Archive of SID

اثر حفاظتی عصاره فلاونوییدی بذر خارمریم و ریشه شیرین بیان بر روی سلول‌های کبدی در موش صحرایی

صدیقه عسگری[۱]*، حسین مدنی[۲]، غلامعلی نادری[۳]، شهراز طوری[۴]، ملیحه طالب‌الحسینی[۵]

۱- دانشیار، گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان و مرکز تحقیقات قلب و عروق اصفهان
۲- استادیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه اصفهان
۳- دانشیار، گروه بیوشیمی، مرکز تحقیقات قلب و عروق اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
۴- استادیار، گروه هیستولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
۵- کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان
* آدرس مکاتبه: اصفهان، میدان جمهوری اسلامی، خیابان خرم، مرکز تحقیقات قلب و عروق اصفهان، مرکز همکار سازمان بهداشت جهانی جهت آموزش و پژوهش در زمینه کنترل، پیشگیری و بازتوانی بیماری‌های قلبی عروقی در کشورهای منطقه مدیترانه شرقی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، صندوق‌پستی: ۱۱۴۸-۸۱۴۶۵ ، تلفن: ۳۳۵۹۶۹۶، ۳۳۵۹۷۹۷ (۰۳۱۱) نمابر: ۳۳۷۳۴۳۵ (۰۳۱۱)
پست الکترونیک: crc@mui.ac.ir

تاریخ تصویب: ۸۳/۱۰/۱

چکیده

مقدمه: از جمله وظایف اصلی و عمده کبد متابولیسم گزنوبیوتیک‌ها و سم‌زدایی می‌باشد. اما در برخی موارد در طی متابولیسم این مواد متابولیت‌های سمی و فعالی ایجاد می‌شوند که می‌توانند موجب آسیب سلول‌های کبدی و در نتیجه بیماری‌های کبد گردند. استفاده از مواد طبیعی با منشای گیاهی در درمان بیماری‌های مختلف از جمله بیماری‌های کبدی در طب سنتی، تاریخچه‌ای طولانی دارد.

هدف: در این مطالعه اثر حفاظتی عصاره پلی‌فنلی بذر خارمریم و ریشه شیرین‌بیان بر روی سلول‌های کبدی موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفته است.

روش تحقیق: به منظور ایجاد آسیب کبد از سم تیواستامید استفاده شد. عصاره‌ها با دوز ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و تیواستامید با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت درون صفاقی تزریق شد. میزان فعالیت آمینوترانسفرازهای سرمی (SGOT و SGPT)، آلکالین فسفاتاز، بیلی‌روبین، سدیم و پتاسیم به عنوان شاخص‌های آسیب کبدی برای بررسی اثر حفاظتی عصاره‌ها در برابر تیواستامید بر روی کبد اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: میزان فعالیت آمینوترانسفرازهای سرمی، آلکالین فسفاتاز و بیلی‌روبین در گروه‌های دریافت‌کننده تیواستامید به همراه عصاره نسبت به گروه تیمار شده با تیواستامید بدون عصاره کاهش معنی‌داری را نشان داد ($p < ۰/۰۰۱$).

نتیجه‌گیری: نتایج به دست آمده نشان‌دهنده اثر حفاظتی موثر این عصاره‌ها در برابر آسیب‌های ناشی از سم کبدی تیواستامید می‌باشد که به واسطه اثر آنتی‌اکسیدانی ترکیبات پلی‌فنلی است.

گل‌واژگان: حفاظت کننده کبد، تیواستامید، ترکیبات فنلی، خارمریم، شیرین‌بیان

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

یکی از مهمترین اعمال کبد علاوه بر سوخت و ساز مواد مختلف، سم‌زدایی گزنوبیوتیک‌ها، مواد آلوده‌کننده محیطی و داروهای شیمی درمانی می‌باشد [۱]. در اکثر موارد در طی عمل سم‌زدایی فعال‌سازی متابولیکی توسط آنزیم‌های سیتوکروم P450 میکروزوم‌های کبدی باعث ایجاد متابولیت‌های سمی و فعال می‌شود که این مواد می‌توانند موجب آسیب بافت‌های مختلف از جمله کبد شوند [۲]. تیواستامید یک سم کبدی قوی می‌باشد که پس از ورود به بدن مشابه بسیاری از مواد از جمله استامینوفن، برخی آنتی‌بیوتیک‌ها، اتانول و تتراکلریدکربن عمل کرده وتوسط آنزیم‌های سیستم سم‌زدایی سیتوکروم P450 متابولیزه می‌شود [۳،۴]. متابولیسم تیواستامید منجر به تولید تیواستامید S- اکسید و متابولیت‌های دیگر می‌شود [۵،۶]. بنابراین تیواستامید S- اکسید یک ترکیب واسطه در مراحل اکسیداسیون تیواستامید توسط منواکسیژنازهای با عملکرد مختلط (از جمله سیتوکروم P4502B1) می‌باشد که باعث ایجاد استرس اکسیداتیو در سلول‌های کبدی می‌شود [۷،۸]. مطالعات نشان داده‌اند که تیواستامید موجب مرگ سلولی، نکروز و آپوپتوز در سلول‌های کبدی می‌گردد [۹].

ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و خنثی‌کننده‌های رادیکال‌های آزاد می‌توانند آسیب‌های حاصل از تیواستامید و مواد مشابه را کاهش دهند [۱۰]. بسیاری از ترکیبات گیاهی از جمله پلی‌فنل‌ها دارای خواص آنتی‌اکسیدانی موثری می‌باشند [۱۱]. در این مطالعه اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره پلی فنلی بذر گیاه خارمریم[1] و ریشه شیرین‌بیان[2] در برابر مسمومیت با تیواستامید مورد بررسی قرار گرفته است. از آنجایی که خارمریم دارای اثر حفاظتی شناخته شده‌ای در برابر سموم کبدی از جمله تتراکلرید کربن، اتانل و تیواستامید می‌باشد در این مطالعه به عنوان شاهد مثبت در نظر گرفته شده است [۱۲،۱۳].

مواد و روش‌ها

۱- عصاره‌های گیاهی

بذر خارمریم و ریشه شیرین بیان در اوایل تابستان ۱۳۸۱ از مزرعه‌های تحقیقاتی-کشاورزی اصفهان جمع‌آوری شدند. سپس با کمک کارشناسان گیاهی در بخش علوم گیاهی دانشگاه اصفهان شناسایی گردید. به منظور تهیه عصاره ابتدا گیاهان به صورت پودر درآورده شدند و عصاره الکلی آنها در دو مرحله استخراج گردید. به منظور حذف ترکیبات غیر فنلی عصاره توسط کلروفرم دکانته و در نهایت تحت دمای پایین تر از ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردید.

۲- حیوانات آزمایشگاهی

در این تحقیق از موش‌های صحرایی نر بالغ از نژاد Wistar با وزن حدود ۲۵۰-۲۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات از انسیتو پاستور تهران تهیه و در لانه حیوانات دانشکده داروسازی اصفهان تحت دوره نوری ۱۲ ساعت، دمای ۵ ± ۲۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت کافی نگهداری شدند. تغذیه موش‌ها توسط غذاهای آماده استاندارد و بدون محدودیت در آب و خوراک انجام گرفت.

۳ - تیمار حیوانات

ابتدا موش‌ها در ۴ گروه پنج تایی به طور تصادفی تقسیم و هر گروه در قفس جداگانه نگهداری شدند. گروه اول به عنوان گروه کنترل منظور گردید و در هر بار تزریق تنها سرم فیزیولوژی به منظور ایجاد شوک حاصل از تزریق دریافت کرد. به گروه دوم تیواستامید با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت درون صفاقی و در سه روز متوالی تزریق گردید [۲]. به گروه‌های سوم و چهارم به ترتیب عصاره پلی‌فنلی بذر خارمریم و ریشه شیرین بیان با دوز ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم همراه با تیواستامید با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در سه روز متوالی به صورت درون صفاقی تزریق شد. به منظور آماده نمودن مواد جهت تزریق تیواستامید در سرم فیزیولوژی و عصاره‌های گیاهی در آب مقطر با غلظت مشخص حل شدند.

٤ - بررسی‌های بیوشیمیایی

۴۸ ساعت پس از آخرین تزریق موش‌ها توسط کلروفرم بیهوش شده و خونگیری از قلب انجام گرفت. خون‌های جمع‌آوری شده به مدت ۲۰ دقیقه با ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند و سرم آنها جدا شد. فعالیت آمینوترانسفرازهای سرمی شامل SGOT، SGPT و همچنین میزان آلکالین فسفاتاز، بیلی‌روبین کل، سدیم و پتاسیم مورد سنجش قرار گرفت. مقادیر آمینوترانسفرازهای سرمی، آلکالین فسفاتاز و بیلی‌روبین کل توسط کیت‌های تجاری شرکت "من" اندازه‌گیری شد. میزان سدیم و پتاسیم نیز با استفاده از فلیم فتومتر مشخص گردید.

٥- آزمایش‌های بافت‌شناسی

موش‌ها پس از خونگیری تشریح شده و کبد آنها جداسازی و به طور دقیق وزن گردید. کبدها با محلول فرمالین ۱۰ درصد ثابت شدند. از کبد برش‌های بافتی تهیه و رنگ آمیزی شد و توسط میکروسکوپ بررسی گردید.

٦ - آنالیزهای آماری

نتایج به دست آمده از این تحقیق به روش آزمون آنالیز واریانس و توکی توسط برنامه‌های کامپیوتری ویژه مقایسه شد. میانگین‌های گروه‌ها در سطح $p< ۰/۰۵$ معنی‌دار می‌باشند.

[1] *Silybum marianum*
[2] *Glycyrrhiza glabra*

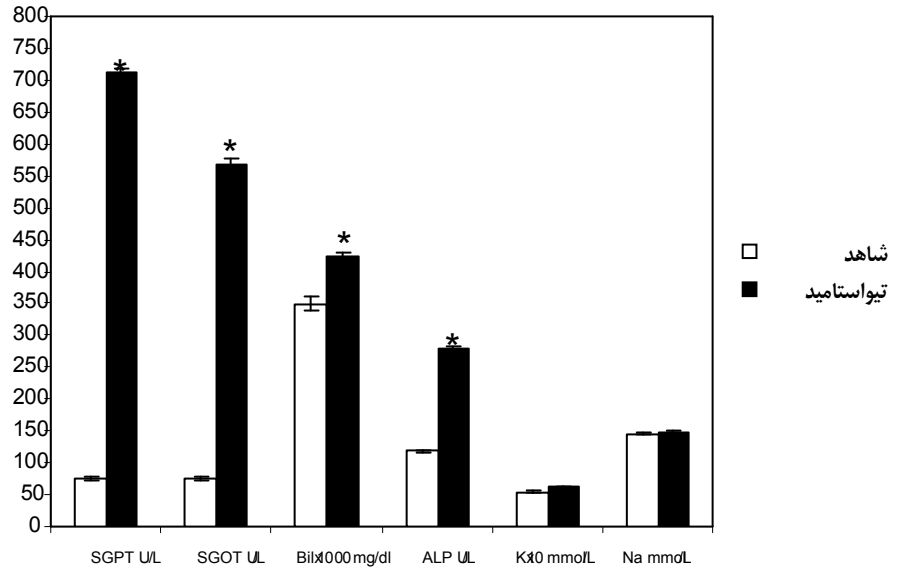
www.SID.ir

Archive of SID

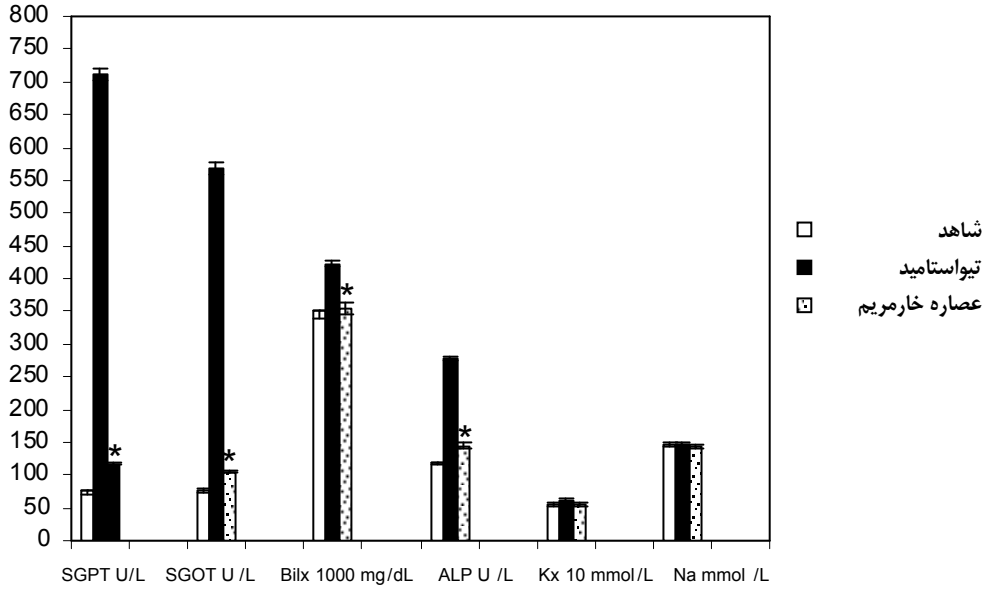
نتایج

تیواستامید با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در سه روز متوالی در مقایسه با گروه شاهد باعث افزایش معنی‌داری در میانگین میزان فعالیت SGOT، SGPT و آلکالین فسفاتاز شد ($p< ۰/۰۰۱$). همچنین میزان بیلی‌روبین کل نیز افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p< ۰/۰۱$). ولی تغییرات سدیم، پتاسیم و درصد وزنی کبد معنی‌دار نبود ($p< ۰/۰۵$) (نمودار شماره ۱).

تجویز هم زمان عصاره‌های پلی‌فنلی بذر خارمریم و ریشه شیرین بیان با تیواستامید موجب کاهش معنی‌دار میانگین میزان بیلی‌روبین کل و فعالیت آنزیم‌های کبدی SGOT، SGPT و آلکالین فسفاتاز گردید ($p< ۰/۰۰۱$) (نمودار شماره ۲ و ۳). ولی عصاره بذر خارمریم موجب کاهش این فاکتورها تقریباً تا حد طبیعی شد (نمودار شماره ۲). در مقایسه عصاره بذر خارمریم و شیرین‌بیان، عصاره بذر خارمریم اثر حفاظتی موثرتری را نشان می‌دهد (نمودار شماره ۴).



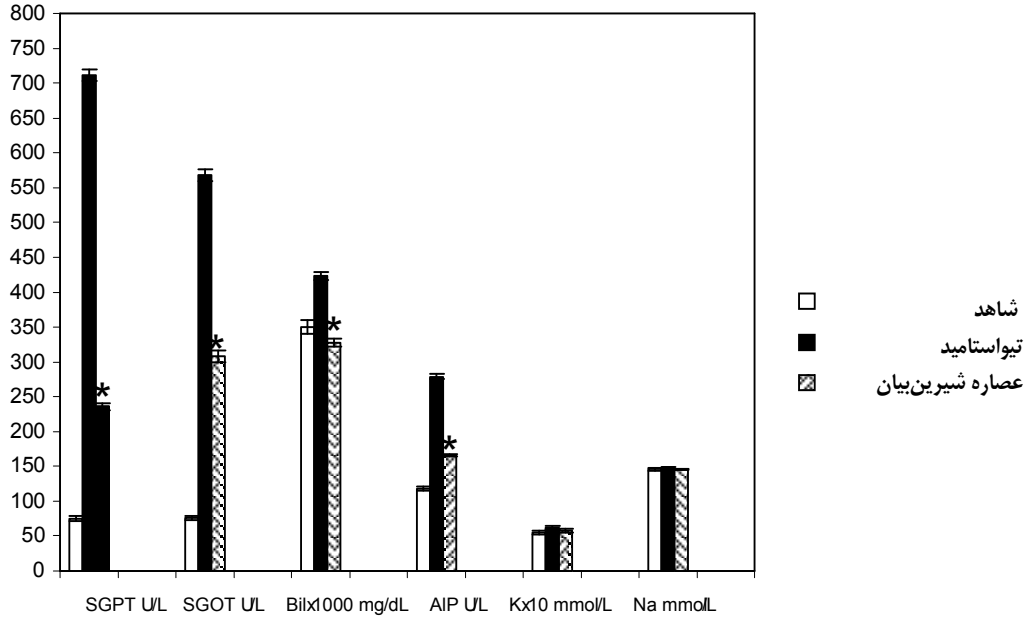
نمودار شماره ۱- مقایسه میانگین فاکتورهای بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده بین گروه شاهد و تیواستامید ($p< ۰/۰۵$)



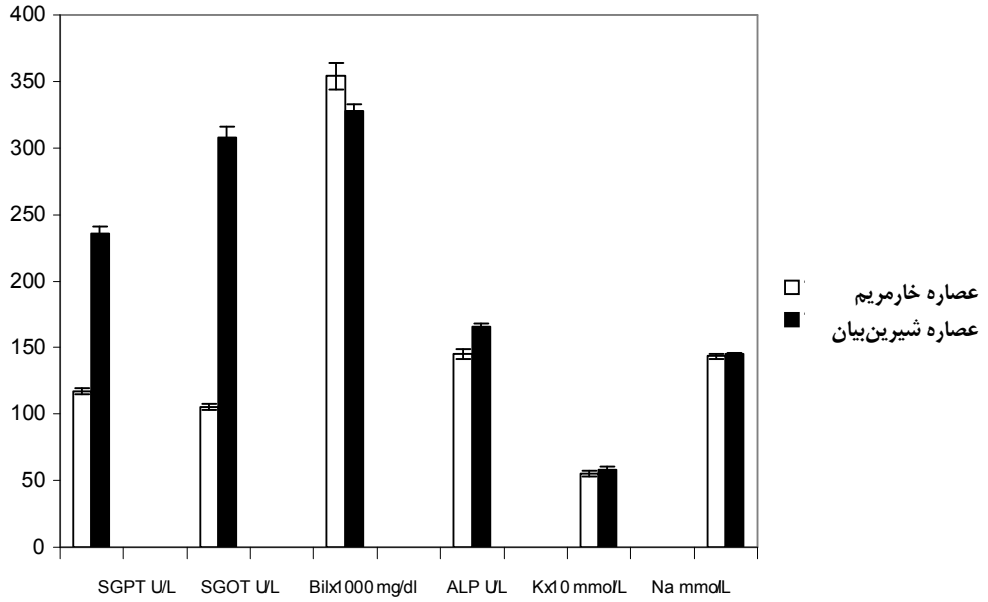
نمودار شماره ۲- مقایسه میانگین فاکتورهای بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده بین گروه‌های شاهد، تیواستامید و خارمریم ($p< ۰/۰۵$)

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار شماره ۳- مقایسه میانگین فاکتورهای بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده بین گروه‌های شاهد، تیواستامید و شیرین بیان (p< ۰/۰۵)



نمودار شماره ٤- مقایسه میانگین فاکتورهای بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده بین گروه‌های دریافت کننده عصاره بذر خارمریم و ریشه شیرین‌بیان همراه با تیواستامید (p< ۰/۰۵)

نتایج بافت‌شناسی

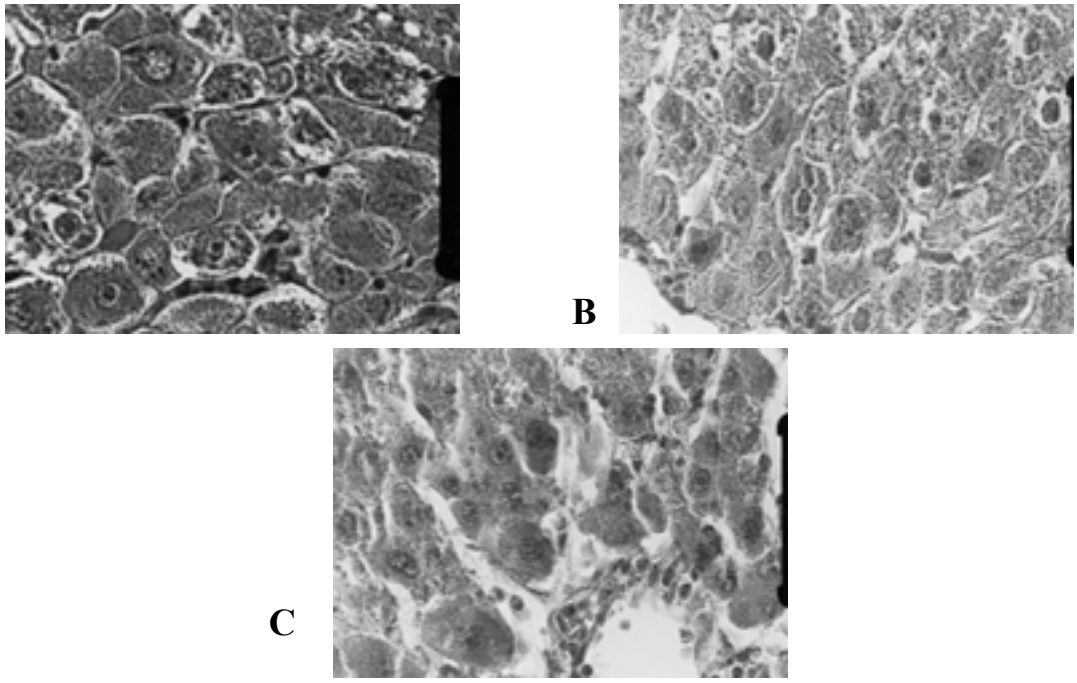
در بررسی میکروسکوپی برش‌های تهیه شده از گروه‌های تیمار شده با تیواستامید مشاهده شد که ورید مرکزی لبول‌های کبدی متسع

www.SID.ir

Archive of SID

و پر خون بوده و در سلول‌های اطراف ورید مرکزی نکروز و آپوپتوز نسبتاً زیاد مشاهده گردید و در بین سلول‌های نکروزه تعدادی سلول التهابی حاد و مزمن نیز قابل مشاهده است.

در برش‌های گرفته شده از گروه‌های تیمار شده با عصاره‌های پلی‌فنلی بذر خارمریم و ریشه شیرین بیان ورید مرکزی متسع و پرخون می‌باشد. در اطراف وریدهای مرکزی تعدادی سلول‌های آپوپتوز شده قابل مشاهده است که البته در گروه تیمار شده با عصاره بذر خارمریم این تعداد بسیار کمتر می‌باشد. در بقیه قسمت لبول نیز آپوپتوز نسبتاً کمی مشاهده گردید. سلول‌های نکروزه در گروه دریافت‌کننده عصاره بذر خارمریم بسیار نادر می‌باشند (شکل شماره ۱).



شکل شماره ۱- بافت کبد در گروه دریافت‌کننده تیواستامید (A)، بافت کبد در گروه دریافت‌کننده تیواستامید و خارمریم (B)، بافت کبد در گروه دریافت‌کننده تیواستامید و شیرین‌بیان (C)

بحث

نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان می‌دهد که میزان بیلی‌روبین کل و فعالیت SGOT، SGPT و ALP در گروه تیمار شده با تیواستامید نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داده است. از آنجایی که این آنزیم‌ها درون سلولی می‌باشند و در مواردی که آسیب سلولی رخ دهد به سرم رها می‌شوند، چنین نتیجه‌گیری می‌شود که تیواستامید موجب آسیب سلول‌های کبدی شده است [۱۴]. در مطالعات مشخص گردیده که تیواستامید به واسطه ایجاد استرس اکسیداتیو موجب مرگ سلولی از نوع نکروز و آپوپتوز در سلول‌های کبدی می‌شود [۹،۱۰]. تزریق هم زمان عصاره پلی‌فنلی بذر خارمریم و ریشه شیرین‌بیان همراه با تیواستامید موجب کاهش میزان بیلی‌روبین کل و فعالیت SGOT، SGPT و ALP در مقایسه با گروه دریافت‌کننده تیواستامید گردید. این بدان معنی است که این عصاره‌ها دارای اثر حفاظتی موثری در سلول‌های کبدی در برابر آسیب ایجاد شده توسط تیواستامید می‌باشند. بررسی‌های بافت‌شناسی انجام شده نیز این نتایج را تایید می کند.

ترکیبات پلی‌فنلی از مهمترین آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشند [۱۵،۱۶،۱۷]. این ترکیبات و به خصوص فلاونوییدها همچنین دارای اثر حفاظتی بر روی کبد در برابر آسیب‌های ناشی از سموم کبدی و رادیکال‌های آزاد می‌شوند [۱۸،۱۹،۲۰،۲۱]. فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی اساساً به واسطه خواص احیا کنندگی آنها می‌باشد که اجازه می‌دهند آنها به عنوان مواد احیا کننده، دهنده هیدروژن و غیرفعال کننده اکسیژن تنها عمل کنند [۲۲].

گیاهان بسیاری در درمان مسمومیت‌ها و بیماری‌های کبدی در طب سنتی مورد استفاده بوده‌اند که بسیاری از آنها حاوی ترکیبات پلی‌فنلی و فلاونوییدها می‌باشند [۲۳،۲۴]. بذر گیاه خارمریم قرن‌های متمادی در درمان بیماری‌های کبدی مورد توجه بوده است [۲۵]. عصاره استاندارد شده بذر این گیاه سیلی‌مارین نام دارد که حاوی فلاونوییدهای سیلی‌بین، سیلی‌کریستین، سیلی‌دیانین و ایزوسیلی‌بین می‌باشد [۲۶]. در حال حاضر نیز این گیاه در بسیاری از کشورهای

www.SID.ir

Archive of SID

جهان به عنوان درمان مطمئن برای بیماری‌های کبدی مورد استفاده است و اثرات آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌پراکسیدانی و ضد التهابی خارمریم به طور کامل شناخته شده است [۲۷،۲۸]. شیرین‌بیان نیز یکی از گیاهان دارویی شناخته شده و پرمصرف در جهان می‌باشد [۲۹]. ترکیبات ریشه شیرین‌بیان شامل گلیسریزین، تری‌ترپنویید، ساپونین، ایزوفلاون‌ها، فلاونوییدها، کومارین‌ها و فیتواسترول‌ها می‌باشد. ماده موثر آن گلیسیریزین است که در درمان هپاتیت مورد استفاده قرار می‌گیرد [۳۰]. اثر حفاظتی گلیسیریزین بر روی سلول‌های کبدی از طریق مهار نفوذ ویروس به سلول‌های کبد انسان به عنوان خنثی‌کننده رادیکال‌های آزاد، تنظیم کننده سیستم ایمنی بدن و همچنین محافظت سلول‌های کبد از طریق اثر ضدالتهابی آن می‌باشد [۳۱]. البته عصاره ریشه این گیاه دارای اثر مینرال کورتیکواستروییید می‌باشد و در صورت مصرف طولانی مدت با دوز بالا ممکن است موجب ادم و افزایش فشار خون در برخی افراد شود [۳۲].

عصاره‌های پلی فنلی بذر خارمریم و ریشه شیرین‌بیان می‌توانند توسط مکانیسم‌های متفاوتی موجب حفاظت سلول‌های کبدی در برابر تیواستامید شوند. این عصاره‌ها احتمالاً با اثرات آنتی‌اکسیدانی خود موجب ثبات غشای سلولی و جلوگیری از اکسیداسیون لیپیدهای غشا توسط متابولیت‌های فعال تولید شده از تیواستامید، می‌شوند [۱۳،۲۲،۳۳،۳۴]. همچنین با تحریک سنتز پروتئین در سلول‌های آسیب‌دیده، موجب ترمیم این سلول‌ها می‌شوند، البته این اثر در طولانی مدت بارزتر می‌باشد [۲۸]. همچنین ترکیبات فنلی احتمالاً با تحریک سیستم‌های سم‌زدایی و افزایش ظرفیت گلوتاتیون احیا درون سلولی موجب کاهش آسیب‌های ناشی از تیواستامید می‌شوند [۲۷].

منابع

1. Mitra SK, Venkataranganna MV, Sundaram R and Gopumadhavan S. Protective effect of HD-03, a herbal formulatin, against various hepatotoxic agents in rats. *J. Ethnopharmacology* 1998; 63: 181-186.

2. Jeong TC. Pretreatment of male BALB/c mice β-ionone potentiates thioacetamide-induced hepatotoxicity. *Toxicology Letters* 1999; 105: 39-46.

3. Janbaz KH, Saeed SA and Gilani AH. Protective effct of rutin on paracetamol and CCl_4-induced hepatotoxicity in rodents. *Fitoterapia* 2002; 73: 557- 564.

4. Sanz N, Fernandez CD, Simon LF, Alvarez A and Cascales M. Necrogenic and regenerative responses of liver newly weaned rats against a sublethal dose of thioacetamide. *Biochemica* et Biophysica Acta. 1998; 1384: 66-78.

5. Bruck R, Shirin H, Aeed H and Matas Z. Prevention of hepatic cirrhosis in rats by hydroxyl radical scavengers. *J. Hepatology* 2001; 35: 457-464.

6. Masumi S, Moriyama M and Yukiko K. Characteristics of nitrogen metabolism in rats with thioacetamide inducer liver cirrhosis. *Toxicology* 1999; 132: 155-166.

7. Kim KH, Bae JH, Cha SW and Han SS. Role of metabolic activation by cytochorome P450 in thioacetamide-induced suppression of antibody response in male BALB/C mice. *Toxicology Letters* 2000; 114: 225-235.

8. Zaragoza A, Andres D, Sarrion D and Cascales M. Potentiation of thioacetamide hepatotoxicity by phenobarbital pretreatment in rats, inducibility of FAD monooxygenase system and age effect. *Chemico-Biological Interactions* 2000; 124: 87-101.

9. Columbano GM, Coni P and Curto M. Induction of two different models of cell death, apoptosis and necrosis, in rat liver after a single dose of thioacetamide. *American Journal of Pathology* 1991; 139(5): 1099-1109.

10. Sun F. Evaluation of oxidative stress based on lipid hydroperoxide, vitamin C and vitamin E during apoptosis and necrosis caused by thioacetamide in rat liver. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2000; 1500: 181-185.

11. Sakihama Y, Cohen MF, Grace SC and Yamasaki H. Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants. *Toxicology* 2002; 177: 67-80.

12. Favari L and Perez-Alvarez V. Comparative effects of colchicine and silymarin on CCl4-chronic liver damage in rats. *Arch. Med. Res.* 1997; 28 (1): 11-17.

13. Schonfeld JV, Weisbrod B and Muller MK. Silibinin, a plant extract with antioxidant and membrane stabilizing properties, protects exocrine

www.SID.ir

Archive of SID

pancreas from cycloporin A toxicity. *Cellular and Molecular Life Sciences* 1997; 53: 917-920.

14. Sallie R, Tredger JM and William R. Drug and the liver. *Biopharmaeutical Drug Disposition* 1991; 12: 251-259.

15. Carreon JP, Iimenez GC and Vega JL. Genotoxic and antigenotoxic properties of *Calendula officinalis* extracts in rat liver cell cultures treated wiht diethylnitrosamine. *Toxicology in vitro* 2002; 16: 235-258.

16. Pyo, Y. H., Lee, T. C., Logendra, L. and Rosen, R. T. 2004. Antioxidant activity and phenolic compounds of Swiss chard (Beta vulgaris subspecies cycla) extracts. *Food Chemistry* 85, 19-26.

17. Toit R, Volsteedt Y and Apostolides Z. Comparison of the antioxidant content of fruits, vegetables and teas measured as vitamin C equivalents. *Toxicology* 2001; 166: 63-69.

18. Amad A, Pillai KK, Najmi AK and Pal SN. Evaluation of hepatoprotective potential of jigrine post-treatment against thioacetamide induced hepatic damage. *J. Ethnopharmacology* 2002; 79: 35-41.

19. Chattopadhyay RR. Possible mechanism of hepatoprotective activity of *Azadirachta indica* leaf extract: Part II. *J. Ethnopharmacology* 2003; 62: 31-39.

20. Germano MP, Sanogo R and Costa C. Hepatoprotective properties in the rat of *Mitracarpus scaber* (rubiaceae). *J. Pharm. Pharmacol* 1999; 51: 729-734.

21. Yoshikava M, Xu F, Morikava T, Ninomya K and Matsuda H. Anaststins A and B, new skeletal flavonoids with hepatoprotective activities from the desert plant *Anastatica hierochuntica*. *Bioorganic & Medicinal chemistry Letters* 2003; 13: 1045-1049.

22. Catherine A, Evans R, Nicholas JM and Geoge P. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. Free Radical *Biology and Medicine* 1996; 20: 933-956.

23. Ahmed B, Alam T and Varshney M. Hepatoprotective of two plants belonging to the Apiaceae and the Euphorbiaceae family. *J. Ethnopharmacology* 2002; 79: 313-316.

24. Zafar R and Mujahid Ali S. Anti-hepatotoxic effects of root and root callus extracts of *Cichorium intybus* L. *J. Ethnopharmacology* 1998; 63: 227-231.

25. Leng-Peschlow E and madause AG. Properties and medical use of flavonolignans from *Sylibum marianum*. *Phytotherapy Res.* 1996; 1: 25-26.

26. Valenzuela A and Garrido A. Biochemical bases of the pharmacological action of the flavonoid silymarin and of its structural isomer silibinin. *Biol. Res.* 1994; 27:105-112.

27. Schuppan D, Jia JD, Brinkhaus B and Hahn EG. Herbal products for liver diseases. *Hepatology* 1999; 30(4): 1099-1104.

28. Zix MH and Agarwal R. Novel cancer chemopreventive effects of a flavonoid antioxidant silymarin. *Biochm. Biophys. Res. Commun* 1997; 239: 334-339.

29. Olokoga A and Donaldson D. Liqurice and its healt implications. *Journal of the Royal Society of Health* 2000; 120: 83-89.

30. Li W, Asada Y and Yoshikawa T. Flavonoid constituents from *Glycyrrhiza glabra* hairy root cultures. *Phytochemistry* 2000; 55: 447-456.

31. Tandon A, Tandon BN and Bhujwala RA. Clinical spectrum of acute sporadic hepatitis E and Possible benefit of glycyrrhizin therapy. *Hepatology Res.* 2002; 23: 55-61.

32. Al-Qarawi AA, Abdel-Rahman HA, Ali BH and El Mougy SA. Liquorice (*Glycyrrhiza glabra*) and the adrenal- kidney-pituitary axis in rats. *Food and Chemical Toxicology* 2002; 40: 1525-1527.

33. Peyrat-Maillard MN, Bonnely S and Berset C. Determination of the antioxidant activity of phenolic compounds by coulometric detection. *Talanta* 2000; 51: 709-716.

34. Baer-Dubowska W, Szaefer H and Krajka-Kuzniak V. Inhibition of murin hepatic cytochrom P450 activities by natural and synthetic phenolic compounds. *Xenobiotica* 1998; 28: 735-743.

www.SID.ir