

ŁUKASZ SĘDEK, MARTA MICHALIK

*Zakład Biologii Komórki, Wydział Biotechnologii  
Uniwersytet Jagielloński  
Gronostajowa 7, 30-387 Kraków  
e-mail: lsedek@interia.pl  
marta@awe.mol.uj.edu.pl*

## NOWE BADANIA NAD SAPONINAMI UJAWNIAJĄ ICH LICZNE LECZNICZE WŁAŚCIWOŚCI

### WSTĘP

Saponiny to zróżnicowana pod względem chemicznym grupa metabolitów wtórnych, szeroko rozpowszechnionych głównie w królestwie roślin. Od wielu lat znane są ich właściwości lecznicze, wykorzystywane w tradycyjnej medycynie zwłaszcza Dalekiego Wschodu. Saponiny posiadają szerokie spektrum interesujących właściwości, włącznie z działaniem wykrztuśnym, przeciwzapalnym, przeciwwirusowym, cytotoksycznym i przeciwnowotworowym. Wyizolowane z materiału roślinnego przez wielokrotną ekstrakcję rozpuszczalnikami organicznymi i oczyszczoną techniką chromatografii saponiny mają

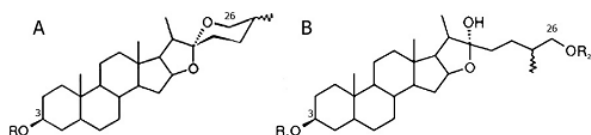
ugruntowane zastosowanie w lecznictwie, ze względu np. na ich działanie wykrztuśne (primulasaponiny z pierwiosnka). Zwiększone zainteresowanie saponinami w ostatnich latach wynika z faktu, że posiadają one również inne aktywności, wśród których najbardziej obiecującymi wydają się być ich właściwości przeciwnowotworowe *in vitro* i *in vivo*. Celem niniejszego opracowania będzie przedstawienie właściwości fizykochemicznych i biologicznych saponin oraz przegląd prowadzonych w ostatnich latach badań nad cytotoksycznością tych związków względem różnych typów komórek nowotworowych.

### CO TO SĄ SAPONINY I GDZIE WYSTĘPUJĄ

Saponiny to niejednorodna grupa związków chemicznych, której przedstawiciele występują w ponad 500 gatunkach roślin z ponad 90 rodzin. Znalaziono je zarówno w roślinach jadalnych (np. soja, szpinak), jak i niejadalnych (np. żeń-szeń, kasztanowiec, mydlnica lekarska) (DEY i HARBORNE 1997, BALL 2000). Jedynym przykładem występowania saponin u zwierząt są żyjące w morzach szkarłupnie (Echinodermata) (MIMAKI i współaut. 2003a). Saponiny pod względem chemicznym są glikozydami triterpenoidów lub steroli, tworzących tzw. aglikon, nazywany w przypadku saponin sapogeniną, podczas gdy komponent cukrowy zwany jest

glikonem. Z pojęciem „saponina” tożsame jest określenie „saponozyd” powstałe ze złożenia terminów „saponina” i „glikozyd”. Sama zaś nazwa „saponina”, użyta po raz pierwszy w 1811 r., pochodzi od łacińskiego słowa *sapo* oznaczającego mydło (gr. *sapouni*) (SPARG i współaut. 2004). Związki te bowiem mają między innymi wysoką zdolność obniżania napięcia powierzchniowego cieczy, w związku z czym wytwarzają w roztworach wodnych obfitą i trwałą pianę.

Część niecukrowa saponin jest układem złożonym z 4–6 cyklicznych pierścieni węglowych, natomiast glikon stanowi 1–3 prostych lub rozgałęzionych łańcuchów monosa-



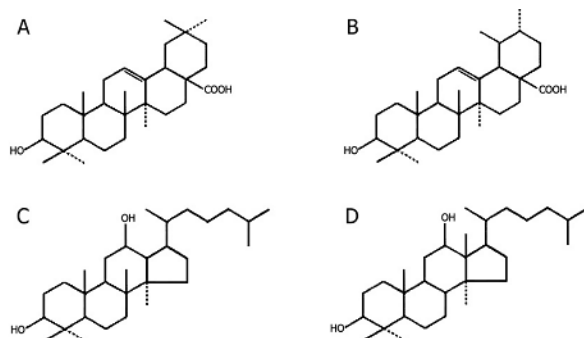
Ryc. 1. Wzory strukturalne najczęściej występujących aglikonów saponin steroidowych.

A – szkielet spirostanowy; B – szkielet furostanowy.

charydowych, w których może występować najczęściej 1–6 cząsteczek cukru prostego (KOHLMÜNZER 1993). Najczęściej spotykanymi cukrami wchodzącymi w skład wszystkich saponin są: D-glukoza, D-galaktoza, L-ramnoza, L-arabinoza, D-ksyloza, L-fukoza i rzadziej kwas D-glukuronowy i D-galakturonowy. Części cukrowa i niecukrowa połączone są ze sobą wiązaniem eterowym lub rzadko estrowym, a grupy hydroksylowe cukrów są często zacylowane (DEY i HARBORNE 1997).

Stosuje się dwa podziały tej grupy związków: ze względu na rodzaj glikonu lub aglikonu. W zależności od ilości łańcuchów cukrowych wchodzących w skład cząsteczki, wyróżnia się: monodesmozydy, bidesmozydy i tridesmozydy, o odpowiednio 1, 2 i 3 łańcuchach cukrowych. Natomiast ze względu na rodzaj i ilość pierścieni wchodzących w skład aglikonu, saponiny dzieli się na: steroidowe, których sapogeniną jest ugrupowanie steroidowe (Ryc. 1) oraz triterpenowe, posiadające aglikon o charakterze triterpenowym (Ryc. 2). Zarówno w grupie saponin triterpenowych, jak i steroidowych mogą występować mono-, bi- oraz tridesmozydy (OLESZEK 2002).

Saponozydy steroidowe to związki, których aglikon stanowi najczęściej 27-węglowy układ sterolowy o konformacji heksacyklicznego spirostanu (Ryc. 1A). W tej podgrupie



Ryc. 2. Wzory strukturalne najczęściej występujących aglikonów saponin triterpenowych.

A – kwas oleanolowy (-amyryna); B – kwas ursanowy (-amyryna); C – dammaran; D – lanostan.

występują wyłącznie monodesmozydy. Znacznie rzadziej aglikon ma konformację pentacyklicznego furostanu (Ryc. 1B). W podgrupie tej oprócz monodesmozydów mogą występować bi- i tridesmozydy (KOHLMÜNZER 1993).

Saponiny steroidowe występują prawie wyłącznie w klasie roślin Jednoliściennych (Monocotyledones), głównie w rodzinach Agavaceae, Dioscoreaceae, Liliaceae (patrz Tabela 1).

W grupie saponin triterpenowych aglikon również stanowi układ pierścieni węglowych, których może być 4 lub 5. Do najczęściej występujących należą związki o pięciu 6-węglowych pierścieniach typu kwasu oleanolowego (Ryc. 2A) i kwasu ursanowego (Ryc. 2B) oraz związki tetracykliczne typu dammaranu (Ryc. 2C) i lanostanu (Ryc. 2D). Saponiny triterpenowe występują w klasie roślin Dwuliściennych (Dicotyledones), w bardzo wielu rodzinach jak np. Araliaceae, Fabaceae, Hippocastanaceae, Primulaceae (patrz Tabela 2) (DEY i HARBORNE 1997, SPARG i współaut. 2004).

## WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNE I BIOLOGICZNE SAPONIN

Saponiny to substancje dobrze rozpuszczalne w wodzie, bezpostaciowe lub słabo krystalizujące, najczęściej o charakterze kwaśnym wynikającym bądź z występowania grup karboksylowych w części aglikonowej, bądź kwasu uronowego w części cukrowej (DEY i HARBORNE 1990). Fakt, że w cząsteczce saponin można wyróżnić część polarną (glikon) i niepolarną (aglikon), czyni te związki amfipatycznymi. Najważniejszą właściwością fizyczną saponin jest ich wysoka zdolność do obniżania napięcia powierzchniowego roztworów wodnych, a co za tym

idzie zdolność wytwarzania obfitej, stabilnej piany oraz emulgacji tłuszczów (KOHLMÜNZER 1993). Jednym z najbardziej znanych przykładów zastosowań tego zjawiska jest wykorzystanie saponin pochodzenia roślinnego do produkcji różnego typu detergentów, środków piorących, a także gaśnic pianowych (SPARG i współaut. 2004). Inną bardzo ważną cechą saponin, odpowiedzialną za przynajmniej niektóre ich aktywności biologiczne jest ich zdolność do łączenia się ze sterolami, w tym z cholesterolem błon komórkowych. Łączenie się saponin z błoną komórkową

prowadzi do jej częściowego uszkodzenia i permeabilizacji, przy czym właściwość tę w znacznie większym stopniu wykazują saponiny steroidowe. Saponiny steroidowe i triterpenowe monodesmozydy wykazują również wysoką zdolność do hemolizowania erytrocytów (BAUMANN i współaut. 2000). Właściwość ta zależy w głównej mierze od struktury aglikonu: w najsilniejszym stopniu hemolizę powodują monodesmozydy, podczas gdy bidesmozydy nie wykazują takich właściwości prawie w ogóle (KOHLMÜNZER 1993). Uważa się, że bi- i tridesmozydy mogą wywierać efekt biologiczny wyłącznie po

konwersji do monodesmozydów (OLESZEK 2002). Największą aktywność hemolityczną wykazują saponiny triterpenowe o aglikonie typu kwasu oleanolowego (np. escyna) lub hederageniny (np. -hederyna), natomiast saponiny triterpenowe o aglikonie tetracyklicznym typu dammaranu nie wykazują właściwości hemolitycznych (KOHLMÜNZER 1993). Wykazano, że zniszczenie błony erytrocytów jest nieodwracalne, co znaczy, że uszkodzona dwuwarstwa lipidowa nie ulega scaleniu po usunięciu saponiny z roztworu (BAUMANN i współaut. 2000).

### AKTYWNOŚĆ FARMAKOLOGICZNA SAPONIN I ICH ZASTOSOWANIE W LECZNICTWIE

Wiele saponin pochodzenia roślinnego ma zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym oraz w medycynie. Stanowią one substrat do syntezy leków steroidowych i syntetycznych hormonów (progesteronu i pochodnych kortyzonu), a największe zastosowanie mają saponiny steroidowe, jak np. diosgenina z *Dioscorea tokoro* oraz hekogenina z agawy sizalowej (*Agave sisalana*) (Tabela 1) (KOŁODZIEJCZAK 2003). Bardzo wiele saponin posiada niekwestionowane właściwości farmakologiczne i ma zastosowanie w fitoterapii. To właśnie te związki uważane są za kluczowe składniki tradycyjnych leków odpowiedzialne za ich biologiczne efekty (SPARG i współaut. 2004). Jedną z najbardziej znanych roślin wykorzystywanych nie tylko w tradycyjnej medycynie chińskiej jest żeń-szeń (*Panax ginseng*) należący do rodziny Araliaceae. Biologicznie czynne saponozydy występujące w korzeniu tej rośliny nazywane są ginsenozydami lub panaksozydami i zostały zaadaptowane przez medycynę konwencjonalną. Z korzenia żeń-szenia wyizolowano ponad 80 różnych saponozydów (ZHU i współaut. 2004). Ginsenozydy to saponiny triterpenowe, charakteryzujące się bardzo szerokim spektrum działania, co tłumaczy się zdolnością ich wiązania do wielu różnych receptorów docelowych (multireceptorowością) (ATTELE i współaut. 1999). Wykazują one między innymi działanie psychopobudzające, zwiększające zdolność koncentracji i skracające czas reakcji, działają hipoglikemizująco w cukrzycy typu 2 i powodują wzrost aktywności seksualnej (Tabela 2) (KOHLMÜNZER 1993, ATTELE i współaut. 1999). Preparaty zawierające ginsenozydy stosowane są w terapii stanów osłabienia psychicznego

i fizycznego, zwłaszcza u osób starszych i rekonwalescentów (np. Geriavit-Pharmaton®) (KOHLMÜNZER 1993).

Powszechne zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym saponiny zawdzięczają swoim właściwościom wykrztuśnym. Na przykład, primulasaponiny zawarte w korzeniu pierwiosnka (*Primula sp.*) działają drażniąco na zakończenia nerwowe błony śluzowej żołądka, powodując w ten sposób pobudzenie ośrodka nerwu błędnego, co prowadzi z kolei do zwiększenia produkcji i wydzielania wodnistego śluzu w drogach oddechowych, a w rezultacie powoduje odruch kaszlu (KOHLMÜNZER 1993). Właściwości wykrztuśne posiada również wiele innych saponin z różnych roślin, np. gipsozyd A z korzeni lyszcza wiechowatego (*Gypsophila paniculata*) oraz saponazyd A z korzeni mydlnicy lekarskiej (*Saponaria officinalis*) (Tabela 2). Wyprodukowano bardzo wiele preparatów, których składnikami aktywnymi są saponiny zawarte w wymienionych roślinach (np. Pectosol®, Tussispect®) (KOHLMÜNZER 1993).

Jedną z najlepiej zbadanych właściwości saponozydów jest ich działanie przeciwzapalne. Efekt taki wywiera na przykład glicyryzyna występująca w korzeniu lukrecji gładkiej (*Glycyrrhiza glabra*), a jej aktywność przeciwzapalna wynika ze stymulacji uwalniania ACTH, co powoduje wzrost poziomu glikokortykosteroidów (KOHLMÜNZER 1993). Substancja ta ma również wpływ na metabolizm kwasu arachidonowego. Sól wapniowo-potasowa glicyryzyny jest używana w terapii choroby wrzodowej żołądka i innych stanów zapalnych układu pokarmowego (KOHLMÜNZER 1993). Właściwości przeciwzapalne posiadają również saponiny z nasion soi (*Glycine*

Tabela 1. Główne saponiny steroidowe. Występowanie i właściwości (wg KOHLMÜNZERA 1993, zmodyfikowana).

Nazwa	Występowanie	Rodzaj aglikonu	Działanie	Zastosowanie
dioscyzna	<i>Dioscorea tokoro</i> , <i>D. composita</i> , <i>D. mexicana</i> (Dioscoreaceae), <i>Trigonella foenum</i> (Fabaceae)	diosgenina	przeciwzapalne	półprodukt do syntezy kortykosteroidów i hormonów płciowych
jamogenina	pełd ziemniaka <i>Solanum tuberosum</i> (Solanaceae)			
sarsasaponina	<i>Smilax</i> sp. (Liliaceae)	sarsasapogenina		
smilanina	<i>Yucca</i> sp. (Agavaceae)	smilagenina		
tigonina	<i>Yucca filamentosa</i> (Agavaceae) liście <i>Digitalis lanata</i> (Scrophulariaceae)	tigogenina		

max). Wykazują one odmienny mechanizm działania, który prawdopodobnie polega na bezpośredniej interakcji z błoną komórkową, przez co zakłócone zostaje przyłączanie się mitogenów oraz czynników wzrostowych i zablokowany zostaje zależny od białkowej kinazy C szlak sygnalizacyjny prowadzący do aktywacji czynnika transkrypcyjnego NF- $\kappa$ B (KIM i współaut. 2004). Innymi przykładami saponin przeciwzapalnych są ginsenozyd R<sub>0</sub> i chikusetsusaponina IV, wyizolowane z korzenia żeń-szenia. Ich działanie polega na wiązaniu się ze specyficznym receptorem glikokortykosteroidowym i hamowaniu klasycznej drogi aktywacji dopełniacza (ATTELE i współaut. 1999, TANAKA i współaut. 2000). Wysoką aktywność przeciwzapalną wykazują również saikosaponiny z *Bupleurum frutescens*, zwłaszcza bidesmozydowa frutescaponina B, która skutecznie zmniejsza obrzęk uszu i chroniczne zapalenie skóry u myszy, indukowane działaniem octanu 13-tetradekanoiloforbolu (TPA). Zmniejszenie obrzęku uszu myszy indukowanego olejem krotonowym powoduje również loniceroyd C z *Lonicera japonica* (SPARG i współaut. 2004).

Fakt, że saponiny tworzą kompleksy ze sterolami jest także wykorzystywany w leczeniu miażdżycy. Wykazano, że ginsenozydy z korzenia żeń-szenia oraz saponiny sojowe powodują obniżenie poziomu frakcji cholesterolu związanego z LDL i VLDL (lipoproteinami o gęstości niskiej – ang. low density lipoproteins, i bardzo niskiej – ang. very low density lipoproteins) we krwi przepływającej przez wątrobę oraz podwyższenie stężenia kwasów żółciowych (SCHÖPKE i HILLER 1990). Zjawisko to zachodzi prawdopodobnie wskutek zwiększenia liczby receptorów dla LDL na powierzchni hepatocytów i komórek kory nadnerczy (ATTELE i współaut. 1999; KIM

i współaut. 2005). Natomiast wyniki innych badań pokazują, że saponazydy A i B wyizolowane z korzeni mydlnicy lekarskiej, nasion soi oraz mydłoki zwyczajnej (*Quillaja saponaria*) nie tylko obniżają poziom cholesterolu, ale również wybiórczo wpływają na obniżenie krwioobiegowego poziomu cholesterolu związanego z LDL, pozostawiając poziom cholesterolu związanego z HDL (lipoproteinami o wysokiej gęstości – ang. high density lipoproteins) bez zmian (SCHÖPKE i HILLER 1990).

Saponiny wykazują także aktywność antymutagenną. Wykazano, że awicyny z akacji (*Acacia victoriae*) hamują u myszy kancerogenezę indukowaną promieniami UV-B (LI i współaut. 2005). Podobny efekt wywiera też saponina B wyizolowana z nasion soi. Hamuje ona uszkodzenia DNA wywołane działaniem 2-acetoksyacetyloaminofluorku (2AAAF) na komórki jajnika chomika chińskiego (CHO) (BERHOW i współaut. 2000). Prawdopodobnie za antymutagenność saponin sojowych odpowiedzialna jest ich aktywność antyoksydacyjna i zdolność do zmiatania wolnych rodników (BERHOW i współaut. 2000, KIM i współaut. 2004). Właściwości antyoksydacyjne i zdolność zmiatania wolnych rodników (O<sub>2</sub><sup>-</sup>, ·OH), posiada również saponina AS I z traganka błoniastego (*Astragalus membranaceus*) (YIN i współaut. 2004) oraz gypsenozydy z *Gynostemma pentaphyllum* (NORBERG i współaut. 2004).

Inną właściwością saponin jest ich działanie przeciwvirusowe. Wykazano, że saikosaponiny z *Bupleurum* sp. oraz saponozydy z *Calendula avensis* hamują namnażanie wirusów opryszczki zwykłej typu 1 i 2 (*Herpes simplex* 1 i 2), wirusa grypy, HIV i WZW poprzez bezpośredni wpływ na proces replikacji (APERS i współaut. 2001, BERMEJO i współ-

aut. 2002). Saponiny sojowe oraz glicyryzyna (z korzenia lukrecji) hamują replikację wirusa HIV i *Herpes simplex* (DEY i HARBORNE 1997, BERHOW i współaut. 2000). Arganina C z owoców *Tieghemella hecklii* zapobiega wchodzeniu cząstek wirusa HIV do komórek, a escyna z nasion kasztanowca (*Aesculus chinensis*) ma zdolność hamowania aktywności proteazy HIV-1 (SPARG i współaut. 2004).

Znane są również właściwości przeciwbakteryjne saponozydów z tojeści zwyczajnej (*Lysimachia vulgaris*) i rozesłanej (*L. nummularia*), zwłaszcza w odniesieniu do *Escherichia coli*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* (CUELLAR i współaut. 1997). Wykazano też aktywność przeciwbakteryjną innych saponin, jak na przykład nudikaucyn A, B i C wyizolowanych z *Hedyotis nudicaulis* przeciwko *Bacillus subtilis* (SPARG i współaut. 2004).

Właściwości przeciwgrzybicze wykazują np. -hederyna wyizolowana z liści bluszczu (*Hedera helix*) oraz primulasaponina A z pierwiosnka (*Primula officinalis*). Ich działanie wynika ze zdolności tworzenia kompleksów z cholesterolem występującym

w ścianach komórkowych grzybów (OSBORN 2003), takich jak np. *Candida albicans* (SPARG i współaut. 2004), *Trichomonas managrophytes*, *Aspergillus niger* (DEY i HARBORNE 1997). Aktywność przeciwgrzybiczą saponin potwierdza doświadczenie, w którym wykorzystano zmutowany owies (*Avena strigosa*) nie wytwarzający saponin. Badania wykazały, że mutanty, w przeciwieństwie do roślin typu dzikiego, były wrażliwe na wiele różnych patogennych grzybów, jak np. *Gaeumannomyces graminis* (PAPADOPOULOU i współaut. 1999).

Niektóre saponiny mają też aktywność pierwotniakobójczą (- i -hederyny z bluszczu) i mięczakobójczą, a także przejawiają toksyczność względem ryb i innych zwierząt zmiennoocieplnych już w stosunkowo niskich stężeniach (SPARG i współaut. 2004). Warto dodać, że dla organizmów stałocieplnych, w tym człowieka saponiny są bardzo słabo toksyczne przy podaniu doustnym, gdyż resorbują się bardzo słabo z przewodu pokarmowego – ulegają rozpadowi do sapogenin, które wydalane są z moczem. Natomiast są one bardzo toksyczne przy podaniu dożylnym z uwagi na ich właściwości hemolityczne (KOHLMÜNZER 1993).

#### WŁAŚCIWOŚCI CYTOTOKSYCZNE I PRZECIWNOWOTWOROWE SAPONIN

Z uwagi na fakt, iż choroby nowotworowe są jedną z najgroźniejszych grup chorób nękających ludzkość, wciąż poszukuje się skutecznego sposobu walki z nimi. Substancji o działaniu przeciwnowotworowym poszukuje się wśród związków naturalnych pochodzenia roślinnego. Jednymi z bardziej obiecujących pod tym względem substancji są właśnie saponiny. W wielu badaniach prowadzonych na całym świecie wykazano ich działanie cytotoksyczne i przeciwnowotworowe. Mechanizm działania saponin jest bardzo różny i zależy od charakteru samej saponiny, a także od rodzaju komórek. Saponiny wykazujące najsilniejsze właściwości cytotoksyczne występują w roślinach takich jak na przykład soja zwyczajna, żeń-szeń, lukrecja gładka oraz roślinach z rodzaju *Bupleurum*.

W bardzo wielu pracach wykazano, że istnieje silny związek między działaniem cytotoksycznym a budową saponin. Związek ten wynika z faktu, że liczba, rodzaj i układ łańcuchów cukrowych, a także obecność lub brak podstawników w części niecukrowej cząsteczki saponiny determinują jej hy-

drofilowość, zdolność wiązania się z błoną komórki docelowej lub zdolność przenikania do wnętrza komórek (MILGATE i ROBERTS 1995, ATOPKINA i współaut. 1999). Wykazano na przykład, że ilość, sekwencja cukrów i sposób glikozylacji przy węglach C-3 i C-28 aglikonu wpływa na aktywność cytotoksyczną saponin zawartych w roślinach *Solidago virgaurea*, *Heteroppus altaicum*, *Helianthus annuus* względem nowotworowych linii komórkowych P-118 (mastocytoma) i XAC-1 (BADER 1994, ARAI i współaut. 1997). Wykazano również, że sapogenina escyny z kasztanowca (*Aesculus hippocastanum*) – hipoeskulina, działa cytotoksycznie na rakowe komórki nabłonka nosowo-gardłowego (9KB), podczas gdy sama saponina takiego działania nie wykazuje (BADER 1994). Podobnie, awicyny z akacji (*Acacia victoriae*) wykazują efekt cytotoksyczny na białaczkowe limfocyty T-Jurkat poprzez indukcję apoptozy, lecz pozbawione komponentu cukrowego apoptozy nie indukują (Li i współaut. 2005).

Jedną z lepiej zbadanych pod względem cytotoksyczności i działania przeciwnowo-

Tabela 2. Główne saponiny triterpenowe. Występowanie i właściwości

Nazwa	Występowanie	Rodzaj aglikonu	Działanie
escyna (-escyna + -escyna)	nasiona kasztanowca <i>Aesculus hippocastanum</i> (Hippocastanaceae)	protoescygenina, baryngtogenina C	przeciwzapalne, przeciwwysiękowe, uszczelnia włosowate naczynia krwionośne, hipoglikemizujące, silne działanie hemolityczne przeciwwirusowe
gipsozyd A	korzeń lyszcza wiechowatego <i>Gypsophila paniculata</i> (Caryophyllaceae)	gypsogenina	wykrztuśne
saponazyd A, B	korzeń mydlnicy lekarskiej <i>Saponaria officinalis</i> (Caryophyllaceae) nasiona soi <i>Glycine max</i> (Fabaceae)	gypsogenina	wykrztuśne, obniżają poziom LDL-cholesterolu  pianotwórcze
glicyryzyna	korzeń lukrecji gładkiej <i>Glycyrrhiza glabra</i> (Fabaceae)	kwas glicyryzynowy	przeciwzapalne, słabe działanie hemolityczne, wykrztuśne i spazmolityczne, przeciwwirusowe
hederasaponina C -hederyna	liście bluszczu <i>Hedera helix</i> (Araliaceae)	hederakozyd B, C	wykrztuśne, spazmolityczne, przeciwgrzybicze, silne działanie hemolityczne, pierwotniakobójcze
primulasaponina A	korzeń pierwiosnka <i>Primula officinalis</i> , <i>P. elatior</i> (Primulaceae)	protoprimulagenina A	wykrztuśne, przeciwgrzybicze, moczopędne
senegina A	korzeń krzyżownicy <i>Polygala senega</i> (Polygalaceae)	presenegina	wykrztuśne
ginsenozydy Rg <sub>1</sub> , Rg <sub>2</sub> , Rh <sub>1</sub> , Rh <sub>2</sub> , R <sub>0</sub> (panaksozydy)	korzeń żeń-szenia <i>Panax ginseng</i> (Araliaceae)	kwas oleanolowy, protopanaxadiol, protopanaxatriol, okotillol	psychopobudzające, przeciwnowotworowe, obniżają poziom LDL-cholesterolu, immunomodulacyjne, przeciwbólowe
saponiny sojowe (sojasaponiny)	nasiona soi <i>Glycine max</i> (Fabaceae)	sojasapogenol A, B, E	przeciwnowotworowe, antymutagenne, przeciwzapalne, przeciwwirusowe, immunomodulacyjne
saikosaponiny A, B, D <sub>2</sub> , fruticosaponina B, rotundiozydy A, C, E, F	<i>Bupleurum</i> sp. (Apiaceae)	kwas echinocystowy, primulagenina A, kwas oleanolowy	przeciwzapalne, przeciwwirusowe, przeciwbólowe, przeciwnowotworowe ( <i>in vitro</i> )
saponina AS I (astragalusaponina)	korzeń traganka błoniastego <i>Astragalus membranaceus</i> (Fabaceae)		hipoglikemizujące, fibrynolityczne, przeciwnowotworowe ( <i>in vitro</i> ), antyoksydacyjne, immunomodulacyjne
awicyny C, D, G	akacja <i>Acacia victoriae</i> (Mimosaceae)	kwas oleanolowy	antymutagenne, przeciwnowotworowe, permeabilizacja błon, przeciwnowotworowe ( <i>in vitro</i> )
gypenozydy	<i>Gynostemma pentaphyllum</i>	dammaran	hipoglikemizujące, antyoksydacyjne
sakurasosaponiny i inne	tojeść sikokiańska <i>Lysimachia sikokiana</i> (Primulaceae), <i>Mesa lanceolata</i> (Myrsinaceae)		mięczakobójcze, przeciwgrzybicze

Zastosowanie	Literatura
leczenie żylaków, hemoroidów, stanów wysiękowych, zapaleń żył, stanów pourazowych	KOHLMÜNZER 1993, WEI i współaut. 2004
preparaty przeciwkaszlowe	KOHLMÜNZER 1993
preparaty przeciwkaszlowe, terapia miażdżycy środki piorące, gaśnice pianowe	KOHLMÜNZER 1993, SCHÖPKE i HILLER 1990
leczenie choroby wrzodowej żołądka i innych stanów zapalnych układu pokarmowego	KOHLMÜNZER 1993, DEY i HARBORNE 1997, BERHOW i współaut. 2000
preparaty przeciwkaszlowe	KOHLMÜNZER 1993, DANLOY i współaut. 1994, DEY i HARBORNE 1997, SPARG i współaut. 2004,
preparaty przeciwkaszlowe	KOHLMÜNZER 1993, OSBOURN 2003
preparaty przeciwkaszlowe	KOHLMÜNZER 1993
geriatria, stany osłabienia fizycznego i psychicznego, leki adaptogenne terapia miażdżycy	ATTELE i współaut. 1999, NEMMANI i RAMARAO 2002, SPARG i współaut. 2004,
preparaty przeciwzapalne	KOHLMÜNZER 1993, SUNG i RAO 1995, BERHOW i współaut. 2000, OH i SUNG 2001, KIM i współaut. 2004
	NAVARRO i współaut. 2001, DEY i HARBORNE 1997, APERS i współaut. 2001, HSU i współaut. 2004a, b
	ZHANG i współaut. 1997, YAN i CHEN 2001, YIN i współaut. 2004
	LI i współaut. 2005
	NORBERG i współaut. 2004
	DEY i HARBORNE 1997, APERS i współaut. 2001, SPARG i współaut. 2004

tworowego grup saponin są saponiny wyizolowane z soi. Uważa się, że saponiny z soi mogą chronić m.in. przed rakiem jelita grubego. Istnieje bowiem hipoteza, że saponiny mogą tworzyć kompleksy z kwasami żółciowymi w jelitach, przez co zmniejsza się ryzyko rakotwórczego działania metabolitów cholesterolu i kwasów tłuszczowych w końcowych odcinkach jelit. W eksperymentach, w których szczury traktowane były chemicznymi kancerogenami udowodniono, że kwasy żółciowe zwiększają zapadalność na raka jelita grubego (SUNG i RAO 1995), a dieta z wysoką zawartością saponin sojowych znacznie obniżała częstość występowania zmian nowotworowych w jelitach badanych szczurów (SUNG i współaut. 1995, KIM i współaut. 2004). Niektórzy autorzy przypisują redukcję ryzyka wystąpienia raka jelita grubego zdolnościom saponin sojowych do hamowania reakcji zapalnych (KIM i współaut. 2004). Wykazano również, że saponiny sojowe hamują proliferację komórek ludzkiego raka jelita grubego (HT-29) (OH i SUNG 2001). Sugerowanym molekularnym mechanizmem działania saponin sojowych jest obniżanie ekspresji i aktywności kinazy białkowej C i zależnych od niej szlaków sygnalizacyjnych (OH i SUNG 2001). Wykazano także, że saponiny sojowe obniżają ekspresję cyklooksygenazy 2 (COX-2) (KIM i współaut. 2004). Saponiny o właściwościach przeciwnowotworowych wyizolowano również z innych roślin: gleditsji japońskiej (*Gleditschia japonica*), agawy kantalowaj (*Agave cantala*) oraz szparagów (*Asparagus curilus*) (SUNG i RAO 1995).

Przeciwnowotworowe działanie saponin może też przejawiać się ograniczaniem inwazyjności i zdolności tworzenia przerzutów przez różne typy komórek nowotworowych. W ten sposób działają saponiny wyizolowane z korzenia żeń-szenia – ginsenozydy Rh<sub>2</sub> i Rg<sub>3</sub>. Wykazano, że ginsenozyd Rg<sub>3</sub> podawany myszom dożylnie lub doustnie zmniejszał zdolność adhezji komórek czerniaka B16-BL6 do błony podstawnej oraz obniżał częstość przerzutów tych komórek do płuc (ATTELE i współaut. 1999, HADDAD i współaut. 2004). Natomiast ginsenozyd IH-901 hamuje zdolność metastatyczną nowotworowych linii HL-60, PC-14 i HepG2 *in vitro* i *in vivo* (LEE i współaut. 1999).

Innym mechanizmem przeciwnowotworowego działania saponin żeń-szenia jest indukcja różnicowania komórek guza. Wykazano, że ginsenozydy Rh<sub>2</sub> i Rh<sub>3</sub> powodują *in vitro* różnicowanie komórek białaczki szpi-

kowej (HL-60) w granulocyty, prawdopodobnie przez modulację aktywności białkowej kinazy C (PKC). Saponozydy te indukują także różnicowanie komórek wątrobiaka Morrisa (ATTELE i współaut. 1999). Na podstawie wyników szeroko zakrojonych badań można stwierdzić, że duży udział wyciągów z korzenia żeń-szenia w diecie jest skojarzony z niższą zapadalnością na raka żołądka i płuc, co sugeruje, że żeń-szeń może wywierać efekt niespecyficznego organowo antykancerogenez (ATTELE i współaut. 1999, SPARG i współaut. 2004).

Efekt przeciwnowotworowy niektórych saponozydów, wyizolowanych z *Gymnocladus chinensis*, *Gleditschia japonica*, *Bolpocentrum paniculata* i *Anemone flacida* polega na unieszkodliwianiu onkogennych wirusów poprzez hamowanie odwrotnej transkryptazy (SCHÖPKE i HILLER 1990).

Najpowszechniej występującym mechanizmem cytostatycznego działania saponozydów na komórki nowotworowe jest indukcja w nich apoptozy. Sekwencja zdarzeń prowadząca ostatecznie do apoptozy jest różna w zależności od rodzaju saponiny i typu komórek. Jednym z mechanizmów prowadzących do apoptozy jest zablokowanie cyklu komórkowego w fazie G<sub>1</sub>, uniemożliwiające syntezę DNA i mitozę. Do zatrzymania cyklu komórkowego może dojść w wyniku hamowania aktywności cyklino-zależnych kinaz (CdK), które wraz z odpowiednimi cyklinami odpowiedzialne są za cykliczną zmienność faz cyklu komórkowego. Możliwe jest również zwiększanie ekspresji inhibitorów kompleksów cyklin z odpowiednimi CdK, takich jak np. białka p53, p21 i p27. Apoptoza często zachodzi na skutek aktywacji w komórce proapoptotycznych białek, np. białko Bax lub zmniejszenia ekspresji białek zapobiegających apoptozie, jak białko Bcl-2. Apoptozę zachodzącą według wymienionych mechanizmów powoduje w ludzkich komórkach niedrobnokomórkowego raka płuca A549 saikosaponina D z *Bupleurum falcatum*. Ta sama saponina indukuje również apoptozę w ludzkich limfocytach białaczkowych CEM (HSU i współaut. 2004b). Podobnie działa też ginsenozyd Rh<sub>2</sub>, który jest cytotoksyczny względem komórek wątrobiaka ludzkiego (SK-HEP-1) (FEI i współaut. 2002). Badania wykazały także, że ginsenozyd Rh<sub>2</sub> zatrzymuje w fazie G<sub>1</sub> cykl komórkowy mysich komórek czerniaka B16 i fibroblastów 3T3 indukując w nich apoptozę poprzez zahamowanie aktywności cyklino-zależnej kinazy 2 (CdK-2)



(OTA i współaut. 1997, NAKATA i współaut. 1998).

Apoptoza może być również skutkiem inicjacji kaskady proteaz cysteinowych zwanych kaspazami, przez zależne od zewnątrzkomórkowego ligandu białko Fas/APO-1. Wykazano, że w ten sposób działają na komórki A549 saikosaponiny wyizolowane z *Bupleurum kanoi* (HSU i współaut. 2004a). Apoptozę na drodze aktywacji kaspazy 3 powodują różne ginsenozydy z korzenia żeń-szenia. Ginsenozyd IH-901 hamuje w ten sposób proliferację ludzkich komórek szpiczaka (myeloma KMS-11), obniżając w nich jednocześnie ekspresję białek receptora czynnika wzrostu fibroblastów (FGFR3) (CHOI i współaut. 2003). Ten sam mechanizm działania wykazuje ginsenozyd Rg<sub>3</sub> w ludzkich komórkach raka prostaty LNCaP (SPARG i współaut. 2004). Ginsenozyd Rh<sub>2</sub> wykazuje cytotoksyczność względem komórek złośliwego czerniaka ludzkiego A375-S2, której mechanizm polega na aktywacji kaspazy 8 i 3 (FEI i współaut. 2002). Cytotoksyczność i apoptozę indukowaną przez aktywację kaspazy 9 i 3 (ale nie 8), a także obniżenie ekspresji białka Bcl-2 wywołuje w komórkach HL-60 dioscyna z *Polygonatum zanlanscianense* (LIU i współaut. 2004). Identycznie jak dioscyna działają saponiny wyizolowane z korzeni *Securidaca inappendiculata* – sekuriozyd A i B, które indukują apoptozę w makrofagach BAC1.2F5, czemu towarzyszy uwolnienie cytochromu c z błony mitochondrium do cytoplazmy oraz zaburzenie mitochondrialnego potencjału błonowego (HADDAD i współaut. 2004, YUI i współaut. 2003). Natomiast saponiny z mydłoki zwyczajnej indukują apoptozę w mysich komórkach chłoniaka (limfoma) EL4 w sposób niezależny od kaspaz (WU i YANG 2004).

Apoptoza może również zachodzić w komórkach na skutek zatrzymania cyklu komórkowego w fazie G<sub>2</sub>. W ten sposób działa steroidowa saponina dioscyna na komórki przewlekłej białaczki szpikowej (K562) (LIU i współaut. 2004).

Odmienny mechanizm działania, ale również prowadzący do apoptozy, prezentują awicyny z akacji oraz saponiny triterpenowe z *Silene fortunei*. Indukują one apoptozę w linii komórek nowotworowych wywodzących się z limfocytów T-Jurkat poprzez bezpośrednie zakłócenie funkcji mitochondriów. Niedawno przeprowadzone badania pokazują, że awicyny wiążą się z zewnętrzną błoną mitochondriów, zamykając kanał błonowy VDAC, co skutkuje zablokowaniem wymiany

nukleotydów i obniżeniem konsumpcji tlenu. Towarzyszy temu ubikwitynacja białek szoku cieplnego HSP70 i HSP90, co prowadzi do ich degradacji w proteosomach i w rezultacie doprowadza do apoptozy (LI i współaut. 2005). W normalnych limfocytach natomiast awicyny wykazują efekt cytoprotekcyjny, pośrednio aktywując czynnik transkrypcyjny NRF-2, który jest odpowiedzialny za ekspresję wielu genów usprawniających detoksyfikację komórki i mających efekt antyoksydacyjny (LI i współaut. 2005). Przyczyną takiego zróżnicowanego działania awicyn może być różnica w zawartości cholesterolu w błonach mitochondriów komórek prawidłowych i nowotworowych. Zawartość cholesterolu w mitochondriach komórek nowotworowych jest około 4 razy wyższa niż w mitochondriach komórek prawidłowych (LI i współaut. 2005). Badania wskazują również, że istnieją inne niż opisane mechanizmy działania saponin prowadzące do apoptozy. Na przykład, acetonowy ekstrakt saponin z *Bupleurum scorzonrifolium* hamuje proliferację komórek A549 i indukuje apoptozę poprzez hamowanie aktywności telomerazy (HSU i współaut. 2004a), a saikosaponina D wyizolowana z *Bupleurum falcatum* hamuje proliferację i prowadzi do apoptozy komórek białaczki szpikowej (HL-60) poprzez zwiększenie ekspresji receptora glukokortykoidowego (HSU i współaut. 2004a, b). Aktywność cytotoksyczną względem białaczkowych komórek HL-60 wykazują również saponiny ze szparagów (*Asparagus officinalis*), z *Aster lingu-latus* (SHAO i współaut. 1996, 1997), *Ruscus aculeatus* i *Dracaena draco* (SPARG i współaut. 2004).

Zupełnie inny mechanizm cytotoksycznego działania saponin prezentuje na przykład -hederyna zawarta w liściach bluszczu. Wykazano, że powoduje ona zmiany w morfologii komórek B16 (oraz prawidłowych fibroblastów 3T3) polegające na pojawianiu się pęcherzykowatych wypustek na ich końcu wiodącym (ang. blebs), co może wynikać ze zmian w organizacji błony komórkowej na skutek oddziaływania saponin z cholesterolem błonowym. Saponina ta powoduje również silną wakuolizację cytoplazmy komórek, która prowadzi w rezultacie do ich śmierci (DANLOY i współaut. 1994). Taki sam efekt wykazuje też enterolosaponina A wyizolowana z *Enterolobium contortisiliquum*. Powodowała ona 50% śmiertelność mysich makrofagów linii BAC1.2F5 w stężeniu wynoszącym 10 µg/ml. Autorzy uważają, że duże

wakuole powstają w cytoplazmie na skutek fuzjowania między sobą wakuoli oraz endosomów (MIMAKI i współaut. 2003b).

Cytotoksyczność saponin wynika też z faktu, że wywierają one efekt immunomodulacyjny, polegający na zwiększaniu aktywności komórek NK, podwyższaniu produkcji interferonu i interleukiny 2. Wpływ na układ immunologiczny może odbywać się również poprzez wzrost aktywności cytotoksycznej limfocytów T, aktywację makrofagów i zwiększenie fagocytozy komórek nowotworowych. W ten sposób działa saponina AS I (astragalusaponina I) z *Astragalus* sp., ginsenozydy Rg<sub>1</sub>, Rh<sub>2</sub> (*Panax ginseng*) oraz saponiny sojowe (ATTELE i współaut. 1999, NAKATA i współaut. 1998).

Saponozydy są związkami o bardzo szerokim spektrum działania. Budzącą duże nadzieje jest zwłaszcza ich aktywność przeciwnowo-

tworowa. Często bezskuteczność stosowanych do tej pory metod terapeutycznych w chorobach nowotworowych zmusza do poszukiwania nowych rozwiązań, nowych substancji, które miałyby z lepszym skutkiem zastosowanie w terapii nowotworów. Dlatego badaniom nad saponinami przypisuje się bardzo dużą wagę. Oprócz badań nad właściwościami cytotoksycznymi samych saponin, przeprowadza się eksperymenty, w których działanie saponin kojarzy się z powszechnie stosowanymi w terapii nowotworów cytostatykami. Wyniki eksperymentu jednoczesnego działania ginsenozydu Rh<sub>2</sub> i cis-diaminodichloroplatyny (CDDP) pokazują wzmożony efekt cytotoksyczności względem ustalonych linii komórek ludzkiego raka jajnika (NAKATA i współaut. 1998, SHAO i współaut. 1996). Takie eksperymenty potwierdzają celowość badań nad saponozydami i innymi substancjami pochodzenia roślinnego.

## NEW RESEARCH ON SAPONINS SHOWS THEIR WIDE RANGE OF PHARMACOLOGICAL ACTIVITIES

### Summary

Saponins (saponosides) belong to a group of secondary metabolites, widely distributed mainly, but not exclusively, among plants. They are reported to occur in over 500 species from over 90 families of both edible and nonedible plants. Chemically, saponins are glycosides consisting of a sugar moiety and non-sugar aglycone, called also sapogenin. Depending on the number of sugar chains attached to the aglycone, mono-, bi- and tridesmosides are distinguished. According to the structure of aglycone, saponins are classified into steroidal and triterpenoid. Common for all types of saponins are their surface-active properties and the ability to form a stable foam in water solutions. This property makes saponins applicable as components of household detergents and fire extinguishers. Saponins have a high ability to bind to cell membrane sterols, which is responsible at least in part for their biological activities. They reveal also strong haemolytic properties, which differ depending on the saponin type and its aglycone structure.

Saponins exhibit a wide range of biological properties and are believed to be one of the key biologically active constituents of plant drugs used in folk, especially Far East medicine. Many of the most important saponins are present in the roots of ginseng (*Panax ginseng*), soybeans (*Glycine max*) and plants of *Bupleurum* genus. Saponins are also widely used in conventional medicine (i.e. expectorants, hypocholesterolemic drugs). Moreover many studies *in vitro* and *in vivo* exhibited their anti-inflammatory, antimutagenic, antiviral, antibacterial, antifungal, analgesic, and antitumour activities. The latter is the most promising because of its possible future therapeutical application, since many cancer cell lines are more vulnerable to saponins than normal cells. Its cytotoxicity in most cases is the result of apoptosis, nevertheless additional studies including determination of the inhibitory mechanisms of saponins should be addressed.

## LITERATURA

- APERS S., BARONIKOVA. S., SINDAMBIWE J.-B., WITVROUW M., DE CLERCQ E., VAN DEN BERGHE D., VAN MARCK E., VLIETINCK A. J., PIETERS L., 2001. *Antiviral, haemolytic and molluscicidal activities of triterpenoid saponins from Maesa lanceolata: establishment of structure-activity relationships*. *Planta Med.* 67, 528-532.
- ARAI J., KOMATSU Y., HIRAI Y., SHINGU K., IDA Y., YAMAMURA H., YAMAMOTO T., KUROIWA Y., SASAKI K., TAGUCHI S., 1997. *Stimulative effects of saponin from kikyo-to, a Japanese herbal medicine, on pancreatic exocrine secretion of conscious rats*. *Planta Med.* 63, 419-424.
- ATOPKINA L., MALINOVSKAYA G., ELYAKOV G. B., UVAROVA N. I., WOERDENBAG H. J., KOULMAN A., PRAS N., POTIER P., 1999. *Cytotoxicity of natural ginseng glycosides and semisynthetic analogues*. *Planta Med.* 65, 30-34.
- ATTELE A. S., WU J. A., YUAN C. S., 1999. *Ginseng pharmacology. Multiple constituents and multiple actions*. *Biochem. Pharm.* 58, 1685-1693.

- BADER G., 1994. *Pharmacology and biopharmaceutics of triterpenoid saponins*. Pharmazie 49, 391-397.
- BALL S., 2000. *Naturalne substancje przeciwnowotworowe*. Medyk, Warszawa, 181-182.
- BAUMANN E., STOYA G., VÖLKNER A., RICHTER W., LEMKE C., LINSS W., 2000. *Hemolysis of human erythrocytes with saponin affects the membrane structure*. Acta Histochem. 102, 21-35.
- BERHOW M. A., WAGNER E. B., VAUGHN S. F., PLEWA M. J., 2000. *Characterization and antimutagenic activity of soybean saponins*. Mutation Res. 448, 11-22.
- BERMEJO P., ABAD M. J., DIAZ A. M., FERNANDEZ L., SANTOS J. D., SANCHEZ S., VILLAESCUSA L., CARRASCO L., IRURZUN A., 2002. *Antiviral activity of seven iridoids, three saikosaponins and one phenylpropanoid glycoside extracted from Bupleurum rigidum and Scrophularia scorodonia*. Planta Med. 68, 106-110.
- CHOI H. H., JONG H. S., PARK J. H., CHOI S., LEE J. W., KIM T. Y., OTSUKI T., NAMBA M., BANG Y. J., 2003. *A novel ginseng saponin metabolite induces apoptosis and down-regulates fibroblast growth factor receptor 3 in myeloma cells*. Int. J. Oncol. 23, 1087-1093.
- CUELLAR M. J., GINER R. M., RECIO M. C., JUST M. J., MANEZ S., CERDA M., HOSTETTMANN K., RIOS J. L., 1997. *Zanhasaponins A and B, antiphospholipase A2 saponins from an antiinflammatory extract of Zanha africana root bark*. J. Nat. Prod. 60, 1158-1160.
- DANLOY S., QUETIN-LECLERCQ J., COUCKE P., DE PAUW-GILLET M.-C., ELIAS R., BALANSARD G., ANGENOT L., BASSLEER R., 1994. *Effects of alpha-hederin, a saponin extracted from Hedera helix, on cells cultured in vitro*. Planta Med. 60, 45-49.
- DEY P. M., HARBORNE J. B., 1997. *Methods in Plant Biochemistry*. Academic Press, London, 436-466.
- FEI X.-F., WANG B.-X., TASHIRO S., LI T.-J., MA J.-S., IKEJIMA T., 2002. *Apoptotic effects of ginsenoside Rh<sub>2</sub> on human malignant melanoma A375-S2 cells*. Acta Pharmacol. Sin. 23, 315-322.
- HADDAD M., LAURENS V., LACAILLE-DUBOIS M.-A., 2004. *Induction of apoptosis in a leukemia cell line by triterpene saponins from Albizia adianthifolia*. Bioorg. Med. Chem. 12, 4725-4734.
- HSU Y.-L., KUO P.-L., LIN C.-C., 2004b. *The proliferative inhibition and apoptotic mechanism of Saikosaponin D in human non-small cell lung cancer A549 cells*. Life Sci. 75, 1231-1242.
- HSU Y.-L., KUO P.-L., WENG T.-C., YEN M.-H., CHIANG L.-C., LIN C.-C., 2004a. *The antiproliferative activity of saponin-enriched fraction from Bupleurum kaoi is through Fas-dependent apoptotic pathway in human non-small cell lung cancer A549 cells*. Biol. Pharm. Bull. 27, 1112-1115.
- KIM H. Y., YU R., KIM J. S., KIM Y. K., SUNG M. K., 2004. *Antiproliferative crude soy saponin extract modulates the expression of IB, protein kinase C, and cyclooxygenase-2 in human colon cancer cells*. Cancer Lett. 210, 1-6.
- KIM J. H., HAHM D. H., YANG D. C., KIM J. H., LEE H. J., SHIM I., 2005. *Effect of crude saponin of korean red ginseng on high-fat diet-induced obesity in the rat*. J. Pharmacol. Sci. 97, 124-131.
- KOHLMÜNZER S., 1993. *Farmakognozja. Podręcznik dla studentów farmacji*. PZWL, Warszawa, 324-352.
- KOŁODZIEJCZAK A., 2003. *Naturalne związki organiczne*. PWN, Warszawa, 488-489.
- LEE S.-J., SUNG J.-H., LEE S.-J., MOON C.-K., LEE B.-H., 1999. *Antitumor activity of a novel ginseng saponin metabolite in human pulmonary adenocarcinoma cells resistant to cisplatin*. Cancer Lett. 144, 39-43.
- LI X. X., DAVIS B., HARIDAS V., GUTTERMAN J. U., COLOMBINI M., 2005. *Proapoptotic triterpene electrophiles (avicins) form channels in membranes: cholesterol dependence*. Biophys. J. - Bio FAST, as doi:10.1529/biophysj.104.049403.
- LIU M.-J., WANG Z., JU Y., ZHOU J.-B., WANG Y., WONG R. N.-S., 2004. *The mitotic-arresting and apoptosis-inducing effects of diosgenyl saponins on human leukemia cell lines*. Biol. Pharm. Bull. 27, 1059-1065.
- MILGATE J., ROBERTS D. C. K., 1995. *The nutritional and biological significance of saponins*. Nutr. Res. 15, 1223-1249.
- MIMAKI Y., HARADA H., SAKUMA C., HARAGUCHI M., YUI S., KUDO T., YAMAZAKI M., SASHIDA Y., 2003b. *Enterolosaponins A and B, novel triterpene bisdesmosides from Enterolobium contortisiliquum, and evaluation for their macrophage-oriented cytotoxic activity*. Bioorg. Med. Chem. Lett. 13, 623-627.
- MIMAKI Y., KURODA M., YOKOSUKA A., HARADA H., FUKUSHIMA M., SASHIDA Y., 2003a. *Triterpenes and Triterpene Saponins from the Stems of Akebia trifoliata*. Chem. Pharm. Bull. 51, 960-965.
- NAKATA H., KIKUCHI Y., TODE T., HIRATA J., KITA T., ISCHU K., KUDUCHI K., NAGATA I., SHINOMIYA N., 1998. *Inhibitory effects of ginsenoside Rh<sub>2</sub> on tumor growth in nude mice bearing human ovarian cancer cells*. Jpn. J. Cancer Res. 89, 733-740.
- NAVARRO P., GINER R. M., RECIO C., MÁEZ S., CERDÁNICOLÁS M., RIOS J.-L., 2001. *In vivo anti-inflammatory activity of saponins from Bupleurum rotundifolium*. Life Sci. 68, 1199-1206.
- NEMMANI K. V. S., RAMARAO P., 2002. *Ginseng total saponin potentiates acute U-50,488H-induced analgesia and inhibits tolerance to U-50,488H-induced analgesia in mice*. Pharmacol. Biochem. Behav. 72, 1-6.
- NORBERG., HOA N.K., LIEPINSH E., PHAN D. V., THUAN N. D., JÖRNVALL H., SILLARD R., ÖSTENSON C. -G., 2004. *A novel insulin-releasing substance, phanoside, from the plant Gynostemma pentaphyllum*. J. Biol. Chem. 279, 41361-41367.
- OH Y.-J., SUNG M.-K., 2001. *Soybean saponins inhibit cell proliferation by suppression PKC activation and induce differentiation of HT-29 human colon adenocarcinoma cells*. Nutr. Cancer 39, 132-138.
- OLESEK W. A., 2002. *Chromatographic determination of plant saponins*. J. Chromatogr. A 967, 147-162.
- OSBOURN A. E., 2003. *Saponins in cereals*. Phytochemistry 62, 1-4.
- OTA T., MAEDA M., ODASHIMA S., NINOMIYA-TSUJI J., TATSUKA M., 1997. *G<sub>i</sub>-phase-specific suppression of the Cdk2 activity by ginsenoside Rh<sub>2</sub> in cultured murine cells*. Life Sci. 60, 39-44.
- PAPADOPOULOU K., MELTON R. E., LEGGET M., DANIELS M. J., OSBOURN A., 1999. *Compromised disease resistance in saponin-deficient plants*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96, 12923-12928.
- SCHÖPKE T., HILLER K., 1990. *Triterpenoid saponins*. Pharmazie 45, 313-342.
- SHAO Y., CHIN C.-K., HO C.-T., MA W., GARRISON S. A., HUANG M.-T., 1996. *Anti-tumor activity of the crude saponins obtained from asparagus*. Cancer Lett. 104, 31-36.
- SHAO Y., HO C.-T., CHIN C.-K., ROSEN R. T., HU B., QIN G.-W., 1997. *Triterpenoid saponins from Aster lingulatus*. Phytochemistry 44, 337-340.
- SPARG S. G., LIGHT M. E., VAN STADEN J., 2004. *Biological activities and distribution of plant saponins*. J. Ethnopharmacol. 94, 219-243.

- SUNG M. K., KENDALL C. W. C., KOO M. M., RAO A. V., 1995. *Effect of soybean saponins and gypsophila saponin on growth and viability of colon carcinoma cells in culture*. *Nutr. Cancer* 23, 259-270.
- SUNG M. K., RAO A. V., 1995. *Saponins as anticancerogens*. *J. Nutr.* 125, 7175-7245.
- TANAKA O., HAN E. C., YAMAGUCHI Y., MATSUURA H., MURAKAMI T., TANIYAMA T., YOSHIKAWA M., 2000. *Saponins of plants of Panax species collected in Central Nepal, and their chemotaxonomical significance*. *Chem. Pharm. Bull.* 48, 889-892.
- WEI F., MA L. Y., JIN W. T., MA S. C., HAN G. Z., KHAN I. A., LIN R. C., 2004. *Antiinflammatory triterpenoid saponins from the seeds of Aesculus chinensis*. *Chem. Pharm. Bull.* 52, 1246-1248.
- WU C. A., YANG Y., 2004. *Induction of cell death by saponin and antigen delivery*. *Pharm. Res.* 21, 271-277.
- YAN Y., CHEN M. Z., 2001. *Inhibitory effect of total extract of Astragalus on hepatocyte apoptosis*. *Chin. J. Pharmacol. Toxicol.* 15, 287-292.
- YIN X., ZHANG Y., WU H., ZHU X., ZHENG X., JIANG S., ZHUO H., SHEN J., LI L., QIU J., 2004. *Protective effects of Astragalus saponin I on early stage of diabetic nephropathy in rats*. *J. Pharmacol. Sci.* 95, 256-266.
- YUI S., KUDO T., HODONO K., MIMAKI Y., KURODA M., SASHIDA Y., YAMAZAKI M., 2003. *Characterization of the growth-inhibitory and apoptosis-inducing activities of a triterpene saponin, securioside B against BAC1.2F5 macrophages*. *Mediators Inflamm.* 12, 157-66.
- ZHANG W. J., WOJTA J., BINDER B. R., 1997. *Regulation of fibrinolytic potential of cultured human umbilical vein endothelial cell: Astragaloside IV downregulates plasminogen activator inhibitor-I and upregulates tissue-type plasminogen activator expression*. *J. Vasc. Res.* 34, 73-80.
- ZHU S., ZOU K., CAI S., MESELYH R. M., KOMATSU K., 2004. *Simultaneous Determination of Triterpene Saponins in Ginseng Drugs by High-Performance Liquid Chromatography*. *Chem. Pharm. Bull.* 52, 995-998.