



**FACULTAD DE FARMACIA**  
**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO**  
**ACTUALIZACIÓN FARMACOLÓGICA DE**  
***SILYBUM MARIANUM* (L.) GAERTN.**  
**SILIMARINA Y SILIBININA.**

Autor: Laura Figueroa Garcia

Fecha: Febrero 2020

Tutora: Paulina Bermejo Benito

## **INDICE**

- 1. Resumen**
- 2. Introducción**
- 3. Objetivos**
- 4. Metodología**
- 5. Resultados y discusiones**
  - a. Propiedades físicas y químicas**
  - b. Metabolismo silibinina**
  - c. Farmacología**
    - i. Actividad hepatoprotectora**
    - ii. Actividad anticancerígena**
    - iii. Síndrome metabólico y diabetes mellitus tipo II**
    - iv. Enfermedades neurodegenerativas**
    - v. Otras actividades**
  - d. Estrategias de formulación de productos farmacéuticos**
- 6. Conclusiones**
- 7. Bibliografía**

## 1. RESUMEN

---

Este documento recoge una revisión bibliográfica sobre la especie *Silybum marianum* (L.) Gaertn, planta medicinal popularmente conocida como cardo mariano. Sobre todo, se referencian en estas líneas los últimos avances llevados a cabo en cuanto a su actividad farmacológica. A través de ensayos in vitro e in vivo se confirman las actividades terapéuticas del mismo. Otro aspecto aquí recogido son las novedades en cuanto a la formulación de formas farmacéuticas para obtener la máxima biodisponibilidad del producto.

## 2. INTRODUCCIÓN

---

El cardo mariano (*Silybum marianum*) es una planta medicinal que pertenece a la familia *Asteraceae* y es conocido también como cardo lechoso.

Los frutos del cardo mariano se han utilizado desde la antigüedad como remedio para tratar distintas afecciones. Los antiguos griegos y romanos lo usaban como tratamiento para distintas patologías del hígado y durante la Edad Media se recomendaba para tratar las toxinas hepáticas.

En el siglo I d.C. el médico y naturalista romano, Plinio el Viejo, estudió sobre el uso del cardo y lo considero una planta excelente para condiciones relacionadas con el hígado. Por ejemplo, servía para eliminar la bilis, mezclando el zumo de la planta con miel. En el siglo IV, Teofastro describió el cardo con el nombre de "Pternix" y posteriormente Dioscórides, médico griego, lo incluyó en su tratado "Materia Medica".

En 1898, Culpepper escribió sobre el uso de esta hierba para aliviar obstrucciones del hígado. También fue una planta muy conocida en la medicina alemana y algunos científicos como Johannes Gottfried Rademacher la recomendaron en distintas dolencias hepáticas.

Pero, cuando realmente los investigadores extrajeron la silimarina, fue en 1968, sugiriendo que podría ser la sustancia activa de la planta. Gracias a sus propiedades beneficiosas, la silimarina -un extracto de cardo lechoso- fue clasificada oficialmente por la OMS en la década de 1970 como un suplemento con propiedades hepatoprotectoras.<sup>1</sup>

El extracto seco de esta planta está incluido actualmente en la farmacopea europea y otras farmacopeas nacionales.<sup>2</sup> Y es uno de los suplementos fitoterápicos más usados en el mundo. En 2012, ocupó el sexto lugar en las ventas totales de suplementos botánicos en EEUU.

### 3. OBJETIVOS

---

El objetivo de este trabajo es realizar una revisión bibliográfica de la planta medicinal *Silybum marianum*. Mas concretamente de los últimos estudios realizados sobre los aspectos relacionados con su farmacología, es decir, de sus propiedades farmacocinéticas, acciones farmacológicas y estrategias de formulación de los compuestos.

### 4. METODOLOGIA

---

Para este trabajo se ha llevado a cabo una revisión bibliográfica de distintas fuentes disponibles en el entorno de la biblioteca de la UCM relacionadas con el tema: webs oficiales, libros, bases de datos, artículos científicos de Pub Med comprendidos entre los años 2015 - 2019.

Partiendo de la monografía de *Silybum marianum* recogida en la EMA, se han intentado buscar estudios in vivo e in vitro que confirmen las actividades farmacológicas del cardo mariano citadas.

### 5. RESULTADOS Y DISCUSION

---

El cardo mariano es una especie que necesita un clima seco para su crecimiento, es nativa del área mediterránea, y, puede crecer al sur de Europa, al sur de Rusia, de Asia menor y al norte de África.<sup>1</sup>

El fruto de esta especie es un aquenio alargado - obovado denominado cipsela, de unos 6-8 mm de largo, 3 mm de ancho y 1,5 mm de espesor. La superficie exterior es lisa, brillante y cuenta con unas rayas longitudinales dando en su conjunto un color entre grisáceo y marrón.

El principio activo conocido como silimarina, se extrae de los frutos. Con etanol, metanol, acetona o etil acetato, se someten las semillas a un proceso de extracción y de eliminación del disolvente a baja temperatura, obteniendo así el extracto seco del cardo mariano. Este extracto seco fuertemente enriquecido en flavolignanós es lo que se conoce como silimarina de la cual se aíslan: silibinina e isosilibinina, silicristina, silidianina y taxifolina. La silibinina es la sustancia más activa del extracto y la que aparece en mayor concentración.

Otros componentes minoritarios del cardo son:

- Flavonoides
  - o Flavonas: apigenina, crisoeriol, eriodyctiol
  - o Flavanonoles: quercetina, kaempferol, dihidrokaempferol
- Ácidos grasos: ácido linoleico, ácido oleico, palmítico, linolénico, docoesanoico y otros
- Fitoesteroles:  $\beta$ -sitosterol
- Otros: alcohol dehidroconiferílico, 5,7-dihidroxicromona, aceite esencial (monoterpenos)<sup>2</sup>

## PROPIEDADES FISICAS Y QUIMICAS

La silibinina como hemos dicho es la molécula más activa que contiene la silimarina, es una estructura química que cuenta con ciclos de carbono y heterociclos alternados.<sup>3</sup> Es una mezcla de dos diastereoisómeros, silibinina A y silibinina B.

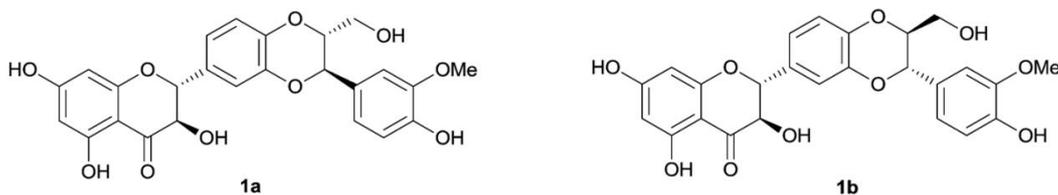


Fig 1. Silibinina A (1<sup>a</sup>) y silibinina B (1b). Tomado de D. Biedermann. 2014

Los cinco grupos hidroxilo de la molécula son las principales dianas de derivatización, es decir, los principales puntos por donde se dan las transformaciones químicas que convierten la silibinina en sustancias derivadas. Hay tres grupos hidroxilo fenólicos, un grupo hidroxilo formando un alcohol secundario y otro formando un alcohol primario. Estos grupos juegan un papel importante en la estructura de la molécula.

La silibinina es estable en condiciones acidas de Brønsted, pero se altera con facilidad en presencia de ácidos de Lewis, en condiciones básicas o a altas temperaturas. Resiste muy bien cualquier proceso de reducción, pero se oxida con facilidad a 2,3-dehidrosilibinina.<sup>3</sup> En soluciones acuosas neutras se comporta como una base débil.

La silibinina presenta carácter hidrofóbico y una baja solubilidad en agua, que aumenta rápidamente con el pH y moderadamente con la temperatura. (Fig 2) Presenta también baja solubilidad en disolventes polares y es insoluble en disolventes apolares.

Estas propiedades tienen una gran influencia en la biodisponibilidad de la molécula.

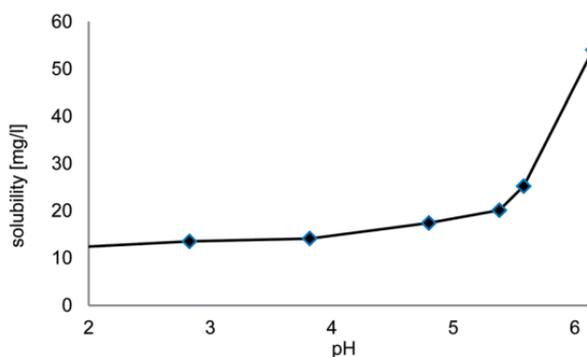


Fig 2. Solubilidad de la silibinina a 25°C para varios valores de pH.<sup>3</sup>

Tomado de Biedermann, D. et al 2014

## METABOLISMO SILIBININA

La silibinina tras su administración oral es absorbida rápidamente a nivel del estómago y queda sometida a la circulación enterohepática. La eficacia de la absorción se ha demostrado que es muy baja, esto se debe a su baja solubilidad y también a la presencia de los transportadores de eflujo del lado apical del epitelio intestinal que intervienen comprometiendo la absorción de la silibinina. También depende de la forma de administración de la silimarina (dosis, capsulas o comprimidos...)<sup>26</sup>

Una vez absorbida, un 3-8% se excreta de forma inalterada en la orina y sobre un 80% se excreta en la bilis como conjugados de glucurónicos y sulfatos. De la silibinina biliar, se recupera un 20-40% y el resto se excreta en las heces.<sup>1</sup> La concentración de silibinina tarda aproximadamente 6 horas en reducirse a la mitad de su concentración máxima.

Tras esto, la silibinina sufre la fase I y II de biotransformación en las células del hígado. En la fase I, a partir de silibinina por el citocromo CYP450 2C8 se forman distintos metabolitos, metilados (mayoritario) e hidroxilados (minoritarios). Todo esto demostrado gracias a las técnicas de resonancia magnética nuclear y cromatografía líquida-espectrometría de masas.<sup>1</sup>

En cuanto a la fase II de biotransformación aquí se forman, monoglucuronidos de silibinina, diglucuronidos de silibinina, monosulfatos de silibinina etc. Estas reacciones están mediadas por la UDP-glucuroniltransferasa y por las sulfotransferasas.<sup>26</sup> En cuanto a esto se realizó un ensayo en animales que demostró que la silibinina se puede glucuronizar en tres grupos OH: el del C5, C7 o C20, pero en humanos se estudió que solo en C20 y C7. Este proceso presenta una estereoselectividad importante para el metabolismo de la silibinina, de manera que, la silibinina B tiene mayor afinidad por la glucuronidación en C20 mientras que la A por C7 y C20 indistintamente.<sup>1</sup>

En el tracto intestinal, se liberan agliconas de silibinina a partir de los glucuronidos formados en la fase II. Estas agliconas pueden ser absorbidas de nuevo, promoviendo así la circulación enterohepática.<sup>1</sup>

En el metabolismo de cualquier sustancia tenemos que tener siempre en cuenta las posibles interacciones de ésta con cualquier otro componente. Dentro de las posibles sustancias beneficiosas para la silibinina en cuanto a interacciones tenemos la tangeretina, la piperina y la baicaleína.<sup>26</sup>

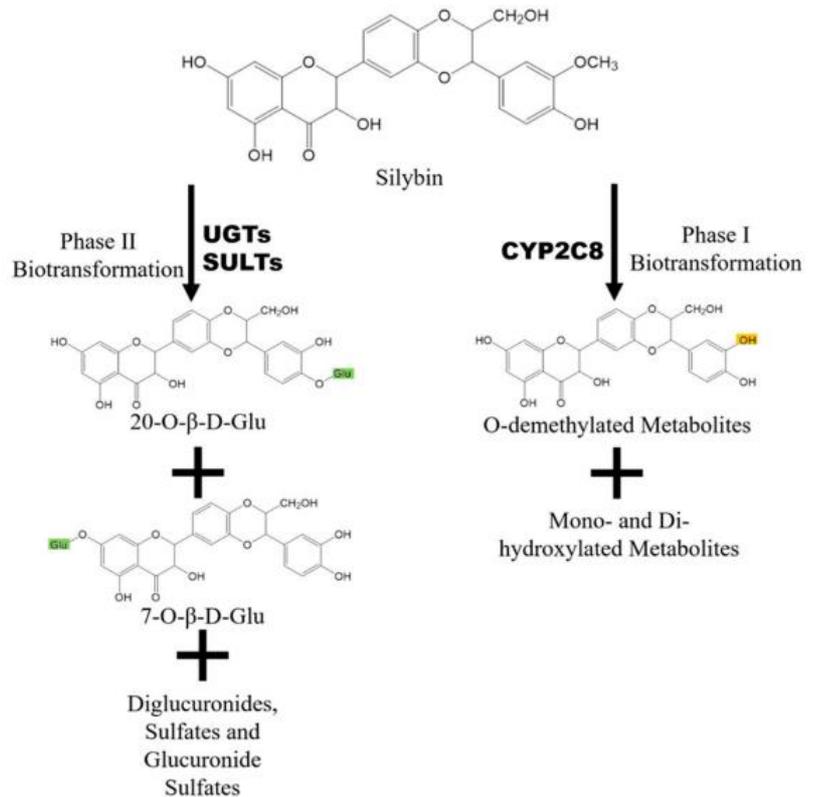


Fig 3. Metabolismo de la silibinina. Tomado de Xie Y et al. 2019

La tangeretina es un flavonoide que aumenta la absorción y biodisponibilidad de la silibinina también mejora los efectos hepatoprotectores, antiinflamatorios y antioxidantes de ésta.<sup>26</sup>

La piperina actúa inhibiendo la actividad de los transportadores de eflujo y de las enzimas metabólicas de manera que de manera que aumenta la concentración máxima de sustancia en plasma.<sup>26</sup>

La bacaleína es una flavona que también inhibe los transportadores de flujo, aumentando así la concentración de medicamento.<sup>26</sup>

## **FARMACOLOGIA**

Las propiedades beneficiosas del cardo mariano para la salud son numerosas. Durante estos años se han hecho muchos estudios experimentales que han demostrado que sus constituyentes tienen propiedades in vivo e in vitro.

Algunas de las actividades del cardo citadas por los autores Navarro y Montilla en 2012 son: la neuroprotección, la actividad antitumoral, la prevención de la pérdida ósea, la antiaterogénesis. A nivel del hígado es donde tiene su papel más importante gracias a la actividad antioxidante, la citoprotección que mejora de la estabilidad de la membrana celular, la mejora de la biosíntesis proteica, la actividad antifibrótica, las actividades antiinflamatorias e inmunomoduladoras, la actividad antiviral y la actividad anticolestática.<sup>2</sup>

Los mecanismos de las actividades terapéuticas de la silimarina son múltiples y variados. En cuanto a su papel en la inflamación inhibe la actividad del factor de transcripción NF-kB. Regula a la baja la transcripción de genes implicados en la fibrosis inhibe la conversión de células estrelladas en miofibroblastos. Tiene una función importante en la regulación de la apoptosis ya que modifica la relación Bax/Bcl-2, induce la liberación del citocromo c, la activación de la caspasa 3 y la caspasa 9 e inhibe la activación de la vía MAPK inducida por TNF-alfa. Como regulador endocrino, activa receptores de estrógenos y tiene actividad anti androgénica. Es capaz de combatir el estrés oxidativo gracias a que elimina radicales libres, mantiene la función mitocondrial y activa la síntesis de moléculas protectoras. En el metabolismo inhibe la HMG-CoA reductasa, aumenta la expresión de GLUT-4, actúa como un agonista de PPAR-gamma y disminuye la actividad del sustrato 1 del receptor de insulina, de PI3K y de Akt. Por último, también regula los transportadores de fármacos del organismo.<sup>16</sup>

### **4.1 Actividad hepatoprotectora**

El hígado es un órgano que tiene un papel muy importante en el mantenimiento de la homeostasis. Es responsable de múltiples funciones metabólicas y procesos fisiológicos como la producción de bilis, la generación de energía, el almacenamiento de vitaminas y el metabolismo de carbohidratos, proteínas y lípidos. Después de la absorción intestinal propia del metabolismo humano, la sangre es rica en nutrientes y

xenobióticos. Esta sangre es transportada al hígado por la vena porta de manera que a éste le llegan sustancias tóxicas como el etanol, toxinas, medicamentos etc. Por esto es muy común que muchas personas se vean afectadas por lesiones hepáticas del tipo: hígado graso, esteatohepatitis no alcohólica, hepatitis, cirrosis, cáncer hepatocelular.<sup>14</sup>

Esta eficacia hepatoprotectora del cardo mariano ha sido demostrada en numerosos estudios in vitro e in vivo. Uno de los últimos estudios llevados a cabo, es un ensayo clínico que se realizó en un hospital de Malasia. El objetivo del trabajo fue comprobar la eficacia del cardo mariano en la esteatosis hepática. Se hizo un estudio randomizado, doble ciego, placebo-control. Los adultos objeto de estudio fueron sometidos a una biopsia que confirmaba que tenían esteatohepatitis no alcohólica y un grado de fibrosis hepática de 4 o más. Los pacientes fueron divididos en dos grupos de manera aleatoria, uno de los grupos eran los tratados con la silimarina (700mg) y el otro los que recibían el placebo. Esto se repetía 3 veces al día durante 48 semanas. Después de las 48 semanas se volvió a hacer la biopsia. Con este estudio se llegó a una asociación positiva entre la silimarina y la mejoría de la fibrosis hepática.<sup>15</sup>

En la figura 4 se muestran las principales funciones farmacológicas de esta planta medicinal en las distintas afecciones hepáticas: antioxidante, antifibrótica, regenerativa, colerética, hepatoprotectora, inmunoestimuladora y antiinflamatoria.<sup>23</sup>

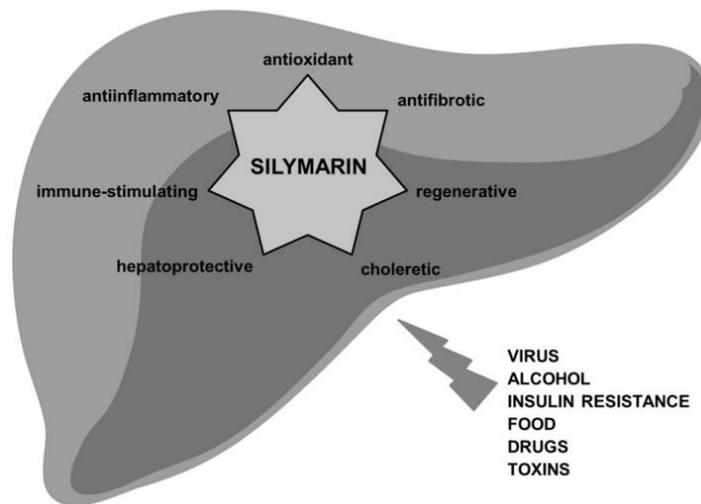


Fig 4. Distintas funciones farmacológicas de la silimarina en enfermedades hepáticas. Tomada de Abenavoli, L. et al 2018.

#### **4.2 Actividad anticancerígena**

Cuando en alguna zona del cuerpo se produce un crecimiento descontrolado de las células esto tiene como consecuencia un mal funcionamiento del cuerpo, y es lo que se conoce como cáncer. Hay muchos tratamientos, técnicas y terapias para la curación o disminución de los síntomas de esta enfermedad, pero todavía queda mucha investigación en este campo.

En lo que respecta al cardo mariano, las evidencias de la capacidad antiproliferativa y apoptótica de la silimarina van creciendo. Las investigaciones sobre esta planta medicinal que se han llevado a cabo, tanto in vitro como in vivo, destacan como principales efectos anticancerígenos: su actividad en el ciclo celular, la regulación de la angiogénesis, la inducción de la apoptosis, la inhibición del crecimiento, de la invasión y de la metástasis y la actividad antiinflamatoria.<sup>8</sup>

Los estudios que se han hecho se han llevado a cabo con distintas dosis de silimarina y en distintos tipos de cáncer como cáncer de hígado, de próstata, colorrectal.

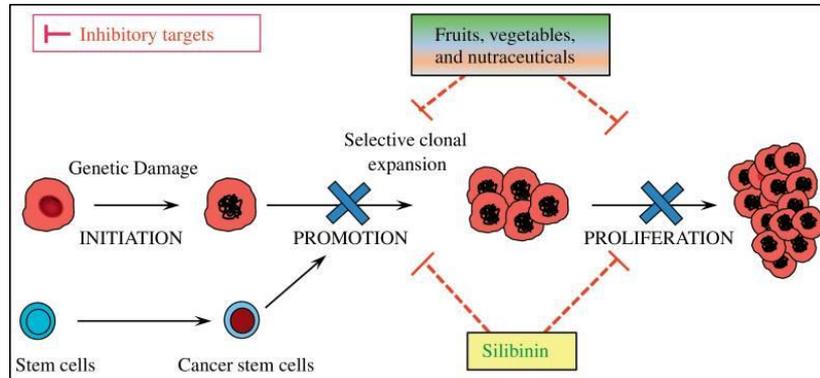


Fig 5. Quimiopreención silibinina. Tomada de Raina, K. et al 2016.

Uno de los tipos de cáncer de mayor mortalidad en hombres es el cáncer de próstata. En este tipo de cáncer, la presencia de hipoxia hace que éste se manifieste como un fenotipo agresivo e influye de manera importante en el crecimiento y progresión metastásica. Este estado de hipoxia tumoral se asocia con un mal pronóstico y es una de las principales razones de fracaso del tratamiento.<sup>20</sup>

En 2107 un estudio realizado in vitro con líneas celulares humanas demostró que la silibinina es capaz de inhibir la angiogénesis, lipogénesis y la expresión de HIF-1 alfa en células tumorales e inhibe los efectos biológicos inducidos por la hipoxia.<sup>20</sup>

Otro de los últimos estudios realizados fue in vitro con líneas celulares humanas de cáncer colorrectal. Se hizo con la finalidad de demostrar la capacidad de la silimarina para inhibir el crecimiento celular en este tipo de cáncer.<sup>21</sup>

Este estudio señaló que la silimarina podría intervenir en frenar la progresión del cáncer colorectal a través de regular los niveles del factor de transcripción c-Myc. Este factor de transcripción es conocido por regular la expresión de varios genes involucrados en la proliferación celular y apoptosis, todo relacionado con la progresión del cáncer y metástasis.<sup>21</sup>

En las células cancerígenas este factor se encuentra sobreexpresado, de manera que en esta investigación se vio gracias a métodos moleculares como en las células HCT116, SW480, LoVo y HT-29 se producía una disminución de los niveles del mismo tras ser tratadas con silimarina.<sup>21</sup>

En 2018, varios expertos del grupo de Metástasis Cerebral del Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO), publicaron un estudio que mostró como la administración de silibinina en pacientes con metástasis cerebral reduce las lesiones asociadas a la misma, sin causar efectos indeseados y alargando la vida de dichos pacientes. Esta investigación recoge un ensayo clínico realizado en 18 pacientes con

cáncer de pulmón y metástasis cerebral. Se les administró el tratamiento estándar en combinación con extracto de silibinina.<sup>22</sup>

El 75% de los pacientes reaccionó positivamente a nivel de las metástasis cerebrales, tres de ellos (20%) mostraron una respuesta total y 10 (55%) una respuesta parcial.<sup>22</sup>

El mecanismo que confirma esta actividad es la supresión del gen STAT 3, muy relacionado con procesos cancerígenos y que está activo en los astrocitos cerebrales cuando hay metástasis. Cuando la silibinina interfiere eliminando el gen, la viabilidad de la metástasis cerebral se ve comprometida.<sup>22</sup>

Yang et al. en 2019 publicaron un artículo que recoge una investigación que afirma que la silibinina restaura la sensibilidad del cisplatino y del taxol en células cancerígenas de ovario y reduce la hepatotoxicidad inducida por los medicamentos.<sup>25</sup>

Siendo el cáncer de ovario el cáncer más letal de todas las patologías ginecológicas, se llevó a cabo un estudio con este tipo de células cancerígenas ya que tienden a presentar cierta resistencia a los medicamentos y esto facilita la aparición de metástasis en la mayoría de los casos.<sup>25</sup>

El tratamiento de primera elección en este tipo de cáncer es el cisplatino con el taxol. Tras un cierto periodo de tiempo, con la aparición de las resistencias, la eficacia de esta combinación es limitada.<sup>25</sup>

El estudio experimental que se llevó a cabo con la línea celular A2780, demostró que la administración de la silibinina junto al tratamiento de primera elección tenía resultados beneficiosos. Con el ensayo MTT se pudo observar cómo, en las células que llevaban silibinina en su tratamiento, se restablecía la sensibilidad al taxol y al cisplatino. También después de la administración de silibinina se observó en estas células una disminución de la adhesión celular, factor muy unido a la presencia de metástasis.<sup>25</sup>

Otros estudios en este campo están relacionados con el cáncer de piel, cáncer de pulmón y cáncer de hígado.

### **4.3 Síndrome metabólico y diabetes mellitus tipo II**

El síndrome metabólico es un conjunto de factores de riesgo que se asocian con la posibilidad de padecer enfermedad cardiovascular y diabetes mellitus tipo II. Entre estos factores de riesgo tenemos: obesidad, dislipemia, hipertensión arterial y resistencia a la insulina. Según la definición del Natural Cholesterol Education Program, las personas que tengan al menos tres factores de riesgo, tienen síndrome metabólico.

En este campo se han realizado numerosos estudios in vivo, in vitro y ensayos clínicos. En muchos de los estudios que se han llevado a cabo sobre la actividad del cardo mariano en estas patologías, se ha visto que la efectividad es mayor cuando se combinan distintas especies vegetales.

La alteración de los lípidos como posible factor de riesgo dentro del síndrome metabólico fue estudiada a través de una serie de ensayos clínicos en el 2017 que

confirmaron que la silibinina tenía efectos beneficiosos en esta patología. Famouri y cols. hicieron un estudio randomizado, doble ciego, placebo – control, en niños de 5 a 16 años. Se les administro por vía oral 5mg/kg de silimarina al día durante 84 semanas y se observó que disminuyeron los niveles de triglicéridos. También un estudio realizado por Giuseppe y cols., doble ciego, randomizado, placebo control en el que se administró *Silybum marianum*, *Berberis Aristata* y monacolina (inhibidor reversible de la HMNG-CoA reductasa) durante tres meses a pacientes de bajo riesgo cardiovascular, demostró que la silimarina puede reducir el colesterol total, los triglicéridos, el colesterol LDL y los marcadores inflamatorios como TNF- alfa, la IL-6.<sup>10</sup>

En 2019 Rubin Sun et col, publicaron un artículo que recoge los resultados obtenidos de un estudio experimental que confirma que la silibinina mejora la acumulación hepática de lípidos y modula el metabolismo global en un modelo animal con la enfermedad del hígado graso no alcohólica (NAFLD).<sup>27</sup>

El objeto de estudio fueron los ratones C57BL/6J que fueron alimentados con una dieta alta en grasas y colesterol durante 8 semanas y tratadas con silibinina (50 o 100 mg/kg/día). Tras la recogida de muestras y el análisis de las mismas se confirmó que este tratamiento contribuía a disminuir los niveles de lípidos hepáticos.<sup>27</sup>

Los efectos positivos de la silimarina en la hipertensión como componente importante del síndrome metabólico también fueron evaluados a través de un ensayo clínico simple ciego. Fue un ensayo placebo – control compuesto por 80 hombres y mujeres, con hipertensión esencial. Fueron divididos en dos grupos. A un grupo se le administro atenolol, furosemida y 420 mg de silimarina y el otro fue tratado con los mismos antihipertensivos, pero en combinación con el placebo, todo esto durante dos meses. Antes de la intervención y después de la misma se tomaron medidas de los siguientes parámetros: perfil lipídico, tensión arterial y microalbuminuria. Con los resultados se pudo confirmar que la silimarina llevaba a cabo una regulación positiva de los parámetros en comparación con el placebo gracias a su papel en la regulación del tono vascular.<sup>11</sup>

En cuanto al efecto de la silimarina en la obesidad, se ha visto que a pesar de que hay estudios in vivo e in vitro que confirman que tiene un papel importante en el tratamiento y prevención de este factor de riesgo, los resultados de los ensayos clínicos no apoyan esta afirmación, ya que los que se han llevado a cabo son pocos y así como unos confirman la acción otros la contradicen, por lo que se necesitaría un mayor número de estudios que aseguren la acción.<sup>10</sup>

Por último, la resistencia a la acción de la insulina es característica de la diabetes mellitus tipo II. El efecto de la silimarina en esta patología fue estudiado en un ensayo clínico randomizado cuyo objetivo fue ver el efecto de la silimarina en los índices glucémicos y en el perfil lipídico de pacientes con diabetes mellitus tipo II. El estudio es de fase II – III, paralelo, placebo – control y triple ciego. Se seleccionaron a 40 pacientes entre 25 y 50 años y se les asigno de manera aleatoria al grupo de la silimarina o al del placebo. Unos recibieron 140 mg de silimarina tres veces al día y los otros la misma cantidad de placebo de la misma manera, ambos durante 45 días. Se

cogieron al principio y al final de estudio medidas antropométricas, datos sobre la dieta, muestras de sangre, medidas de los índices glucémicos y del perfil lipídico. Con todo esto, se llegó a la conclusión de que la silimarina ayuda a reducir los niveles de azúcar en sangre, los triglicéridos séricos, también el colesterol total y, las concentraciones de las lipoproteínas de baja densidad. Aparte en el grupo de la silimarina se vio un aumento de los niveles de las lipoproteínas de alta densidad y de la sensibilidad a insulina.<sup>12</sup>

#### **4.4 Enfermedades neurodegenerativas:**

La actividad neuroprotectora de los componentes de la silimarina, en especial de la silibinina, ha sido estudiada en diferentes desordenes neurológicos gracias a estudios in vitro e in vivo. Como esta investigación es todavía muy reciente no hay todavía ensayos clínicos con humanos.

En 2009, un estudio llevado a cabo por Galhardi y cols. demostró que la silimarina, puede prevenir procesos relacionados con la edad y patologías degenerativas del cerebro gracias al efecto antioxidante ejercido. Las ratas objeto de este estudio mostraron una reducción de la peroxidación lipídica y de las proteínas oxidadas en el cerebro envejecido tras la administración oral de 200 y 400 mg/kg/día de silimarina.<sup>2</sup>

La disfunción mitocondrial y la generación de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (ROS/NOS) están involucradas en el desarrollo de las enfermedades neurodegenerativas asociadas a la edad. Para analizar el efecto de la silibina a este nivel, Carsten Esselum et col hicieron un estudio experimental.<sup>28</sup>

Se llevó a cabo una investigación con las líneas celulares HepG2 (línea celular de cáncer de hígado humano) y PC12 (línea celular derivada de un feocromocitoma de la médula suprarrenal de rata), las cuales fueron tratadas con distintos productos químicos y fueron expuestas a silibinina en distintas concentraciones. Tras esto, se midió el potencial de membrana mitocondrial, las concentraciones de ATP, se hizo una respirometría de alta resolución, se midió la actividad de la citrato sintasa, se midieron también las concentraciones de piruvato y lactato y el contenido en proteínas.<sup>28</sup>

Con los resultados de todas estas pruebas se observó que la silibinina atenúa el estrés nitrosativo en ambas líneas celulares. Además, bajas concentraciones de silibina mejoran los niveles basales del potencial de membrana mitocondrial y los niveles de ATP en las células Hep G2 y menos en las PC12. La silibinina aumentó la respiración mitocondrial en las células HepG2. Basándonos en estos hallazgos, el estudio concluye que la silibinina podría ser beneficiosa contra los trastornos neurológicos, aunque no proporcione una mejora general de la función mitocondrial.<sup>28</sup>

El Alzheimer y el Parkinson son dos ejemplos de estas enfermedades de las que se han hecho estudios con la silibinina. La primera es una patología marcada por el deterioro cognitivo y conductual que se caracteriza por la formación de depósitos extracelulares del péptido beta-amiloide y por la formación de agregados de la proteína TAU hiperfosforilada. La segunda es una degeneración de distintas vías y estructuras del sistema nervioso central que se manifiesta con trastornos en el

movimiento. Esta degeneración se produce por la formación de agregados de alfa-sinucleína y por la pérdida progresiva de neuronas dopaminérgicas.

Yin y cols. en 2010 vieron que la silibinina protegía del estrés oxidativo inducido por los péptidos  $\beta$ -amiloides a las células SH-SY5Y del neuroblastoma humano. Con un pretratamiento de 2.5, 5, 10, 20, 50  $\mu\text{mol}$  de silibinina y 100  $\mu\text{mol}$  de péptido  $\beta$ -amiloide durante 24 horas se observó una disminución en la agregación de péptido  $\beta$ -amiloide, así como una disminución en su citotoxicidad. Esto se vio gracias a las imágenes del microscopio electrónico de transmisión y a un ensayo con tioflavina T.<sup>5</sup> La ThT es una pequeña molécula que al unirse a las fibras amiloides produce una fuerte fluorescencia, por eso al verse reducida la agregación de fibrillas tóxicas en el cerebro se ve reducido este efecto de fluorescencia.<sup>4</sup> En las células tratadas también disminuyó el nivel de  $\text{H}_2\text{O}_2$  producido por los péptidos.<sup>6</sup>

El autoensamblaje del péptido beta-amiloide es un evento crucial en la patogénesis del Alzheimer y en 2018 se llevó a cabo un estudio con algunos componentes de la silimarina (silibinina A, silibinina B, dehidrosilibinina A, dehidrosilibinina B) sobre su capacidad de inhibir dicha agregación. Se combinaron técnicas biofísicas (ensayos con tioflavina T, imágenes de microscopio electrónico de transmisión TEM, y de microscopio de fuerza atómica AFM), bioquímicas (Western Blot e ionización por electrospray - espectrometría de masas ESI-MS), informáticas (dinámica molecular) y se hizo un estudio in vivo de una cepa transgénica de *Caenorhabditis elegans* que expresaba péptido beta-amiloide humano. Todas estas pruebas concluyeron que la silibinina B era el componente con mayor capacidad para reducir la toxicidad de las formaciones de péptido beta-amiloide, ya que se vio una clara relación entre la estereoquímica de las moléculas antiagregantes y sus mecanismos de acción. Esto señala a la silibinina B como un compuesto prometedor para el desarrollo de las terapias de la enfermedad de Alzheimer.<sup>7</sup>

Para la enfermedad del Parkinson se han realizado también otros estudios tanto in vitro como in vivo. En 2014, se publicó un estudio realizado con la molécula 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP) producida en ratas, ya que es una sustancia que induce una serie de cambios similares a los de la enfermedad de Parkinson en humanos. La MPTP, una vez administrada llega rápidamente al cerebro donde es metabolizada a 1-metil-4-fenilpiridina (MPP+) por la enzima monoamino oxidasa B de las células gliales. En forma de MPP+, llega a las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra a través del transportador de dopamina donde va a provocar la apoptosis de las neuronas dopaminérgicas y la disminución de la dopamina en la sustancia negra.<sup>9</sup>

En el estudio se administró durante 5 días consecutivos la MPTP a los animales objeto de estudio y tampón fosfato salino al control. Media hora después de esto se les administraba de forma intraperitoneal la silimarina. Midiendo los niveles de dopamina con el HPLC, el número de neuronas positivas para la tirosina hidroxilasa con técnicas inmunohistoquímicas y el número de células apoptóticas a través de un tipo de ensayo in situ, se llegó a la conclusión de que la silimarina mantiene los niveles de dopamina en la sustancia negra gracias a que disminuye la apoptosis de las células dopaminérgicas.<sup>9</sup>

Otras dianas farmacológicas de la silibinina en la enfermedad del Parkinson son como se ve en la figura 4, la inhibición de la inflamación, la inhibición de la expresión del CYP 2e1 para evitar la formación de radicales libres, la inhibición de vía apoptótica mitocondrial, la prevención del estrés oxidativo y la modulación de los receptores de estrógenos.<sup>24</sup>

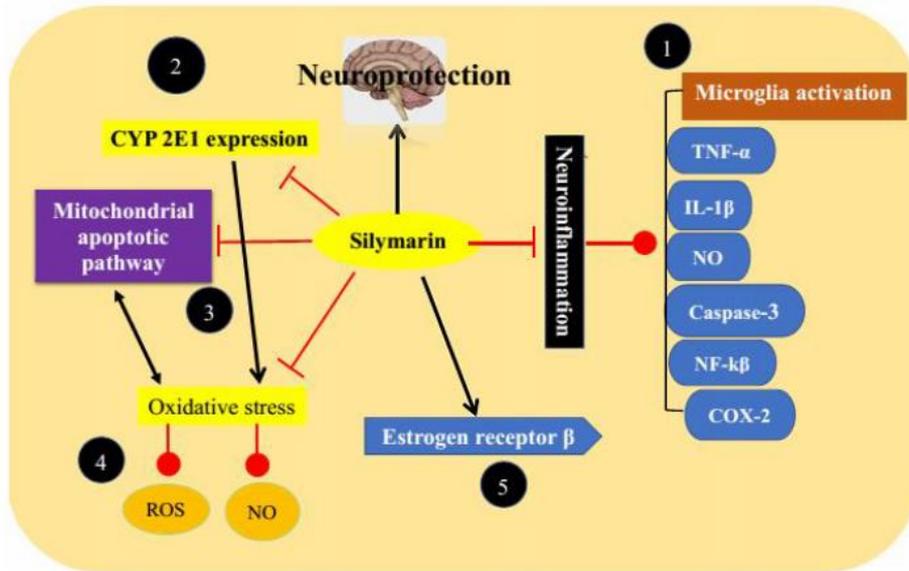


Fig 6. Dianas farmacológicas de la silibinina en la enfermedad del Parkinson. Tomada de Ullah, H. et al 2018

#### 4.5 Otras actividades

La artritis reumatoide es una enfermedad compleja, crónica, sistémica y autoinmune, que conlleva una deformación de las articulaciones y una consiguiente pérdida de habilidad. Se llevo a cabo un estudio con pacientes que padecían AR para ver el efecto de la silimarina en esta patología. Se les administro comprimidos de cardo mariano y se midieron sus marcadores inflamatorios antes y después del tratamiento. Los resultados del estudio demostraron que la silimarina (Livergol) usada como adyuvante en el tratamiento de la AR, en una dosis de 420 mg, reduce los síntomas de esta enfermedad como hinchazón, sensibilidad, dolor etc.<sup>17</sup>

La beta-talasemia mayor es un tipo de anemia que se caracteriza por la alteración de la síntesis de la hemoglobina debido a un déficit de las cadenas beta de globina. Esta enfermedad se trata con transfusiones de sangre crónicas, pero éstas pueden conducir a la generación de toxicidad por acumularse una cantidad elevada de hierro. Esta complicación del tratamiento de la beta-talasemia puede reducirse con alguna sustancia que tenga capacidad para quelar el hierro como por ejemplo la silimarina, flavolignano aislado de *Silybum marianum*. Para confirmar esta actividad quelante de hierro por parte de la silimarina se llevó a cabo un ensayo clínico en el que unos pacientes fueron tratados con desferrioxamina - silimarina y otros con desferrioxamina - placebo durante nueve meses. Antes y después del tratamiento se analizaron los niveles séricos de ferritina, los niveles de hierro, la capacidad total de

unión al hierro, los niveles del receptor de tranferrina y los niveles de hepcidina. Con estas pruebas se llegó a la conclusión de que la silimarina es efectiva en la reducción de la sobrecarga de hierro.<sup>18</sup>

Otra actividad atribuida a la silimarina es la protección de la toxicidad cardiaca. Tiene un papel importante en el acondicionamiento cardíaco y por lo tanto protege este tejido de una posible isquemia. En concreto la silimarina reduce el desarrollo de fosfolípidos lisosómicos.

Por último, destacar también la actividad de la silimarina para mantener una función renal normal. Protege los tejidos renales del daño oxidativo gracias a que aumenta la expresión de genes de enzimas antioxidantes.

Tiene también una acción positiva en el cáncer renal ya que la silimarina en pacientes con diálisis peritoneal inhibió el efecto de citoquinas proinflamatorias como el TNF-alfa, relacionadas con procesos oncogénicos.

## **ESTRATEGIAS DE FORMULACION DE PRODUCTOS FARMACEUTICOS**

La silimarina se encuentra en una concentración entre el 20-40 % en aquellos productos farmacológicos utilizados con acción hepatoprotectora, antioxidante, anticancerígena, antiinflamatoria etc.<sup>1</sup>

La silimarina tiene una baja solubilidad en agua y su absorción a nivel del intestino es baja, estos son algunos factores que hacen que su biodisponibilidad se encuentre comprometida. Estas características clasifican a la silimarina como un compuesto de clase IV de acuerdo con el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (BCS). La investigación sobre nuevas formulaciones basadas en silimarina que mejoren su biodisponibilidad, su estabilidad, su solubilidad y su eficiencia farmacológica sigue creciendo.

Algunas técnicas de formulación diseñadas para mejorar la biodisponibilidad son:

- ~ Nanocristales, nanosuspensiones y dispersiones sólidas.
- ~ Complejos con ciclodextrinas y fosfolípidos (fitosomas).
- ~ Formulaciones lipídicas: Micro y nanoemulsiones, liposomas, nanopartículas lipídicas sólidas (SLNs).
- ~ Nanoestructuras basadas en polímeros.
- ~ Nanoestructuras con componentes inorgánicos.
- ~ El sistema de administración de medicamentos automicroemulsionables (SEDDS)

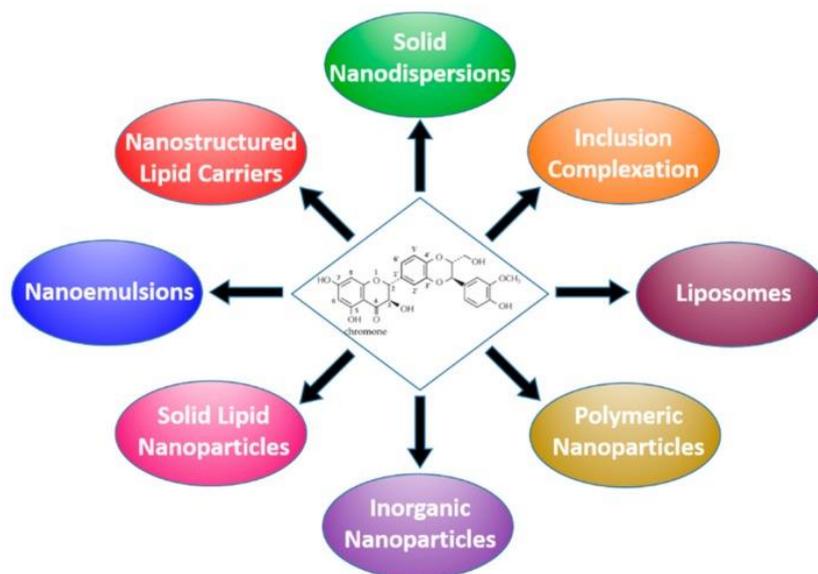


Fig 7. Estrategias de formulación. Tomado de Di Constanzo, A. et al 2019

Debido a su comprometida biodisponibilidad, se siguen haciendo estudios comparando la eficacia de distintas fórmulas farmacéuticas.

Wen-Yi Li et al. publicaron un estudio de biodisponibilidad en 2017 que comparaba la biodisponibilidad de la silimarina entre dos suplementos dietéticos que contenían extracto de cardo lechoso. Una formulación consistió en las capsulas en polvo originales denominadas producto B y la otra formulación fueron capsulas de gelatina blanda denominadas IsaGenesis. Con el objetivo de poder comparar la absorción y biodisponibilidad de los productos, se midieron los niveles de silibinina A y silibinina B como marcadores farmacocinéticos.<sup>19</sup>

Participaron en este estudio farmacocinético cruzado y aleatorio, 12 sujetos sanos que consumieron cada uno una dosis de cada suplemento, separadas las tomas por un periodo de lavado de 7 días. Y se hicieron análisis de sangre sucesivos que se analizaron por espectrometría de masas.<sup>19</sup>

La conclusión de este estudio como fue que la formulación IsaGenesis presentaba una mejor absorción y biodisponibilidad de la silibinina A y de la silibinina B que la formulación Producto B ya que la primera consigue una concentración máxima de las sustancias entre 4 y 5 veces mayor que la segunda formulación. También presenta un área bajo la curva mayor.<sup>19</sup>

En enero de 2019 ha sido publicado un estudio realizado para comparar las propiedades farmacocinéticas y la biodisponibilidad de unas capsulas de gelatina blanda oleosa con el complejo silibinina-fosfatidilcolina y los comprimidos convencionales de silimarina. Este estudio se llevó a cabo en 23 voluntarios sanos mexicanos. El estudio fue prospectivo, ciego, de dosis única y cruzado de dos vías con un periodo de lavado de una semana.<sup>13</sup>

A los participantes de este estudio se les administró 45 mg del complejo silibinina-fosfatidilcolina (NeoCholal-S®) y 70 mg de silimarina (Legalon®). Para analizar los resultados se utilizaron como unas técnicas, la cromatografía líquida y la espectrometría de masas.<sup>13</sup>

Los datos recogidos muestran que la biodisponibilidad de las capsulas del complejo ( $C_{max} 207,1 \pm 62,4$ ) es significativamente mayor que la de los comprimidos convencionales ( $C_{max} 12,6 \pm 31,4$ ).<sup>13</sup>

Otras estrategias de formulación están siendo investigadas, como por ejemplo formulaciones con piperina o baicaleína, nanopartículas de oro, nanopartículas niosomales pegiladas etc. Es muy importante la investigación en este campo ya que la silimarina tiene una disponibilidad muy baja, pero a su vez los nano transportadores presentan diversas limitaciones y problemas de toxicidad.

## 6. CONCLUSIONES

---

Tras esta revisión sobre el cardo mariano se puede afirmar que la silibinina como principio activo mayoritario de la silimarina ha sido durante los últimos años objeto de numerosos estudios experimentales farmacológicos. Como se recoge en estas líneas, estos flavolignanós tienen importantes actividades como la antiinflamatoria, antitumoral, antioxidante etc.

La mayoría de los estudios que se han publicado hasta ahora son *in vitro* o *in vivo* con modelos animales. Además, se han realizado también ensayos clínicos, que son el tipo de estudio definitivo para confirmar la eficacia de esta planta medicinal en distintas patologías.

Aunque su actividad hepatoprotectora es la más conocida desde la Antigüedad, en este documento se abordan numerosas investigaciones que han ayudado a establecer otros mecanismos de acción en distintas patologías

En cuanto a su actividad a nivel del hígado, el ensayo clínico mencionado destaca por la asociación que se hace de la silibinina con los resultados positivos obtenidos en la mejora de la fibrosis hepática, es decir, que la importancia recae sobre la actividad atribuida a la silibinina.

Por otro lado, la actividad cancerígena, muestra sus resultados más consistentes en los ensayos *in vitro* con distintas líneas celulares. Los ensayos clínicos publicados hasta ahora, son estudios cortos y de un bajo número de pacientes por lo que no se puede decir todavía que sean muy relevantes.

El síndrome metabólico y la diabetes mellitus tipo II son otras dos enfermedades en las que la silibinina puede llegar a tener una actividad importante ya que así nos lo muestran los ensayos clínicos aquí recogidos. Estos ensayos clínicos se apoyan en una muestra de estudio representativa y un tiempo considerable dedicado al estudio, ambos son factores de peso a la hora de evaluarlo.

Junto a esto, las enfermedades neurodegenerativas son una patología cada vez más frecuente. Los estudios publicados hasta ahora son todos *in vitro* y cuentan con unos resultados prometedores en el campo de la investigación de cara a la realización de ensayos clínicos.

Por último, en cuanto a las estrategias de formulación queda mucho estudio por delante, ya que la silimarina tiene una biodisponibilidad muy baja y es muy difícil encontrar vehículos adecuados que aprovechen al máximo la concentración de principio activo sin que haya ninguna pérdida, No obstante, los productos en los que se han visto mejores resultados son las capsulas de gelatina blanda como se recoge en los dos estudios aquí mencionados.

## 7. BIBLIOGRAFIA

---

- (1) Bijak M. Silybin, a Major Bioactive Component of Milk Thistle (*Silybum marianum* L. Gaernt.) – Chemistry, Bioavailability, and Metabolism. *Molecules*. 2017; 22(11): 1942.
- (2) Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC). Assessment report on *Silybum marianum* (L.) Gaertn., fructus. EMA. 2015. 294188.
- (3) Biedermann D, Vavříková E, Křen V. Chemistry of Silybin. *Nat Prod Rep*. 2014; 31 (9), 1138-57.
- (4) Xue C, Yuwen Lin T, Chang D, and Guo Z. Thioflavin T as an amyloid dye: fibril quantification, optimal concentration and effect on aggregation. *R Soc Open Sci*. 2017; 4(1): 160696.
- (5) Kim MH, Kim SH, Yang WM. Mechanisms of action of phytochemicals from medicinal herbs in the treatment of Alzheimer's disease. *Planta Med*. 2014; 80(15): 1249-58.
- (6) Yin, F., Liu, J., Ji, X., Wang, Y., Zidichouski, J. et al. Silibinin: a novel inhibitor of A $\beta$  aggregation. *Neurochem Int*. 2011; 58: 99-403.
- (7) Sciacca MFM, Romanucci V, Zarrelli A, Monaco I, Lolicato F et al. Inhibition of A $\beta$  Amyloid Growth and Toxicity by Silybins: The Crucial Role of Stereochemistry. *ACS Chem Neurosci*. 2017; 16; 8(8):1767-1778.
- (8) Hosseinabadi T, Lorigooini Z, Tabarzad M, Salehi B, Rodrigues CF et al. Silymarin Antiproliferative and Apoptotic Effects: Insights Into Its Clinical Impact in Various Types of Cancer. *Phytother Res* 2019; 33 (11), 2849-2861.
- (9) Pérez-H J, Carrillo-S C, García E, Ruiz-Mar G, Pérez-Tamayo R et al. Neuroprotective effect of silymarin in a MPTP mouse model of Parkinson's disease. *Toxicology*. 2014; 7; 319: 38-43.
- (10) Tajmohammadi A, Razavi BM, Hosseinzadeh H. *Silybum marianum* (milk thistle) and its main constituent, silymarin, as a potential therapeutic plant in metabolic syndrome: A review. *Phytother Res*. 2018; 32(10):1933-1949.
- (11) Vahabzadeh M, Amiri N, Karimi G. Effects of Silymarin on Metabolic Syndrome: A Review. *J Sci Food Agric*. 2018; 98 (13), 4816-4823.
- (12) Ebrahimipour - Koujan S, Pourghassem Gargari B, Asghari-Jafarabadi M et al. Lower Glycemic Indices and Lipid Profile Among Type 2 Diabetes Mellitus Patients Who Received Novel Dose of *Silybum marianum* (L.) Gaertn.

- (Silymarin) Extract Supplement: A Triple-blinded Randomized Controlled Clinical Trial. *Phytomedicine* 2018; 44; 39-44.
- (13) Méndez-Sánchez N, Dibildox-Martínez M, Sosa-Noguera J, Sánchez-Medal R, Flores-Murrieta JF. Superior silybin bioavailability of silybin-phosphatidylcholine complex in oily-medium soft-gel capsules versus conventional silymarin tablets in healthy volunteers. *BMC Pharmacol Toxicol.* 2019; 20: 5.
- (14) Vargas-Mendoza N, Madrigal-Santillán E, Morales-González A, Esquivel-Soto J, Esquivel-Chirino C et al. Hepatoprotective effect of silymarin. *World J Hepatol.* 2014; 6(3): 144-149.
- (15) Wah Kheong C, Raihan N, Mustapha N, Mahadeva S. A Randomized Trial of Silymarin for the Treatment of Nonalcoholic Steatohepatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* Dec 2107; 15 (12), 1940-1949.
- (16) Federico A, Dallio M, Loguercio C. Silymarin/Silybin and Chronic Liver Disease: A Marriage of Many Years. *Molecules* 2017; 22 (2).
- (17) Shavandi M, Moini A, Shakiba Y, Mashkorinia A, Dehghani M et al. Silymarin (Livergol®) Decreases Disease Activity Score in Patients With Rheumatoid Arthritis: A Non-randomized Single-arm Clinical Trial. *Iran J Allergy Asthma Immunol.* 2017; 16 (2), 99-106.
- (18) Moayedi B, Gharagozloo M, Esmaeil N, Maracy MR, Hoorfar H et al. A Randomized Double-Blind, Placebo-Controlled Study of Therapeutic Effects of Silymarin in  $\beta$ -Thalassemia Major Patients Receiving Desferrioxamine. *Eur J Haematol.* 2013; 90 (3), 202-9.
- (19) Li WY, Yu G, Hogan RM, Mohandas R, Frye RF et al. Relative bioavailability of silybin A and silybin B from two multi-constituent dietary supplement formulations containing milk thistle extract: A single dose study. *Clin Ther.* 2018; 40(1): 103-113.e1.
- (20) Deep G, Kumar R, Nambiar DK. Silibinin inhibits hypoxia-induced HIF-1 $\alpha$ -mediated signaling, angiogenesis and lipogenesis in prostate cancer cells: In vitro evidence and in vivo functional imaging and metabolomics. *Mol Carcinog.* 201; 56(3): 833-848.
- (21) Ji Eo H, Jeong JB, Koo JS, Jeong HJ. Silymarin-Mediated Degradation of c-Myc Contributes to the Inhibition of Cell Proliferation in Human Colorectal Cancer Cells. *Korean J. Plant Res.* 2017; 30(3):265-271.

- (22) Soffietti R, Bosch-Barrera J, Valiente M et al. STAT3 labels a subpopulation of reactive astrocytes required for brain metastasis. *Nature Medicine*. 2018; 24; 1024-103.
- (23) Abenavoli L, Izzo A, Milić N, Cicala C, Santini A et al. Milk Thistle (*Silybum marianum*): A Concise Overview on Its Chemistry, Pharmacological, and Nutraceutical Uses in Liver Diseases. *Phytother Res*. 2018; 32 (11), 2202-2213.
- (24) Ullah H, Khan H. Anti-Parkinson Potential of Silymarin: Mechanistic Insight and Therapeutic Standing. *Frontiers in Pharmacology* 2018; 9; 422.
- (25) Yang Z, Pan Q, Zhang D, Chen J, Qiu Y et al. Silibinin restores the sensitivity of cisplatin and taxol in A2780-resistant cell and reduces drug-induced hepatotoxicity. *Cancer Management and Research* 2019; 11.
- (26) Xie Y, Zhang D, Zhang J, Yuan J. Metabolism, Transport and Drug-Drug Interactions of Silymarin. *Molecules* 2019, 24, 3693.
- (27) Suna R, Xub D, Weia Q, Zhanga B, Aa J et al. Silybin ameliorates hepatic lipid accumulation and modulates global metabolism in an NAFLD mouse model. *Biomedicine & Pharmacotherapy* (2020); 109721.
- (28) Esselun C, Bruns B, Hagl S, Grewal R, Eckert GP. Differential Effects of Silibinin A on Mitochondrial Function in Neuronal PC12 and HepG2 Liver Cells. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2019; 1652609.