



Cardo mariano

Silybum marianum

Nome botanico

Silybum marianum L. Gaertner. (*Compositae*)

Parti usate

Frutti.

Componenti principali

Flavonolignani: silimarina (1,5 - 3%); flavonoidi: quercetina, taxifolina.

Attività farmacologica

Attività epatoprotettrice, regolazione della permeabilità della membrana cellulare e stimolante la rigenerazione del fegato. Azione antiossidante e scavenger dei radicali liberi. Attività antiinfiammatoria.

Impiego clinico

Danno epatico da intossicazione di varia natura. Trattamento adiuvante in pazienti con disturbi infiammatori cronici al fegato e con cirrosi epatica.

Controindicazioni

Ipersensibilità nota a piante della famiglia delle *Compositae*.

Avvertenze e speciali precauzioni d'uso

Non sono noti studi clinici controllati in donne in gravidanza e durante allattamento: in conformità con la prassi medica generale, il prodotto non deve essere impiegato senza prima avere sentito il parere del medico.

Interazioni

Nessuna nota.

Effetti indesiderati

In rari casi è stato riscontrato un moderato effetto lassativo.

Note Bibliografiche

Composizione

I flavonolignani (1,5 - 3% determinato con il metodo HPLC), noti complessivamente con il termine di silimarina, sono i costituenti principali dei frutti del *Cardo mariano*. La silimarina è una miscela di composti isolata e identificata nel 1968 da Wagner *et al.*¹, Costituita principalmente dai seguenti quattro isomeri: silibina (detta anche silibinina, è il componente più rappresentativo in quanto costituisce dal 50 al 70% della miscela) e il suo isomero isosilibina, silicristina e silidianina. Sono stati identificati inoltre altri flavonolignani tra cui 2,3-diidrosilibina e 2,3-diidrosilicristina. La silimarina, sebbene sia presente nella pianta intera, si concentra in modo particolare nello strato proteico della superficie esterna dei frutti ed è praticamente assente nelle foglie. Altri componenti del *Cardo mariano* sono flavonoidi, tra cui quercetina e taxifolina, diidrokaempferolo, kaempferolo, apigenina; lipidi (20-30%), costituiti principalmente da acido linoleico, oleico e palmitico; steroli, principalmente b-sitosterolo; mucillagini, zuccheri (ramnosio, arabinosio, xilosio e glucosio). La droga officinale deve contenere non meno dell'1,5% di silimarina calcolata come silibina².

Farmacocinetica

Studi di farmacocinetica sono stati eseguiti sulla silimarina studiando generalmente il suo componente principale silibina. La silibina è poco solubile in acqua e tende spontaneamente a formare microcristalli non assorbibili. L'assorbimento e la sua biodisponibilità dipendono però dalla preparazione, come evidenziato anche in studi comparativi con numerosi prodotti in commercio^{3,4}.

Negli uomini come anche negli animali, la silibinina viene metabolizzata e trasformata in glucuronidi e solfati ed è soggetta alla circolazione entero-epatica⁵.

Studi condotti su soggetti sani hanno evidenziato che i livelli plasmatici di silibina sono dose-dipendenti e che la silibina viene rapidamente coniugata nel plasma (circa l'80% della silibina nel plasma si trova in

¹ Wagner H, Horhammer L, Munster R. On the chemistry of silymarin (silybin), the active principle of the fruits from *Silybum marianum* (L.) Gaertn. (*Carduus marianus* L.) *Arzneimittelforschung* 1968; 18: 688-96.

² Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare of the Council of Europe (EDQM), *Milk Thistle fruit European Pharmacopoeia* 6th ed. 2007, 6.0 vol. 2 p. 2425; Council of Europe, Strasbourg, 2007.

³ Schultz HU, Schürer M, Krumbiegel G, Wächter W, Weyhenmeyer R, Seidel G. Untersuchungen zum Freisetungsverhalten und zur Bioäquivalenz von Silymarin-Präparaten. *Arzneim-Forsch/Drug Res* 1995; 45:61-4.

⁴ Kim YC, Kim EJ, Lee ED, Kim JC, Jang SW, Kim YG *et al.* Comparative bioavailability of silibinin in healthy male volunteers. *Int J Clin Pharmacol Therapeut* 2003; 41:593-6.

⁵ Büllles H, Büllles J, Krumbiegel G, Mennicke WH, Nitz D. Untersuchungen zur verstoffwechslung und zur ausscheidung von Silybin bei der Ratte. *Arzneim-Forsch/drug Res* 1975; 25:902-5.

forma coniugata)⁶. Le proteine plasmatiche legano reversibilmente circa il 100% di silibina e silicristina. Però come risulta da studi condotti su pazienti colecistectomizzati con drenaggio (T) circa il 50% della dose di silibina assunta si ritrova nella bile. Le concentrazioni biliari di silibina (interamente in forma coniugata) sono circa 100 volte più elevate di quelle plasmatiche⁷. L'emivita della silibina totale è relativamente breve. Studi su volontari sani riportano per la silibina totale un'emivita di circa 6 ore dopo somministrazione di singole dosi di 280-700 mg di estratto secco dei frutti di *Cardo mariano* corrispondenti a 102-254 mg di silibina. La silibina libera viene rapidamente eliminata dal plasma con un'emivita plasmatica di circa 1 ora. L'escrezione biliare è la via principale di eliminazione della silibina (come composto coniugato con acido glucuronico e solfato), mentre quella renale è pari a meno del 5% della dose assorbita di silibina totale (libera + coniugata)⁸. Gli studi più recenti di farmacocinetica sugli estratti di *Cardo mariano* (Silymarin)⁸ e sulla silibina sono orientati a valutare gli effetti della silimarina e della silibina sugli enzimi epatici coinvolti nella cinetica dei farmaci.

Attività biologiche ed impieghi clinici descritti in letteratura

Le attività biologiche e gli impieghi clinici descritti per il *Cardo mariano* sono:

Medicina popolare. Il *Cardo mariano* è una pianta officinale utilizzata per il trattamento dei disordini epatici, della milza e della cistifellea come epatiti e calcoli biliari fin dall'antichità. Dioscoride consigliava il *Cardo mariano* come rimedio per i morsi di serpente, mentre Plinio il Vecchio già nel primo secolo a.C. utilizzava infusi a base dei semi del *Cardo mariano* per i disordini biliari. Nel XVII secolo Nicholas Culpeper ne approvava l'uso nel trattamento dell'ittero⁹. Il *Cardo mariano* veniva inoltre utilizzato come amaro tonico, come galattogogo, per il trattamento delle emorroidi e per i disturbi dispeptici¹⁰, nell'amenorrea, nelle emorragie uterine, in caso di costipazione, nel diabete, nella febbre da fieno e per le vene varicose¹¹.

⁶ Weyhenmeyer R, Mascher H, Birkmayer J. Study on dose-linearity of the pharmacokinetics of silibinin diastereomers using a new stereospecific assay. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol.* 1992 Apr;30(4):134-8.

⁷ Lorenz D, Lücker PW, Mennicke WH, Wetzelberger N. Pharmacokinetic studies with silymarin in human serum and bile. *Meth Find Exptl Clin Pharmacol* 1984; :655-61.

⁸ "Silymarin" è un estratto secco dei frutti di *Cardo mariano* utilizzato in gran parte degli studi clinici, farmacologici e tossicologici descritti in letteratura e riportati in questa monografia. L'estratto secco Silymarin è titolato in silimarina 74,1-80,9% (determinata con metodologia spettrometria UV e calcolato come silibina); il rapporto droga:estratto è di 36-44:1, solvente di estrazione etilacetato. Per comodità espositiva ogni volta che nella monografia si fa riferimento alla silimarina si intende in realtà che lo studio è stato eseguito con questo estratto secco di *Cardo mariano*. (*Silybi mariani fructus. ESCOP monographs- the Scientific Foundation for Herbal Medicine Products-2nd Edition, Supplement 2009. ESCOP- Thieme, 2nd Edition.*)

⁹ Castleman Michael *Cardo Mariano - Le erbe curative. Seconda edizione trad. italiana Edizioni Tecniche nuove 2007: 140-143.*

¹⁰ Barnes J. Anderson L.a. Phillipson J.D. *Milk Thistle. Herbal Medicines. third ed. Pharmaceutical Press 2007:429-435.*

¹¹ "Uses described in folk medicine, not supported by experimental or clinical data. **Treatment of amenorrhoea, constipation, diabetes, hay fever, uterine haemorrhages and varicose veins.**" (*AAVV WHO monographs on selected medicinal plants, Volume*

Attività antiossidante. La silimarina e il suo componente principale silibina sono dei potenti antiossidanti che reagiscono con i radicali liberi trasformandoli in composti più stabili, meno reattivi e incapaci di danneggiare i tessuti. In un modello animale la produzione di radicali superossido e ossido nitrico viene inibita del 50% nelle cellule isolate di Kupffer dopo trattamento con silibina (IC_{50} 80mm/L)¹². Silimarina e silibina hanno poi evidenziato attività antiossidante in numerosi altri modelli sperimentali^{13,14,15,16}. L'attività antiossidante della silibina è stata valutata anche in ratti con intossicazione epatica acuta causata da etanolo o paracetamolo, che agiscono producendo una marcata riduzione del glutatione (GSH) nel fegato; il trattamento con silimarina e silidianina è stato in grado di proteggere gli animali dallo stress ossidativo indotto¹⁷. Inoltre è stato studiato l'effetto epatoprotettivo della silibina in ratti con cirrosi epatica conseguente a somministrazione prolungata di carbonio tetracloruro (CCl_4): la silibina è in grado di proteggere l'integrità strutturale e funzionale della membrana degli epatociti prevenendo le alterazioni della struttura dei loro fosfolipidi prodotta

Il, Traditional Medicines programme, WHO, Geneva, Switzerland: WHO Publications, 2001.)

¹² "In our study, we observed different effects of the hepato-protective flavonoid silibinin on various functions of activated Kupffer cells. **Silibinin at concentrations around 80 mmol/L significantly inhibited O_2^- , and NO formation of activated Kupffer cells.** Even at much lower silibinin concentrations around 5 mmol/L, a strong inhibition of LTB₄ formation was already found to occur. On the other hand, at silibinin concentrations below 100 mmol/L no influence on the formation of PGE₂ and TNF- α could be detected. O_2^- formation was inhibited by silibinin with an IC_{50} value of 70 mmol/L (Fig. 2). **This inhibition probably results from the free-radical-scavenging properties of silibinin, a conclusion that is supported by the observation that silibinin inhibited O_2^- formation by xanthine oxidase at similar concentrations.** The inhibitory effect of silibinin on NO production occurred at concentrations similar to the inhibition of O_2^- formation; an IC_{50} value of 82 mmol/L was determined. (...) Because of this interaction between NO and reactive oxygen species in cytotoxicity, it may be of special importance that silibinin exerts its inhibitory effects on both O_2^- and NO formation." (*Dehmow C, Erhard J, De Groot H Inhibition of Kupffer Cell Functions as an Explanation for the Hepatoprotective Properties of Silibinin HEPATOLOGY Vol. 23, No. 4, 1996*)

¹³ "**We have observed a differential effect of silybin dihemisuccinate on rat liver microsomal oxygen consumption and on lipid peroxidation induced by NADPH- Fe^{2+} -ADP and t-butyl hydroperoxide. These results are ascribed to the antioxidant properties of the flavonoid.** The differences observed in the effect of the catalysts may be a consequence of the different capacity of silybin to act as a scavenger of free radicals formed by NADPH- Fe^{2+} -ADP or t-butyl hydroperoxide." (*Valenzuela A, Guerra R. Differential effect of silybin on the Fe^{2+} -ADP and t-butyl hydroperoxide-induced microsomal lipid peroxidation Experientia. 1986 Feb 15;42(2):139-41.*)

¹⁴ "Phenylhydrazine is a hemolytic agent whose mechanism of action is related with the formation of free radicals and the induction of lipid peroxidation. The flavonoid silybin dihemisuccinate is an antihepatotoxic principle used in the treatment of many liver diseases; its mechanism of action has been ascribed to its antioxidant properties. **This work demonstrates, using a hemoglobin-free perfusion system, the protective effect of the in vivo treatment of the rat with silybin dihemisuccinate on the hepatic glutathione depletion and lipid peroxidation induced by the infusion of phenylhydrazine into the perfusion buffer.**" (*Valenzuela A, Guerra R. Protective effect of the flavonoid silybin dihemisuccinate on the toxicity of phenylhydrazine on rat liver. FEBS Lett. 1985 Feb 25;181(2):291-4.*)

¹⁵ *Comoglio A, Tomasi A, Malandrino S, Poli G, Albano E. Scavenging effect of silybin, a new silybin-phospholipid complex, on ethanol-derived free radicals. Biochem Pharmacol 1995; 50:1313-6.*

¹⁶ *Davila JC, Lenherr A, Acosta D. Protective effect of the flavonoid silymarin on the erythrocyte hemolysis induced by phenylhydrazine. Biochem Biophys Res Commun 1985; 126: 712-8*

¹⁷ *Valenzuela A, Lagos C, Schmidt K, et al. Silymarin protection against hepatic lipid peroxidation induced by acute ethanol intoxication in the rat. Biochem Pharmacol 34: 1985:12.*

dal CCl_4 e ripristinando le attività della fosfatasi alcalina e della gamma-glutamiltanspeptidasi (GGT). Un'altra importante proprietà della silibina e della silimarina è quella di regolare il contenuto di glutatione (GSH) in vari organi: in ratti trattati con silibina per via endovenosa o con silimarina per via intraperitoneale è stato evidenziato un aumento del GSH contenuto nel fegato, intestino e stomaco, ma nessun incremento nei polmoni, milza e reni¹⁸. L'azione antiossidante della silimarina è strettamente connessa alle sue proprietà epatoprotettive in quanto le reazioni ossidative sono alla base di diverse epatopatie, incluse infiammazione, necrosi epatica, fibrosi, la carcinogenesi e dei meccanismi di epatotossicità di molte sostanze.

Attività epatoprotettiva. Numerosi modelli sperimentali hanno dimostrato l'attività epatoprotettrice della silimarina e della silibina contenute nei frutti del *Cardo mariano* sia *in vitro*, utilizzando epatociti isolati sottoposti a stimoli citotossici, che *in vivo*, nei topi e nei ratti provocando il danno epatico tramite agenti fisici¹⁹ o chimici tossici quali tetracloruro di carbonio, tioacetamide, etanolo, paracetamolo, falloidina e a-amanitina, queste ultime tossine del fungo *Amanita phalloides*^{20,21}. L'attività epatoprotettrice della silimarina del *Cardo mariano* può essere ricondotta alle seguenti proprietà: azione di inibizione della perossidazione lipidica come risultato dell'attività di scavenger dei radicali liberi e della capacità di aumentare il contenuto cellulare di glutatione; capacità di regolare la permeabilità della membrana cellulare e di aumentarne la stabilità in presenza di danno da xenobiotico²²; capacità di regolare l'espressione nucleare agendo come effettore steroideo e azione antifibrotica²³. In sintesi, quindi, l'attività epatoprotettiva del *Cardo mariano* è dovuta principalmente all'inibizione, da parte della silimarina, dei fattori responsabili del danno epatico,

¹⁸ **"Silymarin, a flavonoid extracted from the seeds of the milk thistle, *Silybum marianum*, increases the redox state and the total glutathione content of the liver, intestine, and stomach of the rat. The same treatment does not affect the levels of the tripeptides in the kidney, lung, and spleen.** This selective effect of the flavonoid on the digestive organs is ascribed to its pharmacokinetics on the digestive track, where the biliary concentration of silymarin is increased and maintained via the entero-hepatic circulation." (Valenzuela A, Aspillaga M, Vial S, Guerra R. *Selectivity of silymarin on the increase of the glutathione content in different tissues of the rat. Planta Med.* 1989 Oct;55(5):420-2).

¹⁹ "Radioprotective and therapeutical effect of silymarin (Flavobion) on development and repair of latent injury in rat liver was examined by its application during the continual gamma irradiation (dose rates 0.2 and 0.6 Gy/day) or after acute gamma irradiation (dose 6 Gy). Silymarin influence was evaluated on the basis of mitotic index and chromosomal aberration frequency in the liver regenerating after partial hepatectomy. **We have found that silymarin application stimulates the process of liver regeneration in non-irradiated rats as well as in irradiated ones.** Positive effect of silymarin (100 mg per kg p.o. ones per day) was manifested at both dose rates of continual irradiation with increase in mitotic activity and mitigation of chromosomal aberration frequency in the regenerating liver in comparison with non-protected irradiated animals. Curative effect of silymarin (70 mg/kg p.o., twice per day) was shown especially after 14 days of its postradiation application." (Kropacova K et al. *Protective and therapeutic effect of silymarin on the development of latent liver damage. Radiat Biol Radioecol* 1998; 38: 411-415).

²⁰ Morazzoni P, Bombardelli E. *Silybum marianum (Carduus marianus)*. *Fitoterapia* 1995; 66: 3-42

²¹ Kröncke KD, Fricker G, Meier PJ, Gerok W, Wieland T, Kurz G. α -Amanitin uptake into hepatocytes. *J Biol Chem* 1986; 261:12562-7

²² Luper S. A review of plant used in the treatment of liver disease: part I. *Altern Med Rev* 1998; 3: 410-21.

²³ Fraschini F, Demartini G, Esposti D. *Pharmacology of Silymarin. Clin Drug Invest* 2002; 22(1):51-65.

unita alla capacità di stimolare la sintesi proteica nel fegato. La silibina stimola nell'epatocita l'attività della RNA polimerasi (DNA-dipendente) e la trascrizione di RNA ribosomiale; sembra che essa agisca come effettore steroideo naturale e si leghi alla subunità regolatrice della RNA polimerasi (DNA-dipendente) a livello del sito di legame per gli estrogeni; aumentando la sintesi di RNA ribosomiale stimola pertanto la sintesi proteica²⁴. Attraverso questo meccanismo la silimarina favorisce la rigenerazione epatica promuovendo la sintesi di nuove proteine strutturali ed enzimi che possono sostituire gli elementi eventualmente danneggiati dalle epatotossine.

La somministrazione di silimarina nel trattamento della cirrosi alcolica al dosaggio di 420 mg/die ha mostrato una buona tollerabilità e anche di migliorare gli indici della funzionalità epatica (AST, ALT, GGT e bilirubina) in pazienti con patologia epatica di varia eziologia, inclusi i casi di danno epatico per esposizione a concentrazioni tossiche di toluene e xilene, risultando tuttavia inefficace nei pazienti con epatite virale²⁵. L'uso di preparati a base di *Cardo mariano* nel trattamento di patologie epatiche è stato valutato in una recente review sistematica con meta-analisi²⁶ dal Cochrane Hepato-Biliary Group che ha preso in rassegna 13 studi clinici randomizzati, controllati con placebo, che hanno coinvolto in totale 915 persone. In 10 di questi studi è stata somministrata silimarina, in due studi un complesso silibina/fosfatidilcolina e in uno studio del complesso silibina/b-ciclodestrina. Dall'esame dei dati, anche a causa della scarsa qualità metodologica di alcuni degli studi esaminati, non è stato possibile dimostrare un significativo effetto protettivo delle sostanze testate nei confronti delle malattie epatiche alcoliche, anche se, considerando i parametri biochimici del fegato, il *Cardo mariano* migliora (cioè riduce) le concentrazioni plasmatiche di bilirubina e gamma-glutamiltanspeptidasi (GGT) (entrambe $p < 0,05$) e ha un significativo effetto positivo sui livelli di aspartato-aminotransferasi (AST) e di alanina-aminotransferasi (ALT).

²⁴ "Silybin stimulated macromolecular biosynthesis in vitro and in vivo. Silybin increased the rate of ribosomal RNA synthesis by 20% in rat liver, cultured hepatocytes and isolated liver nuclei, via activation of DNA-dependent RNA polymerase I. **Silybin binds to the regulatory subunit of DNA dependent RNA polymerase I at the estrogen binding site, thereby acting as a natural steroid effector, and thus activating the enzyme and increasing the rate of ribosomal RNA synthesis.** Silybin had no effect on the transcription of RNA polymerase II or III. **The increase of ribosomal RNA synthesis in the liver stimulates the formation of mature ribosomes, and hence protein biosynthesis.** Furthermore, an increase in DNA synthesis was observed in livers from hepatectomized rats treated with silybin (27mg/kg body weight)." (AAVV WHO monographs on selected medicinal plants, Volume II, Traditional Medicines programme, WHO, Geneva, Switzerland: WHO Publications, 2001.)

²⁵ Wellington K and Blair J. *Silimarin: A Review of its Clinical Properties in the Management of Hepatic Disorder.* BioDrugs 2001, 15, 465-489.

²⁶ "Thirteen randomized clinical trials assessed MT in 915 patients with alcoholic and/or hepatitis B or C liver diseases. The methodological quality was low: only 23% of the trials reported adequate allocation concealment and only 46% were considered double blind. MT versus placebo or no intervention for a median duration of 6 months had no significant effects on all-cause mortality (relative risk (RR) 0.78, 95% confidence interval (CI) 0.53-1.15), complications of liver disease, or liver histology. **Liver-related mortality was significantly reduced by MT in all trials (RR 0.50, 95% CI 0.29-0.88), but not in high-quality trials (RR 0.57, 95% CI 0.28-1.19).** MT was not associated with a significantly increased risk of adverse events. **Based on high-quality trials, MT does not seem to significantly influence the course of patients with alcoholic and/or hepatitis B or C liver diseases. MT could potentially affect liver injury. Adequately conducted randomized clinical trials on MT versus placebo may be needed.**" (Rambaldi A, Jacobs BP, Iaquinto G and Gluud C. *Milk thistle for alcoholic and/or Hepatitis B or C Liver disease – a Systematic Cochrane Hepato-Biliary group Review with Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials.* Am. J. Gastroenterol. 2005, 100, 2583-2591.)

Nel 2007 questa review è stata aggiornata dallo stesso gruppo di ricerca della Cochrane Collaboration²⁷ prendendo in rassegna questa volta 18 studi clinici randomizzati che hanno coinvolto 1088 pazienti con epatiti da alcool o da virus B e C. Gli AA. anche in questo caso sono arrivati alle medesime conclusioni, auspicando che vengano eseguiti nuovi studi caratterizzati da una più elevata qualità metodologica. Numerosi studi clinici randomizzati, in doppio cieco, controllati con placebo hanno analizzato la capacità della silimarina di normalizzare i parametri della funzionalità epatica^{28,29}. In un recente studio clinico randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo sono stati evidenziati cambiamenti statisticamente significativi dei parametri di funzionalità epatica (GOT, GPT, GGT ecc.) in 60 alcolisti con cirrosi epatica, i quali hanno assunto 150 mg di silimarina o placebo 3 volte al giorno per 6 mesi. Lo studio ha anche analizzato gli effetti della silimarina sulla perossidazione lipidica dovuta allo stress ossidativo a cui erano sottoposti questi pazienti: è stato evidenziato un aumento significativo nella concentrazione eritrocitaria del glutatione ($p < 0.001$), come anche una riduzione significativa dei livelli di malondialdeide piastrinica ($p < 0.015$) e del propeptide aminoterminale del siero del procollagene di tipo III ($p < 0.033$), indicando lievi e moderate modifiche positive nei livelli di stress ossidativo³⁰. In un altro studio clinico randomizzato, in doppio cieco controllato con placebo, è stata valutata l'efficacia della silimarina assunta per via orale (800 mg/die) nella prevenzione dal danno epatico indotto da farmaci psicotropi in 60 donne di età compresa tra 40 e 60 anni che stavano assumendo fenotiazine o butirrofenoni da almeno 5 anni e che presentavano valori alti di attività AST e ALT. Dopo un periodo di trattamento di 90 giorni i risultati indicano che la silimarina riduce il danno epatico da lipoperossidazione che si evidenzia nel trattamento prolungato con butirrofenoni o fenotiazine³¹.

²⁷ " **Eighteen randomised clinical trials assessed milk thistle in 1088 patients with alcoholic and/or hepatitis B or C virus liver diseases. The methodological quality was low:** only 28.6% of the trials reported high methodological quality characteristics. Milk thistle versus placebo or no intervention had no significant effect on mortality (RR 0.78, 95% CI 0.53 to 1.15), complications of liver disease (RR 0.95, 95% CI 0.83 to 1.09), or liver histology. **Liver-related mortality was significantly reduced by milk thistle in all trials (RR 0.50, 95% CI 0.29 to 0.88), but not in high-quality trials (RR 0.57, 95% CI 0.28 to 1.19).** Milk thistle was not associated with a significantly increased risk of adverse events (RR 0.83, 95% CI 0.46 to 1.50). **Our results question the beneficial effects of milk thistle for patients with alcoholic and/or hepatitis B or C virus liver diseases and highlight the lack of high-quality evidence to support this intervention. Adequately conducted and reported randomised clinical trials on milk thistle versus placebo are needed.**" (Rambaldi A, Jacobs BP, Gluud C. *Milk thistle for alcoholic and/or hepatitis B or C virus liver diseases. Cochrane Database Syst Rev.* 2007 Oct 17;(4):CD003620.)

²⁸ Fintlmann V and Albert A. *Nachweis der therapeutischen Wirksamkeit von Legalon bei toxischen Lebererkrankungen im Doppelblindversuch [Evidence of the therapeutic efficacy of Legalon in toxic liver disease in double-blind study]. Therapiewoche* 1980, 30, 5589-5594.

²⁹ Salmi HA, Sarna S. *Scand J Gastroenterol* 1982; 17 (4): 571-521.

³⁰ Lucena MI, Andrade RJ, de la Cruz JP, Rodriguez-Mendizabal M, Blanco E e Sanchez de la Cuesta F. *Effects of silymarin MZ-80 on oxidative stress in patients with cirrhosis. Results of a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical study. Int. J. Clin. Pharmacol. Therap.* 2002; 40: 2-8.

³¹ Palasciano G, Portincasa P, Palmier V et al. *The effect of silymarin on plasma level of malon-dialdehyde in patients receiving long-term treatment with psychotropic drugs. Curr Ther Res Clin Exp* 1994; 55 (5): 537-545.

Gli effetti epatoprotettivi della silimarina sono stati studiati in 222 pazienti trattati *de novo* con tacrina perché affetti da una lieve o moderata demenza senile tipo di Alzheimer in un trial clinico multicentrico, randomizzato in doppio cieco, controllato con placebo della durata di 12 settimane. I pazienti sono stati trattati con tacrina e silimarina (420 mg/die) (n= 110) o tacrina più placebo (n=112); la silimarina o il placebo sono stati assunti una settimana prima di iniziare il trattamento con il farmaco (40 mg/die per 6 settimane e poi 80 mg/die per ulteriori 6 settimane). Non ci sono state differenze significative tra i due gruppi nelle concentrazioni plasmatiche di ALT come evidenziato da un'analisi intention-to-treat, ma il gruppo trattato con silimarina ha evidenziato minori effetti collaterali gastrointestinali e colinergici rispetto al gruppo placebo. Gli autori hanno quindi concluso che la silimarina alla dose di 420 mg/die potrebbe essere utilizzata in co-somministrazione con la tacrina per migliorarne la tollerabilità in pazienti affetti da malattia di Alzheimer³².

Infine, in due recenti studi la silimarina non ha mostrato effetti positivi nel trattamento delle infezioni virali (HCV) nell'epatite C: il trattamento giornaliero di 177 pazienti con 373 mg di silimarina per 12 mesi non ha migliorato i sintomi, come i livelli di ALT o della fibrosi epatica rispetto al placebo³³. Anche dall'analisi retrospettiva dei dati relativi a 40 pazienti con HCV cronica trattati per 125 giorni con 420-1260 mg di silimarina al giorno, non sono stati evidenziati miglioramenti nei sintomi, negli

³² "Tacrine, the first drug marketed for Alzheimer's disease (AD), induces an elevation of serum liver transaminase prohibiting an effective dosage in many patients. This 12-week randomised, double-blind, placebo-controlled study was undertaken to evaluate the ability of silymarin to antagonise or prevent the hepatotoxic effects of tacrine and to analyse its action on tacrine efficacy and tolerability. (...)The study was double-blind for silymarin and open for tacrine and was conducted in 22 French neurology and geriatric centres. Silymarin (420 mg/day) was given first (1 week) and tacrine was added at 40 mg/day for 6 weeks, then increased to 80 mg/day (6 weeks). Serum ALAT was the main evaluation criterion (> upper limit of normal, ULN). Serum ASAT as well as adverse side effects and cognitive performance assessed by MMSE and the Syndrome Kurtz test (SKT) were secondary evaluation criteria. Null hypotheses were evaluated with Fisher's exact test. 222 patients were recruited and received silymarin and tacrine (110 patients) or placebo and tacrine (112 patients). 28 patients dropped out; 217 were included in the intent-to-treat analysis. No statistical difference was observed between the two groups for serum ALAT (p = 0.39). Fewer patients had ALAT levels >5 ULN in the silymarin group (-33.3%). Side effects and notably gastrointestinal disorders were much less frequent in the silymarin group. Cognitive performance remained unchanged in both groups. (...) Silymarin does not prevent tacrine-induced ALAT elevation but does reduce the rate of gastrointestinal and cholinergic side effects without any impact on cognitive status. As a consequence, silymarin (420 mg/day) could be co-administered with tacrine to improve tolerability in the initial phases of AD treatment." (Allain H et al *Aminotransferase levels and silymarin in de novo tacrine-treated patients with Alzheimer's disease. Dementia Geriat Cogn Disord* 1999; 10: 181-185

³³ "At 12 months almost all of 141 remaining subjects reported feeling better, although symptoms and quality-of-life scores did not differ between the silymarin and multivitamin groups. Both the silymarin and vitamins were tolerated equally well; and >95% of supplements were taken by >95% of subjects. One in each group had no detectable hepatitis C virus antibodies while two in the silymarin group and three receiving multivitamins had undetectable hepatitis C virus RNA. **Serum alanine aminotransferase elevations did not differ between groups. Serum hepatic fibrosis marker, hyaluronic acid and YKL-40, and abdominal ultrasound results were similar in both groups and may have progressed slightly at 12 months. The recommended dose of silymarin can be safely taken for 1 year and improves symptoms and general well-being, but has no effect upon hepatitis C virus viremia, serum ALT, or serum and ultrasound markers for hepatic fibrosis. More prolonged evaluation and a higher dose may be required to ascertain whether milk thistle supplements prevent complications of chronic hepatitis C virus.**" (Tanamly MD, Tadros F, Labeeb S, Shehata M, Mikhail N et al. *Randomized double-blinded trial evaluating silymarin for chronic hepatitis C in Egyptian village: study description and 12 month results. Digest. Liver Dis.* 2004, 36, 752-759.

punteggi di qualità della vita e nei parametri di funzionalità epatica (AST, ALT e GGT)³⁴.

Attività antiinfiammatoria. Studi eseguiti con diversi modelli sperimentali di infiammazione (come ad esempio l'edema da carragenina o l'infiammazione cutanea indotta da xilene) documentano una significativa attività antiinfiammatoria per la silimarina. I flavonolignani del *Cardo mariano* esercitano numerosi effetti, incluso l'inibizione della migrazione dei neutrofilii, la stabilizzazione dei mastociti, l'inibizione del rilascio di leucotriene B₄ nelle cellule del Kupffer, l'inibizione della sintesi dei mediatori dell'infiammazione, quali prostaglandine (inibizione della COX-2), leucotrieni e interleuchine^{35,36}.

Attività antifibrotica. Tutte le condizioni di danno epatico cronico sono interessate dall'accumulo di tessuto cicatriziale nel fegato che progressivamente può modificarne l'architettura e la funzionalità. Questo processo, noto come fibrosi epatica, è un processo dinamico, di passaggio, tra il danno cronico a carico del fegato e la cirrosi. Le cellule stellate del fegato svolgono un ruolo cruciale nella fibrosi. In risposta a stimoli lesivi (ad esempio nella esposizione cronica all'etanolo o al carbonio tetracloruro) queste cellule proliferano e si trasformano in miofibroblasti, responsabili della deposizione di fibre di collagene nel fegato. La silibina, alla concentrazione di 10⁻⁴ mol/l riduce la proliferazione delle cellule stellate isolate dal fegato di ratto di circa il 75%. Riduce inoltre la velocità della loro conversione in miofibroblasti, e l'espressione genica dei componenti della matrice extracellulare indispensabili per la fibrosi, quali il TGF-β (fattore di crescita trasformante beta)³⁷. In seguito a occlusione delle

³⁴ "To investigate the effects of silymarin on aminotransferase levels in patients with chronic hepatitis C, a standardized treatment with 420mg, 840mg or 1260mg per day was performed in patients of our clinic, who were not eligible for treatment with pegylated interferon and ribavirin. Aminotransferase levels were determined before, at 3-6 week intervals during and at the end of treatment. Predefined inclusion criteria for the retrospective analysis were persistently elevated alanine aminotransferase (ALT) levels (at least 6 months prior to and at beginning of the treatment) and treatment duration of at least three weeks. Liver cirrhosis CHILD B or C, interferon therapy within the last three months before treatment with silymarin, alcohol use >30 g/d, coinfection with hepatitis B virus or other severe diseases were exclusion criteria. According to these criteria 40 patients (13 with 420mg, 20 with 840mg and 7 with 1260mg silymarin per day) were eligible for the analysis. **The mean treatment period was 125 +/- 78 days. ALT, aspartate aminotransferase and gamma glutamyltransferase levels did not change significantly from baseline in any group and there were no differences between the treatment groups.(...).** Silymarin at the doses used, does not improve elevated aminotransferases in patients with chronic hepatitis C." (Huber R, Futter I e Lüdtker R. *Oral silymarin for chronic hepatitis C - A retrospective analysis comparing three dose regimens. Eur. J. Med. Res. 2005, 10, 68-70.*)

³⁵ Dehmow C, Murawski N, De Groot H. *Inhibition of Scavenging of reactive oxygen species and inhibition of arachidonic acid metabolism by silybin in human cells. Life Sci 1996; 58: 1591-600.*

³⁶ De la Puerta R, Martinez E, Bravo L, et al. *Effect of silymarin on different acute inflammation models and on leukocyte migration. J Pharm Pharmacol 1996; 48: 968-70.*

³⁷ "Hepatic stellate cells and the derived myofibroblasts play a central pathogenic role in liver fibrogenesis. In order to identify the still unknown hepatoprotective properties of the flavonoid silibinin and the related pyridylchromone NH₄ x HCl (2-(3-pyridyl)-4-H-1-benzopyran-4-one hydrochloride), their effects on isolated rat hepatic stellate cells and derived myofibroblasts were determined. Concentrations of 10⁻⁴ mol/l silibinin reduced the proliferation of freshly isolated rat hepatic stellate cells by about 75%, but had no detectable effect on their viability, morphology and their cytoskeletal architecture. It reduced the transformation towards myofibroblasts and down-regulated the gene expression of extracellular matrix components and the profibrogenic transforming growth beta. Whereas silibinin concentrations higher than 10⁻⁴ mol/l were toxic, lower concentrations had no effects on the proliferation and transformation behavior. Although 10⁻⁴ mol/l NH₄ x HCl reduced the proliferation rate by

vie biliari, l'infiammazione epatica che si genera determina una progressiva espansione fibrotica dei vasi portali che provoca una cirrosi biliare secondaria: somministrando amidotrizoato di sodio negli animali da laboratorio è possibile riprodurre sperimentalmente questo processo, e proprio tramite questo modello sperimentale sono state studiate le proprietà antifibrotiche della silimarina che, somministrata nei ratti alla dose di 50 mg/Kg/die per 6 settimane, è stata in grado di ridurre la fibrosi dal 30 al 35% rispetto ai controlli³⁸. È stato evidenziato inoltre che la silimarina sopprime l'espressione del procollagene a1 profibrogenico tramite la down-regulation del mRNA del fattore di crescita trasformante TGF- β 1 ($p < 0.01$)³⁹.

Effetti antiaterogeni. Il fegato svolge un ruolo importante nella regolazione del metabolismo delle lipoproteine plasmatiche e della sintesi endogena del colesterolo, pertanto un danno epatico si riflette spesso in condizioni di dislipoproteinemie, che possono condurre allo sviluppo di aterosclerosi, particolarmente quando siano associate a ipercolesterolemia. Alla concentrazione di 50 mM la silibina inibisce la perossidazione lipidica dal 25% al 47%⁴⁰. L'auto-ossidazione delle LDL come anche l'ossidazione delle LDL indotta da rame, è stata ritardata del 50% dalla silibina a concentrazioni pari a 50-200 mM. Non è stato evidenziato invece alcun effetto sulla proliferazione delle cellule muscolari vascolari LDL-indotta⁴¹. La silimarina inoltre può inibire l'espressione indotta da TNF- α delle molecole di adesione nelle cellule endoteliali della vena ombelicale umana⁴². Sono stati inoltre dimostrati effetti della silimarina, e in misura minore anche della silibina, sul metabolismo del colesterolo sia in test *in vivo* che *in vitro*. La silimarina somministrata per via

about 50%, this substance had no significant effect on the transformation process. **The results indicate that one important aspect of the potential antifibrotic properties of silibinin might be the inhibition of hepatic stellate cell proliferation and transformation.**" (Fuchs EC, Weyhenmeyer R, weiner OH. *Effects of silibinin and of a synthetic analogue on isolated rat hepatic stellate cells and myofibroblast. Arzneimittelforschung* 1997; 47: 1383-7.)

³⁸ Boigh G, Stroedter L, Herbst H, et al. *Silymarin retards collagen accumulation in early and advanced biliary fibrosis secondary to complete bile duct obliteration in rats. Hepatology* 1997; 26: 643-9.

³⁹ Jia J-D, Bauer M, Cho JJ, Ruehl M, Milano S, Boigh G et al. *Antifibrotic effect of silymarin in rat secondary biliary fibrosis is mediated by downregulation of procollagen a1 (I) and TIMP-1. J Hepatol* 2001;35:392-8.

⁴⁰ Filipe PM, Fernandes AC, Silva JN, Freitas JP, Manso CF. *Effet de la silybinine sur la lésion oxydante des constituants du sang. C R Soc Biol* 1997; 191:821-35

⁴¹ "Low density lipoprotein (LDL) oxidation and smooth muscle cell growth represent key events in atherogenesis. Any mean to reduce these two phenomena may decrease the risk of coronary artery disease and atherosclerosis in general. The effects of silibinin (CAS 22888-70-6) on LDL oxidation and proliferation of vascular smooth muscle cells were evaluated in vitro. Silibinin (50-200 μ mol/l) prolonged the lag times of both LDL autooxidation and oxidation by copper by > 50%, as assessed by recordings of diene formation. However, silibinin (up to 500 μ mol/l) did not interfere with LDL-stimulated radiolabeled thymidine incorporation. These findings indicate that silibinin, apart from its hepatoprotective effects, has inhibitory properties on LDL oxidation in vitro. Therefore silibinin might represent a novel tool in the prevention and therapy of atherosclerosis." (Locher R, Suter PM, Weyhenmeyer R, Vetter W. *Inhibitory action of silibinin on low density lipoprotein oxidation. Arzheim-Forsch/ Drug Res* 1998;48:236-9).

⁴² Kang JS, Park SK, Yang KH, Kim MHM. *Silymarin inhibits TNF-alpha-induced expression of adhesion molecules in human umbilical vein endothelial cells. FEBS letters* 2003;550:89-93.

orale ha evidenziato un effetto ipolipemizzante in ratti alimentati con dieta ad alto contenuto di colesterolo. La somministrazione di silimarina con il cibo a concentrazioni pari a 0,1, 0,5 o 1,0% riduce in maniera dose-dipendente la concentrazione del colesterolo nel fegato e i livelli di LDL e VLDL nel siero. Inoltre produce un aumento delle HDL e previene la riduzione del glutathione indotta dalla dieta⁴³. Studi eseguiti su modelli sperimentali di danno epatico indotto da paracetamolo nei ratti, hanno evidenziato come la silimarina aumenti anche i siti di legame per le LDL negli epatociti, fattore molto importante per la regolazione delle lipoproteine nel plasma⁴⁴.

Altre attività. Sono state studiate sia *in vitro* che *in vivo* le proprietà protettive della silimarina e in particolare della silibina nei confronti degli agenti cancerogeni utilizzando numerosi modelli sperimentali⁴⁵. La silimarina ha mostrato di inibire la proliferazione di cellule tumorali di varia origine (prostata, reni, fegato, pancreas, polmone, seno, vescica)⁴⁶ ed è anche stato rilevato come la silimarina riduca la proliferazione di cellule tumorali indotte da radiazioni UVB⁴⁷. Oltre all'attività

⁴³ "To study the ability of silymarin, a standardized mixture of antioxidant flavonolignans from the medicinal plant *Silybum marianum*, and of silybin, the main flavonolignan of silymarin, to inhibit the development of diet-induced hypercholesterolemia the rats were fed high cholesterol diet (HCD). Silymarin or silybin were given as dietary supplements, and their influences on serum cholesterol levels were compared to those of probucol, an antioxidant hypocholesterolemic drug. Anticholesterolemic effect of silymarin was parallel to that of probucol, and dose-dependent at dietary drug concentrations of 0.1-0.5-1.0% (w/w). However, in contradistinction to probucol, silymarin caused an increase in high density lipoprotein (HDL)-cholesterol and a decrease in liver cholesterol content, changes considered to be of benefit. In addition to its anticholesterolemic effect silymarin partially prevented the HCD-induced decrease in liver reduced glutathione, an endogenous antioxidant. Silybin was not so effective as silymarin suggesting that either other constituent(s) of silymarin may be responsible for its anticholesterolemic effect or the bioavailability of silybin alone might be lower than that of silybin as a compound of silymarin." (*Krecman V, Skottová N, Walterová D, Ulrichová J, Šimánek V. Silymarin inhibits the development of diet-induced hypercholesterolemia in rats. Planta Med 1998;64:138-42.*)

⁴⁴ "Silymarin, a mixture of flavonolignans from medicinal plant *Silybum marianum*, is used in supportive treatment of liver diseases of different etiology due to its hepatoprotective activity, which is considered to involve antioxidative and the membrane stabilizing effects. The liver plays an important role in regulation of metabolism of plasma lipoproteins, and liver injury is often reflected as a secondary dyslipoproteinaemia, which may lead to the development of atherosclerosis, particularly when associated with hypercholesterolaemia. This review summarizes the experimental evidence indicating that silymarin-induced protection of liver functions may be of benefit with regard to liver lipid metabolism related to the regulation of plasma lipoproteins. **Moreover, some data suggest that silymarin could have a direct effect on liver cholesterol metabolism by inhibiting cholesterol biosynthesis.** It is proposed that silymarin deserves to be studied as a potential hypocholesterolaemic agent." (*Skottova N, Kreeman V. Silymarin as a potential hypocholesterolaemic drug. Physiol Res 1998; 47: 1-7.*)

⁴⁵ *Katiyar SK, Korman NJ, Mukhtar H, et al Protective effects of silymarin against photocarcinogenesis in a mouse skin model. J Natl Cancer Inst 1997; 89: 556-66*

⁴⁶ *Sonnebichler J, Zetl I. Stimulating influence of a flavonolignane derivative on proliferation, RNA synthesis and protein synthesis in liver cells. In: Okolicsany L et al. Eds. Assessment and management of hepatobiliary disease. Berlin, Springer-Verlag 1987:265-272.*

⁴⁷ "Here, we assessed the protective effect of silibinin on UVB-induced skin carcinogenesis in SKH-1 hairless mice. Topical application of silibinin before or immediately after UVB exposure or its dietary feeding resulted in a strong protection against photocarcinogenesis, in terms of tumor multiplicity (60-66%; $P < 0.001$), tumor volume per mouse (93-97%; $P < 0.001$) and tumor volume per tumor (80-91%; $P < 0.001$). Silibinin also moderately inhibited tumor incidence (5-15%; $P < 0.01$) and delayed tumor latency period (up to 4 weeks; $P < 0.01-0.001$). (...) Silibinin treatment showed a strong decrease ($P < 0.001$) in proliferating cell nuclear antigen-positive cells and an increase in p53-positive ($P < 0.005-0.001$), terminal deoxynucleotidyltransferase-mediated nick end labeling-positive ($P < 0.005-0.001$), and cleaved caspase-3-positive cells ($P < 0.001$). Western blot analysis of normal skin and tumor lysates showed that silibinin decreases the levels of cyclin-dependent kinase 2 and cyclin-dependent kinase 4 and associated cyclins A, E, and D1, together with an up-regulation of Cip1/p21, Kip1/p27, and p53. Silibinin also showed a strong

citoprotettiva, mediata dalle proprietà antiossidanti e scavenger dei radicali liberi, sono stati identificati altri meccanismi d'azione basati sull'interazione con specifici recettori. Questi ultimi sono stati studiati su base molecolare e tramite regolazione di diverse vie di comunicazione cellulare con la silibina; ad esempio, è stata descritta l'inibizione del fattore di trascrizione NF- κ B, l'inibizione del segnale EGFR-MAPK/ERK1/2, l'attività sulle proteine Rb e E2F. È stato inoltre ipotizzato che la silimarina possa agire modulando l'attivazione di sostanze regolatrici del ciclo cellulare (cicline) e della proteina chinasi mitogeno-attivata. L'attività proapoptotica^{48,49,50} della silibina in cellule pre- e/o cancerogene insieme all'attività anti-angiogenica (riduce la secrezione di Vascular Endothelial Growth Factor nelle cellule di carcinomi prostatici, mammari e polmonari) sono altre interessanti proprietà evidenziate dai più recenti studi sui principi attivi del *Cardo mariano* che suggeriscono nuove applicazioni terapeutiche per i preparati a base di silimarina.

phosphorylation of extracellular signal-regulated protein kinase 1/2, stress-activated protein kinase/c-JUN NH2-terminal kinase 1/2, and p38 mitogen-activated protein kinases but inhibited Akt phosphorylation and decreased survivin levels with an increase in cleaved caspase-3. **Together, these results show a strong preventive efficacy of silibinin against photocarcinogenesis, which involves the inhibition of DNA synthesis, cell proliferation, and cell cycle progression and an induction of apoptosis. Furthermore, these results also identify in vivo molecular mechanisms of silibinin efficacy against photocarcinogenesis.**" (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 signaling. Cancer Res 2004; 64:6349-56.*)

⁴⁸ "This review critically surveys the literature published mainly within this millennium on the new and emerging applications of silybin (pure, chemically defined substance) and silymarin (flavonoid complex from *Silybum marianum* - milk thistle seeds). **These compounds used so far mostly as hepatoprotectants were shown to have other interesting activities, e.g. anticancer and cancerprotective and also hypocholesterolemic activity.** These effects were demonstrated in a large variety of illnesses of different organs, e.g. prostate, lungs, CNS, kidneys, pancreas and also in the skin protection. **Besides the cytoprotective activity of silybin mediated by its antioxidative and radical-scavenging properties also new functions based on the specific receptor interaction were discovered. These were studied on the molecular level and modulation of various cell-signaling pathways** with silybin was disclosed--e.g. NF- κ B, inhibition of EGFR-MAPK/ERK1/2 signaling, activity upon Rb and E2F proteins, IGF-receptor signaling. **Proapoptotic activity of silybin in pre- and/or cancerogenic cells and anti-angiogenic activity of silybin are other important findings that bring silymarin preparations closer to respective application in the cancer treatment.** (...)Recent works using optically pure silybin diastereomers clearly indicate extreme importance of the use of optically active silybin namely in the receptor studies. Significance of silymarin and its components in the medicine is clearly indicated by an exponential growth of publications on this topic--over 800 papers in the last 5 years." (Gazák R, Walterová D, Kren V. *Silybin and silymarin--new and emerging applications in medicine. Curr Med Chem. 2007;14(3):315-38*)

⁴⁹ Kaur M, Velmurugan B, Tyagi A, Deep G, Katiyar S, Agarwal C, Agarwal R. *Silibinin suppresses growth and induces apoptotic death of human colorectal carcinoma LoVo cells in culture and tumor xenograft. Mol Cancer Ther. 2009 Aug;8(8):2366-74.*

⁵⁰ "The aim of this study was to investigate mechanisms involved in the growth inhibitory effect of silymarin, in human hepatocellular carcinoma. (...) **Silymarin inhibited population growth of the hepatocellular carcinoma cells in a dose-dependent manner, and the percentage of apoptotic cells was increased after treatment with 50 and 75 microg/ml silymarin for 24 h.** Silymarin treatment increased the proportion of cells with reduced DNA content (sub-G(0)/G(1) or A(0) peak), indicative of apoptosis with loss of cells in the G(1) phase. Silymarin also decreased mitochondrial transmembrane potential of the cells, thereby increasing levels of cytosolic cytochrome c while up-regulating expression of pro-apoptotic proteins (such as p53, Bax, APAF-1 and caspase-3) with concomitant decrease in anti-apoptotic proteins (Bcl-2 and survivin) and proliferation-associated proteins (beta-catenin, cyclin D1, c-Myc and PCNA). (...) **Our results demonstrate that silymarin treatment inhibited proliferation and induced apoptosis in the human hepatocellular carcinoma cell line HepG2.**" (Ramakrishnan G, Lo Muzio L, Elinos-Báez CM, Jagan S, Augustine TA, Kamaraj S, Anandakumar P, Devaki T *Silymarin inhibited proliferation and induced apoptosis in hepatic cancer cells. Cell Prolif. 2009 Apr;42(2):229-40*)

Grazie alla sua attività antiossidante e alla capacità di aumentare le concentrazioni di glutazione nel plasma e nel pancreas, è stato dimostrato che la silimarina nei ratti con diabete mellito indotto con alloxano può migliorare la funzionalità pancreatica⁵¹. Sempre in virtù delle sue proprietà antiossidanti, la silimarina si è dimostrata efficace nel prevenire l'ulcera sperimentalmente indotta nell'animale. Il principio attivo non altera il volume né l'acidità gastrica mentre riduce significativamente la concentrazione di istamina, suggerendo un meccanismo di inibizione della perossidazione della lipooxygenasi⁵². Inoltre, è stata proposta per la silibina un'azione di prevenzione della neuropatia diabetica della retina. In ratti diabetici la silibina (50 mg/Kg somministrata come complesso della b-ciclodestrina nell'acqua), somministrata per un periodo di 7-13 settimane, ha mostrato di inibire la mono-ADP-ribosilazione delle proteine della retina, un fattore correlato alla neuropatia periferica indotta dal diabete⁵³. In un test eseguito nelle stesse condizioni sperimentali è stato evidenziato inoltre che l'aumento della mono-ADP-ribosilazione di una frazione di membrana delle cellule di Schwann del nervo sciatico di ratti diabetici è stato normalizzato dalla silibina⁵⁴. La silibina ha anche mostrato un'attività anticoleretica nei confronti della colestasi indotta da paracetamolo e da etinilestradiolo contrastando la riduzione della produzione dei sali biliari e del flusso biliare⁵⁵. In uno studio recente condotto su epatociti isolati di ratto, è stata valutata la capacità della silibina di prevenire la colestasi indotta da estradiolo-17- β -D-glucuronide (E17G) e da acido taurolitotolico (TLC) che provoca alterazioni della funzionalità della pompa (BSEP) che esporta i sali biliari. Lo studio indica che la silibina previene il deficit secretorio dei sali biliari indotto da E17G e dal TLC sia evitando l'internalizzazione della pompa (BSEP) sia aumentando i livelli intracellulari di AMP ciclico⁵⁶.

⁵¹ "Silymarin is a free-radical scavenger and a membrane stabilizer which prevents lipoperoxidation and its associated cell damage in some experimental models. It has been proposed that lipid peroxidation caused by free radicals may be involved in alloxan-induced diabetes mellitus. Alloxan elicits pancreatic lipid peroxidation which precedes the appearance of hyperglycemia in mice. We studied the effects of silymarin on rat pancreas, the effect of this flavonoid on pancreatic, hepatic and blood glutathione (GSH) together with the pancreatic malondialdehyde concentrations in response to alloxan. On its own, silymarin increases pancreatic and blood GSH without changes in either hepatic GSH or in blood glucose. Silymarin prevents the increase in lipid peroxidation produced by alloxan. It also blunts the sustained increment in plasma glucose induced by alloxan. We suggest that silymarin has a protective effect on the pancreatic damage in experimental diabetes mellitus. This may be related to its antioxidative properties and to the increase in concentrations of plasma and pancreatic glutathione." (Soto CP et al. *Prevention of alloxan-induced diabetes mellitus in the rat by silymarin Comp Biochem Physiol* 1998; 119C: 125-129).

⁵² Alarcon de la Lastra C, Martin MJ, Marhuenda E. Gastric anti-ulcer activity of silymarin, a lipoxygenase inhibitor, in rats. *J Pharm Pharmacol*. 1992 Nov;44(11):929-31.

⁵³ Donadoni ML, Gavezzotti R, Borella F, Di Giulio AM, Gorio A. Experimental diabetic neuropathy. Inhibition of protein mono-ADP-ribosylation prevents reduction of substances P axonal transport. *J Pharmacol Exp Ther* 1995; 274:570-66

⁵⁴ Gorio A, Donadoni ML, Finco C, Borella F, Di Giulio AM. Alteration of protein mono-ADP-ribosylation and diabetic neuropathy: a novel pharmacological approach. *Eur J Pharmacol* 1999; 311:21-8

⁵⁵ Shula B, Visen PK, Patnaik GK et al. *Planta Med* 1991; 57 (1): 29-33.

⁵⁶ Crocenzi FA, Basiglio CL, Pérez L, Portesio MS, Pozzi EJS, Roma MG. Silibinin prevents cholestasis-associated retrieval of the bile salt export pump, Bsep, in isolated rat hepatocyte couplets: possible involvement of cAMP. *Biochem Pharmacol* 2005; 69: 113-20.

Tollerabilità. Il Cardo mariano risulta essere una droga caratterizzata da elevata tollerabilità. Non sono note in letteratura interazioni con farmaci o alimenti. Anche i dati di sicurezza estrapolati dagli studi clinici evidenziano come i preparati di Cardo mariano siano associati a rari e generalmente lievi effetti avversi, generalmente di tipo gastrointestinale. Dati su 4718 pazienti trattati con estratto secco di Cardo mariano frutti in 4 studi di sorveglianza post-marketing rilevano in effetti solo un basso livello di eventi avversi (0.8-2%), la maggior parte dei quali riferibili a lievi disturbi gastrointestinali⁵⁷. Alcuni autori raccomandano infine una certa cautela nel paziente iperteso a causa del non trascurabile contenuto di tiramina della droga; tale avvertenza non viene peraltro confermata dalla recente monografia europea sulla droga.

⁵⁷ *Silybi mariani fructus. ESCOP monographs- the Scientific Foundation for Herbal Medicine Products-2nd Edition, Supplement 2009. ESCOP- Thieme, 2nd Edition.*