



مروری بر اثرات ضدتوموری سیلیبینین

مهدی مشهدی اکبر بوجار: دکتری تخصصی، گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تهران، ایران، و مرکز تحقیقات طب تجربی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران (*نویسنده مسئول) mahdimashhadi@yahoo.com

مسعود مشهدی اکبر بوجار: دکتری تخصصی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

سیده گل محمد: کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

چکیده

کلیدواژه‌ها

سیلیبینین،
خارمریم،
سرطان،
آپوپتوز

تاریخ دریافت: ۹۷/۹/۳

تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۰/۲۶

سیلیبینین جزء اصلی سیلیمارین (عصاره گیاه دارویی *Silybum marianum*) است که به شکل سنتی برای درمان طیف وسیعی از بیماری‌های کبدی مورد استفاده قرار می‌گیرد. به تازگی، سیلیبینین و مشتقات آن در مدل‌های *in vivo* و *in vitro* اثرات قابل توجهی در مهار انواع مختلف تومورها جمله پوست، سینه، ریه، کولون، مثانه، پروستات، کلیه و کبد نشان داده‌اند. این فلاؤنونیک‌با الای اپوپتوز، تقویت فاکتورهای سرکوب‌کننده تومور و متوقف کننده چرخه سلولی و همچنین مهار فاکتورهای رشد و میانجی‌گرهای اشاعه دهنده تکثیر و تقسیم سلولی تومورها اثرات ضدنئوپلاسم خود را پیش می‌برد. در این مقاله، خلاصه‌ای از مکانیسم‌های مولکولی مهم دخیل در عملکرد سیلیبینین، مطالعات حیوانی و کارآزمایی‌های مهم بالینی صورت گرفته در این زمینه ارائه گردیده است. نتایج این مطالعات چشم‌انداز جامع‌تری از سیلیبینین فراهم و به بهینه‌سازی اثرات آن در شیمی‌درمانی سرطان کمک می‌کند.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت کننده: حامی مالی نداشته است.

شیوه استناد به این مقاله:

Mashhadi Akbar Boojar M, Mashhadi Akbar Boojar M, Golmohammad S. An overview of the anti-tumor effects of Silibinin. Razi J Med Sci. 2019;25(12):116-129.

*انتشار این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 1.0 صورت گرفته است.



Review Article

An overview of the anti-tumor effects of Silibinin

✉ **Mahdi Mashhadi Akbar Boojar**, PhD, Department of Pharmacology and Toxicology, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran, & Experimental Medicine Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran (*Corresponding author) mahdimashhadi@yahoo.com
Massoud Mashhadi Akbar Boojar, PhD, Department of Cell and Molecular Biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran
Sepide Golmohammad, MSc, Department of Cell and Molecular Biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

Abstract

Silibinin is a major component of silymarin (*Silybum marianum*), which has traditionally been used to treat a wide range of liver diseases. Recently, Silibinin and its derivatives in both *in vitro* and *in vivo* models have shown a significant inhibitory effect in different types of tumors including skin, breast, lung, colon, bladder, prostate, kidney and liver. The chemopreventive potentials of this flavonoid are promoted by inducing apoptosis, enhancing tumor suppressor and cell cycle inhibitors, inhibiting growth factors, and attenuating proliferative mediators. In this paper, a summary of the important molecular mechanisms involved in Silibinin anti-cancer effects, animal studies and important clinical trials have been presented. The results of these studies will provide a more comprehensive perspective of Silibinin and help to optimize its effects in cancer chemotherapy.

Conflicts of interest: None

Funding: None

Keywords

Silibinin,
Milk thistle,
Tumor,
Apoptosis

Received: 24/10/2018

Accepted: 16/01/2019

Cite this article as:

Mashhadi Akbar Boojar M, Mashhadi Akbar Boojar M, Golmohammad S. An overview of the anti-tumor effects of Silibinin. *Razi J Med Sci*. 2019;25(12):116-129.

This work is published under CC BY-NC-SA 1.0 licence.



سیلیمارین، در بسیاری از موارد القاکننده قوی رخداد آپوپتوz بوده و در دو دهه اخیر جهت درمان بسیاری از تومورها (بهنهایی یا توأم با دیگر داروهای شیمی درمانی) مورد مطالعه قرار گرفته است (۸).

مطالعات بسیاری به توصیف مکانیسم و مسیرهای پیامرسان سلولی دخیل در اثرات ضدسرطان سیلیبینین و شمار دیگری نیز به بررسی تفکیکی اجزای سیلیمارین و تغییرات ساختمانی آنها جهت رسیدن به مؤثرترین مولکول در این زمینه پرداخته اند (۹). اثرات امیدبخش مهارکننده تومور سیلیبینین در ردههای مختلف سلولی، مطالعات حیوانی، به کارگیری توأم سیلیبینین و دیگر داروهای شیمی درمانی و سرانجام کارآزمایی های بالینی مهم موضوع بحث این مقاله مروری است.

سیلیمارین و اثرات بیولوژیکی اجزای آن

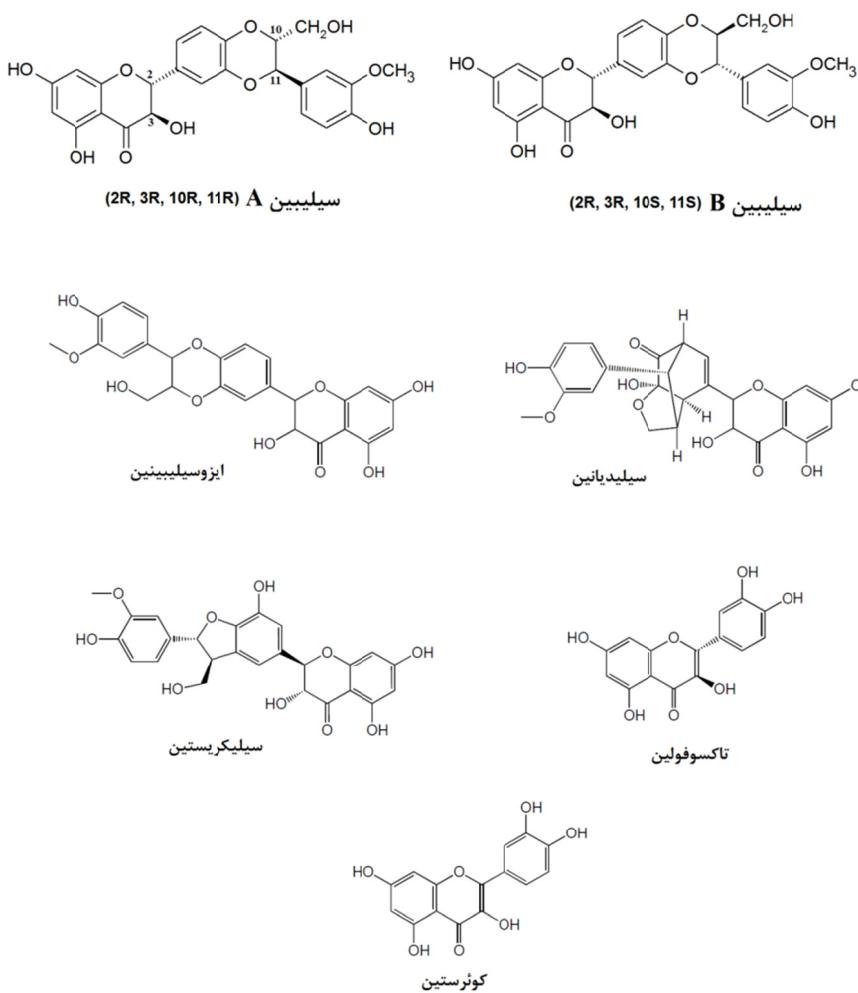
به طور کلی، سیلیمارین تمام شامل ایزومرهای شیمیایی از دسته فلاونولیگنان ها است که مهم ترین آنها شامل هفت ترکیب سیلیبینین، ایزو سیلیبینین، دهیدرو سیلیبینین، سیلی دیانین، سیلی کریستین، تاکسوفولین و کوئرستین می باشند (۱۰). در میان این ایزومرها، سیلیبینین (که گاهی سیلیبین نیز نامیده می شود) بیشترین، مهم ترین و فعال ترین جزء فراورده بوده که حدود ۶۰ تا ۷۰ درصد آن را تشکیل می دهد که خود شامل دو فلاونولیگنان دیاسترئوایزومریک به (2R, 3R, 10R, 11R) A و سیلیبین (2R, 3R, 10S, 11S) B می باشد: سیلیبین A (۷,۶) و سیلیبین B (۷,۶). ساختار مولکولی اجزای اصلی تشکیل دهنده سیلیمارین در شکل ۱ به نمایش درآمده است.

در طب جدید، شواهد متعددی مبنی بر اثرات محافظتی سیلیبینین در طیف وسیعی از اختلالات کبدی شامل هپاتیت، کبد چرب، آسیب کبدی توسط موادی مانند تتراکلرید کربن و الکل و حتی سیروز، اختلالات تحلیل نورون ها و سمیت عصبی، دیابت شیرین، سمیت کلیوی و شمار زیادی از سرطان بافت های مختلف منتشر شده است (۱۱). مکانیسم های مطرح شده برای عمدۀ اثرات درمانی ذکر شده شامل

در طب امروز، اهمیت و گسترش استفاده از گیاهان دارویی در پیشگیری و درمان بیماری های مختلف خصوصاً سرطان بر کسی پوشیده نیست. گیاهان، غنی از متابولیت های ثانویه و فیتوشیمیایی هستند که از هر دو منابع غذایی و دارویی به دست می آیند (۱). در این میان، شناسایی و بررسی اثرات اجزای شیمیایی اصلی و مؤثر گیاهان در روز این اثرات، تلاش برای جداسازی و تقویت آنها از طریق انجام مطالعات ساختمان - اثر، فرمولاسیون بهینه و به کارگیری روش های تجویز مناسب اهمیت اساسی دارد. بدیهی است که آشنایی با مکانیسم های مولکولی دخیل در عملکرد اجزاء مؤثر آنها نیز به این روند کمک بسزایی خواهد کرد (۳, ۲).

در میان اجزای فعال داروهای گیاهی، کور کومین، رزوراترول، کوئرستین، امودین، سیلیبینین و مشتقات آنها بیش از سایرین در درمان اختلالات مزمن و شایع مانند بیماری های قلبی - عروقی، متابولیکی، نوروزنیک و سرطان مورد بحث بوده اند. تخمین زده می شود که حدود شصت درصد از داروهای ضدسرطان پر مصرف فعلی از منابع طبیعی به دست آمده اند. این عوامل در پیشگیری از سرطان نیز نقش مهمی ایفا می کنند، زیرا توانایی بالایی برای حذف رادیکال های آزاد، مهار رشد سلولی و ایجاد آپوپتوz دارند (۱).

خارمریم با نام علمی *Silybum marianum* گیاهی از خانواده کاسنی (Asteraceae) است و در عربی، انگلیسی و فرانسوی به ترتیب عکوب، Milk thistle و Silybe نامیده می شود. میوه (بذر) این گیاه یک تا دوساله که در بسیاری از مناطق شمالی، غرب و جنوب ایران می روید، از گذشته های دور تاکنون مورداستفاده فراوان دارویی داشته است (۴). مجموعه فلاونوئیدهای Milk thistle یعنی سیلیمارین، به عنوان یکی از بهترین ترکیبات مکمل در درمان هپاتیت ویروسی، سیروز ناشی از سوء مصرف الکل و آسیب ناشی از سوم صنعتی به سلول های کبدی و مهم تر از همه، اثرات ضد توموری مورداستفاده قرار گرفته است (۵). سیلیبینین به عنوان فعال ترین جزء از فلاونوئیدهای



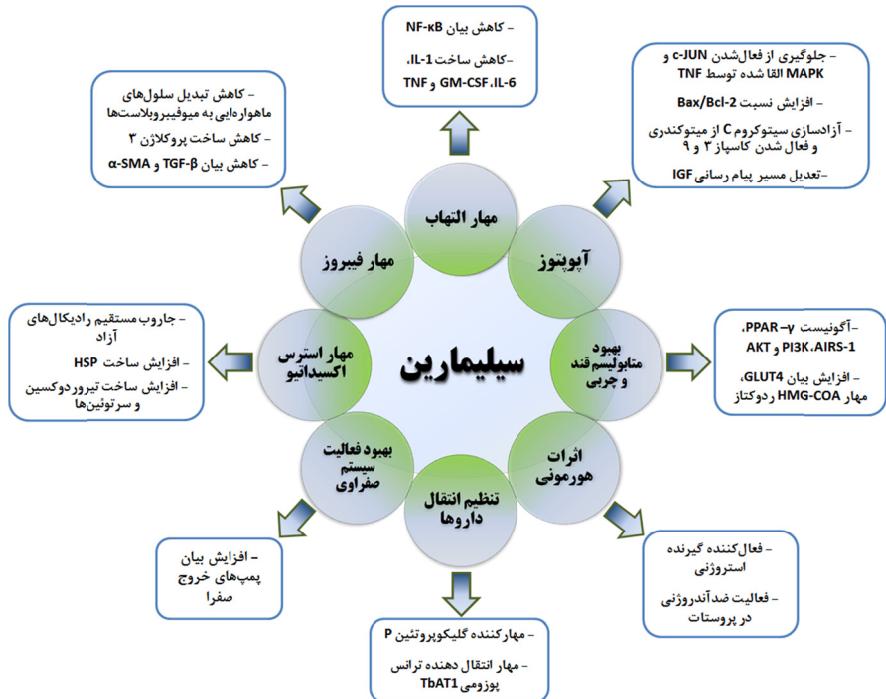
شکل ۱- ساختار شیمیایی فلاونوئیدهای اصلی تشکیل دهنده سیلیمارین (۷۶)

دهیدرسیلیبینین واجد خصلت آنتی اکسیدانی و ضد توموری واپسیتھ به TNF- α و ۲-۳-دهیدروسیلیبینین جاروب کننده رادیکال آزاد بهتری در مقایسه با سیلیبینین راسمیک بوده‌اند (۱۲، ۱۳). مطالعه ساختمان - اثر سیلیبینین و همچنین سنتز آنالوگ‌های دیگر آن در راستای رسیدن به ترکیبات جدید با خواص بیولوژیک موردنظر و ارتقا یافته در حال انجام است. در سال ۲۰۱۳ Agarwal و همکاران گروه‌های هیدروکسیل شماره ۷ و ۲۳ را به عنوان بهترین موقعیت جهت قراردادن استخلاف‌های شیمیایی مختلف در این مولکول معرفی کردند (۱۴). به عنوان مثال قراردادن استخلاف گالات در موقعیت‌های مذکور خصلت ضد رگ‌زایی این ترکیب را به نحو قابل توجهی ارتقا بخشید. قراردادن استخلاف متیل یا بنزیل نیز در این ناحیه علاوه بر افزایش حلایق آن در آب، عملکرد

اثرات آنتی اکسیدانی، جاروب کننده رادیکال‌های آزاد و القای تولید گلوتاتیون، مهار چرخه پراکسیداسیون لیپیدها خصوصاً حامل‌های کلسترول، اثرات محافظتی و القای تکثیر و تمایز در سلول‌های مغز استخوان، بهبود عملکرد سلول‌های اندوتیال با مهار ساخت دی‌متیل آرژنین غیرمتقارن و اثرات ضدالتلهابی قدرتمند با مکانیسم‌های مختلف می‌باشد (۱۲، ۱۱).

خلاصه‌ای از اثرات زیستی مجموعه فلاونوئیدهای سیلیمارین و مکانیسم مولکولی آنها در شکل ۲ به نمایش درآمده است.

تعدادی از مشتقهای سنتزی سیلیبینین جهت بهبود خواص درمانی، خاصیت چربی‌دوستی و اثرات آنتی اکسیدانی و جاروب کننده رادیکال آزاد آن مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند که برخی از آنها کارایی بیشتری از سیلیبینین اولیه داشته‌اند. برای مثال، ۲-۳-



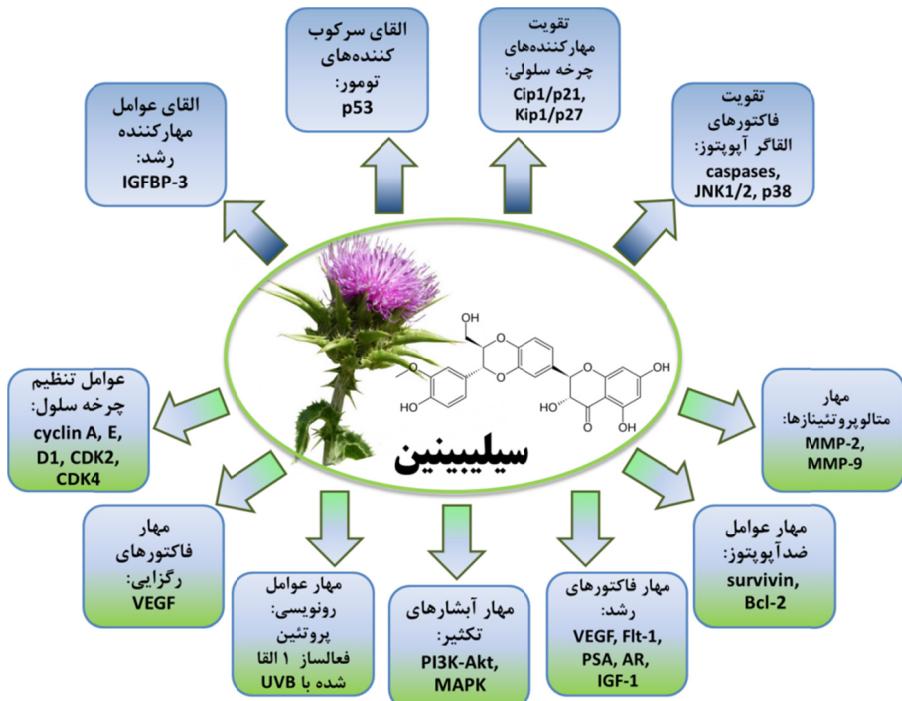
شکل ۲ - نمایی از اثرات بیولوژیک گوناگون مجموعه فلاونوئیدهای سیلیمارین و مکانیسم مولکولی آنها افزایش یا کاهش فعالیت، بیان و ساخت ماکرومولکول های مختلف از جمله TNF- α (فакتور نکروز تومور آلفا)، IL 1/6 (ایترولوکین ۱ و ۶)، GM-CSF (فاکتور محک کلونی ماکروفاز-گرانولوستی)، IFN- γ (ایترافرون گاما)، MAPK (پروتئین کیناز فعال شونده با میتوژن)، Bax (پروتئین شبیه به Bcl-2)، Bcl-2 (لغوم سلول B نوع ۲)، IGF (فاکتور رشد اضلاع صاف نوع آلفا)، α -SMA (اکتین عضلات صاف نوع آلفا)، HSP (پروتئین شوک گرما)، PPAR- γ (گیرنده فعال شونده با تکهیرگر پراکسی زوم گاما)، PI3K (فسفاتیدیل اینوزitol ۴-۵-دی فسفات ۳-کیناز)، AKT (پروتئین کیناز B)، GLUT4 (انتقال دهنده گلوكز نوع ۴) در مجاورت سیلیمارین دستخوش تغییر می شوند (۶-۳-۳-متیل گلوتاریل کواتریم A)، GLUT4 (انتقال دهنده ترانس پروزومی P) در مجاورت سیلیمارین دستخوش تغییر می شوند (۶)

بیولوژیک دو ایزومر فضایی سیلیبینین یعنی سیلیبین A و سیلیبین B مشاهده نشده است. ما نشان دادیم که سیلیبین B در مقایسه با سیلیبین A القاکننده سمیت سلولی قوی تری در سلول های Hep G₂ کارسینومای کبدی بوده و استریفیه شدن آن با گالیک اسید تاحدوی ارتقاده نده این خصلت می باشد (۱۷). به طور کلی، سیلیبینین به عنوان فعال ترین جزء و نماینده فلاونوئیدهای سیلیمارین در نظر گرفته شده و با ملاحظاتی، فاز I و II کارآزمایی بالینی سرطان بروستات را با موفقیت پشت سر گذاشته است (۱۸).

مکانیسم های مهم مولکولی دخیل در بروز اثرات ضد توموری سیلیبینین
ماکرومولکول های مختلفی به عنوان اهداف سیلیبینین در پیشبرد اثرات ضد توموری سیلیبینین معرفی شده اند. القای عوامل سرکوب کننده تومور که اجراءگر و محرك آپوپتوز هستند نظیر کاسپازهای

P-گلایکوپروتئین ها بر روی این ترکیب را نیز خنثی ساخت (۱۴).

مشتقهای طبیعی سیلیبینین که به همراه آن در مجموعه سیلیمارین حضور دارند نیز اثرات ضد توموری متفاوتی از خود نشان داده اند. حدود دو ماه تغذیه موش های مبتلا به سرطان بروستات DU145 با ایزوسیلیبینین اثرات کاهش دهنده حجم تومور بهتر و ماندگارتری در مقایسه با موش هایی که به همان میزان سیلیمارین یا حتی سیلیبینین دریافت کرده بودند نشان داد. همچنان ایزومرهای راست گرد و چپ گرد سیلیبینین در رده سلولی سرطان بروستات PC-3 سرکوب کننده چرخه سلولی بهتری در مقایسه با سیلی کریستین و سیلی دیانین بوده اند (۱۵). در مطالعه Wallace S, سیلی کریستین و سیلیبینین توانایی بیشتری در مهار اکسیداسیون LDL در مقایسه با سیلی دیانین و ایزوسیلیبینین داشتند (۱۶). در اغلب مطالعات تفاوت قابل توجهی میان اثرات



شکل ۳- خلاصه‌ای از مکانیسم‌های مولکولی اثرات خدتوموری سیلیبینین. سیلیبینین به طور مستقیم با مهار فاکتورهای پیش برندۀ بقاء، تکثیر و تقسیم سلولی مثل متالوپروتئینازها (MMP)، پروتئین‌های ضد آپوپتوز مثل Bcl-2، فاکتورهای رشد مثل CDK،cyclin A، E، D1، CDK2، CDK4، کنترل کننده‌های تقسیم سلولی مثل PI3K،Akt،MAPK و عوامل تنظیم چرخه سلول مثل خانواده CDK، همچنین تقویت القاگرهای آپوپتوز مثل c-Jun N-(JNK) و خانواده caspases، فاکتورهای آپوپتوز مثل caspases، JNK1/2، p38، مهار عوامل ضد آپوپتوز مثل survivin، Bcl-2 و عوامل مهار کننده رشد مثل IGFBP و Kip و Cip، خانواده terminal kinases (آپوپتوز نظریه Bcl-2) را اجرا می‌کند (۱۰).

انسولین (IRS-1)، مهار گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی (EGFR) و جلوگیری از ان-گلایکوزیله شدن فیبروبلاست‌های تیمار شده با فاکتور رشد مشتق از پلاکت (PDGF) توسط سیلیبینین دیده شده است (۲۷-۲۹).

کنترل فعالیت متالوپروتئینازها یعنی آنزیم‌هایی که برای عملکرد کاتابولیکی خود نیاز به فلزات سنگین دارند و نقش محوری در تمایز و تکامل بافتی ایفا می‌کنند، راهکار تنظیمی دیگر سیلیبینین در چرخه سلولی است (۳۰). افزایش بیان متالوپروتئیناز ۳ (stromelysine1) که در فرایند ترمیم بافتی مؤثر است و کاهش بیان متالوپروتئیناز ۲ (از فاکتورهای مؤثر در تهاجم سلول‌های سرطان ریه و معده) و ۹ (از عوامل مهاجرت سلولی در سرطان سینه و تیره‌یید) توسط سیلیبینین موضوع بحث مطالعات مختلف در این زمینه بوده است (۳۱-۳۳).

فعال شدن برخی فاکتورهای رونویسی نظریه E2F1 و protein-1 فعال‌شونده توسط پرتوی UVB عامل تبدیل سلول‌های سالم به سرطانی بوده است. مطالعات صورت

آغازگر (نه و هشت) و عملگر (سه)، p53 و JNK1/2 و مهار بیان یا فعالیت فاکتورهای مهار کننده آپوپتوز نظریه Bcl-2 در مطالعات مختلف سلولی موردنظر بوده‌اند (۱۴، ۱۹، ۲۰).

به نظر می‌رسد مهار پروتئین کیناز B (Akt) خصوصاً در فاز G₁، نقش کلیدی در زنجیره سرکوب تکثیر و تقسیم سلولی توسط سیلیبینین بر عهده داشته باشد (۲۱، ۲۲). افزایش سطوح سرامید تام سلولی به عنوان یک پیام‌رسان ثانویه مهم در وقوع آپوپتوز و سرکوب Akt به عنوان راهکاری مهم در اشاعه سمیت سلولی و وقوع آپوپتوز معرفی شده است (۲۳، ۱۷). ما نشان دادیم که راهکار اساسی مشتقات سیلیبینین و بسیاری دیگر از فلاونوئیدها و آکالالوئیدهای دیگر جهت تقویت آپوپتوز القاشه‌ده توسط سرامید (CMA) افزایش فعالیت آنزیم‌های سازنده و مهار فعالیت سامانه‌های آنزیمی حذف کننده سرامید از سیتوپلاسم است (۲۶-۲۴).

مهار بیان ژن یا گیرنده فاکتورهای رشد راهکار دیگر سرکوب تکثیر سلول‌های توموری توسط سیلیبینین است. سرکوب فسفوریلاسیون سوبستراتی ۱ گیرنده

پوست که بیان کننده بیش از حد گیرنده EGF (فاکتور رشد اپیدرمی) هستند، تیمار با سیلیبینین به شکل وابسته به دوز متوقف کننده چرخه سلولی در فاز G_2 ، مهار کننده سنتز DNA، جلوگیری کننده از فعل شدن گیرنده EGF با لیگاند مربوطه، ممانعت کننده از فعالیت پایه گیرنده مذکور به عنوان یک گیرنده تیروزین کینازی و همچنین عامل فعل کننده کاسپازها است (۳۹).

اضافه شدن سیلیمارین به رژیم غذایی موش های مبتلا به پاپیلومای پوست با مهار رشد تومور، کاهش شاخص تقسیم سلولی و افزایش آپوپتوز همراه بوده است (۳۸). Singh RP و همکاران اثرات مهاری سیلیبینین بر تقسیم سلولی و القای آپوپتوز بر رده سلول های کارسینومای اپیدرمی و کاهش فعالیت کیناز تنظیم کننده خارج سلولی (ERK) و تعدیل p38 c-Jun N-terminal kinases (JNK) و فعالیت Akt و MAPK نسبت دادند (۳۷). در موش های SKH-1 به عنوان رایج ترین مدل در مطالعه سرطان پوست القا شده با UVB نیز سیلیبینین با تعدیل آبشار فعل سازی و نقشی محافظتی از خود نشان داده است (۳۵).

سیلیبینین با کاهش بیان تنظیم گرهای چرخه سلولی مثل سایکلین ها و گلایکوبروتئین های خانواده cyclin A، cyclin E، cyclin D₁، cyclin D₂، CDK4 و CDK5 و افزایش بیان مهار کننده های چرخه سلولی مثل Cip1/p21 و Kip1/p27 اثرات پیشگیری کننده قابل قبولی در سرطان غیر ملانومای القا شده با UVB از خود نشان داده است (۳۴، ۳۵).

فعال سازی مسیرهای پیش آپوپتوزی شامل افزایش فعالیت کاسپاز ۳، ۷ و ۹، تعدیل القای پروتئین فعال کننده ۱، القای p53 و تغییر بیان پروتئین های پیش آپوپتوزی (Bad، Bak و Bax) و ضد آپوپتوزی (Bcl-xL) خانواده Bcl2 و رهاسازی سیتوکروم C به عنوان راهکارهای سیلیبینین در پیشبرد مرگ برنامه ریزی شده در رده های سلولی مختلف سرطان پوست و متعاقب آسیب شدید به DNA معرفی شده اند (۳۵، ۳۸).

با این حال نشان داده شده است که سیلیبینین در برخی موارد می تواند با القای اتوفازیا، تداخل با گیرنده

گرفته توسط Gu M و همچنین Mallikarjuna G و همکاران نشان دادند که سیلیبینین با کاهش بیان این فاکتورها به عنوان سدی محافظت در جلوگیری از بروز نئوپلاسم نقش دارد (۳۴، ۳۵). سایکلین ها (Cyclins) و کیناز های وابسته به آنها (CDKs)، خانواده دیگری از پروتئین های تنظیمی متأثر از سیلیبینین در پیشبرد اثرات ضد توموری آن هستند. غلظت سلولی سایکلین ها در مراحل مختلف چرخه سلولی متغیر بوده و بیان هر سایکلین در هر قسمت از این چرخه از طریق کیناز وابسته به خود، میانجی گر و قایع آن بخش (نظیر تشکیل میکرو توبول ها، تغییر شکل کروماتین و ...) خواهد بود (۳۶). تعدیل فعالیت سایکلین ها یا تقویت مهار کننده های طبیعی آنها در جهت توقف چرخه سلولی و قوع آپوپتوز، برآیند عملکرد سیلیبینین زیستی بر این عوامل است که در ادامه مثال هایی از آنها ذکر خواهد شد. خلاصه ای از مکانیسم های مولکولی اثرات ضد توموری سیلیبینین در شکل ۳ به نمایش درآمده است.

سرطان پوست

اثرات سیلیبینین در مطالعات مختلف بر رده ها و انواع مختلف بدخیمی های پوست از جمله کراتوز آکتینیک (Actinic Keratosis)، کارسینومای سلول بازال (Epidermoid Cancer) و سلول سنگفرشی (Basal Cell Carcinoma) و سلول سرامیک (Squamous Cell Carcinoma) است (۳۷). شکل ۴ خلاصه ای از راهکارهای سلولی سیلیبینین در مهار مسیرهای منتهی به سرطان پوست را به نمایش گذاشته است.

سیلیبینین به عنوان یک ترکیب بازدارنده مناسب جهت پیشگیری از آسیب القا شده توسط پرتو های UVA و B و القای کارسینوژن توسط آنها با مکانیسم های مختلف از جمله تنظیم چرخه سلولی و میتوژن، القای آپوپتوز و اتوفازیا و تعدیل فعالیت NF-κB و پاسخ ایمنی، معرفی شده است (۳۸). تجویز خوراکی سیلیبینین، سرکوب کننده تومور حاصل از کراتوز آکتینیک در موش های Sencar از مسیر MAPK و القای آپوپتوز بوده است (۳۹، ۴۰). نشان داده شده است که در رده سلول های A431 سرطان اپیدرمی و

مهاری سیلیبینین بر iNOS از طریق اثرات ضدالتهابی آن و مهار سایتوکاین‌هایی همچون اینترلوکین-۱ و TNF α ناشی شود (۴۵).

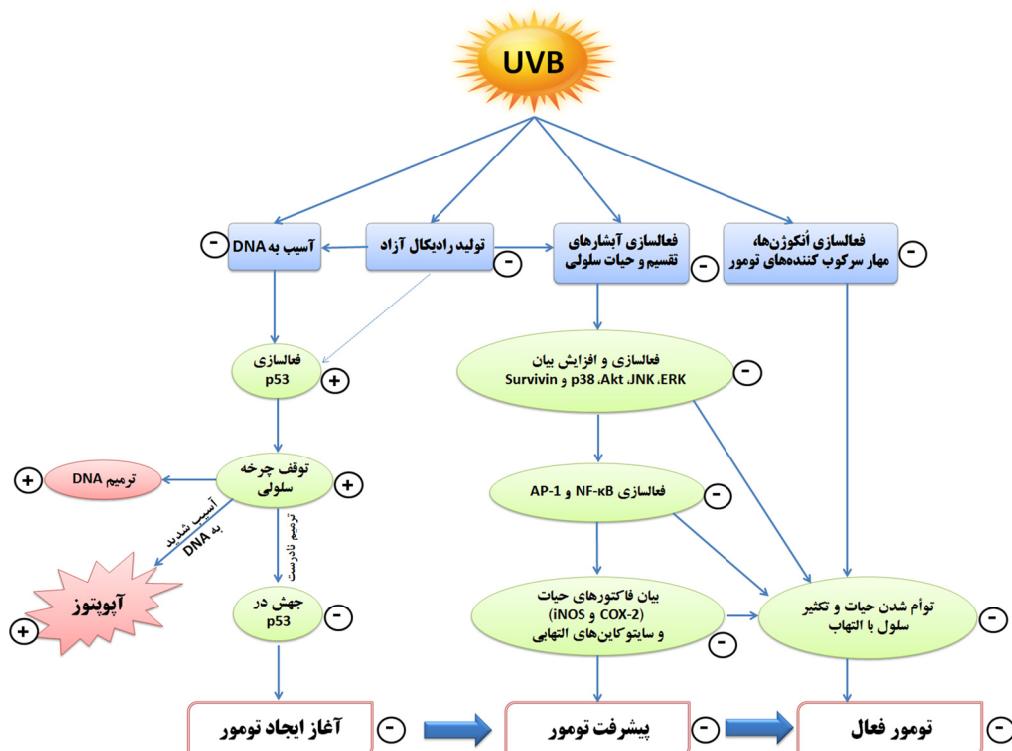
سرطان مثانه

مطالعات متعدد اثرات سودمندی از سیلیبینین در کنترل، درمان و حتی پاسخ بهتر سرطان مثانه به رادیوتراپی نشان داده‌اند (۴۶). Survivin، یکی از مهم‌ترین اعضای خانواده مهارکننده‌های آپوپتوز (IAP) است که بیان آن در این تومور دچار اختلال می‌شود. Tyagi و همکاران نشان دادند که مواجهه سلول‌های پاپیلومای رده RT4 با سیلیبینین، منجر به کاهش mRNA و پروتئین survivin می‌گردد (۲۰). آنها همچنین نشان دادند که سیلیبینین یک القاکننده آپوپتوز قوی با افزایش فعالیت کاسپاز ۳ و ۹ و شکستن PARP در این سلول‌ها است. مطالعه بعدی روی همان سلولی نشان داد که القای کاسپاز ۲ و p53 توسط سیلیبینین منجر به افزایش نفوذپذیری میتوکندری، رهاسازی سیتوکروم C و شکستن کیناز وابسته با سایکلین Cip1/p21 می‌گردد (۱۹).

برخی فاکتورهای رشد مثل IGF-1، مهار فعال شدن کاسپاز ۸ (با جلوگیری از شکستن پیش‌ساز آن) و خودتنظیمی منفی گیرنده‌های مرگ از جمله FADD، سلول‌های پوسٹ را از آپوپتوز القاشه توسط UVB نجات دهد (۴۱، ۴۲).

سرطان ریه

سیلیبینین اثرات وابسته به زمان و دوز امیدوارکننده‌ای، هم در سرطان سلول کوچک و هم غیرسلول کوچک ریه از خود نشان داده است. در رده سلول‌های A-549 ریه سیلیبینین با مهار خانواده متالوپروتئینازها و از کار انداختن فعال کننده پلاسمینوژن نوع یوروکیناز، هردو آبشار PI3K-Akt و MAPK را مهار می‌کند (۴۳). در موش‌های مبتلا به سرطان ریه القاشه با یورتان (Urethane)، سیلیبینین با کاهش تقسیم سلولی، تعدیل بیان سایکلین و VEGF سرکوب عاملی نظیر فاکتور رشد آنزیوژنیک COX (سیکلواکسیژناز) (فاکتور رشد اندوتلیوم عروق)، (۴۴). نیتریک اسید سنتاز قابل القا) مانع پیشرفت و رشد تومور می‌شود (۴۴). به نظر می‌رسد فعالیت



شکل ۴ - خلاصه‌ای از اهداف سلولی - مولکولی که سیلیبینین با تقویت (+) و یا مهار (-) آنها مانع از آغاز ایجاد و پیشرفت تومورهای پوسٹ القاشه توسط UVB می‌شود.

پروتئین فعال کننده ۱ از مسیر MAPK القا شده است، پیش برنده اثرات ضد توموری خود می باشد (۵۰، ۵۱). در مقابل، برخی مطالعات حاکی از فقدان اثر یا حتی اثرات محرك سیلیبینین بر سرطان سینه بودند. به نظر می رسد اثرات شبه استروژنی سیلیبینین محرك تکثیر سلول های کارسینومای سینه باشد. RD و Verschoyle RD همکاران نشان دادند که دریافت دوز های پایین سیلیبینین به صورت خوراکی در جوندگان، محرك و دریافت دوز های بالا سرکوبگر سلول های آدنو کارسینومای سینه در مدل واحد آنتی زن ترانس ژنیک SV40T است (۵۲).

سرطان کولون

گزارش شده است که سیلیبینین بیان مهار کننده های کیناز وابسته به سایکلین را افزایش داده و از این رو اشاعه دهنده توقف چرخه سلولی و القای آپوپتوز در سلول های توموری کلون است. از طرف دیگر، سیلیبینین موجب توقف فعالیت راه انداز سایکلین Cdk ۱ کننده برخی رده های سرطان کلون شده است (۵۳، ۵۴). همچنین تقویت مسیرهای منتهی به اتو فرازیا نیز در رده های مختلف سلول های کارسینومای کلون مورد توجه قرار گرفته است (۵۵).

فعالیت ضد آنزیوژن سیلیبینین در سلول های LoVo تومور کولون قابل ملاحظه بوده است و مهار گیرنده Flt-1 در سلول های اندوتلیوم EA.Hy926 توسط سیلیبینین که منجر به کاهش تقسیم سلولی در بستر عروقی شده می شود نیز مورد توجه بوده است (۵۶).

سرطان پروستات

مطالعات متعدد حاکی از اثرات امیدوار کننده سیلیبینین در مهار بد خیمی های پروستات اند Zi X و همکاران نشان دادند که مواجهه رده سلول های PC-3 سرطان پروستات با سیلیبینین، منجر به افزایش بیان پروتئین مهاری IGFBP-3 و سرکوب فعالیت فاکتور رشد شبه انسولینی IGF-I می گردد (۵۸). مطالعات دیگر در شرایط *in vivo* نیز نشان دادند که حضور سیلیبینین در رژیم غذایی موش های مبتلا به تومور پروستات (چه نوع وابسته به آندروزن و چه نوع غیر وابسته به آندروزن) با افزایش سطوح پلاسمایی

سرطان کلیه

در مطالعات سلولی و حیوانی مختلف، سیلیبینین مهار کننده کارسینومای سلول کلیه (RCC) بوده است. مواجهه سیلیبینین با سلول های رده SN12K1 کارسینومای کلیه در غلظت های کم (۲ تا ۴۰ میکرومولا) کاهش سنتز DNA و غلظت های بالاتر (۸۰ تا ۲۰۰ میکرومولا) القای آپوپتوز را به همراه داشته است (۴۷).

IGFBP-3 نقشی کلیدی در اثرات ضد توموری سیلیبینین ایفا می کند، زیرا با خنثی شدن، آن اثر مهاری سیلیبینین بر RCC نیز تا حد زیادی از بین می رود. در حالی که سیلیبینین کاهش دهنده میزان بیان این فاکتور در RCC است، شخص شده است که عملکرد سیلیبینین در تومور پروستات با مهار عملکرد IGFBP-3 صورت می پذیرد که نشان دهنده مکانیسم IGF-I توسط سیلیبینین نیز متعاقباً سرکوب ۳ را به همراه خواهد داشت که به عنوان راه کاری دیگر مورد بررسی قرار گرفته است (۴۸).

صرف سیلیبینین با غلظت ۱/۰ درصد در غذای موش، کاهش دهنده وزن و حجم تومور RCC کاشته شده با اثر بر ۳ IGFBP-3 بوده و در دوز های بالاتر، اثرات درمانی کاراتر با مکانیسم هایی مستقل از این مسیر مشاهده شده است (۴۸).

سرطان سینه

نتایج مطالعات صورت گرفته در مورد اثرات سیلیبینین در سرطان سینه تا حدی ضد و نقیض بوده است. برخی مطالعات حاکی از مهار رشد و سنتز DNA سلول های سرطان سینه به شکل وابسته به زمان توسط سیلیبینین هستند (۴۹). به کار گیری هم زمان عوامل شیمی درمانی رایج در درمان این تومور (دو کسورو بیسین، کربو پلاتین و سیس بلاتین) همراه با سیلیبینین چه در رده سلول های وابسته به استروژن و چه سلول های غیر وابسته به استروژن منجر به هم افزایی سازنده اثرات ضد توموری این عوامل گردیده است. نشان داده شده است که سیلیبینین در سلول های متاستاتیک و مهاجم MCF-7، با افزایش ترشح متالو پروتئیز ۹ و کاهش رونویسی که با سرکوب

حذف کننده سرامید، تجمع دهنده قدرتمند سرامید تام داخل سلولی بوده و از این طریق تقویت کننده وقوع آپوپتوز وابسته به سرامید در HCC است (۱۷).

با این حال، مطالعه بالینی صورت گرفته (فاز یک) در دانشگاه کلمبیا بر بیماران چار HCC پیشرفته که دریافت کننده حداقل ۲ گرم سیلیبینین به صورت روزانه بودند نشان داد که علی‌رغم توانایی این ترکیب در بهبود برخی شاخص‌های التهابی کبد، ادامه درمان نتوانسته است مرگ‌ومیر بیماران را به صورت قابل توجهی کاهش دهد (۶۷).

به کارگیری توأم سیلیبینین با دیگر داروهای شیمی‌درمانی

با توجه به طیف وسیع اثرات ضدتوموری سیلیبینین، مثال‌های فراوانی از عملکرد آن در تقویت اثرات ضدتوموری دیگر داروهای شیمی‌درمانی موجود است. مطالعات صورت گرفته به ترتیب در دانشگاه علوم پزشکی تبریز و همچنین دانشگاه علوم زیستی جیلین چین بر روی رده سلول‌های سرطانی آندومتر Hela و معده ۷۹۰۱ SGC نشان دادند که به کارگیری توأم IC50 پکلی تاکسل و سیلیبینین در غلظت‌های نزدیک آنها با یکدیگر، اثر هم‌افزایی در افزایش سمیت سلولی از طریق افزایش بیان Bcl-2 و گیرنده مرگ Fas در سطح سلول خواهد داشت (۶۸،۶۹). مطالعه صورت گرفته توسط Singh RP و همکاران نشان داد که مصرف توأم سیلیبینین با دوکسوروبیسین در کارسینومای سلول کوچک ریه زنوگرافت A549، با افزایش آپوپتوز در سلول‌های توموری، منجر به افزایش پاسخ درمانی و همین‌طور کاهش بسیاری از عوارض جانبی ناشی از مصرف دوکسوروبیسین (به تنها یک) می‌گردد (۷۰). اضافه شدن سیلیبینین به سلول‌های T47D سرطان سینه تیمارشده با کریزین (Chrysin) یا متغورمین نیز از طریق سرکوب بیان سایکلین D₁ تقویت کننده اثرات ضدتوموری و مهار تکثیر سلولی توسط کریزین و یا متغورمین بوده است (۷۱،۷۲).

پیشنهادهایی جهت انجام مطالعات آینده بر روی سیلیبینین در درمان سرطان در حالی که در مطالعات سلولی و حیوانی متعدد

IGFBP-3 منجر به کاهش وزن و حجم تومور القاشه در این جوندگان می‌شود (۵۹،۶۰).

با این حال در مطالعات بعدی مشخص شد که تومورهای واجد گیرنده‌های آندروروژنیک فعال، سرکوب وابسته به چرخه سلولی (خصوصاً در فاز G₁) بیشتری از سیلیبینین در مقایسه با تومورهای غیروابسته به آندروروژن نظیر DU145 متحمل می‌شوند (۶۱). به نظر می‌رسد سیلیبینین مهار کننده مسیرهای پیام‌رسانی گیرنده‌های آندروروژنیک و فاکتورهای رونویسی فعال‌شونده توسط آن در سلول‌های واجد آنتی‌زن اختصاصی پروستات (PSA)، کالیکرئین گرانولار انسانی (hK2) و ایمونوفیلین FKP51 باشد (۶۲).

مطالعه بالینی صورت گرفته در دانشگاه کلرادو (فاز دو) بر بیماران چار سرطان پروستات که دریافت کننده دوز بالای خوراکی فیتوزوم سیلیبینین (۱۳ گرم روزانه) بودند نشان داد اگرچه سطح خونی این ترکیب پس از تجویز، به سرعت بالا می‌رود و اغلب عوارض جانبی ایجاد شده قابل تحمل هستند ولی درنهایت در بافت هدف یعنی پروستات غلظت درمانی مناسبی ایجاد نمی‌شود (۶۳).

سرطان کبد

به تازگی اثر مهاری سیلیبینین بر تکثیر DNA ویروس هپاتیت B به عنوان یکی از عوامل مهم زمینه‌ساز برخی از کارسینومای سلول کبد (HCC) موردمطالعه قرار گرفته است (۶۴). علاوه بر این نشان داده شده است که رده سلولی Hep B₃ کارسینومای کبد که واجد p53 جهش یافته و هپاتیت B مثبت است در مقایسه با رده Hep G₂ سرطان کبد که واجد p53 نرمال و هپاتیت B منفی است، نسبت به اثرات سیلیبینین حساس‌تراند (۶۵).

سیلیبینین از طریق القای مسیر پیام‌رسانی Kip1/p27 و مهار سایکلین D₁، D₃ و E و همچنین کیناز وابسته به سایکلین، سرکوبگر رده‌های مختلف تومور هپاتوسلولار بوده است (۶۶). القای سمیت سلولی و فعل سازی مسیرهای منتهی به وقوع آپوپتوز به عنوان مکانیسم‌های دیگر اثرات ضدتوموری سیلیبینین معرفی شده‌اند. ما نشان داده‌ایم که سیلیبینین از طریق القای سامانه‌های آنزیمی سنتز کننده و مهار آنزیم‌های

Silybum marianum L. with Different Content of Flavonolignans. IJPT; 2010. 9: 63-67.

5. Das SK, Mukherjee S, Vasudevan DM. Medical properties of milk thistle with special reference to silymarin: an overview. Nat Prod Rad; 2008. 7: 182-92.

6. Loguerico C, Festi D. Silybin and the liver: From basic research to clinical practice. World J Gastroentero; 2011. 17: 2288-301.

7. Bijak M. Silybin, a major bioactive component of milk thistle (silybum marianum L. Gaertn.)-chemistry, bioavailability, and metabolism. Molecules; 2017. 10: 22.

8. Fan L, Ma Y, Liu Y, Zheng D, Huang G. Silymarin induces cell cycle arrest and apoptosis in ovarian cancer cells. Eur J Pharmacol; 2014. 743: 79-88.

9. Morris J, Fang Y, De Mukhopadhyay K, Wargovich MJ. Natural Agents Used in Chemoprevention of Aerodigestive and GI Cancers. Curr Pharmacol Rep; 2016. 2:11-20.

10. Cheung CW, Gibbons N, Johnson DW, Nicol DL. Silibinin--A Promising New Treatment for Cancer. Anticancer Agents Med Chem; 2010. 10: 186-95.

11. Gazak R, Walterova D, Kren V. Silybin and silymarin--new and emerging applications in medicine. Curr Med Chem; 2007. 14: 315-38.

12. Huber A, Thongphasuk P, Erben G, Lehmann WD, Tuma S, Stremmel W, et al. Significantly greater antioxidant anticancer activities of 2,3-dehydrosilybin than silybin. Biochim Biophys Acta; 2008. 1780: 837-47.

13. Thongphasuk P, Stremmel W, Chamulitrat W. Potent direct or TNF-alpha-promoted anticancer effects of 2,3-dehydrosilybin: comparison study with silybin. Chemotherapy; 2008. 54: 23-30.

14. Agarwal C, Wadhwa R, Deep G, Biedermann D, Gažák R, Křen V, et al. Anti-cancer efficacy of silybin derivatives -- a structure-activity relationship. PLoS One; 2013. 8: e60074.

15. Deep, G, Raina K, Singh RP, Oberlies NH, Kroll DJ, Agarwal R. Isosilibinin inhibits advanced human prostate cancer growth in athymic nude mice: comparison with silymarin and silibinin. Int J Cancer; 2008. 123: 2750-58.

16. Wallace S, Vaughn K, Stewart BW, Viswanathan T, Clausen E, Nagarajan S, et al. Milk thistle extracts inhibit the oxidation of low-density lipoprotein (LDL) and subsequent scavenger receptor-dependent monocyte adhesion. J Agric Food Chem; 2008. 56: 3966-72.

17. Mashhadi Akbar Boojar M, Hassanipour M, Ejtemaei Mehr S, Mashhadi Akbar Boojar M, Dehpour AR. New aspects of Silibinin stereoisomers and their 3-O-galloyl derivatives on cytotoxicity and ceramide metabolism in Hep G2 hepatocarcinoma cell line. Iran J Pharm Res; 2016. 15: 421-33.

تلاش‌های زیادی برای پررسی مسیرهای پیامرسان زیستی سیلیبینین در اشاعه اثرات ضدتوموری صورت پذیرفته است، مطالعات بالینی لازم و کارآمد جهت تعیین خصوصیات فارماکوکینتیک و مناسب‌ترین دوز آن در سرطان‌های مختلف و میزان اثربخشی آن به همراه دیگر رژیم‌های پیشگیری و درمانی سرطان، همچنان ضروری به نظر می‌رسد. در نظر گرفتن مشخصات ژنتیکی و پلی‌مورفیسم در کنار انواع مسیرهای بیولوژیکی متأثر از سیلیبینین و مشتقات آن در بهینه‌سازی نتایج بالینی نقش پررنگی خواهد داشت.

نتیجه‌گیری

به کارگیری سیلیبینین به عنوان جزء اصلی سیلیمارین در مهار تومورهای مختلف اثرات امیدوار کننده‌ای نشان داده است. این فلاونوئید طبیعی و مشتقات آن با اثرات القاگر آپوپتوز، تقویت عوامل سرکوب کننده‌های تومور و متوقف کننده چرخه سلولی و مهار فاکتورهای رشد، عوامل رونویسی و میانجی‌گرهای اشاعه دهنده تکثیر و تقسیم سلولی تومورها، اثرات ضدنشوپلاسم خود را پیش می‌برد. استفاده از سیلیبینین در رده‌های مختلف سلول‌های سرطانی شامل پوست، ریه، کبد، سینه، کلون، مثانه و ... در شرایط *in vitro* و *in vivo* در مطالعات مختلف مورد توجه بوده ولی باید در نظر داشت که مصرف این ترکیب به عنوان دارو جهت پیشگیری و درمان بیماری‌ها، نیاز به آزمایش‌های بالینی تکمیلی دارد.

References

- Rawat D, Shrivastava S, Naik RA, Chhonker SK, Mehrotra A, Koiri RK. An overview of natural plant products in the treatment of hepatocellular carcinoma. Anticancer Agents Med Chem; 2018. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29866017>
- Amawi H, Ashby CR Jr, Tiwari AK. Cancer chemoprevention through dietary flavonoids: What's limiting? Chin J Cancer; 2017. 19: 50.
- Mosihuzzaman M. Herbal medicine in healthcare--an overview. Nat Prod Commun; 2012. 7: 807-12.
- Radjabian T, Fallah Huseini H. Anti-Hyperlipidemic and Anti-Atherosclerotic Activities of Silymarins from Cultivated and Wild Plants of

18. Deep G, Agarwal R. Antimetastatic efficacy of silibinin: molecular mechanisms and therapeutic potential against cancer. *Cancer Metastasis Rev*; 2010. 29: 447-63.
19. Tyagi A, Singh RP, Agarwal C, Agarwal R. Silibinin activates p53-caspase 2 pathway and causes caspase-mediated cleavage of Cip1/p21 in apoptosis induction in bladder transitional-cell papilloma RT4 cells: evidence for a regulatory loop between p53 and caspase 2. *Carcinogenesis*; 2006. 27: 2269-80.
20. Tyagi AK, Agarwal C, Singh RP, Shroyer KR, Glode LM, Agarwal R. Silibinin down-regulates survivin protein and mRNA expression and causes caspases activation and apoptosis in human bladder transitional-cell papilloma RT4 cells. *Biochem Biophys Res Commun*; 2003. 312: 1178-84.
21. Zhang X, Liu J, Zhang P, Dai L, Wu Z, Wang L, et al. Silibinin induces G1 arrest, apoptosis and JNK/SAPK upregulation in SW1990 human pancreatic cancer cells. *Oncol Lett*; 2018. 15: 9868-76.
22. Zhong X, Zhu Y, Lu Q, Zhang J, Ge Z, Zheng S. Silymarin causes caspases activation and apoptosis in K562 leukemia cells through inactivation of Akt pathway. *Toxicology*; 2006. 227: 211-6.
23. Mashhadi Akbar Boojar M, Mashhadi Akbar Boojar M, Golmohammad S, NikkhahYazdi M. Ceramide generation as a novel biological mechanism for chemo-preventive and cytotoxic effects of hesperidin on HT-144 melanoma cells. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*; IN Press 2018.
24. Njarpour N, Mashhadi Akbar Boojar M. A comparative study on the effects of rosmarinic acid and carnosic acid on the cell viability, ceramide metabolism and antioxidant enzyme responses in the Hep-G2 cancer cell line. *Nova Biologica Reperta*; 2016. 3: 61-8. (Persian)
25. Jarahzadeh Z, Mashhadi Akbar Boojar M. A Comparative Study on the Effects of Hesperidine and Hesperetin on Cell Survival, Ceramide Metabolism, and Paraoxonase Enzyme Response in MDA-MB - 231 Cancer Cells. [MSc dissertation]. Tehran, Kharazmi University, 2015.
26. Zendegan V, Mashhadi Akbar Boojar M. A Comparative study on the effects of menthol and limonene on cell survival, ceramide metabolism and antioxidant enzymes responses in HRT-18 cancer cells. [MSc dissertation]. Tehran, Kharazmi University, 2015.
27. Hou X, Du H, Quan X, Shi L, Zhang Q, Wu Y, et al. Silibinin inhibits NSCLC metastasis by targeting the EGFR/LOX pathway. *Front Pharmacol*; 2018. 9: 21.
28. Qi L, Singh RP, Lu Y, Agarwal R, Harrison GS, Franzusoff A, et al. Epidermal growth factor receptor mediates silibinin-induced cytotoxicity in a rat glioma cell line. *Cancer Biol Ther*; 2003. 2: 526-
- 31.
29. Chen YH, Chen CL, Lu DW, Liang CM, Tai MC, Chen JT. Silibinin inhibits platelet-derived growth factor-driven cell proliferation via downregulation of n-glycosylation in human tenon's fibroblasts in a proteasome-dependent manner. *PLoS One*; 2016. 11: e0168765.
30. Tabandeh MR, Oryan A, Mohammad-Alipour A, Tabatabaei-Naieni A. Silibinin regulates matrix metalloproteinase 3 (stromelysine1) gene expression, hexoseamines and collagen production during rat skin wound healing. *Phytother Res*; 2013. 27: 1149-53.
31. Lu S, Zhang Z, Chen M, Li C, Liu L, Li Y. Silibinin inhibits the migration and invasion of human gastric cancer SGC7901 cells by downregulating MMP-2 and MMP-9 expression via the p38MAPK signaling pathway. *Oncol Lett*; 2017. 14: 7577-82.
32. Oh SJ, Jung SP, Han J, Kim S, Kim JS, Nam SJ, et al. Silibinin inhibits TPA-induced cell migration and MMP-9 expression in thyroid and breast cancer cells. *Oncol Rep*; 2013. 29: 1343-8.
33. Chu SC, Chiou HL, Chen PN, Yang SF, Hsieh YS. Silibinin inhibits the invasion of human lung cancer cells via decreased productions of urokinase-plasminogen activator and matrix metalloproteinase-2. *Mol Carcinog*; 2004. 40: 143-9.
34. Gu M, Singh RP, Dhanalakshmi S, Mohan S, Agarwal R. Differential effect of silibinin on E2F transcription factors and associated biological events in chronically UVB-exposed skin versus tumors in SKH-1 hairless mice. *Mol Cancer Ther*; 2006. 5: 2121-9.
35. Mallikarjuna G, Dhanalakshmi S, Singh RP, Agarwal C, Agarwal R. Silibinin protects against photocarcinogenesis via modulation of cell cycle regulators, mitogen-activated protein kinases, and Akt signalling. *Cancer Res*; 2004. 64: 6349-56.
36. Malumbres M. Cyclin-dependent kinases. *Genome Biol*; 2014. 15: 122.
37. Singh RP, Agarwal R. Mechanisms and preclinical efficacy of silibinin in preventing skin cancer. *Eur J Cancer*; 2005. 41: 1969-79.
38. Kumar R, Deep G, Agarwal R. An overview of ultraviolet B radiation-induced skin cancer chemoprevention by silibinin. *Curr Pharmacol Rep*; 2015. 1: 206-15.
39. Mohan S, Dhanalakshmi S, Mallikarjuna GU. 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.
40. Singh RP, Tyagi AK, Zhao J, Agarwal R. Silymarin inhibits growth and causes regression of established skin tumors in SENCAR mice via modulation of mitogen-activated protein kinases and

- induction of apoptosis. *Carcinogenesis*; 2002. 23: 499-510.
41. Liu W, Otkur W, Li L, Wang Q, He H, Ye Y, et al. Autophagy induced by silibinin protects human epidermoid carcinoma A431 cells from UVB-induced apoptosis. *J Photochem Photobiol; B* 2013. 123: 23-31.
42. Liu W, Otkur W, Li L, Wang Q, He H, Zang L, et al. Interference of silibinin with IGF-1R signalling pathways protects human epidermoid carcinoma A431 cells from UVB-induced apoptosis. *Biochemical and biophysical research communications*; 2013. 432: 314-9.
43. Chen PN, Hsieh YS, Chiou HL, Chu SC. Silibinin inhibits cell invasion through inactivation of both PI3K-Akt and MAPK signalling pathways. *Chem Biol Interact*; 2005. 156: 141-50.
44. Singh RP, Deep G, Chittezhath M, Kaur M, Dwyer-Niel, LD, Malkinson AM, et al. Effect of silibinin on the growth and progression of primary lung tumors in mice. *J Natl Cancer Inst*; 2006. 98: 846-55.
45. Chittezhath M, Deep G, Singh RP, Agarwal C, Agarwal R. Silibinin inhibits cytokine-induced signaling cascades and down-regulates inducible nitric oxide synthase in human lung carcinoma A549 cells. *Mol Cancer Ther*; 2008. 7: 1817-26.
46. Prack Mc Cormick B, Langle Y, Belgorosky D, Vanzulli S, Balarino N, Sandes E, et al. Flavonoid silybin improves the response to radiotherapy in invasive bladder cancer. *J Cell Biochem*; 2018. 119: 5402-12.
47. Cheung CW, Vesey DA, Nicol DL, Johnson DW. Silibinin inhibits renal cell carcinoma via mechanisms that are independent of insulin-like growth factor-binding protein 3. *BJU Int*; 2007. 99: 454-60.
48. Cheung CW, Taylor PJ, Kirkpatrick CM, Vesey DA, Gobe GC, Winterford C, et al. Therapeutic value of orally administered silibinin in renal cell carcinoma: manipulation of insulin-like growth factor binding protein-3 levels. *BJU Int*; 2007. 100: 438-44.
49. Bhatia N, Zhao J, Wolf DM, Agarwal R. Inhibition of human carcinoma cell growth and DNA synthesis by silibinin, an active constituent of milk thistle: comparison with silymarin. *Cancer Lett*; 1999. 147: 77-84.
50. Lee SO, Jeong YJ, Im HG, Kim CH, Chang YC, Lee IS. Silibinin suppresses MA-induced MMP-9 expression by blocking the AP-1 activation via MAPK signalling pathways in MCF-7 human breast carcinoma cells. *Biochem Biophys Res Commun*; 2007. 354: 165-71.
51. Tyagi AK, Agarwal C, Chan DC, Agarwal R. Synergistic anti-cancer effects of silibinin with conventional cytotoxic agents doxorubicin, cisplatin and carboplatin against human breast carcinoma MCF-7 and MDA-MB468 cells. *Oncol Rep*; 2004. 11: 493-9.
52. Verschoyle RD, Brown K, Steward WP, Gescher AJ. Consumption of silibinin, a flavonolignan from milk thistle, and mammary cancer development in the C3(1) SV40 T,t antigen transgenic multiple mammary adenocarcinoma (TAg) mouse. *Cancer Chemother Pharmacol*; 2008. 62: 369-72.
53. Agarwal C, Singh RP, Dhanalakshmi S, Tyagi AK, Tecklenburg M, Sclafani RA, et al. Silibinin upregulates the expression of cyclin-dependent kinase inhibitors and causes cell cycle arrest and apoptosis in human colon carcinoma HT-29 cells. *Oncogene*; 2003. 22: 8271-82.
54. Hogan FS, Krishnegowda NK, Mikhailova M, Kahlenberg MS. Flavonoid, silibinin, inhibits proliferation and promotes cellcycle arrest of human colon cancer. *J Surg Res*; 2007. 143: 58-65.
55. Kauntz H, Bousseruel S, Gossé F, Raul F. Silibinin triggers apoptotic signaling pathways and autophagic survival response in human colon adenocarcinoma cells and their derived metastatic cells. *Apoptosis*; 2011. 16: 1042-53.
56. Yang SH, Lin JK, Huang CJ, Chen WS, Li SY, Chiu JH. Silibinin inhibits angiogenesis via Flt-1, but not KDR, receptor upregulation. *J Surg Res*; 2005. 128: 140-6.
57. Ting H, Deep G, Agarwal R. Molecular mechanisms of silibinin-mediated cancer chemoprevention with major emphasis on prostate cancer. *AAPS J*; 2013. 15: 707-16.
58. Zi X, Zhang J, Agarwal R, Pollak M. Silibinin up-regulates insulin-like growth factor-binding protein 3 expression and inhibits proliferation of androgen-independent prostate cancer cells. *Cancer Res*; 2000. 60: 5617-20.
59. Singh RP, Dhanalakshmi S, Tyagi AK, Chan DC, Agarwal C, Agarwal R. Dietary feeding of silibinin inhibits advance human prostate carcinoma growth in athymic nude mice and increases plasma insulin-like growth factor-binding protein-3 levels. *Cancer Res*; 2002. 62: 3063-9.
60. Singh RP, Deep G, Blouin MJ, Pollak MN, Agarwal R. Silibinin suppresses in vivo growth of human prostate carcinoma PC-3 tumor xenograft. *Carcinogenesis*; 2007. 28: 2567-74.
61. Roy S, Kaur M, Agarwal C, Tecklenburg M, Sclafani RA, Agarwal R. p21 and p27 induction by silibinin is essential for its cell cycle arrest effect in prostate carcinoma cells. *Mol Cancer Ther*; 2007. 6: 2696-707.
62. Zhu W, Zhang JS, Young CY. Silymarin inhibits function of the androgen receptor by reducing nuclear localization of the receptor in the human prostate cancer cell line LNCaP. *Carcinogenesis*; 2001. 22: 1399-403.
63. Flaig TW, Glodé M, Gustafson D, van Bokhoven A, Tao Y, Wilson S, et al. A study of high-

dose oral silybin-phytosome followed by prostatectomy in patients with localized prostate cancer. Prostate; 2010. 70: 848-55.

64. Umetsu T, Inoue J, Kogure T, Kakazu E, Ninomiya M, Iwata T, et al. Inhibitory effect of silibinin on hepatitis B virus entry. Biochem Biophys Rep; 2018. 14: 20-5.

65. Varghese L, Agarwal C, Tyagi A, Singh RP, Agarwal R. Silibinin efficacy against human hepatocellular carcinoma. Clin Cancer Res; 2005. 11: 8441-8.

66. Lah JJ, Cui W, Hu KQ. Effects and mechanisms of silibinin on human hepatoma cell lines. World J Gastroenterol; 2007. 13: 5299-305.

67. Siegel AB, Narayan R, Rodriguez R, Goyal A, Jacobson JS, Kelly K, et al. A phase I dose-finding study of silybin phosphatidylcholine (milk thistle) in patients with advanced hepatocellular carcinoma. Integr Cancer Ther; 2014; .13: 46-53.

68. Basiri A, Pashaiasl M. The Toxic Effect of Silibinin and Paclitaxel Combination on Endometrial Cancer Cell Line. J Ardabil Univ Med Sci; 2016. 16: 323-330. (Persian)

69. Zhang Y, Ge Y, Ping X, Yu M, Lou D, Shi W. Synergistic apoptotic effects of silibinin in enhancing paclitaxel toxicity in human gastric cancer cell lines. Mol Med Rep; 2018. 18: 1835-41.

70. Singh RP, Mallikarjuna GU, Sharma G, Dhanalakshmi S, Tyagi AK, Chan DC, et al. Oral silibinin inhibits lung tumor growth in athymic nude mice and forms a novel chemocombination with doxorubicin targeting nuclear factor kappaB-mediated inducible chemoresistance. Clin Cancer Res; 2004. 10: 8641-7.

71. Javan Maasomi Z, Pilehvar-Soltanahmadi Y, Dadashpour M, Alipour Sh, Abolhasani S, Zarghami N. Synergistic anticancer effects of silibinin and chrysin in T47D breast cancer cells. Asian Pac J Cancer Prev; 2017. 18: 1283-7.

72. Chatran M, Pilehvar-Soltanahmadi Y, Dadashpour M, Faramarzi L, Rasouli S, Jafari-Gharabaghlu D, et al. Synergistic anti-proliferative effects of metformin and silibinin combination on T47D breast cancer cells via hTERT and cyclin D1 inhibition. Drug Res (Stuttg); 2018. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29920623>.