A comparative study of the effect of alcoholic extract of *Silybum marianum* and atorvastatin on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice.

Youssef Assaad*

(Received 24 / 11 / 2022. Accepted 5 / 4 /2023)

□ ABSTRACT □

The present study aimed to make a comparison between the therapeutic effect of each of the alcoholic extract of the leaves of the *Silybum marianum* plant and atorvastatin when the hepatotoxic effect of carbon tetrachloride in white mouses by identifying some biochemical changes of the studied groups.

The study was conducted on 20 mice in four equal groups. The mice of the experimental groups were successively injected as follows: the first (control) with physiological solution NaCl at a concentration of (0.9%), the second with a single dose of carbon tetrachloride (CCl_4) (1.25 ml/kg), and the third with the same previous dose of CCl_4 and daily doses of alcoholic extract of the leaves of the thistle plant for 10 weeks (250 mg / kg of body weight), and the fourth intraperitoneal once only in a dose of CCl_4 (1.25 ml / kg) with daily doses of atorvastatin (10 mg / kg of weight body) for 10 weeks.

The results of the biochemical study showed a significant increase ($p < 0.05$) in the mean values of the enzyme aspartate aminotransferase (AST) in the mice of the second group compared to the control, and the results also showed a significant decrease ($p < 0.05$) in the AST values in the mice of the third and fourth groups compared to the control group. Second, while there were some changes in the values with regard to blood sugar values among the studied experimental groups, these changes were mostly not significant ($p>0.05$).

Keywords: liver, carbon tetrachloride, alcoholic extract of *Silybum marianum* leaves, atorvastatin.

Copyright **:**Tishreen University journal-Syria, The authors retain the copyright under a CC BY-NC-SA 04

* **PhD - Department of Animal Biology - College of Sciences - Tishreen University - Syria yossefanuarea@tishreen.edu.sy**

دراسة مقارنة لتأثير كل من المستخلص الكحولي لنبات شوك مريم والأتورفاستاتين في الفئران المستحدث فيها تسمم كبدي برابع كلوريد الكربون

يوسف أسعد*

(تاريخ الإيداع 24 / 11 / 2022. قبل للنشر في 5 / 4 / 2023)

☐ ملخّص ☐

هدفت الدراسة الحالية إلى إجراء مقارنة بين التأثير العلاجي لكل من المستخلص الكحولي لأوراق نبات شوك مريم والأتورفاستاتين في الفئران البيض المستحدث فيها سمية كبدية برابع كلوريد الكربون من خلال تحديد بعض التغيرات الكيميائية الحيوية للمجموعات المدروسة.

أجريت الدراسة على 20 فأر في أربع مجموعات متساوية، حقنت فئران المجموعات التجريبية على التوالي كالآتي: الأولى (الشاهدة) بالمحلول الفيزيولوجي NaCl بتركيز (0.9%) ، والثانية بجرعة واحدة من رابع كلوريد الكربون CCl_4 (1.25مل/كغ)، والثالثة بنفس الجرعة السابقة من CCl_4 وبجرعات يومية من المستخلص الكحولي لأوراق نبات شوك مريم لمدة 10أسابيع (250 ملغ/ كغ من وزن الجسم)، والرابعة داخل الصفاق لمرة واحدة فقط بجرعة من CCl_4 (1.25مل/كغ) مع جرعات يومية من الأتورفاستاتين (10 ملغ/ كغ من وزن الجسم) لمدة 10أسابيع.

أظهرت نتائج الدراسة الحيوية الكيميائية ارتفاعا معنويا ($p<0.05$) في متوسط قيم (AST أسبارتات أمينو ترانس فراز) في فئران المجموعة الثانية بالمقارنة مع الشاهدة، كما أظهرت النتائج انخفاض معنوي ($p<0.05$) في قيم AST في فئران المجموعتين الثالثة والرابعة بالمقارنة مع المجموعة الثانية، في حين كان هناك بعض التغيرات في القيم فيما يخص قيم سكر الدم بين المجموعات التجريبية المدروسة لكن هذه التغيرات في معظمها لم تكن معنوية ($p>0.05$).

الكلمات المفتاحية: الكبد، رابع كلوريد الكربون، المستخلص الكحولي لأوراق شوك مريم، الأتورفاستاتين .

حقوق النشر : مجلة جامعة تشرين- سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب الترخيص CC BY-NC-SA 04

*دكتوراه – قسم علم الحياة الحيوانية – كلية العلوم – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية yossefanuarea@tishreen.edu.sy

مقدمة:

ينتمي نبات شوك مريم *Silybum marianum* إلى الفصيلة المركبة Asteraceae ، يوجد بصورة برية في منطقة حوض البحر المتوسط وأوروبا ، تحتوي بذوره على مركب البيوفلافونيدات Bioflavonoid المعروف بالسليمارين Silymarin (المكون من السليبينين Silybinin والسلديانين Silidianin والسلكرستين Silicristin والـ Polyacetylenes) تتراوح نسبتها ما بين 1 – 6 % من وزن النبات (Kucuker, 2010) وتتعلق نسب وجودها في تركيب النبات بالظروف المناخية المحيطة وبالتوزع الجغرافي لها، وهو المسؤول عن الفوائد الطبية للنبات، إذ أنه يجدد خلايا الكبد المتضررة بأمراض متعددة مثل التشحم (Gazak *et al.*, 2007) .

يعرف الأتورفاستاتين بـ هيدروكسي ميتيل غلوتاريل كوأنزيم أ، وهو مثبط يقوم بالتقليل من مستويات الدهون بشكل عام، وقد بينت الدراسات بأنه يثبط ارتفاع الدهون ويخفض من مستوى الكوليسترول ،ويعالج دهون الكبد المستحدثة عند فئران التجربة (Dominguez *et al*,.2006) .

يعتبر رابع كلوريد الكربونCCl_4 (Carbon tetra chloride) بأنه مركب كيميائي يحضر صناعياً، وهو سائل شفاف سريع التبخر وذو رائحة زكية، ينتمي للمركبات العضوية المعروفة باسم هاليدات الألكيل، يعد رابع كلوريد الكربون من المركبات الكيميائية السامة التي تستقلب بشكل سريع في الكبد مولدة جذور حرة ذات تأثيرات ضارة على أنسجة الجسم المختلفة (Sanzgiri *et al.*, 1997)، وهو يتراكم في الأنسجة الدهنية والكبد وله تأثيرات سامة في الأجسام الحية (Tomasi *et al.*, 1987 ; ATSDR, 2005) .

أهمية البحث وأهدافه :

تأتي أهمية هذه الدراسة في أنها تسلط الضوء على تأثير المكونات الفعالة لمستخلص أوراق نبات شوك مريم وعقار الأتورفاستاتين في الفئران التجريبية المستحدث فيها سمية كبدية بواسطة رابع كلوريد الكربون ومقارنة هذه التأثيرات مع بعضها البعض.

تهدف هذه الدراسة إلى الآتي:

1. تحديد مستويات كل من (AST أسبارتات أمينو ترانس فراز, سكر الدم) في الفئران البيض المستحدث فيها سمية كبدية.
2. مقارنة المجموعة المستحدث فيها سمية كبدية مع المجموعة الشاهدة من خلال تحديد مستويات المعايير السابقة الذكر.
3. مقارنة تأثير عقار الأتورفاستاتين مع المستخلص النباتي في الفئران الممرضة.

طرائق البحث ومواده :

1 –تحضير المستخلص الكحولي لشوك مريم :

تم تجفيف الأجزاء الهوائية من أوراق النبات في الظل عند درجة حرارة الغرفة ثم طحنت إلى مسحوق ناعم في مطحنة ميكانيكية. واستخلص المسحوق منها، ثم مزج (30غ) من المسحوق مع (. 300 مل) من الايتانول 95%) وترك لمدة

72 ساعة باستخدام طريقة النقع. ثم رشّح المنقوع باستخدام ورق الترشيح Whatman (رقم 1)، ثم جففت بواسطة المبخر الدوار (Alviano, *et al.*,2008) .

2- تحضير المحاليل :

حضر محلول الحقن بحل 250 ملغ من الخلاصة في 10مل من مزيج مكون من (ماء مقطر، DMSO TWEEN 20) بنسبة (8 1 1) ، حقنت الفئران بالمحلول في الصفاق بجرعة قدرها 1ميكرولتر لكل غ من وزن الفار .

3 – تحضير تراكيز رابع كلور الكربون :

تم مزج حجم من رابع كلوريد الكربون مع حجم مساو له من زيت الزيتون، ثم حقنت جرعة واحدة منه بمقدار (2مل/كغ) من وزن الفأر (تركيز CCl_4 فيه 50%)(Sook song *et al.*2003).

4- تحضير جرعات عقار الأتورفاستاتين

أحضرت المادة الفعالة من الأتورفاستاتين(بودرة بيضاء) من معمل ألفا للأدوية في مدينة حلب، ثم أُخذ منها وزن (100) ملغ وحُلت في(10) مل من المحل المحضر مسبقاً، ومن أجل إعطاء الجرعة المقدرة بـ 10ملغ/كغ، ثم حقنت الفئران في الصفاق بالمحلول الناتج بجرعة قدرها(1) ميكرولتر/غ من وزن الفأر (Willeke de Haan *et al.*,2008).

طريقة العمل :

قُسمت فئران التجربة إلى أربع مجموعات ، ضمت كل مجموعة (5) فئران ذكور، بعمر (3-4) أشهر ، وتراوحت أوزانهم بين (20- 25غ) وتُنسب الفئران المستخدمة في التجربة إلى السلالة (Balb / c)، حيث تم إحضارها من قسم التقانة الحيوية في هيئة الطاقة الذرية، وضعت الحيوانات في مخابر قسم علم الحياة الحيوانية – جامعة تشرين، لمدة 2-3 أسابيع قبل بدء التجربة من أجل التكيف مع الظروف المناسبة مثل الضوء ودرجة الحرارة (18-20 درجة مئوية) . حقنت الفئران كالآتي : (الاولى أو الشاهدة بـ(0.05 مل) من المحلول الفيزيولوجيNaCl (0.9٪) فقط ولمدة 10 أسابيع، الثانية بجرعة واحدة من CCl_4 (1.25مل/كغ) لاستحداث السمية الكبدية وتركت مدة 24 ساعة قبل العمل، وحقنت فئران المجموعة التجريبية الثالثة داخل الصفاق بجرعتين مختلفتين الأولى بجرعة واحدة من CCl_4 (1.25مل/كغ)، والثانية بجرعة من المستخلص الكحولي لنبات شوك مريم (مقدار الجرعة 250 ملغ / كغ من وزن الجسم) لمدة (10) أسابيع، وحقنت أيضا فئران المجموعة التجريبية الرابعة جرعتين مختلفتين الأولى من CCl_4 (مقدار الجرعة 1.25 مل/كغ) لمرة واحدة فقط، والثانية من العقار الدوائي الاتورفاستاتين(مقدار الجرعة 10 ملغ / كغ من وزن الجسم) ولمدة 10 أسابيع .

جمع عينات الدم والكبد :

بعد الانتهاء من التجربة ، تم تخدير الحيوانات عن طريق وضع قطنة مبللة بالايتر الايتيلي على الانف مباشرة لمدة خمس دقائق، ثم تم سحب الدم مباشرة بطعن القلب بإبرة حقن 5 مل ، وضع الدم في أنابيب اختبار جافة وترك للتخثر تلقائيا بدرجة حرارة الغرفة لمدة نصف ساعة ثم وضع للتثفيل لمدة 15 دقيقة بسرعة 3000دورة / دقيقة (مثفلة Hettich في مخبر علم الحياة الحيوانية)، جمع المصل بعدها في أنبوب ابندروف مرقم مسبقا، وحفظ المصل بدرجة 4 درجة مئوية لحين إجراء المعايرات الخاصة بمعايير التجربة وهي (AST, سكر الدم) في جهاز سبيكتروفوتوميتير.

التحليل الإحصائي :

استخدم برنامج (SPSS) Statistical Package For Social Sciences للقيام بعملية التحليل الإحصائي واستخلاص النتائج ، واتُبعت الأساليب الإحصائية الآتية : المتوسطات الحسابية والأخطاء المعيارية ، تحليل التباين الأحادي anova one way للمقارنة بين المتوسطات، اختبار ستودنت ، اختبار LSD5 عند مستوى 5% للمقارنة بين متوسطات المعايير المدروسة لمختلف المجموعات .

النتائج والمناقشة :

1- نتائج الدراسة الحيوية الكيميائية :

1-1 دراسة تأثير كل من المستخلص الكحولي لأوراق نبات شوك مريم والأتورفاستاتين، مقارنة مع المجموعة الشاهدة والمجموعة المستحدث فيها سمية كبدية.

- **أنزيم AST:**

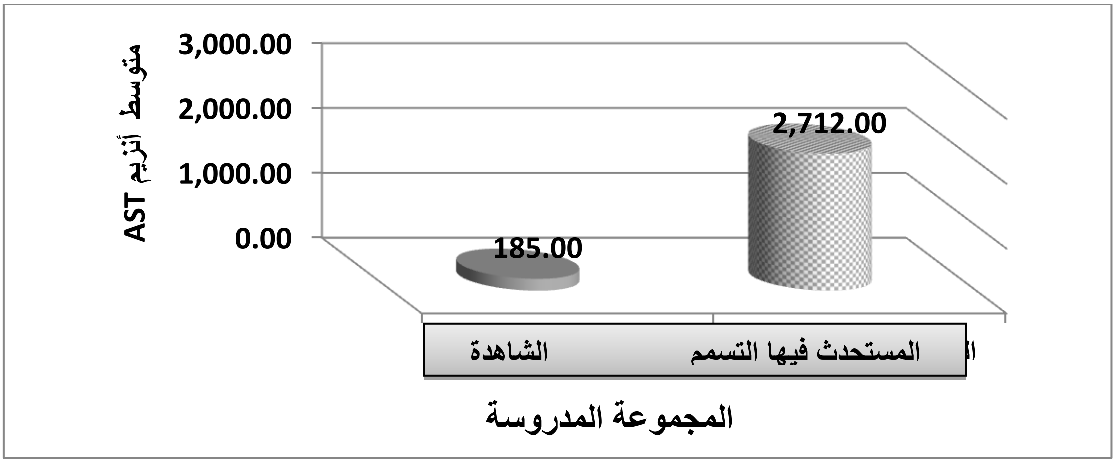
- المقارنة بين المجموعة الشاهدة والمستحدث فيها التشحم:

لإجراء المقارنة تم استخدام اختبار ستودنت للعينات المستقلة independent sample t.test ونوضح نتائجه في الجدول(1):

الجدول(1) اختبار الفرق في متوسط أنزيم AST (وحدة دولية/ليتر) بين المجموعة الشاهدة والمستحدث فيها التسمم

الشاهدة	المستحدث فيها السمية	فرق المتوسطات	t.test	p-value	النتيجة
185 ± 8.47	2712 ± 289.43	2527	14.539	**0	دال إحصائياً

حيث نلاحظ أن p-value<0.05 وعليه توجد فروق معنوية ذات دلالة إحصائية في متوسط أنزيم AST بين المجموعة الشاهدة والمستحدث فيها السمية وأن قيمة t=14.539 وقيمة الفرق 2527 وبما أن الفرق موجب بالتالي هناك ارتفاع معنوي في متوسط أنزيم AST لدى استحداث السمية أي ما يزيد عن عشرين ضعف ونوضح ذلك بالشكل(1).



الشكل (1) : متوسطات AST (وحدة دولية/ليتر) بين المجموعة الشاهدة والمستحدث فيها السمية

- المقارنة بين المجموعة المستحدث فيها السمية وشوك مريم العلاجي والمعالجة بالاتورفاستاتين:

تم استخدام اختبار تحليل التباين one way anova لاختبار الفرق في متوسط AST بين المجموعات المدروسة ونوضح نتائجه في الجدول (2) التالي:

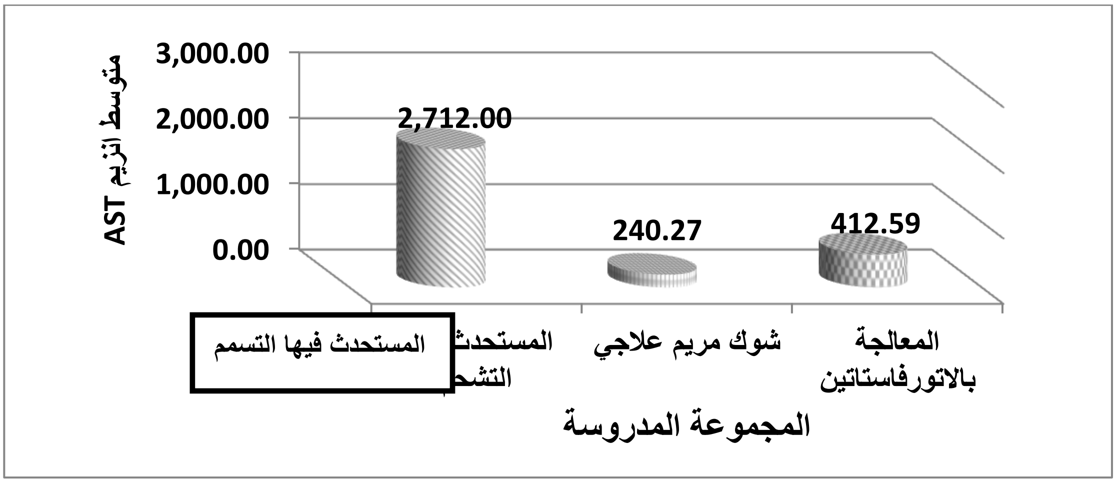
الجدول(2) اختبار الفرق في متوسط AST (وحدة دولية/ليتر) بين المجموعات المدروسة

ANOVA

AST

مصدر التباين	مجموع المربعات	درجات الحرية	متوسط المربعات	احصاء فيشر	p-value
بين المجموعات	1.276E7	2	6378902.013	322.675	.000
داخل المجموعات	375607.429	19	19768.812		
الكلي	1.313E7	21			

نلاحظ من الجدول السابق أن p-value<0.05 وعليه توجد فروق معنوية ذات دلالة إحصائية في متوسط AST بين المجموعات المدروسة ونوضح ذلك بالشكل(2).



الشكل (3) : متوسطات AST (وحدة دولية/ليتر) بين المجموعات المدروسة

حيث نلاحظ أن أعلى متوسط لأنزيم AST كان في المجموعة المستحدث فيها السمية حيث كانت أعلى من مجموعة شوك مريم العلاجي بنسبة 1028.73%، ومن المجموعة المعالجة بالأتورفاستاتين بنسبة 557.31%، كما أن متوسط المجموعة المعالجة بالأتورفاستاتين كان أعلى من متوسط شوك مريم علاجي بنسبة 71.23%، ولاستنتاج أماكن تواجد تلك الفروق تم استخدام اختبار LSD5% ونوضح نتائجه في الجدول التالي.

الجدول (3) : متوسطات AST(وحدة دولية/ليتر) بين المجموعات العمل .

المجموعة	$mean \pm sd$	LSD5%
المستحدث فيها السمية	C 2712 ± 289.43	187.22
شوك مريم علاجي	A 240.27 ± 45.16	
المعالجة بالأتورفاستاتين	B 412.59 ± 37.04	

حيث كل متوسطين لهما حرف مشترك بالتالي لا يوجد بينهما فرق معنوي(أو كل متوسطين الفرق بينهما أقل من قيمة LSD5% لا يوجد بينهما فرق معنوي) وعليه يوجد فرق معنوي ذو دلالة إحصائية بين جميع أزواج المجموعات.

- **سكر الغلوكوز:**

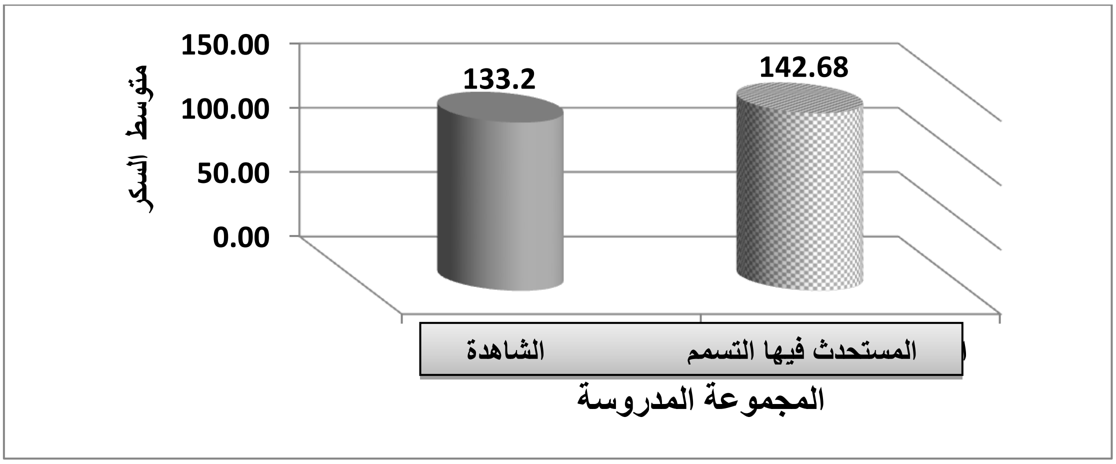
4. المقارنة بين المجموعة الشاهدة والمستحدث فيها التسمم:

لإجراء المقارنة تم استخدام اختبار ستودنت للعينات المستقلة independent sample t.test ونوضح نتائجه في الجدول(4):

الجدول(4) اختبار الفرق في متوسط السكر بين المجموعة الشاهدة والمستحدث فيها التسمم

الشاهدة	المستحدث فيها التسمم	فرق المتوسطات	t.test	p-value	النتيجة
133.2 ± 22.37	142.68 ± 5.18	9.48	0.928	n.s0.466	غير دال إحصائياً

حيث نلاحظ أن p-value>0.05 وعليه لا توجد فروق معنوية ذات دلالة إحصائية في متوسط السكر بين المجموعة الشاهدة والمستحدث فيها التسمم وأن قيمة t=0.928 وقيمة الفرق 9.48 وبما أن الفرق موجب بالتالي هناك ارتفاع غير معنوي في متوسط السكر لدى استحداث التسمم وبنسبة 7.11% ونوضح ذلك بالشكل(4).



الشكل (4) : متوسطات سكر الغلوكوز بين المجموعة الشاهدة والمستحدث فيها التسمم

المقارنة بين المجموعة المستحدث فيها التسمم وشوك مريم االعلاجي والمعالجة بالاتورفاستاتين:

تم استخدام اختبار تحليل التباين one way anova لاختبار الفرق في متوسط السكر بين المجموعات المدروسة ونوضح نتائجه في الجدول (5) التالي:

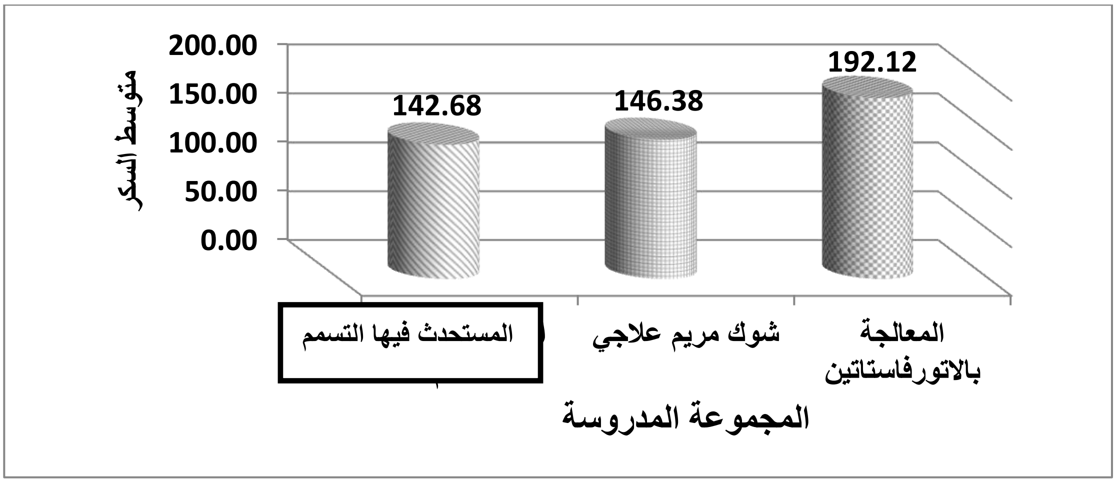
الجدول(5) اختبار الفرق في متوسط السكر بين المجموعات المدروسة

ANOVA

السكر

مصدر التباين	مجموع المربعات	درجات الحرية	متوسط المربعات	احصاء فيشر	p-value
بين المجموعات	9412.262	2	4706.131	49.175	.000
داخل المجموعات	1818.329	19	95.702		
الكلي	11230.591	21			

نلاحظ من الجدول السابق أن p-value>0.05 وعليه لا توجد فروق معنوية ذات دلالة إحصائية في متوسط السكر بين المجموعات المدروسة ونوضح ذلك بالشكل(5).



الشكل (5) : نسبة سكر الغلوكوز بين المجموعات المدروسة

حيث نلاحظ أن أعلى متوسط للسكر كان في المجموعة المعالجة بالأتورفاستاتين حيث كانت أعلى من مجموعة شوك مريم العلاجي بنسبة 31.24% ، ومن المجموعة المستحدث فيها التسمم بنسبة 34.65%، كما أن متوسط مجموعة شوك مريم العلاجي كان أعلى من متوسط المجموعة المستحدث فيها التسمم بنسبة 2.59%، ولاستنتاج أماكن تواجد تلك الفروق تم استخدام اختبار LSD5% ونوضح نتائجه في الجدول التالي.

الجدول (6) : متوسطات السكر بين المجموعات المدروسة

LSD5%	$mean \pm sd$	المجموعة
14.59	A142.68 ± 4.61	المستحدث فيها التسمم
	A146.38 ± 18.73	شوك مريم علاجي
	B192.12 ± 4.02	المعالجة بالأتورفاستاتين

حيث كل متوسطين لهما حرف مشترك بالتالي لا يوجد بينهما فرق معنوي(أو كل متوسطين الفرق بينهما أقل من قيمة LSD5% لا يوجد بينهما فرق معنوي) وعليه يوجد فرق معنوي ذو دلالة إحصائية بين المجموعة المعالجة بالأتورفاستاتين وباقي المجموعات.

المناقشة:

بينت النتائج في الجدول(1) والشكل(1) أن أعلى متوسط لـ AST كانت في المجموعة المستحدث فيها سمية كبدية مقارنة مع المجموعة الشاهدة ومجموعتي شوك مريم والأتورفاستاتين، لكن هذه القيم عادت وانخفضت في مجموعتي شوك مريم والأتورفاستاتين، وقد كانت الفروق معنوية P<0.05 بين مجموعة شوك مريم ومجموعة الأتورفاستاتين مقارنة مع المجموعة المستحدث فيها السمية الجدول(3) الشكل(3)، تتفق نتائج الدراسة الحالية مع نتائج كل من (Ahmad *et al*., 1987 ; Ozturk *et al*.,2003; Adewolel *et al*., 2007)، حيث يؤدي التعرض لرابع كلوريد الكربون إلى حدوث اضطرابات في الكلى و الكبد والدم عن طريق توليد الجذور الحرة Reactive Oxygen Spieces (ROS) وتحفيز الإجهاد التأكسدي، وله أيضاً تأثيرات سامة على الكبد في الإنسان، حيث يؤدي إلى ارتفاع مستوى أنزيماته وحدوث تموت في خلاياه وتغيرات في أنسجته (Gosseline *et al* ., 1976 ; Ruprah *et al* ., 1985). كما أنه يسبب ضرر لطبقة الدهون الفوسفاتية المزدوجة في أغشية الخلايا، في حين أدى الحقن المتزامن بجرعة واحدة من رابع كلوريد الكربون وبجرعات يومية من المستخلص الكحولي لشوك مريم في فئران المجموعة الثالثة، إلى حدوث انخفاض معنوي P<0.05 في متوسط قيم AST مقارنة مع القيم في المجموعة الثانية(المستحدث فيها السمية)، كذلك الأمر بالنسبة للمجموعة الرابعة التي أعطيت بشكل متزامن جرعة منفردة من رابع كلوريد الكربون وجرعات يومية من عقار الأتورفاستاتين انخفضت فيها قيم AST مقارنة مع المجموعة الثانية، حيث استطاعت المكونات الفعالة الموجودة في نبات شوك مريم لاسيما مادة (السليمارين) أن تعمل كمضادات أكسدة وتخفيض الإجهاد التأكسدي، فهي تحمي غشاء الخلية الكبدية وتمنع خروج أنزيمات الكبد، وهذا مايتفق مع نتائج دراسة (Puri *et al*., 2015)، بالأضافة للدور المهم للمكونات الفعالة لعقار الأتورفاستاتين الذي يقلل من مستويات الشحوم والكوليسترول والأنزيمات الكبدية وهذا مايتفق مع نتائج دراسة (Dominguez *et al*,.2006) .

بينت النتائج في الشكلين(5,4) والجدول(6) فيما يخص قيم سكر الدم أن الفروق بين المتوسطات بين المجموعات الثلاث الأولى لم تكن معنوية P>0.05، في حين كان الإرتفاع معنوي P<0.05 في فئران المجموعة الرابعة مقارنة مع باقي المجموعات، وهذا مايتفق مع نتائج دراسة (Koh *et al*,.2010)، حيث يعمل عقار الأتورفاستاتين على التقليل من الحساسية للأنسولين وبالتالي زيادة قيم السكر في الدم الجاري.

الاستنتاجات والتوصيات:

1- تؤدي الجرعة المستخدمة من رابع كلوريد الكربون إلى إحداث سمية كبدية.
2- القدرة العلاجية العالية لمستخلص شوك مريم على تخفيض السمية الكبدية (قيمAST).
3- قدرة شوك مريم العلاجية كانت أعلى من الأتورفاستاتين.
4- تؤدي المعالجة بالأتورفاستاتين إلى رفع قيم سكر الدم مقارنة مع باقي المجموعات.
5- لم يكن هناك تأثير يذكر لباقي المواد على قيم سكر الدم.

Reference:

1- Adewole1 SO, Salako AA, Doherty OW. and Naicker T.. *Effect of melatonin on carbon tetrachloride induced kidney injury in Wistar rat*s. African Journal of Biomedical Research, (2007) 10 : 153-164.

2- Ahmad FF, Cowan DL, and Sun AY.. *Detection of free radical formation in various tissues after acute carbon tetrachloride administration in gerbil*. Life Sciences . (1987) 41: 2469-2475.

3- Alviano,S.W; Antoniolli,R.A; Farias,M.L; Luiz,W.G.*In vitroantioxidant potential of medicinal plant extracts and their activities against oral bacteriabased on Brazilian folk medicine. Archives of oral biology*, 2008, Vol 5(3)545 – 552.

4- ATSDR. *Toxicological Profile for Carbon Tetrachloride (Update). Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service*.
dyslipemid non-alcoholic fatty liver patients, (2005), pp. 1643–1647.

5- Gomez-Dominguez, E., Gisbert, J. P., Moreno-Monteagudo, J. A., Garcia-Buey, L., & Moreno-Otero, R.. A pilot study of atorvastatin treatment in dyslipemid, non-alcoholic fatty liver patients. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, (2006) *23*(11), 1643-1647.

6- Gazák R, Walterová D, Kren V. *Silybin and silymarin-- new and emerging applications in medicine*. Curr Med Chem 2007; 14: 315-338

7- Gosselin RE, Hodge HC, Smith RP,Braddock JE. *Clinical toxicology of commercial products. In: Acute poisoning*. 4th edition. Baltimore, MD: The Williams and Wilkins . (1976) Co.13: 92-97, 110.

8- Sook IM Song,et al. *Multiple alterations of canalicular membrane transport activities in rats with CCl -induced hepatic injury* , the journal of American Society forPharmacology and Experimental Therapeutics,January,(2003)vol.31, P.p.482- 489.

9- Koh, K. K., Quon, M. J., Han, S. H., Lee, Y., Kim, S. J., & Shin, E. K.. Atorvastatin causes insulin resistance and increases ambient glycemia in hypercholesterolemic patients. *Journal of the American College of Cardiology*, (2010)*55*(12), 1209-1216.

10- Kucuker PTurkish Plant Names in Lügât-i Müskilat-i Ecza, *The Journal of International* Social Research; .(2010). 3: 401-415.

11- Ozturk F, Ucar M, Ozturk I C, Vardi N, and Batcioglu K. *Carbon tetrachloride induced nephrotoxicity and protective effect of betaine in Sprague Dawley rats*. Urology, . (2003) 62 : 353-356.

12- Puri S., Sidhu MC., Tewari R., and Sharma A.,– *Study of Phytochemicals, Trace Elements and Antibacterial Activity of Silybum marianum* (L.) Gaertn.. *Journal of Plant Science & Research*, (2015) 2(2), 1-5 pages.

13- Sanzgiri, U. Y., Srivatsan, V., Muralidhara, S., Dallas, C. E., & Bruckner, J. V. Uptake, *distribution, and elimination of carbon tetrachloride in rat tissues following inhalation and ingestion exposures*. Toxicology and applied pharmacology, (1997). *143*(1), 120-129.

14- Tomasi A, Albano E, Banni S, Botti B, Corongiu F, Dessi MA, Iannone A, Vannin V, and Dianzani MU.. *Free radical metabolism of carbon tetrachlorid in rat liver metochondria*. Biochemical Journal, (1987) (246) : 313-317.

15- Willeke de Haan,. van der Hoorn, Jose. W., , Berbée, Jimmy. F., Havekes, Louis. M., Jukema, J. Wouter., Rensen, Patrick. C., & Princen, Hans. M.. Niacin increases HDL by reducing hepatic expression and plasma levels of cholesteryl ester transfer protein in APOE*3Leiden. CETP mice. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, (2008) *28*(11),.