

Improved Anti-Inflammatory Effect of Silymarin in Rats Induced Liver Carcinogenesis

Sama J. AL-zuwainy

Biology Department, College of Science for Women, Babylon University, Iraq

Samajawad540@yahoo.com

Abstract

The present study aims to Improved Anti-Inflammatory Effect of Silymarin in Rats Induced Liver Carcinogenesis. Silymarin, a flavonolignan isolated from *Silybum marianum*, has also been used for centuries as natural remedy for liver diseases and now reported to have cancer preventive and therapeutic effects. It has been used clinically to treat liver disorders including acute and chronic viral hepatitis, toxin/drug-induced hepatitis and cirrhosis and alcoholic liver disease. The efficacy and dose-response effect of silymarin (125, 250 and 500 mg/kg) were assessed using egg albumin-induced paw edema in rats as a model of acute inflammation. In this model, 56 rats were used and allocated into 7 subgroups each containing 8 rats. All treatments were given intraperitoneally 30 minutes before induction of inflammation by egg albumin and then the increase in paw edema was measured 1h, 2h and 3h after induction of inflammation by using the vernier caliper. The results indicated that silymarin, at doses range used, significantly lowered paw edema ($P<0.05$) an effect comparable to that produced by the reference drugs, acetyl salicylic acid, meloxicam and dexamethazone. Paw edema suppressive effect of silymarin 250 and 500 mg/kg was comparable and both of them were significantly different from that of silymarin 125 mg/kg ($P<0.05$). Therefore, silymarin exert an important anti-inflammatory activity in animal model of acute inflammation, which was significantly increased as the dose increased up to 250 mg/kg.

Key words: Silymarin, hepatoprotective, egg albumin, liver.

الخلاصة

استخدم السليمارين المستخلص من بذور نبات الكعوب على نطاق واسع منذ القدم نظراً لتأثيره المضاد للالتهابات الكبد. و استخدم السليمارين طبيياً في الوقت الحاضر في علاج امراض الكبد الحادة والمزمنة والناشئة عن الاصابات الفيروسية أو التعرض للسموم والكحول. وقد تناولت الدراسة الحالية استخدام ثلاث جرعات مختلفة من مادة السليمارين (500,250,125 ملغم/كغم) وبيان تأثيرها على الجرذان المصابة بالتهاب الكبد الحاد المستحدث بواسطة الألبومين. استخدم 56 جرذاً أبيضاً قسمت الى 7 مجموعات كل مجموعة احتوت على 8 جرذان. تم استحداث الإصابة في الجرذان من خلال زرق زلال البيض في قدم الجرذان ثم عولجت الجرذان بجرع مختلفة من السليمارين عن طريق الزرق بالبريتون قبل 30 دقيقة من استحداث الالتهاب. وبعد استحداث الالتهاب تم قياس مستوياتها بعد ساعة واحدة, ساعتان وثلاث ساعات. وبينت النتائج أن فعالية السليمارين المضادة للالتهاب تعتمد على الجرعة بالمقارنة مع المركبات القياسية (حامض أسيتيل ساليسيليك, ديكساميثازون والميلوكسيكام) حيث وجد ان فعالية السليمارين ضد الالتهاب تزداد بازدياد الجرعة حتى 250. ملغم/كغم.

الكلمات المفتاحية: السليمارين, البومين البيض, الكبد

المقدمة

الالتهاب هو رد فعل فسيولوجي مهم يحدث كاستجابة مناعية عند تعرض الجسم لمخاطر العدوى البكتيرية أو الصدمات الجسدية يهدف في النهاية الى تقليل الضرر وتعزيز إصلاح الأنسجة (Nathan,2002). وهذا يتطلب اشتراك انواع مختلفة من الخلايا المناعية بالتعاون مع وسائط متعددة على وفق نظام عالي الدقة (Gouwy *et al.*,2005). غالباً ما تبدأ الاستجابة الالتهابية بتفعيل الخلايا البلعمية الكبيرة macrophages المتواجدة في منطقتها الالتهاب من خلال مستقبلات خاصة ثم تتحفز الوسائط المناعية الاخرى بشكل تسلسلي

دقيق مثل السايتوكاينات، cytokines، الكيموكاينات، chemokines، والبروتيز، protease، ومن ثم تحفيز وتفعيل خلايا الدم البيضاء leukocyte (Lawrence *et al.*, 2002). في البداية تكون الاستجابة المناعية المضادة للالتهاب (anti-inflammatory response) غير فعالة مسيطر عليها من قبل وسائط جينيه تعمل على تحفيز عملية البلعمة. phagocytosis وتحفيز الموت المبرج للخلايا apoptosis. ان تحقيق التوازن بين الاستجابة المناعية المضادة للالتهاب و الاستجابة المناعية المحفزة للالتهاب (pro- and anti-inflammatory responses) ضروري لمنع حدوث اضرار كبيره او تأثيرات واسعة النطاق لاوقات طويلة أو غير منتظمة (Lawrence *et al.*, 2002). استخلص السليمارين من بذور نبات الكعوب (*Silybum marianum*) واستخدم كعلاج عشبي منذ القدم لعلاج العديد من الحالات مثل امراض الكبد والمرارة والتي تشمل التهاب الكبد وتليف الكبد و استخدم كمضاد للعديد من السموم مثل التسمم بالفطر البري والكحول والمواد الكيميائية والسموم البيئية (Rainone, 2005). ويعد السليمارين من افضل الاعشاب الطبية المعروفة في علاج امراض الكبد (Dhiman and Chawla, 2005, Rainone, 2005) تكمن اهمية السليمارين في قدرته المضادة للاكسده حيث يعمل بشكل مباشر او غير مباشر على تكسير وازاله العديد من المركبات مثل phenylglyoxylic و ketyl radicals (Luper, 1998). تناولت الدراسة الحالية تقييم كفاءه السليمارين لعلاج التهاب الكبد الحاد في الفئران وتحديد الجرعة الاكثر فاعليه في علاج الالتهاب في النموذج المختبري وحللت النتائج احصائيا باستخدام اختبار (ANOVA) واختبار P -values < 0.05 t -test. حيث اشارت النتائج الى وجود فروق معنويه واضحه.

المواد وطرائق العمل

استخدم في هذه الدراسة مسحوق السليمارين حيث تم الحصول عليه كمستخلص نقي من شركة لونا (مصر)، اذيب السليمارين في %98 من محلول ثنائي ميثيل سلفوكسيد لإنتاج محلول قياسي بتركيز 250 ملغ/مل، ثم تم تخفيف هذا المحلول القياسي للحصول على تراكيز مختلفة. وتم الحصول على الثنائي ميثيل سلفوكسيد (Dimethyl sulfoxide) والداي اثيل اثير (diethyl ether) من شركة (ميرك، ألمانيا)، والدكساميثازون (dexamethasone) من (American reagent, inc. USA)، و حامض الساليسايليك (acetyl salicylic acid) من (سانوفي، فرنسا) والفرجار اليدوي من (ألمانيا). و استخدم في هذه الدراسة 56 جرد من كلا الجنسين (108-220غم) قسمت الى 7 مجموعات فرعية، كل مجموعه تحتوي على 8 جردان. وتمثل هذه المجموعات مجموعات (السيطرة، القياسية والاختبار) اختبرت قدره السليمارين على الحد من الالتهاب الحاد المستحدث بالألبومين والذي يسبب وذمة في الفئران وفقا لتقنية ونتر (Winter) وآخرون (Winter *et al.*, 1962). ولضمان بقاء الجردان تحت ظروف موحد في مدة التجربة حرمت الجردان من الغذاء والماء لليلة واحده قبل اجراء التجربة (Winter *et al.*, 1963)

قسمت الجردان الى 7 مجاميع (كل مجموعه تحتوي على 8 جردان). المجموعة الأولى (مجموعة السيطرة) تم اعطائها 2 مل / كغ من ثنائي ميثيل سلفوكسيد dimethyl sulfoxide. والمجاميع الثلاثة القياسية اعطيت 100 ملغ/كغ من حمض الاسيتيل ساليسايليك (acetyl salicylic acid) و 10 ملغ/كغ من ميلوكسيكام (meloxicam) و 1 ملغ/كغ من دكسا ميثازون (dexamethasone) على التوالي. بينما مجاميع الاختبار الثلاثة اعطيت السليمارين بثلاث جرع (125 و 250 و 500 ملغم/كغ) على التوالي بعد 30 دقيقة من اعطاء

جميع الادوية تم استحداث الالتهاب في الفئران بحقن 0.1 مل من البومين البيض الطازج(عامل التهاب) في كف اليد اليمنى (Okoli and Akah, 2000 , Ekpendu *et al.*1994). تم قياس مقدار الزيادة في طبقة الاديما في كف الجرذان بواسطة الفرجار قبل استحداث الالتهاب وبعد ساعه وساعتين وثلاث ساعات من استحداث الالتهاب. وتم حساب الوسط الحسابي(mean) لمقدار الزيادة في سمك كف الجرذان قبل الاصابه وبعدها. وتم التعبير عن قابلية الادوية المضادة للالتهاب في كف الجرذان بالنسب المئوية لمقدار التثبيط في التهاب طبقة الاديما لكف الجرذان(Duffy *et al.*2001).

واجري التحليل الاحصائي لجميع النتائج لملاحظه الفروق المعنويه بين مجموعه السيطرة ومجاميع الاختبار باستخدام تحليل التباين (ANOVA) واختبار t (t -test) (P -values < 0.05) وكانت الفروق كبيره.

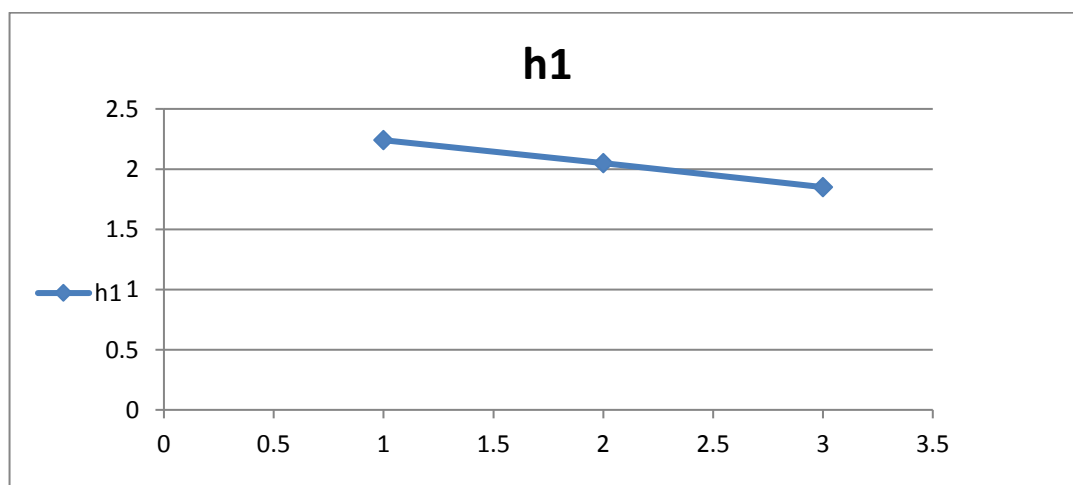
النتائج

بينت نتائج الدراسة الحالية تأثير السيليمارين المضاد للالتهاب الحاد المستحدث في الجرذان كما موضح في الجدول (1) والشكل(1). استخدام كل من السيليمارين, حامض الساليسايليك (acetyl salicylic acid), ميلوكسيكام (meloxicam), دكسا ميثازون (dexamethasone) ادى الى تقليل الالتهاب بشكل واضح في ادما كف الجرذان بالمقارنة مع مجموعة السيطرة بعد (1 ساعة, 2 ساعة, 3 ساعة) من استحداث الالتهاب بالبومين البيض. وكان هناك فرق معنوي واضح بين المجموعة المعالجة بالسيليمارين (125 ملغ/كغ) بالمقارنة مع باقي المجاميع في الساعات الثلاث للاختبار ($P < 0.05$). بينما لا يوجد فرق معنوي واضح بين السيليمارين (250 و 500 ملغم/كغم) وميلوكسيكام (meloxicam), دكسا ميثازون (dexamethasone) في الساعة الثانية والثالثة من الاختبار. بينما اظهر السيليمارين(250 و 500 ملغم / كغم) فرقاً معنوياً واضحاً بالمقارنة مع حامض الساليسايليك (acetyl salicylic acid) في الساعة الثانية والثالثة من الاختبار ($P < 0.05$). (ما عدا السيليمارين 500 ملغم/كغم لم يظهر فرق معنوي واضح في الساعة الثانية من الاختبار). الجرعة المؤثرة للسيليمارين على الالتهاب الحاد المستحدث في الجرذان تم توضيحه في شكل قم(1).ت أثير السيليمارين المضاد للالتهاب الحاد في ادما الجرذان ازداد بشكل واضح ($P < 0.05$) عندما وضعت الجرعة من (125 ملغم/كغم) الى (250 ملغم/كغم). ومع ذلك فان اي زياده في تركيز السيليمارين اكثر من (500 ملغم/كغم) لم تظهر اي زياده معنويه واضحه في فعالية السيليمارين المضادة للالتهاب (الا ان السيليمارين بتركيز (500 ملغم/كغم) اظهر فرق معنوي واضح بالمقارنة مع السيليمارين بتركيز (250 ملغم/كغم) بعد الساعة الاولى من الاختبار.

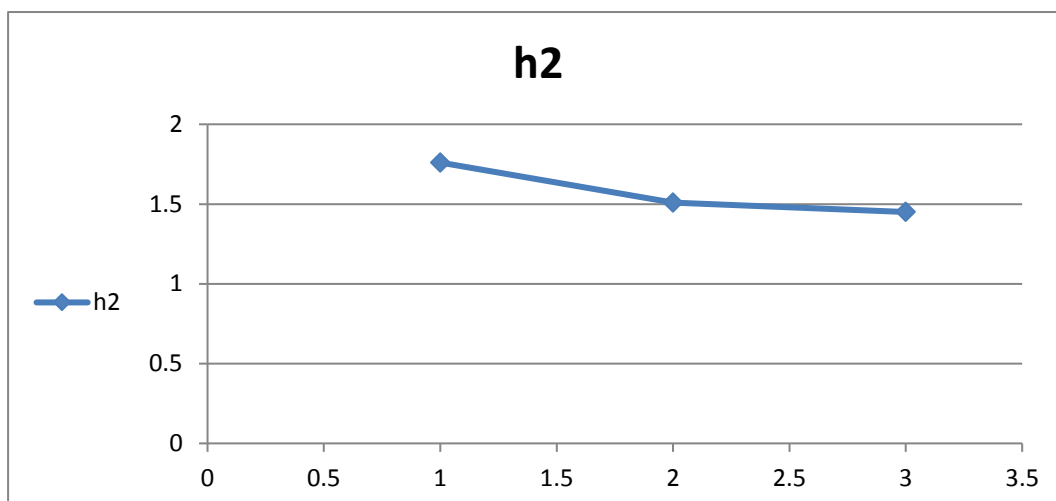
الجدول (1) : تأثير الجرعة المختلفة للسليمارين على الالتهاب الحاد المستحدث بواسطة البومين البيض في الجرذان

النسبة المئوية للتثبيط			المتوسط الحسابي للزيادة في سمك الالتهاب في كف الجرذان			المجاميع العلاجية
3 ساعة	2 ساعة	1 ساعة	3 ساعة	2 ساعة	1 ساعة	
-	-	-	0.06±1.75	± 2.28 0.05	± 3.07 0.06	ثنائي ميثيل سلفوكسيد 2 مل / كغ
39	40	36	a*0.04±1.05	± 1.34 a*0.04	± 1.92 a* 0.06	حامض أسيتيل الساليسيليك mg100 / كغ
34	34	34	a* 0.05±1.16	0.05±1.48 b*	± 1.99 a*0.05	ميلوكسيكام 10 mg / كغ
36	39	41	a* 0.05±1.11	0.06±1.37 a*	±1.79 b*0.06	دكسا ميثازون 1 mg / كغ
21	22	26	b*0.06±1.38	0.05±1.76 c*	±2.24 c*0.06	سليمارين 125 ملغ / كغ
28	33	32	c* 0.06±1.25	0.06±1.51 b*	±2.05 a*0.07	سليمارين 250 ملغ / كغ
30	36	38	c* 0.04±1.21	0.04±1.45 b*	±1.85 b*0.05	سليمارين 500 ملغ / كغ

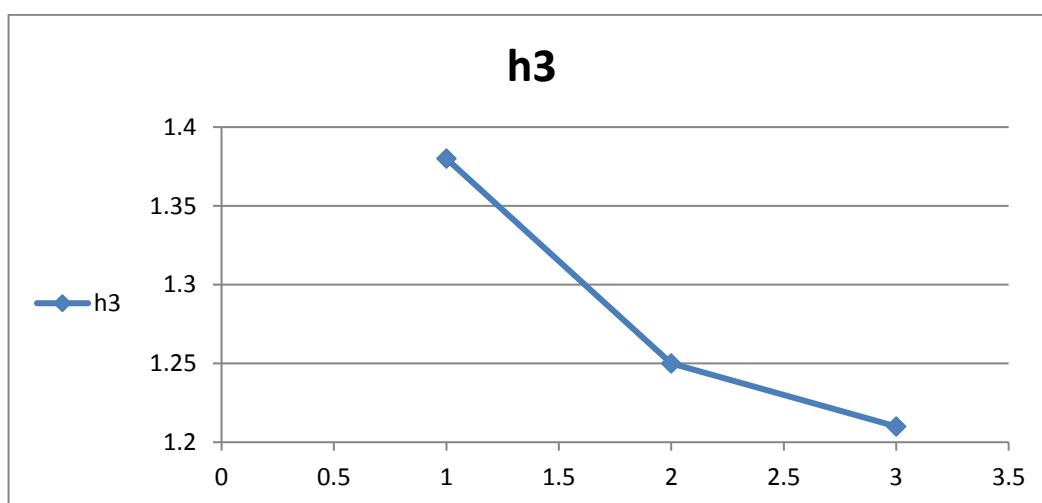
* تشير الى وجود فروق معنوية عند مستوى دلالة (P<0.05) مقارنة بالسيطرة.



شكل (1) : تأثير السليمارين على الالتهاب الحاد المستحدث بواسطة البومين البيض في الجرذان بعد (1 ساعة).



شكل (2): تأثير السيليمارين على الالتهاب الحاد المستحدث بواسطة البومين البيض في الجرذان بعد (2ساعة).



شكل (3): تأثير السيليمارين على الالتهاب الحاد المستحدث بواسطة البومين البيض في الجرذان بعد (3ساعة).

المناقشة

تعد الاستجابة الالتهابية احدى الخواص الفسيولوجية للأوعية الدموية النسيجية (Rang *et al.*2003). ومن الصفات الرئيسة للالتهاب الحاد حدوث زياده في نفاذية الأوعية الدموية او ما يسمى بالنضح (Exudation) (Hiley and Barber,2000).استعملت الجرذان المصابة بالالتهاب الحاد المستحدث بواسطة البومين البيض كنموذج حي لايضاح تاثير مضادات الالتهاب (Amos *et al.*2003) تمثل الالتهاب بحدوث ورم مميز في مخلب الجرذان نتيجة لتكون الوذمة. تثبيط زيادة نفاذية الأوعية الدموية

المصحوب بتكون الودمة يعكس مدى وحجم التفاعل الالتهابي الحاصل. توسطت العديد من الوسائط الكيميائية مثل الهستامين، HT-5، kinins و prostanoinds الالتهاب الحاد الناجم عن عوامل التهابيه شملت زلال البيض (Ialenti *et al.*1992).

وفقا لما جاء به Marsha-Lyn وآخرون (2002) يحدث الالتهاب من خلال ثلاث اطوار مميزة: الطور المبكر يتم بواسطة الهستامين و HT-5 (تصل إلى 2 ساعة)؛ الطور الوسيط الذي يشتمل على تنشيط البراديكينين bradykinin الطور النهائي يتم بتخليق Prostanoid (Perez *et al.*2001) استعمال vernier caliper لتقييم فعالية مستخلص السيليمارين المضاده للالتهاب المستحدث في مخلب الجرذان (باستخدام البومين البيض). كما مبين في الجدول (1) والاشكال (1,2,3).

استخدم ثلاث جرعات مختلفة (125 و 250 و 500 ملغم / كغم) من السيليمارين لإيجاد العلاقة بين الجرعة والاستجابة. اشارت النتائج الى الدور الواضح للفلافونويد flavonoid ضمن نطاق الجرعة المستخدمة بالمقارنة مع المادة القياسية المضادة للالتهاب المستعملة في التجربة. حيث تم قمع الالتهاب الحاد بشكل فعال في مراحله الثلاث كما مبين في الجدول (1).

تأثير السيليمارين في الطورين المبكر والوسيطي للالتهاب كان افضل من تأثيره في الطور النهائي للالتهاب كما مبين في الشكل (1). عند مقارنه تأثير السيليمارين المضاد للالتهاب، لاسيما في الجرعات 250 و 500 مغ/كغ مع العقاقير القياسية (control) لم يكن هناك فرق كبير بينهما. كان تأثير السيليمارين يزداد بزيادة الجرعة حتى 250 مغ/كغ ولكن بعد هذا التركيز لم يظهر السيليمارين اي زياده في التأثير بزيادة الجرعة اكثر من 250 مغ/كغ.

اوضحت العديد من الدراسات التي اختبرت فعالية السيليمارين المضادة للالتهاب في العديد من النماذج المخبرية ان التأثير المضاد للالتهاب يتحقق من خلال تثبيط هجره العدلات (neutrophils) الى المواقع الملتهبة مما يؤدي الى تحرير ROS، RNS والإنزيمات المحللة للبروتين (proteolytic enzymes) في مواقع الالتهاب وزياده نفاذية الاغشية البطانية (De la Puerta *et al.*1996). قلل السيليمارين الالتهاب المستحدث بواسطة papaya latex بشكل واضح عندما اعطي السيليمارين فمويا بجرع تراوحت بين 25 و 50 و 100 مغ/كغ. في حين لم يكن السيليمارين مؤثرا في الالتهاب المستحدث بواسطة carrageenan. كذلك قلل السيليمارين الالتهاب في اذن الفئران بنسبة 36.48% ولكن لم يكن لهذا التأثير فرق معنوي كبير (Gupta *et al.*2000). للسيليمارين عده ادوار بيولوجية ويعد من ابرزها مضاداً للأكسدة، مضاداً للالتهابات، مضاداً للسرطان، يعمل على زياده محتوى الخلايا من GSH و ويحفز superoxide (SOD) و يسبب انخفاضاً كبيراً في الدهون (peroxidation lipid) وبالتالي يعمل على حماية و استقرار الاغشية الخلوية (Chlopikova *et al.*2004) (Paril, 2004).

حيث يؤثر السيليمارين على استقرار الغشاء الخلوي للخلايا البدينة (De la Puerta *et al.*1996). قد يفسر تأثير السيليمارين على المرحلة الأولى للالتهاب الحاد الذي يتم بواسطة الهستامين و HT-5) كبح تحبب الخلايا البدينة وتثبيط تحرير الوسائط المسؤولة عن بدأ الطور المبكر للالتهاب الحاد في مخلب الجرذان. السيليمارين يمنع TNF- α من تفعيل NF- κ B الذي ينظم التعبير عن الجينات المختلفة المشاركة في الالتهاب (Monna *et al.*1999) التوقف الكامل لعمل mRNA expression في IL-1 β و COX-2 في متعدد السكريد الدهني (LPS) حفز خلايا (RAW 264.7) (Kang *et al.*2004). ينتشط leukotriene B4 (LTB4) بقوه بواسطه السيليمارين الذي يعد من المركبات الاساسيه المستخلصة من بذور

نبات الكعوب milk thistle ويعد من اكثرها فاعليه بايولوجية لما يتمتع به من خصائص مضادة للالتهاب و مضادة الاكسدة (Baumann,2004). تم تأكيد الدور البايولوجي للسليمارين بالعديد من التجارب التي اجريت على الخلايا البلعمية المستخلصة من الكبد البشري, كذلك يسبب السليمارين تثبيط واضح في LOX-5 في النموذج المختبري (Dehmlow *et al.*1996). و قد يفسر تأثير السليمارين على المرحلة الثالثة من التهابات الحاده بتثبيط تخليق PG وتعبير COX اصبح واضحا ان السليمارين يجمع الالتهاب الحاد في جميع مراحل (المبكر,المتوسط, النهائي)من خلال تأثيره على مراحل نشوء وانتشار الالتهاب الحاد ومع ذلك, هناك بيانات غير محدودة عن دور السليمارين في مراحل اللالتهاب, وعد مؤخرا من الأدوية المهمة المستخدمة في الأمراض الالتهابية. ينشأ وينتشر الالتهاب بهجرة كريات الدم البيضاء Leukocytes الى مكان الالتهاب, ولكنه يتثبط بالسليمارين الذي يثبط هذه الهجرة ويمنع الالتهاب. كذلك يعمل على تثبيط العديد من الوسائط الالتهابية المتنوعة التي تساعد على انتشار الالتهاب (Kang *et al.*2004). في مقارنة مع السليمارين, مضادات الالتهاب غير الستيروئيدية تثبط مرحلة انتشار الالتهاب من خلال تثبيط تخليق PG, ولكنها تؤثر سلبا على مرحلة الانحلال (باستثناء acetyl salicylic acid) من خلال تثبيط تخليق 15d-PGJ2 الذي يعد من الوسائط المهمة المضادة للالتهاب (Gilroy *et al.*2003). من ناحية أخرى, تعد الستيرويدات steroids من العقاقير المهمة المضادة للالتهابات حيث أنها تثبط كل مراحل الالتهاب الحاد. أنها تثبيط مر احل نشوء وانشار الالتهاب من خلال تثبيط هجرة الكريات البيض leukocytes و تثبيط التعبير الجيني لوسائط الالتهاب بينما تعزز مرحلة الانحلال للالتهاب من خلال زيادة قدرة الخلايا الالتهامية macrophages للقيام بعملية البلعمة phagocytosis و اباده الخلايا الالتهابية (Giles *et al.*2001). يمكن الاستنتاج ان للسليمارين القدرة على خفض الالتهاب الحاد في الجرذان, وان تأثيره المضاد للالتهاب يزداد بزيادة الجرعة حتى 250 مغ / كغ ولكن اي زياده في الجرعة اكثر من 250 مغ / كغ لا تسبب اي زياده في فعاليته المضادة للالتهاب.

References

- Amos S, Chindo B, Edmond I, *et al.* Antiinflammatory and antinociceptive effects of *Ficus Platyphylla* in rats and mice. *J Herbs Spices Medicinal Plants* 2002; 9:47-53.
- Baumann LS. Silymarin. *Dermatol Ther* 2004; 35(12): 320-325. Dehmlow C, Erhard J, DeGroot H. Inhibition of kupffer cell function as an explanation for the hepatoprotective properties of silibinin. *Hepatology* 1996; 23(4): 749-754.
- Chlopikova S, Psotova J, Ketova P, *et al.* Chemoprotective effect of plant phenolic agonist anthracyclin-induced toxicity on rat cardiomyocytes. Part I- Silymarin and its flavolignans. *Phytother Res* 2004; 18(2):107-110.
- De la Puerta R, Martinez E, Barvo L, *et al.* Effect of silymarin on different acute inflammation models and on leukocyte migration. *J Pharm Pharmacol* 1996; 48(9): 968-970.
- Dhiman RK, Chawla YK. Herbal medicines for liver diseases. *Dig Dis Sci* 2005; 50:1807-1812.
- Duffy JC, Dearden JC, Rostron C. Design, Synthesis and biological testing of a novel series of anti-inflammatory drugs. *J Pharm Pharmacol* 2001; 53:1505-1514.
- Ekpendu TO, Akah PA, Adesomoju AA, *et al.* Anti-inflammatory and antimicrobial activities of *Mitracarpus scaber* extracts. *Intern J Pharmacognosy* 1994; 32:191-196.

- Giles KM, *et al.* Glucocorticoids augmentation of macrophage capacity for phagocytosis of apoptotic cells is associated with the reduced p130 expression, loss of paxillin/pyk2 phosphorylation and high levels of active Rac. *J Immunol* 2001; 167: 976-986.
- Gilroy DW, Colville-Nash PR, McMaster S, *et al.* Inducible cyclooxygenase-derived 15-deoxy (Delta) 12-14 PGJ2 brings about acute inflammatory resolution in rat pleurisy by inducing neutrophil and macrophage apoptosis. *FASEB J* 2003; 17: 2269-2271.
- Gouwy M, Struyf S, Proost P, *et al.* Synergy in cytokine and chemokine network amplifies the inflammatory response. *Cytokine Growth Factor Rev* 2005; 16:561-580.
- Gupta OP, Sing S, *et al.* Antiinflammatory and antiarthritic activities of silymarin acting through inhibition of 5-lipoxygenase. *Phytomedicine* 2000; 7(1): 21-24.
- Hiley P, Barber PC. Acute Inflammation Homepage of the Pathology Department Medical School (2000). University of Birmingham.
- Ialenti A, Ianaro A, Moncada S, *et al.* Modulation of acute inflammation by endogenous nitric oxide. *Eur J Pharmacol* 1992; 211:177-182.
- Kang JS, Jeon YJ, Park SK, *et al.* Protection against lipopolysaccharide-induced sepsis and inhibition of IL-1 β and prostaglandin E2 synthesis by silymarin. *Biochem Pharmacol* 2004; 67:175-181.
- Lawrence T, Willoughby DA, Gilroy DW. Anti-inflammatory lipid mediators and insights into the resolution of inflammation. *Nat Rev Immunol* 2002; 2:787-795.
- Levy C, Seeff LD, Lindor KD. Use of herbal supplements for chronic liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004; 2: 947-956.
- Luper S. A review of plants used in the treatment of liver diseases: part 1. *Altern Med Rev* 1998; 3: 410-421.
- Marsha-Lyn M, Mckoy G, Everton T, *et al.* Preliminary investigation of the antiinflammatory properties of an aqueous extract from *Morinda citrifolia* (Noni). *Proc West Pharmacol Soc* 2002; 45:76-78.
- Mayer KE, Myers RP, Lee SS. Silymarin treatment of viral hepatitis: a systematic review. *J Viral Hepat* 2005; 12:559-567.
- Monna SK, Mukhopadhyaya A, Van NT. Silymarin suppresses TNF-induced activation of NF- κ B, c-Jun N-terminal kinase and apoptosis. *J Immunol* 1999; 163(12): 6800-6809.
- Nathan C. Points of control in inflammation. *Nature* 2002; 420: 846-852.
- Okoli CO, Akah PA. A pilot evaluation of the anti-inflammatory activity of *Culcasia scandens*, a traditional antirheumatic agent. *J Altern Complement Med* 2000; 6: 423-427.
- Paril MP. Protective effect of alpha-lipoic acid against chloroquine-induced hepatotoxicity in rats. *J Appl Toxicol* 2004; 24(1): 21-26.
- Perez C, Herrera D, *et al.* A pharmacological study of *Cecropia obtusifolia* aqueous extract. *J Ethnopharmacol* 2001; 76: 279-284.
- Rainone F. Milk thistle. *Am Fam Physician* 2005; 72:1285-1288.
- Rang HP, Dale MM, Ritter JM. Local hormones, inflammation and immune reactions. In, Text book of pharmacology (2003) 5th ed. Churchill Livingstone, UK, PP.217-242.
- Winter EA, Risely EA, Nuss GV. Antiinflammatory and antipyretic activities of indomethacin. *J Pharmacol Exp Ther* 1963; 141: 369-376.
- Winter EA, Risely EA, Nuss GV. Carrageenan-induced edema in hind paws of rats as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proc Soc Exp Biol Med* 1962; 111: 4-547.