

FARMACOCINÉTICA DE LA SILIMARINA INTRAVENOSA EN CONEJOS A DOSIS ÚNICA

Cárceles, C.*; Ponferrada, C.**; Sanjuán, M. A.* y Serrano, J. M.

* Departamento de Ciencias Socio-Sanitarias, Universidad de Murcia.

** Departamento de Farmacología y Toxicología, Universidad de Córdoba.

Recibido: 2 septiembre

Aceptado: 14 diciembre

RESUMEN

Se ha estudiado la cinética de la silimarina, tras su administración intravenosa a dosis única, en el conejo. Los resultados indican que la silimarina se distribuye en el conejo siguiendo un modelo bicompartimental abierto cuya expresión es

$$Ct = 25,28 \cdot e^{-0,1235 \cdot t} + 22,38 \cdot e^{-0,0139 \cdot t} \text{ mg/l.}$$

A partir de dicha ecuación se han deducido los diversos parámetros farmacocinéticos.

SUMMARY

A kinetic survey of silymarin has been carried out after intravenous administration in rabbits. Results show that silymarin is spread in rabbits according to an open pattern with two compartments whose expression is

$$Ct = 25,28 \cdot e^{-0,1235 \cdot t} + 22,28 \cdot e^{-0,0139 \cdot t} \text{ mg/l.}$$

From this equation we have found out the different pharmacokinetics parameters.

INTRODUCCIÓN

La silimarina es un producto de estructura flavonoide que se obtiene de los frutos del *Silybum marianum* (L.) Gaerth con marcada actividad antihepatotóxica. Este fármaco protege al hígado de agresiones experimentales por tóxicos diversos (RAUEN y SCHRIEWER, 1973; VOGEL y cols., 1979; etc.) y también mejora el estado hepático desde el punto de vista terapéutico en afecciones tóxicas e infecciosas (REALINI y cols., 1975; SABA y cols. 1979; etc.).

Desde el punto de vista zootécnico podría ser interesante estudiar el comportamiento de hepatoprotectores en animales de alta producción.

Con frecuencia estos animales sufren alteraciones hepáticas, como consecuencia del estrés metabólico que se produce con la cría intensiva y de una medicación casi permanente en la alimentación.

El conejo es un animal con un doble interés. De una parte es una especie de producción cárnica que sufre con relativa frecuencia hepatopatías debidas al estrés metabólico y a la medicación de los piensos. De otra parte es una especie que, como animal de experimentación, se emplea para obtener datos biomédicos que sirvan de base para estudios posteriores en Farmacología Clínica.

El objetivo del presente trabajo ha consistido en estudiar la disposición de la silimarina por

vía intravenosa a dosis única en esta especie. Con ello pretendemos fijar los parámetros farmacocinéticos que regulan el tránsito de este fármaco en el conejo como base de estudios farmacológicos posteriores.

MATERIAL Y MÉTODO

Hemos empleado un total de 24 conejos hembras procedentes de una explotación comercial con pesos comprendidos entre 1'6 y 2'1 kg. Estos animales se dividieron en dos lotes aleatorios de 12 conejos cada uno y se sometieron a un ayuno de 24 horas antes de la administración.

Cada individuo recibió 30 mg/kg de peso silimarina (valorada como silibina con el 72% de riqueza por C. H. Boehringer Sohn Ingelheim S.A.E.) en solución hidroalcohólica en la vena marginal de la oreja derecha.

A los animales del primer lote se les extrajo sangre a los 3, 9, 30, 60, 90 y 150 minutos tras la administración, además de una extracción previa a la misma. A los animales del segundo lote se les extrajo sangre a los 6, 15, 45, 75, 120 y 180 minutos de la administración, además de la basal previa a la administración. En todos los casos el volumen de sangre extraído fue de 2 ml por lo que el volumen total obtenido de cada conejo no alcanza ni el 1% del peso vivo y las modificaciones en la volemia son inapreciables.

Cada muestra de sangre se introdujo en un

tubo de hemólisis heparinizado y se centrifugó durante 15 minutos a 3.000 r.p.m. en una centrífuga Jouan C-100-Sr para obtener el plasma sobrenadante.

La determinación de silimarina en plasma se realizó por el método descrito por SERRANO (1982), midiendo la absorbancia del producto en medio alcalino a 320 nm en un espectrofotómetro Bausch & Lomb Spectronic 2000, empleando como blanco el correspondiente a la extracción basal. Los valores de absorbancia se transformaron en concentraciones mediante el empleo de una recta de calibrado realizada en plasma de conejo.

RESULTADOS

El cuadro 1 muestra los valores medios de concentración plasmática de silimarina en mg/l así como los parámetros de dispersión desviaciones típicas y coeficientes de variación. Observamos que los valores medios, como es obvio, descienden en función del tiempo, encontrando la concentración media más elevada en la primera extracción, realizada a los 3 minutos de la extracción, y la más baja en la última, realizada a las 3 horas de la misma.

Las desviaciones típicas y los coeficientes de variación no se distribuyen uniformemente y así encontramos valores extremos para las desviaciones típicas de 6'7 y 1'33 que corresponden a las extracciones realizadas a los 9 y 180 minutos respectivamente. Los coeficientes de varia-

CUADRO 1
VALORES MEDIOS DE CONCENTRACIÓN DE SILIMARINA, DESVIACIONES TÍPICAS Y COEFICIENTES DE VARIACIÓN, A LOS DISTINTOS TIEMPOS DE EXTRACCIÓN

TIEMPOS DE EXTRACCIÓN (min)	VALOR MEDIO (mg/l)	DESVIACIÓN TÍPICA	COEFICIENTE DE VARIACIÓN
3	39'00	2'78	7'13
6	32'03	6'45	20'14
9	28'30	6'71	23'14
15	19'73	5'34	27'06
30	14'61	6'55	44'83
45	11'83	2'98	25'19
60	9'09	3'55	39'05
75	8'35	3'73	44'67
90	7'06	2'78	39'38
120	3'75	2'75	73'33
150	2'66	1'97	74'06
180	1'88	1'33	70'74

La razón entre varianzas mayor ($6'71^2$) y varianzas menor ($1'33^2$) da un valor de 25'45 que al ser estadísticamente significativo implica que las varianzas no son homogéneas por lo que hay que emplear un procedimiento de ponderación como más adecuado.

CUADRO 2
 PARÁMETROS DE AJUSTE ESTADÍSTICOS DE LA DISPOSICIÓN DE SILIMARINA CON
 DISTINTOS COEFICIENTES DE PONDERACIÓN

PARÁMETRO ESTADÍSTICO	P PONDERACIONES			
	1	1/s ²	1/C	1/C ²
Correlación no lineal	0'9971	0'9976	0'9980	0'9976
Correlación fase lenta	-0'9962	-0'9968	-0'9946	-0'9944
Correlación fase rápida	-0'9962	-0'9965	-0'9952	-0'9929
Número de puntos fase lenta	9	9	7	9
Número de puntos fase rápida	3	3	5	3
F no lineal	1373'31*	1660'67*	1994'00*	1660'67*
F fase lenta	915'81*	1088'50*	459'22*	619'75*
F fase rápida	130'83	142'11	310'25*	69'67

* La significación estadística es en todos los casos muy elevada $p < 0'001$ por lo que cualquier ajuste es óptimo.

ción oscilan entre 7'13 y 74'06% obtenidos a los 3 y 150 minutos.

Con respecto a los coeficientes de variación, WAGNER (1968) indica que como las concentraciones plasmáticas se distribuyen normalmente es frecuente encontrar coeficientes de variación comprendidos entre el 25 y el 75% y en tales condiciones el número de animales a utilizar en los ensayos debe estar comprendido entre 5 y 20.

A partir de los valores medios, y utilizando un programa iterativo de ajuste, desarrollado por nosotros para un microordenador Dragón de 64 Kbytes, hemos obtenido las cuatro mejores ecuaciones biexponenciales correspondientes a las cuatro ponderaciones empleadas, que son las siguientes:

1.^a Sin ponderación ($w=1$)

$$C_t = 24'02 \cdot e^{-0'1241 \cdot t} + 23'02 \cdot e^{-0'0142 \cdot t} \text{ mg/l}$$

2.^a Ponderación de cada punto con la inversa de la varianza ($w=1/s^2$)

$$C_t = 25'28 \cdot e^{-0'1235 \cdot t} + 22'38 \cdot e^{-0'0139 \cdot t} \text{ mg/l}$$

3.^a Ponderación de cada punto con la inversa de su valor medio ($w=1/C$)

$$C_t = 30'69 \cdot e^{-0'1030 \cdot t} + 21'72 \cdot e^{-0'0138 \cdot t} \text{ mg/l}$$

4.^a Ponderación de cada punto con la inversa del cuadrado de su valor medio ($w=1/C^2$)

$$C_t = 25'58 \cdot e^{-0'1058 \cdot t} + 20'61 \cdot e^{-0'0134 \cdot t} \text{ mg/l}$$

Observamos que estas ecuaciones son muy

similares al igual que los parámetros de ajuste que se muestran en el cuadro 2 y que en todos los casos presentan unos niveles de significación estadística máximos ($p < 0'001$).

Por último, los parámetros farmacocinéticos que se deducen de cada ecuación se muestran en el cuadro 3 en el que observamos la similitud de los valores que se obtienen con los diferentes sistemas de ponderación.

DISCUSIÓN

El análisis farmacocinético de nuestros resultados pone de manifiesto que el proceso global de desaparición de la silimarina en el conejo se produce de acuerdo a un modelo bicompartimental abierto cuando se administra por vía intravenosa.

El hecho de trabajar con valores medios de concentración plasmática supone ajustarnos a una metodología general (WAGNER, 1983), sobre todo cuando se emplean animales que prácticamente imposibilitan una evaluación individual por su reducido tamaño, como ocurre en nuestro caso.

Como se observa en el cuadro 2, cualquiera de los procedimientos de ponderación proporciona valores que se ajustan bien a los datos experimentales medios, como se infiere de los coeficientes de correlación no lineal y de la razón F de Snedecor para el ajuste no lineal. En todos los casos, la significación estadística es la más elevada ($p < 0'001$), por lo que basándonos en estos resultados cualquiera de los métodos de ponderación puede ser tomado como bueno. No obstante, BROWNLEE (1960) indica que

CUADRO 3
PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DE DISPOSICIÓN DE SILIMARINA CON DISTINTOS COEFICIENTES DE PONDERACIÓN

PARÁMETRO FARMACOCINÉTICO	1	1/s ²	1/C	1/C ²	UNIDADES
A	24'02	25'28	30'69	25'58	mg/l
α	0'1241	0'1235	0'1630	0'1058	min ⁻¹
B	23'02	22'38	21'72	20'61	mg/l
β	0'0142	0'0139	0'0138	0'0134	min ⁻¹
Co	47'04	47'66	52'41	46'19	mg/l
t _{1/2α}	5'59	5'61	4'25	6'55	min
t _{1/2β}	48'75	49'88	50'30	51'63	min
ABC	1812'53	1815'24	1764'54	1777'05	mg min/l
K ₁₂	0'0444	0'0458	0'0714	0'0386	min ⁻¹
K ₂₁	0'0680	0'0654	0'0756	0'0546	min ⁻¹
K ₁₃	0'0260	0'0262	0'0297	0'0260	min ⁻¹
Vda	1'16	1'19	1'23	1'26	l/kg
Vc	0'64	0'63	0'57	0'65	l/kg
Vp	0'52	0'56	0'66	0'61	l/kg
Cl	16'55	16'53	17'00	16'88	ml/min kg

cuando los valores de la variable dependiente no tienen varianzas iguales, cada punto debe ponderarse inversamente a su varianza, o bien como indica WAGNER (1983) transformar los datos para que estos parámetros de dispersión sean iguales. En este sentido, hemos realizado la comparación de las varianzas mayor y menor obtenidas a los distintos tiempos de extracción (cuadro 1), observando que la razón entre 6'71² y 1'33² nos da un valor de 25'45, el cual al ser estadísticamente significativo implica que las varianzas no son iguales, por lo que aplicando el criterio de BROWNLER (1960) consideramos que la mejor estimación es la que se produce cuando ponderamos con la inversa de las varianzas. La ecuación biexponencial más adecuada que nos muestra el proceso es:

$$Ct = 25'28 \cdot e^{-0'1235 \cdot t} + 22'38 \cdot e^{-0'0139 \cdot t} \text{ mg/l}$$

SERRANO (1982) realiza un estudio de la disposición de silimarina en aves de carne y encuentra igualmente una ecuación biexponencial concordante con un modelo bicompartimental abierto.

La relación entre las constantes híbridas de disposición (α/β) nos muestra un valor de 8'88, lo que pone de manifiesto que el proceso global de desaparición plasmática de silimarina está regulado preferentemente por la constante de disposición lenta (PLA y DEL POZO, 1974);

estos valores son muy parecidos a los que obtiene SERRANO (1982) en pollos.

De los tiempos de vida media (cuadro 3), el correspondiente a la fase de disposición lenta (t_{1/2 β}) se considera como el tiempo de hemicrecis (ATKINSON y KUSHNER, 1979; BAGGOT, 1986), y en nuestro caso toma un valor próximo a 50 minutos, por lo que la eliminación es muy rápida.

Las verdaderas constantes de transferencia y eliminación manifiestan que la salida de silimarina desde el compartimento central al periférico (k₁₂) es más rápida que la eliminación (k₁₃), por lo que el ajuste a un modelo bicompartimental abierto es adecuado, y por otra parte la constante de retorno (k₂₁) es mayor que cualquiera de las otras dos, por lo que el retorno no supone ninguna influencia negativa a la eliminación desde el compartimento central. Este hecho se produce en aquellos casos en los que no se produce retención del fármaco en el compartimento periférico (PLA y DEL POZO, 1974; PLA y DOMENECH, 1982).

En relación a los volúmenes de distribución aparentes, éstos son muy superiores a los que encuentra SERRANO (1982) en pollos de carne, del orden de 5 ó 6 veces los valores hallados por este autor, lo que nos informa de una mayor penetración de este fármaco en el conejo que en la gallina. No obstante, observamos que el volumen de distribución aparente en función

del área total bajo la curva supera al del volumen corporal, lo cual unido a que el volumen del compartimento central es mayor que el del periférico, nos indica que existe algún tipo de retención, al menos en el primer compartimento, en algún territorio del mismo y diferente de las proteínas plasmáticas.

El aclaramiento plasmático, por último es elevado como cabría esperar de una eliminación rápida y unos volúmenes de distribución elevados, lo que supone que aproximadamente del 20 al 25% del plasma es liberado de silimarina en cada minuto.

En conclusión podemos indicar que la silimarina se distribuye en el conejo según un modelo bicompartimental abierto en el que ambos compartimentos toman volúmenes similares y relativamente elevados y con una rápida eliminación.

BIBLIOGRAFÍA

- ATKINSON, A. J. Jr.; KUSHNER, W. 1979: Clinical pharmacokinetics. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 19: 105-127.
- BAGGOT, J. D. 1986: Principios de farmacología clínica veterinaria. Acribia, Zaragoza.
- BROWNLEE, K. A. 1960: Statistical theory and methodology in science and engineering. Wiley & Sons, New York.
- PLA, J. M.^a; DOMENECH, J. 1982: en: Perspectivas terapéuticas con su fundamento farmacológico. J. Esplugues ed. vol. 7. Saber, Valencia.
- PLA, J. M.^a; POZO, A. 1974: Manual de iniciación a la biofarmacia (Farmacocinética aplicada). Romar-graff, Barcelona.
- RAUEN, H. M.; SCHRIEWER, H. 1973: Die antihepatotoxische Wirkung von parenteral verabreiztem Silymarin beider Leberschädigung der Ratte durch CCl_4 . *Arzneim. Forsch.* 23: 148-149.
- REALINI, S.; GONVERS, J. J.; HOFSTETTER, J. R. 1975: Essai clinique de la silimarine dans les affections chroniques du foie. *Praxis.* 64: 595-598.
- SABA, P.; MIGNANI, E.; PAGLIAI, E.; GUIDI, G.; SCALABRINO, A.; STROPPA, A.; GALEONE, F.; TROYER, C. 1979: Efficacia del trattamento con silimarina nella epatite acuta virale. *Epatologia.* 25: 277-281.
- SERRANO, J. M. 1982: Estudio farmacocinético de la silimarina en Gallina. Tesis Doctoral. Univ. Córdoba.
- VOGEL, G.; BRAATZ, R.; MENGES, V. 1979: On the nephrotoxicity of alpha-amanitin and the antagonistic effects of silymarin in rats. *Agents Act.* 9: 221-226.
- WAGNER, J. 1968: Pharmacokinetics. *Ann. Rev. Pharmacol.* 8: 67-94.
- 1983: Farmacocinética clínica. Reverté, Barcelona.