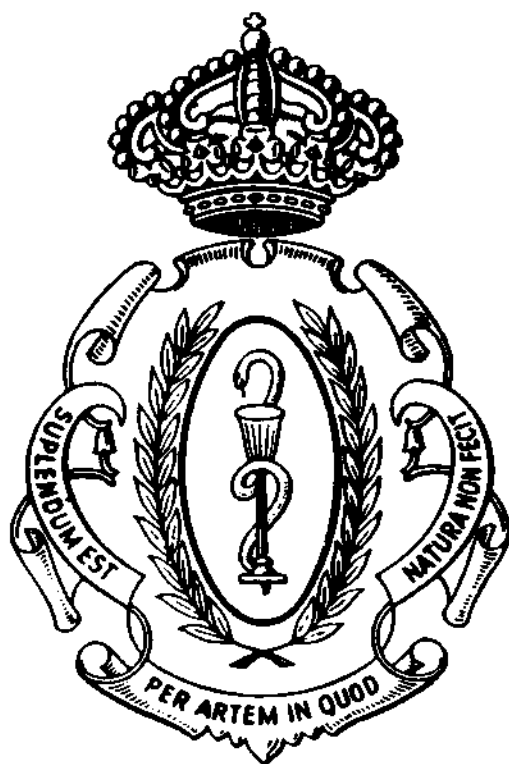


REAL ACADEMIA DE FARMACIA
DE BARCELONA



DISCURSO DE INGRESO

del

Iltre. Sr. Dr. D. JORGE CAMARASA GARCIA

Académico Correspondiente

5 de Abril de 1984

**FARMACOLOGIA DE LOS
COMPUESTOS FLAVONICOS**

DISCURSO DE INGRESO

por el

Il. Sr. Dr. D. JORGE CAMARASA GARCIA

Académico Correspondiente Electo

INTRODUCCION

I N D I C E
=====

Introducción	3
Farmacología de los Compuestos Flavónicos	6
- Introducción	6
- Aspectos Farmacocinéticos	9
- Acciones Farmacológicas Generales	16
- A nivel de los leucocitos polimorfonu- cleares	16
- A nivel de los basófilos	17
- A nivel antiinflamatorio	18
- A nivel de la musculatura lisa	18
- A nivel bioquímico	19
- Flavonoides y Aminoácidos	21
- Flavonoides y Enzimas	22
- Flavonoides e Iones	25
- Flavonoides y pared vascular	27
- Flavonoides y Carcinogénesis	29
- Flavonoides y Microorganismos	30
- Acciones Farmacológicas específicas	32
Bibliografía	47

EXCELENTISIMO SR. PRESIDENTE
EXCELENTISIMOS E ILUSTRISIMOS SRES.
MUY ILUSTRES SRES. ACADEMICOS.
SRAS. Y SRES.

Ser recibido como miembro correspondiente de esta Real Academia constituye sin duda para mí, uno de los momentos más emotivos de mi vida profesional.

Antes de entrar propiamente en la materia que pretendo desarrollar en este Discurso Reglamentario, debo manifestar mi más sincero agradecimiento a los Muy Ilustres Sres. Académicos que propusieron mi ingreso, así como a los Profesores que de una forma más o menos directa han contribuído a mi formación.

En el aspecto personal, no debo dejar de mencionar mi entorno familiar en el que siempre he encontrado un acendrado apoyo a mis aspiraciones.

Mi exposición pretende ser una modesta aportación al conocimiento de las acciones farmacológicas que las sustancias flavónicas o afines ejercen a nivel del organismo animal.

Una revisión en profundidad de cualquier tema cientí-

fico implica siempre una ordenada relación de conceptos ; máxime cuando, como ocurre con los flavonoides, las acciones son muy diversas y abarcan distintos niveles de la organización celular.

Por ello, después de una breve introducción sobre la naturaleza de estas sustancias, se procede al estudio de su metabolismo, en este caso de su farmacocinética y en base al mismo, se desarrollan sus acciones farmacológicas. Una primera parte, se dedica a exponer las que ejercen estos principios de origen vegetal en distintos modelos y circunstancias biológicas y una segunda se dedica a la acción hepatoprotectora o antihepatotóxica. Esta última de tan señalada actualidad pues toda agresión en el hepatocito se traducirá no sólo en una afección hepática sino también en un trastorno polifuncional al ser el hígado punto de confluencia del metabolismo general.

FARMACOLOGIA DE LOS COMPUESTOS FLAVONICOS

FARMACOLOGIA DE LOS COMPUESTOS FLAVONICOS

Introducción

Los flavonoides, son unos compuestos derivados de la cromona (benzo- γ -pirona), muy extendidos en el reino vegetal generalmente en forma de heterósidos.

Existe un gran número de flavonoides naturales que se diferencian entre sí por modificaciones de los núcleos aromáticos o del heterociclo, por funciones fenol más o menos abundantes y a veces metoxiladas, y por la naturaleza y posición de los azúcares en el caso de los heterósidos.

Son particularmente abundantes en todo el mundo vegetal, aunque su presencia es bastante escasa en los vegetales inferiores. Ciertas familias como las Polygonáceas, Rutáceas, Leguminosas y Comuestas son muy apropiadas para el estudio de estos compuestos.

Están presentes en casi todos los órganos del vegetal, pero son sobre todo los órganos jóvenes (hojas, botones florales, etc.), los que presentan una mayor abundancia de los mismos.

Normalmente se encuentran disueltos en el líquido vacuolar, aunque también pueden hallarse en el citoplasma de distintas células, o bien incluidos en la propia estructura membranosa. Un mismo órgano puede contener varios de estos compuestos flavónicos y a la vez un mismo compuesto puede encontrarse en especies sistemáticamente separadas, lo que les convertirá en un adecuado sujeto de investigación en el campo de la quimiotaxonomía, terreno éste en el que

el Departamento de Farmacognosia y Farmacodinamia está dedicando buena parte de su labor investigadora.

Los flavonoides, por tanto, presentan un esqueleto de $C_6-C_3-C_6$. Experiencias realizadas con sustancias marcadas, han establecido que los precursores del anillo B son los ácidos de la serie del fenil-propano (ácido fenil-enolpirúvico, ácido cinámico) o incluso un aminoácido como la fenilalanina. Por otra parte el anillo A procede de la condensación de moléculas de acetilCoA o malonilCoA. Los mecanismos de hidroxilación específica tienen lugar previamente a la constitución definitiva del esqueleto flavónico.

Si bien lo expuesto puede ser válido de forma general, no hay duda de que existen multitud de vías biosintéticas en los vegetales que dan lugar a estos productos del metabolismo secundario. Así las isoflavonas, presentan una biosíntesis bastante distinta de la del modelo antedicho. Chalconas y flavanonas pueden considerarse precursores inmediatos de las flavonas o de los flavonoles.

Han sido muchas las acciones que se han propuesto para estos compuestos dentro del vegetal. Desde moduladores de los fenómenos de óxido-reducción intracelular, interviniendo en el crecimiento vegetal, en los fenómenos relacionados con la fecundación y reproducción, o bien sería un mecanismo de defensa frente a los parásitos (en especial hongos), o frente a los rayos U.V.

ASPECTOS FARMACOCINETICOS

El estudio de la acción farmacológica de cualquier sustancia, incluye un conocimiento previo de su farmacocinética a fin de evaluar la posible existencia de metabolitos activos, de su absorción y acumulación etc..

Farmacocinética de Flavonoides

La administración al animal de experimentación, rata o cobaya de catequina marcada, indican la formación y presencia en la orina de compuestos fenólicos radiactivos de naturaleza ácido-fenol. Estudios con distintas estructuras catéquicas concluyen que estos metabolitos derivan del anillo B. La elevada presencia de $^{14}\text{CO}_2$ en todos los casos, indica una ruptura selectiva a nivel del anillo A, la cual tiene lugar en ausencia de metabolitos que contengan el anillo A intacto en la orina.

Alguno de los metabolitos fenólicos se excretan como conjugados. Tras su hidrólisis, persiste la radiactividad debida probablemente a intermediarios alifáticos que darán lugar posteriormente al CO_2 . (1).

Después de la administración al cobaya por sonda gástrica de una mezcla de catecoles marcados, más de los dos tercios de la radiactividad son excretados por el pulmón, riñón e intestino durante las 48 horas siguientes a la administración del producto. En la orina aparecen ácidos fenoles. Si se determina manométricamente la actividad polifenol-oxidasa en el riñón, se observa que este enzima oxida el pirocatecol, el ácido gálico, pero no la rutina, el ácido 4-metoxi-gálico o la quercetina. El enzima es idéntico a las fenolasas presentes en los vegetales.

Respecto a la quercetina, su metabolismo en la rata se ve afectado si existe un tratamiento paralelo con neomicina. Los ácidos fenóles (3,4-dihidroxifenilacético, homovanílico y n-hidroxifenilacético) que aparecen en la orina de las ratas normales a las que se ha administrado quercetina, no aparecen en las que han sido tratadas a la vez con el antibiótico. (2).

Se han hallado productos, algunos de ellos aún sin identificar, del tipo de ácidos m-hidroxifenólicos que serían el resultado de metabolitos bacterianos primarios de ciertos precursores de la dieta incluida la propia quercetina.

Certificándose esta primitiva hipótesis por los estudios de Scheline al asignar los ácidos hidroxifenilvaléricos urinarios procedentes de la catequina como productos del metabolismo de la microflora intestinal.

Los estudios de distribución de los compuestos flavónicos marcados y de sus metabolitos en órganos y tejidos animales son de utilidad no sólo para averiguar el propio metabolismo de dichos compuestos sino también para determinar los sitios en que éste se realiza, las rutas de excreción y la secuencia metabólica. (3).

Tras la administración oral de quercetina marcada a la rata, la radiactividad a las 12 horas, estaba asociada principalmente con el contenido gastrointestinal (44.2%), aunque se presentaban niveles significativos en pulmón (11.5%), CO₂ expirado (15%), riñón (0.3%), orina (3.9%) y sangre (0.2%).

Sorprendentemente no se detectó radiactividad en el hígado. Los metabolitos urinarios detectados incluían ácidos fenóles C_6-C_2 .

Por vía intraperitoneal, la administración de quercetina marcada, originó la presencia en orina de ácido homovanílico marcado, reduciéndose notablemente la fracción C_6-C_2 de los ácidos fenóles. No se detectó CO_2 marcado en el aire expirado. Esto indica no sólo que el metabolismo de quercetina está determinado por la ruta de administración, sino que interviene la microflora intestinal, que disminuye considerablemente por la administración intraperitoneal de quercetina. Es interesante citar, que la administración parenteral de rutina (quercetina-rhamnoglucósido), da lugar a una precipitación del flavonoide en el sitio de inyección y en los conductos biliares, y en consecuencia la excreción biliar efectiva es mínima. (4).

Al administrar por vía oral, rutina tritiada a la rata, solamente se detectan trazas de radiactividad en la bilis, mientras que el 66% de la radiactividad se excreta por orina. Los metabolitos urinarios marcados, provienen de la fisión del anillo.

Los niveles plasmáticos de la quercetina tras administración intravenosa única en el hombre, siguen una cinética biexponencial con una vida media de 2.4 horas. La desaparición de los niveles plasmáticos se atribuyen fundamentalmente al metabolismo del flavonoide.

Sorprendentemente no se detectó radiactividad en el hígado. Los metabolitos urinarios detectados incluían ácidos fenoles C_6-C_2 .

Por vía intraperitoneal, la administración de quercetina marcada, originó la presencia en orina de ácido homovanílico marcado, reduciéndose notablemente la fracción C_6-C_2 de los ácidos fenoles. No se detectó CO_2 marcado en el aire expirado. Esto indica no sólo que el metabolismo de quercetina está determinado por la ruta de administración, sino que interviene la microflora intestinal, que disminuye considerablemente por la administración intraperitoneal de quercetina. Es interesante citar, que la administración parenteral de rutina (quercetina-rhamnoglucósido), da lugar a una precipitación del flavonoide en el sitio de inyección y en los conductos biliares, y en consecuencia la excreción biliar efectiva es mínima. (4).

Al administrar por vía oral, rutina tritiada a la rata, solamente se detectan trazas de radiactividad en la bilis, mientras que el 66% de la radiactividad se excreta por orina. Los metabolitos urinarios marcados, provienen de la fisión del anillo.

Los niveles plasmáticos de la quercetina tras administración intravenosa única en el hombre, siguen una cinética biexponencial con una vida media de 2.4 horas. La desaparición de los niveles plasmáticos se atribuyen fundamentalmente al metabolismo del flavonoide.

Sin embargo, por vía oral, no se detectan concentraciones plasmáticas, concluyéndose así que la quercetina no modificada, no alcanza la circulación sistémica.

Aunque la excreción biliar, ha sido propuesta como una importante ruta de excreción de la mayoría de los flavonoides, no se posee una información extensa acerca de la cantidad de flavonoides conjugados que alcanzan el intestino.

La presencia de cantidades elevadas de β -glucuronidasa en el contenido intestinal y de microorganismos posibilitan la escisión del anillo de los aglicones libres, siendo la vía mayoritaria por la que los metabolitos biliares de la mayoría de los flavonoides naturales son degradados a compuestos de bajo peso molecular.

Por otra parte, sin embargo, la posibilidad de reabsorción de los metabolitos biliares con el establecimiento de un ciclo enterohepático, es digna de tener en cuenta.

Los resultados obtenidos mediante preparaciones de ratas intercanuladas en las que los metabolitos biliares, formados por dosificación y administración parenteral de monohidroxietil-rutósido y trihidroxietil-rutósido marcados al primer animal de cada par, son transferidos por canulación biliar al lumen intestinal del segundo animal, determinándose en este último los niveles de radiactividad en bilis y orina, muestran que tiene lugar una recaptación significativa de los metabolitos biliares desde el intestino del segundo animal.

Los constituyentes radiactivos de la bilis y la orina son conjugados glucurónicos de los hidroixi-etilrutósidos administrados. Esta evidencia, sin embargo, no revela si la desconjugación de los metabolitos biliares precede a la absorción, con posterior resíntesis, pero ello parece probable conociéndose la polaridad de los conjugados glucurónicos.

Ya que el ciclo enterohepático comprende el período durante el cual los compuestos farmacológicamente activos persisten en la circulación sistémica, estos hallazgos pueden tener importancia en cuanto al mantenimiento de niveles plasmáticos terapéuticos en el hombre. Pero la posibilidad de diferencias interespecíficas debe ser tomada en cuenta.

De lo anteriormente expuesto cabe concluir que no se conoce el mecanismo exacto de absorción gastrointestinal de los compuestos flavónicos, cabiendo la posibilidad de una degradación en la luz del tracto digestivo.

La rutina y sus derivados sólo pueden absorberse si se considera la posibilidad de una difusión pasiva. Pero como los flavonoides más hidrosolubles son los más activos, debe existir un mecanismo de absorción idóneo para los mismos, lo que nos lleva a considerar un mecanismo distinto del de la difusión lipídica, ya que el diámetro de los poros membranosos no permite la difusión de moléculas del tamaño de los flavonoides.

No se han demostrado ni procesos de índole pinocítica ni de transporte activo, a excepción de los glicoflavonoides que participarían de este último.

La fijación a las proteínas plasmáticas es variable, siendo la fracción albúmina sérica la que representa el soporte de las moléculas circulantes. Sólo los leucocianidos se fijan a las lipoproteínas séricas.

Actualmente es imposible establecer una relación clara y directa entre la dosis administrada, los niveles plasmáticos y la correspondiente actividad farmacológica.

ACCIONES FARMACOLOGICAS GENERALES

Acciones farmacológicas generales

Muchos son los efectos farmacológicos que produce la administración de flavonoides y compuestos polifenólicos afines. Entre dichos efectos podemos citar:

A nivel de los leucocitos polimorfonucleares.

La quercetina y otros flavonoides inhiben el consumo de oxígeno inducido por la concanavalina A sin afectar a su viabilidad. Este efecto en la activación de la respiración leucocitaria parece ser un estímulo específico. (5).

La quercetina ejercería su actividad en unas zonas específicas de la membrana plasmática leucocitaria. La reversión de la inhibición con el sulfonato de 1-anilín-8-naftaleno demuestra que la quercetina actúa en la capa exterior de la membrana plasmática (al igual que la concanavalina A y la fosfolipasa C) uniéndose preferentemente a las zonas apolares. Es por ello que flavonoides más polares como la rutina o la morina no presentan este efecto.

El mecanismo de acción postulado sería una interferencia en la formación de microagregados de los constituyentes de membrana (primer paso de la estimulación respiratoria), o bien interfiriendo en la generación de señales (cambios de permeabilidad iónica), provocada por la asociación de los constituyentes de membrana.

A nivel de los basófilos.

A pesar de ser varios los trabajos realizados sobre el sistema leucocitario, junto al anteriormente señalado, merece especial atención el relativo a la acción de determinados flavonoides en la respuesta autacoide de los basófilos humanos.

Al igual que en el caso anterior, la quercetina (pero no la rutina) es un inhibidor efectivo de la liberación de histamina de los basófilos inducida por antígenos en individuos afectados de fiebre del heno (modelo "in vitro" de las reacciones alérgicas humanas dependientes de la IgE). (6).

Los compuestos con el grupo ceto en C₄, pero sin hidroxilos en los anillos A o B y viceversa, representan estructuras inactivas en cuanto a la inhibición de la liberación de histamina. Ello sugiere que la disposición en un solo plano del anillo γ -pirona es decisiva para la actividad inhibidora.

La apigenina, que difiere de la quercetina por la ausencia del 3 y 3' -OH es un potente inhibidor, indicando pues, que el grupo hidroxilo en C₃ no es esencial para la acción.

La rutina al ser inactiva en este aspecto, indicaría que el grupo 3-O-rhamnosilglucósido supondría un impedimento estérico insalvable.

Si bien se ha dicho que la presencia de un hidroxilo en C₃ no es esencial, sí que incrementa notablemente la actividad de los productos, al igual que la existencia de hidroxilos en 4', ó 3',4'

y el doblete C₄-ceto-5-hidroxil, siendo esencial la hidroxilación del anillo B.

A nivel antiinflamatorio.

En experiencias llevadas a cabo en la rata con la producción experimental del edema por carragenina, tras inyección subplantar y valoración posterior por pletismografía, la taxifolina presenta una potente acción antiinflamatoria tanto en la fase exudativa como en la proliferativa, presentando un índice terapéutico similar al de la hidrocortisona. (7).

Ambas previenen el aumento de la actividad alaninaminotransferasa sérica y la aspartatoaminotransferasa.

Si bien la actividad ATPfosfohidrolasa hepática no se ve afectada por la inflamación, sí que incrementa tras la administración de taxifolina e hidrocortisona.

Varias actividades antiinflamatorias han sido detectadas en diversos extractos vegetales ricos en componentes flavónicos. (8).

A nivel de la musculatura lisa.

Trabajando con extractos de *Prunus spinosa* ricos en flavonoides, Makarov utilizando varias especies animales (gatos, conejos, cobayas, ratas) en órgano aislado (útero o intestino) mues-

tra la acción inhibitoria de estos productos frente al cloruro bórico, acetilcolina o histamina. Encontrándose como particularmente activos los 3,7-diglucósidos del kaempferol y de la quercetina. (9).

A nivel bioquímico.

Muchos compuestos flavónicos y afines, como los lignanos, compiten unas veces y actúan sinérgicamente otras, en diversas acciones a nivel molecular.

Así la adición de flavonoides a un cultivo de células de médula ósea de rata, disminuye el efecto inhibitor de la síntesis proteica que tienen los lignanos. (10).

La relación de los flavonoides con respecto a la vitamina E implica un papel en la óxido-reducción biológica. (11).

La estabilidad de los lípidos frente a los oxidantes en los eritrocitos, hígado y depósitos grasos en ratas con deficiencia en vitamina E, no se incrementa por una dieta exenta de dicha vitamina, pero enriquecida con quercetina u otros flavonoides. La adición de α -tocoferol a la dieta remedia los síntomas de la hipovitaminosis y aumenta la estabilidad de los lípidos tisulares. "In vivo", la adición de quercetina a los homogenados hepáticos o a los extractos de tejido adiposo retrasa su oxidación. (12).

En las primeras épocas de la vida parece que los flavonoides presentan un carácter de inductor vitamínico, pues la administración de éstos a polluelos del 4° al 60° día de vida incrementa notablemente los niveles de vitamina E, siendo más moderado el acúmulo de vitamina A y carotenoides en el hígado de estos animales.

Quercetina, miricetina y kaempferol son los principales aglicones flavónicos presentes en diversas especies del género *Sedum*. La administración a ratas con diversos grados de hiperlipidemia experimental, hace descender los niveles lipídicos en sangre e hígado a la vez que restablece las fracciones lipídicas patológicamente elevadas. (13).

El aumento de los niveles séricos de colesterol y de la resistencia capilar, se ve retardado al administrar flavonoides (hesperidina-metilchalcona), aunque las lesiones aterógenas ya desarrolladas en la aorta no consiguen ser reducidas por este compuesto. (14).

En el terreno de la aterosclerosis experimental, la inyección vía subcutánea de una mezcla de quercetina y kaempferol, a una dosis de 8 mg por kg. y por día durante 20 días, dio como resultado unos efectos hipocolesterinémicos en los que se restableció la relación colesterol-fosfolípidos. (15).

En iguales condiciones, la luteolina a dosis de 10 mg. por Kg. y por día disminuyó un 50% la colesterinemia, un 33% la beta-lipoproteinemia, mientras que las beta-lipoproteínas unidas al

colesterol se reducían un 60%. Si en lugar de trabajar con este aglicón, se administra el heterósido (luteolina-7glucósido) el efecto es mucho menor. (16) (17) (18) (19) (20).

Flavonoides y aminoácidos.

La interacción "in vitro" e "in vivo" de los flavonoides con los compuestos tipo aminoácido está íntimamente relacionada con las vitaminas. (21) (22) (23) (24)

La adición a un homogenado hepático de rata de una preparación de catecoles del té y de L-tirosina, inhibe la transformación enzimática del aminoácido. En condiciones análogas, la rutina, quercetina, hesperidina, ácido protocatéquico y homovanílico, poseen menos efecto y únicamente a concentraciones mucho más elevadas. A nivel de la transformación de L-tirosina, el ácido ascórbico no presenta ningún efecto. (25).

En el caso de la L-prolina en estudios "in vitro" con homogenados hepáticos de ratas hambrientas, la oxidación del aminoácido se ve potenciada por la adición al medio de los catecoles purificados del té, o por una mezcla de éstos con el ácido ascórbico, no afectándose la oxidación de la L-hidroxi-prolina. (26).

Los homogenados hepáticos de cobayas alimentados con dietas deficitarias en vitaminas C y P oxidan ligeramente ambas prolínas. La oxidación es más intensa si el homogenado se obtiene a partir

de cobayas con suplemento necesario de ácido ascórbico, y mucho más intensa todavía si a los animales se les ha administrado previamente los catecoles o el ácido ascórbico.

Flavonoides y enzimas.

En estudios llevados a cabo con la quercetina, se ha demostrado que este flavonoide presenta la propiedad de inhibir la adenosin-trifosfatasa (Na^+ , K^+). La acción se efectúa inhibiendo la formación del fosfoenzima a partir de fosfato, no a partir de ATP. La quercetina aumenta la cantidad de fosfoenzima ($\text{E}_1\text{-P}$) sensible al ADP, lo que indica que se inhibe la conversión del fosfoenzima de la forma $\text{E}_1\text{-P}$ a la $\text{E}_2\text{-P}$, insensible esta última al ADP. Este mecanismo de acción es pues distinto del que presentan la Ouabaína u otros inhibidores típicos de la (Na^+ , K^+) adenosin-trifosfatasa. (27).

A bajas concentraciones, la quercetina inhibe la ATPasa mitocondrial y del cloroplasto. En la mitocondria no interfiere el transporte electrónico. El flavonoide pues, reaccionaría como un inhibidor de los componentes naturales del complejo ATPasa. (28).

La quercetina actúa inhibiendo la ATPasa libre (no acoplada), disminuyendo la glicolisis, sin interferir en el proceso de la traslocación iónica. La inhibición de la hidrólisis de la forma $\text{E}_2\text{-P}$ estaría relacionada con el aumento de la eficacia de la bomba ATPásica. Interferiría así, la aceptación o liberación de grupos fosfato, al alterar el estado del complejo enzimático. (29).

Contrariamente a lo que ocurre a nivel mitocondrial, la propia quercetina, inhibe la reducción del NAD^+ , ATP-dependiente, por el succinato, en las partículas submitocondriales totalmente reconstituidas. En estudios comparativos llevados a cabo con diversas flavonas, se puede establecer que los grupos hidroxilo del carbono 3 y quizás también los del carbono 3', juegan un importante papel en la inhibición de la actividad ATPasa.

También a nivel mitocondrial y en ratas alimentadas con una dieta deficiente en aminoácidos aromáticos y a la que se añadió posteriormente rutina, se incrementó el consumo de oxígeno así como la velocidad de desaparición del fosfato del medio, utilizando incubados de fracciones mitocondriales obtenidas a partir de un homogenado hepático.

La combinación de cumarina con el sulfato de rutina presenta interesantes propiedades a nivel de la enzimología y de la secreción exocrina de la glándula pancreática. En estudios realizados en individuos con función pancreática normal se ha podido determinar que estos compuestos no presentan un efecto directo en la función exocrina. El aumento temporal de la actividad lipasa y amilasa en el vaso linfático torácico, probablemente sea debido a un flujo proveniente del líquido intersticial del páncreas, rico en enzimas. Por otra parte se sabe que las benzopironas aumentan la contractilidad de los vasos linfáticos. Al incrementarse así el flujo de líquido intersticial del páncreas al conducto torácico, aumentan los niveles de los enzimas pancreáticos en la linfa. (30)

La posibilidad de inducir cambios estructurales a nivel de orgánulos celulares tales como las mitocondrias, también ha sido citada para los flavonoides.

En concreto los catecoles del té y en menor grado la rutina, provocan una hipertrofia mitocondrial, fácilmente observable por microscopía electrónica. Este aumento de tamaño de las mitocondrias tiene no sólo un significado estructural sino también funcional, pues aparecen incrementos significativos de la respiración mitocondrial hepática acompañados de una desorganización de la fosforilación oxidativa. (31).

Otros flavonoides como la orientina, flavocannabisida y flavosativasida, tienen la particular propiedad de inhibir la aldosa reductasa. Este enzima presenta unas conexiones directas con la patogénesis de las cataratas que sufren la mayor parte de los enfermos diabéticos y galactosémicos. La importancia de estos estudios realizados "in vitro" radica en la posible continuación de dichos estudios a nivel clínico, mejorándose así las perspectivas terapéuticas de estas disfunciones metabólicas de los hidratos de carbono. (32).

Por último cabe citar dentro de este apartado de la relación flavonoide-enzima, las propiedades sinérgicas que presentan los flavonoides con el ácido ascórbico. Podemos citar por ejemplo los aumentos de actividad enzimática de la papaína o de la catepsina de la capa cortical del riñón de cerdo, tras la administración de una asociación de ácido ascórbico con algunos compuestos flavónicos. (33).

Flavonoides e iones.

Podemos decir que un 70% del trabajo experimental en el campo de la bioquímica y de la farmacología de las últimas décadas gira en torno al calcio.

Este ión, está presente en la práctica totalidad de los líquidos y tejidos corporales, atribuyéndosele por algunos autores la categoría de hormona.

En estudios realizados con cumarinas y compuestos flavónicos aislados de las raíces del "Qian-Hu" (*Peudanum praeruptorum* Dunn), una planta utilizada en la medicina tradicional china, se comprobó la acción de estas sustancias a nivel de los flujos de calcio en las células musculares. (34).

Estos compuestos inhiben el flujo de calcio hacia el interior de las células de músculo liso, siendo incluso más potente esta inhibición que la producida por la papaverina.

Esta actividad antagonista del calcio, ha pretendido ser utilizada en el tratamiento de la isquemia miocárdica.

El valor terapéutico en la angina de pecho parece ser más bien escaso, sobre todo si lo comparamos con compuestos típicamente catalogados como antagonistas del calcio, del tipo del diltiazem, verapamil o nifedipina.

Pese a la poca importancia terapéutica en las crisis de angor, estos estudios han abierto el camino para que se establezcan relaciones de estructura-actividad entre los distintos compuestos flavónicos, pues es este efecto uno de los que precisa de mayores requerimientos estructurales.

La capacidad que presentan los flavonoides de inhibir la oxidación del ácido ascórbico, ha sido atribuida a la capacidad que presentan estas sustancias de actuar como aceptores de radicales libres o como complejantes de iones metálicos catalíticos, en particular el cobre. (35).

La formación y estabilización del quelato, tiene lugar sobre todo a valores bajos de pH. Concordaría esto con lo observado en los jugos de fruta naturales, en los que los flavonoides desempeñarían un importante papel antioxidante.

En la última porción del intestino, con valores de pH que oscilan entre 6.5 y 7.6, los bioflavonoides de la dieta protegen al ácido ascórbico, complejando iones metálicos tales como el cobre. Se ha sugerido asimismo la posibilidad de que el efecto antioxidante antes citado, fuera el resultado de una unión competitiva de ciertos flavonoides con algunos grupos sulfhídrico de determinados aminoácidos.

Flavonoides y pared vascular.

Quizás uno de los primeros hallazgos en lo que a la farmacología de los compuestos flavónicos se refiere, haya sido el que estas sustancias ejercen importantes acciones a nivel de la pared vascular.

El contenido de hidroxiprolina y de hexosaminas totales en los granulomas inducidos por la implantación de algodón en la rata, se incrementa ligeramente si se procede a una infiltración en la zona granulomatosa de antocianósidos. Al mismo tiempo aumenta la diferenciación fibroblástica y angioblástica. (36).

En pacientes con ulceraciones en las piernas de etiología posttromboflebitica o varicosa, el tratamiento con antocianósidos disminuye significativamente la concentración total de proteínas, afectándose especialmente la fracción globulina, en el exudado de los capilares del tejido granulomatoso. De éstos y otros datos de los que se dispone en la actualidad, cabe pensar que los flavonoides ejercerían su efecto protector en las patologías de la pared vascular por medio de un doble mecanismo de acción, que se relaciona con los fosfolípidos por una parte y con los mucopolisacáridos por otra. (37).

La butadiona, el escinol, la esculetina, el glivenol, la rutina y la escina, han demostrado ser unos excelentes estabilizantes de la membrana eritrocitaria. Las experiencias de laboratorio, sobre todo de hemólisis hipotónica, permiten concluir que es el glivenol el más efectivo de los flavonoides estudiados.

Los flavonoides confunción orto-difenol, administrados a mamíferos, experimentan un catabolismo parecido al de las catecolaminas, ya que sea cual sea la forma de ruptura de la molécula, la fracción que posea la función orto-difenol será metilada rápidamente por la COMT y luego el oxhidrilo libre será glucuroconjugado.

Así pues son competidores de las catecolaminas en la metilación, prolongando la vida de éstas, lo que conlleva a un aumento de su acción a nivel de los esfínteres precapilares. El aumento de la resistencia capilar es pues, fruto de una acción adrenal indirecta. (38).

Los flavanoles ortodifenólicos, poseen el mismo comportamiento que los anteriores, pero provocan posteriormente una segunda elevación de la resistencia capilar, obteniéndose una curva bifásica de similares características a la del ácido ascórbico. Este ácido se comporta como un orto-difenol por sus dos hidroxilos heterocíclicos contiguos, que en parte son metilados por la COMT, dando el ácido 2-metilascórbico, responsable del primer rasgo de la curva, mientras que la segunda elevación responde a un aumento real de la resistencia de la pared capilar. (39).

Se explicaría así el segundo máximo en este efecto, por una acción ascórbica indirecta, aunque determinados flavonoides parecen poseer una acción directa propia, no necesariamente ligada a los mecanismos que se acaban de mencionar.

Flavonoides y Carcinogénesis.

Desde hace tiempo, se ha observado que el consumo de vegetales ejerce un aparente efecto protector frente a varios tipos de cáncer, sobre todo los del tracto gastrointestinal. (40)

Los vegetales son una fuente de diversos inhibidores de carcinógenos químicos, ya que contienen precisamente compuestos polifenólicos, cumarinas, isotiocianatos aromáticos e indoles. Las crucíferas son especialmente ricas en compuestos dotados de esta actividad. Un estudio epidemiológico ha demostrado que existe una relación inversa entre el consumo de determinadas crucíferas y la incidencia del cáncer de colon, de pulmón, estómago, o bien de lesiones precursoras del proceso neoplásico en este último órgano citado.

Si bien los datos han sido publicados y sobre ellos se han hecho toda una serie de conjeturas, hoy en día no parece prudente establecer una relación firme entre los factores alimentarios y la incidencia del cáncer. Además una determinada dieta está unida a un tipo de vida concreto, que es quizás lo que altera la respuesta a los compuestos carcinogénicos.

Actuando los polifenoles en particular como antioxidantes a nivel de la monooxigenasa microsomal, podrían desempeñar un papel de detoxificantes muy importante y a través de este mecanismo producir un determinado efecto antineoplásico, sin embargo se requieren estudios más detallados en este apartado.

Flavonoides y microorganismos.

En general, todas las sustancias polifenólicas y los flavonoides son un ejemplo de las mismas, están dotadas de una capacidad germicida inespecífica, que incluye una amplia gama de bacterias, hongos microscópicos, etc.

Como ejemplo baste citar las experiencias llevadas a cabo con (+)catecol en cultivos de *Pseudomona fluorescens*, en los que aparecen importantes cambios sobre todo a nivel del metabolismo proteico del microorganismo. (41).

En la bibliografía, aparecen con relativa frecuencia citas referentes a la actividad antiséptica de los polifenoles, mucho más que una aplicación práctica en antibióticoterapia, lo que convierte a estas sustancias en útiles herramientas en el terreno de la desinfección, sobre todo a nivel hospitalario.

ACCIONES FARMACOLOGICAS ESPECIFICAS

Acciones farmacológicas específicas

Desde el aislamiento de la silimarina de las semillas del cardo mariano (*Silybum marianum*(L.) Gaertn.) ha podido asentarse en bases científicas la terapéutica antihepatotóxica que antes se realizaba con preparaciones galénicas no bien definidas de la planta. (42).

En los primeros estudios farmacológicos, la silimarina se reveló como eficaz antagonista en los siguientes modelos experimentales: tetracloruro de carbono, tioacetamida y faloidina. Según el estado metodológico de los conocimientos que en aquel momento se poseían, la sustancia fue clasificada en el grupo de los flavanonoles. Actualmente se sabe que la silimarina es una sustancia compleja, formada por silybina, silidianina y silicristina. Las citadas sustancias pertenecen al grupo de la 2-fenilero-manonas, del tipo de la taxifolina y contienen una molécula de coniferil-alcohol en enlace oxidativo. Entre los componentes de la semilla del cardo mariano también se encuentra la taxifolina.(43).

En el momento de la introducción en la terapéutica antihepatotóxica de la silimarina, se tropezaba con distintas dificultades porque no se disponía o sólo se disponía en pequeña cantidad de toxinas puras de amanita. Por el contrario en los últimos años, después de haber podido disponer de cantidades suficientes de α -amanitina y faloidina, los ensayos de antagonismo de las intoxicaciones letales y no letales con ambas toxinas ha dado por

resultado lo siguiente: tanto la silimarina (mezcla) como sus distintos componentes tienen una elevada actividad frente a la α -amanitina y la faloidina en el sentido preventivo y curativo en el hígado de rata aislado y perfundido. (44) (45).

Los animales, en este caso ratones, intoxicados con faloidina, mueren en el plazo de 2-3 horas con distrofia hepática hemorrágica aguda. Los animales que fueron tratados con silimarina a dosis de 15 mg/kg vía intravenosa, sobrevivieron a la lesión hepática producida por la faloidina. (46).

El tratamiento curativo con 100 mg/kg de silimarina, también por vía intravenosa, diez minutos después de la intoxicación faloidínica, protege a casi todos los animales de la acción tóxica letal. Esta actividad de la silimarina disminuye cuando se administra la silimarina 20 minutos después del tóxico y ya no existe cuando empieza el tratamiento a los 30 minutos. A este tiempo ya está tan lesionado el hígado que no puede conseguirse ningún tipo de restablecimiento de la funcionalidad del órgano.

En el ensayo frente a la acción tóxica de la α -amanitina, tras la administración vía intraperitoneal de este tóxico a dosis de 0.5 mg/kg, ocurrió la muerte en el 79% de los animales durante los 14 días siguientes a la intoxicación.

Se administró silimarina a las dosis de 100 mg/kg vía intravenosa, 1 hora antes de la intoxicación y a diversos tiempos (10, 20, 30 minutos) después de la intoxicación, reduciéndose la mortalidad de los animales un 100% en el caso del tratamiento

preventivo y en un 85% en el curativo cuando éste se realizó 10 minutos después de administrar el tóxico

Al objeto de estimular el sistema microsomal del hígado, se pretrató a ratas durante siete días con fenobarbital sódico al 0.05% en el agua de bebida. Después se inyectó a los animales 100 mg/kg de silimarina, vía intravenosa y a continuación se les administró 0.15 ml. de CCl_4 "per os", produciéndose así una lesión hepática debida al compuesto halogenado. A continuación, 48 horas después de la lesión hepática se determinó en todos los animales la duración del sueño tras inyección de 50 mg/kg de hexobarbital sódico, vía intravenosa. La prolongación del sueño tras hexobarbital, condicionada por la lesión hepática por el tetracloruro de carbono se acorta en un 50% con el tratamiento antes mencionado de silimarina. (47).

Como complemento a la experiencia anterior se determinaron los parámetros plasmáticos, GOT, GPT, SDH etc. aumentados patológicamente por la lesión producida, apreciándose que tras el tratamiento con silimarina, se conseguía una reducción altamente significativa de los mencionados parámetros.

Otros modelos experimentales de lesión hepática en la rata como pueden ser los producidos por galactosamina o por el nitrato de praseodimio, son antagonizados asimismo por la silimarina. (48).

Los resultados obtenidos con la experiencia de los barbi-

túricos y el tetracloruro de carbono, podrían hacer pensar en un probable efecto de inducción enzimática atribuible a la silimarina. Mediante estudios de la evolución ponderal hepática tras necropsia de los animales, puede concluirse que la silimarina no ejerce sus efectos por medio de un mecanismo de inducción enzimática. (49)

De todos los modelos de lesión del hígado, el antagonizado con mayor margen de seguridad es la intoxicación por faloidina y α -amanitina. El empleo preventivo de la silimarina antagoniza ambas intoxicaciones. En administración de tipo curativo, la eficacia depende del tiempo transcurrido entre la intoxicación por faloidina o α -amanitina y el aporte del fármaco antihepatotóxico. Si se administra la silimarina más de 20 minutos después de la intoxicación, la acción debe calificarse de más bien escasa. La actividad antifaloidina se evidencia también "in vitro" tanto por adición de silimarina al líquido de perfusión de un hígado ya intoxicado, como por aporte del tóxico a un medio de perfusión que contiene silimarina y administrando faloidina y silimarina al animal "in vivo" y perfundiéndolo a continuación.

Con respecto al mecanismo de acción de la acción anti- α -amanitina podemos decir que este tóxico produce en el hígado aislado los siguientes trastornos funcionales sucesivos: cese de la secreción biliar, descenso del ATP y del contenido glicogénico.

En el conejo se observan como consecuencia de la lesión hepática, aumentos de la concentración plasmática de las si-

guientes sustancias: GOT, GPT, citrato-sintasa, β -cetoacetil-tiolasa, β -hidroxiacilaldehidrogenasa, glucosa, fosfato inorgánico, ácido úrico y bilirrubina. Además, la faloidina inhibe en cortes de hígado de ratones y cobayas la incorporación de aminoácidos marcados a las proteínas. Asimismo, parece disminuída la incorporación a microsomas aislados, mientras que no quedan influenciadas las funciones de las mitocondrias.

La faloidina tiene una gran afinidad por la fracción microsomal del hepatocito, consistiendo la alteración ultramicroscópica inicial en una dilatación del retículo endoplasmático.

Ultimamente se ha encontrado una fracción de fragmentos de membrana celular a la que parece fijarse muy específicamente tanto la faloidina como la desmetilfaloidina, mientras que las amatoxinas actúan a través de una inhibición de la RNA polimerasa, localizada en el núcleo celular.

Frimmer, tras experimentos en hígados aislados y perfundidos artificialmente, considera dirigida a la membrana hepatocitaria la acción primaria de la faloidina puesto que su primer efecto ha de verse en el fracaso de la permeabilidad iónica específica con liberación masiva de potasio. Más tarde se produce la liberación de enzimas lisosomales (catepsina, β -glucuronidasa) y absorción de agua por el hígado dando lugar a una tumefacción. De todos los estudios realizados se desprende que la membrana celular de los hepatocitos tiene receptores a los que se fija la faloidina y en los que ejerce su acción destructora de la membrana. La α -amanitina penetra en el interior de la célula

y allí entra en acción mediante la inhibición de la síntesis de RNA. Entre la silimarina por una parte y las toxinas de la amanita por otra, hay una especie de antagonismo competitivo aún cuando ambas sustancias no se comporten en el sentido de una verdadera expulsión competitiva farmacológicamente hablando. Si la membrana celular está ocupada por silimarina, las toxinas de la amanita no pueden fijarse en la membrana hepatocitaria ni penetrar en el interior de la célula.

Por otra parte, la silimarina no es capaz, ni aún administrada a dosis muy elevadas, de desplazar de los receptores a la toxina de la amanita, una vez fijada. Por consiguiente, teniendo en cuenta lo que sucede a nivel molecular, la silimarina actúa fundamentalmente a nivel preventivo.

En el comentario de la actividad anti-amanita de la silimarina se plantea, respecto a la elevada efectividad del compuesto, la cuestión de su especificidad. El hecho de que observando condiciones experimentales apropiadas se logre convertir un múltiplo de la DL_{100} de faloidina o α -amanitina en la DL_0 parece *abogar, en principio, por una gran especificidad de acción de la silimarina*; pero hay otros modelos en los que la acción hepatotóxica queda antagonizada total o parcialmente por la silimarina. Así por ejemplo, como ya he mencionado, puede antagonizarse casi por completo la acción del nitrato de praseodimio y es posible la antagonización parcial de las siguientes sustancias tóxicas: tetracloruro de carbono, galactosamina, tioacetamida y eptionina. Por su sencillez, efectividad y buena repetitibilidad de

los resultados, acaso sea la lesión hepática por tetracloruro de carbono el modelo más practicado de noxa hepática.

Hoy en día está fuera de discusión que el tóxico no es el tetracloruro de carbono propiamente dicho, sino un metabolito, que impide la metabolización del sistema enzimático catabolizador de sustancias extrañas localizado en el retículo endoplasmático. Todas aquellas sustancias que estimulan este sistema enzimático, producen en consecuencia, una toxificación del tetracloruro de carbono, porque en muy poco tiempo surge el metabolito tóxico a alta concentración mientras que por el contrario, todas aquellas sustancias que causan una inhibición de la actividad del sistema enzimático catabolizador de sustancias extrañas disminuyen la toxicidad del tetracloruro de carbono, porque tarda más en formarse el metabolito tóxico y en consecuencia se halla en menor concentración.

La sospecha de que la silimarina presenta una actividad anti-tetracloruro de carbono porque disminuye la del sistema enzimático catabolizador de sustancias extrañas, parece no tener mucho fundamento.

En la rata, el tratamiento subcrónico con silimarina no produce variación de la vida media de la antipirina en plasma, ni variación del peso hepático o de la relación peso hepático/ peso corporal y también resultan inalteradas las concentraciones de citocromo P₄₅₀, etilmorfina-N-demetilasa y glucuroniltransferasa en el hígado. (50).

Si la silimarina actuase a través de una modificación (inhibición) del sistema enzimático catabolizador de sustancias extrañas del hígado, su aporte subcrónico daría lugar a una prolongación del sueño por hexobarbital. Sin embargo, no es este el caso.

El número de sustancias que tienen actividad protectora o curativa en la intoxicación aguda, subcrónica o crónica por tetracloruro de carbono es tan grande y su naturaleza química tan distinta, que en la actualidad resulta casi imposible explicar de un modo uniforme su acción anti-tetracloruro de carbono. Vitaminas y sustancias relacionadas con ellas como el ácido nicotínico y derivados, la vitamina E (tocoferol), ácido ascórbico y vitaminas del complejo B y el poli-2-vinilpiridin-N-óxido (PVNO) pueden con toda seguridad, ejercer actividad anti-tetracloruro. Hay que tener en cuenta además, que el pretratamiento de las ratas con dosis pequeñas de tetracloruro de carbono es capaz de proteger 24 horas y más a los animales de una nueva dosis letal de tetracloruro.

Por inyección intraperitoneal de galactosamina se produce una hepatitis que histológicamente es parecida a la hepatitis vírica humana. El mecanismo por el que se desarrolla esta patología ha sido explicado por Decker y por Reutter quienes señalan que tras la administración de galactosamina se produce en el hígado de rata la formación de galactomasín-metabolitos y una franca y prolongada disminución de los uridínfosfatos (UMP, UDP y UTP). Estos piridin-nucleótidos son necesarios para la síntesis de los

ácidos nucleicos y de las proteínas. Los orotatos, administrados preventivamente tienen acción hepatoprotectora como precursores de los uracil-nucleótidos.

La actividad de la silimarina en la lesión por galactosamina se efectúa sólo a pequeñas dosis de la intoxicación por galactosamina.

La acción hepatotóxica del praseodimio (formación de un hígado adiposo con necrotización de los lobulillos centrales) es antagonizada totalmente por la silimarina tanto en tratamientos de tipo preventivo como curativo.

— En el caso de la intoxicación por etionina, se produce una acumulación de triglicéridos en el hígado con disminución de los lípidos plasmáticos y lipoproteínas. Mientras que el porcentaje de grasas en las mitocondrias oscila dentro de las cifras normales, los microsomas presentan un claro aumento del contenido graso. La causa primaria de esta adiposis hepática, cabría buscarla en un trastorno de la síntesis de ATP, puesto que bajo la acción de la etionina desciende rápidamente el contenido de ATP del hígado y este efecto etionínico se puede antagonizar fácilmente con nucleósidos precursores del ATP. (51).

Este aumento de triglicéridos hepáticos producido por la etionina es antagonizado por la silimarina, que asimismo inhibe en tratamiento único el aumento de actividades enzimáticas de la fumarasa, malato-deshidrogenasa y succinato citocromo C-reductasa

inducido por etionina.

La tioacetamida pertenece a las sustancias hepatotóxicas activas, sobre todo, en administración crónica. Añadida al pienso diario, desarrolla en el curso de unos meses un estado comparable clínicamente a la cirrosis humana. Al mismo tiempo, los animales sufren una pérdida de peso corporal que es dosis-dependiente. El mecanismo de esta acción hepatotóxica es obscuro, como el de la mayoría de los agresores del hepatocito. Se discute una afectación de sistemas de membrana endocitoplasmáticas, una inhibición de la depuración de RNAs en el citoplasma con la correspondiente alteración del metabolismo proteico y del propio RNA. Se producen reacciones mesenquimatosas inflamatorias y neoformación de fibras conjuntivas que desembocan en el cuadro cirrótico. (52).

En la administración crónica de tioacetamida, la silimarina es capaz de prolongar el tiempo de supervivencia significativamente y de frenar la pérdida de peso de los animales. En la administración parenteral única de tioacetamida, las ratas reaccionan con un aumento de los enzimas GOT, GPT, SDH y GLDH séricos, como expresión de la lesión hepática. La administración preventiva y única de silimarina una hora antes de la tioacetamida inhibe en gran manera la variación patológica de los parámetros. De ello se desprende que la silimarina es una de las sustancias que pueden influir favorablemente en las lesiones hepáticas agudas y crónicas producidas por la tioacetamida.

En cuanto a la importancia práctica del etanol como una de las drogas más antiguas y a la extraordinaria difusión de su consumo, es amplísima la bibliografía acerca de la influencia terapéutica de las secuelas del consumo de etanol.

Habida cuenta de que el etanol se degrada casi exclusivamente en el hígado, las lesiones etanólicas interesan en primer lugar este órgano revistiendo la máxima importancia los trastornos del metabolismo graso. El conocido hígado adiposo consecutivo a la intoxicación etanólica resulta de un aumento de la síntesis de ácidos grasos, de un incremento de la esterificación de estos ácidos en triglicéridos y, posiblemente, de una reducción de la liberación de lipoproteínas con una menor oxidación de ácidos grasos en la mitocondrias. Las alteraciones mitocondriales consecutivas a la lesión alcohólica en la rata pueden evitarse casi por completo con silimarina, mientras que el efecto protector observado sobre el metabolismo lisosomal es parcial.

La cuestión de que si los compuestos flavónicos en general y la silimarina en este caso en particular, únicamente actúan en el terreno preventivo o en el curativo, se explica con el modelo de intoxicación por la toxinas de amanita. Podemos partir de la base de que la silimarina ocupa la membrana celular de los hepatocitos en el sentido de una acción competitiva de naturaleza no del todo definida y de este modo impide que la α -amanitina alcance y penetre en las células o que la faloidina desarrolle su efecto tóxico.

Según los datos publicados al respecto, no es posible desplazar mediante silimarina, las toxinas de amanita fijadas a la membrana celular. Por otra parte, las toxinas no pueden penetrar en la célula cuando la membrana está ocupada por silimarina. La probabilidad de que estas hipótesis sean ciertas se desprende del curso temporal de la acción curativa de la silimarina, tanto frente a la faloidina como frente a la α -amanitina. (53).

En el sentido de su mecanismo de acción, su farmacología molecular, o su farmacodinamia, la silimarina, es pues, un hepatoprotector que impide la penetración de las toxinas de la amanita. Cuando en condiciones experimentales existe una situación en que una parte de los receptores están ocupados por las toxinas, mientras que otra parte están bloqueados gracias a la silimarina, se producirá el fracaso de una parte de los integrantes del parénquima hepatocitario. Según la cantidad de hepatocitos necrosados o protegidos, evolucionará la situación de la muerte o la supervivencia de los animales de experimentación. (54).

Como es sabido que la extirpación de hasta dos tercios del hígado es compatible con la vida, puede suponerse también que hasta dos tercios de los hepatocitos pueden sucumbir bajo la acción de las toxinas. A partir del restante tercio de hepatocitos protegidos por la silimarina u otro flavonoide y dada la extraordinariamente elevada capacidad de regeneración del hígado, se habrá alcanzado en poco tiempo la cifra original de células hepáticas intactas por lo que la acción de un fármaco hepatoprotector desde el

punto de vista de mecanismo de acción, resulta curativa considerada desde el punto de vista clínico.

De igual manera hay que entender la acción curativa clínica en el hombre. No se puede partir de la base de que en todos los casos de hepatopatía, cualesquiera que sean, se encuentran todas las zonas del hígado al mismo tiempo en el mismo estado lesional, sino más bien de que por ejemplo hay hepatocitos ya necróticos, hepatocitos lesionados y hepatocitos intactos. Ya que la silimarina impide la penetración no sólo de las toxinas de la amanita, hay que deducir de que los hepatocitos intactos quedan protegidos por esta silimarina. Es en estos hepatocitos intactos y protegidos farmacológicamente por los que empieza la regeneración del órgano lesionado y la acción preventiva desde el punto de vista farmacodinámico, se convierte de nuevo en una acción curativa desde el punto de vista clínico.

Encadenando con lo que acabo de exponer, este campo hepatocitario, presenta actualmente esperanzadores signos de posibilidad terapéutica.

El Departamento de Farmacognosia y Farmacodinamia de Barcelona está desarrollando actualmente una línea de investigación centrada en la problemática de las sustancias polifenólicas y su repercusión en la farmacología hepática.

Tanto desde el punto de vista farmacognóstico como desde el de la farmacodinamia, empiezan a aparecer resultados interesantes que indican un claro tropismo de estas sustancias de origen natural en las afecciones del hígado.

Las experiencias llevadas a cabo con especies vegetales como la alcachofa, de la que se conoce su acción colerética, o el cardo mariano, del que se cita su acción hepatoprotectora permiten establecer diversos parámetros indicativos de la regeneración o protección de la célula hepática.

Estos estudios llevados a cabo en nuestro Departamento, implican la participación de equipos multidisciplinarios, única vía posible hoy en día para el progreso científico. Por otro lado la conexión entre las dos materias (Farmacognosia y Farmacodinamia) posibilita una acción conjunta sumamente favorable en este terreno de la farmacología de los productos naturales.

Por último, muy Ilustre. Sr. Presidente, debo mencionar aquí unas palabras que pronunciara nuestro insigne Premio Nobel D. Santiago Ramón y Cajal hace ahora unos setenta años en un acto de parecidas características al de hoy en la capital de España:

"La Ciencia debe cultivarse por sí misma sin considerar por el momento inmediatas aplicaciones, pues éstas llegan siempre tardando años, a veces siglos, pero poco importa que una verdad científica sea aprovechada por nuestros hijos o nuestros nietos. El progreso científico implica el desarrollo no sólo de la personalidad del investigador, sino la creación de un ambiente favorable al mismo de tipo social. Es la sociedad la que debe animar al científico en proseguir su lucha solitaria en un rincón abandonado.

De nada sirve tener una excelente preparación y disposición a la Ciencia, si la sociedad no dispone de medios necesarios y su-

ficientes para que los resultados vean la luz pública.

El investigador a una edad con frecuencia demasiado madura alcanza la plenitud de sus ideales. Debemos dar un giro a este concepto y enraizar las vocaciones a edades más tempranas". (55).

Estas palabras, Muy Ilustre Sr. Presidente, siguen teniendo la vigencia de los pensamientos históricos que forman el arsenal intelectual de la humanidad.

Llego a esta Real Academia a una edad temprana, lo que supone una fuerte inexperiencia. Sin embargo a ella se une como contrapartida una irrefrenable vocación de trabajo que desde este momento brindo a esta docta Institución.

HE DICHO.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

- (1) DAS, N.P.; GRIFFITHS, L.A.
"Studies in flavonoid metabolism. Metabolism of (+)-(14C)Quercetin in the rat and guinea pig".
Biochem. J. (1969), 115. 831.
- (2) NAKAGAWA, Y.; SHETLAR, M.R.; WENDER, S.H.
"Urinary products from quercetin in neomycin-treated rats".
Biochim. Biophys. Acta (1965), 97. 233-41.
- (3) FEDUROV, V.V.
"Metabolism of bioflavonoids in animals".
Fenol'nye Soedin. Ikh. Biol. Funkts. Mater. V Ses. Simp.
1st 1966 (Pub. 1968), 371-77.
- (4) MOSSER, J.; TROUILLOUD, V.; VERGELY, V.; FAURAU, F.; CROS, J.
"Pharmacologie des flavonoides: aspects pharmacocinétiques".
Compt. Rend. Ass. Gén. Groupe Polyphenols. 1974.
- (5) BERTON, G.; SCHNEIDER, C.; ROMEO, D.
"Inhibition by quercetin of activation of polymorphonuclear leucocyte functions. Stimulus-specific effects".
Biochim. Biophys. Acta (1980), 595. 47-55.
- (6) MIDDLETON, E.; DRZEWIECKI, G.
"Effects of flavonoids and transitional metal cations on antigen-induced histamine release from human basophils".
Biochem. Pharmacol. (1982), 31, 7. 1449-53.
- (7) GUPTA, M.B.; BHORLLA, T.N.; GUPTA, G.P.; MITRA, C.R.; BHARGAWA, K.P.
"Antiinflammatory activity of taxifolin".
Jap. J. Pharmacol. (1971), 21, 3, 377-82.

- (8) PROKOPENKO, O.P.; SPIRIDONOV, V.N.; LITVINENKO, V.I.; CHORNOBAI, V.T.; OBOLENTSEVA, G.V.; KHADZHAI, Y.I.; TATARKO, Z.I.
"Phenol compounds of *Helichrysum* and their biological activity".
Farm. Zh. (Kiev) (1972), 27, 4, 3-7.
- (9) MAKAROV, V.A.
"Spasmolytic and antitonic action of *Psunus spinosa* flavonoids".
Aktual. Vop. Farm. (1968), 188-90.
- (10) ANISIMOV, M.M.; SUPRUNOV, N.I.; PROKOF'EVA, N.G.
"Effect of compounds isolated from Araliaceae family plants on the *in vitro* biosynthesis of proteins".
Rast. Resur. (1972), 8, 3, 378-80.
- (11) LETAN, A.
"The possible transference of flavonol antioxidants from the diet to the tissue lipids of rats".
Brit. J. Nutr. (1967), 21, 2, 315-23.
- (12) SHIPOCHLIEV, I.; PETKOV, G.; DIMITROV, S.; STOYANOV, P.; IVANOV, V.; KIKOLOV, N.
"Effect of the flavonoids of the oil-bearing rose (*Rosa damascena*) on the accumulation of vitamins A and E and carotenoids in the liver of broilers".
Vet-Med. Nauki (1970), 7, 8, 99-104.
- (13) SHNYAKINO, G.P.; MURZINA, N.B.
"Phenols compounds fo some *Sedum* species of the soviet far east and effects of their leaf extracts on the lipid metabolism of rats".
Rastit. Resur. (1974), 10, 3, 351-62.

- (14) SZABO, R.; ANTAL, A.; REDUIK, A.; LIPTAK, K.; GYORI, L.; GABOR, M.; BENKO, S.
"Lipid content of the aorta and changes in its internal membrane in rats on a flavone-free diet during atherogenesis".
Kiserl. Orvostnol. (1971), 23, 2, 154-63.
- (15) LISEVITSKAYA, L.I.; SHINKARENKO, A.L.; BRANDYNKOVA, V.A.; MAKAROV, V.A.
"Flavanol substances during experimental atherosclerosis".
Aktual. Vop. Farm. (1968), 176-77.
- (16) LISEVITSKAYA, L.I.; SHINKARENKO, A.L.; ZEMTSOVA, G.N.; KAMPATSEV, V.A.
"Effect of luteoline and luteoline-7-glycoside on lipid metabolism during experimental atherosclerosis".
Aktual. Vop. Farm. (1968), 178-79.
- (17) LISEVITSKAYA, L.I.; SHINKARENKO, A.L.; ORGANESYAN, E.T.
"Action of quercetin and flavonoid preparations from pontic azalea (*Rhododendron luteum*) and caucasian rhododendron (*R. caucasicum*) on some indexes of cholesterol metabolism in white rats with experimental hypercholesteremia".
Biol. Nauki (1968), 12, 50-52.
- (18) DOROFENKO, G.N.; SHINKARENKO, A.L.; LISEVITSKAYA, L.I.; MEZHHERITSKII, U.V.; KAZAKOV, A.L.; ZHDANOV, Y.A.
"Effect of isoflavones on lipid metabolism under experimental hypercholesterinemia".
Biol. Nauki (1975), 18, 3, 35-38.
- (19) DOROFENKO, G.N.; SHINKARENKO, A.L.; LISEVITSKAYA, L.I.; KAZAKOV, A.L.; PYSHCHEV, A.I.; MEZHHERITSKII, U.V.
"Synthesis of isoflavone with hypocholesteremic activity".
Khim. Geterotsikl. Soedin (1974), 6, 175.

- (20) KAWAMURA, HO R.; TOKORO, Y.; TOSAKA, K.; NAKAYAMA, S.; TOIDA, S.; MATSURA, S.; OZAKI, M.; HIYAMA, T.
"Toxicity and teratogenicity of 1,3-dimethylxanthine-7-acetic acid-7-((2-dimethylamino)ethoxy)flavone (perflavone).
Toho Igakkai Zasshi (1972), 19, 116-18.
- (21) ZLOCH, Z.
"Influence of bioflavonoids on the vitamin C value of crystalline dehydro-L-ascorbic acid".
Int. J. Vitam. Res. (1973), 43, 3, 378-86.
- (22) ZLOCH, Z.
"Effect of regulated peroral doses of dehydroascorbic acid and bioflavonoids on several biochemical functions of vitamin C".
Int. J. Vitam. Res. (1974), 44, 4, 466-76.
- (23) ZLOCH, Z.
"Influence of quercetin and epicatechol on biochemical changes in guinea pigs during an experimental C-hypovitaminosis".
Int. Z. Vitaminforsch. (1969), 39, 3, 269-80.
- (24) WILSON, H.K.; PRICE-JONES, C.; HUGHES, R.E.
"The influence of an extract of orange peel on the growth and ascorbic acid metabolism of young guinea pigs".
J. Sci. Food Agric. (1976), 27, 7, 661-66.
- (25) BEREZOVSKAYA, N.N.
"Effect of bioflavonoids and ascorbic acid on tyrosine (p-hydroxyphenylalanine) metabolism".
Vop. Pitan. (1967), 26, 2, 48-53.
- (26) BEREZOVSKAYA, N.N.
"Effect of bioflavonoids and ascorbic acid on the enzymic oxidation of proline and hydroxyproline in animals".
Fenol'nye Soedin. Ikh. Biol. Funkts. Mater. V Ses. Simp. 1st 1966 (Pub. 1968), 383-8.

- (27) KURIKI, Y.; RACKER, E.
"Inhibition of (Na^+, K^+) Adenosine triphosphatase and its partial reactions by quercetin".
Biochemistry (1976), 15, 23, 4951-56.
- (28) LANG, D.R.; RACKER, E.
"Effects of quercetin and F_1 inhibitor on mitochondrial ATPase and energy-linked reactions in submitochondrial particles".
Biochim. Biophys. Acta (1974), 333, 180-86.
- (29) FEDUROV, V.V.
"Mechanism of the effect of flavonoid on respiration and oxidative phosphorylation of rat liver mitochondria".
Ukr. Biokhim. Zh. (1969), 41, 5, 489-92.
- (30) BARTOS, V.; BRZEK, V.
"Exocrine secretion of the pancreas and enzymes in the lymph after administration of a combination of coumarin and rutin sulphate".
Arzneim. Forsch./Drug Res. (1979), 29(1), 3, 548-49.
- (31) TERAS, L.
"The effect of bioflavonoids on oxydative phosphorylation in rat liver mitochondria".
Vep. Med. Khim. (1967), 13, 6, 573-78.
- (32) SEGELMAN, A.B.; SEGELMAN, P.P.; VARINA, S.D.; WAGNER, H.; SELIGMANN, O.
"Cannabis sativa L. (marijuana) IX: lens aldose reductase inhibitory activity of marijuana flavone C-glycosides".
J. Pharm. Sci. (1977), 66, 9, 1358-59.
- (33) GOLOVKINA, M.T.; LEDOVA, V.; NOVOTEL'NOV, N.V.
"Effect of the ascorbic acid-flavonoid system on proteolytic enzyme activity".
Myas. Ind. (1968), 39, 5, 36-38.

- (34) KOZAWA, T.; SAKAI, K.; UCHIDA, M.; OKUYAMA, T.; SHIBATA, S.
"Calcium antagonistic action of a coumarin isolated from
Quiian-Hu, a chinese traditional medicine".
J. Pharm. Pharmacol. (1981), 33, 317-320.
- (35) THOMPSON, M.; WILLIAMS, C.R.
"Stability of flavonoid complexes of cooper(II) and flavonoid
antioxidant activity".
Anal. Chim. Acta (1976), 85, 375-81.
- (36) MIAN, E.; CURRI, S.B.; LIETTI, A.; BOMBARDELLI, E.
"Anthocyanosids and the microvascular wall. New finding in
syndrome due to abnormal capillary fragility".
Minerva Médica (1977), 68, 52, 3565-81.
- (37) CHAIKA, L.A.; KHDZAI, Y.I.
"Membrane-stabilizing effect of drugs used in treating venous
insufficiency".
Farmakol. Toksikol. (1977), 40, 3, 306-9.
- (38) GAZAVE, J.M.; ROGER, C.; ACHARD, M.; PARROT, J.L.
"Polyphenols et résistance capillaire".
Compt. Rend. Ass. Gén. Groupe Polyphenols. 1974.
- (39) BROUCKE, C.
"Chemisch en Farmacologisch onderzoek van *Origanum compactum*,
Thymus satureioides en enkele andere thymussoorten".
Tesis Doctoral. Univ. Leuven 1982.
- (40) WATTENBERG, L.W.; LAM, K.T.
"Inhibition of chemical carcinogenesis by phenols, coumerins,
aromatic isothiocyanates flavones and indoles".
in "Inhibition of Tumor Induction and Development". Zedeck Ed.
New-York 1981.

- (41) GREPPIN, H.; HORN, R.
"Action of (+)catechol on *Pseudomonas fluorescens*".
Experientia (1969), 25, 4, 429-30.
- (42) VOGEL, G.; TROST, W.; BRAATZ, R.; ODENTHAL, K.P.; BRUSEWITZ, G.; ANTWEILER, H.; SEEGER, R.
"Untersuchungen zur Pharmakodynamik, Angriffspunkt und Wirkungsmechanismus von silymarin, dem antihepatotoxischen Prinzip aus *Silybum marianum* L."
Arzneim. Forsch. (1975), 25, 1, 82-89.
- (43) COWALLINI, L.; BINDOLI, A.; SILIPRANDI, N.
"Comparative evaluation of antiperoxidative action of silymarin and other flavonoids".
Pharmacol. Res. Comm. (1978), 10, 2, 133-36.
- (44) STRUBELT, O.; SIEGERS, C.P.; YAMES, M.
"The influence of silybin on the hepatotoxic and hypoglycemic effects of praseodymium and other lanthanides".
Arzneim. Forsch./Drug Res. (1980), 30(11), 10, 1690-94.
- (45) TROST, W.; ALBACH, G.
"Antiphalloidine and anti- α -amanitine action of silybin in comparison with compounds similar to structural parts of silybin".
Experientia (1978), 34/8, 1051-52.
- (46) VOGEL, G.; TROST, W.; ALBACH, G.
"Etude de l'action protectrice de la silymarine vis-a-vis de l'intoxication para la phalloidine chez la souris".
Agressologie (1974), 15, 4, 263-70.
- (47) MONFORT, R.; ALEMANY, J.R.; SANCHEZ, F.; AGUAR, J.
"Influencia de la silimarina sobre los efectos del tetracloruro de carbono en la actividad diamino-oxidasa del hígado de ratas".
Actualidad Médica. Noviembre 1972.

- (48) TYUTYULKOVA, N.S.; ZUNWVA, S.; GOZANTCHEVA, U.; TANEV, G.
ZHIVKOV, V.; CHELIBONOVA, H.; BOZHKOVA, S.
"Hepatoprotective effect of silymarin on liver of D-galactosamine-treated rats: biochemical and morphological investigations".
Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol. (1981), 3(2), 71-77.
- (49) MEIB, R.; HEINRICH, U.; ROBENCK, H.; THEMANN, H.
"Effect of silybin on hepatic cell membranes after damage by polycyclic aromatic hydrocarbons".
Agents & Actions (1982), 12, 1/2.
- (50) VAZQUEZ DE PRADA, J.R.
"Estudios experimentales con silimarina. II. Efectos de la silimarina sobre el hígado graso producido en ratas por la intoxicación alcohólica aguda".
Medicina Clínica (1974), 62, 2, 117-18.
- (51) VAZQUEZ DE PRADA, J.R.
"Estudios experimentales con silimarina. I. Estudio comparado de actividades enzimáticas mitocondriales de hígado de ratas tratadas con etionina y con etionina más silimarina".
Medicina Clínica (1974), 1, 62, 28-30.
- (52) GIMENEZ DIAZ, F.; PEREZ MUÑOZ, C.; SALLENT, J.; HERRANZ, E.
"Estudio clínico experimental con silimarina en el tratamiento de la hepatopatías difusas de carácter potencialmente reversible".
Rev. Clínica Española (1974), 123, 3, 263-68.

- (53) PARIS, J.C.; HERAUD, M.; ANDRE, J.M.
"Appreciation de l'effet de la silymarine en pathologie hepaticque".
Méd. Prat. (1975). Junio, 109-12.
- (54) TUCHWEBER, B.; TROST, W.; SALAS, M.; SIECK, R.
"Prevention of praseodymium-induced hepatotoxicity by silybin".
Toxicol. Appl. Pharmacol. (1976), 38, 3, 559-70.
- (55) RAMON Y CAJAL, S.
"Los Tónicos de la Voluntad". Ed. Espasa-Calpe S.A. (1971).
Col. Austral. Madrid.