

## Derleme

# Hepatoprotektif bir ajan: Silymarin

Nevin KOCAMAN<sup>a</sup>, D. Özlem DABAK

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji Embriyoloji AD, ELAZIĞ, Türkiye

### ÖZET

Silymarin, Asteraceae familyasına ait devedikeni olarak da adlandırılan *Silybum marianum* bitkisinin tohumlarından elde edilir. Silymarin siroz, toksik kimyasallar ve alkolle bağlı yağ infiltrasyonu ve hepatit gibi çeşitli karaciğer hastalıklarında yaygın olarak kullanılan karaciğer koruyucu bir ajandır. Silymarinin etki mekanizması hala tam olarak anlaşılammıştır. Bununla birlikte hepatoprotektif etkileri; lipit peroksidasyonunu baskılaması, reaktif oksijen türlerinin oluşumunu azaltması ve serbest radikalleri temizlemesi aracılığıyla gerçekleşen antioksidan etkilerine atfedilebilir. Silymarinin antiinflamatuvar, antiapoptotik, antikarsinogenik, antiviral, antifibrotik ve antiangiyojenik özellikleri bildirilmiştir. Bu derleme silymarinin tedavi edici yönleri ve farmakolojik özellikleri ile ilgili özet bir bakış açısı sunmaktadır.

**Anahtar kelimeler:** *Silymarin, Karaciğer, Antioksidan*

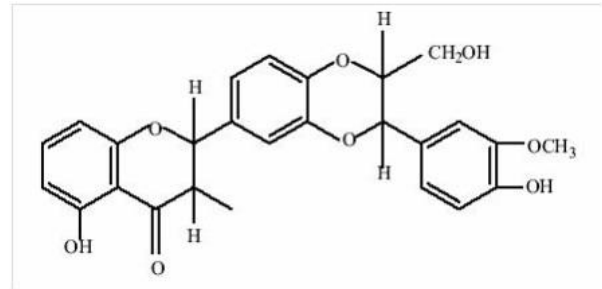
### ABSTRACT

#### A hepatoprotectif agent: Silymarin

Silymarin is a purified extract from the seeds of *Silybum marianum* L. (Asteraceae) also called "milk thistle". Silymarin is widely used as a hepatoprotectant in the treatment of various liver disorders including hepatitis, cirrhosis and fatty acid infiltration due to alcohol and toxic chemicals. Mechanism of action of silymarin is still poorly understood. However, hepatoprotection can be attributed to its antioxidant effects which are mediated by scavenging of free radicals, decreasing formation of reactive oxygen species and inhibition of fatty acid peroxidation. Anti-inflammatory, antiapoptotic, anticarcinogenic, antiviral, anti-fibrotic and anti-angiogenic properties of silymarin have also been documented. This review presents a brief overview of the pharmacological features and therapeutic aspects of silymarin.

**Key words:** *Silymarin, Liver, Antioxidant*

**S***ilybum marianum* L. Gaertn (devedikeni), Asteraceae familyasına ait bir bitki olup tohumları, karaciğer ve safra kesesi hastalıkları, toksin ve mantar zehirlenmeleri, yılan sokması, böcek ısırıklarının tedavisinde yaklaşık 2000 yıldan beri kullanılmaktadır. Tohumlarında bol miktarda silymarin bulunur. Kimyasal olarak silymarin; silibin, izosilibin, silikristin, silidianin ve dehidrosilibin izomerlerinden oluşmaktadır (1). Bu şekilde silymarin birden çok flavonolignan izomerinin karışımından oluşmuş kompleks bir yapıdır. Bu bileşiğin çözünürlüğü ve oral biyoyararlanımı düşüktür. Bu yüzden terapötik aktivitesini artırmak için nanoemülsiyon formülleri elde edilmiştir (2). Silymarinin ana maddesi olan silibin yaklaşık olarak %60'ını kapsar (Şekil 1) (3).



Şekil 1. Silymarinin kimyasal yapısı.

### Silymarinin Farmakolojisi

#### Silymarinin Etki Mekanizması

Silymarinin etki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte literatürde 4 farklı şekilde açıklanmıştır:

1. Glutatyon (GSH)'un intrasellüler içeriğini düzenleyerek serbest radikal temizleyicilerle birlikte lipit peroksidasyonuna karşı etki gösterir.

2. Hepatotoksik ajanların hepatositlere girmesini önleyen hücre membranı stabilizatörü ve permeablite düzenleyicisi olarak davranır.
3. Karaciğer rejenerasyonunu artırıp RNA polimerazın aktivitesini uyarıcı etki yapar.
4. Karaciğer stellate hücrelerinin (ito) miyofibroblastlara transformasyonunu inhibe ederek siroza neden olan kollajen fibrillerin artışına engel olur (4).
5. Glukuronidasyonu artırır ve glutatyonun tükenmesinin önler,
6. Toksik etki ile bozulmuş immün sistemi düzenler (Şekil 2) (5).

Silymarin suda çözünmediğinden dolayı bitkisel çay olarak tüketilemez. Standart kapsüllü bitki ekstresi kullanılır. Silymarin, östrojenik aktiviteye sahip olup, ilaç taşıyan glikoproteinlerin düzenlenmesinde ve nükleer faktör kappa B (NF-kB)'yi baskılayarak DNA ekspresyonunu etkilemektedir (6).

#### **Silymarinin Absorbsiyonu**

Oral alımı sonrası emilim nispeten az olup, yapılan çalışmalarda sıçanlarda oral uygulamadan 24 saat sonra safrada %2-3 oranında tespit edilmiştir. Hayvanlarda ve insanlarda oral alımı takiben pik plazma konsantrasyonuna 4 ila 6 saat sonra ulaşır (7).

#### **Silymarinin Eliminasyonu**

Karaciğerde sulfat ve glukuronik asit ile konjuge edilerek safrayla atılır. Sonra bağırsak florası etkisiyle hidrolize uğrar ve yeniden emilir. Silymarin hayvan modellerinde oral olarak alındığında, emilim oranının %35 civarında olduğu gösterilmiştir (8). Silymarinin ortalama yarılanma ömrü 6-8 saat olup genelde safra yoluyla, daha az miktarda idrar yoluyla atılır (9). Silymarin erişkinlerde günde üç kez 100-300 mg/kg dozunda verilir. Akut toksisite çalışmalarında Silymarinin çok iyi tolere edildiği gösterilmiştir (10).

#### **Silymarinin Etkileri**

Silymarin, bazı kimyasalların karsinojenik etkilerini inhibe eder. İnsan prostat kansinomunda, silymarinin mitojenik sinyal yollarını ve hücrel döngü düzenleyicilerini baskıladığı görülmüştür. Silymarin ayrıca steroid hormonlara bağlı tümörleri inhibe eder ve anti-angiyojenik etki gösterir (6,11,12). Silymarinin hepatoprotektif etkilerinde ana mekanizmalar antioksidasyon etki olup lipid peroksidasyonunu engelleyip, güçlü detoksifikasyon ve GSH azalmasına karşı koruyucu etkiler yapar. Yine çalışmalarda liopoksijenazı inhibe ederek karaciğerde lökotrien oluşumunu engellediği, hepatositlerde protein sentezini arttırdığı, tümör öncüllerinin aktivitesini azalttığı, mast hücre stabilizasyonunu sağladığı, immün fonksiyonları düzenlediği gösterilmiştir (13).

Antioksidan özelliğine bağlı olarak silymarinin bazı nörodegeneratif hastalıkların tedavisinde yararlı olabileceği düşünülmüştür (14). Hiperlipidemik farelerde, plazma kolesterolünün ve LDL (Low Density Lipoprotein) seviyelerinin silymarin etkisiyle düşürüldüğü görülmüştür (15).

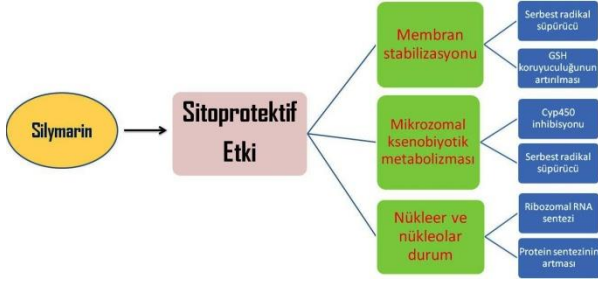
Silymarinin viral hepatit, toksik hepatit, karaciğer yağlanması, siroz, iskemik hasar ve radyasyon toksisitesinde güçlü antioksidan özelliği kanıtlanmıştır (16). Yine silymarinin glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz ve katalaz gibi antioksidan enzimlerin yapımını da uyardığı bilinmektedir (17). Silymarinin tümör nekroz faktör alfa (TNF- $\alpha$ )'nın neden olduğu apoptotik hücre ölümüne karşı da koruyucu etkileri vardır (18).

Silymarinin hücre kültürlerinde farklılaşmayı baskıladığı ve oksidatif stresin tetiklediği apoptozise karşı primer hippokampal nöronları koruduğu; glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz ve katalaz gibi antioksidan enzimlerin pankreatik aktivitesini uyardığı, makrofaj ve T-lenfositlerdeki interlökin 1 $\beta$ , interferon- $\gamma$ , interferon- $\alpha$  gibi inflamatuvar sitokinlerin üretimini inhibe ederek pankreastaki  $\beta$  hücrelerini de koruduğu gösterilmiştir (6, 12, 14, 19).

Böbrek nakillerinde kullanılan soğuk iske mi/reperfüzyon işlemi sırasında oluşan serbest radikaller, böbrek tübül hücrelerini etkileyerek; protein-DNA biyosentezinde ve laktat dehidrogenaz aktivitesinde artışa, sonuç olarak kimyasal hasara neden olmaktadır. Silymarin kullanımı bu gibi nefropatolojik etkileri ya azaltmış ya da tamamen ortadan kaldırmıştır (6). Yine sıçanlarda cisplatin ile oluşturulan nefrotoksistide silymarinin koruyucu etkisi araştırılmış ve cisplatinden önce silymarin uygulanmasının glomerular ve böbrek toksisitesinde önemli düşüşlere neden olduğu gözlenmiştir (20). Anti-angiyojenik etkisi ise insan göbek kordonu toplardamar endotel hücreleri üzerinde çalışılmış, etkisinin doz bağımlı olduğu ve vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF)'nü azaltmasıyla ilişkili olduğu bulunmuştur. Aynı etki insan ovaryum kanserinde de kanıtlanmıştır (21). Silymarinin fotokarsinogenezise karşı koruyucu olduğu, deride lokal silymarin uygulamasını takiben ultraviyole-B (UV-B) nedenli tümörün, silymarin uygulanmamış hayvanlardaki tümör büyüklüğüyle karşılaştırıldığında azaldığının tesbiti ile anlaşılmıştır. Silymarinin anti-karsinojenik etkisi incelendiğinde kanser hücrelerinde apoptozisi arttırdığı, deride oluşan ödemi belirgin derecede azalttığı, katalaz aktivitesini tükettiği, siklooksijenaz ve ornitin dekarboksilaz aktivitesini indüklediği belirtilmiştir. Silymarin'in gerçekleştirdiği bu etkiler fotokarsinogenezise karşı koruma sağlamaktadır (22, 23). Aynı şekilde insan melanoma hücrelerinde de ultraviyole uygulamasına karşı koruyuculuğu gösterilmiştir (24).

Silymarin ultraviyolenin tetiklediği oksidatif stres, inflamasyon, immün cevap ve DNA hasarı gibi

tehlikeli etkileri baskılar ve azaltır. Silymarin sitotoksisiteyi ve kaspaz aktivitesini ortadan kaldırır. Ayrıca silymarin ateroskleroza karşı adhezyon moleküllerini de etkiler (6, 25, 26).



Şekil 2. Silymarinin etki mekanizmaları.

Silymarinin asıl aktivitesi ise içerdiği flavanolignanlar ve diğer polifenolik bileşikler ile antioksidan gibi davranması ve buna bağlı olarak serbest radikal önleyici etki göstermesidir (27).

### Silymarinin Karaciğer Üzerine Etkileri

Silymarin birçok yararlı etkilerinden dolayı dikkat çekmiştir. Karaciğeri kimyasallara karşı koruma ve antioksidan etkileri dışında kolesterol düşürme, kardiyoprotektif ve nöroprotektif aktiviteleri de vardır (6). Temel aktivitesi polifenolik içeriğinin antioksidan etkisidir. Bu yüzden bu konudaki çoğu çalışma polifenolik içeriği üzerinde odaklanmıştır (28). In vivo ve in vitro çalışmalarda çeşitli toksinlere karşı koruyucu etkisi farklı organ ve hücre tipleri üzerinde farklı mekanizmalarla kanıtlanmış olup özellikle oksidatif stresle mücadelede serbest oksijen ürünlerini ortadan kaldırmasıyla dikkat çekmektedir (6). Silymarin 30 yılı aşkın bir süredir klinik olarak alkole bağlı karaciğer hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır (29). Silymarin karaciğer hastalıklarının tedavisinde oldukça iyi araştırılmış bir bitkidir (30). Eczanelerde kapsül halinde satılan bu madde özellikle karaciğerde çoklu etkileri sebebiyle birçok karaciğer hastası tarafından kullanılmaktadır (16). Silymarinin medikal amaçlı olarak en çok siroz, hepatit gibi karaciğer hastalıklarından koruyucu rolü üzerinde durulmaktadır (31, 32). Bu hastalıklarda silymarin, destekleyici tedavi amaçlı kullanılmaktadır (33, 34).

Birçok toksin serbest radikal mekanizmalarla hasar verici etkiler oluşturur. Silymarinin karaciğer yenilenmesindeki şaşırtıcı etkisi, protein sentezini uyarması, hücresel GSH seviyesini arttırması ve lipid peroksidasyonunu baskılamasıyla açıklanabilir (6). Hayvan modellerinde ve insan hepatositlerinin primer kültüründe karbon tetraklorid, D galaktozamin, tioasetamid, etanol, parasetamol, benzopiren, thallium, bakteriyel endotoksinler, viral hepatit, toksik hepatit, alkol nedenli karaciğer hastalıklarına bağlı karaciğer hasarına karşı koruyucudur (35). Hepatoprotektif bir ajan olarak tanımlanan silymarin ve preparatları alkol

tüketimi ile ilişkili karaciğer hastalıkları, kronik hepatit, siroz tedavisi ve çevresel toksin etkilerinin tedavisinde destekleyici olarak kullanılmaktadır (16, 17). Silymarinin aktif komponentlerinden olan silybum marianum da hasarlı karaciğer dokularının rejenerasyonunda etkilidir (36). İnsanlarda amanita phalloides, fenotiazin, bütrifenones kaynaklı karaciğer zehirlenmelerinde silymarin karaciğer hasarını azaltmaktadır. Silymarinin antioksidan etkisi, protein sentezini uyarması ve hücre yenilenmesine sebep olması sebebiyle birçok kanser tipinin yayılmasını azaltabileceği düşünülmektedir (20, 37, 38).

Hepatik stellat hücreleri karaciğer fibrogenesisinde rol oynarlar. Çeşitli etkilere yanıt olarak çoğalıp myofibroblastlara dönüşürler. Silymarin sıçan hepatic stellat hücrelerinin myofibroblastlara dönüşümünü ve fibrosis için gerekli hücre dışı matriks içeriğinin gen ekspresyonunu da azalttığı gösterilmiştir. Bu çalışmalar silymarinin anti-fibrotik etkisini kanıtlamaktadır (6, 39). Karaciğer fonksiyonları; serum alkalin fosfataz, alanin aminotransferaz, aspartat amino transferaz, antioksidatif-oksidatif stres parametreleri ve karaciğer histopatolojisi ile değerlendirilir (2). Silymarinin karaciğer ve safra hastalıklarına karşı koruyucu, antikarsinojenik, antiapoptotik, antioksidan, hücre çoğalmasını arttıran, nörotoksinlere ve kardiyotoksinlere karşı koruyucu, östrojenik ve anti östrojenik etkileri vardır (6, 16).

Silymarin; serbest radikalleri ve lipid peroksidasyonunu azaltması sebebiyle bir antioksidan olduğu gibi, antifibrotik aktiviteye de sahiptir ve aynı zamanda hepatosit hücre membran reseptörlerindeki toksin bağlayıcıları inhibe ederek toksin blokaj ajanı gibi de çalışır (30). Yine hücre içi serbest radikallerini de anlamlı düzeyde azaltmaktadır (40). Farelerde silymarinin amanita zehirlenmesinden hemen önce uygulanması, karaciğer toksisitesini %100 engellediği, ilk 24 saat içinde uygulanması durumunda ise ağır karaciğer hasarı ve sıçan ölümünü engellediği görülmüştür (41). Etanol ve karbon tetraklorür gibi etkenler fibrinogenezi indüklediklerinden, stellate hücreler myofibroblastlara dönüşerek, karaciğerde kollajen birikimini sağlarlar (4). Hayvanlarda silymarin; asetaminofen, karbontetraklorür, radyasyon ve aşırı doz demir, fenilhidrazin, alkol, soğuk iskemisi ve amanita phalloides'in yol açtığı karaciğer hasarını azaltmaktadır (30). Silymarinin hepatic dokuda belirgin anti-inflamatuvar etkileri pek çok çalışmada gösterilmiştir. Bu etkiler; mast hücre stabilizasyonu, nötrofil migrasyon inhibisyonu, Kupffer hücre inhibisyonu, lökotrien ve prostoglandin sentez inhibisyonu ile gerçekleşmektedir (42). Silymarin alkolik karaciğer hasarının, akut ve kronik viral hepatitlerin ve toksinle indüklenen karaciğer hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır (30). Ayrıca hepatic sitokrom P450 enzimini inhibe ettiği (43) ve diyetle bağlı hiperkolesterolemide, silymarinin etkisiyle HDL (High Density Lipoprotein)

kolesterolünde artış ve total kolesterolda düşüş saptandığı bildirilmiştir (44). Amanitin kullananlarda, viral hepatitlerde, alkolik olmayan steatohepatitlerde, ilaçlara bağlı oluşan toksik hepatitlerde ve karaciğerin diğer toksik hasarlarında yüksek etkinliği gösterilmiştir (45). Nanoemülsiyon formları ise toksik madde ile karşılaşıldığında; glutamat oxaloasetat transaminaz, pirüvat transaminaz, total bilirubin ve doku lipit peroxidazlarında azalmaya; albumin, globulin ve doku glutasyonunda artmaya neden olmuştur (2). Promyelositik lösemili 34 yaşında bir kadında 18 ay boyunca metotreksat ve 6-merkaptopürin ile yapılan kemoterapi sırasında karaciğerde doza bağlı olarak hasarlar oluşmuş ancak hastaya 4 ay süresince bu ilaçlara ek olarak 800 mg/gün dozda silymarin verildiğinde aminotransferaz seviyelerinin normale döndüğü görülmüştür (6). Başka bir çalışmada karaciğer enzim yüksekliği olan hastaların 4 haftalık takibinde 420 mg/gün silymarin uygulanmasının enzimleri belirgin olarak düşürdüğü ve karaciğer biyopsilerinin histolojik incelemelerinde anlamlı düzelmeler görülmüştür (46). Plasebo kontrollü bir çalışmada, siroz yönünden pozitif biopsisi olan 170 hastaya silymarin günde 3 kez 140 mg verilip, 2-6 yıl takip edilmiş, alkolle bağlı siroz hastalarında anlamlı bir iyileşme saptanırken portal hipertansiyonu olan non-alkolik siroz hastalarında ise etkisiz bulunmuştur (47). Yine hayvan çalışmalarında, ribozomların oluşumunu ve DNA sentezini önemli derecede artırdığı görülmüştür (48). Karaciğer fibrogenezinde karaciğer stellate hücrelerinin çok önemli rolü vardır. Etanol, karbontetraklorür gibi etkenler fibrozisi tetikler. Bu durumda stellate hücreler miyofibroblastlara dönüşür ve karaciğerde kollajen birikimine neden olurlar. Silybin'inin stellate hücrelerin proliferasyonunu

azaltarak, fibrozu engellediği bilinmektedir (49). Silymarinin yapısında bulunan isosilybin b'nin prostat kanserinin profilaksi ve tedavisinde etkili olabileceği düşünülmektedir (50). Son zamanlarda amanitine bağlı karaciğer sitotoksitesinde TNF- $\alpha$ 'nın rolü araştırılmış ve silymarinin TNF- $\alpha$ 'nın etkilerini önlediği gösterilmiştir (26). Kronik hepatitli hastalarda, 3-12 aylık silymarin tedavisi klinik ve laboratuvar iyileşme ve karaciğer fonksiyonlarında belirgin bir düzelmeye neden olmuştur (28). Serbest radikallere karşı olan antioksidan yeteneği; lipid peroksidasyonunu engelleyerek membran stabilizasyonu sağlaması ve intrasellüler GSH konsantrasyonunu artırıcı özelliğiyle açıklanmaktadır. Ayrıca; silymarin, süperoksit anyonu gibi radikaller ve nitrik oksit üretimini de azaltmaktadır. Silymarin, karaciğer koruyucu işlevi sayesinde pro-apoptotik bax protein düzeylerini azaltmaktadır (40).

Silymarinin ayrıca 5-lipooksijenaz inhibisyonu üzerinden antiinflamatuvar ve antiartritlik özellikleri olduğu da bildirilmiştir (51). Silymarinin yan etkileri açısından kullanımı oldukça güvenlidir. Literatürde son derece az sayıda sadece gastrointestinal bozukluklar ve allerjik deri döküntüleri şeklinde yan etkileri bildirilmiştir (29).

Sonuç olarak; antiinflamatuvar, antiapoptotik, antikarsinojenik, antiviral, antifibrotik ve antianjiyojenik özelliklere sahip, iyi tolere edilebilen ve kullanımının güvenli olduğu bildirilen silymarinin farklı hastalıklarda da tedavi edici yönleri açısından araştırmalara açık olduğu ve gelecek vadettiği söylenebilir.

## KAYNAKLAR

- Ding T, Tian S, Zhang Z, et al. Determination of active component in silymarin by RP-LC and LC/MS. *J. Pharmacol. Biomed. Anal* 2001; 26: 155-61.
- Parveen R, Baboota S, Ali J, Ahuja A, Vasudev SS, Ahmad S. Effects of silymarin nanoemulsion against carbon tetrachloride-induced hepatic damage. *Arch Pharm Res* 2011; 34: 767-74.
- Demartini G, Esposti D. Pharmacology of Silymarin. *Clin Drug Invest* 2002; 22: 51-65.
- Fuchs EC, Weyhenmeyer R, Weiner OH. Effects of silibinin and of a synthetic analogue on isolated rat hepatic stellate cells and myofibroblasts. *Arzneimittelforschung* 1997; 47: 1383-7.
- Campose R, Garrido A, Guerra R, Velenzuela A. Silybin dihemisuccinate protects against glutathione depletion and lipid peroxidation induced by acetaminophen on rat liver. 1989; 55: 417-419.
- Kren V, Walterova D. Silybin and Silymarin-new effects and applications. *Biomed Papers* 2005; 149: 29-41.
- Morazzoni P, Montalbetti A, Malandrino S. Comparative pharmacokinetics of silipide and silymarin in rats. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 1993; 18: 289-97.
- Mennicke W. What is known about the metabolism and pharmacokinetics of silymarin. In: Braatz R, Schneider CC (Editors). *Symposium on the pharmacodynamic of silymarin*. Munich, Berlin, Vienna: Urban & Schwarzenberg. 1976; 98-102.
- Pepping J. Milk thistle: *Silybum marianum*. *Am. J. Health Syst Pharm* 1999; 56: 1195-7.
- Dixit N, Baboota S, Kohli K, Ahmad S, Ali J. Silymarin: A review of and bioavailability enhancement approaches. *Indian J Pharm* 2007; 39: 172-179.
- Zi X, Agarwal R. Silibinin decreases prostate-specific antigen with cell growth inhibition via G1 arrest, leading to differentiation of prostate carcinoma cells: implications for prostate cancer intervention. *Proc Natl Acad Sci* 1999; 96: 7490-5.
- Kang JS, Jeon YJ, Park SK, Yang KH, Kim HM. Protection against lipopolysaccharide-induced sepsis and inhibition of interleukin-1 and prostaglandin E2 synthesis by silymarin. *Biochem Pharmacol* 2004; 67: 175-81.
- Miguez MP, Anundi I, Sainz-Pardo LA. Hepatoprotective mechanism of silymarin: no evidence for involvement of cytochrome P450 2E1. *Chem Biol Interact* 1994; 91: 51-63.

14. Nencini C, Giorgi G, Michelli L. Protective effect of silymarin on oxidative stress in rat brain. *Phytomedicine* 2007; 14: 129-35
15. Skottova N, Kreeman V. Silymarin as a potential hypocholesterolaemic drug. *Physiol* 1998; 47: 1-7.
16. Fraschini F, Demartini G, Esposti D. Pharmacology of silymarin. *Clinical Drug Investigation* 2002; 22: 51-65.
17. Dvorák Z, Kosina P, Walterová D, Simánek V, Bachleda P, Ulrichová J. Primary cultures of human hepatocytes as a tool in cytotoxicity studies: cell protection against model toxins by flavonolignans obtained from *Silybum marianum*. *Toxicol Lett* 2003; 137: 201-12.
18. Srivastava S, Srivastava AK, Srivastava S, Patnaik GK, Dhawan BN. Effect of picroliv and silymarin on liver regeneration in rats. *Indian Journal of Pharmacology* 1994; 26: 19-22.
19. Soto C, Recoba R, Barron H, Alvarez C, Favari L. Silymarin increases antioxidant enzymes in alloxan-induced diabetes in rat pancreas. *Comp Biochem Physiol* 2003; 136: 205-12.
20. Tager M, Dietzmann J, Thiel U, Neumann Kh, Ansorge S. Restoration of the cellular thiol status of peritoneal macrophages from CAPD patients by the flavonoids silibinin and silymarin. *Free Rad Res* 2000; 34: 137-51.
21. Yang SH, Lin JK, Chen WS, Chiu JH. Anti-angiogenic effect of silymarin on colon cancer LoVo cell line. *J Surg Res* 2003; 113: 133-8.
22. Raschini F, Demartini G, Esposti D. Pharmacology of Silymarin. *Clin Drug Invest* 2002; 22: 51-65.
23. Sobodova A, Walterova D, Psotova J. Influence of silymarin and its flavonolignans on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>- induced oxidative stress in human keratinocytes and mouse fibroblasts. *Burns* 2006; 32: 973-9.
24. Vaid M, Singh T, Prasad R, Katiyar SK. Silymarin inhibits melanoma cell growth both in vitro and in vivo by targeting cell cycle regulators, angiogenic biomarkers and induction of apoptosis. *Mol Carcinog* 2014 Aug 30. doi: 10.1002/mc.22208.
25. Mohan S, Dhanalakshmi S, Mallikarjuna GU, Singh RP, Agarwal R. Silibinin modulates UVB-induced apoptosis via mitochondrial proteins, caspases activation, and mitogen-activated protein kinase signaling in human epidermoid carcinoma A431 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 320: 183-9.
26. Kang JS, Park SK, Yang KH, Kim HM. Silymarin inhibits TNF- $\alpha$  induced expression of adhesion molecules in human umbilical vein endothelial cells. *FEBS Lett* 2002; 550: 89-93.
27. De Groot H, Rauhen U. Tissue injury by reactive oxygen species and the protective effect of flavanoids, *Fundam. Clin. Pharmacol* 1998; 12: 249-55.
28. Flora K, Hanh M, Rosen H, Benner K. Milk thistle (*Silybum marianum*) for the therapy of liver disease. *Am J Gastroenterol* 1998; 93: 139-43.
29. Saller R, Meier R, Brignoli R. The use of silymarin in the treatment of liver diseases 2001; 61: 2035-63.
30. Abenavoli L, Capasso R, Milic N, Capasso F. Milk thistle in liver diseases: past, present, future. *Phytother Res* 2010; 24: 1423-32
31. Hackett ES, Twedt DC, Gustafson DL. Milk thistle and its derivative compounds: a review of opportunities for treatment of liver disease. *J Vet Intern Med* 2013; 27: 10-6.
32. Rolo AP, Oliveira PJ, Moreno AJM, Palmeira CM. Protection against post-ischemic mitochondrial injury in rat liver by silymarin or TUDC. *Hepatology Research* 2003; 26: 217-24.
33. Veena J, Muragundla A, Sidgiddi S, Subramaniam S. Non-alcoholic fatty liver disease: need for a balanced nutritional source. *Br J Nutr* 2014; 112: 1858-72.
34. Yang Z, Zhuang L, Lu Y, Xu Q, Chen X. Effects and tolerance of silymarin (milk thistle) in chronic hepatitis C virus infection patients: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Biomed Res Int* 2014; doi: 10.1155/2014/941085.
35. Baretto R, Kawakita S, Tsuchiya J, et al. Metal-induced oxidative damage in cultured hepatocytes and hepatic lysosomal fraction: beneficial effect of a curcumin/absinthium compound. *Chin J Dig Dis* 2005; 6: 31-6.
36. Ahmad N, Fazal H, Abbasi BH, Anwar S, Basir A. DPPH free radical scavenging activity and phenotypic difference in hepatoprotective plant (*Silybum marianum* L.) *Toxicol Ind Health* 2013; 29: 460-7.
37. Farghali H, Kamenikova L, Hynie S, Kmonickova E. Silymarin effects on intracellular calcium and cytotoxicity: A Study in perfused rat hepatocytes after oxidative stress injury. *Pharmacol Res* 2000; 41: 231-37.
38. Matsuda T, Ferreri K, Todorov I, et al. Silymarin protects pancreatic  $\beta$ -cells against cytokine mediated toxicity: Implication of c-Jun NH<sub>2</sub>-Terminal Kinase and Janus Kinase/Signal transducer and activator of transcription pathways. *Endocrinology* 2004; 146: 175-85.
39. Luper S. A review of plants used in the treatment of liver disease: Part I. *Altern Med Rev* 1998; 3: 410-21.
40. Burczynski FJ, Wang G, Nguyen D, Chen Y, Smith HJ, Gong Y. Silymarin and hepatoprotection. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 2012; 37: 6-10.
41. Desplaces A, Choppin J, Vogel G. The effects of silymarin on experimental phalloidine poisoning. *Arzneimittelforschung* 1975; 25: 89-96.
42. Dehmlow C, Erhard J, de Groot H. Inhibition of Kupffer cell functions as an explanation for the hepatoprotective properties of silibinin. *Hepatology* 1996; 23: 749-54.
43. Baer-Dubowska W, Szafer H, Krajczakuzniak V. Inhibition of murine hepatic cytochrome P450 activities by natural and synthetic phenolic compounds. *Xenobiotica* 1998; 28: 735-43.
44. Muriel P, Mourelle M. Prevention by silymarin of membrane alterations in acute CCl<sub>4</sub> liver damage. *J Appl Toxicol* 1990; 10: 275-9.
45. Matveev AV, Koniaeva EI, Kurchenko VP, Shchekatikhina AS. Hepatoprotective properties of silymarin. *Eksp Klin Gastroenterol* 2011; 2: 130-5.
46. Salmi HA, Sarna S. Effect of silymarin on chemical, functional, and morphological alterations of the liver; A double blind controlled study. *Scand J Gastroenterol* 1982; 17: 517-21.
47. Ferenci P, Dragosics B, Dittrich H. Randomized controlled trial of silymarin treatment in patients with cirrhosis of the liver. *J Hepatol* 1989; 9: 105-13.
48. Sonnenbichler J, Zetl I. Biochemical effects of the flavonignane silibinin on RNA, protein and DNA synthesis in rat liver. *Prog. Clin. Biol. Res* 1986; 213: 319-31.
49. Magliulo E, Carosi PG, Minoli L. St and treated with silymarin. *Arzneimittelforschung* 1973; 23: 161-67.
50. Davis-Searles PR, Nakanishi Y, Kim NC, et al. Milk thistle and prostate cancer: differential effects of pure flavonolignans from *Silybum marianum* on antiproliferative end points in human prostate carcinoma cells. *Cancer Res* 2005; 15: 4448-57.
51. Gupta OP, Sing S, Bani S, et al. Anti-inflammatory and anti-arthritis activities of silymarin acting through inhibition of 5-lipoxygenase. *Phytomedicine* 2000; 7: 21-4.