hormonal involucrado en el Hipertiroidismo.

- Describir los procesos fisiológicos del ciclo hormonal involucrado en la Enfermedad de Graves.
- Describir los principios activos que se han descubierto en el *L. officinale* y *L. ruderale*, y que actúan a nivel gonadotrópico y tirotrópico.
- Describir el mecanismo por el cual actúan los principios activos presentes en *L. officinale* y *L. ruderale* a nivel gonadotrópico y tirotrópico.
- Promover la aplicación de *L. officinale* y *L. ruderale*, así como de sus principios activos como un método anticonceptivo eficaz, así como alternativa en el tratamiento del hipertiroidismo, la enfermedad de Graves y los cánceres estrógeno dependientes.

### III. BOTÁNICA DEL GÉNERO

#### *Lithospermum*

### III. BOTÁNICA DEL GÉNERO *Lithospermum*

#### 3.1 Clasificación Taxonómica del Género *Lithospermum*

*Lithospermum*: Familia *Boraginaceae*  
 Orden *Lamiales*  
 Clase *Magnoliopsidae*  
 Subclase *Asteridae*  
 Subfamilia *Boraginoideae*  
 Tribu *Lithospermeae*<sup>[53]</sup>.

##### 3.1.1 Características botánicas del Género *Lithospermum*

Descripción: Son hierbas, a menudo arbustos o árboles, rara vez lianas; por lo común provistas de característicos pelos unicelulares con una base cistolítica y a menudo con paredes calcificadas o silicificadas<sup>[53]</sup>.

Hojas: Alternas u opuestas, simples y sin estípulas<sup>[53]</sup>.

Flores: En diversos tipos de inflorescencias básicamente cimosas, las ramas principales por lo general simpódicas, cimas helicoides que se alargan y estiran con la madurez formando falsos racimos o espigas; rara vez

solitarias y axilares; la mayoría hermafroditas, simpétalas. Florece de abril a julio, según la altitud donde crece<sup>[53]</sup>.

Composición: En la corteza de la raíz se halla una materia colorante roja, la litospermina, parecida o idéntica a la alcanina que es un pigmento natural de la familia de las naftoquinonas. La cubierta del fruto se compone de carbonato y silicato cálcicos; dentro del mismo, la semilla contiene materias grasas<sup>[7,29]</sup>.

Distribución: Cosmopolita, mejor desarrollada en Norteamérica del oeste y la región Mediterránea, hacia el este de Asia <sup>[34, 45,46,56]</sup>.

Características físicas: Crecimiento perianal de 0.69999m por 0.3m. Florece de Junio a Julio, y las semillas se desprenden de Julio a Agosto. Las flores son hermafroditas (tienen órganos femeninos como masculinos) <sup>[23]</sup>.

Tierra: Ligera (arenosa), media (arcillosa) y pesada (lodosa) <sup>[23]</sup>.

Suelo: Ácidos, neutrales y básicos (alcalinos) <sup>[23]</sup>.

Luz: Puede crecer en lugares semi-sombreados (luz boscosa) o no sombreados<sup>[23]</sup>.

Humedad: Requiere tierra húmeda<sup>[23]</sup>.

Cosecha: Las flores en primavera, y las raíces en otoño, son secadas para su uso posterior<sup>[23]</sup>.

Detalles de Cultivo: Requiere una posición soleada y tibia en una tierra moderadamente fértil bien humedecida. Prefiere suelos de neutrales a alcalinos y también crece en lugares parcialmente sombreados. Las plantas son resistentes a una temperatura hasta de  $-15^{\circ}\text{C}$ <sup>[23]</sup>.

Propagación: Se siembran las semillas en primavera u otoño en un armazón. Cuando están lo suficientemente grandes para manejarse, se sacan las plántulas en macetas individuales y se dejan crecer en el invernadero durante su primer invierno. Después se plantan en su posición permanente a finales de la primavera o a principio del verano, después de la última helada esperada<sup>[23]</sup>.

Las especies de *Lithospermum* que interesan en este trabajo son *officinale* y *rudérale* que presentan actividad fitoterapéutica antigonadotrópica y antitirotrópica.

### 3.1.2 Botánica de *Lithospermum officinale*

Nombre común: Mijo del sol, granos de amor, litospermo, perlina, aljófara<sup>[38,46,56]</sup>.

Hábitat: Setos, lugares con arbustos y zonas boscosas, usualmente en suelos básicos, lugares soleados, zonas medio sombreadas<sup>[38,45,56]</sup>.

Usos alimenticios: Las hojas son usadas como sustituto de té<sup>[38,46,56]</sup>.

Usos Medicinales: -Las semillas maduras son diuréticas, litotricias y oxitólicas, es decir que son capaces de provocar contracciones uterinas.

-Se muelen en polvo y se usan en el tratamiento de cálculos urinarios, artritis, reumas y condiciones febriles.

-Una infusión de las hojas es usada como sedativo.

-Las raíces son depurativas.

-Un jarabe hecho de una decocción de la raíz y tallos es usado en el tratamiento de enfermedades eruptivas como viruela, sarampión y comezón.

-Tiene propiedades astringentes.

-Todas las partes de la planta contienen una sustancia que inhibe la secreción de la hormona gonadotrópica pituitaria.

-Los extractos de la planta poseen propiedades anticonceptivas<sup>[7,38,56]</sup>.

Otros Usos: La raíz se usa como colorante violeta en tinsiones<sup>[38,56]</sup>.



Fig. 1 .- Fotografía de la planta *Lithospermum officinale*.

### 3.3 Botánica de *Lithospermum ruderale*

Nombre común: Mijo occidental<sup>[38,46,56]</sup>.

Hábitat: Lugares abiertos ligeramente secos, desde el pie de las colinas a elevaciones.

Zonas cultivadas<sup>[38,45,56]</sup>.

Usos alimenticios: Las semillas son usadas para alimentos<sup>[38,46,56]</sup>.

Usos medicinales: -Una infusión o decocción de la raíz es usada como diurética en el tratamiento de daños renales y también en el tratamiento de hemorragias internas, diarrea etc.

-Además es usado como astringente.

-Una cataplasma de hojas y tallos secos pulverizados ha sido usado para disminuir el dolor reumático.

-Algunas de las mujeres indias de Norte América tomaban una infusión de agua fría diariamente por seis meses para asegurar la esterilidad permanente.

-Los extractos alcohólicos de la planta han mostrado que eliminan el ciclo de estro y disminuyen el peso de las glándulas del timo y la pituitaria<sup>[7,38,56]</sup>.

Otros Usos: La planta ha sido usada como colorante rojo así como pintura corporal.

Las raíces son usadas como colorante rojo.

Las semillas duras, blancas y brillantes son usadas como cuentas<sup>[38,56]</sup>.



Fig.2.- Fotografía de la planta *Lithospermum ruderale*.

## **IV. ANTECEDENTES MEDICOS Y FISIOLÓGICOS**

## IV. ANTECEDENTES MÉDICOS Y FISIOLÓGICOS

### 4.1 CICLO HORMONAL Y ANTICONCEPCIÓN

Para poder comprender mejor como es que el *Lithospermum* presenta actividad anticonceptiva, es necesario comprender como funciona el ciclo hormonal que interviene en la reproducción.

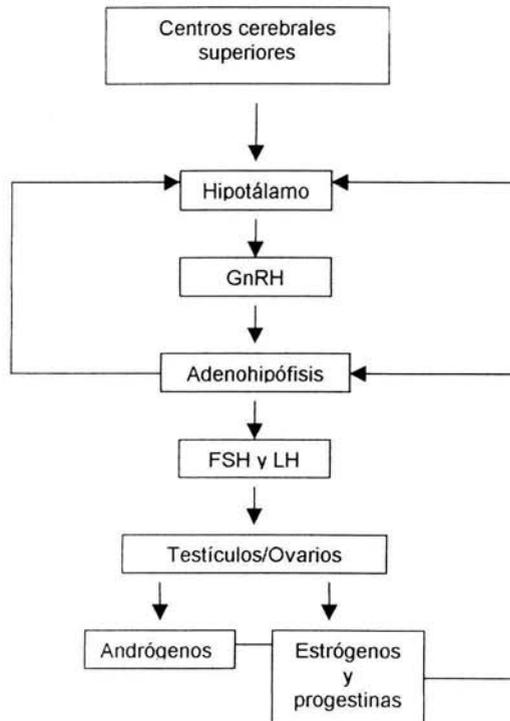
El aparato reproductor de la mujer está sometido a un complejo ciclo ovárico y menstrual, en el cual las interacciones hormonales entre el hipotálamo, la hipófisis y los ovarios coordinan la ovulación con la preparación del útero para recibir y nutrir al óvulo fecundado<sup>[1,9,47]</sup>.

Los estrógenos son las hormonas sexuales femeninas. Estas hormonas, de las cuales el estradiol es la más importante, son producidas por los ovarios bajo la estimulación de la hormona folículo estimulante (FSH) secretada por la hipófisis<sup>[1,9,47]</sup>.

Las hormonas liberadas por la hipófisis anterior están controladas por células neurosecretoras que se localizan en el hipotálamo. Algunas de estas células neurosecretoras producen la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), la cual estimula a las células endócrinas de la hipófisis anterior para liberar FSH y hormona luteinizante (LH)<sup>[1,9,47]</sup>.

La clave para entender el ciclo menstrual es que estas células neurosecretoras liberan espontáneamente GnRH en todo momento, a menos de que se les impida de manera activa mediante el uso de otras hormonas, en especial la progesterona<sup>[1,9,47]</sup>.

La hormona liberadora de gonadotropinas estimula la hipófisis anterior para que libere FSH y LH, las cuales circulan en la sangre e inician el desarrollo de los folículos dentro de los ovarios, estimulando también a las células foliculares que rodean al ovocito en desarrollo para secretar estrógenos. Bajo la influencia tanto de la FSH, la LH y los estrógenos los folículos crecen durante las siguientes dos semanas<sup>[19,48]</sup>.



Esquema 1.- Circuitos de control hormonal en las funciones reproductivas.<sup>[48]</sup>

Al mismo tiempo, el ovocito primario dentro de cada folículo crece, almacenando tanto alimentos como sustancias reguladoras (principalmente proteínas y RNA mensajeros) que serán requeridas por el óvulo fecundado durante el desarrollo temprano. Por algunas razones, que no son del todo comprendidas, sólo uno (o en raras ocasiones dos) de los folículos completa su desarrollo cada mes<sup>[19,48]</sup>.

Conforme el folículo en desarrollo crece, secreta cantidades cada vez mayores de estrógenos, los cuales tienen los siguientes efectos.

- Promover el desarrollo continuo del folículo mismo y del ovocito primario que contiene.
- Estimular el crecimiento del endometrio del útero.
- Las concentraciones elevadas de estrógeno estimulan tanto al hipotálamo como a la hipófisis, lo que da como resultado el nivel más alto en la liberación de LH y FSH hacia el duodécimo día del ciclo<sup>[1,9,47]</sup>.

La función del pico de la concentración de FSH aún está sujeta a investigación, pero la presencia de LH tiene tres consecuencias importantes:

- Dispara la culminación de la meiosis I en el ovocito primario, de lo que resulta la formación del ovocito secundario y del primer cuerpo polar.
- Produce el crecimiento final del folículo que culmina con la ovulación.
- Transforma los restos del folículo que permanecen en el cuerpo lúteo del ovario<sup>[1,9,19,47]</sup>.

El cuerpo lúteo secreta tanto estrógenos como progesterona. La combinación de estas hormonas inhibe al hipotálamo y a la hipófisis desactivando la liberación de FSH y LH con lo que impide así el desarrollo de más folículos. Simultáneamente, los estrógenos y la progesterona estimulan el crecimiento posterior del endometrio, el cual por último adquiere un grosor de unos cinco milímetros. La progesterona estimula al endometrio, pero inhibe la liberación de hormonas del hipotálamo y la hipófisis<sup>[1,9,19]</sup>.

En los ciclos menstruales en los que no se lleva a cabo el embarazo, el cuerpo lúteo se desintegra aproximadamente una semana después de la ovulación. El cuerpo lúteo sobrevive sólo mientras es estimulado por la LH (o por una hormona parecida liberada por el embrión en desarrollo). Sin embargo, debido a que la progesterona secretada por el cuerpo lúteo desactiva la secreción de LH que lo mantenía, el cuerpo lúteo se "autodestruye" alrededor del día 21 del ciclo<sup>[1,9,19]</sup>.

Sin el cuerpo lúteo, las concentraciones de estrógenos y progesterona caen totalmente. Privado de la estimulación por estrógenos y progesterona, el endometrio del útero también muere, y su sangre y tejido se desfolian y forman el flujo menstrual que se inicia el día 27 o 28 del ciclo. De manera simultánea, la concentración disminuida de progesterona ya no inhibe más al hipotálamo y a la hipófisis y la liberación espontánea de GnRH desde el hipotálamo termina. A su vez, la liberación de GnRH estimula la liberación de FSH y LH, el cual inicia el desarrollo de un nuevo conjunto de folículos, y empieza de nuevo el ciclo<sup>[1,9,19,48]</sup>.

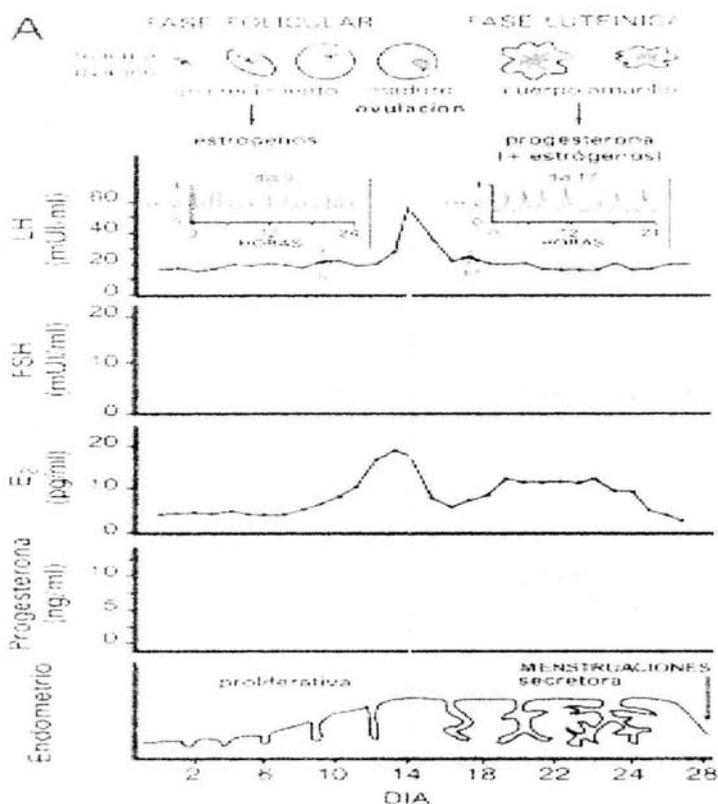


Fig. 1. Pautas de secreción hormonal durante el ciclo menstrual<sup>(1)</sup>

Durante el embarazo, el embrión impide que estos cambios ocurran. Poco tiempo después de que la esfera de células, formada a partir de la división del óvulo fecundado queda incorporada en el endometrio, estas empiezan a secretar una hormona parecida a la LH que recibe el nombre de gonadotropina coriónica (GC).

Esta hormona viaja en la sangre hacia el ovario en el que impide el rompimiento del cuerpo lúteo. El cuerpo lúteo continua secretando estrógenos y progesterona y la capa limitante del útero sigue creciendo y nutriendo al embrión. Tanta GC es liberada por el embrión, que es excretada por la orina de la madre<sup>[1,9,19,48]</sup>.

Las hormonas del ciclo menstrual son reguladas tanto por retroalimentación positiva como negativa. Durante la primera mitad del ciclo, la FSH y LH estimulan la producción de estrógenos por parte de los folículos. Las concentraciones elevadas de estrógenos estimulan la producción a mitad del ciclo de FSH y LH (retroalimentación positiva). Durante la segunda mitad del ciclo, tanto los estrógenos como la progesterona inhiben la liberación de FSH y LH (retroalimentación negativa). La retroalimentación positiva temprana provoca que las concentraciones de hormonas lleguen a los niveles más altos, y la retroalimentación negativa tardía desactiva el sistema de nuevo, a menos que se presente un embarazo<sup>[1,9,19]</sup>.

Este es un proceso que se encuentra en un perfecto equilibrio, con una sola función, la reproductora. Sin embargo, aunque el plan de la naturaleza es propiciar todas las veces posibles un embarazo para perpetuar la especie; actualmente esto ya no es una necesidad, puesto que la mortalidad infantil se ha reducido considerablemente, y que la explosión demográfica, de la cual es víctima nuestro planeta, se ha vuelto un terrible problema<sup>[1]</sup>.

Por lo tanto ahora es importante atajar el camino de la naturaleza impidiendo, en lo posible, el número de nacimientos utilizando los métodos anticonceptivos que la actualidad ha puesto a nuestro alcance<sup>[1]</sup>.

Existen varios métodos anticonceptivos, pero para concentrarnos en la acción que tiene el *Lithospermum*, es necesario enfocarnos en el proceso de anticoncepción debido a interacciones hormonales.

Este proceso se da al impedir que exista un pico en la concentración de LH, generalmente a mitad del ciclo; lo cual se consigue suprimiendo la liberación de LH, actualmente esto se logra utilizando anticonceptivos hormonales que suministran estrógenos y progesterona en cantidades capaces de evitar la ovulación al regular las concentraciones de esta hormona<sup>[1]</sup>. Sin embargo existen otros métodos para lograr esta acción y uno de ellos es el uso de extractos de *Lithospermum*.

## 4.2 TIPOS DE CÁNCER DEPENDIENTES DE ESTRÓGENOS

El número de mujeres diagnosticadas con cáncer de mama, cuello uterino, ovarios y endometrio, va en aumento cada año y es la primera causa de muerte en las mujeres entre los 35 y los 54 años. De 1950 a 1992 la incidencia de estos cánceres aumento en un 55 %. En el presente, 1 de cada 8 mujeres desarrollará alguno de estos cánceres en el transcurso de su vida<sup>[26]</sup>.

Solo un pequeño porcentaje de los casos diagnosticados de cáncer son de origen genético (10%). La mayoría de los casos pueden ser ligados a uno o varios factores: ambientales, tóxicos, factores médicos o riesgos individuales que podemos controlar<sup>[26,33,34,40,41,42]</sup>.

La causa del cáncer es multifactorial, esto quiere decir que hay muchos factores de riesgo como tabaquismo, contaminación, estrés, obesidad, uso de anticonceptivos hormonales, exposición prolongada a radiaciones etc, influyendo con mayor fuerza en muchos casos también la historia familiar y la genética, que al unirse e interactuar pueden producir la enfermedad al crear las condiciones necesarias para el desarrollo del cáncer<sup>[26,33,34,40,41,42]</sup>.

Una mujer con historia familiar de cáncer de mama no siempre desarrolla la enfermedad a menos que se unan otros factores de riesgo. Y al contrario, una mujer sin historia familiar de cáncer de mama, puede desarrollar la enfermedad al estar expuesta a factores de riesgo<sup>[26,33,41]</sup>.

Los riesgos de desarrollar cáncer de mama aumentan con la edad. Más del 80% de los casos se presentan en mujeres mayores de 50 años. A los 30 años el riesgo es de 1 en 2525, a los 40 años es de 1 en 217, a los 50 años es de 1 en 50 y a los 80 años es de 1 en 8<sup>[26]</sup>.

Hay 2 tipos de cáncer de mama dependiente y no dependiente de hormonas. El que se presenta más frecuentemente, está definitivamente vinculado con los niveles de estrógeno (hormona femenina). Entender los efectos de las hormonas es crucial para reducir el riesgo<sup>[26,33,41]</sup>.

El por qué de que el cáncer de mama dependiente de estrógeno se presenta más frecuentemente en la actualidad, está relacionado a varios factores de riesgo, como el uso de anticonceptivos hormonales y terapias de sustitución de estrógenos para mujeres post-menopáusicas, que aumentan crónicamente los niveles de estrógeno circulante<sup>[26,33,41]</sup>. Por lo que es importante evitar el uso de anticonceptivos hormonales sobre todo en mujeres con historia familiar de cáncer de mama, o con antecedentes de enfermedad benigna de la mama o que empezaron a tomar

anticonceptivos a temprana edad. Para el mismo grupo se aplica el no realizar mamografías con tanta frecuencia si se tienen factores de riesgo<sup>[26]</sup>.

El cáncer de endometrio constituye la neoplasia maligna más frecuente de la pelvis femenina.

- Representa el 13% de todos los cánceres que se presentan en la mujer, siendo el cuarto en frecuencia en países desarrollados.
- Su incidencia se ha incrementado y se ha puesto de manifiesto durante los últimos años.
- Es el más curable de los cánceres de causa ginecológica y de los 10 cánceres más frecuentes en el sexo femenino.
- El aumento de incidencia se ha atribuido al aumento del consumo de estrógenos no combinados. Los anticonceptivos orales son un factor de riesgo de cáncer endometrial entre otros como la edad, la obesidad, tabaquismo, etc<sup>[34,40,42]</sup>.

El tratamiento de elección es según el estadio del cáncer endometrial. La cirugía es el tratamiento primario en el 92 a 96 % en mujeres con cáncer de endometrio. Se realiza con el fin de etapificar y tratar la neoplasia. La radioterapia en el carcinoma de endometrio se emplea fundamentalmente en pacientes con factores de mal pronóstico, se puede realizar en forma selectiva después de la intervención quirúrgica<sup>[34,40,42]</sup>.

El cáncer de cuello uterino y de ovarios también pueden ser estrógeno dependientes, teniendo nuevamente el uso de anticonceptivos orales como principal factor de riesgo<sup>[34,40,42]</sup>.

El tratamiento para el cáncer de cuello uterino y de ovarios suele ser principalmente la cirugía y posteriormente la radioterapia<sup>[34,42]</sup>.

Aunque el número de muertes debidas a las neoplasias del cuello y el ovario es mayor que las debidas a carcinoma endometrial, la mortalidad de este último sigue siendo significativa<sup>[40,42]</sup>.

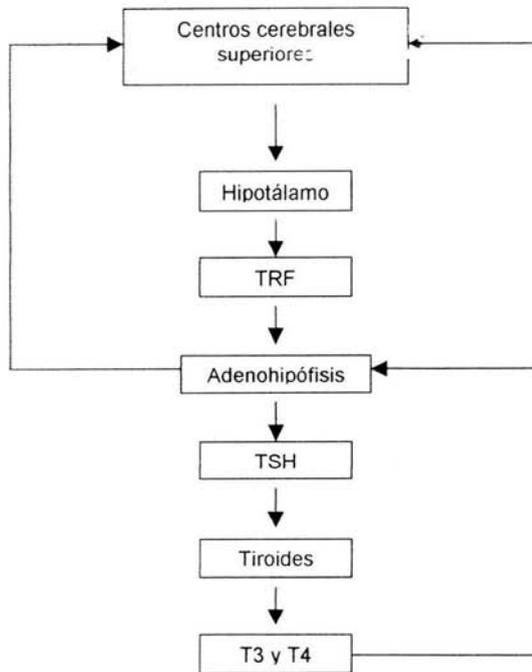
### 4.3 TIROXINA E HIPERTIROIDISMO

Es necesario familiarizarse con el funcionamiento de la tiroides y su ciclo hormonal, para poder comprender mejor la acción que ejerce el *Lithospermum* a este nivel.

Las hormonas producidas por la tiroides se llaman triyodotironina (T3) y tiroxina (T4). Su principal característica es que contienen yodo. El yodo para la fabricación de las hormonas tiroideas proviene principalmente de fuentes externas, a partir del agua y los alimentos ingeridos y es transportado por la sangre. La tiroides tiene la capacidad de atraparlo e incorporarlo a una proteína llamada tiroglobulina, en la cual se almacenan las hormonas tiroideas. La tiroxina difiere de los andrógenos, estrógenos y corticosteroides en su estructura química: la tiroxina es un aminoácido combinado con cuatro átomos de yodo<sup>[11,19]</sup>.

La síntesis de las hormonas tiroideas y su secreción están controladas por la hipófisis mediante un mecanismo muy sensible a las variaciones en las concentraciones de T3 y T4 en la sangre<sup>[19,48]</sup>.

Cuando la hipófisis detecta que las concentraciones de estas hormonas están disminuidas, produce TSH (hormona estimuladora de la tiroides), la cual es liberada a la sangre y viaja por el torrente circulatorio. El hipotálamo sintetiza la hormona liberadora de tirotropina o TRH, la cual estimula a la hipófisis para que sintetice TSH<sup>[11,19,48]</sup>.



Esquema 2.- Circuitos de control hormonal en las funciones tiroideas. <sup>[48]</sup>

Al llegar a la glándula tiroides, el TSH activa diversos pasos en la fabricación y en la liberación de hormonas tiroideas almacenadas para que sean vertidas a la sangre, de esta forma, T3 y T4 llegan a los órganos donde ejercen su acción<sup>[11,19]</sup>.

Por el contrario, una vez que las concentraciones de T3 y T4 en la sangre se elevan, se frena la producción de TSH y la tiroides también detiene la fabricación de sus productos. Esto es lo que se llama un sistema de control por retroalimentación negativa (Esq. 2 )<sup>[11,19,48]</sup>.

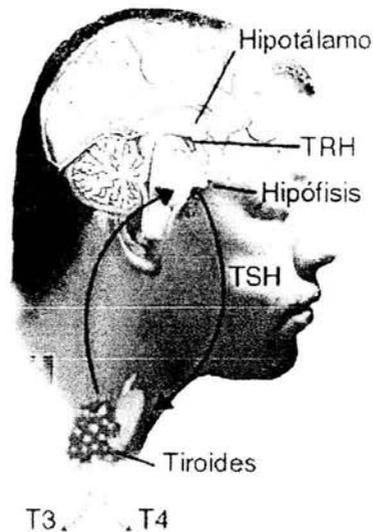


Figura 2. Mecanismo de retroalimentación negativa de la producción de hormonas tiroideas.<sup>[11]</sup>

Las hormonas tiroideas estimulan procesos vitales en todo el organismo. Influyen en la maduración y el desarrollo de los tejidos, en la producción de energía y de calor, en el metabolismo (transformación) de nutrientes, en las funciones mentales, cardíacas, respiratorias, sexuales y reproductivas<sup>[11,19]</sup>.

Cuando se rompe el delicado equilibrio de producción y secreción de hormonas, se producen las alteraciones funcionales de la glándula. Cuando disminuye la cantidad y la actividad de T3 y T4 en los órganos blanco, se produce hipotiroidismo. Por el contrario, cuando hay exceso de hormonas, se produce hipertiroidismo<sup>[11]</sup>.

Hipertiroidismo o tirotoxicosis se refiere a la presencia de cantidades excesivas de hormonas tiroideas en los órganos blanco. Las causas pueden ser producción

excesiva de hormonas por la glándula tiroides como ocurre en la enfermedad de Graves, liberación de gran cantidad de hormona almacenada como ocurre en casos de tiroiditis (inflamación del tiroides autoinmune o viral) o, con menor frecuencia, estimulación exagerada de la síntesis de hormonas tiroideas por secreción excesiva de TSH a partir de ciertos tumores de hipófisis<sup>[30]</sup>.

En el hipertiroidismo, el metabolismo basal es muy alto (a veces el doble del normal), el enfermo pierde peso, tiene diarrea, se vuelve muy nervioso y tembloroso, aumenta su frecuencia cardíaca, y el corazón late a menudo tan fuerte que puede sentirse palpitar en el tórax. El estado de hipertiroidismo es a veces tan grave y duradero que llega a "quemar" los tejidos, apareciendo fenómenos de degeneración en muchos lugares del organismo. Una de las zonas más frecuentes de degeneración es el propio músculo cardíaco<sup>[19,30,44]</sup>

Los métodos habituales para tratar el hipertiroidismo consisten en:

- Administrar drogas que abatan la función tiroidea o destruyan la glándula.
- Extirpar quirúrgicamente una parte importante de la tiroides<sup>[44]</sup>.

Los medicamentos antitiroideos suelen prescribirse con buenos resultados en personas jóvenes con enfermedades leves a moderadas. Requieren administración prolongada por un año o más, pueden tener efectos adversos (algunos de ellos graves por alergias o por disminución de los glóbulos) y los síntomas pueden reaparecer al suspenderlos<sup>[30]</sup>.

La administración de propiluracilo impide la reacción química entre la tirosina y el yodo para formar tiroxina, muchos hipertiroideos pueden ser curados con este medicamento<sup>[44]</sup>.

Uno de los medios más recientes para tratar el hipertiroidismo es la administración de yodo radioactivo. Dos tercios aproximadamente del yodo ingerido pasan de la sangre a la tiroides, produciendo dentro de la glándula una radiación intensa que destruye el tejido demasiado activo; así se logra una función tiroidea normal otra vez<sup>[30]</sup>. El hipotiroidismo secundario es la principal complicación. Está contraindicado en mujeres embarazadas, en período de lactancia y en personas menores de 18 años<sup>[44]</sup>.

La cirugía se utiliza cada vez menos, pero puede ser necesaria en casos en los cuales no hay control con los medicamentos y por algún motivo no se puede emplear el yodo radioactivo o cuando existen lesiones sospechosas de malignidad en el tiroides. Los principales inconvenientes son la extirpación involuntaria, durante la cirugía, de las glándulas paratiroides encargadas del control del calcio, debido a que estas se encuentran adheridas al tiroides y la lesión del nervio laríngeo causa ronquera recurrente<sup>[30,44]</sup>.

#### 4.4 ENFERMEDAD DE GRAVES (BOCIO DIFUSO TÓXICO)

La enfermedad de Graves es la que más a menudo se asocia con el hipertiroidismo, los investigadores creen que la enfermedad de Graves es causada por un anticuerpo que estimula demasiado a la tiroides y como consecuencia, ocasiona la producción excesiva de hormona de la tiroides<sup>[19]</sup>.

La enfermedad de Graves es de tipo autoinmune y no se sabe qué desencadena la respuesta contra el tejido propio. Se producen anticuerpos antitiroideos pero no destruyen la glándula. Predominan anticuerpos contra el receptor de TSH (sitio de unión de TSH a la célula tiroidea para ejercer su acción) que mantienen activada la glándula para producir y secretar hormonas a la sangre<sup>[44]</sup>.

La enfermedad suele ser hereditaria y es más común en las mujeres jóvenes y de edad mediana. Suele ser desencadenada por un evento emocional traumático<sup>[30]</sup>.

Los síntomas de la enfermedad de Graves son idénticos a los del hipertiroidismo, con la adición de otros tres síntomas. Sin embargo, cada individuo puede experimentar los síntomas de una forma diferente. Los tres síntomas adicionales incluyen:

- Bocio (crecimiento de la glándula, puede causar una protuberancia en el cuello).
- Ojos protuberantes (exoftalmos).
- Engrosamiento de la piel en el área de la barbilla<sup>[39]</sup>.

La enfermedad de Graves comparte muchas características inmunológicas con el hipotiroidismo auto inmune, con la inclusión de elevadas concentraciones plasmáticas de anticuerpos contra la tiro globulina, peroxidasa tiroidea y cotransportador de yodo y sodio en el tejido tiroideo<sup>[39]</sup>.

Los anticuerpos estimulantes tiroideos producen hipersecreción tiroidea, hipertrofia e hiperplasia de los folículos de la glándula. El resultado es el bocio difuso característico. Con frecuencia se encuentran infiltrados linfocíticos, fuente principal de auto anticuerpos, con contribuciones de los ganglios linfáticos cervicales y médula ósea<sup>[39]</sup>.

Aunque los auto anticuerpos producen el hipertiroidismo de Graves, su concentración plasmática es muy baja, en oportunidades no detectable. Las células tiroideas no sólo son fuente y objetivo de los auto anticuerpos, sino que expresan diversas moléculas moduladoras de la auto inmunidad intra tiroidea<sup>[39]</sup>.

La oftalmopatía de Graves se caracteriza por edema e inflamación de los músculos extraoculares, con incremento del tejido conectivo y de grasa retro orbitaria. El edema se debe a la acción hidrofílica de glucosaminoglicanos secretados por los fibroblastos. La inflamación es consecuencia de la infiltración por linfocitos y macrófagos en los músculos extra orbitarios y en el tejido conectivo de la órbita. La dermatopatía se caracteriza por la inflamación linfocítica de la dermis, la acumulación de glucosaminoglicanos y edema. Los eventos en la patogénesis de la oftalmopatía y dermatopatía probablemente se deban a la activación de fibroblastos mediada por citoquinas, secreción de glucosaminoglicanos y fibrosis<sup>[39,44]</sup>.

Se pueden utilizar medicamentos llamados Beta-bloqueadores para aliviar los síntomas cardíacos, el nerviosismo y el temblor. Pero la base del tratamiento está en disminuir la secreción de hormonas por la glándula.

Existen tres métodos para lograrlo:

- medicamentos antitiroideos (metimazol y propiltiouracilo).
- yodo radioactivo para "quemar la glándula" .
- cirugía para extirpar gran parte de la glándula<sup>[44]</sup>.

**V. PROPIEDADES  
ANTIGONADOTRÓPICAS  
DE  
*Lithospermum***

## V. PROPIEDADES ANTIGONADOTRÓPICAS DE *Lithospermum*

### 5.1 ACTIVIDAD ANTIGONADOTRÓPICA DE *Lithospermum officinale* y *ruderale*.

Los conocimientos empíricos que indican que el *Lithospermum* presenta actividad antigonadotrópica y por lo tanto anticonceptiva, han sido confirmados principalmente por Findley y Winterhoff al comprobar algunos de los efectos que se le atribuyen a esta planta como:

- La capacidad para prolongar la etapa de diestro de ratas y ratones, reduciendo o bloqueando el estro y provocando que disminuya el número de nacimientos<sup>[5]</sup>.
- Hembras alimentadas con una dieta de 7-15% de *Lithospermum* seco y compactado, desarrollan atrofia o atresia de sus órganos sexuales sin mostrar un decremento en su peso corporal o cambio en el crecimiento de pituitaria o tiroides<sup>[5]</sup>.
- Ratones inmaduros con un 40 % de *Lithospermum* seco y compactado en la dieta presentan una reducción en su crecimiento y el peso de sus órganos sexuales, así como de la pituitaria y el timo<sup>[5]</sup>.

- Inyecciones de extractos producen un retraso en el crecimiento, atrofia de órganos sexuales y reducción del número de cuerpo lúteo en los ovarios, es decir disminuye la ovulación<sup>[5,58]</sup>.

Estos efectos se terminan en cuanto se deja de administrar el *Lithospermum* e implican una disminución en la capacidad reproductiva del sujeto.<sup>[5,13]</sup>

Diferentes estudios indican que esta planta actúa a nivel hormonal y principalmente sobre la hormona LH. Por ejemplo en la gallina el *L. ruderale* bloquea la ovulación y disminuye el peso ovárico y del oviducto, lo que sugiere precisamente que la planta provoca una inhibición de la acción y secreción de esta hormona<sup>[58]</sup>.

Cantidades mayores de 8.0 mg equivalentes al material seco de *Lithospermum* inactivan también a la hormona folículo estimulante (FSH), lo que provoca a su vez una atrofia en testículos, vesículas seminales y próstata en machos, así como de ovarios, cuerpo lúteo y útero en hembras, lo que indica una inactivación conjunta del LH<sup>[58]</sup>.

A dosis baja se puede inhibir la liberación y a dosis alta, la síntesis de gonadotropinas pituitarias como la gonadotropina sérica de yegua preñada (PMSG) y la gonadotropina coriónica, así como de las hormonas de la pituitaria anterior, prolactina y hormona estimulante de la tiroides (TSH), lo que provoca una reducción del tamaño de la tiroides<sup>[5,14]</sup>.

Estos resultados sugieren que *L. ruderale* produce una reducción en la producción de hormonas sexuales secundarias. debido a la inhibición de las gonadotropinas<sup>[5,14]</sup>.

Esto hace que la planta pueda utilizarse con implicaciones terapéuticas para el control de tumores mamarios dependientes de hormonas estrogénicas. Esta posibilidad se ha comprobado al utilizar cepas de ratones capaces de desarrollar tumores mamarios de manera espontánea dependiendo de la estimulación estrogénica a la que estén sometidos<sup>[5]</sup>.

A cepas de ratones que espontáneamente desarrollan tumores mamarios dependientes de la estimulación de hormonas estrogénicas, (cepa I y II), si se les alimenta con dietas que contienen del 15-30% de *Lithospermum* presentan una reducción en el desarrollo de tumores, siendo del 58.1% al 2.8% en la cepa I y en la II del 96.6 % al 21.9%. Con dietas de *Lithospermum* del 10-15 %, la incidencia del tumor mamario en la cepa II se redujo a la mitad<sup>[5]</sup>.

El potencial para la aplicación de un tratamiento con *Lithospermum* en tejidos malignos con dependencia hormonal es obvia, ya que con este tratamiento es posible evitar la extirpación de estos tejidos al prevenir su desarrollo.

Estas capacidades de *Lithospermum* también se han demostrado para la especie *officinale*, la cual presenta una gran actividad en los mismos aspectos.

*L. officinale* inhibe la actividad de gonadotropinas pituitarias, PMSG, gonadotropina coriónica y prolactina, con una rápida normalización de su actividad después de que cesa el tratamiento con la planta. También inhibe el crecimiento de los testículos en ratas macho, pero no tienen influencia en la síntesis de testosterona. Los extractos frescos y deshidratados de *L. officinale* son igualmente efectivos en la inhibición PMSG y las demás hormonas<sup>[5,14,52]</sup>.

Además el extracto de *L. officinale* actúa como un agente bloqueador hormonal sin mostrar efectos secundarios. Una dosis de extracto equivalente a 0.5 a 1.0 gramos de planta diaria en ratones es suficiente para inhibir el estro sin mostrar efectos secundarios o toxicidad<sup>[5]</sup>.

El *L. officinale* también ha sido utilizado por los indios Shoshoni durante un largo tiempo como medicamento y bebida sin reportar efectos adversos. Sin embargo esta actividad no ha sido comprobada del todo científicamente, únicamente se ha comprobado que una dosis única de extracto acuoso equivalente a 10 gramos de planta seca no produce efectos subjetivos u objetivos en un estudio en humanos<sup>[5,</sup>

12,13,14,52]

Esto ha dado la pauta para poder realizar investigaciones de sus efectos en personas. En un estudio de caso, una mujer de 34 años que consumió un monto de extracto liofilizado equivalente a 20 gramos de planta seca al día, por una semana durante la menstruación y doble dosis para el resto de su ciclo, no se presentaron cambios en el color sanguíneo, resultados urinarios, rango de pulso, ni se detectaron efectos subjetivos<sup>[5]</sup>.

Solamente se observó una reducción en el incremento de la temperatura ovulatoria y una disminución del desarrollo progesteronal del endometrio comparado con los ciclos precedentes y subsecuentes que fueron observados, reflejando una disminución en la secreción lútea<sup>[5]</sup>.

Este estudio esclarece la acción que tiene el *Lithospermum* sobre el ciclo menstrual y nos indica que puede ser utilizado como anticonceptivo, ya que los efectos que produjo la planta son muy similares a los obtenidos con un tratamiento hormonal con pastillas anticonceptivas<sup>[5]</sup>.

## 5.2 ACCIÓN DEL *Lithospermum officinale* y *ruderales* A NIVEL PITUITARIO

Zeller ha probado que la actividad del *Lithospermum* se debe a su acción sobre las gonadotropinas, y especialmente sobre el LH, por lo que consideró importante comprobar si se debe a un efecto de la planta a nivel pituitario<sup>[58]</sup>.

La actividad de *Lithospermum* sobre LH se ha demostrado "*in vitro*" al disminuir el índice de aumento de peso en testículos de pollo e "*in vivo*" en gallos<sup>[14,58]</sup>.

Para verificar si efectivamente el *Lithospermum* es capaz de inhibir la actividad del LH, el cual incrementa el desarrollo de los testículos en los gallos, se les administran subcutáneamente extractos acuosos de las raíces de la planta a un grupo experimental en varias concentraciones antes de administrar LH a diferentes tiempos<sup>[58]</sup>.

Las inyecciones de *Lithospermum* equivalentes a 2.0, 4.0 y 8.0 mg de material seco, administradas hasta 10 h antes de LH, suprimen de manera significativa el efecto provocado normalmente por la LH. Sin embargo a una dosis de 4.0 mg el *Lithospermum* no presenta efectos inhibitorios al administrarse a 16, 22, 38 y 46 h antes que la LH, lo que indica que su efecto es transitorio y eventualmente desaparece<sup>[58]</sup>.

Además la LH presenta un mayor efecto posterior cuando se le administra a los grupos experimentales que cuando se da a los controles, lo que sugeriría que el *Lithospermum* es capaz de prevenir la liberación o la acción de las gonadotropinas de la pituitaria anterior, pero no la síntesis<sup>[58]</sup>.

Estos estudios muestran que el foco de la actividad del *Lithospermum* es sobre las hormonas LH y FSH que secreta la pituitaria, por lo que su actividad se ha investigado a este nivel<sup>[58]</sup>.

Findley ha comprobado que al adicionar extractos de *Lithospermum* a cultivos celulares primarios de pituitaria, éste es capaz de inhibir la liberación de LH estimulada por GnRH. Reduciendo el contenido celular de LH, sin afectar significativamente su liberación basal. Estos resultados sugieren que el *Lithospermum* puede actuar también inhibiendo la habilidad de GnRH para estimular la liberación y producción de LH<sup>[13,14]</sup>.

Ya que la potencia gonadotrópica de la pituitaria puede verse disminuida por una dieta deficiente de vitamina B, se ha demostrado que el *Lithospermum* es incluso activo en una dieta suplementada con un exceso de vitamina B<sup>[5]</sup>.

### 5.3 CONSTITUYENTES GONADOTRÓPICAMENTE ACTIVOS DE *Lithospermum officinale* y *runderale*

El principio activo del *Lithospermum* se extrae de una fracción neutral de agua. La potencia es mayor para las flores y semillas que para las raíces, las cuales son más potentes que las hojas, mientras que los tallos casi no tienen actividad. Sin embargo, las raíces son más activas que la planta superficial entera tomada por completo. Las raíces cosechadas en Septiembre, son más potentes que las de Agosto, las cuales son superiores a las de Junio. Las raíces almacenadas por 3 años son altamente activas, y después de 4 años continúan activas. En contraste, los extractos acuosos ordinarios, pierden actividad rápidamente. Por lo que en muchos de los estudios, el extracto acuoso de *Lithospermum* es congelado y deshidratado (FDE) para preservar su potencia, la cual disminuye un poco con el tiempo, pero puede pasar a través de los años sin un cambio significativo<sup>[5]</sup>.

Los constituyentes activos de *Lithospermum* son muy sensibles al calor antes y durante la extracción (pero no después) y son destruidos rápidamente en soluciones acuosas. Esto puede implicar que congelar y deshidratar el jugo o extracto acuoso es la mejor técnica de preservación y una de las más frecuentemente utilizadas. El extracto congelado deshidratado de *Lithospermum* puede mantener su potencia por más de 10 años si no es expuesto a la humedad<sup>[5, 52]</sup>.

El extracto congelado y deshidratado (FDE) contiene cerca del 33% del total de la planta superior seca y 10-40% del peso de la raíz seca. El 70% de cada uno está compuesto de carbohidratos biológicamente inactivos y 20 % de una mezcla de sales fenólicas carboxiladas. Un extracto etéreo de FDE ha mostrado en varios estudios que es la forma más activa debido a una alta concentración de fenoles en este extracto<sup>[5,13]</sup>.

Se ha examinado a nivel de receptor la posibilidad de que las responsables de esta actividad sean sustancias esteroideas, pero se ha encontrado que solo a muy altas concentraciones del extracto crudo de *Lithospermum*, las hormonas progesterona, testosterona o estradiol son desplazadas de sus respectivos receptores uterinos. Además estas concentraciones pueden ser tóxicas y debido a que las mismas no son las requeridas para la bioactividad observada "in vivo" o "in vitro", se concluye que los componentes antigonadotrópicos de *Lithospermum* no actúan como esteroides<sup>[5,12]</sup>.

La identificación de los constituyentes gonadotrópicamente activos del extracto acuoso de las raíces de *Lithospermum* se ha buscado por una variedad de técnicas, y principalmente se han encontrado<sup>[5,12,13,14,34,52]</sup>:

- ácido litospérmico
- ácido caféico
- ácido rosmarínico
- ácido clorogénico
- ácido elágico
- luteolin-7 $\beta$ -glucósido.

#### 5.4 ACTIVIDAD DEL ÁCIDO LITOSPÉRMICO Y DEL ÁCIDO LITOSPÉRMICO OXIDADO

Uno de los más importantes principios activos del *Lithospermum* es el ácido litospérmico, que forma aproximadamente del 1 al 3% del peso seco de sus raíces; y se sabe que 0.3 mg/mL de material inicial crudo activo "*in vitro*", contienen suficiente ácido litospérmico (3.0-9.0 µg/mL) o su equivalente forma oxidada para inhibir la liberación de LH<sup>[14]</sup>.

El ácido litospérmico es un ácido polifenólico al que se le ha atribuido la mayor parte de la actividad antigonadotrópica del *Lithospermum*; sin embargo se ha probado que es el ácido litospérmico en su forma oxidada el que inhibe la liberación de LH estimulada por GnRH así como su actividad. Pues el ácido litospérmico en sí presenta una menor actividad, la cual según Findley es posible que se deba a las fracciones de este ácido que se oxidan durante los tratamientos<sup>[14,52]</sup>.

Esto se comprueba al verificar la capacidad de estos ácidos para disminuir la cantidad de LH pituitaria detectada en cultivos celulares; en los cuales en condiciones normales 1.0 nM de GnRH incrementa nueve veces la liberación de LH comparada con la liberación basal. La cantidad de LH es medida por un radioinmuno ensayo, específico para LH<sup>[14]</sup>.

Al agregar ácido litospérmico (5.0  $\mu\text{g/mL}$ ) esta liberación es disminuida ligeramente, pero la liberación estimulada por GnRH se afecta muy poco<sup>[14]</sup>.

En contraste, la adición de ácido litospérmico oxidado (5.0  $\mu\text{g/mL}$ ) incrementa la liberación de LH basal cinco veces, pero reduce el monto de LH liberada en presencia de GnRH. (tabla1)<sup>[14]</sup>

Condiciones	Liberación de LH ng/pozo	Liberación de LH con 1.0 nM de GnRH ng/pozo
Iniciales (control)	211 $\pm$ 12	1790 $\pm$ 271
Ácido litospérmico 5.0 $\mu\text{g/mL}$	147 $\pm$ 1	1589 $\pm$ 95
Ácido litospérmico oxidado 5.0 $\mu\text{g/mL}$	1032 $\pm$ 10	885 $\pm$ 46

Tabla 1.- LH liberada de cultivos celulares durante 16 h de exposición a medio basal, ácido litospérmico y ácido litospérmico oxidado, en presencia o ausencia de 1.0 nM de GnRH.

Para probar si estos efectos se deben a un incremento en la habilidad de los cultivos para responder a GnRH, el tratamiento se divide en 2 periodos<sup>[14]</sup>:

- Primer periodo.- un reto de 4.5 h, durante el cual en presencia solamente de GnRH, se liberan de 85-100% de la LH que se espera sea liberada.

- Segundo periodo.- un reto de GnRH de 12 h para todos los cultivos para valorar la habilidad de las células para responder a GnRH siguiendo el tratamiento inicial de 4.5 h.

Durante el primer periodo, sin los ácidos, la GnRH incrementa dieciséis veces la LH secretada comparada con la basal, y el ácido litospérmico no afecta la liberación basal de LH, pero disminuye la liberación estimulada por GnRH de manera dependiente de la dosis<sup>14</sup>.

Condiciones	Liberación de LH en 4.5 h ng/pozo	Liberación de LH en 4.5 h con 1.0 nM de GnRH ng/pozo
Iniciales (control)	86±28	1383±77
Ácido litospérmico 5.0 µg/mL	83±9	1020±62
Ácido litospérmico 50.0 µg/mL	91±21	403±10
Ácido litospérmico oxidado 5.0 µg/mL	350±1	445±32
Ácido litospérmico oxidado 50.0 µg/mL	159±1	429±92

Tabla2. - LH liberada durante 4.5 h de exposición a: medio inicial, ácido litospérmico, ácido litospérmico oxidado, en ausencia o presencia de 1.0 nM de GnRH.

Mientras que el ácido litospérmico oxidado incrementa la liberación de LH en ausencia de GnRH y disminuye considerablemente su liberación en presencia de GnRH.(tabla 2)<sup>[14]</sup>

Durante el segundo periodo, en el reto de post-tratamiento de GnRH los cultivos que anteriormente no se habían tratado con GnRH y fueron expuestos a ácido litospérmico responden de manera similar a los controles. Sin embargo, los cultivos expuestos a ácido litospérmico oxidado tienen una respuesta muy reducida a GnRH (49% y 1%)<sup>[14]</sup>

Condiciones	Liberación de LH sin tratamiento + 12 h de reto a 1.0 nM de GnRH ng/pozo	Liberación de LH tratadas con GnRH + 12 h de reto a 1.0 nM de GnRH ng/pozo
Iniciales (control)	1516±115	708±66
Ácido litospérmico 50.0 µg/mL	1410±168	708±66
Ácido litospérmico oxidado 50.0 µg/mL	16±4	56±1

Tabla 3.- LH liberada durante 12 h de reto de GnRH (1nM) para todos los grupos iniciales.

Los cultivos expuestos a ácido litospérmico oxidado y GnRH presentan una liberación de LH de solo el 8% comparada con la de los cultivos expuestos

solamente a GnRH; mientras que los de ácido litospérmico son equivalentes a el control . (tabla3)<sup>[14]</sup>

Para comparar las diferencias que existen entre los dos tratamientos se observa el monto de LH total liberada en cada uno de los casos.

En los cultivos que no recibieron GnRH durante las 4.5 h de exposición a ácido litospérmico, no existe diferencia en el monto total de LH liberada (4.5 h de tratamiento más 12 h de reto a GnRH) comparado con los controles.<sup>[14]</sup>

Los cultivos expuestos ácido litospérmico oxidado liberan una menor cantidad del total de LH secretada por los controles (68% y 11%).<sup>[14]</sup>

Condiciones	LH total liberada sin tratamiento ng/pozo	LH total liberada tratadas con 1.0 nM de GnRH ng/pozo
Iniciales (control)	1603±11	2091±136
Ácido litospérmico 50.0 µg/mL	1482±18	1056±45
Ácido litospérmico oxidado 50.0 µg/mL	175±13	480±93

Tabla 4.- LH total liberada durante ambos tratamientos.

En los cultivos expuestos a GnRH durante el periodo inicial de tratamiento de 4.5 h, el total de LH liberada en los cultivos tratados con ácido litospérmico fue de 51% del total liberado por los controles que reciben solamente GnRH. <sup>[14]</sup>

Los cultivos expuestos a ácido litospérmico oxidado liberaron solo 23% de la LH secretada por los controles de GnRH. (tabla 4)

Al final del reto de 12 h a GnRH, los cultivos son examinados microscópicamente, observándose los siguientes resultados: <sup>[14]</sup>

- Los cultivos expuestos a 5.0  $\mu\text{g/mL}$  de ácido litospérmico oxidado aún contienen muchas células parecidas a fibroblastos, similares a aquellas de los cultivos que no fueron tratados con ácido litospérmico oxidado.
- Los cultivos expuestos a 50.0  $\mu\text{g/mL}$  de ácido litospérmico oxidado tienen pocas células (<5%) que permanecen con apariencia fibroblástica.
- Los cultivos expuestos a 50.0  $\mu\text{g/mL}$  de ácido litospérmico contienen una proporción de células redondeadas, no fibroblásticas intermedias entre las de los controles y las del grupo con 5.0  $\mu\text{g/mL}$  de ácido litospérmico oxidado.
- Los cultivos expuestos a 5.0  $\mu\text{g/mL}$  de ácido litospérmico no difieren de los controles en apariencia.

Estos resultados indican que el ácido litospérmico en su forma oxidada es el que presenta una mayor capacidad para inhibir la liberación de LH estimulada por GnRH, en comparación con su forma no oxidada, cuya actividad posiblemente se deba a que presente cierta oxidación al entrar en contacto con el medio ambiente. Además se observa que el ácido litospérmico oxidado provoca una mayor liberación de LH en ausencia de GnRH ó podría deberse a los acoplamiento del principio activo al LH<sup>[14]</sup>.

Lo cual resulta obvio ya que el ácido litospérmico (fig. 1), presenta en su estructura un grupo catecol, el cual al oxidarse pasa a ortoquinona, la cual tiene la capacidad tanto de polimerizarse como de acoplarse a los aminoácidos histidina, triptofano y arginina que se encuentran en GnRH, sin un gran impedimento estérico, ya que la hormona tiene una configuración más o menos lineal (fig. 2)<sup>[15,36]</sup>.

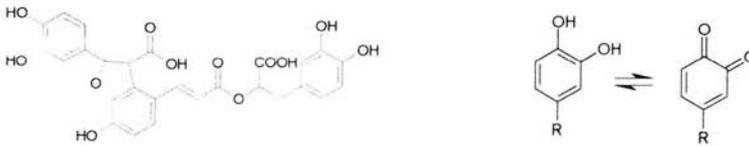


Figura 1.- Estructura del ácido litospérmico y el paso de catecol a ortoquinona.



Fig. 2.- Estructura de la hormona GnRH<sup>[48]</sup>

De igual manera el ácido litospérmico se acopla al LH impidiendo su detección por medio del radio inmuno ensayo, lo cual se explicará ampliamente más adelante.

## 5.5 DOSIS EFECTIVA

Debido a la gran acción inhibitoria del ácido litospérmico oxidado Findley consideró necesario determinar su dosis mínima efectiva y la naturaleza de la respuesta a dosis menores a la utilizada<sup>[14]</sup>.

En 4 h de incubación ocurre un máximo de liberación de LH con dosis de GnRH de aproximadamente 1.0 nM, sin embargo, los cambios citológicos observados en los cultivos expuestos a ácido litospérmico oxidado sugieren que es afectada la membrana celular y tal vez toda la integridad de las células por el ácido litospérmico oxidado<sup>[14]</sup>.

Como las células pituitarias contienen enzimas que pueden degradar GnRH, se usa un exceso de 10 veces de GnRH (10.0 nM) para asegurar un máximo de estimulación aguda de la liberación de LH. Igualmente, el tratamiento de 4.5 h se incrementa a 6 h de duración para asegurar un máximo de liberación del LH almacenado en respuesta a GnRH<sup>[14]</sup>.

Condiciones	LH liberada sin tratamiento 6 h ng/pozo	LH liberada con tratamiento de 10.0 nM de GnRH 6 h ng/pozo
Iniciales (control) Sin ácido litospérmico oxidado	92±23	1672±67
Ácido litospérmico oxidado 0.05 µg/mL	113±6	1827±259
Ácido litospérmico oxidado 0.5 µg/mL	100±6	1607±69
Ácido litospérmico oxidado 5.0 µg/mL	205±6	1055±21

Tabla 5.- LH liberada durante 6 h de exposición a 0.05, 0.5 o 5 µg/mL en ausencia o presencia de 10.0 nM de GnRH.

En ausencia de GnRH los cultivos expuestos durante 6 h a 0.05 o 0.5 µg/mL de ácido litospérmico oxidado liberaron montos comparables de LH basales. Sin embargo, con 5.0 µg/mL de ácido litospérmico oxidado se obtiene un incremento en la liberación de LH<sup>[14]</sup>.

En presencia de 10.0 nM de GnRH con 0.05 y 0.5 µg/mL de ácido litospérmico oxidado, se alcanza la misma respuesta de LH que la que se observa solamente con GnRH. Los cultivos expuestos a 5.0 µg/mL de ácido litospérmico oxidado liberaron solamente 63% del LH de los controles de GnRH<sup>[14]</sup>. (tabla5)

Siguiendo el tratamiento de ácido litospérmico oxidado, todos los cultivos fueron expuestos a 10.0 nM de GnRH por 12 h. Las células previamente expuestas a 0.05 o 0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de ácido litospérmico oxidado en ausencia de GnRH liberan el mismo monto de LH que los controles. Sin embargo, aquellos previamente expuestos a 5.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de ácido litospérmico oxidado secretan solamente el 69% de la LH liberada por los controles<sup>[14]</sup>.

Con células previamente expuestas a GnRH, tratadas también con 0.5 o 5.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de ácido litospérmico oxidado, las respuestas de LH al post-tratamiento del reto a GnRH fueron ligeramente elevadas comparadas con aquellas tratadas con 0.05  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de ácido litospérmico oxidado durante el periodo de tratamiento<sup>[14]</sup>. (tabla 6)

Condiciones	LH liberada sin tratamiento + 12 h de reto a 10.0 nM de GnRH ng/pozo	LH liberada con tratamiento de GnRH + 12 h de reto a 10.0 nM de GnRH ng/pozo
Iniciales (control) Sin ácido litospérmico oxidado	1727 $\pm$ 135	260 $\pm$ 2
Ácido litospérmico oxidado 0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$	1836 $\pm$ 209	261 $\pm$ 32
Ácido litospérmico oxidado 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$	1739 $\pm$ 135	353 $\pm$ 34
Ácido litospérmico oxidado 5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$	1194 $\pm$ 139	392 $\pm$ 42

Tabla 6.- LH liberada durante 12 h de reto a GnRH (10nM) para todos los grupos de experimentación.

El total de LH secretada durante el periodo de tratamiento y el post-tratamiento en el reto de GnRH se le llama LH "liberable", que es idéntico para todos los grupos que recibieron 0.05 o 0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de ácido litospermico oxidado ( $1800\pm 250$ ). Sin embargo, los dos grupos que recibieron 5.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  tienen un reducido LH total liberable ( $1400\pm 56$ )<sup>[14]</sup>.

Un examen microscópico de los cultivos al final del periodo de tratamiento de 6 h revela células con apariencias morfológicas similares en todos los cultivos. No se observan diferencias en la viabilidad entre los grupos al final de las 12 h de reto a GnRH<sup>[14]</sup>.

En conclusión las células que han sido pretratadas con ácido litospermico oxidado liberan mucho menos LH en respuesta a GnRH. Un alta dosis de ácido litospermico oxidado (50.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) previene la liberación de la mayoría de la LH intercelular. Una menor dosis (5.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) también reduce el total liberado<sup>[14]</sup>.

Sin embargo, en presencia de esta dosis, la liberación basal de LH se ve muy incrementada, también sugiriendo una alteración en la membrana celular. En suma, se observa que una exposición prolongada a ácido litospermico oxidado resulta en la liberación de una mayor porción de LH en ausencia de GnRH<sup>[14]</sup>.

Por lo tanto la exposición a *Lithospermum* reduce liberación de LH estimulada por GnRH e incrementa la liberación basal de LH<sup>[14]</sup>.

Además del cambio en la morfología celular al final de 12 h de reto a GnRH en cultivos expuestos a 5.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de ácido litospermico oxidado, la viabilidad de las células no parece ser afectada<sup>[14]</sup>.

Esto indica que los cambios en la liberación de LH causados por el ácido litospermico oxidado no se deben precisamente a un efecto citotóxico, sino al acoplamiento del ácido litospermico oxidado con el GnRH, pues las ortoquinonas presentes en el ácido litospermico oxidado además de acoplarse con la hormona se polimerizan, lo cual impide que se una a su receptor en las células pituitarias impidiendo que induzca la producción de más LH<sup>[14]</sup>.

De igual manera, la cantidad de LH en este experimento al ser medida por un radio inmuno ensayo, es específica únicamente para la molécula de LH, no para los posibles compuestos que puede formar, lo que también tendería a indicar los montos menores de LH libre<sup>[14]</sup>.

Esto se debe nuevamente a que las ortoquinonas del ácido litospermico, al igual que de otras moléculas activas del *Lithospermum* reaccionan tanto con GnRH como con LH y FSH, debido a que en su estructura molecular se encuentran los aminoácidos, metionina, cistidina, triptofano, asparagina, glutamina, lisina, arginina y histidina, con poco impedimento estérico<sup>[15,36,48]</sup>.



Fig. 3.- Estructura de la hormona GnRH<sup>[48]</sup>.

## 5.6 CONSTITUYENTES FENÓLICOS DEL *Lithospermum officinale* y *runderale*

La actividad antigonadotrópica de los preparados de extractos frescos de *Lithospermum officinale* y *runderale*, obtenidos bajo condiciones estandarizadas, muestra grandes diferencias con dependencia del año de cosecha, por ejemplo por influencia climática. Esto se entiende si los responsables de su actividad son ingredientes secundarios de la planta<sup>[5]</sup>.

La actividad antihormonal del FDE depende también de las condiciones de preservación, ya que cuando se mantiene seco y en la oscuridad, conserva una actividad constante incluso después de 10 años. Al contrario, se tiene una disminución de la actividad marcada y relativamente rápida cuando la botella oscura con el FDE se abre 5 o 6 veces, presumiblemente resultado del incremento de humedad. Por lo que el FDE debe ser mantenido seco usando sílica gel<sup>[5,52]</sup>.

Por la importancia que representa el *Lithospermum* se han hecho investigaciones sobre los efectos del calor, condiciones de extracción y reacciones de precipitación<sup>[5]</sup>.

Una reacción que nos indica la importancia de la oxidación del FDE del *Lithospermum* es la completa pérdida de actividad que se observa cuando se previenen las reacciones de oxidación con ácido ascórbico o N<sub>2</sub> durante el proceso de extracción<sup>[52]</sup>.

Por otro lado cuando el FDE en solución es expuesto al calor, su actividad permanece sin alteraciones; en cambio, la exposición al calor después o durante la extracción produce extractos inactivos. Esto indica que la generación de estos productos de oxidación con actividad biológica es controlada enzimáticamente<sup>[52]</sup>.

La precipitación de taninos con narcotina o  $Pb^{2+}$ , no deja una actividad antihormonal en el sobrenadante, esta correlación entre la reacción tanino positiva y la actividad antigonadotrópica del *Lithospermum* indica que el compuesto activo está formado a partir de precursores fenólicos como el polifenol ácido litospermico, como ya se había indicado anteriormente. Sin embargo esta actividad también puede deberse a la acción de otros compuestos de este tipo presentes en la planta, por lo que es importante conocer cuáles son estos y si presentan actividad antigonadotrópica. Para esto es necesario obtener un enriquecimiento de dichos compuestos fenólicos en solución y entender mejor su comportamiento, por lo que son extraídos con diferentes solventes orgánicos a partir de las hojas pulverizadas del *Lithospermum*<sup>[52]</sup>.

Los extractos producidos con metanol, etanol o DMSO tienen un gran contenido de sustancias fenólicas, como lo revela un TLC, sin embargo la actividad antigonadotrópica se encuentra solamente en las fases etéreas del FDE<sup>[52]</sup>.

Una comparación de los diversos extractos de TLC muestra que el material que permanece al principio parece ser común en todas las fracciones activas y muestra reacciones fenólicas, por lo que se asume que representa a compuestos polifenólicos o productos fenólicos de oxidación altamente polares<sup>[52]</sup>.

Sin embargo la separación o identificación de estos compuestos poliméricos por TLC o exclusión cromatográfica no es posible debido a su inestabilidad e insolubilidad, por lo que la separación de estos compuestos se hace en fracciones inactivas ricas en precursores fenólicos, la separación de estos extractos por TLC muestra una disminución en el contenido de fenoles y un incremento en el material cerca del inicio. De esta manera varios constituyentes fenólicos de la planta pueden ser identificados en diferentes extractos etéreos del *Lithospermum* a través de compuestos de referencia y espectroscopia ultra violeta<sup>[52]</sup>.

Se prueba la actividad de cada uno de estos compuestos, al administrárselos a grupos de ratas, solo o conjuntamente con PMSG, teniendo grupos control, para posteriormente observar las consecuencias que presentan sobre su peso ovárico<sup>[52]</sup>.

La tabla 7 muestra la inhibición de los efectos del PMSG por diferentes constituyentes vegetales. Varios compuestos disminuyen la actividad del PMSG, pero solamente el ácido rosmarínico muestra una completa inhibición<sup>[52]</sup>.

Compuestos fenólicos	NaCl 0.9%	PMSG 20 IU	PMSG20 IU + 0.5 $\mu$ M del compuesto	PMSG20 IU + 0.05 $\mu$ M del compuesto
• Catecol	16 $\pm$ 1	111 $\pm$ 13	28 $\pm$ 3	66 $\pm$ 10
• Hidroquinona	16 $\pm$ 1	111 $\pm$ 13	14 $\pm$ 1	54 $\pm$ 9
• Ácido cinámico	15 $\pm$ 1	82 $\pm$ 7	99 $\pm$ 8	-
• Ácido caféico	14 $\pm$ 1	125 $\pm$ 13	20 $\pm$ 1	57 $\pm$ 5
• Ácido ferúlico	17 $\pm$ 1	120 $\pm$ 17	138 $\pm$ 9	-
• Ácido clorogénico	14 $\pm$ 1	125 $\pm$ 13	33 $\pm$ 4	67 $\pm$ 10
• Ácido rosmarínico	14 $\pm$ 1	125 $\pm$ 13	17 $\pm$ 2	22 $\pm$ 3
• Ácido litospérmico	14 $\pm$ 1	101 $\pm$ 9	29 $\pm$ 2	94 $\pm$ 7
• Luteolin-7 $\beta$ -glucuronido	19 $\pm$ 1	132 $\pm$ 8	27 $\pm$ 1	1247 $\pm$ 8

Tabla 7.- Actividad antigonadotrópica de diferentes constituyentes fenólicos de la planta con respecto al peso ovárico [mg].

Sin embargo, incluso la actividad de 0.05  $\mu$ M ( $\cong$  36  $\mu$ g) de ácido rosmarínico, no puede explicar por completo la eficacia de los extractos vegetales más activos. Estos efectos adicionales pueden deberse a un aumento en su actividad por otros compuestos<sup>[52]</sup>.

La actividad del ácido rosmarínico oxidado o ácido caféico oxidado, puede ser incrementada por la adición de iones  $Mn^{2+}$ , al igual que con iones  $Cu^{2+}$  (o  $Zn^{2+}$ ), mientras que iones  $Fe^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  y  $Ca^{2+}$  no tienen efecto<sup>[52]</sup>.

Más de un aditivo incrementa la actividad biológica de una mezcla de fenoles, por ejemplo 1  $\mu$ g de 4% de ácido rosmarínico oxidado en combinación con 1  $\mu$ g de catecol inhibe completamente los efectos de 20 IU de PMSG, lo mismo se muestra

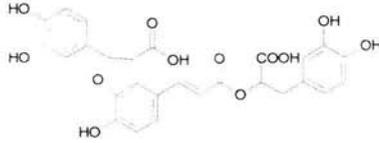
para la combinación de 10 µg del 10% de ácido rosmarínico oxidado con 10 µg de catecol de ácido caféico<sup>[52]</sup>.

Este incremento en la actividad puede ser explicado por la formación de complejos donador-receptor, formados a partir de las ortoquinonas con fenoles inoxidados<sup>[36, 52]</sup>.

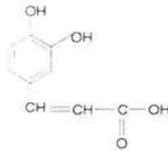
Esto indica que la oxidación natural por fenoloxidasas del ácido litospermico puede ser sustituida por un tratamiento con iones  $Mn^{2+}$ , usando  $KMnO_4$  o con difenoles no oxidados, lo que da como resultado componentes fenólicos oxidados con una gran eficacia biológica como son el ácido caféico, cloragénico, rosmarínico y el luteolin-7β-glucuronido, precursores activos de la planta<sup>[52]</sup>.

Por lo tanto el ácido litospermico no es el único principio activo del *Lithospermum*, sino que también muchos otros compuestos en esta planta presentan una importante actividad antigonadotrópica, como el ácido rosmarínico y muchos otros constituyentes vegetales que revelaron ser compuestos con una gran actividad, la cual se debe precisamente al grupo catecol presente en su estructura<sup>[36,52]</sup>.

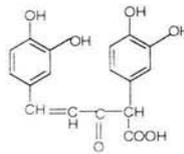
- Ácido litospérmico



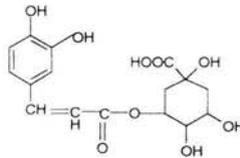
- Ácido caféico



- Ácido rosmarínico



- Ácido clorogénico



- luteolin-7β-glucósido

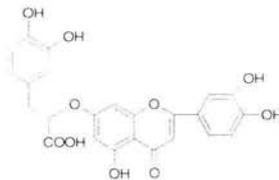


Fig. 3 Estructura molecular de algunos compuestos activos del *Lithospermum*<sup>[5,12,13,14,37,52,58]</sup>

Ya que al oxidarse, este grupo catecol, se transforma en una ortoquinona, que es un compuesto con una gran actividad, que reacciona para regresar a su estado 3,4-dihidroxiado más estable<sup>[52]</sup>.

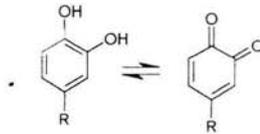


Fig. 5.- Reacción de oxido-reducción de catecol a ortoquinona<sup>[38]</sup>

Estas ortoquinonas actúan principalmente sobre la porción proteica de las hormonas FSH, y LH para formar un aducto de alto peso molecular, deformando su estructura impidiendo así su acoplamiento a sus receptores correspondientes<sup>[52]</sup>.

## 5.7 OTROS CONSTITUYENTES DEL *LITHOSPERMUM officinale* y *rudemale*.

Nahrsted y Winterhoff han hecho estudios para determinar otros principios activos del extracto de *Lithospermum*, así como sus estructuras moleculares, para poder conocer si las mismas nos ofrecen alguna clave en su mecanismo de acción y poder promover su uso con propósitos terapéuticos. Y ya que los extractos de *Lithospermum* muestran actividad antigonadotrópica a partir de oxidación por enzimas vegetales, se ha utilizado el ácido caféico oxidado con  $\text{KMnO}_4$  como uno de los componentes para preparar compuestos activos en una alta proporción para poder aislarlos y elucidar su estructura, asumiendo que son al menos similares si no idénticos a los extractos de las plantas. Esto es necesario ya que los intentos para aislar las estructuras activas de los extractos crudos de la planta han fallado debido a su baja concentración y a la inestabilidad de los compuestos en los extractos crudos<sup>[37]</sup>.

Las investigaciones han demostrado que la actividad no es ejercida por el primer producto de oxidación, la cafeoquinona, pero sí por los productos que surgen de la cafeoquinona. Por lo que estos se han aislado con un sistema de HPLC optimizado que permite la separación y purificación de dos nuevos derivados de ciclolignanos activos, de una mezcla de sustancias obtenida después de la oxidación de ácido caféico con  $\text{KMnO}_4$ . Igualmente se ha desarrollado un método para obtener estos compuestos en una alta proporción, y permitir la elucidación de su estructura por métodos espectrométricos<sup>[37]</sup>.

En el patrón de elución de HPLC las siguientes sustancias fueron colectadas de 10 corridas y obtenidas en los montos indicados<sup>[37]</sup>.

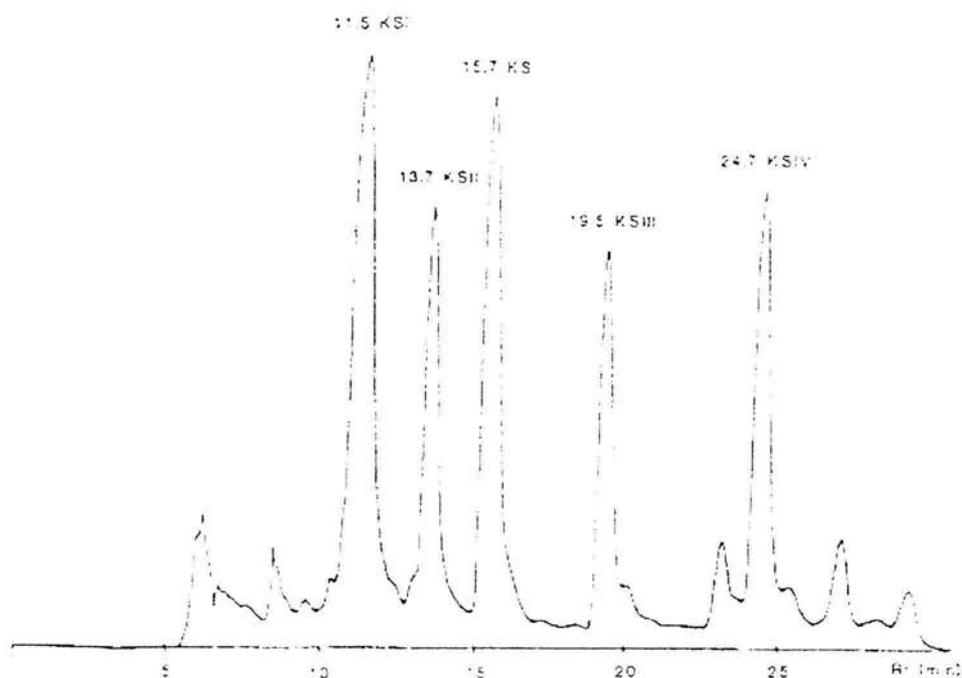


Fig 6.- Gráfica de la corrida de HPLC<sup>[37]</sup>

Productos de oxidación	R <sub>t</sub>	Monto colectado
Compuesto I (1)	11.5 min	24.0 mg
	13.7 min	5.0 mg
Compuesto II	19.5 min	7.5 mg
Compuesto III	24.7 min	12.5 mg
Compuesto IV (2)		

Tabla 8.- Patrón de elución de ácido caféico oxidado con 0.2 equivalentes de  $\text{KMnO}_4$  (20 % oxidado)<sup>[37]</sup>

La actividad antihormonal de los compuestos es probada contra gonadotropina sérica (PMSG) y hormona luteinizante (LH), lo que muestra actividad en los compuestos I y IV y que las dosis de los compuestos I y IV de 0.9 y 0.09  $\mu\text{g}$  abaten completamente el efecto estimulante de 0.05 IU PMSG, en comparación con el ácido caféico oxidado que tiene un ligero efecto tóxico en dosis mayores de 0.9  $\mu\text{g}$  y una dosis menor de 0.09  $\mu\text{g}$  no suprime la estimulación de 0.05 IU PMSG<sup>[37]</sup>.

La actividad contra LH es restringida solamente por el compuesto I, ambas dosis de este compuesto bloquean completamente la liberación de testosterona inducida por LH, sin embargo ni el ácido caféico oxidado o el compuesto IV muestran alguna actividad contra LH<sup>[37]</sup>.

Para obtener la estructura de estos compuestos activos, se utilizan métodos espectrofotométricos tales como RMN-H<sup>1</sup>, y RMN-C<sup>13</sup>.

Los cuales arrojan la siguiente información para el compuesto I que es más polar<sup>[37]</sup>:

- agrupación de fenoles libres.
- masa molecular relativa de 358 uma.
- 8 protones, 6 en la región aromática entre 6.4 y 7.6 ppm.
- 2 protones vecinales en la región alifática entre 3.9 y 4.6 ppm.
- 3 protones a 6.45-6.67 ppm correspondientes al entorno del anillo original sustituido de ácido caféico.

- 2 singuletes a 6.95 y 7.59 ppm que indican dos protones aromáticos aislados
- 18 señales de carbono.
- 2 en la región alifática a 45-50 ppm.
- 2 carbonos a campo bajo (168,173 ppm), indicativo de dos grupos carboxil.

Así el compuesto I aparece como un derivado dimérico de ácido caféico sin ninguna pérdida de átomos de carbono<sup>[37]</sup>.

Para el compuesto IV los estudios espectrofotométricos señalan<sup>[37]</sup>:

- agrupación de fenoles libres.
- masa molecular relativa de 312 uma
- 7 protones en la región aromática.
- 3 protones a 6.81-6.98 ppm correspondientes al entorno de un anillo inalterado de ácido caféico.
- 17 señales de carbono a campo bajo entre 109 y 179 ppm.
- ausencia de una segunda resonancia de carbonil comparada con el compuesto 1
- posee dos centros quirales, sin embargo es ópticamente inactivo

Para este compuesto la diferencia en la masa molecular de 46 daltons, soporta la pérdida del grupo carboxilo y la ganancia de un doble enlace más<sup>[37]</sup>.

Las estructuras finales indican que los compuestos I y IV semejan los ciclolignan y ariltetralinas; de acuerdo a la numeración usual de ciclolignan, el compuesto 1 es 2,3-dicarboxy-6,7-dihidroxy-1-(3',4'- dihidroxi)-fenil-1,2-dihidronaftaleno y el 2 es 3-carboxi-6,7-dihidrpxi-1-(3',4'-dihidroxi)-fenilnaftaleno. Los ciclolignan como los compuestos 1 y 2 son nuevos compuestos. Ambos derivados de naftaleno pueden provenir del ácido caféico por oxidación por vía del mecanismo mostrado<sup>[37]</sup>.

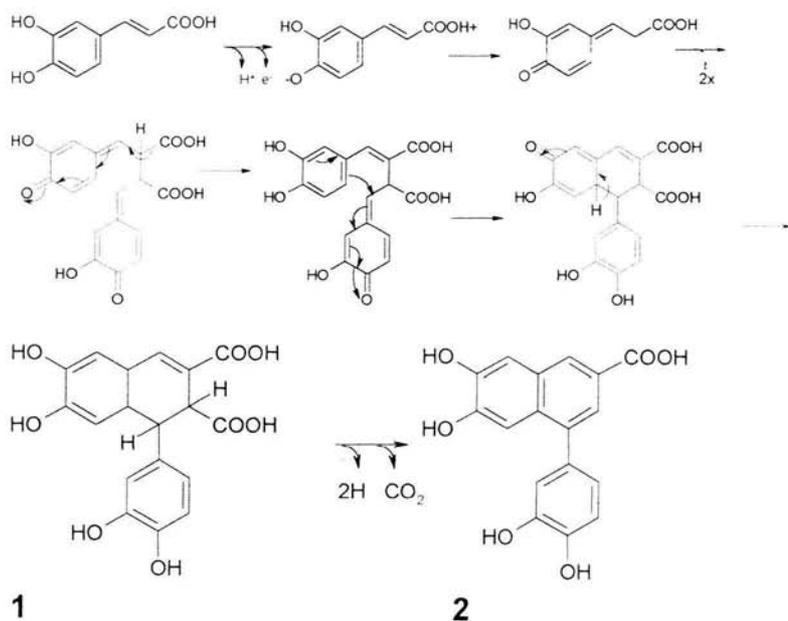


Fig.7 Mecanismo de la formación del compuesto I y IV<sup>[37]</sup>.

Después de la formación del compuesto I en una solución ligeramente alcalina (pH 7.5-8) la tendencia a aromatizar puede conducir a la decarboxilación del carboxil C-3 y a la deshidrogenación introduciendo un doble enlace 3,4 para formar el compuesto IV<sup>[37]</sup>.

La obtención de estos compuestos activos nos afirma que el sistema ácido caféico/ $\text{KMnO}_4$  es una buena herramienta para obtener compuestos antgonadotrópicos derivados de ácido caféico, ya que trabaja de manera similar al sistema ácido caféico/fenoloxidasa generando derivados antgonadotrópicos del ácido caféico<sup>[37]</sup>.

La actividad de estos compuestos se debe nuevamente a la presencia del grupo catecol y la formación de ortoquinonas. La interacción de estos grupos ortoquinona, principalmente sobre FSH y LH, se debe a que están formadas por dos cadenas de aminoácidos, alfa y beta, de las cuales la subunidad alfa es igual en ambas hormonas, y es sobre la cual las ortoquinonas actúan, ya que reaccionan con los grupos amino e imino de los aminoácidos presentes en estas hormonas. Así como se explico su interacción con GnRH<sup>[37,48]</sup>.

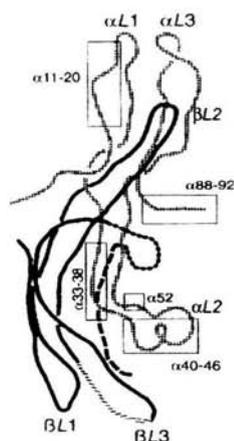


Fig. 8.- Estructura proteica de las hormonas LH y FSH<sup>[48]</sup>

## 5.8 PERSPECTIVAS PARA EL USO ANTIGONADOTRÓPICO DE *Lithospermum officinale* y *runderale*.

La actividad antigonadotrópica del *Lithospermum* es importante puesto que plantea una alternativa a los métodos anticonceptivos tradicionales, dando la opción de un método anticonceptivo efectivo basado en productos naturales que implica nulos efectos adversos.

El *Lithospermum* funciona a nivel hormonal, pero a diferencia de los anticonceptivos hormonales tradicionales que suministran suplementos hormonales para inhibir la ovulación, los cuales por el exceso de hormonas suministradas pueden tener efectos secundarios y en casos agudos promover el cáncer de matriz o de seno; el *Lithospermum* no es un suplemento hormonal que pueda afectar otros sistemas, si no que actúa directamente sobre las gonadotropinas, principalmente LH y FSH, inhibiendo la cascada hormonal que activa las funciones básicas de la reproducción, lo cual hace que no presente efectos adversos, ya que en cuanto se deja de administrar su actividad terapéutica desaparece<sup>[5,12,13,14]</sup>.

Esta reducción hormonal causada por *Lithospermum* también es útil para el tratamiento de tumores mamarios dependientes de hormonas, ya que al disminuir y controlar la concentración hormonal en el cuerpo del paciente se previene una mayor expansión del tumor<sup>[5]</sup>.

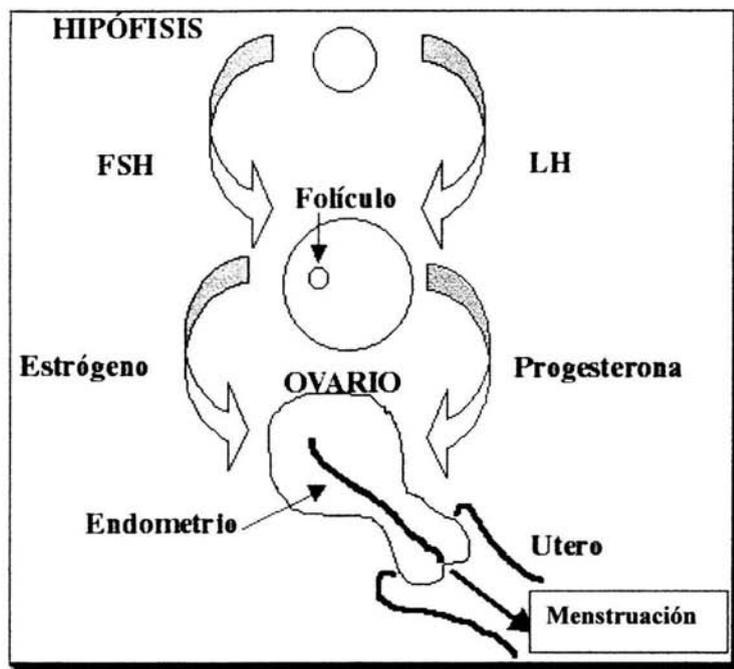


Fig. 9.- Ciclo hormonal reproductivo, donde el *Lithospermum* actúa a nivel de LH y FSH<sup>[19]</sup>

De igual manera, el uso regular del *Lithospermum* o sus moléculas relacionadas como método anticonceptivo podría prevenir en gran medida el desarrollo de cáncer con dependencia hormonal en pacientes con predisposición, al disminuir las concentraciones hormonales que promueven su aparición, desarrollo y expansión; en lugar de promoverlos como lo hacen los anticonceptivos de tipo hormonal.

En cuanto a su aplicación médica es importante continuar los estudios para poder especificar y unificar las dosis necesarias para los diversos efectos que presenta esta planta, así como darle una formulación farmacéutica adecuada para su administración.

**VI. PROPIEDADES ANTITIROIDEAS**  
**DE**  
***Lithospermum***

## 6.1 EFECTOS ANTITIROIDEOS DEL *Lithospermum officinale* Y *runderale*

Se ha probado que tanto el *Lithospermum ruderale* como el *Lithospermum officinale* tienen efectos antitirotrópicos además de antigonadotrópicos, pues estas plantas son capaces de causar una disminución en los niveles de TSH de suero y pituitaria después de una sola inyección, inhibir el transporte de yodina tiroidea "in vivo", la secreción de hormona tiroidea y la deiodinación de iodotironina; así como de inactivar las gonadotropinas pituitarias, PMSG, CG, y TSH, sin embargo no afectan las acciones de GH, ACTH, insulina y hormonas de la pituitaria posterior<sup>[5,51]</sup>.

Al investigar en ratas la actividad del FDE de *Lithospermum* se observa que cuando se administra junto con TSH, bloquea el incremento inducido por esta hormona en la actividad endocítica de las glándulas tiroideas, seguida por una fuerte declinación de los niveles de hormonas tiroideas. La eficacia del extracto para bloquear la secreción tiroidea, se ha comparado con la del yoduro de potasio mostrando que el efecto del FDE de *Lithospermum* tiene una acción más rápida y de mayor duración, lo que sugiere que es posible que tenga un diferente modo de acción que el KI, por lo que se ha discutido una interacción específica entre el TSH y los constituyentes activos de los extractos de la planta, ya que *Lithospermum* reduce la secreción de hormona tiroidea e incluso los niveles séricos de TSH. De igual manera el *Lithospermum* es un fuerte depresor de la bomba de yoduro pero no inhibe el proceso de organificación como lo hacen los fármacos feniltiouracil y mercaptoimidazol<sup>[51]</sup>.

Los experimentos con ratas tirectomizadas y T4 substituidas han mostrado un efecto farmacodinámico adicional del FDE de *Lithospermum* una inhibición en la deionización periférica de T4. Esto se debe a la inhibición de la actividad de la iodotironina desiodinasa en el hígado de manera comparable con el tiouracil, bloqueando la generación de la actividad de T3 así como su actividad regulatoria<sup>[5,51]</sup>.

Se ha encontrado que los constituyentes activos son dímeros fenólicos de ácido rosmarínico, ácido elágico y luteolin-7 $\beta$  glucósidos. Estos están concentrados en la fracción más activa, en el FDE en solución acuosa. A diferencia del efecto antagonotrópico y antitirotrópico, la oxidación de los componentes activos de *Lithospermum* causan un dramático decremento en la inhibición de iodotironina deiodinasa. La inhibición total de la deiodinasa por los extractos de la planta no puede ser explicada solamente por los tres compuestos anteriores, ciertamente los flavoniodes difenólicos, incluyendo luteonina, apigenina, quercentina son también potentes inhibidores de la iodotironina deiodinasa<sup>[3,5]</sup>.

## 6.2 ACTIVIDAD ANTITIROIDAL DEL *Lithospermum officinale* Y *ruderae*

Debido a las actividades encontradas en el FDE del *Lithospermum* se ha hecho necesario descubrir el mecanismo por el cual ejercen su acción antitirotrópica, inhibiendo la acción del TSH exógeno y endógeno en las glándulas tiroideas de los conejillos de indias, pollos y ratas<sup>[3,5]</sup>.

El FDE de *Lithospermum* produce la inhibición del acoplamiento de TSH a membranas tiroideas (TMP), aproximadamente con 10-30  $\mu\text{g}/\text{mL}$  del FDE activo por 50 mUI /mL de TSH; y su potencia disminuye en un quinto en presencia de NaCl. Esta inhibición no se debe a un acoplamiento irreversible del FDE a TMP o daño al receptor de TSH, ya que después de un lavado las membranas vuelven a su actividad normal. Al hacer una cromatografía de tamizado molecular en Sephadex G-100 del FDE con TSH, este es desplazado hacia un mayor peso molecular (30,000), la cromatografía en presencia del NaCl hace que solamente la mitad del TSH sea desplazado<sup>[2]</sup>.

El FDE del *Lithospermum* también tiene efecto sobre la respuesta del adenilato ciclasa al estímulo de TSH, pues a concentraciones de 20 a 40  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , inhibe el efecto estimulante de 4 mU TSH/mL en un 26-43% sin afectar la actividad basal de adenilato ciclasa, y a mayor concentración (200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), el FDE disminuye la concentración basal de AMPc estimulada por TSH en más del 80%<sup>[2,5]</sup>.

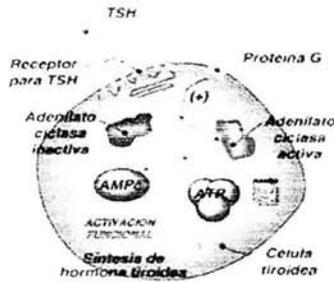


Fig. 1.- La unión de la TSH a su receptor da lugar a la activación de la enzima adenilato ciclasa, a través de las proteínas G. El resultado es el aumento en la producción de AMP cíclico en las células foliculares, con la consecuente activación de la función hormonal. [11]

Estos datos indican que algunos componentes del FDE activo forman un aducto con el TSH haciendo a la hormona incapaz de acoplarse a su receptor; inhibiendo la activación del adenilato ciclasa que induce el TSH. Estos efectos explican las acciones antitirotrópicas del FDE demostradas *in vivo* [2].

En un intento para identificar los componentes responsables de la actividad antitirotrópica del FDE de *Lithospermum* se ha demostrado que sus interacciones no se deben a lectinas vegetales, pues su actividad no es afectada por calentamiento o tratamiento con tripsina o proteasa bacteriana, condiciones en las cuales no mantendrían su actividad y en las que la actividad del FDE permanece estable [3,5].

Por otro lado se ha encontrado que los constituyentes activos de la planta, ácido caféico, ácido rosmarínico, ácido clorogénico y ácido elálgico, previenen la unión de TSH a su receptor al producirse la autooxigenación de una ortoquinona que se combina con la porción protéica del TSH [5].

### 6.3 PRINCIPIO ACTIVO DE ANTITIROTRÓPICO DE *Lithospermum officinale* Y *ruderales*

Para conocer cuales son las sustancias presentes en el *Lithospermum* responsables de su actividad antitirotrópica, se realiza una cromatografía en gel del FDE (10mg) y se eluye con agua destilada, las fracciones que se obtienen son de la 7 a la fracción 17 no coloridas y de la 18 a la 28 coloridas, al principio ligeramente amarillas aumentando su color hasta café oscuro (fracción 22), y disminuyendo a ligeramente amarillas (fracción 28). Las fracciones 29 y 30 nuevamente no son coloridas. Todas las fracciones presentan una actividad inhibitoria del TSH independientemente de su color, y desplazan el patrón de elusión de TSH<sup>[3]</sup>.

Estos principios activos del FDE tienen un peso molecular aparente mayor de 3,500 Da, lo que esta de acuerdo con los estudios previos de cromatografía de filtrado molecular sobre la actividad antitirotrópica y antigoadotrópica del FDE, cuya actividad se encuentra en las fracciones de color oscuro de peso molecular entre 3,500-12,500 Da<sup>[3]</sup>.

Para conocer la actividad de estos compuestos, se estudian los efectos de compuestos puros idénticos o estructuralmente relacionados a los aislados de *Lithospermum*, y se observa que su actividad inhibitoria requiere de una auto-oxidación de los principales compuestos, y esta es asociada en la mayoría de los casos con el desarrollo de coloración café oscuro de las soluciones stock<sup>[3]</sup>.

#### 6.4 PRUEBAS DE ACTIVIDAD DE COMPUESTOS 3,4 DIHIDROXILADOS

La relación entre la fórmula estructural de algunos compuestos probados y su habilidad para inhibir el acoplamiento de TSH se presenta en las tablas 1, 2 y 3. Los valores de inhibición media máxima del acoplamiento de TSH ( $ID_{50}$ ) son calculados después de probar el efecto de cada compuesto en cuatro diferentes concentraciones, 10, 25, 50 y 100  $\mu\text{g/mL}$  y graficando los resultados en una escala semilogarítmica<sup>[3]</sup>.

Son activos solamente aquellos compuestos que contienen grupos 3,4-dihidroxi no sustituidos que contienen en la posición 1 del anillo aromático sustituciones con  $\text{CH}_2\text{-COOH}$  (ácido 3,4-dihidroxifenilacético),  $-\text{CH}=\text{CH-COOH}$  (ácido caféico), y  $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NHCH}_3$  (deoxi-epinefrina), pero pierden su actividad cuando en esta misma posición se encuentran los grupos  $-\text{H}$ ,  $-\text{COOH}$ , o un grupo  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$  (Tabla 1)<sup>[3]</sup>.

Por otro lado el adenocromo, un producto de oxidación de epinefrina, es muy potente en cuanto a su habilidad para inhibir el acoplamiento de TSH ( $ID_{50}$ , 30  $\mu\text{g/mL}$ ), mientras que el bitartrato de epinefrina es inactivo a concentraciones arriba de 100 $\mu\text{g/mL}$ , probablemente porque el bitartrato previene su auto oxidación<sup>[3]</sup>.

El ácido tánico ( $\text{C}_{76}\text{H}_{52}\text{O}_{46}$ ), que tiene una estructura relacionada, también es activo ( $ID_{50}$ , 100  $\mu\text{g/mL}$ ) cuando se auto oxida<sup>[3]</sup>.

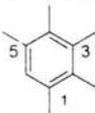
Reactivo						% de Inhibición con 100 µg/mL	ID50 (µg/mL)
	1	2	3	4	5		
Catecol	-H	-H	-OH	-OH	-H	0	-
Resorcinol	-H	-OH	-H	-OH	-H	0	-
Ácido 3,4-dihidroxi-benzóico	-OH	-H	-OH	-OH	-H	0	-
Ácido 2,3-dihidroxi-benzóico	-COOH	-OH	-OH	-H	-H	0	-
Ácido 3,4-dihidroxi-fenilacético	-CH <sub>2</sub> -COOH	-H	-OH	-OH	-H	55	60
Ácido 3-hidroxi-4-metoxi-fenilacético	-CH <sub>2</sub> -COOH	-H	-OH	-OCH <sub>3</sub>	-H	0	-
Ácido cinámico	-CH=CH-COOH	-H	-H	-H	-H	0	-
Ácido <i>o</i> -cumárico	-CH=CH-COOH	-OH	-H	-H	-H	0	-
Ácido <i>m</i> -cumárico	-CH=CH-COOH	-H	-OH	-H	-H	0	-
Ácido <i>p</i> -cumárico	-CH=CH-COOH	-H	-H	-OH	-H	0	-
Ácido cafeico	-CH=CH-COOH	-H	-OH	-OH	-H	95	25
Ácido ferúlico	-CH=CH-COOH	-H	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-H	0	-
Ácido 3-hidroxi-4-metoxi-cinámico	-CH=CH-COOH	-H	-OH	-OCH <sub>3</sub>	-H	0	-
Ácido sinápico	-CH=CH-COOH	-H	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OCH <sub>3</sub>	0	-
Ácido hidrocaféico	-CH=CH-COOH	-H	-OH	-OH	-H	0	-
Deoxi-epinefrina	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -NHCH <sub>3</sub>	-H	-OH	-OH	-H	70	50
Adenocromo	CH <sub>2</sub> -CH-NH-COOH	-H	-OH	-OH	-H	90	30
Epinefrina bitartrato	(C4 O6 H5) -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -NHCOH	-H	-OH	-OH	-H	0	-

Tabla 1. Efecto del acoplamiento de TSH a membranas tiroideas humanas de una serie de sustancias.

Azul.- compuestos 3,4-dihidroxi que presentan actividad

Rojo.- compuestos 3,4-dihidroxi que no presentan actividad <sup>[3]</sup>

También son activos los ésteres de ácido caféico (ácido 3,4-dihidroxicinámico), los ácidos rosmarínico y clorogénico, presentes en la planta con FDE activo así como el ácido nordihidroguarético que es estructuralmente relacionado. Pero se pierde la actividad inhibitoria con la metilación de grupos 3- y 3'-hidroxi, como en la curcumina (Tabla 2)<sup>[3]</sup>.

Otro constituyente vegetal, el ácido elágico, el cual es estructuralmente relacionado con el ácido 3,4-dihidroxicinámico, pero no derivado, es un inhibidor más potente (ID<sub>50</sub>, 20 µg/mL) (Tabla 2)<sup>[3]</sup>.

Las chalconas y flavonoides, otros derivados de ácido cinámico, como la fletina (2,4,4',6-tetrahidrodehidrochalcona); 2,4,4'-trihidroxichalcona, apigenina (4',5,7-trihidroxiflavona), apigenin-7β-glucósido, luteolina (3',4',5,7- tetrahidroxiflavona), luteolin-7β-glucósido, quercetina (3,3',4',5,7-pentahidroxiflavona), y aureusidina (3,3',4',6-tetrahidroxiflavona), son inactivos, incluso los compuestos que poseen grupos hidroxilo en posición 3' - y 4' - (Tabla 3)<sup>[3]</sup>.

Otros compuestos estructuralmente relacionados pero inactivos son esculetina (6,7-dihidroxicumarina), quinalizarina (1,2,5,8-tetrahidroxiantraquinona) y 5,8-dihidroxil,4-naftoquinona<sup>[3]</sup>.

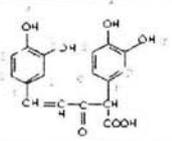
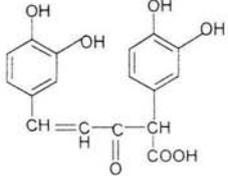
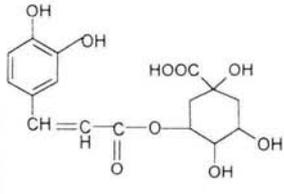
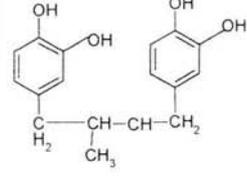
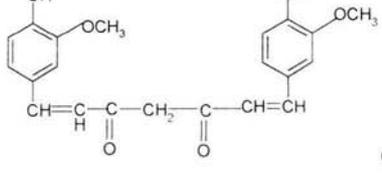
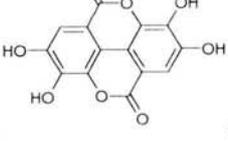
 Reactivo	% de Inhibición con 100 µg/mL	ID50 (µg/mL)
 Ácido rosmarínico	70	70
 Ácido clorogénico	55	80
 Ácido norhidroguarético	55	80
 Curcumina	0	-
 Ácido eláxico	98	20

Tabla 2. Efecto del acoplamiento de TSH a membranas tiroideas humanas de una serie de sustancias.

[3]

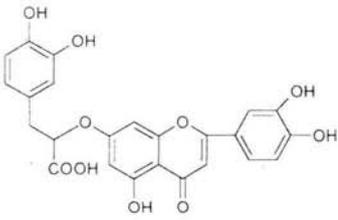
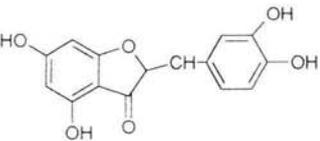
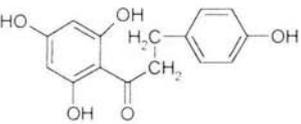
Reactivo	% de Inhibición con 100 µg/mL	ID50 (µg/mL)
 <p>Luteolin- 7β-glucosido</p>	0	-
 <p>Auresidina</p>	0	-
 <p>Floretina</p>	0	-

Tabla 3.- Efecto del acoplamiento de TSH a membranas tiroideas humanas de una serie de sustancias.<sup>131</sup>

Nuevamente encontramos que los compuestos responsables de la actividad antitirotrópica de *Lithospermum* son los mismos principios activos de su actividad antigonadotrópica, todos con la presencia de un grupo catecol en su estructura molecular<sup>131</sup>.

## 6.5 COMPARACIÓN DE LOS COMPUESTOS PUROS CON EL FDE<sup>[3,5,10,16,36]</sup>

Estos estudios con compuestos puros identifican algunos de los principios activos dentro del FDE o sus precursores, esto se basa en que dichos compuestos tienen propiedades muy similares a las de los principios antitirotrópicos en el FDE activo<sup>[3]</sup>.

Los ocho compuestos 3,4-dihidroilados que presentan actividad son estructuralmente relacionados con el ácido cinámico e inhiben el acoplamiento de TSH a membranas tiroideas humanas. Cuatro de ellos, el ácido caféico, rosmarínico, clorogénico y elágico, están presentes en las plantas, mientras que otros cuatro que son el ácido 3,4-dihidroxifenilacético, ácido 3,4-dihidroxicinámico, deoxiepinefrina y ácido nordihidroguarético, están estructuralmente relacionados y no se encuentran en la planta<sup>[3]</sup>.

Estos compuestos fueron inactivos al ser probados por Auf'mkolk directamente, pero se vuelven activos cuando se permite que experimenten una auto oxidación. Con los ocho compuestos, la inhibición máxima del acoplamiento de TSH requiere cantidades de producto oxidado equivalentes a 20 - 80 $\mu$ g/mL (60-195  $\mu$ M) del compuesto original. La concentración inhibitoria media máxima para los ácidos caféico y elágico se incrementa de 2 a 4 veces cuando los experimentos se realizan en un medio que contiene 50 mM de NaCl una propiedad similar a la desarrollada por el FDE<sup>[3]</sup>.

Otra similitud entre estos compuestos y el FDE, es el hecho de que el FDE activo y los productos oxidados de los ácidos caféico, rosmarínico y elágico inhiben el acoplamiento de TSH a TPM sin dañarla o alterarla, de manera proporcional a la dosis<sup>[3]</sup>.

Como el FDE, la potencia inhibitoria de ácido caféico oxidado también es estable a ebullición y no dializable a través de una membrana con un corte de peso molecular de 3,500 Da. Pues como se ha mostrado con el FDE, cuando el TSH es preincubado con productos de oxidación de los ácidos caféico y elágico, su patrón de elusión se desplaza a un peso molecular de 3,000 Da en una cromatografía de tamizado molecular<sup>[3]</sup>.

Este aumento en peso molecular encontrado en el TSH después de su interacción con el FDE, se debe a la polimerización de las ortoquinonas presentes en el *Lithospermum*, que con este proceso y su unión al TSH buscan recuperar su estabilidad<sup>[3]</sup>.

## 6.6 INTERACCIONES DEL FDE Y LOS PRINCIPIOS ACTIVOS

Para averiguar si los compuestos activos del FDE interactúan con la proteína o el entorno de los carbohidratos del TSH, Auf'mkolk ha realizado estudios de sus efectos en el acoplamiento y la conducta cromatográfica de TSH deglicosilada (dg-TSH). Los efectos son similares a los observados para TSH intacta, sugiriendo que el FDE no interactúa con el entorno de los carbohidratos de TSH<sup>[2]</sup>.

La preincubación del TSH y la dg-TSH con el FDE activo o los productos de oxidación de ácido caféico o rosmarínico presenta una gran disminución de su actividad en el ensayo de McKenzie en ratones<sup>[2]</sup>.

Estos resultados indican que las ortoquinonas, productos de oxidación de ácidos 3,4-dihidroxicinámicos, tienen una actividad antitirotrópica similar a la del FDE, esto se debe a que las quinonas se pueden combinar con ciertos residuos de aminoácidos de las proteínas haciendo que los compuestos activos formen un aducto con la TSH o la dg-TSH haciéndolas incapaces de acoplarse a su receptor y de estimular la liberación de radioiodina sanguínea en el ratón<sup>[2]</sup>.

Las ortoquinonas, derivados de ácido 3,4-dihidroxicinámico se combinan con la proteína, más que con el entorno de carbohidratos del TSH, produciendo uno o varios productos cuya actividad antitirotrópica es disminuida o perdida<sup>[2]</sup>.

Esta combinación de las ortoquinonas del *Lithospermum*, con la parte proteica del TSH, se debe a que el TSH, al igual que FSH y LH, está formada por dos cadenas de aminoácidos, alfa y beta, de las cuales la subunidad alfa es igual en las tres hormonas, y es sobre la cual actúan las ortoquinonas, ya que reaccionan con los grupos amino e imino de los aminoácidos, triptofano, asparagina, glutamina, lisina, arginina y/o histidina, así como con metionina y cistidina, presentes en esta cadena<sup>[2,36,48]</sup>.

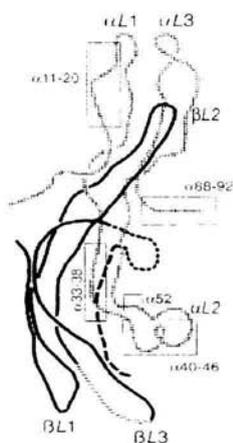


Fig. 2.- Estructura proteica de las hormonas TSH<sup>[48]</sup>

Las consideraciones anteriores nos llevan a concluir que los productos oxidados de los compuestos puros que se han probado, son responsables de la actividad antitirotrópica en el FDE de la planta<sup>[2]</sup>.

## 6.7 RELACIÓN ESTRUCTURA - ACTIVIDAD

De un examen de la relación estructura actividad de los compuestos probados, Auf'mkolk concluye que los compuestos activos, ya sea identificados en las plantas o no, están relacionados estructuralmente con ácido cinámico y contienen grupos hidroxilo no sustituidos en las posiciones 3- y 4-, y que incluso con la presencia de estos grupos, la actividad es influenciada por cambios en la cadena lateral en la posición 1<sup>[3]</sup>.

La actividad del FDE de *Lithospermum* se adjudica a que las ortoquinonas son intermediarios importantes en la generación de los compuestos activos precursores 3,4-dihidroxiados. Esto se sugiere porque en presencia de oxígeno, los derivados de ácido 3,4-dihidroxicinámico en solución alcalina se oxidan produciendo radicales orto-semiquinonas o moléculas de ortoquinona, que se polimerizan para producir productos de alto peso molecular. Las propiedades de los productos activos que se probaron sugieren que son polímeros<sup>[2,3,5]</sup>.

Así, los principios activos en el FDE y los compuestos puros oxidados ejercen sus efectos en TSH al combinarse con la hormona para cambiar su tamaño molecular, su configuración o ambas. La evidencia de esto es el incremento en el peso molecular de TSH que inducen estos principios y el reporte de que el FDE, glicosidos oxidados de ácido caféico y ácido rosmarínico oxidado alteran la espectroscopia del TSH<sup>[3]</sup>.

Las quinonas de ácido caféico y clorogénico aparentemente experimentan un acoplamiento covalente a los aminoácidos de las proteínas, los sitios preferidos de interacción son metionina, triptofano, grupos  $\alpha$ -amino terminal, grupos  $\epsilon$ -amino de lisina, y los grupos sulfidrilo de la cisteína. Los ácidos tánico y elágico también son conocidos por combinarse con proteínas<sup>[3,48]</sup>.

Esto sugiere que las ortoquinonas derivados del ácido 3,4-dihidroxicinámico en varias formas poliméricas, son los principios antitirotrópicos dentro de los extractos activos de la planta. Pues interactúan con el entorno de la proteína de la molécula de TSH y forman productos de mayor tamaño molecular y con posible configuración alterada, que lo incapacita para acoplarse a su receptor y como consecuencia limitando su habilidad para obtener su respuesta biológica<sup>[3,5,36]</sup>.

## 6.8 EL *Lithospermum officinale* y *runderale* CONTRA HIPERTIROIDISMO Y ENFERMEDAD DE GRAVES.

El *Lithospermum* tiene una larga historia sobre su uso empírico en el hipertiroidismo y sobre todo en el tratamiento de la enfermedad de Graves; el cual resulta de la acción de una inmunoglobulina de la clase IgG que, como el TSH, se acopla al receptor de TSH de la membrana tiroidea y como consecuencia activa la glándula. De manera semejante estas IgG's estimulantes son anticuerpos contra el receptor TSH o algún componente del mismo<sup>[5,30]</sup>.

Por lo tanto esta IgG específica de Graves puede tener alguna similitud estructural con el TSH que le permita ser reconocida por el receptor TSH. Por lo que es interesante determinar si los extractos de la planta que inhiben la acción del TSH tienen un efecto similar en la IgG específica de Graves; asumiendo sus efectos en la acción biológica de Graves-IgG (G-IgG)<sup>[4]</sup>.

El mecanismo de la Inhibición del Acoplamiento a TSH (TBI) del G-IgG no esta completamente probado, pero la propuesta es que lo hace acoplándose al receptor TSH o a algún componente del mismo, ocluyendo al receptor y previniendo el acoplamiento del TSH. De este modo, Auf'mkolk sugiere que los principios activos en el FDE disminuyen la actividad TBI en el IgG específico de Graves, previniendo su acoplamiento al receptor<sup>[4]</sup>.

En las muestras probadas de IgG de Graves, una incubación con FDE antitirotrópico o sus constituyentes antitirotrópicos oxidados, disminuyen la actividad inhibitoria del acoplamiento de TSH de una manera dependiente a la dosis(100-300  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) y también lo hace en una preparación del receptor purificado de IgG de Graves (70  $\mu\text{g}$  de FDE/ $\text{mL}$ )<sup>[4]</sup>.

A concentraciones de 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , el FDE de *Lithospermum* no afecta la concentración basal de AMPc, pero inhibe el incremento de la concentración inducida por G-IgG. Los ácidos caféico y elálgico oxidados inhiben la respuesta a G-IgG completamente a concentraciones de 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , pero también disminuyen la concentración basal de AMPc. Se observa también un efecto similar en la concentración basal de AMPc cuando el FDE es probado en una concentración más alta (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ )<sup>[4]</sup>.

El FDE activo y sus constituyentes activos oxidados inhiben también los efectos biológicos del G-IgG en el sistema de ensayo de McKenzie "in vivo", es decir, están relacionadas la estimulación de la adenilato ciclase en membranas humanas tiroideas "in vitro" y la estimulación de iodina tiroidea "in vivo" en el sistema de ensayo de McKenzie<sup>[4]</sup>.

La actividad del FDE de *Lithospermum* se adjudica a que las ortoquinonas son intermediarios importantes en la generación de los compuestos activos precursores 3,4-dihidroxilados<sup>[2,3,4]</sup>.

Observando las correlaciones anteriores, parece ser que los compuestos activos en los materiales derivados de las plantas ejercen sus efectos en el TSH y G-IgG por un mecanismo similar. Se puede sugerir que una interacción similar a la que ocurre con el TSH en el caso del IgG específico de Graves<sup>[4,5]</sup>.

Por lo tanto es importante saber si los materiales activos derivados de las plantas pueden interactuar con cualquier IgG o si existe un grado de especificidad en su interacción con el IgG específico de Graves. Estudios con IgG anti-insulina demuestran que el FDE y sus constituyentes que inhiben las respuestas a G-IgG no son capaces de alterar la habilidad de los anticuerpos anti receptor de insulina para inhibir su acoplamiento a insulina<sup>[4]</sup>.

Los compuestos activos derivados de las plantas pueden interactuar con el TSH y el IgG específico de Graves, este fenómeno puede ser explicado si el TSH y el IgG tienen rasgos estructurales comunes que permiten su reconocimiento por el receptor de TSH y con el sitio con el cual interactúan los compuestos activos<sup>[4]</sup>.

Estas observaciones sugieren que los constituyentes activos oxidados del FDE con actividad antitirotrópica pueden interactuar con los componentes patogénicos importantes del IgG de Graves para inhibir su habilidad para acoplarse al receptor de TSH y activar la tiroides, así como lo hacen con el TSH<sup>[4]</sup>.

Estos descubrimientos proveen un posible razonamiento para el uso de FDE en el tratamiento de la enfermedad de Graves. y algún soporte para la sugerencia de que el IgG específico de Graves puede tener similitudes estructurales con el TSH<sup>[4]</sup>.

Además esta información acerca de los extractos de *Lithospermum* y sus componentes es sumamente importante ya que la enfermedad de Graves es la forma más común de hipertiroidismo que no es causada por TSH<sup>[4]</sup>.

Otros agentes comúnmente usados para tratar esto son propiltiouracil y metimazol, los cuales pueden causar reacciones alérgicas y en algunos casos agranulocitosis. La cirugía es la otra alternativa para esto, pero no es recomendable cuando el paciente se encuentra en edad reproductiva o en menores, pues existe el riesgo de parálisis de cuerdas vocales e hipoparatiroidismo. El yoduro radioactivo es usualmente usado en pacientes arriba de los 40 años de edad, debido al riesgo de defectos de nacimiento. El KI no es usado de rutina, si no que en casos de emergencias únicamente, debido a las complicaciones con el iodismo<sup>[10,19,30]</sup>.

## 6.9 PERSPECTIVAS PARA EL USO ANTITIROTRÓPICO DE *Lithospermum officinale* Y *runderale*

El *Lithospermum* también tiene una gran actividad contra el hipertiroidismo, que es una grave enfermedad que afecta a mucha gente principalmente en forma de la enfermedad de Graves. Existen muchos remedios para esta enfermedad, como administrar fármacos que abaten o destruyen la glándula tiroidea y extirpar quirúrgicamente una parte importante de la tiroides, sin embargo son métodos invasivo o agresivos que a largo plazo presentan graves efectos adversos, por lo que se propone el uso del *Lithospermum* para su tratamiento, puesto que esta planta ha demostrado su capacidad para disminuir los niveles de TSH activo tanto en el hipertiroidismo como en la enfermedad de Graves sin presentar efectos adversos<sup>[1,10,19,30]</sup>.

Los principios activos del *Lithospermum* presentan su actividad antitirotrópica al actuar sobre el TSH impidiendo que la hormona reaccione con su receptor en las membranas tiroideas, disminuyendo su acción evitando los trastornos propios del hipertiroidismo, puesto que evita una sobre estimulación de la tiroides debido al exceso de TSH en sangre, de igual manera se ha encontrado que puede ser muy útil en el tratamiento de la enfermedad de Graves<sup>[2,3,4,51]</sup>.

La acción del *Lithospermum* sobre la enfermedad de Graves es muy similar, ya que el IgG de Graves tiene una estructura similar al TSH, lo que le permite su

acoplamiento a membranas tiroideas para producir la enfermedad, le permite al *Lithospermum* actuar sobre el IgG de Graves de igual manera que lo hace sobre el TSH, impidiendo así su acoplamiento al receptor en las membranas tiroideas.

Los principios activos del *Lithospermum* interactúan únicamente con el IgG de Graves, sin tener acción alguna en otros IgG's, esto seguramente se debe a las similitudes estructurales entre el IgG de Graves y el TSH, sobre el cual actúan los principios activos del *Lithospermum*<sup>41</sup>.

Al igual que con su actividad antigoadotrópica es importante continuar los estudios sobre sus efectos antitirotrópicos del *Lithospermum* y sus moléculas activas, para poderlas aplicar en la medicina actual con las dosis necesarias para tratar el hipertiroidismo y la enfermedad de Graves, por lo que también es necesario proponer presentaciones farmacéuticas acorde con estas necesidades, además de los tés y extractos.

## **VII. CONCLUSIONES**

## VI. CONCLUSIONES

Con base en la información difundida por varios investigadores y que ha sido expuesta en este trabajo, se ha llegado a la conclusión de que *Lithospermum ruderale* y *officinale*, así como sus moléculas activas:

- Pueden ser usados como un método anticonceptivo eficaz.
- Son capaces de prevenir cáncer de seno y matriz dependientes de estrógeno.
- Son una opción para el tratamiento del hipertiroidismo y la enfermedad de Graves sin efectos adversos ni métodos invasivos como los tratamientos actuales.
- Los principios activos presentes en las plantas *Lithospermum ruderale* y *officinale* son: ácido litospérmico, ácido caféico, ácido rosmarínico, ácido clorogénico, ácido elágico y luteolin-7 $\beta$ -glucósido.
- Los principios activos relacionados estructuralmente con estos son: ácido 3,4-dihidroxifenilacético, ácido 3,4-dihidroxicinámico, ácido nordihidroguarético, deoxiepinefrina, 2,3- dicarboxi- 6,7- dihidroxi- 1-(3',4'- dihidroxi)- fenil-1,2-dihidronaftaleno y 3-carboxi-6,7-dihidroxi-1-(3',4'-dihidroxi)-fenilnaftaleno.

- Se conoce el grupo farmacofórico de *Lithospermum* ruderales y officinale, así como su mecanismo de acción.
- Estos principios activos presentan en su estructura un grupo catecol, que al oxidarse, se transforma en una ortoquinona.

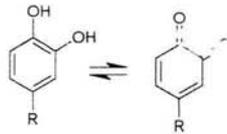


Figura 1.- Estructura química del catecol y su paso a ortoquinona.

- Las ortoquinonas son compuestos sumamente reactivos que para estabilizarse se polimerizan y se combina con grupos amino e imino de ciertos aminoácidos.
- Esta polimerización provoca que los compuestos activos formen un aducto de alto peso molecular con determinadas proteínas que contengan los aminoácidos, triptofano, asparagina, glutamina, lisina, arginina e histidina, sin o con poco impedimento estérico en su estructura.

- Estas ortoquinonas actúan principalmente sobre la porción protéica de las hormonas TSH, FSH, y LH deformando su estructura, impidiendo así su acoplamiento a sus receptores correspondientes.
- Estas tres hormonas, TSH, FSH y LH, están formadas por dos cadenas de aminoácidos, alfa y beta, de las cuales la subunidad alfa es igual en las tres hormonas, y es sobre la cual actúan las ortoquinonas.
- La interacción de las ortoquinonas con el IgG de Graves se explica por su similitud estructural con el TSH.
- La interacción de las ortoquinonas con la hormona GnRH, se explica porque pueden reaccionar con los aminoácidos histidina, triptofano y arginina presentes en esta hormona.

## VIII. COMENTARIOS

## VIII. COMENTARIOS

Se conocen las características de los principios activos de las plantas *Lithospermum ruderale* y *officinale*, su mecanismo de acción para provocar una respuesta antigonadotrópica y antitirotrópica, así como el grupo responsable de su actividad.

Esta información nos permite notar el gran potencial terapéutico de estas moléculas, y promueve el desarrollo de nuevas moléculas con la misma o mejor actividad que las encontradas en *Lithospermum ruderale* y *officinale* basándose en la estructura molecular de sus metabolitos activos.

Los productos del *Lithospermum ruderale* y *officinale* pueden modificarse mediante química combinatoria para encontrar rápida y eficientemente análogos con igual o mayor actividad biológica que los originales.

Se propone posteriormente la creación de nuevos medicamentos para el tratamiento del hipertiroidismo y la enfermedad de Graves, así como para un nuevo y más seguro método anticonceptivo, además de una opción en el tratamiento de cáncer dependientes de estrógenos.

Se pretende que los principios activos presentes en el *Lithospermum*, en un futuro se puedan utilizar de manera comercial para el tratamiento del hipertiroidismo, enfermedad de Graves, cánceres dependientes de hormonas y como método anticonceptivo.

Se recomienda continuar las investigaciones sobre estos fármacos para poder adecuar las dosis y formas farmacéuticas para su utilización en el tratamiento de estos padecimientos, puesto que los estudios han demostrado que esta terapia puede ser menos agresiva e incluso más eficaz que los tratamientos actuales.

## **IX. DEFINICIONES**

## IX. DEFINICIONES

Adenilato ciclasa: enzima efectora a la que se acoplan receptores y cataliza la formación de AMPc a expensas de un consumo de ATP.

Alcanina: naftoquinona elaborada por plantas superiores.

Anticonceptivos: métodos de planificación familiar usados por parejas e individuos sexualmente activos para prevenir el embarazo.

Antigonadotrópico: sustancia que evita la acción o secreción de las gonadotropinas.

Antiinflamatorios: sustancias o fármacos que previenen el proceso inflamatorio o alivian sus efectos.

Antitirotrópico: sustancia que evita la acción de la tiroides o inhibe la acción o secreción de las hormonas tiroideas.

Antitumorales: sustancias o fármacos que disminuyen o evitan crecimientos celulares anormales o descontrolados.

Betabloqueadores: son inhibidores competitivos de los receptores adrenérgicos, de forma reversible, antagonizando los efectos que las catecolaminas ejercen sobre estos.

Cáncer: es el crecimiento descontrolado de células anormales que han mutado de tejidos normales. El cáncer puede causar la muerte cuando estas células impiden el funcionamiento normal de los órganos vitales afectados o se diseminan por el cuerpo y dañan otros sistemas clave. Existen al menos 200 tipos distintos de cánceres, los cuales se pueden desarrollar en prácticamente cualquier órgano.

**Catecolaminas:** son pequeñas moléculas semejantes químicamente que se derivan del aminoácido tirosina. Las catecolaminas principales son dopamina, norepinefrina y epinefrina (antiguo nombre: adrenalina). La dopamina es un neurotransmisor (químico empleado para la transmisión de impulsos entre las células), principalmente en el cerebro. La norepinefrina es el principal neurotransmisor en el sistema nervioso simpático (controla la reacción de "lucha o huida") y también se encuentra en el cerebro. La epinefrina no sólo es un neurotransmisor en el cerebro, sino también una de las hormonas principales del cuerpo.

**Cima:** inflorescencia determinada o definida que termina en una flor, apareciendo más flores en brotes laterales, puede ser dicótoma, helicoide o escorpiode.

**Cimoso:** relativo a cima.

**Cistolítico:** con cistolitos.

**Cistolito:** concreción de carbonato cálcico sobre la pared celular en el interior de algunas células; aparecen fundamentalmente en la epidermis de Urticaceae, Moraceae, Boraginaceae, etc.

**Corticoesteroides o glucocorticoides:** son fármacos de producción natural o sintética relacionados con hormonas liberadas de la corteza suprarrenal. Influyen en el metabolismo de los carbohidratos, proteínas y grasas, y en funciones de los sistemas cardiovascular; renal, óseo, muscular y nervioso. Son utilizados para suprimir el enrojecimiento, la hinchazón y el dolor en las inflamaciones locales. También pueden usarse para combatir síntomas relacionados con la artritis y el asma, las reacciones inmunitarias e intervenciones tales como los injertos cutáneos y las inflamaciones locales producidas por traumatismo o hipersensibilidad.

Cromatografía de filtración o tamizado molecular: es un método de cromatografía en columna por el cual las moléculas se separan en solución según su peso molecular, o más precisamente, según su radio de Stokes.

DMSO: dimetil sulfóxido. Generalmente usado como disolvente. Es un agente tóxico, altamente higroscópico. Se sugiere secar con alúmina (activada) o con tamiz molecular de 4 Å activado y luego destilación a presión reducida.

Estipula: apéndice foliar en la base del pecíolo, generalmente aparecen por parejas.

FDE: Extracto congelado deshidratado (liofilizado).

Fibroblastos: Es la célula propia de los tejidos conjuntivos fibrosos, cuya principal función es sintetizar y mantener a la matriz extracelular propia del tejido.

FSH: Hormona Folículo Estimulante, causa crecimiento de los folículos ováricos antes de la ovulación y fomenta la formación de espermatozoides en el testículo.

Glucosaminglicanos: son una familia de polisacáridos entre los cuales son bien conocidos la heparina y el polímero relacionado sulfato de heparan. La heparina ha sido utilizada clínicamente por su actividad anticoagulante, y propiedades antiinflamatorias.

Gonadotropinas: Hormonas que pueden promover el crecimiento y la función de las gónadas.

Gonadotropinas hipofisarias: Hormonas estimulantes de las gónadas producidas por la hipófisis.

**Lectinas:** son proteínas cuya función esta asociada al reconocimiento molecular, defensa y protección.

**LH:** Hormona Luteinizante, induce la ovulación, hace que los ovarios secreten hormonas sexuales femeninas y los testículos secreten testosterona

**Litotricia:** sustancia o técnica utilizada para destruir los cálculos que se forman en el riñón, vejiga, uréteres o vesícula biliar.

**Masa Atómica Relativa:** Es un número que indica cuántas veces es mayor la masa de un átomo que la unidad de masa atómica, U.M.A.

**Masa Molecular Relativa:** Es un número que indica cuántas veces es mayor la masa de una molécula que la unidad de masa atómica, U.M.A.

**Naftoquinonas:** son pigmentos cuyo color va desde el amarillo, pasando por el anaranjado, al rojo intenso. Se encuentran en mayor cantidad en las plantas superiores y, en menor proporción, en los hongos, los erizos y las estrellas de mar.

**Narcotina:** Alcaloide adicional derivado del opio; no es narcótico pero afecta el sistema nervioso central como estimulante.

**Oxitocicas:** son las sustancias que poseen la propiedad de hacer contraer la fibra muscular uterina. La mas representativa es la Oxitocina, natural o sintética. Asimismo, tiene reconocida actividad oxitocica los derivados del cornezuelo de centeno, las prostaglandinas, la esperticina, la noradrenalina y el oxigeno.

PMSG: gonadotropina sérica de yegua preñada. Hormona usada para mejorar la fertilidad al ser estimulante del crecimiento folicular. Su uso se asocia al tratamiento previo con progestágenos. Tiene muchos usos en el campo de la reproducción.

Simpódico: cuando el eje principal cesa de crecer y continua el crecimiento en la rama lateral, repitiéndose el proceso.

Taninos: Término aplicable a aquellas sustancias orgánicas no nitrogenadas, con fuertes propiedades astringentes, solubles en agua y no en alcohol. Expuestas al aire se tornan oscuras y pierden su efectividad.

TLC: Cromatografía en capa fina. Método de separación de sustancias, en la cual una muestra aplicada en la capa es adsorbida en la superficie del material por la acción de fuerzas electrostáticas (fuerzas de Van der Waals, puentes de Hidrógeno, efectos inductivos, etc). Luego, cuando la capa es expuesta a un flujo por acción capilar, se inicia una competencia de enlaces entre los sitios activos del adsorbente y la sustancia con el solvente.

TSH: Hormona Estimulante de la Tiroides, hace que la glándula tiroides secrete tiroxina (T4) y triyodotironina (T3)

U.M.A.: que quiere decir Unidad de Masa Atómica Su valor es igual a la 1/12 parte de la masa del isótopo 12 del átomo de C .

## **X. BIBLIOGRAFÍA**

**X. BIBLIOGRAFÍA.**

1. Audesirk T., Audesirk G., "Biología", Editorial Prentice hall, México 1997, 89-95, 122-134, 347-358.
2. Auf'mkolk M., Ingbar J. C., Amir S. M., Winterhoff H., Sourgens H, Hesch R. D. and Ingbar S. H.; "Inhibition by certain plant extracts of the binding and adenylate cyclase stimulatory effect of bovine thyrotropin in human thyroid membranes"; *Endocrinology* 1984, 115(2) 527-534.
3. Auf'mkolk M., Amir S. M. and Ingbar S. H.; "The active principles of plant extracts with antithyrotropic activity: oxidation products of derivatives of 3,4-dihydroxycinnamic acid"; *Endocrinology* 1985, 116(5) 1677-1686.
4. Auf'mkolk M., Ingbar J. C., Kubota K., Amir S. M. and Ingbar S. H.; "Extracts and auto-oxidized constituents if certain plants inhibit the receptor-binding and the biological activity of Graves' Immunoglobulins"; *Endocrinology* 1985, 116(5) 1687-1693.
5. Brinker F. N.D. "Inhibition of Endocrine Function Botanical Agents" *Journal of Naturopathic Medicine* 1 February 1990.
6. Byung-Zun A., Kyong-Up B., Gi-Ryang K., Kyu L., and Byung-Doo H.; "Acylishikonin Analogues: Synthesis and Inhibition of DNA Topoisomerase-I"; *Journal of Medicinal Chemistry* 1995, 38 (6) 1044-1047.
7. Cecchini, T.: *Enciclopedia de las hierbas y de las plantas medicinales*. Barcelona. Ed. De Vecchi. 1990.
8. Collins R.A., Nig T.B., Fong W.P., Wan C.C. and Yeung H.W.; "A comparison of human immunodeficiency virus type 1 inhibition by partially purified aqueous

- extracts of chinese medicinal herbs"; *Life Sciences*, 1997, Vol. 60, No 23. PL 345-351
9. Curtis H., "Biología", Editorial Panamericana, México 1995, 247-368. 436-458, 596.
10. De Groot L. J. M.D., Hennemann G., M.D., "Normal Physiology of the Hypothalamic-Pituitary-Thyroidal System and Relation to the Neural System and Other Endocrine Glands", *The Thyroid and its Diseases*, Chapter 4, 1 May 2000
11. Enciclopedia Médica Medline Plus, U.S. National Library of Medicine, USA 2000, Tomos 1 (53-59),2(268-275),4(438-447) y 6(627-632).
12. Findley W.E., Jacobs B.R.; "The antigonadotropic activity of *Lithospermum ruderales* I. The lack of steroid-like activity at the receptor level"; *Contraception* 1980 Feb, 21(2), 199-205.
13. Findley W.E.; "The antigonadotropic activity of *Lithospermum ruderales*. II The inhibition of LRF-induced gonadotropin release in vitro"; *Contraception* ,1981 Feb, 23 (2) 157-162.
14. Findley W. E., Hollstein U. and Besch P. K.; "Effect of Purified Lithospermic Acid and its oxidation product on luteinizing hormone release In Vitro"; *Biology of Reproduction* 1985, 33, 309-315,.
15. Foye, W.O., Lemke T.L. and Williams D.A, "Principles of Medicinal Chemistry". Williams & Wilkins. Fourth Edition, 1995, 544-580.
16. Gilchrist T.L.; "Química Heterocíclica"; Editorial Addison- Wesley Iberoamericana, México 1995, 85-90.

17. Grases F., Melero G., Costa-Bauza A., Prieto R., March J.G.; "Urolithiasis and phytotherapy"; *International Urology and Nefrology* (1994) 26 (5) 507-511.
18. Gunter R. N., *AIDS and its treatment by Chinese Herbal Medicine*, Germany, TCMinter, 98-123.
19. 1996, Guyton A.; "Fisiología Humana", Editorial Interamericana, México 1996, 256-268, 322-356.
20. Hisa T., Kimura Y., Takada K., Suzuki F., Takigawa M.; "Shikonin, an ingredient of *Lithospermum erythrorhizon*, inhibits angiogenesis in vivo and in vitro"; *Anticancer Research* 18, (2A) 1998, 783-790.
21. Honda G., Sakakibara F., Yazaki K. and Tabata M.; "Isolation of Deoxishikonin, an antidermatophytic principle from *Lithospermum erythrorhizon* cell cultures"; *Journal of Natural Products* 51, (1) Jan-Feb 152-154 1988.
22. Huei L. and Jung-Yaw L.; "Antimutagenic activity of extracts from anticancer drugs in Chinese medicine"; *Mutation Research* 1988, 204, 229-234.
23. Huxley. A. *The New RHS Dictionary of Gardening* 1992. USA, MacMillan Press 1992, 25-39
24. Ilarionov I.; "Androgenic and aphrodesiac action of medicinal plant *Lithospermum Arvense*"; *Eksperimentalna Meditsina I Morfologija*, 1989 28(1) 28-33.
25. James J. S., *AIDS Treatment News* No.61 Julio 29,1998, 907-932.
26. Jimenez S., "Cáncer Mamario", *Solo Mujeres Ginecología y Obstetricia*; 2000 (1), 455-463.

27. Jin R., Wan LL., Mitsuishi T.: "Effects of shi-ka-ron and Chinese herbs in mice treated with anti-tumor agent motomycin C"; *Chung Kuo Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih* 1995, Feb, 15 (2) 101-3.
28. Kalidas S. "Biotechnology to harness the benefits of dietary phenolics; focus on Lamiaceae"; *Asia Pacific Journal Clinical Nutrition* 1997, 6 (3) 162-171.
29. Kariyone. T. *Atlas of Medicinal Plants* 1999 USA, Tomo VI 253-257.
30. Kelly G., ND, "Peripheral Metabolism of Thyroid Hormones: A Review", *Alternative Medicine Review*, 5 (4), August 2000
31. Kweon K.R., Baik K.O., Lim K., Hwang B.D. and Ahn B.Z.; "Inhibitory Effects of Lithosperma Root and its Constituents on DNA Topoisomerases I and II"; Chungnam University College of Medicine and College of Pharmacy, Taejon 305-764, Korea; *Proceedings of the American Association for Cancer Research*; 1993, 34, March (1954), 328
32. Kweon K.R., Baik K.O., Lim K., Hwang B.D. and Ahn B.Z.; "Inhibitory Effect of 2-(1-acyloxyalkyl)-5,8-dihydroxynaphthoquinones on DNA topoisomerase I"; Chungnam University College of Medicine and College of Pharmacy, Taejon 305-764, Korea; *Proceedings of the American Association for Cancer Research*; 1994, 35, March (2709), 454.
33. Marchbanks P.A., McDonald J.A., Wilson H.G., Folger S.G., Mandel M.G., Daling J.R., Bernstein L., Malone K.E., Ursin G., Strom B.L., Norman S.A., Wingo P.A., Burkman R.T., Berlin J.A., Simon M.S., Spirtas R., Weiss L.K., "Oral contraceptives and the risk of breast cancer." *Engl J Med* 2002 Jun 27;346(26), 2025-32

34. Martínez B. J., Rodríguez C. P., Basase M. E., "Cáncer de endometrio", *Revista Médica de Santiago*. 2000, Diciembre, 3, (16) 159-167.
35. Mongelli E.R. y Pomilio A. B. "Nuevos medicamentos y etnomedicina del uso popular a la industria farmacéutica" 12(68) Abril/Mayo 2002
36. Morrison R., Boyd R.; "Química Orgánica"; Editorial Addison- Wesley Iberoamericana, México 1995, 182-195, 290-318.
37. Nahrsted L., Albrecht M., Wray V., Gumbinger H. G., John M., Winterhoff H. y Kemper F.H.; "Structures of compounds with antigonadotropic activity obtained in vitro oxidation of caffeic acid"; *Planta Medica* 1990, 56, 395-398.
38. Ohwi. G., *Flora of Japan*. (English translation), USA, Smithsonian Institution, 1965, 89-96.
39. Paguio E. C., "Hyperthyroidism: Grave's disease", *Pharmacology Clinical Correlations* Washington, D.C. April 4, 2000, 23-36.
40. Pérez S. "Cáncer de endometrio", *Ginecología*, Editorial Mediterráneo, 21, 255-291.
41. Pratt C. C., DTCM, "Breast Cancer", *The Rainbow's End Wellness Clinic*, Fort Nelson, BC, Canada, April 2000, 89-93.
42. Rose P.. "Endometrial Carcinoma", *The New England Journal of medicine* Review Article, August 1996, 356-389.
43. Shigeo T., Mayumi T., Minoru T. y Mamoru T.; "A comparative study on anti-inflammatory activities of the enantiomers, shikonin y alkanin"; *Journal of Natural Products* 1986, 49 (3) 466-469.

44. The Merck Manual of Diagnosis and Therapy, Section 2. Endocrine And Metabolic Disorders, Section 2. Endocrine And Metabolic Disorders 2002 Merck & Co., Inc., Whitehouse Station, NJ, USA, 569-587.
45. Uphof. J. C. Th. Dictionary of Economic Plants. Weinheim 1959, 78-85, 93-98.
46. Usher. G. A Dictionary of Plants Used by Man, USA Editions 1986, 80-94.
47. Ville C. A., "Biología", Editorial Interamericana, México 1994, 123-135, 256-268.
48. Voet D., Voet J., "Biochemistry", John Wiley & sons, INC., USA 1995, 478-490.
49. Weng X.C., Xiang G.Q., Jiang A.L., Liu Y.P., Wu L.L., Dong X.W., Duan S.; "Antioxidant properties of components extracted from puccion (*Lithospermum erythrorhizon* Sieb. Et Zucc.)"; Food Chemistry Vol. 69, 143-146, 2000
50. William C. E., Farmacognosia, 13ª Edición, Editorial Interamericana Mc Graw Hill, México 1991, 190-223.
51. Winterhoff H., Sourgens H., Kemper F.H.; "Antihormonal effects of plant extracts. Pharmacodynamic effects of *Lithospermum officinale* on the thyroid gland of rats; comparison with effects of iodide"; Hormone and Metabolic Research (1983 Oct) 15 (10) 503-507.
52. Winterhoff H., Gumbinger H., Sourgens H; "On the Antigonadotropic activity of *Lithospermum* and *Lycopus* species and some of their Phenolic constituents"; Planta Medica 1988, 54, 101-106.
53. [www.cerda.com.mx](http://www.cerda.com.mx)

54. Xin C., Oppenheim J., Howard O. M. Z.; "Shikonin, a component of anti-inflammatory Chinese herbal medicine, selectively blocks chemokine binding to CC chemokine receptor-1"; *International Immunopharmacology* 2001, 1(2) 229-236.
55. Yamasaki K., Otake T., Mori H., Morimoto M., Ueba N., Kurokawa Y., Shiota K., Yuge T.; *Yakugaku Zasshi*; "Screening test of crude drug extract on anti-HIV activity"; *Journal of Pharmaceutical Society of Japan* 1993, Nov, 113 (11) 818-824.
56. Yeung H. *Handbook of Chinese Herbs and Formulas*. Institute of Chinese Medicine, Los Angeles, USA, 1985, 79-95.
57. Yoosik Y., Yeon-Ok K., Na-Young L., Won-Kyung J., and Hyun J. S.; "Shikonin, an ingredient of *Lithospermum erythrorhizon* induced apoptosis in HL60 human premyelocytic Leukemia cell line"; *Planta Medica* 1999, 65, 532-535.
58. Zeller F.J., Breneman W.R.; "The in-vivo effect of *Lithospermum ruderales* on LHRH activity in the chick"; *Contraception* 1981, Jul, 24 (1), 77-81.