

*Halina Ekiert¹, Agnieszka Sondej¹, Marta Klimek-Szczykutowicz¹,
Radosław J. Ekiert², Agnieszka Szopa¹

Nowe surowce roślinne w Farmakopei Europejskiej. Część I. Gatunki rodzaju *Bupleurum* (przewiercień) – źródło nowego surowca saponinowego

The new plant raw materials in the European Pharmacopoeia. Part 1. Species from *Bupleurum* genus – new saponin raw material

¹Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński –
Collegium Medicum, Kraków

Kierownik Katedry i Zakładu: prof. dr hab. n. farm. Halina Ekiert

²KZZ Herbapol SA w Krakowie

SUMMARY

One of the last supplements to the European Pharmacopoeia (Supl. 9.4) introduces several new herbal medicinal raw materials, so far unknown and not used in official Central European phytotherapy. The article describes plant species from *Bupleurum* genus providing new saponin raw material. The botanical and ecological characteristics as well as the current state of research on the chemistry of pharmacopoeial species from that genus were presented. The confirmed by scientific researches therapeutic applications of plant raw material – *Bupleuri radix*, were described particularly. Attention was paid to the position of that raw material in Traditional Chinese Medicine (TCM). It was emphasized that for about 20 years, it has had the World Health Organization (WHO) monograph. In addition, the importance of this plant in the food industry and its increasing status in the cosmetic industry were pointed. The aim of the article is the popularization of basic knowledge about pharmacopoeial species from *Bupleurum* genus in the Polish pharmaceutical, medical and phytotherapeutical environment.

Keywords: *Bupleurum* genus, new saponin raw material, botanical and ecological characteristics, chemical composition, medical applications

STRESZCZENIE

Jeden z ostatnich suplementów do Farmakopei Europejskiej (Supl. 9.4) wprowadza kilka nowych roślinnych surowców leczniczych, dotychczas nieznanymi i niewykorzystywanymi w oficjalnym lecznictwie europejskim. W artykule scharakteryzowano gatunki roślin z rodzaju *Bupleurum* (Przewiercień), dostarczające nowego surowca saponinowego. Przedstawiono charakterystykę botaniczno-ekologiczną oraz aktualny stan badań dotyczący chemizmu farmakopealnych gatunków z tego rodzaju. Szczegółowo przedstawiono zastosowania terapeutyczne surowca – *Bupleuri radix*, potwierdzone badaniami naukowymi. Zwrócono uwagę na pozycję tego surowca w tradycyjnej chińskiej medycynie (TCM). Podkreślono, że od ok. 20 lat surowiec ma monografię World Health Organization (WHO). Ponadto zasygnalizowano znaczenie omawianych roślin w przemyśle spożywczym oraz rosnącą ich pozycję w przemyśle kosmetycznym. Celem publikacji jest popularyzacja podstawowej wiedzy dotyczącej farmakopealnych gatunków rodzaju *Bupleurum* w polskim środowisku farmaceutycznym, lekarskim i fitoterapeutycznym.

Słowa kluczowe: przewiercień, nowy surowiec saponinowy, charakterystyka botaniczno-ekologiczna, skład chemiczny, działanie lecznicze

Wstęp

W ostatnim 10-leciu można zaobserwować znaczny wzrost liczby roślin wprowadzonych do lecznictwa zarówno w Europie, jak i w Polsce. Największa liczba nowych gatunków roślin leczniczych pochodzi z obszaru Azji Południowo-Wschodniej i wynika ze wskazań tradycyjnej medycyny dalekowschodniej, głównie chińskiej i koreańskiej. Liczne nowe gatunki pochodzą także z obszaru Ameryki Południowej i wynikają ze wskazań tradycyjnej medycyny południowo-amerykańskiej.

Jeden z najnowszych dokumentów farmakopealnych – Suplement 9.4 do Farmakopei Europejskiej (nieprzetłumaczony jeszcze na język polski) (1) wprowadza nieznanne dotychczas w lecznictwie europejskim gatunki pochodzące z Azji Południowo-Wschodniej, które od dawna znane są w tradycyjnej chińskiej medycynie (TCM): *Bupleurum chinense* DC. – przewiercień chiński i gatunek równocenny – *Bupleurum scorzonerifolium* Willd. (*Apiaceae*), a także *Platycodon grandiflorus* (Jacq.) A. DC. – rozwar wielkokwiatowy (*Campanulaceae*), *Ligusticum sinense* Oliv. – lubczyk chiński (*Apiaceae*), *Houttuynia cordata* Thunb. – pstrolistka sercowata (*Saururaceae*) oraz *Paeonia × suffruticosa* Andrews – piwonia drzewiasta (*Paeoniaceae*). Pierwsze trzy gatunki dostarczają nowych surowców saponinowych, kolejne surowca olejkowego, flawonoidowego i terpenowego. Nowymi roślinami farmakopealnymi zgodnie z wymienionym Suplementem są także rośliny o utrwalonej pozycji w lecznictwie ogólnościowym, które nie były dotychczas roślinami farmakopealnymi w Europie, m.in.: dwa gatunki południowoamerykańskie – *Paullinia cupana* Kunth – *Paullinia guarana* (*Sapindaceae*), *Ilex paraguariensis* A.St.-Hil. (Mate) – ostrokrzew paragwajski (*Aquifoliaceae*) oraz azjatycki gatunek – *Camellia sinensis* (L.) Kuntze – herbata chińska (*Theaceae*) (1).

Na początek zdecydowano scharakteryzować gatunki roślin z rodzaju *Bupleurum*, dostarczające nowego surowca saponinowego. Następnie zaplanowano zaprezentować inny wschodnioazjatycki gatunek – *Platycodon grandiflorus*, a w kolejnych artykułach: *Ligusticum sinense*, *Houttuynia cordata* i *Paeonia × suffruticosa*. Dalsze publikacje poświęcone będą innym znanym gatunkom roślin wprowadzonym przez Suplement 9.4 do oficjalnego lecznictwa europejskiego: *Paullinia cupana*, *Ilex paraguariensis* oraz *Camellia sinensis*.

Celem zaplanowanej serii artykułów jest popularyzacja podstawowej wiedzy dotyczącej nowych farmakopealnych gatunków i możliwych zastosowań

terapeutycznych pozyskiwanych z nich surowców zarówno w środowisku farmaceutów i lekarzy, jak i fitoterapeutów.

***Bupleurum* sp. (przewiercień) – gatunki farmakopealne**

Bupleuri radix jako surowiec roślinny znany w tradycyjnej chińskiej medycynie (TCM) jest szeroko stosowany w Chinach, Japonii, Korei i innych krajach azjatyckich w leczeniu grypy, gorączki, stanów zapalnych, malarii, zaburzeń miesiączkowania, zapalenia wątroby i chorób przewodu pokarmowego. Surowiec wchodzi także w skład wielu preparatów złożonych (2).

We współczesnych dokumentach farmakopealnych monografia *Bupleuri radix* figuruje w Farmakopei Chińskiej i Japońskiej (3-4). Surowiec ten ma również od 1999 roku monografię World Health Organization (WHO) (5).

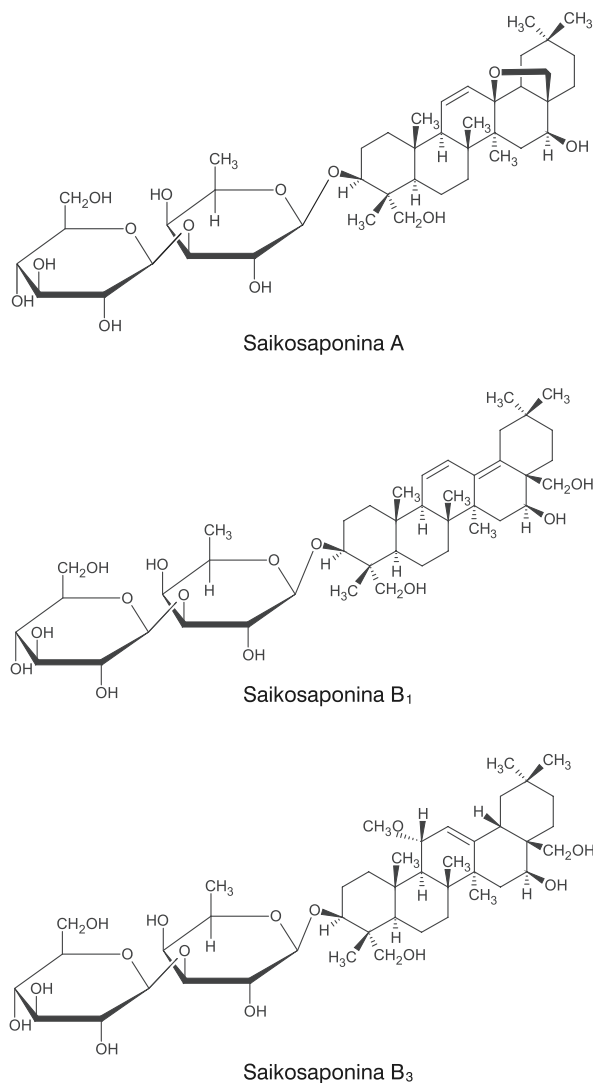
Informacje ogólne

Rodzaj *Bupleurum* (*Apiaceae* – Selerowate) obejmuje około 180-190 gatunków powszechnie występujących na półkuli północnej, w Europie i Azji, a także w Ameryce Północnej i północnej Afryce, gdzie są stosowane ze względu na właściwości lecznicze. *B. chinense* i *B. scorzonerifolium* występują na stanowiskach naturalnych i są powszechnie uprawiane w krajach Azji Wschodniej, tj. w Chinach, Japonii i Korei. W Chinach podaż na surowiec *Bupleurum radix* sięga rocznie około 8 milionów kilogramów. Kilka gatunków *Bupleurum* występuje również w Polsce – w tym *B. falcatum*. Niektóre z nich są objęte ochroną i figurują w „Polskiej czerwonej księdze roślin” (2, 6-8).

Zagadnienia taksonomiczne

Monografia „*Bupleurum root*” – korzenia przewiercienia pojawiła się po raz pierwszy w Suplemencie 9.4 do European Pharmacopoeia 9th. Suplement dopuszcza do pozyskiwania tego surowca dwa gatunki: *Bupleurum chinense* DC. (przewiercień chiński) oraz *Bupleurum scorzonerifolium* Willd. Surowcem farmaceutycznym są wysuszone, całe lub połamane korzenie *B. chinense* lub *B. scorzonerifolium*. Surowiec standaryzowany jest na zawartość saikosaponiny A (ryc. 1), której zawartość nie może być mniejsza niż 0,16% (9).

Monografia WHO wskazuje, że *B. chinense* DC. i *B. scorzonerifolium* Willd. są traktowane jako synonimy *B. falcatum* L. var. *scorzonerifolium* Willd. (5), jednakże w niektórych źródłach, a także w badaniach eksperymentalnych są traktowane jako odrębne gatunki (6, 10).



Ryc. 1. Struktura chemiczna saikosaponin A, B₁ i B₃

W niniejszym opracowaniu zebrano informacje o gatunkach opisywanych jako *B. chinense* DC., *B. scorzonerifolium* Willd. oraz *B. falcatum* L.

Wymienione gatunki występują pod licznymi nazwami synonimowymi. *B. chinense* w piśmiennictwie naukowym określany jest jako: *B. vanheurckii* Müll. Arg., *B. togasii* Kitag., *B. pekinense* f. *chiliosciadium* (H. Wolff) Hemsl., *B. pekinense* Franch. ex Hemsl., *B. octoradiatum* Bunge, oraz *B. falcatum* var. *chiliosciadium* H. Wolff (11). Z kolei *B. scorzonerifolium* pojawia się pod następującymi nazwami: *B. falcatum* var. *longipedunculatum* H. Boissieu, *B. falcatum* var. *scorzonerifolium* (Willd.) Ledeb., *B. sinensium* Gand., *B. stenophyllum* (Nakai) Kitag. oraz *B. falcatum* subsp. *scorzonerifolium* (Willd.) Koso-Pol. (12).

Surowiec znany jest jako: chaihu (dla *B. chinense*; j. chiń.), Bei Chai Hu, saiko (dla *B. falcatum*; j. chiń.),

bupleurum, thorow-wax (j. ang.) (5, 13). Najważniejsza z nich to chińska nazwa „saiko”; od niej biorą nazwę główne związki aktywne surowca – saikosaponiny.

Charakterystyka botaniczno-ekologiczna

Bupleurum chinense DC. jest wieloletnią rośliną zielną, osiągającą wysokość 50-85 cm. Korzeń tego gatunku jest szarobrązowy, stożkowaty, o długości 6-20 cm. Liście są pojedyncze, ułożone naprzemiennie, o kształcie liniowolancetowym z zaokrąglonym wierzchołkiem, o wymiarach 4-7 × 0,6-0,8 cm. Kwiaty liczą po 5 jasnożółtych płatków korony i są zebrane w baldach złożony. Owoce są podługne, brązowe. Osiągają ok. 3 mm długości. Roślina kwitnie od lipca do września. Owocuje od sierpnia do października. *B. chinense* w środowisku naturalnym rośnie na obszarach trawiastych, brzegach rzek, słonecznych stokach i na poboczach dróg oraz w innych miejscach na wysokości od 100 do 2700 m n.p.m.

Bupleurum scorzonerifolium Willd. dorasta do wysokości 30-60 cm. Korzeń ma długość 4-10 cm oraz czerwonawobrązowy kolor. Liście osiągają wymiary 6-16 × 0,2-0,7 cm. Kwiaty mają po 5 płatków korony. Owoce są elipsoidalne, ciemnobrązowe o długości 2-3 mm. Roślina kwitnie od lipca do sierpnia. Owocuje od sierpnia do października. Gatunek ten rośnie na skraju lasów, na słonecznych stokach górskich, suchych obszarach trawiastych i w innych miejscach na wysokości od 200 do 3000 m n.p.m.

Bupleurum falcatum L. to bylina osiągająca wysokość do 80 cm. Liście tego gatunku są eliptyczne o długości 5-10 cm i szerokości 5-10 mm. Kwiaty zebrane są w 6-10 baldaszków. Owoc jest gładki, z nitkowatymi żeberkami. Gatunek ten w stanie naturalnym występuje na suchych zboczach i skałach wapiennych. Kwitnie od lipca do października. Jest charakterystyczny dla kserotermicznych zbiorowisk okrajowych na siedliskach ciepłolubnych dąbrów (*Geranion sanguinei*) (2, 8).

Skład chemiczny

W ciągu ostatnich lat z *Bupleuri radix* wyizolowano około 74 związki. Za główne składniki aktywne biologicznie uznaje się saponiny triterpenowe – saikosaponiny (tab. 1). W surowcu występują także flawonoidy, poliacetyleny, lignany, olejek eteryczny, sacharydy, sterole i kwasy tłuszczowe. Saikosaponiny wykazują szerokie spektrum efektów biologicznych i farmakologicznych, w tym działanie przeciwnapalne, przeciwnowotworowe, immunomodulujące, przeciwwirusowe, przeciwbakteryjne, przeciwgorączkowe i hepatoprotective. Z surowca wyizolowano około 35 saponin. Wśród nich saikosaponiny A,

Tab. 1. Główne grupy związków chemicznych występujące w *Bupleuri radix*

Grupa związków, przykłady	Piśmiennictwo
Saponiny triterpenowe: saikosaponina A, B ₁ , B ₂ , B ₃ , B ₄ , C, D, E, F; 6"-O-malonylo-saikosaponina A, 6"-O-malonylosaikosaponina D, 2"-O-acetylosaikosaponina A, 3"-O-acetylosaikosaponina A, 4"-O-acetylosaikosaponina A, 6"-O-acetylosaikosaponina A, 23-O-acetylosaikosaponina A, 2"-O-acetylosaikosaponina D, 3"-O-acetylosaikosaponina D, 4"-O-acetylosaikosaponina D, 6"-O-acetylosaikosaponina D, hydroksysaikosaponina A, hydroksysaikosaponina C, prosaikogenina G, prosaikogenina F, prosaikogenina D	(14-18)
Flawonoidy: eugenina, saikochromon A, saikochromozyd A, saikoizoflawonozyd A	(19-22)
Poliacyleny: saikodiny A, C; 2Z-9Z-pentadekadien-4,6-diyń-1-ol, (2Z,8Z,10E)-pentadekatrien-4,6-diyń-1-ol, (2Z,8E,10E)-pentadekatrien-4,6-diyń-1-ol, (2Z,8Z,10E)-heptadekatrien-4,6-diyń-1-ol, bupleuryńol	(23-24)
Lignany: nortrachelogenina, nemerozyna, kaerofilina, izochaihulakton, izokaerofilina, (-)-yateina, chinensinaftol, chaihunafton	(2)
Olejek eteryczny: heksanal (29,5%), furfural (7,3%), kwas heksanowy (7,4%), 2-amylifuran (5,5%), (E,E)-2,4-dekadienal (5,9%)	(2-28)
Sacharydy: monosacharydy: rybitol, ksyloza, arabinoza polisacharydy pektynowe: bupleuran IIb, bupleuran IIc	(25)
Sterole: α -spinasterol, Δ^7 -stigmastenol, Δ^{22} -stigmastenol	(26)
Kwasy tłuszczowe: kwas palmitynowy, kwas palmitoleinowy, kwas oleinowy, kwas linolowy	(27)

B₁, B₃, C i D są głównymi związkami bioaktywnymi występującymi w surowcu (ryc. 1). Ważną grupę stanowią także polisacharydy pektynowe, w tym głównie bupleuran IIb (2).

Bupleuri radix – działanie biologiczne

Działanie przeciwzapalne

Za działanie przeciwzapalne surowca odpowiedzialne są głównie: saikosaponina A, saikosaponina C i saikogenina D. Korzeń od dawna jest stosowany w TCM w terapii różnorodnych chorób o podłożu zapalnym.

Przeprowadzono eksperyment, w którym badano wpływ saikogeniny D na PGE₂ oraz na wewnątrzkomórkowe stężenie wolnych jonów Ca²⁺ w komórkach glejaka szczura. Wykazano, że saikogenina D hamuje produkcję PGE₂ wywołaną przez kalcymycynę. Badany związek nie wpływał na proces przekształcania kwasu arachidonowego w PGE₂. Saikogenina D podwyższała wartość połowy maksymalnego skutecznego stężenia (EC₅₀) jonów Ca²⁺. W badaniu wykazano, że saikogenina D hamuje wytwarzanie PGE₂ oraz wpływa na wzrost stężenia wewnątrzkomórkowych jonów Ca²⁺ (29).

Działanie przeciwzapalne saikosaponiny A występującej w *Bupleuri radix* wynika z jej zdolności do

regulowania mediatorów zapalnych oraz hamowania szlaków sygnalizacyjnych NF- κ B i MAPK. Wykazano, że saikosaponina A wyraźnie hamowała ekspresję niektórych czynników związanych z odpornością, takich jak COX-2 i syntaza tlenu azotu (iNOS), a także cytokin prozapalnych: czynnika martwicy nowotworu (TNF- α), interleukiny 1 β (IL-1 β) i interleukiny 6 (IL-6). Zaobserwowano także wyraźną regulację ekspresji interleukiny 10 (IL-10). Badania wykazały ponadto hamowanie aktywacji szlaków sygnalizacyjnych białka NF- κ B poprzez zmniejszenie fosforylacji inhibitora α (I κ B α) oraz hamowanie szlaków sygnalizacyjnych kinaz aktywowanych mitogenami (MAPK) (30).

Inne badania, dotyczące działania przeciwzapalnego saikosaponiny A, przeprowadzono na pobudzanych przez LPS komórkach ludzkiego śródbrzońka żyły pępowinowej (HUVECs). W komórkach, do których dodawano saikosaponinę A, zaobserwowano zmniejszenie wytwarzania ROS, czynnika TNF- α , IL-8, COX-2 oraz iNOS. Wykazano także hamowanie aktywacji pobudzonego przez lipopolisacharyd białka NF- κ B. Saikosaponina nie wpływała natomiast na ekspresję receptora TLR4 (ang. *toll like receptor 4*), jedynie na jego translokację i oligomeryzację na platformie lipidowej (ang. *lipid rafts*). Ponadto saikosaponina A spowodowała aktywację szlaków sygnalizacyjnych

LXR α -ABCA1, w wyniku których doszło do przerwania tworzenia platform lipidowych poprzez uwalnianie cholesterolu (31).

W innych badaniach sprawdzano wpływ saikosaponiny A na hamowanie wytwarzania mediatorów prozapalnych w kilku typach komórek oraz działania ochronnego na wywoływane przez CCl₄ uszkodzenia komórek wątroby szczura. Saikosaponina A skutecznie obniżyła podwyższony poziom TNF- α i IL-6. Podawanie saponiny spowodowało także zahamowanie zwiększonego poziomu ekspresji domeny NOD2 mRNA i poziomu fosforo-NF- κ B p65. Saikosaponina ze względu na hamowanie aktywności TNF- α i IL-6 może odgrywać ochronną rolę w procesie zapalnym (32).

Badano także aktywność przeciwzapalną saikosaponiny C. Badania prowadzono na hamowanych przez LPS komórkach HUVECs. LPS powodowała aktywację kaspazy-3 wywołującej apoptozę HUVECs. Saikosaponina C wyraźnie hamowała apoptotyczną śmierć komórek poprzez selektywne hamowanie aktywności kaspazy-3 oraz kinazy – FAK (33).

W badaniach na myszach wykazano, że polisacharyd wyizolowany z korzenia *B. chinense* zmniejsza stopień uszkodzenia płuc wywołany przez LPS. Mysiom dotchawicznie podawano LPS na 2 godziny przed podaniem polisacharydu. Płyn oskrzelowo-pęcherzykowy zbierano po 24 godzinach od podania LPS. Stwierdzono, że polisacharyd hamował wywołany przez LPS całkowity wzrost komórek oraz stężenie białka w płynie wysiękowym. Hamował on także wysoki poziom mieloperoksydazy, TNF- α oraz tlenu azotu, a także wyraźnie zmniejszał uszkodzenie płuc oraz poprawiał ich morfologię (34).

Przeprowadzono także analizę wpływu ekstraktu etanolowego z *B. falcatum* oraz saikosaponin (SB3, SB4, SD) na zapalenie nerwów związane z ich neurodegeneracją. Ekstrakt oraz saikosaponiny obniżały wywołany przez liposacharyd wzrost w komórkach mózgu myszy poziomu NO, iNOS mRNA i ROS w granicach od 30 do 50%, a także poziom IL-6, IL-1 β oraz TNF- α o około 30-70% bez wpływu na żywotność komórek. Poza tym ekstrakt etanolowy z *B. falcatum* zmniejszał aktywację mikrogleju i astrocytów w hipokampie i w istocie czarnej mózgu zwierząt (35).

Działanie przeciwnowotworowe

Stwierdzono, że acetonowy ekstrakt z *B. scorzonrifolium* hamuje wzrost komórek raka płuc zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*. W badaniach przeprowadzonych na ludzkich komórkach raka płuc wykazano, że odznacza się on aktywnością antyproliferacyjną oraz proapoptotyczną wobec powyższych komórek.

Ekstrakt powodował zatrzymanie rozwoju komórek nowotworowych w fazie G2/M cyklu komórkowego. Działanie apoptotyczne było związane z pobudzeniem przez ekstrakt aktywności kinazy regulowanej zewnątrzkomórkowo (ERK 1/2) oraz z fosforylacją keratyny 8 (36). Badania tego samego zespołu badawczego w warunkach *in vivo* potwierdziły zatrzymanie rozwoju komórek nowotworowych w fazie G2/M cyklu komórkowego, działanie pobudzające polimeryzację tubuliny oraz aktywację kaspazy-3 i kaspazy-9 (37).

Przeprowadzono także badania wpływu ekstraktu z *Bupleuri radix* na wzmocnienie cytotoksycznego działania 5-fluorouracylu na komórki raka wątroby (HepG2) oraz ochronnego działania na limfocyty. Leczenie 5-fluorouracylem w połączeniu z ekstraktem z *Bupleuri radix* spowodowało zmniejszenie częstotliwości uszkodzeń mikrojąder i DNA w limfocytach, poza tym zwiększało aktywność białka Bax, przyspieszającego apoptozę w komórkach HepG2. Ustalono, że lek ten zwiększał rozpad potencjału błonowego mitochondriów w komórkach raka wątroby bez zmian w limfocytach (38).

Badania właściwości przeciwnowotworowych saikosaponiny D wykazały zwiększanie poziomu cytozolowego wapnia spowodowane zakłóceniem jego homeostazy, w wyniku czego następuje stres retikulum endoplazmatycznego, jak również szlaku odpowiedzi białka. Saikosaponina D wykazuje również udowodniony potencjał czynnika cytotoksycznego w uszkodzonych apoptozą oraz odpornych na apoptozę mysich fibroblastach (39).

Badano również wpływ saikosaponiny D wyizolowanej z *B. falcatum* na ludzkie komórki U87 glejaka wielopostaciowego. Stwierdzono wyraźne hamowanie proliferacji komórek, zależne od dawki. Saikosaponina D zwiększała apoptozę w komórkach U87 oraz znacząco hamowała fosforylację kinazy regulowanej zewnątrzkomórkowo. Badanie potwierdziło działanie przeciwnowotworowe saikosaponiny D na glejaka (40).

Inne badanie dotyczyło wpływu saikosaponiny D wyizolowanej z *B. chinense* na odporność na doxorubicynę ludzkich komórek raka piersi MCF-7. Saikosaponina D w zależności od dawki hamowała proliferację komórek MCF-7, zarówno tych poddawanych, jak i niepoddawanych działaniu doxorubicyny. Wyniki wskazują, że saikosaponina D może hamować efekt lekooporności w terapii raka piersi (41).

Działanie immunomodulujące

Saikosaponiny A i D wykazują działanie aktywujące makrofagi. Wyraźnie zwiększają one aktywację tych komórek po podaniu dootrzewnowym. Saikosaponina

D znacząco aktywuje makrofagi pod względem poprawy aktywności fagocytarnej, zwiększenia poziomu komórkowego enzymu lizosomalnego (kwasnej fosfatazy), a także pobudza aktywność cytostatyczną. Wykazano także silniejsze działanie saikosaponiny D w porównaniu do innych saponin, tj. ginsenozydu Rg1 i glicyryzyny (42).

Kolejne badanie dotyczyło działania immunomodulującego saikosaponiny D wyizolowanej z *Bupleurum falcatum* L. na mysie tymocyty i komórki śledziony. Saikosaponina D stymulowała również wytwarzanie interleukiny 2 (IL-2) oraz interleukiny 4 (IL-4) w tymocytach. Hamowała ona ponadto fragmentację DNA w tymocytach wywołaną przez kalcymycynę (43).

Wykazano, że związki izolowane z korzenia *B. scorzonrifolium* działają immunomodulująco na układ odpornościowy. Stwierdzono, że eugenina i saikochromon hamują w 50% wydzielanie IL-2 oraz wykazują silne działanie immunosupresyjne, bez znaczącego efektu cytotoksycznego na limfocyty T. Natomiast nemerozyna, oroksylina, izochaihulakton, wogonina i kerofylina hamowały działanie receptorów CD 28, przy czym także zaobserwowano znaczące działanie cytotoksyczne tych związków na limfocyty T (44).

Inne badania udowodniły działanie saikosaponin na makrofagi otrzewnowe u myszy. Saikosaponiny zwiększały aktywność fagocytarną oraz aktywność enzymów lizosomalnych. Ponadto powodowały one proliferację komórek śledziony zarówno przed immunizacją, jak i po niej. Po immunizacji czerwonymi krwinkami owcy makrofagi myszy suplementowane saikosaponiną D wykazywały znaczący wzrost aktywności enzymu lizosomalnego. Saikosaponina D stymulowała także aktywność limfocytów *in vivo*, szczególnie poprzez aktywację funkcji makrofagów (45).

Badano również wpływ saikosaponiny D na fagocytozę oraz rozprzestrzenianie się makrofagów w otrzewnej u myszy. Intensywność podziału mikrotubul i mikrofilamentów była obserwowana w mikroskopie immunofluorescencyjnym (46).

Działanie przeciwwirusowe

Przeprowadzono badania wpływu saikosaponin A, C i D na wirusa zapalenia wątroby typu B (HBV). Saikosaponina C zmniejszała poziom białka wirusowego w zakażonych przez HBV komórkach raka wątroby, natomiast tego efektu nie zaobserwowano podczas badania saikosaponin A i D. Saikosaponina C także hamowała replikację DNA wirusa HBV, przy czym reakcja ta nie była spowodowana działaniem cytotoksycznym na komórki raka wątroby (47).

W innym badaniu sprawdzano aktywność saikosaponin A, B₂, C i D na koronawirusy. Wszystkie saikosaponiny wykazywały działanie przeciwwirusowe w stężeniu 0,25-25 $\mu\text{mol/l}$. Saikosaponina B₂ wykazywała najwyższą aktywność przeciwwirusową na ludzki koronawirus 229E. Związek ten w stężeniu 6 $\mu\text{mol/l}$ niezależnie od czasu podania wykazywał działanie hamujące (48). Saikosaponiny S, C i D były oceniane poza tym pod względem cytotoksyczności i aktywności przeciwwirusowej wobec wirusa HBV. Badanie wykazało, że tylko saikosaponina C powodowała znaczące zmniejszenie poziomu antygenu e (HBeAg) w podłożu hodowlanym ludzkich komórek wątroby zakażonych wirusem HBV. Saikosaponina C hamowała także replikację DNA wirusa HBV poprzez hamowanie proliferacji komórek, bez efektu cytotoksycznego. Z kolei pomimo aktywności cytotoksycznej, saikosaponina D nie zahamowała procesu namnażania wirusa HBV. Aktywność cytotoksyczna saikosaponiny D na komórki raka wątroby (HepG2) była spowodowana aktywacją apoptozy. Fragmentacja DNA była widoczna po 6 godzinach od dodania saikosaponiny D do hodowli komórek HepG2. Badanie wykazało działanie przeciwwirusowe saikosaponiny C oraz działanie cytotoksyczne saikosaponiny D na komórki raka wątroby (49).

Działanie przeciwbakteryjne

Stwierdzono, że ekstrakt etanolowy z korzenia *B. chinense* działał bakteriostatycznie na *Helicobacter pylori*. Wartość MIC wynosiła 60 $\mu\text{g/ml}$. Badania saikosaponin wyizolowanych z *Bupleuri radix* wykazały działanie przeciwbakteryjne na Gram-ujemną pałeczkę *Pseudomonas aeruginosa* i Gram-dodatnią pałeczkę *Listeria monocytogenes* (50).

Przeprowadzone zostały także badania wpływu saikosaponin i ich aglikonów na nieswoistą odporność na zakażenie *Pseudomonas aeruginosa* i *Listeria monocytogenes*. Mysiom podawano dootrzewnowo saikosaponiny dzień przed dootrzewnowym zakażeniem *P. aeruginosa*. Saikosaponiny A i D powodowały wyraźny wzrost nieswoistej odporności przy dawce 10 $\mu\text{g/kg}$ m.c. Saikogenina D również wykazywała korzystny efekt. Najbardziej wyraźny wzrost nieswoistej odporności zaobserwowano przy dootrzewnowym podaniu saikosaponiny D dzień przed dootrzewnowym i dożylnym zakażeniem *P. aeruginosa*, gdy myszy były leczone 1, 4 i 7 dni wcześniej dootrzewnowo, dożylnie i podskórnie saikosaponiną D. Nie zaobserwowano natomiast wzrostu nieswoistej odporności na *L. monocytogenes*. Komórkami, które zostały pobudzone w trakcie wzrostu nieswoistej odporności przez saikosaponinę D, były prawdopodobnie makrofagi (51).

Działanie przeciwgorączkowe

Olejek eteryczny z *Bupleuri radix* jest potencjalnym środkiem przeciwgorączkowym. W celu udowodnienia jego aktywności przeciwgorączkowej zbadano preparaty w postaci sprayu do nosa. Preparat zawierał olejek eteryczny z *Bupleurum* w roztworze wodnym z dodatkiem tweenu-80 i mieszaniny glikoli. Badanie przeprowadzono na królikach, u których gorączkę wywoływano podskórnym podaniem terpentyny. Wykazano spadek temperatury po podawaniu preparatu. Temperatura obniżała się wraz ze wzrostem dawki podawanego preparatu od 0,5 do 1°C (52).

Działanie hepatochronne

Saikosaponina D wyizolowana z korzenia *B. falcatum* wykazuje działanie ochronne na wątrobę. Wykazano, że saikosaponina D zapobiega toksycznemu uszkodzeniu wątroby pod wpływem czterochlorku węgla oraz hamuje powstawanie peroksydacji lipidów. Hamuje ona także marskość wątroby (53).

W badaniach na zwierzętach wykazano, że rozpuszczalna w wodzie frakcja polisacharydów z korzenia *B. chinense* wykazuje działanie hepatochronne i przeciwutleniające. Właściwości te były oceniane na szczurzym modelu uszkodzenia wątroby, spowodowanym przez D-galaktozaminę. Dożołądkowe podawanie frakcji polisacharydów znacząco obniżało aktywność enzymów wątrobowych. Ponadto odnotowano wzrost aktywności enzymów przeciwutleniających (54).

Inne badanie dotyczyło wpływu saikosaponiny D na zwłóknienie i marskość wątroby. Przeprowadzone zostało na szczurach, u których zmiany te wywoływano przy użyciu dimetylonitrozaminy. Wykazano, że saikosaponina D znacznie zmniejszała odkładanie się kolagenu I w wątrobie oraz obniżyła poziom aminotransferazy alaninowej w surowicy krwi, co świadczyło o przeciwdziałaniu tego związku w powstawaniu wymienionych powyżej zmian w wątrobie (55).

Działanie na układ nerwowy

Badania przeprowadzone na wyizolowanej z korzenia *B. falcatum* saikosaponinie C wykazały działanie zapobiegające rozwojowi choroby Alzheimera w różnych modelach neuronalnych. Stwierdzono, że saikosaponina C wpływa na funkcjonowanie głównych białek odpowiedzialnych za rozwój choroby: amyloidu- β i amyloidu *tau*. Saikosaponina C znacząco hamowała uwalnianie obu peptydów. Hamowała ona także nieprawidłową fosforylację amyloidu *tau*. Ponadto stwierdzono, że saikosaponina C ma korzystny efekt na prawidłowe wewnątrzkomórkowe funkcjonowanie

amyloidu *tau* oraz przyspiesza działanie czynnika wzrostu neuronów – NGF. Ponadto zwiększała ona również poziom markerów synaptycznych: synaptofizyny i PSD-95. Przeprowadzone badania wykazały, że saikosaponina C może mieć istotne zastosowanie w leczeniu choroby Alzheimera i innych chorób neurodegeneracyjnych (56).

Inne właściwości

Bupleuri radix jest dopuszczony jako surowiec roślinny bezpieczny do wykorzystania w produktach żywnościowych według dokumentów wydawanych zarówno przez Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) (57), jak i Organizację Narodów Zjednoczonych do spraw Wyżywienia i Rolnictwa (FAO) (58).

Ekstrakty z korzenia przewiercienia znalazły również zastosowanie w preparatach kosmetycznych. Według prowadzonej przez Komisję Europejską bazy danych CosIng (Cosmetic Ingredient Database) (59) zarówno ekstrakty z korzeni *Bupleurum chinense*, jak i *Bupleurum falcatum*, mogą być wykorzystywane w kosmetyce. Ekstrakty te spotykać można głównie w składzie preparatów stosowanych do pielęgnacji twarzy w postaci kremów przeciwmarszczkowych, nawilżających, zapobiegających uszkodzeniom słonecznym oraz rozjaśniającym przebarwienia. W kosmetykach do ciała ekstrakty z korzenia *B. falcatum* stosowane są głównie w cellulicie, wygładzaniu oraz ujędrnianiu. Warte podkreślenia jest to, że według bazy CosIng w produkcji kosmetyków można wykorzystywać także ekstrakty z kwiatów, liści i łodyg oraz ekstrakty z hodowli kalusowych *B. falcatum* (59).

Podsumowanie

Scharakteryzowane w artykule nowe gatunki farmakopealne z rodzaju *Bupleurum* wprowadzone do oficjalnego lecznictwa europejskiego są przykładem możliwości wykorzystywania wiedzy ugruntowanej w tradycyjnej chińskiej medycynie (TCM). *Bupleuri radix* należy do najważniejszych surowców leczniczych wykorzystywanych od dawna w TCM w leczeniu licznych dolegliwości chorobowych. Jest skuteczny w leczeniu grypy, gorączki, stanów zapalnych, malarii, zaburzeń miesiączkowania, zapalenia wątroby i schorzeń przewodu pokarmowego.

Z przedstawionego przeglądu aktualnych badań dotyczących właściwości biologicznych tego surowca wynikają bardzo szerokie możliwe jego zastosowania w terapii. Jak udowodniono, *Bupleuri radix* wykazuje działanie przeciwzapalne, przeciwnowotworowe, immunomodulujące, przeciwwirusowe, przeciwbakteryjne, przeciwgorączkowe i hepatochronne.

Surowiec może być wykorzystywany także jako bezpieczny środek spożywczy. Korzenie oraz inne organy *B. chinense* i *B. falcatum* mogą być również stosowane jako cenne surowce kosmetyczne.

Znajomość opisanych gatunków roślin jako źródła cennego, nowego surowca saponinowego wydaje się niezbędna w profesjonalnych kontaktach farmaceutów, lekarzy oraz fitoterapeutów z pacjentami.

Piśmiennictwo

1. European Pharmacopoeia, 9th Ed., Supplement 9.4 Council of Europe; Strasbourg 2017.
2. Yang F, Dong X, Yin X i wsp. Radix Bupleuri: A review of traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology, and toxicology. Biomed Res Int 2017; 7597596.
3. World Health Organization. Regional Office for the Western Pacific. Medicinal plants in China: a selection of 150 commonly used species. WHO Regional Office for the Western Pacific, Manila 1989.
4. World Health Organization. Regional Office for the Western Pacific. Medicinal Plants in the Republic of Korea: Information on 150 commonly used medicinal plants. WHO Regional Office for the Western Pacific, Manila 1998.
5. *Radix Bupleuri*. W: WHO Monographs on Selected Medicinal Plants. Geneva: World Health Organization 1999; 67-76.
6. Ashour ML, Wink M. Genus *Bupleurum*: a review of its phytochemistry, pharmacology and modes of action. J Pharm Pharmacol 2011; 63:305-21.
7. Zhu Z, Liang Z, Han R: Saikosaponin accumulation and antioxidative protection in drought-stressed. Environ Exp Bot 2009; 66:326-33.
8. Zarzycki K, Kaźmierczakowa R, Mirek Z. Polska czerwona księga roślin. Paprotniki i rośliny kwiatowe. Wyd. III. Uaktualnione i rozszerzone. Instytut Ochrony Przyrody PAN, Kraków 2014.
9. Yang Z-Y, Chao Z, Huo K-K i wsp. ITS sequence analysis used for molecular identification of the *Bupleurum* species from northwestern China. Phytomed 2007; 14(6):416-23.
10. She M, Pu F, Pan i wsp. Apiaceae through Ericaceae. Flora of China 2005; 14:70.
11. The Plant List. *Bupleurum chinense* (Online). <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-2686488>.
12. The Plant List. *Bupleurum scorzonrifolium* (Online). <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-2687135>.
13. van Wyk B, Wink M: *Bupleurum falcatum*. W: Rośliny lecznicze świata. MedPharm 2004; 73.
14. Ebata N, Nakajima K, Hayashi K i wsp.: Saponins from the root of *Bupleurum falcatum*. Phytochem 1996; 41:895-901.
15. Ding JK, Fujino H, Kasai R i wsp. Chemical evaluation of *Bupleurum* species collected in Yunnan, China. Chem Pharm Bull 1986; 34:1158-67.
16. Ishii H, Nakamura M, Seo S i wsp. Isolation, characterization, and nuclear magnetic resonance spectra of new saponins from the roots of *Bupleurum falcatum* L. Chem Pharm Bull 1980; 28:2367-73.
17. Shmitzu K, Amagaya S, Ogihara Y. New derivatives of saikosaponins. Chem Pharm Bull 1985; 33:3349-55.
18. Zhao YY, Luo HS, Wang B i wsp. Triterpenoid saponins from *Bupleurum smithii* var. *parvifolium*. Phytochem 1996; 42:1673-5.
19. Chang WL, Chiu LW, Lai JH i wsp. Immunosuppressive flavones and lignans from *Bupleurum scorzonrifolium*. Phytochem 2003; 64:1375-9.
20. Kobayashi M, Tawara T, Tsuchida T i wsp. Studies on the constituents of *Umbelliferae* plants. XVIII. Minor constituents of *Bupleuri radix*: Occurrence of saikogenins, polyhydroxysterols, a trihydroxy C18 fatty acid, a lignan and a new chromone. Chem Pharm Bull 1990; 38:3169-71.
21. Liang H, Zhao YY, Zhang RY. A new chromone glycoside from *Bupleurum chinense*. Chin Chem Lett 1998; 9:69-70.
22. Tan L, Zhao YY, Wang B i wsp. New isoflavonoid from *Bupleurum scorzonrifolium*. Chin Chem Lett 1998; 9:71-3.
23. Morita M, Nakajima K, Ikeya Y i wsp. Polyacetylenes from roots of *Bupleurum falcatum*. Phytochem 1991; 30:1543-5.
24. Liu J, Yuan F, Yang L i wsp. A qualitative, and quantitative determination and pharmacokinetic study of four polyacetylenes from *Radix Bupleuri* by UPLC-PDA-MS. J Pharm Biomed Anal 2015; 111:257-65.
25. Matsumoto T, Moriya M, Sakurai MH i wsp. Stimulatory effect of a pectic polysaccharide from a medicinal herb, the roots of *Bupleurum falcatum* L., on G-CSF secretion from intestinal epithelial cells. Int Immunopharmacol 2008; 8:581-8.
26. Takeda K, Kubota T. Studies on the steroidal components of domestic plants. XVIII. Components of the root of *Bupleurum falcatum* L. Chem Pharm Bull 1958; 6:536-9.
27. Li XQ, Song AH, Li XW i wsp. Analysis of the fatty acid from *Bupleurum chinense* DC. in China by GC-MS and GC-FID. Chem Pharm Bull 2005; 12:1613-7.
28. Li XQ, He ZG, Bi KS i wsp. Essential oil analyses of the root oils of 10 *Bupleurum* species from China. J Essent Oil Res 2007; 19(3):234-8.
29. Kodama Y, Xiaochuan L, Tsuchiya C i wsp. Dual effect of saikogenin D: *in vitro* inhibition of prostaglandin E2 production and elevation of intracellular free Ca²⁺ concentration in C6 rat glioma cells. Planta Med 2003; 69:765-7.
30. Zhu J, Luo C, Wang P i wsp. Saikosaponin A mediates the inflammatory response by inhibiting the MAPK and NF-κB pathways in LPS-stimulated RAW 264.7 cells. Exp Ther Med 2013; 5:1345-50.
31. Fu Y, Hu X, Cao Y i wsp. Saikosaponin a inhibits lipopolysaccharide-oxidative stress and inflammation in human umbilical vein endothelial cells *via* preventing TLR4 translocation into lipid rafts. Free Radic Biol Med 2015; 89:777-85.
32. Zhao H, Li S, Zhang H i wsp. Saikosaponin a protects against experimental sepsis *via* inhibition of NOD2-mediated NF-κB activation. Exp Ther Med 2015; 10:823-7.
33. Lee TH, Chang J, Kim BM. Saikosaponin C inhibits lipopolysaccharide-induced apoptosis by suppressing caspase-3 activation and subsequent degradation of focal adhesion kinase in human umbilical vein endothelial cells. Biochem Biophys Res Commun 2014; 445:615-21.
34. Xiea J, Di H-J, Li H i wsp. *Bupleurum chinense* DC. polysaccharides attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice. Phytomed 2012; 19:130-7.
35. Park WH, Kang S, Piao Y i wsp. Ethanol extract of *Bupleurum falcatum* and saikosaponins inhibit neuroinflammation *via* inhibition of NF-κB. J Ethnopharmacol 2015; 174:37-44.

36. Chen YL, Lin SZ, Chang WL i wsp. Requirement for ERK activation in acetone extract identified from *Bupleurum scorzonerifolium* induced A549 tumor cell apoptosis and keratin 8 phosphorylation. *Life Sci* 2005; 76:2409-20.
37. Cheng YL, Lee SC, Lin SZ i wsp. Anti-proliferative activity of *Bupleurum scorzonerifolium* in A549 human lung cancer cells in vitro and in vivo. *Cancer Lett* 2005; 222:183-93.
38. Kang SJ, Lee YJ, Kim BM i wsp. Effect of *Bupleuri Radix* extracts on the toxicity of 5-fluorouracil in HepG2 hepatoma cells and normal human lymphocytes. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2008; 103:305-13.
39. Wong VK, Li T, Law BY i wsp. Saikosaponin-D, a novel SERCA inhibitor, induces autophagic cell death in apoptosis-defective cells. *Cell Death Dis* 2013; 4.
40. Li Y, Cai T, Zhang W i wsp. Effects of saikosaponin D on apoptosis in human U87 glioblastoma cells. *Mol Med Rep* 2017; 16:1459-64.
41. Li C, Guan X, Xue H i wsp. Reversal of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance is induced by saikosaponin D in breast cancer MCF-7/adriamycin cells. *Pathol Res Pract* 2017; 213:848-53.
42. Kumazawa Y, Takimoto H, Nishimura C i wsp. Activation of murine peritoneal macrophages by saikosaponin A, saikosaponin D and saikogenin D. *Int J Immunopharmacol* 1989; 11:21-8.
43. Kato M, Pu M-Y, Isobe K-I i wsp. Cell type-oriented differential modulatory actions of saikosaponin-D on growth responses and DNA fragmentation of lymphocytes triggered by receptor-mediated and receptor-bypassed pathways. *Immunopharmacol* 1995; 29:207-13.
44. Chang WL, Chiu LW, Lai JH i wsp. Immunosuppressive flavones and lignans from *Bupleurum scorzonerifolium*. *Phytochem* 2003; 64:1375-9.
45. Ushio Y, Oda Y, Abe H. Effect of saikosaponin on the immune responses in mice. *Int J Immunopharmacol* 1991; 13:501-8.
46. Ushio Y, Abe H. Effects of saikosaponin-D on the functions and morphology of macrophages. *Int J Immunopharmacol* 1991; 13:493-9.
47. Chiang LC, Ng LT, Liu LT i wsp. Cytotoxicity and anti-hepatitis B virus activities of saikosaponins from *Bupleurum* species. *Planta Med* 2003; 69:705-9.
48. Cheng PW, Ng LT, Chiang LC i wsp. Antiviral effects of saikosaponins on human coronavirus 229E *in vitro*. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2006; 33:612-6.
49. Chiang LC, Ng LT, Liu LT i wsp. Cytotoxicity and anti-hepatitis B virus activities of saikosaponins from *Bupleurum* species. *Planta Med* 2003; 69:705-9.
50. Li Y, Xu C, Zhang Q i wsp. *In vitro* anti-*helicobacter pylori* action of 30 Chinese herbal medicines used to treat ulcer diseases. *J Ethnopharmacol* 2005; 98:329-33.
51. Kumazawa Y, Kawakita T, Takimoto H i wsp. Protective effect of saikosaponin A, saikosaponin D and saikogenin D against *Pseudomonas aeruginosa* infection in mice. *Int J Immunopharmacol* 1990; 12:531-7.
52. Xie Y, Lu W, Cao S i wsp. Preparation of *Bupleurum* nasal spray and evaluation on its safety and efficacy. *Chem Pharm Bull* 2006; 54:48-53.
53. Abe H, Sakaguchi M, Odashima S i wsp. Protective effect of saikosaponin-D isolated from *Bupleurum falcatum* L. on CCl₄-induced liver injury in the rat. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1982; 320:266-71.
54. Zhao W, Li JJ, Yue SQ i wsp. Antioxidant activity and hepatoprotective effect of a polysaccharide from Bei Chaihu (*Bupleurum chinense* DC). *Carbohydr Polym* 2012; 89:448-52.
55. Fan J, Li X, Li P i wsp. Saikosaponin-D attenuates the development of liver fibrosis by preventing hepatocyte injury. *Biochem Cell Biol* 2007; 85:189-95.
56. Lee TH, Park SH, You MH i wsp. A potential therapeutic effect of saikosaponin C as a novel dual-target anti-Alzheimer agent. *J Neurochem* 2016; 136:1232-45.
57. European Food Safety Authority (Online). <http://www.efsa.europa.eu/>.
58. Food and Agriculture Organization of the United Nations (Online). <http://www.fao.org/>.
59. Cosmetic Ingredients Database (Online). <https://ec.europa.eu>.

Konflikt interesów**Conflict of interest**

Brak konfliktu interesów

None

otrzymano/received: 26.10.2018

zaakceptowano/accepted: 09.11.2018

Adres/address:

prof. dr hab. Halina Ekiert
 Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej
 Wydział Farmaceutyczny UJCM
 30-688 Kraków, ul. Medyczna 9
 tel.: +48 12 620 54 30, fax. +48 620 54 40
 e-mail: mfekiert@cyf-kr.edu.pl