

水飞蓟素的植物来源、提取方法和抗癌活性研究进展

刘婷婷*

广州科技职业技术大学, 广州 510000

摘要:水飞蓟素是一种黄酮类化合物, 常见于多种植物中。天然产物研究者很久之前就开始不断优化水飞蓟素的纯化制备工艺, 通常, 将脱脂处理过的植物原料再用于提取水飞蓟素。提取方法主要包括回流提取、酶辅助提取、索氏提取及气体膨胀液提取等。在纯化操作中, 包含重结晶、梯度萃取、柱分离、高速逆流色谱等诸多繁琐步骤。水飞蓟素可用于治疗皮肤癌、肺癌、膀胱癌等多种癌症。现结合近期的抗癌作用研究, 对水飞蓟素的植物来源及相关提取纯化方法进行系统归纳和总结, 以为水飞蓟素的研发和应用提供较为全面的参考。

关键词:水飞蓟素; 植物来源; 提取; 纯化; 抗癌活性

中图分类号: R931.6

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2023) Suppl-0154-10

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2023.S.019

Research progress on plant origin, extraction method and anti-cancer activity of silybin

LIU Ting-ting*

Guangzhou Vocational University of Science and Technology, Guangzhou 510000, China

Abstract: Silybin is a flavonoid that can be commonly found in a diversity of plants. The purification and preparation of silybin has been being optimized by the natural product researchers for a long time, usually, the defatted plant materials are used for extracting silybin. The extraction methods include heat reflux extraction, enzyme assisted-extraction, Soxhlet extraction, gas-expanded liquid extraction and so on. The purification operation involves many tedious steps such as recrystallization, gradient extraction, column separation and high speed countercurrent chromatography. Silybin can be used to treat skin cancer, lung cancer, bladder cancer and many other cancers. Here, according to the most recently reported anti-cancer activities, research process on silybin in terms of its plant origin, extraction and purification are systematically summarized in this paper, in order to provide a more comprehensive reference for the development and application of silybin.

Key words: silybin; plant origin; extraction; purification; anti-cancer activity

癌症是一种不受控制的细胞生长, 是目前世界上导致死亡的主要原因^[1]。类黄酮不仅在植物自身生长、发育、抗逆境胁迫等多种生物进程中发挥着作用, 同时也因其高效的抗氧化、清除自由基的能力对人类的健康具有多种保健与药用功能, 特别是抗癌及辅助癌症治疗^[2]。各种黄酮类天然产物均存在于不同的植物资源中, 因此, 以黄酮类化合物作为目标产物开发抗癌新药的相关研究是受到广泛关注的。

水飞蓟素是非对映异构体水飞蓟素 A 和水飞

蓟素 B 的统称(详见图 1), 属于黄酮木脂素类化合物^[3]。1968 年, 水飞蓟素的结构由 Pelter 和 Hansel 通过仔细分析核磁氢谱以及质谱后被首次确定了。但是, 水飞蓟素 C-2 与 C-3 位置上的绝对构象是由他们通过降解法在 1975 年发现的。水飞蓟素的化学结构是由两个单元组成。第一个单元是以花旗松素为基础, 第二个单元是松柏醇结构部分, 这两个单元可以通过仿生合成的方法连接为一体^[4,6]。水飞蓟素在路易斯酸或碱性环境下不稳定, 并且超过 100 °C 加热也会破坏其化合物骨架^[7]。因此, 水飞蓟素适合在通常物理化学条件温和的操作条件下通过植物提取、纯化取得到。自 1970 年, 水飞蓟素就被世界卫生组织(WHO) 认可为一种医学上具有保肝作用的物质^[8]。现有研究表明了水飞蓟素还具

收稿日期: 2023-07-19

接受日期: 2023-08-24

基金项目: 2022 年度广州科技职业技术大学校级课题(2022Z-R01)

* 通信作者 E-mail: tingtingliuok@hotmail.com

有保护心血管、抑菌、抗肿瘤等活性^[9]。值得注意的是探究水飞蓟宾抗癌活性的工作备受研究者重视。当然,受到研究者格外青睐的还有含水飞蓟宾植物资源的开发以及水飞蓟宾的制备工艺建立。本

文主要对水飞蓟宾的植物来源、提取方法、抗癌活性及其作用机制进行综述,以期为热爱天然产物研究的科研人员带来更多的思考和可行性的探究。

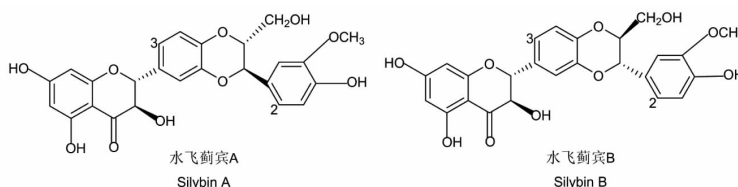


图1 化合物水飞蓟宾的化学结构

Fig.1 The chemical structures of silybin A and silybin B

1 植物来源以及提取方法

1.1 水飞蓟

水飞蓟又名奶蓟或玛丽蓟,是一种重要的菊科草本植物,生长在欧洲、北非、南北美洲、中亚、西亚以及南澳洲等地干燥、温暖的土壤中,生命力很强。1972年,我国从德国引入水飞蓟作为药用植物栽培,现在已经在陕西、黑龙江、辽宁、新疆和山西等地推广种植^[10,11]。生长在不同地区、不同成熟度的水飞蓟种子中所含有的活性化合物种类以及水飞蓟素的总含量有所不同^[12]。水飞蓟种子一直是水飞蓟植物提取的主要原料。Liu等^[13]对水飞蓟的种皮提取水飞蓟宾的过程进行了响应面实验设计。提取实验过程中先用石油醚进行脱脂处理,再将抽滤晾晒后的脱脂种皮进行纤维素酶解处理,最后将水飞蓟种皮酶解残渣用无水乙醇回流提取。判断了影响水飞蓟宾提取率的关键因素后,确定的最佳的提取条件为:酶解液pH值为4.5,酶解温度40℃,脱脂水飞蓟种皮粉碎后粒径为700μm。酶辅助提取水飞蓟种皮中水飞蓟宾的方法所得最佳结果是水飞蓟宾总提取率为24.60mg/g,相对于之前文献报道的乙醇提取法,水飞蓟宾的提取率被提高了138%。Liu等^[14]又将含水飞蓟素的提取物溶解于甲醇中结晶,之后将结晶母液样品分别通过半制备型高速逆流色谱(HSCCC)以及半制备型高效液相色谱(Pre-HPLC)分离纯化。较Pre-HPLC技术而言,HSCCC分离水飞蓟宾及其副产物效果更佳,全工艺成本较低且各个产物回收率较高。1463mg水飞蓟宾的结晶副产物样品经HSCCC制备得到146mg水飞蓟宁、280mg水飞蓟亭、63mg花旗松素、34mg水飞蓟宾以及18mg异水飞蓟宾。Yao等^[15]用天然低

共熔溶剂,即:氯化胆碱与1,4-丁二醇(摩尔比为1:2)对脱脂的水飞蓟种子皮进行了提取。通过单因素实验和响应面法研究了提取温度、提取时间、料液比对水飞蓟宾得率的影响。结果发现:当料液比为1:20g/mL,提取时间为5.6h,提取温度为77℃时,水飞蓟宾提取率可达43mg/g。Abderrezag等^[16]用气体膨胀液一步可持续提取了粉碎粒径小于的5mm野生的阿尔及利亚水飞蓟种子粉末。在如下的实验条件,即,三元混合提取溶剂包括25%CO₂、60%乙醇和15%水,提取温度为40℃,提取压力为9MPa,提取时间为160min下,得到最佳的水飞蓟素提取率为5.597mg/g。此外,在未做进一步纯化的情况下,水飞蓟素在提取物中的浓度可以达到59.6%,其中水飞蓟宾为主要成分,每克提取物中可含水飞蓟宾543.73mg。

1.2 头花蓼

头花蓼是一种蓼科蓼属多年生的草本植物,它广泛分布在中国的江西、湖南、湖北、四川、贵州等省。它也是苗族著名的大型药用植物,在药用和经济价值方面有着悠久的历史。随着天然产物的不断开发,已有91种化学成分从头花蓼中被分离、鉴定,被鉴定的化合物包括水飞蓟宾^[17-19]。Yang等^[20]建立了从头花蓼全草中提取制备了98%纯度水飞蓟宾(得率为0.08%~0.1%)的方法,具体过程是:将头花蓼粗粉用5倍体积石油醚回流,弃去提取液并将原料用2倍体积的乙醇水溶液浸泡,20倍体积渗漉或5倍体积加热回流得到提取液;提取浸膏用3~4倍水混悬后,再经10倍体积乙酸乙酯萃取,其萃取液蒸干后进行两次硅胶色谱柱分离;每次硅胶分离过程中均选用石油醚:乙酸乙酯为2:1的洗脱液

洗脱杂质后再用石油醚:乙酸乙酯为1:1洗脱目标产物。Huang等^[21]以20 kg头花蓼粉末为原料分离、纯化并鉴定出31种化学成分。工艺过程中首先将头花蓼粉末用80%乙醇室温渗滤提取,再将得到的3.45 kg浸膏依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇进行萃取分步收集。乙酸乙酯部分旋干得到的60 g浸膏用硅胶柱进行分离,用不同体积配比(20:1、10:1、5:1、3:1、2:1、1:1)的石油醚:乙酸乙酯洗脱液进行梯度洗脱得到7个部分产物。其中,第5部分产物重复地用硅胶分离后再用葡聚糖凝胶LH-20柱纯化,可得到40 mg水飞蓟宾。Jing等^[22]从贵州头花蓼中分离鉴定了15种化学成分。工艺中10 kg头花蓼切碎料用8倍水回流两次,回流时间为2 h。合并后的提取液用NKA-II大孔吸附树脂分离,纯水洗脱2倍柱体积后用再用95%乙醇洗脱2倍柱体积。95%乙醇部分旋干溶于水后再经MCI树脂柱分离,洗脱液依次为水、20%甲醇、40%甲醇、纯甲醇。40%甲醇部分经硅胶柱色谱、葡聚糖凝胶LH-20色谱、ODS柱色谱以及Pre-HPLC纯化、鉴定出水飞蓟宾。

1.3 虎尾轮

虎尾轮为闽南民间常用中草药,学名猫尾射,主要产于福建、江西、广东、海南、广西、云南及台湾等省区。多生于干燥的野旷坡地、路旁或灌木丛中,海拔850 m以下,印度、斯里兰卡、中南半岛、南至澳大利亚北部也有分布。虎尾轮是豆科一种可食用的草本植物,它可作为蔬菜食用,虎尾轮根也被研究者用作了天然活性成分开发的原料^[23-25]。Wang等^[26]将10 kg虎尾轮根粉末用95%乙醇冷浸提取,再将提取液减压回收得到的浸膏用热水混悬后依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取。其中正丁醇部分产物经大孔吸附树脂分离,又经反复硅胶色谱、葡聚糖凝胶LH-20色谱及ODS柱色谱的纯化后鉴定得到了水飞蓟宾8 mg。

1.4 杜松

杜松也被称为希腊圆柏,属于柏科植物。杜松主要生长在巴尔干半岛、马其顿、希腊、爱琴海西部领土以及保加利亚南部等地。在土耳其,杜松生长在海拔300~2 300米之间的地域。杜松植物中含有不同类型的植物代谢产物,因此,它是具有多种药用价值的著名植物品种之一^[27,28]。Nuralin等^[29]对土耳其伊斯帕塔地区的杜松子磨碎粉末(粒径范

围:0.25~0.35 mm)进行了提取实验。实验开展过程中应用了响应面法设计了索氏提取的工艺,在乙醇比例为64.82%、提取温度范围为78.37~78.86℃、提取时间为283.67 min的操作条件下,水飞蓟宾的提取率为0.019 mg/g。而对比实验中超临界萃取法得到水飞蓟宾的提取率为0.0178 mg/g。

1.5 广东紫珠

广东紫珠为马鞭草科紫珠属落叶灌木,主要分布于长江以南江西、广东、福建等地,在湖南和江西等地有广泛种植^[30,31]。Dai等^[32]从采自江西萍乡的广东紫珠干燥茎枝和叶中分离、鉴定了16种化学成分。其具体过程是:将10 kg的广东紫珠原料粉碎后用10倍量水煎煮2次,每次2 h。之后将提取液浓缩至1.15 g/mL,再依次用氯仿、乙酸乙酯、水饱和的正丁醇进行萃取。将乙酸乙酯部分产物用甲醇溶解后过正向硅胶柱。以三氯甲烷:甲醇(V/V=5:1)进行洗脱,分部收集10部分洗脱液。其中第4部分产物再过正向硅胶柱,并以三氯甲烷:甲醇(V/V=30:1至1:1)进行梯度洗脱。此次洗脱后分部收集为4个部分。将第2部分经中压制备液相色谱分离,梯度洗脱溶剂为甲醇:水(V/V=20:80至80:20),收集9部分洗脱液。第6部分用反向Pre-HPLC进行纯化,洗脱溶剂为甲醇:0.01%三氟乙酸(V/V=48:52),洗脱体积流速为7 mL/min,最后分离鉴定得到9.5 mg水飞蓟宾。

综上所述,水飞蓟宾属于黄酮木脂素类化合物,适合用乙醇溶剂提取,但是也有其他适合提取水飞蓟宾的试剂被发现。水飞蓟宾在现开发的植物资源中均与多种可纯化的其他天然产物共同存在,并且植物资源常会涉及脱脂预处理,因此,水飞蓟宾的提取工艺过程精细程度很关键、对产品提取率以及纯化的顺利开展影响显著。虽然,在水飞蓟的分离、纯化过程中应用了多步萃取、不同填充介质的柱分离过程、结晶、Pre-HPLC以及制备型HSCCC等技术系列组合,但是各个优化工艺最终制备并鉴定了高纯度水飞蓟宾及其多种副产物的准确结构,保障了医药产业能够拥有以高附加值水飞蓟宾为代表的天然产物。科技在发展,未来植物种植条件的改变也会影响各种天然成分的种类、含量,水飞蓟宾的需求量增加也会带动其植物提取、精制方向更深层次探究。已有文献报道的水飞蓟宾提取和纯化方法见表1。

表 1 水飞蓟的植物来源及提取纯化信息

Table 1 Plant origin, extraction and purification of silybin

植物来源 Plant origin	提取 Extraction	纯化过程 Purification process	特点 Characteristic	文献 Reference
水飞蓟种子 <i>The seeds of Silybum marianum</i>	脱脂、纤维素酶处理后回流提取	含水飞蓟素的提取物在甲醇中结晶后,母液用半制备型 HSCCC 分离。	提取率显著提高,各产物纯化过程回收率高,工艺生产成本低。	13, 14
	天然低共熔溶剂提取	-	提取溶剂具有更好的生物相容性和生物可降解性,有更强的水飞蓟溶解潜力。	15
	气体膨胀液一步可持续提取	-	避免了脱脂过程中溶剂的浪费以及产品中残留有机溶剂影响了水飞蓟活性的发生。	16
头花蓼全草 <i>The whole herb of Polygonum capitatum</i>	脱脂后,浸泡、渗漉或回流提取	乙酸乙酯萃取,之后进行两次硅胶色谱柱分离。	首次发现了以头花蓼为原料制备水飞蓟的方法,操作相对简便、成本低廉。	20
	渗漉提取	提取浸膏经不同有机试剂梯度萃取后分步收集。乙酸乙酯萃取部分用硅胶柱进行分离,梯度洗脱。其中,富含目标产物部分仍用硅胶再分离之后再用葡聚糖凝胶 LH-20 柱纯化。	能够同时制备、鉴定出 31 种天然产物,其中包括水飞蓟。	21
	回流提取	NKA-II 大孔吸附树脂分离得到的 95% 乙醇洗脱部分再经 MCI 树脂柱分离,之后 40% 甲醇洗脱液部分经反复硅胶柱色谱、葡聚糖凝胶 LH-20 色谱、ODS 柱色谱以及 Pre-HPLC 纯化。	能够同时制备、鉴定出 15 种天然产物,其中包括水飞蓟。	22
虎尾轮根部 <i>Uraria crinita roots</i>	冷浸提取	提取浸膏热水混悬后用有机溶剂进行梯度萃取。正丁醇部分萃取产物又经大孔吸附树脂、反复硅胶色谱分离以及葡聚糖凝胶 LH-20 色谱、ODS 柱色谱纯化。	能够同时制备、鉴定出 14 种天然产物,其中包括水飞蓟。	26
杜松松子 <i>Juniperus excelsa fruits</i>	索氏提取	-	比超临界萃取法获得的水飞蓟的提取率高。	29
广东紫珠茎和叶 <i>The stem and leaves of Callicarpa kwangtungensis</i>	水煎煮提取	提取液浓缩后用有机试剂进行梯度萃取。乙酸乙酯萃取部分反复经正向硅胶柱初步分离。梯度洗脱后收集到的富含产物部分又经中压制备液相色谱分离。最后,反向 Pre-HPLC 对分离产物进行了纯化。	能够同时制备、鉴定出 16 种天然产物,其中包括水飞蓟。	32

注:“-”表示参考文献中没有涉及到该内容。

Note:“-” indicates that the content is not covered in the reference.

2 抗癌活性

水飞蓟最典型的药理作用是传统的保肝作用,此外,它还具有抗氧化、清除自由基以及抑菌等多种药理活性^[33]。可是,水飞蓟的抗癌活性机制研究是有望推进重大疾病治疗、获得突破性新发展的前沿工作。

2.1 皮肤癌

皮肤癌见于各个民族,在我国以沿海及高山地区较常见,有色人种的发病率在不断升高^[34]。非黑色素瘤皮肤癌是最常见的皮肤癌类型,占全世界每

年诊断的所有恶性肿瘤的 1/3。非黑色素瘤皮肤癌主要包括基底细胞癌(BCC)、鳞状细胞癌(SCC)和光化性角化病,其中,BCC 和 SCC 分别占 70% 和 25%^[35]。Guillermo-Lagae 等^[36]将正常人真皮纤维细胞(NHDF)暴露于 1 mJ/cm² 的紫外线(UVB)下,在选择用 100 μM 水飞蓟进行前处理或者后处理的条件下,测量了 NHDF 中环丁烷嘧啶二聚体(CP-Ds)生成量。结果分析表明,水飞蓟能通过激活核苷酸切除修复通路而加速 DNA 修复,增加了肿瘤抑制因子 P53 和 GADD45α 基因的表达,进而有效

降低紫外线照射导致皮肤癌的发生。Dheeraj 等^[37]的研究指出用 25 ~ 100 $\mu\text{mol/L}$ 水飞蓟宾进行处理 48 h 能强烈抑制 ASZ001 型 Sant-1 耐药性 (ASZ001-Sant-1) 和 GDC-0049 耐药性 BCC 细胞的生长, 并诱导细胞死亡。机制分析表明水飞蓟宾可降低 BCC 引起的、对 hedgehog 抑制剂产生耐药性的关键分子, 即, ASZ001-Sant-1 细胞中总表皮生长因子受体 (EGFR) 和磷酸化 EGFR (酪氨酸-1173 位点) 的水平。水飞蓟宾也可降低磷酸化 AKT (丝氨酸 473 位点)、磷酸化 ERK1/2 (苏氨酸 202 和酪氨酸 204 位点)、细胞周期蛋白 D1 和 Gli-1 蛋白的水平, 但却增加 ASZ001-Sant-1 细胞中的抑癌基因 SUFU 的表达。水飞蓟宾处理 ASZ001-Sant-1 细胞还降低了 Bcl-2 蛋白表达, 但是增加了半胱天冬酶 3 和 PARP 裂解, 表明其诱导了细胞的凋亡。Rigby 等^[38]研究发现水飞蓟宾会抑制 UVB 诱导下 Ptch +/- 小鼠肥大细胞的产生, 也会显著抑制受 UVB 照射的 Ptch +/- 小鼠体内骨成型蛋白 2 (BMP-2)、Bcl2 结合成分 3、P53 上调凋亡调节因子和 Ccnd1 基因的表达。且水飞蓟宾仅在单次 UVB 暴露后强烈减弱 UVB 诱导的 BMP-2 表达和 Ptch +/- 小鼠体外皮肤中的 DNA 损伤。进而综合分析得出水飞蓟宾对 BCC 具有化学预防作用。

2.2 肺癌

肺癌死亡人数占全球死亡人数的 18.4%, 肺癌患者中 85% 的患者被确诊为非小细胞肺癌 (NSCLC)。Zhang 等^[39]研究表明水飞蓟宾能够抑制肺癌细胞 H1975 与 LLC 的增殖, 并且能够促进肿瘤细胞凋亡。水飞蓟宾会上调 p53 蛋白的表达水平, 并且抑制 Bcl-2 蛋白表达而发挥抗肿瘤作用。水飞蓟宾还能增加 C57BL/6 小鼠肿瘤内 CD8⁺T 细胞浸润量, 它使得肿瘤组织 p53 与 Bcl-2 蛋白表达的变化趋势与体外细胞水平一致。Bosch-Barrera 等^[40]研究中发现对尼达尼布的细胞毒性反应较差的 NSCLC 细胞表现出持续的、对尼达尼布无反应的激活信号转导和转录活化蛋白 (STAT)3 状态, 通过 STAT3 抑制剂水飞蓟宾协同处理能够促进细胞毒性。水飞蓟宾部分、显著地减少了尼达尼布难治性 NSCLC 细胞中尼达尼布被大量溶酶体包埋现象发生, 增强了尼达尼布达到其细胞内靶标的能力。Verdura 等^[41]的研究揭示水飞蓟宾能通过靶向上皮-间质转化 (EMT) 驱动的转化生长因子 β (TGF β) 信号转导使间充质 NSCLC 细胞对间变性淋巴瘤激

酶酪氨酸激酶抑制剂重新敏感。水飞蓟宾会使 TGF β 调节的 SMAD2/3 磷酸化失活, 并抑制 SMAD 结合元件控制下基因的转录激活。在评估水飞蓟宾在抑制肿瘤形成中所起作用时, Rugamba 等^[42]发现水飞蓟宾能与 EGFR 结合下调磷酸化 EGFR 的表达, 进而抑制其下游靶标 JAK2/STAT5 和 PI3K/AKT 通路, 由此会降低程序性细胞死亡配体 1 (PD-L1) 和血管内皮生长因子表达。继而分析表明, STAT5 与细胞核中的 PD-L1 启动子区域结合, 水飞蓟宾抑制 STAT5/PD-L1 复合物。Xu 等^[43]的研究说明了水飞蓟宾可通过下调菱形结构蛋白 1 (RHBDD1) 的表达来抑制 NSCLC 细胞的 EMT, 从而抑制其增殖、迁移、侵袭。

2.3 膀胱癌

膀胱癌是我国泌尿系统最常见的恶性肿瘤, 发病率逐年升高^[44]。在观察水飞蓟宾对膀胱癌的生物学作用时, Zhao 等^[45]发现水飞蓟宾在体内环境中可以显著抑制膀胱癌组织的生长, 并且这种生长抑制作用随水飞蓟宾剂量增高而增强, 该作用可能与 Caspase 介导的细胞凋亡、线粒体介导的细胞凋亡及 Bcl-2 蛋白表达下调或者 Bax 蛋白表达上调有关。Li 等^[46]研究揭示了水飞蓟宾可以通过抑制 EMT 减弱 TGF- β 1 诱导的细胞迁移和侵袭, 该作用与前列腺素内氧化酶合成酶 2 (COX-2) 下调有关。Barros 等^[47]发现水飞蓟宾会在具有三种不同 TP53 基因状态的膀胱癌细胞中表现出细胞毒性和促氧化作用。由此得出结论: 水飞蓟宾抑制膀胱肿瘤增殖与 TP53 状态无关, 可是细胞周期效应、基因表达变化和细胞迁移的改变取决于 TP53 状态。

2.4 乳腺癌

乳腺癌是女性中发病率最高、死亡率最高的肿瘤, 现有研究表明中药成分对乳腺癌细胞会产生有效的干预作用^[48]。Si 等^[49]的研究揭示了水飞蓟宾可损害乳腺癌 MDA-MB-231 细胞中的线粒体动力学及线粒体生物合成。通过下调动力学相关的线粒体分裂蛋白 1 (DRP1) 的表达并上调线粒体融合相关性蛋白、视神经萎缩蛋白 1 (OPA1)、线粒体融合蛋白 1 (MFN1) 和线粒体融合蛋白 2 (MFN2) 的表达, 水飞蓟宾会增加线粒体融合。而线粒体融合有助于水飞蓟宾对癌细胞迁移产生负面影响。通过下调包括线粒体转录因子 A、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子 1 和核呼吸因子 2 在内的线粒体生物合成调节剂的水平, 水飞蓟宾会发挥其干扰

线粒体的生物合成的作用。Liu 等^[50]研究指出水飞蓟宾可通过在人乳腺癌 MCF-7 细胞中以浓度依赖的方式下调雌激素受体(ER) α 及上调 ER β 来诱导细胞凋亡诱导因子(AIF)的核转位。Lashgarian 等^[51]发现水飞蓟宾对 MDA-MB-231 细胞增殖及迁移有显著的剂量依赖性抑制作用,且水飞蓟宾显著抑制 Racl mRNA 的表达。Firouzi 等^[52]发现水飞蓟宾会以剂量依赖的方式降低乳腺癌细胞 MCF-7、MDA-MB-231 和由 MDA-MB-468 细胞聚集体衍生的乳腺球的活力。用水飞蓟宾处理的乳腺球中,菌落和球形形成能力及与 EMT 相关的基因表达均降低,且与干性和转移相关的基因表达会减少,与分化表达相关的基因会增加^[52]。

2.5 结肠癌

结肠癌是消化系统最常见的恶性肿瘤之一,在全球癌症发病谱中排第 3 位^[53]。Li 等^[54]通过体外实验发现水飞蓟宾在一种小鼠结肠癌细胞系,即 CT-26 中诱导细胞周期停滞在 G2/M 期。水飞蓟宾会在体内和体外多个位点阻断细胞周期蛋白依赖性激酶 1(CDK1)的去磷酸化,并通过靶向 Cdc25C/CDK1 通路进而减轻小鼠结肠炎相关的肿瘤发生。Sameri 等^[55]的研究指出水飞蓟宾会增加 Bax/Bcl-2 比率进而诱导 HCT-116 细胞死亡。通过降低 N-钙粘蛋白和波形蛋白的表达以及增加 E-钙粘蛋白的表达,水飞蓟宾会减弱 EMT,也会降低 β -连环蛋白(β -catenin)的表达。Sameri 等^[56]又证明了水飞蓟宾能够显著降低 CT26 细胞的存活率。其强烈诱导细胞凋亡以及自噬的结果是通过上调 Bax、Caspase-3、Atg5、Atg7 和 BECN1 等 mRNA 表达并下调 Bcl-2 mRNA 表达实现的。

2.6 肾癌

肾癌发病率占成人恶性肿瘤的 2% ~ 3%,近年来肾癌的发病率有上升的趋势。Fan 等^[57,58]研究表明水飞蓟宾会以时间依赖、浓度依赖的方式下调肾癌细胞干细胞标志物 CD44、P63 蛋白的表达。水飞蓟宾具有抑制肾癌干细胞肿瘤球形成的能力,它

可以下调磷酸化糖原合酶激酶-3 β 和 β -catenin 的表达。水飞蓟宾还可通过调节 Wnt/ β -catenin 信号通路在体内、体外抑制肾癌细胞转移和 EMT。它是自噬依赖性方式抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路,其诱导的 β -catenin 自噬降解与水飞蓟宾对肾癌细胞的抗转移作用有关。Yang 等^[59]的实验说明了水飞蓟宾以时间依赖、剂量依赖的方式抑制 RenCa 细胞活力。通过下调细胞周期蛋白 B1 和 CDK1 的量以及增加抑癌基因 p21 WAF1/CIP1 的表达,水飞蓟宾会轻微触发细胞凋亡并显著诱导 G2-M 细胞周期停滞。

2.7 前列腺癌

前列腺癌是全球男性发病率第二的恶性肿瘤,当前,关于前列腺癌治疗机制的深入研究是正在着手的^[60,61]。Sherman 等^[62]研究表明肥胖会造成与前列腺癌相关的细胞信号如 COX-2、白细胞介素 6、Akt 通路、EPK 通路以及雄激素受体的表达,对此,水飞蓟宾可减弱这些信号。水飞蓟宾会减轻肥胖、超重血清导致的前列腺癌细胞生长、侵袭能力增加。水飞蓟宾对于前列腺癌患者来说是安全、有益的。Jiang 等^[63]开展了数据库对水飞蓟宾作用靶点进行筛选、DU145 细胞实验、BALB/c 裸鼠实验,结果表明了水飞蓟宾具有抑制前列腺癌的作用,其抑制机制与下调醛脱氢酶 1A1(ALDH1A1)表达、抑制维甲酸受体 α (RAR α)的激活、阻止原癌基因 Ets1 激活有关。前列腺癌细胞中辐射抗性的出现是癌症治疗的主要屏障,Rajput 等^[64]通过实验验证了水飞蓟宾诱导前列腺癌细胞放射增敏的新机制,即通过靶向 DNA 修复途径、同源重组和非同源末端连接以及抑制 EGFR 敲低的前列腺癌细胞中促存活信号通路、细胞外信号调节激酶 1/2、Akt 和 STAT3。Dan 等^[65]研究中发现水飞蓟宾显著地抑制了去势抵抗性前列腺癌(CRPC)细胞的迁移和侵袭。水飞蓟宾能激活细胞自噬,且水飞蓟宾通过调节 Yes 相关蛋白(YAP)的自噬降解来抑制 CRPC 细胞的迁移、侵袭以及 EMT。水飞蓟宾的抗癌活性及机制详见表 2。

表 2 水飞蓟宾的抗癌活性结果

Table 2 The results of anti-cancer activity of silybin

抗癌活性 Anti-cancer activity	研究载体 Carrier for the research	相关研究结果 Relevant research result	文献 Reference
抗皮肤癌 Anti-skin cancer	NHDF 细胞	UVB 暴露前 6 h 进行水飞蓟宾处理,CPDs 水平降低 50%;暴露于 UVB 后 8 h 立即用水飞蓟宾处理,CPDs 水平降低 55%。暴露于 UVB 后 3 h,水飞蓟宾处理使 GADD45 α mRNA 表达显著增加。	36

续表 2 (Continued Tab. 2)

抗癌活性 Anti-cancer activity	研究载体 Carrier for the research	相关研究结果 Relevant research result	文献 Reference
	ASZ001 细胞	水飞蓟宾 (25 ~ 100 $\mu\text{mol/L}$) 与 Sant-1 (60 $\mu\text{mol/L}$) 或者 GDC-0449 (40 $\mu\text{mol/L}$) 处理 ASZ001 细胞后, 细胞总数分别减少了 47% 和 52%。	37
	Ptch 杂合基因鼠	UVB 暴露 1 个月使 Ptch + / - 小鼠肥大细胞数量增加了 48%, 这被水飞蓟宾完全抑制; UVB 照射会增加 BMP-2 表达, Ptch + / - 小鼠体内实验中, 水飞蓟宾抑制该效应 73%, 相关体外实验中, 水飞蓟宾抑制该效应 39%。	38
抗肺癌 Anti-lung cancer	H1975、LLC 细胞、雌性 C57BL/6 小鼠	水飞蓟宾对 H1975 细胞、LLC 细胞的半数抑制浓度 (IC_{50}) 分别 62.58 $\mu\text{mol/L}$ 、61.44 $\mu\text{mol/L}$ 。水飞蓟宾处理的小鼠肿瘤内 cD8 + T 细胞的浸润量为 9.78%, 该数据高于相应对照组实验数据 5.27%。	39
	H460、H1975、A549、H1993、H3122、H2228 和 PC9 细胞系	水飞蓟宾在尼达尼布耐药 H460 细胞中显著抑制尼达尼布无反应的 STAT3 超活化需要 24 h; 水飞蓟宾在尼达尼布耐药 H1975 细胞中完全抑制尼达尼布无反应的 STAT3 超活化需要 48 h。	40
	H2228、H3122 细胞及 SBE Report-er-HEK 293 细胞系	用 10 ng/mL TGF β 长期处理 H2228 细胞足以诱导 EMT。慢性 TGF β 刺激显著增加了劳拉替尼的 IC_{50} 值 (第 3 代 ALK-TKI 劳拉替尼增加了约 5 倍)。水飞蓟宾处理显著降低了 ALK-TKI 对 H2228/TD 细胞的 IC_{50} 值。	41
	A549、H460 和 H292 细胞系	水飞蓟宾和 EGFR 之间具有 8.3 kcal/mol 的强结合亲和力。100 $\mu\text{mol/L}$ 水飞蓟宾会显著降低由表皮生长因子处理的 NSCLC 细胞中磷酸化 EGFR 的表达。	42
	接受过根治性手术的 NSCLC 患者的组织样本、A549 细胞	在 NSCLC 组织中观察到的 RHBDD1 的蛋白染色依次显著高于邻近正常组织和石蜡包埋的 NSCLC 组织。靶向 RHBDD1 的小干扰 RNA (si-RHBDD1) 转染后, A549 细胞中 RHBDD1、N-钙黏着蛋白和波形蛋白的表达下调, E-钙黏着蛋白上调, 这与水飞蓟宾处理达到的效果一致。	43
抗膀胱癌 Anti-bladder cancer	BABL/C-nu/nu 裸鼠	水飞蓟宾低、中、高剂量处理组肿瘤生长抑制率分别为 10.08%、47.64%、63.14%。水飞蓟宾处理剂量的增加会伴随着 Caspase-3 表达量减少、Cyt-c 胞浆蛋白表达增加、Bcl-2 蛋白表达量减少及 Bax 蛋白表达增加。	45
	T24、253J 细胞系	水飞蓟宾与 TGF- β 1 联合应用时, TGF- β 1 诱导的 EMT 标记物变化减弱。TGF- β 1 存在, COX-2 被敲低并且用水飞蓟宾处理细胞时, N-钙黏着蛋白、波形蛋白、 β -catenin 及 ZEB1 表达进一步降低, E-钙黏着蛋白表达进一步增加。	46
	RT4 (野生 TP53 基因)、5637 (突变 TP53 基因)、T24 (突变 TP53 基因) 细胞	水飞蓟宾处理后, 各细胞中活性氧 (ROS) 增加。150 $\mu\text{mol/L}$ 水飞蓟宾处理使得 RT4 细胞中处于 G0/G1 和 G2/M 期细胞数量减少; 5637 和 T24 细胞中 G2/M 期细胞数量显著增加。水飞蓟宾处理使得 RT4 细胞中 HDAC 基因下调, 5637 细胞中只有 PLK1 基因下调, T24 细胞中只有 RASFF1A 基因下调。水飞蓟宾处理后, 5637 和 T24 细胞迁移能力分别降低了 36.22% 和 34.42%。	47
抗乳腺癌 Anti-breast cancer	MDA-MB-231 细胞	90 $\mu\text{mol/L}$ 水飞蓟宾处理 24h 会导致出现细长的线粒体。OPA1、MFN1 和 MFN2 的表达在水飞蓟宾处理 24h 的细胞中呈剂量依赖性增加, 而 DRP1 表达降低。30 ~ 90 $\mu\text{mol/L}$ 水飞蓟宾处理会抑制细胞迁移, 敲低 MFN1 和 MFN2 能使得细胞迁移恢复。单独敲低 DRP1 也抑制细胞迁移, 与水飞蓟宾处理效果类似。	49
	MCF-7 细胞	处理时间定为 24 h 时, 100 $\mu\text{mol/L}$ 水飞蓟宾组可出现细胞膜收缩现象, 200 和 300 $\mu\text{mol/L}$ 水飞蓟宾组常出现凋亡小体。蛋白质印记结果可见线粒体 AIF 会从线粒体中释放出来。ER α 拮抗剂或 Er β 激动剂处理会进一步促进水飞蓟宾诱导的 AIF 核转位。	50
	MDA-MB-231 细胞	用 0 ~ 640 $\mu\text{mol/L}$ 水飞蓟宾处理细胞 48 h, 发现随着水飞蓟宾浓度增大, 细胞生存能力降低, IC_{50} 为 180 $\mu\text{mol/L}$ 。水飞蓟宾处理的细胞会表现出比对照组更慢的迁移速度, 并且伤口闭合度低。浓度为 40、80 和 160 $\mu\text{mol/L}$ 处理 48 h 表现出 40% ~ 60% 的 Rac1 mRNA 表达抑制。	51
	MCF-7、MDA-MB-231、MDA-MB-468 细胞	对于 MCF-7、MDA-MB-231 衍生的乳腺癌球及 MDA-MB-468 细胞聚集体, 水飞蓟宾处理 72 h 对应的 IC_{50} 分别为 150、100 和 50 $\mu\text{mol/L}$ 。	52
抗结肠癌 Anti-colorectal cancer	CT-26 细胞系及 AOM/DSS 小鼠模型	蛋白质印记实验发现水飞蓟宾显著阻断了 CDK1 在 Thr14 和 Thr15 处的去磷酸化, 水飞蓟宾还降低了 mRNA 和蛋白质水平的 Cdc25C 表达。AOM/DSS 小鼠模型实验发现水飞蓟宾在 mRNA 和蛋白质水平上显著抑制 Cdc25C 表达, 水飞蓟宾也显著降低了 CDK1 在 Tyr15 处的去磷酸化。	54
	HCT-116、VERO 细胞系	用水飞蓟宾处理 HCT-116 细胞、VERO 细胞 24h, IC_{50} 分别测得为 165.95 $\mu\text{mol/L}$ 、758.5 $\mu\text{mol/L}$ 。	55

续表 2(Continued Tab. 2)

抗癌活性 Anti-cancer activity	研究载体 Carrier for the research	相关研究结果 Relevant research result	文献 Reference
抗肾癌 Anti-renal cell carcinoma	CT-26、VERO 细胞系	水飞蓟宾处理 CT-26 细胞 24h, IC ₅₀ 为 50 μmol/L; 而用 0 ~ 1 000 μmol/L 处理 VERO 细胞时未出现细胞毒性现象。菌落形成实验发现 50 μmol/L 水飞蓟宾处理使得菌落数量和大小显著减少。	56
	760-O、ACHN 细胞系	水飞蓟宾处理 24 h 时, 760-O、ACHN 细胞系中 CD44、P63、p-GSK3β 和 β-catenin 等蛋白表达量均可随水飞蓟宾处理剂量增加而降低。水飞蓟宾处理可使两种细胞系中 CD44 和 P63 蛋白表达量均可随处理时间的延长而降低。	57
	760-O、ACHN 细胞系, BALB/c 雄鼠	β-catenin 基因的敲低会进一步增强水飞蓟宾对 EMT 标记物生成和细胞迁移的抑制作用。水飞蓟宾处理会增强 LC3 蛋白与 β-catenin 之间的作用, 也会下调体外细胞以及雄鼠体内 β-catenin 量。水飞蓟宾会在不影响雄鼠体重情况下显著减小了皮下异种移植肿瘤的生长速度和体积。	58
抗前列腺癌 Anti-prostate cancer	RenCa 细胞系	随着水飞蓟宾处理剂量增大、处理时间延长, 细胞抑制率增大。用 50、100、200 μmol/L 水飞蓟宾处理细胞 48 h 时, 发现仅当剂量为 200 μmol/L 时, 发生明显的细胞凋亡现象。高剂量水飞蓟宾处理时, 很少有细胞从培养板脱离。	59
	DU145、22RV1 细胞和 PacMetUT1 细胞系	用肥胖血清处理后添加水飞蓟宾组中 22RV1、PacMetUT1 及 DU145 细胞存活率分别降低了 36%、24%、34%。使用超重性血清处理添加了水飞蓟宾后, DU145 细胞存活率降低了 18%。在肥胖血清处理的添加水飞蓟宾组, PacMetUT1 细胞侵袭性表型降低了 82%。水飞蓟宾加入用肥胖血清、超重血清处理的 DU145 细胞, 其侵袭力分别降低了 29%、43%。	62
	DU145 细胞和 BALB/c 裸鼠	50 ~ 200 μmol/L 水飞蓟宾浓度可以减少 ALDH1A1、RARα 及 Ets1 的产生。构建植入肉瘤的小鼠模型, 肿瘤形成 10 d 后会发现对照组肿瘤体积大于水飞蓟宾处理组, 结果一直保持到小鼠被处死。	63
	DU145 细胞	IR 联合水飞蓟宾处理 EGFR 敲低细胞会提高细胞毒性、减少细胞集落形成、增加 G2/M 期停滞细胞群量。水飞蓟宾与 IR 联用会强烈降低蛋白质 Cdc25C 水平并导致 EGFR 敲低细胞中 DNA-PK、Rad51、p-STAT3 和 p-ERK1/2 蛋白水平强烈降低、p53 蛋白质水平降低。	64
	C4-2、PC-3 细胞系	水飞蓟宾处理去势抵抗性前列腺癌细胞会使 EMT 标志物产生量变, 显著上调 E-钙粘蛋白转录水平、下调 N-钙粘蛋白转录水平。水飞蓟宾会增加 YAP mRNA 表达, 自噬抑制可减弱水飞蓟宾诱导的 YAP 表达下调。YAP 敲低会增强水飞蓟宾对细胞迁移、侵袭的抑制。	65

3 结语与展望

水飞蓟宾具有多种抗癌活性, 这些功能的发挥与该化合物的结构有必然关系。水飞蓟宾在癌症治疗过程中结合的具体靶点确定以及产生的抗癌效果都将为人类继续研究各种癌症病理学机制、癌症的药物治疗新疗法提供基础依据。同时, 进一步继续发现水飞蓟宾的新药理学作用是具有前景的, 且在疾病治疗中应用水飞蓟宾去克服其他药物耐药性的工作也将为临床联合用药给出了一个有价值的新思路。水飞蓟宾对于人体来说是无毒的, 无论是天然产物药理基础研究还是天然产物的应用都需要有药物的稳定来源、高效制备方法。水飞蓟宾提取、纯化及抗癌活性的及时综述将为药用植物资源种植开发、种植事业给予了鼓励。

参考文献

1 Mortezaee K, et al. Synergic effects of nanoparticles-mediated hyperthermia in radiotherapy/chemotherapy of cancer [J].

Life Sci, 2021, 269: 119020.

2 Lu M, et al. Research progress on anti-tumor activity and mechanism of flavonoids [J]. West China J Pharm Sci (华西药理学杂志), 2023, 38: 236-240.

3 Sala F, et al. Development and validation of two liquid chromatography-tandem mass spectrometry methods for the determination of silibinin and silibinin hemisuccinate in human plasma [J]. J Chromatogr B, 2014, 945-946: 1-9.

4 Bijak M. Silybin, a major bioactive component of milk thistle (*Silybum marianum* L. Gaernt.)—chemistry, bioavailability, and metabolism [J]. Molecules, 2017, 22: 1942.

5 Lee DYW, et al. Molecular structure and stereochemistry of silybin A, silybin B, isosilybin A, and isosilybin B, isolated from *Silybum marianum* (milk thistle) [J]. J Nat Prod, 2003, 66: 171-1174.

6 Althagafy HS, et al. Mechanistic study of the biomimetic synthesis of flavonolignan diastereoisomers in milk thistle [J]. J Org Chem, 2013, 78: 7594-7600.

7 Biedermann D, et al. Chemistry of silybin [J]. Nat Prod Rep, 2014, 31: 1138-1157.

- 8 Wesolowska O, et al. Influence of silybin on biophysical properties of phospholipid bilayers[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2007, 28:296-306.
- 9 Chen RJ, et al. Research progress on pharmacological effects of silibinin[J]. *Shanghai J Tradit Chin Med(上海中医药杂志)*, 2021, 55:90-96.
- 10 Wang Y, et al. Structural features in composition of different parts of *Silybum marianum* (L.) Gaertn[J]. *Chin J Chrom(色谱)*, 2010, 28:1192-1195.
- 11 Valkova V, et al. Milk thistle(*Silybum marianum*): a valuable medicinal plant with several therapeutic purposes[J]. *J Microb Biotec Food*, 2020, 9:836-843.
- 12 Elateeq AA, et al. Biotechnological production of silymarin in *Silybum marianum* L.: a review[J]. *Biocatal Agr Biotech*, 2020, 29:101775.
- 13 Liu H, et al. Optimisation of enzyme assisted extraction of silybin from the seeds of *Silybum marianum* by Box-Behnken experimental design[J]. *Phytochem Anal*, 2009, 20:475-483.
- 14 Liu H, et al. Isolation and purification of silychristin, silydianin and taxifolin in the co-products of the silybin refined process from the silymarin by high-speed counter-current chromatography[J]. *Process Biochem*, 2010, 45:799-804.
- 15 Yao JH, et al. Optimization of silybin extraction using natural deep eutectic solvents and mechanism discussion based on COSMO-SAC[J]. *Sci Technol Food Ind(食品工业科技)*, 2022, 43:219-227.
- 16 Abderrezag N, et al. One-step sustainable extraction of Silymarin compounds of wild Algerian milk thistle(*Silybum marianum*) seeds using gas expanded liquids[J]. *J Chromatogr A*, 2022, 1675:463147.
- 17 Yang Y, et al. Chemical constituents of *Polygonum capitatum* [J]. *Chem Nat Compd*, 2015, 51:332-335.
- 18 Yang Y, et al. *Polygonum capitatum* Buch. -Ham. ex D. Don: a review of its phytochemistry[J]. *Food Sci Tech-Brazil*, 2022, 42:e110021.
- 19 Lin Y, et al. *Polygonum capitatum*, the hmong medicinal flora: a comprehensive review of its phytochemical, pharmacological and pharmacokinetic characteristics[J]. *Molecules*, 2022, 27:6407.
- 20 Yang Y, et al. Method for the preparation of high purity silybin from the whole herb of *Polygonum capitatum* Buch. -Ham. ex D. Don(从头花蓼全草中提取制备高纯度水飞蓟宾法):CN201210153124. 4[P]. 2014-5-21.
- 21 Huang GH, et al. Chemical constituents from *Polygonum capitatum* Buch-Ham. ex D. Don[J]. *Biochem Syst Ecol*, 2015, 59:8-11.
- 22 Jing WG, et al. Study on the chemical constituents from aqueous extract of *Polygonum capitatum* Buch. -Ham. ex D. Don [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药)*, 2015, 26:47-50.
- 23 Huang JJ, et al. Optimizing extraction technology of total flavonoids from root of *Uraria crinita* by response surface methodology[J]. *Clin J Chin Med(中医临床研究)*, 2022, 14:79-82.
- 24 Huang ZZ, et al. Materia medica summary of *Uraria crinita* and its application in Minnan folk[J]. *Pharm Clin Chin Mater Med(中药与临床)*, 2021, 12:40-41, 46.
- 25 Wang YY, et al. Effects of *Uraria crinita* roots on kidney-YANG deficiency mice induced by hydrocortisone[J]. *Herald Med(医药导报)*, 2011, 30:292-294.
- 26 Wang YY, et al. Studies on chemical constituents in roots of *Uraria crinita* [J]. *Chin Pharm J(中国药学杂志)*, 2009, 44:1217-1220.
- 27 Parvizi MM, et al. *Juniperus excelsa* M. Bieb; a medicinal plant with various pharmacological activities [J]. *Trends pharmacol Sci*, 2018, 4:1-8.
- 28 Eryigit T, et al. Chemical composition, antioxidant and antibacterial properties of *Juniperus excelsa* M. Bieb. leaves from Turkey[J]. *Acta Sci Pol-Hortoru*, 2023, 22:11-17.
- 29 Nuralin L, et al. Determination of soxhlet extraction conditions of silibinin and rutin components in *Juniperus excelsa* M. Bieb fruits using experimental design method[J]. *J Fac Eng Archit Gaz*, 2021, 36:1775-1784.
- 30 Yang ZY, et al. Phenylpropanoid compounds isolated from *Callicarpa kwangtungensis* and antibacterial activity research [J]. *Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发)*, 2019, 31:1928-1933.
- 31 Yuan MM, et al. Two new triterpenoids from *Callicarpa kwangtungensis* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2015, 17:138-142.
- 32 Dai M, et al. Study on chemical constituents of *Callicarpa kwangtungensis* [J]. *Chin Trad Herb Drug(中草药)*, 2018, 49:2013-2018.
- 33 Chen RJ, et al. Research progress on pharmacological effects of silibinin[J]. *Shanghai J Tradit Chin Med(上海中医药杂志)*, 2021, 55:90-96.
- 34 Wan CL. The pathogenesis of skin cancer and differences among different populations with skin cancer [J]. *Dermatol Bull(皮肤科学通报)*, 2022, 39:173-176.
- 35 Tang HB. Research progress on the mechanism of UV-Induced non-melanoma skin cancer[J]. *J Cancer Control Treat(肿瘤预防与治疗)*, 2019, 32:940-944.
- 36 Guillermo-Lagae R, et al. Silibinin enhances the repair of ultraviolet B-induced DNA damage by activating p53-dependent nucleotide excision repair mechanism in human dermal fibroblasts[J]. *Oncotarget*, 2015, 6:39594-39606.
- 37 Dheeraj A, et al. Silibinin treatment inhibits the growth of hedgehog inhibitor resistant basal cell carcinoma cells via

- targeting EGFR-MAPK-Akt and Hedgehog signaling [J]. *Photochem Photobio*,2017,93:999-1007.
- 38 Rigby C, et al. Silibinin inhibits ultraviolet B radiation-induced mast cells recruitment and bone morphogenetic protein 2 expression in skin at early stages in Ptch(+/-) mouse model of basal cell carcinoma [J]. *Mol Carcinogen*,2019,58:1260-1271.
- 39 Zhang YR, et al. Mechanisms of *Silybum marianum* on lung cancer based on system-pharmacology dissection [J]. *Chin Trad Herb Drug(中草药)*,2022,53:3357-3366.
- 40 Bosch-Barrera J, et al. Silibinin suppresses tumor cell-intrinsic resistance to nintedanib and enhances its clinical activity in lung cancer [J]. *Cancers*,2021,13:4168.
- 41 Verdura S, et al. Silibinin overcomes EMT-driven lung cancer resistance to new-generation ALK inhibitors [J]. *Cancers*,2022,14:6101.
- 42 Rugamba A, et al. Silibinin regulates tumor progression and tumorsphere formation by suppressing PD-L1 expression in non-small cell lung cancer (NSCLC) cells [J]. *Cells-Basel*,2021,10:1632.
- 43 Xu SY, et al. Silibinin suppresses epithelial-mesenchymal transition in human non-small cell lung cancer cells by restraining RHBDD1 [J]. *Cell Mol Biol Lett*,2020,25:36.
- 44 Zhou MG. Research progress on the role of urothelial somatic mutations in the occurrence and recurrence of bladder cancer [J]. *J Mod Urol(现代泌尿外科杂志)*,2023,28:166-170.
- 45 Zhao HC, et al. *In vivo* inhibitory effect of silibinin on bladder cancer proliferation by classic and non-classic apoptosis related signals [J]. *Int J Urol Nephrol(国际泌尿系统杂志)*,2018,38:353-359.
- 46 Li F, et al. Silibinin attenuates TGF β 1 induced migration and invasion via EMT suppression and is associated with COX2 downregulation in bladder transitional cell carcinoma [J]. *Oncol Rep*,2018,40:3543-3550.
- 47 Barros TMB, et al. Inhibition of urinary bladder cancer cell proliferation by silibinin [J]. *Environ Mol Mutagen*,2020,61:445-455.
- 48 Li M, et al. Research process of traditional Chinese medicine in treating breast cancer [J]. *Acta Chin Med Pharmacol(中医药学报)*,2023,51:103-108.
- 49 Si LL, et al. Silibinin inhibits migration and invasion of breast cancer MDAMB231 cells through induction of mitochondrial fusion [J]. *Mol Cell Biochem*,2020,463:189-201.
- 50 Liu WW, et al. Estrogen receptors participate in silibinin-caused nuclear translocation of apoptosis-inducing factor in human breast cancer MCF-7 cells [J]. *Arch Biochem Biophys*,2020,689:108458.
- 51 Lashgarlan HE, et al. Silibinin inhibit cell migration through downregulation of RAC1 gene expression in highly metastatic breast cancer cell line [J]. *Drug Res*,2020,70:478-483.
- 52 Firouzi J, et al. Silibinin exhibits anti-tumor effects in a breast cancer stem cell model by targeting stemness and induction of differentiation and apoptosis [J]. *Bioimpacts*,2022,12:415-429.
- 53 Bai JJ, et al. Efficacy and mechanism of Chinese medicinal compounds and monomers from Chinese medicinals against colorectal cancer: a review [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志)*,2023,29:246-252.
- 54 Li WW, et al. Silibinin retards colitis-associated carcinogenesis by repression of Cdc25C in mouse model [J]. *Inflamm Bowel Dis*,2019,25:1187-1195.
- 55 Sameri S, et al. Cancer chemopreventive activities of silibinin on colorectal cancer through regulation of E-cadherin/ β -catenin pathway [J]. *Nutr Cancer*,2021,73:1389-1399.
- 56 Sameri S, et al. Targeting the hallmarks of cancer: the effects of silibinin on proliferation, cell death, angiogenesis, and migration in colorectal cancer [J]. *BCM Complement Med*,2021,21:160.
- 57 Fan YZ, et al. Silibinin inhibits the stem cell property of renal cell carcinoma through Wnt/ β -catenin signaling [J]. *J Mod Urol(现代泌尿外科杂志)*,2018,23:454-459.
- 58 Fan YZ, et al. Silibinin inhibits epithelialmesenchymal transition of renal cell carcinoma through autophagy-dependent Wnt/ β catenin signaling [J]. *Int J Mol Med*,2020,45:1341-1350.
- 59 Yang C, et al. Evaluation of anti-cancer potency of silibinin on murine renal carcinoma RenCa cells in an animal model with an intact immune system [J]. *Anti-Cancer Drug*,2020,31:785-791.
- 60 Liu SX, et al. Current situation of economic evaluation on prostate cancer in China [J]. *Med Soc(医学与社会)*,2023,36:75-79.
- 61 Liang ZJ, et al. Effect of LncRNA MEG3 on the invasion and migration of prostate cancer cells by regulating microRNA-181b-5p/TIMP3 [J]. *J Mod Urol(现代泌尿外科杂志)*,2023,28:71-77.
- 62 Sherman B, et al. Silibinin differentially decreases the aggressive cancer phenotype in an *in vitro* model of obesity and prostate cancer [J]. *Nutr Cancer*,2020,72:333-342.
- 63 iang Y, et al. Silybin prevents prostate cancer by inhibited the ALDH1A1 expression in the retinol metabolism pathway [J]. *Front Cell Dev Biol*,2020,8:574394.
- 64 Rajput M, et al. Silibinin radiosensitizes EGF receptor-knockdown prostate cancer cells by attenuating DNA repair pathways [J]. *J Cancer Prev*,2022,27:170-181.
- 65 Dan WC, et al. Silibinin inhibits the migration, invasion and epithelial-mesenchymal transition of prostate cancer by activating the autophagic degradation of YAP [J]. *J Cancer*,2022,13:3415-3426.