

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

RACHEL WYKOWSKI

SAPONINAS: UMA PROMESSA DA CIÊNCIA CONTRA O CÂNCER

Porto Alegre

2012

RACHEL WYKOWSKI

SAPONINAS: UMA PROMESSA DA CIÊNCIA CONTRA O CÂNCER

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Farmácia, pela Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Grace Gosmann.

Porto Alegre

2012

DEDICATÓRIA

Por mais estranho que pareça, dedico este trabalho a todas as pessoas que se riram de mim, quando lhes falei sobre meu sonho em me tornar farmacêutica. Isso, pois seus deboches serviram-me de combustível, do qual tirei a vontade de superar minhas limitações e a coragem para trilhar o caminho rumo a minhas conquistas.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, a Prof.^a Grace Gosmann pela dedicação, atenção e enorme compreensão que teve para comigo;

Às farmacêuticas do meu local de estágio, em especial, a Sara Maria Gallina, pela grande paciência que tiveram comigo e por sempre estarem dispostas a me auxiliar em minhas dificuldades;

À minha mãe, a Dna. Severina Perondi, por ter me guiado ao longo da minha caminhada, dividindo expectativas e angústias comigo;

A um grande amigo, Ricardo Fernando Gonçalves Meneses, pelo inestimável amparo durante minha trajetória acadêmica, digno de um pai;

Às colegas Luciana Torelli Seara e Perla de Souza Gambato, não apenas por me auxiliarem em dificuldades ao decorrer das disciplinas, mas por ouvirem meus desabafos em momentos de desespero;

E acima de tudo, a Deus, por retribuir minhas preces e me propiciar este momento com o qual sonho desde os dias da minha infância.

RESUMO

Saponinas são um grupo de glicosídeos de ocorrência em plantas, de maior distribuição em angiospermas, conhecidos por sua propriedade formadora de espuma em solução aquosa. São compostos reportados na literatura por possuírem uma gama de atividades, que compreendem a atividade moluscicida, anti-inflamatória, antifúngica, antibacteriana, antiparasítica, antiviral, imunomoduladora, citotóxica e antitumoral. Recentemente, passou-se a investigar mais a atividade anti-câncer das saponinas, por serem compostos abundantes no reino vegetal e oferecerem a possibilidade de serem utilizados na prática clínica. Nesse contexto, aparecem estudos acerca da atividade antitumoral/citotóxica de saponinas *in vivo*, *in vitro*, e revisões bibliográficas descrevendo o mecanismo de ação do efeito anti-câncer da maioria desses compostos. Poucos, porém, valiosos trabalhos versam sobre a relação-estrutura atividade que rege o modo de ação dessas substâncias. Há, também, alguns artigos que relatam o emprego das saponinas na indústria farmacêutica, como adjuvantes para o aumento da solubilidade e absorção de determinados fármacos e adjuvantes em vacinas, provocando imunoestimulação e aumentando a eficácia da resposta antígeno-anticorpo do organismo. Valendo-se desse amplo conhecimento divulgado na literatura, o desafio desse trabalho foi realizar uma revisão bibliográfica tratando da atividade antitumoral/citotóxica de saponinas, bem como do mecanismo de ação envolvido por trás do efeito farmacológico desses compostos e por fim, a relação estrutura-atividade que rege os efeitos biológicos dessas substâncias.

Palavras-chave: Saponinas – atividade antitumoral – atividade citotóxica – mecanismo de ação – relação estrutura-atividade.

ABSTRACT

Saponins are a group of glycosides occurring in plants, distributed in angiosperms, commonly known for its property of foam-forming in aqueous solution. These compounds are reported in the literature as having a range of activities, which include the molluscicidal, anti-inflammatory, antifungal, antibacterial, antiparasitic, antiviral, immunomodulatory, antitumor and cytotoxic activities. Recently, is under investigation the anti-cancer activity of saponins, since they are compounds in high abundance in the world flora and offer the possibility to be used due their antitumor activity. In this context, studies showing the antitumor activity/cytotoxic saponins *in vivo*, *in vitro*, and reviews describing the mechanism of action of the anti-cancer effect of some compounds. Few, but valuable works deal about the structure-activity relationship and the mode of action of these substances. There are also some articles that describe the use of saponins in the pharmaceutical industry as adjuvants for increasing the solubility and absorption of certain drugs and adjuvants in vaccines, causing immunostimulation and increasing the efficiency of antigen-antibody response in the body. Drawing on this extensive knowledge disclosed in the literature, the challenge of this study was to provide a review of the literature dealing with the antitumor activity / cytotoxic saponins as well as the mechanism of action involved in the pharmacological action of these compounds and finally, the structure-activity relationship that govern the biological effects of these substances.

Keywords: Saponins - antitumor activity - cytotoxic activity - mechanism of action - structure-activity relationship.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Biossíntese das saponinas esteroidais e triterpênicas.	11
Figura 2. Os 11 principais esqueletos de saponinas, referidos por Man et al. (2010).	12
Figura 3. Estrutura do composto QS-21, distinguindo as diferentes porções da molécula.	14
Figura 4. Estrutura básica dos astragalosídeos.	19
Figura 5. Estrutura da saponina OSW-1.	20
Figura 6. Estrutura básica das avicinas.	21
Figura 7. Estrutura dos tubeimosídeos.	21
Figura 8. Estrutura das saikosaponinas.	21
Figura 9. Estrutura do Platycodon D.	22
Figura 10. Estrutura geral de saponinas obtidas da semente de soja.	23
Figura 11. Estrutura de uma saponina da <i>Pulsatilla koreana</i>	24
Figura 12. Estrutura da Polifilina D.	24
Figura 13. Estrutura da Formosanina C.	24
Figura 14. Estrutura da dioscina.	24
Figura 15. Estrutura da metil protogracilina.	25
Figura 16. Estrutura do tubeimosídeo II, ressaltando o grupo hidroxila na posição C-16.	26
Figura 17. Efeito da substituição no C-17 na atividade antitumoral das saponinas pennogenila e diosgenila, contra células da linhagem HL-60.	27
Figura 18. Estrutura dos ginsenosídeos Rh ₁ (PPT) e Rh ₂ (PPD).	28
Figura 19. Estruturas da metil protoneogracilina, da metil protogracilina e da gracilina.	29
Figura 20. Estrutura das saponinas de hederagenina, apresentando diferentes tipos de cadeias laterais glicosídicas, e suas atividades inibitórias IC ₅₀ sobre células KB.	30
Figura 21. Efeito do número de unidades de açúcar ligadas à porção aglicona sobre a atividade hemolítica e a atividade citotóxica de saponinas do tipo diosgenila.	30
Figura 22. Estrutura dos compostos extraídos da <i>Chenopodium quinoa</i>	32
Figura 23. Estrutura da δ-hederina, da α-hederina e dos seus análogos.	34
Figura 24. Estruturas dos ginsenosídeos isolados de <i>Gynostemma pentaphyllum</i> e suas respectivas atividades citotóxicas contra linhagens de células cancerosas humanas.	40
Figura 25. Estrutura do composto K (20-O-D-glicopiranosil-20(S)-protopanaxadiol).	41
Figura 26. Estruturas dos compostos 1-9, isolados a partir do rizoma da <i>Tupistra chinensis</i>	43

Figura 27. Estrutura do composto 1 (3-O-[β -D-glicopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-glicopiranosil-6'-O-*n*-butil éster]) gerada com auxílio da técnica HMBC. 44

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	10
1 OBJETIVOS	15
1.1 GERAIS	15
1.2 ESPECÍFICOS	15
2 MATERIAIS E MÉTODOS	16
3 SAPONINAS ANTITUMORAIS E CITOTÓXICAS	17
3.1 MECANISMOS DE AÇÃO DAS SAPONINAS ANTITUMORAIS	17
3.1.1 Mecanismos Gerais	17
3.1.2 Mecanismos Relativos aos Tipos de Saponinas	19
3.2 RELAÇÃO ESTRUTURA QUÍMICA E ATIVIDADE ANTITUMORAL	25
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
CONCLUSÃO	47
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49
APÊNDICE	53

INTRODUÇÃO

Saponinas são um grupo de glicosídeos presentes em plantas, cuja característica mais citada é a capacidade de formar espuma em soluções aquosas. A presença de saponinas foi reportada em mais de 100 famílias de plantas, das quais pelo menos 150 saponinas naturais foram caracterizadas por possuir significantes propriedades anti-câncer (MAN et al., 2010).

Baseado em seu esqueleto químico, as saponinas são classificadas em triterpênicas ou esteróides (MAN et al., 2010). As saponinas esteróides possuem a porção aglicona derivada do ciclopentanoperidrofenantreno (conhecido como núcleo esteróide), enquanto as saponinas triterpênicas possuem 30 átomos de carbono e núcleo triterpênico como porção aglicona (SCHENKEL; GOSMANN; ATHAYDE, 2010). As saponinas esteróides estão presentes quase exclusivamente nas angiospermas monocotiledôneas, enquanto que as saponinas triterpênicas, mais abundantes, ocorrem principalmente nas angiospermas dicotiledôneas. (SPARG; LIGHT; STADEN, 2004). As saponinas esteróides encontram-se principalmente distribuídas entre as famílias Agavaceae, Dioscoreaceae, Liliaceae, Solanaceae, Scrophulariaceae, Amaryllidaceae, Leguminosae e Rhamnaceae; enquanto as saponinas triterpênicas encontram-se mais comumente distribuídas entre as famílias Leguminosae, Araliaceae, Scrophulariaceae, Campanulaceae e Caryophyllaceae (MAN et al., 2010).

O núcleo triterpênico tem a mesma origem que o esqueleto esteróide, porém diverge durante o processo de formação do óxido de esqualeno. Nesse caso, o óxido de esqualeno cicliza em uma conformação cadeira-cadeira-cadeira-barco (figura 1), podendo dar origem aos triterpenos tetracíclicos ou aos triterpenos pentacíclicos (SCHENKEL; GOSMANN; ATHAYDE, 2010).

Dentre as atividades mais citadas para as saponinas na literatura científica, destacam-se a atividade hemolítica, moluscicida, antiinflamatória, antifúngica/antilevedura, antibacteriana/antimicrobiana, antiparasítica, citotóxica/antitumoral e por fim, a atividade antiviral (SPARG; LIGHT; STADEN, 2004).

Há mais de 11 esqueletos de saponinas, incluindo damaranos, tirucalanos, lupanos, hopanos, oleananos, taraxasteranos, ursanos, cicloartanos, lanostanos, curcubitianos e esteróides (figura 2). Entre essas saponinas, cicloartanos, damaranos, oleananos, lupanos e alguns esteróides os quais demonstraram atividade antitumoral em diferentes tipos de câncer (MAN et al., 2010).

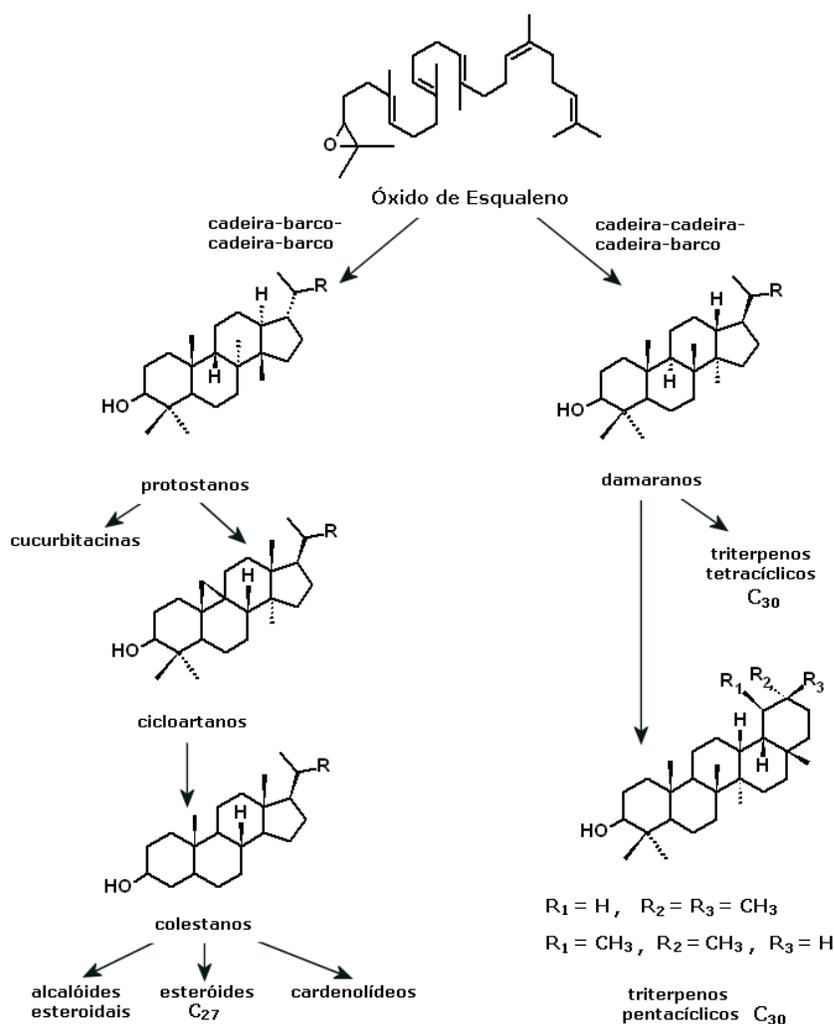


Figura 1. Biossíntese das saponinas esteroidais e triterpênicas. Fonte: SCHENKEL; GOSMANN; ATHAYDE, 2010.

Numerosos trabalhos, como o de Chwalek et al. (2006), o de Kim et al. (2010) e o de Li et al. (2012) apontam a alta citotoxicidade de muitas saponinas. Entretanto, nem todas as saponinas

que possuem alta citotoxicidade necessariamente possuem alta propriedade antitumoral, embora muitos compostos com alta citotoxicidade possam ser usados para combater células cancerosas (SPARG; LIGHT; STADEN, 2004). Nesse caso, o que separa um composto meramente citotóxico de um antitumoral é a seletividade, ou seja, a propriedade desse composto de atacar com mais intensidade as células tumorais preservando as células saudias, ou causando menos danos possíveis a essas.

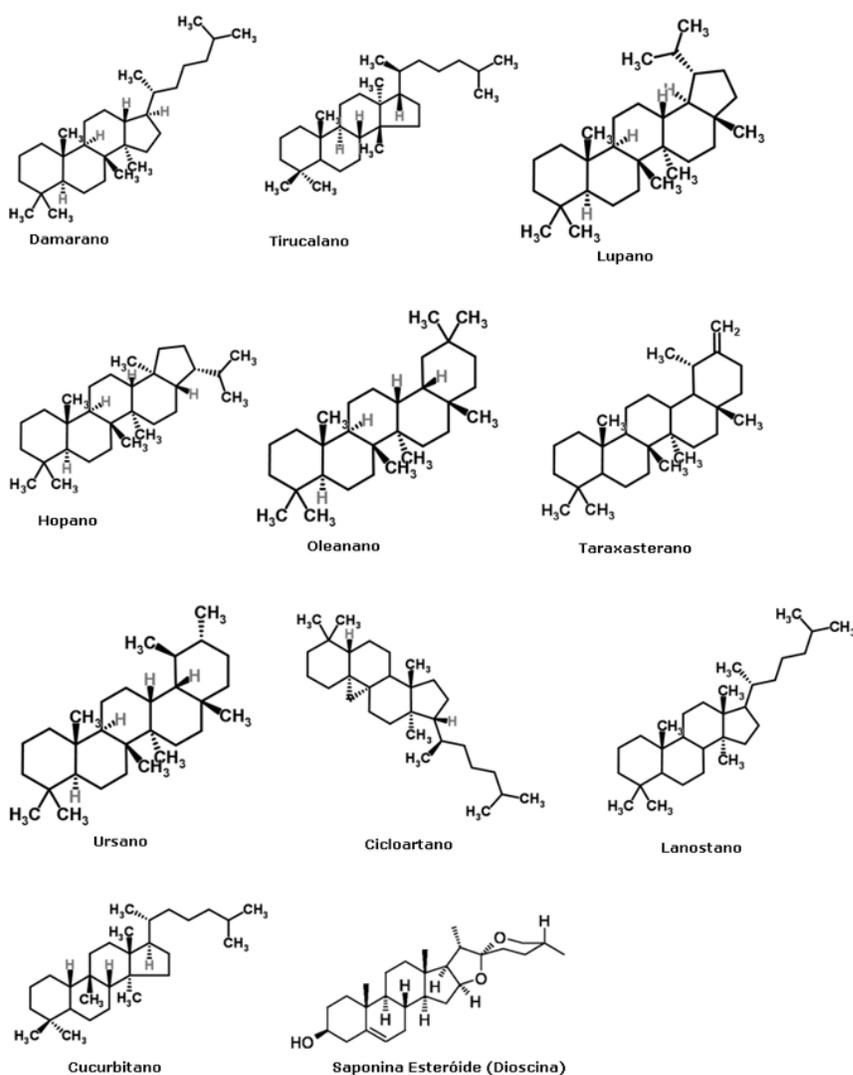


Figura 2. Os 11 principais esqueletos de saponinas, referidos por Man et al. (2010). Disponível em: <<http://www.chemspider.com/>> Acesso em: 18 nov. 2012.

Uma saponina esteróide nova, a furcreastatina, isolada de extrato etanólico de folhas de *Furcraea foetida* (L.) Haw. (Agavaceae), foi testada para toxicidade seletiva contra fibroblastos de ratos que possuíam expressão do gene mutante p53. Esse composto diminuiu a viabilidade das

células com o gene mutante p53 expresso, com uma concentração de ED₅₀ de 4µg/ml (SPARG; LIGHT; STADEN, 2004). Muitas saponinas isoladas têm demonstrado alta atividade citostática ou citotóxica contra linhagens celulares HL-60 de leucemia humana (YOKOSUKA et al., 2002). Lee et al. (1999) isolou um novo metabólito de saponina (IH-901) de *Panax ginseng*, que demonstrou atividade antitumoral *in vitro*. Esse composto foi testado contra quatro linhagens celulares de câncer humano e uma sublinhagem resistente à cisplatina (CDDP). Os resultados sugerem que essa saponina não possui resistência cruzada a CDDP nessa linhagem celular testada e, portanto, é uma importante candidata para o tratamento de câncer pulmonário CDDP resistente. Saponinas do isoladas de *Panax ginseng* e suas atividades profiláticas contra o câncer foram revisadas por Shibata (2001).

Embora se saiba que as saponinas sejam compostos abundantes no reino vegetal, o reino animal também pode nos oferecer saponinas com atividade antitumoral. Esse é o caso de Rodrigues, Castro e Riguera (1991), que apresentam as propriedades antitumorais das saponinas holoturinosídeos, ou seja, uma classe de saponinas obtida da *Holothuria forskalii*, um equinoderma popularmente conhecido como pepino-do-mar ou Holotúria. O trabalho testou a atividade dos holoturinosídeos A, B, C e D, isolados de Holotúrias, obtendo um resultado de uma atividade inibitória de células tumorais da linhagem P388 no valor de IC₅₀ de 0,38 mg/ml a 0,46 mg/ml.

Em relação ao emprego das saponinas na indústria farmacêutica, destaca-se o uso desses compostos como adjuvantes para aumentar a absorção de outros medicamentos através do aumento da solubilidade e interferência nos mecanismos de absorção, e seu emprego como adjuvante para aumentar a resposta biológica (SCHENKEL; GOSMANN; ATHAYDE, 2010). Adams et al. (2010) exemplifica claramente tal uso das saponinas, apresentando o composto QS-21, extraído da planta *Quillaja saponaria* (Figura 3), como um potente adjuvante, passível de ser empregado em vacinas antitumorais e vacinas antivirais. A saponina testada atuou aumentando a resposta imune ao antígeno co-administrado a ratos, em um valor de 87%, quando administrado uma dose de 10 µg do composto por via i.v.

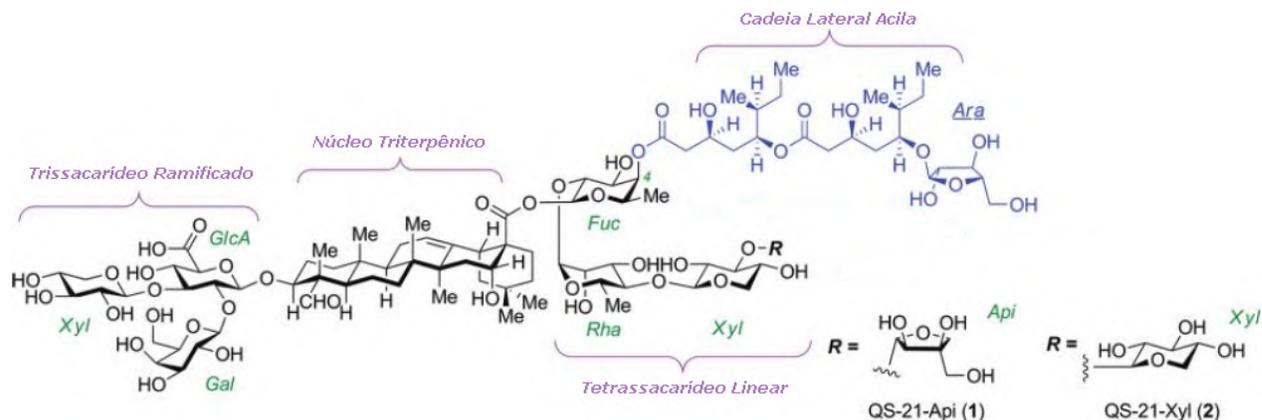


Figura 3. Estrutura do composto QS-21, distinguindo as diferentes porções da molécula. Ao lado da estrutura, as unidades açúcar passíveis de constituir a porção terminal do tetrassacarídeo linear. Fonte: ADAMS et al., 2010.

Por tamanha versatilidade e abundância no reino vegetal, é possível dizer que as saponinas constituem uma promessa da ciência, bem como para a indústria farmacêutica, na obtenção de novos produtos com atividade antitumoral, instigando, assim, o desenvolvimento de terapias inovadoras que venham a ser uma nova esperança na árdua luta contra o câncer.

1 OBJETIVOS

1.1 GERAIS

Apresentar, por meio de uma revisão bibliográfica, saponinas relatadas na literatura científica com atividades anti-câncer e citotóxica, no período de 2010 a 2012.

1.2 ESPECÍFICOS

Preparar uma revisão bibliográfica acerca das atividades antitumoral e citotóxica de saponinas, valendo-se de dados contidos em estudos *in vitro* e *in vivo*, obtidos da literatura entre o período de 2010 a 2012. E, ao longo dessa abordagem, apresentar o mecanismo geral de ação, envolvido por trás do efeito antitumoral e citotóxico das saponinas, tratadas nos trabalhos selecionados, bem como a relação estrutura-atividade envolvida na ação farmacológica desses compostos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Para encontrar os trabalhos, cujas informações vieram a compor essa revisão, realizou-se buscas nas bases de dados: Scielo, Pubmed, ScienceDirect, Bireme e Periódicos Capes, limitando a busca para artigos datados entre o período de 2010 a 2012. As palavras-chaves utilizadas nas buscas foram: “Saponin and antitumor”, “Saponin and antitumour” e “Saponin and anticancer”.

Um total de quarenta artigos foram obtidos das consultas às bases de dados citadas, desses, sendo nove artigos selecionados (em apêndice) para a abordagem da atividade anti-câncer e citotóxica de saponinas, bem como dos seus mecanismos de ação e da relação estrutura-atividade, pertinente a tais mecanismos, baseando-se na riqueza de detalhes com a qual esses itens foram abordados para o composto ou a classe de compostos em questão. Dessas nove referências, destaca-se o de Man et al. (2010), uma revisão bibliográfica, cujas informações serviram de base para a reunião e organização dos dados obtidos da literatura, apresentados no decorrer desse trabalho. Os demais artigos foram utilizados em uma breve revisão bibliográfica que auxiliou a compor a introdução.

3 SAPONINAS ANTITUMORAIS E CITOTÓXICAS

Para iniciar a abordagem acerca da atividade antitumoral das saponinas, bem como do mecanismo que rege sua ação farmacológica, uma referência indispensável é o trabalho de Man et al. (2010), uma extensa revisão bibliográfica sobre o mecanismo de atividade anti-câncer de saponinas empregadas na medicina. Nesse trabalho, os autores apresentam as principais famílias do reino vegetal nas quais constam saponinas detentoras de atividade antitumoral, distinguindo essas famílias de acordo com o tipo de saponina predominante, ou seja, saponinas do tipo esteróide ou triterpênica. Outra característica no artigo é o fato de ser um dos poucos trabalhos que apresentam a relação estrutura-atividade relatada para as saponinas, informação que constitui um ponto-chave para o entendimento a respeito da atividade farmacológica desses compostos.

3.1 MECANISMOS DE AÇÃO DAS SAPONINAS ANTITUMORAIS

3.1.1 Mecanismos Gerais

As saponinas agem por variados mecanismos de modo a perturbar a homeostase da célula tumoral, inibindo sua multiplicação ou acarretando sua morte por indução de apoptose (MAN et al., 2010).

Dentre esses mecanismos, encontra-se o dano mitocondrial, que compreende o ataque da substância à membrana da mitocôndria e à crista mitocondrial, de modo a prejudicar funções vitais à célula cancerosa e provocar sua morte por apoptose (JAYATILAKE et al., 2003). Algumas saponinas (como as avicinas, derivadas da *Acacia victoriae* (Fabaceae)) provocam o aumento da permeabilidade da membrana mitocondrial, inserindo-se na bicamada lipídica que constitui essa membrana. Esse aumento na permeabilidade da membrana mitocondrial acarreta a migração de uma proteína mitocondrial, conhecida como citocromo c, da mitocôndria ao citosol da célula. No citosol, o citocromo c ativa uma cascata sinalizadora mediada por proteínas conhecidas como caspases. A caspase-3 termina por clivar a proteína poli (ADP) ribose-polimerase (PARP), envolvida no reparo de DNA, inativando-a. Sem ter como reparar seu DNA, a célula entra em apoptose e morre. As saponinas também podem atuar danificando a crista

mitocondrial, uma região da organela onde ocorrem reações de oxi-redução vitais à célula, como a cadeia respiratória, terminando por provocar apoptose na célula (HARIDAS et al., 2000).

Outro mecanismo, pelo qual as saponinas podem atuar contra células tumorais, inclui o dano à membrana celular, que pode ocorrer por interação do composto com a bicamada lipídica, ou com proteínas de membrana específicas, levando à perturbação da membrana e à morte celular por apoptose (MAN et al., 2010).

Há saponinas (como as Saikosaponinas) que impedem a progressão do ciclo celular a partir da fase G₁, levando à apoptose da célula cancerosa. Tal fato ocorre, pois na fase G₁ a célula duplica seu número de organelas, duplicando também o aporte energético necessário para entrar na fase mitótica. Inibindo essa fase do ciclo celular, a célula tumoral não consegue se multiplicar, entrando em apoptose (HSU; KUO; LIN, 2004).

Outra maneira, pela qual saponinas induzem apoptose, ocorre por inibição da maquinaria transcripcional, por interação dessas substâncias com fatores de transcrição, bloqueando a ação das RNA-polimerases e, conseqüentemente, a transcrição de segmentos de DNA que darão origem a proteínas importantes à sobrevivência da célula tumoral (KANG et al., 2008).

Além desses mecanismos de indução de apoptose, as saponinas ainda podem provocar a morte da célula cancerosa por estresse no retículo endoplasmático rugoso (RER). Sabe-se, que aproximadamente 95% das proteínas presentes no RER encontram-se adequadamente enoveladas, portanto, em sua conformação estável. Porém, resta em torno de 5% de proteínas que não encontram-se enoveladas ou permanecem mal-enoveladas. Essas proteínas geralmente são degradadas em um processo mediado por enzimas específicas (ainda não conhecidas por completo), em um processo conhecido por *reação a proteínas mal-enoveladas*. Quando as enzimas envolvidas nesse processo são inibidas por algum fator químico, as proteínas mal-enoveladas acumulam-se no RER, causando seu estresse e levando a célula à morte por apoptose. Assim agem determinadas saponinas, como os tubeimosídeos (abordados mais adiante) sobre determinadas células tumorais (HARIDAS et al., 2009).

Por fim, as saponinas ainda podem atuar inibindo a angiogênese de tumores, ou seja, a proliferação das células endoteliais que originarão os vasos sanguíneos responsáveis pela irrigação do tumor. Esse é o caso de uma saponina derivada do *Panax japonicus*, conhecida como composto K, que será abordada mais adiante (ZHAO et al., 2010).

3.1.2 Mecanismos Relativos aos Tipos de Saponinas

Embora as saponinas do tipo **cicloartano** apresentem baixa atividade anti-câncer, podem ser usadas como adjuvantes com outros agentes quimioterápicos no tratamento de tumores. Um exemplo de emprego antitumoral de saponinas dessa classe são as saponinas derivadas do *Astragalus* ou *Astragalus* Saponins (ASs) (figura 4). Dastager et al. (apud MAN et al., 2010) colocam que tais saponinas possuem propriedades antitumorais contra células tumorais de câncer de cólon uterino humano e xenoenxertos tumorais. Os autores ainda destacam a supressão do crescimento de células HepG2 por indução de apoptose. Em adição, ASs poderiam ser usadas como adjuvantes em combinação com outros fármacos quimioterápicos tradicionais, como a 5-fluorouracila (5-FU), a fim de reduzir os efeitos colaterais desses últimos compostos (TIN et al. apud MAN et al., 2010).

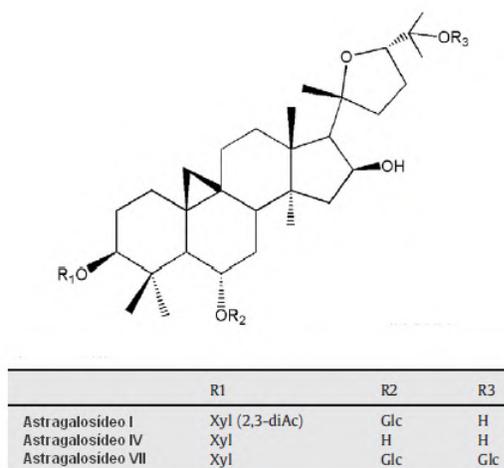


Figura 4. Estrutura básica dos astragalosídeos. Fonte: MAN et al., 2010.

A seguir, outra classe de saponinas é apresentada como detentora de atividade anti-câncer, os **damaranos**. O composto OSW-1 (figura 5), naturalmente encontrado em bulbos de *Ornithogalum saundersiae* (Hyacinthaceae), apresenta efeito citotóxico contra certas linhagens de células tumorais. A seletividade do composto para células malignas constitui-se outro ponto a destacar. Células não malignas são menos sensíveis ao composto OSW-1 em reação as células malignas, quando empregada uma concentração que inviabiliza 50% de células malignas. Microscopia eletrônica associada a análises bioquímicas revelam que a OSW-1 danifica a

membrana mitocondrial, bem como as cristas mitocondriais em células de leucemia humana e câncer pancreático humano, levando à perda do potencial transmembrana e o aumento do cálcio citosólico, o que acarreta a ativação da apoptose dependente de cálcio (MAN et al., 2010).

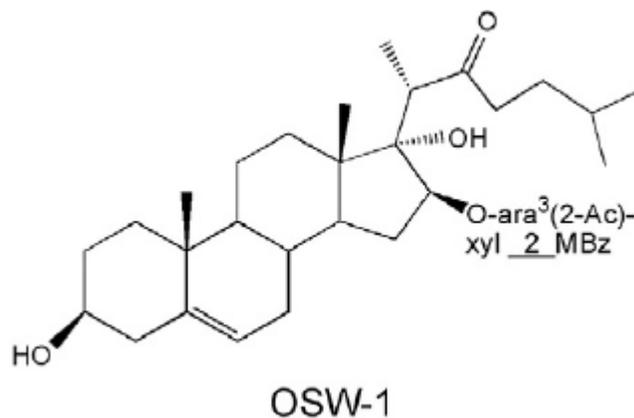


Figura 5. Estrutura da saponina OSW-1. Fonte: MAN et al., 2010.

Os **oleananos** constituem o grupo mais numeroso de saponinas encontradas na natureza. Seu efeito antitumoral pode se dar pelos mais variados mecanismos, como anti-câncer, anti-metástase, imunoestimulação, quimioprevenção, dentre outros. Avicinas, tubeimosídeos, saikosaponinas, platicodigeninas, saponinas da semente de soja (*Glycine max*) e saponinas da *Pulsatilla koreana* demonstraram efeito anti-câncer por diferentes mecanismos sinalizadores. Ainda, essas saponinas, exceto os tubeimosídeos e as saponinas da *Pulsatilla koreana* demonstraram imunoestimulação. Saikosaponinas, platicodigeninas e saponinas da semente de soja demonstraram atividade anti-metastática (MAN et al., 2010).

As avicinas (figura 6) são encontradas na espécie *Acacia victoriae*, uma leguminosa nativa de regiões semi-áridas da Austrália (ENCYCLOPEDIA OF LIFE, 2013). Atuam desfosforilando o fator de transcrição Stat3 nas mais variadas linhagens de células tumorais humanas, provocando um decréscimo na atividade transcriptional da Stat3. A Stat3 regula proteínas como as c-myc, a ciclina D1, a Bcl2, a survivina e o VEGF, importantes na síntese protéica, no crescimento e na replicação celular (HARIDAS et al., 2009). Avicinas D e G, os principais constituintes das avicinas induziram a inibição do crescimento de linfócitos T humanos, promovendo apoptose (HARIDAS et al., 2009) e desencadeando morte celular autofágica. Em adição, esses compostos diminuíram a atividade respiratória e induziram o efluxo de ATP após a inibição do canal de ânions voltagem-dependente na membrana mitocondrial externa (HARIDAS et al., 2009).

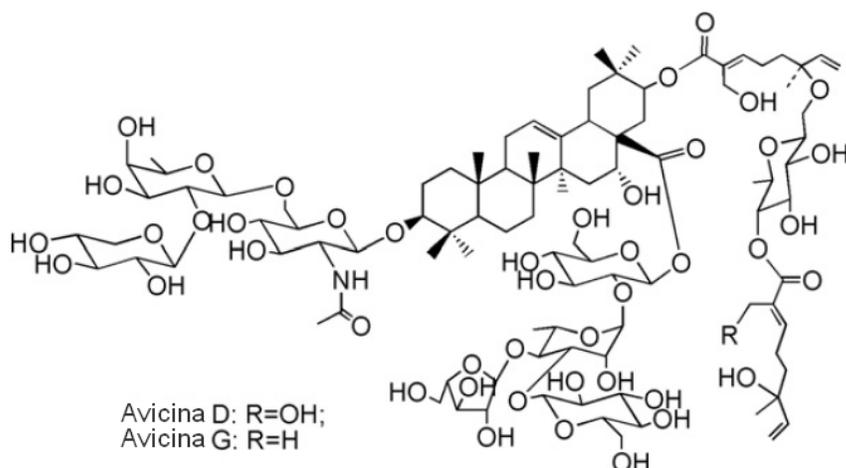


Figura 6. Estrutura básica das avicinas. Fonte: MAN et al., 2010.

Tubeimosídeo I (figura 7), uma das saponinas triterpenóides contidas no bulbo de *Bolbostemma paniculatum* (Maxim) Franquet, demonstrou-se um promissor agente de quimioprevenção do câncer. Esse composto provoca citotoxicidade em células HeLa por disfunção mitocondrial e estresse do retículo endoplasmático. Como agente anti-microtúbulos, pode ligar-se ao sítio de ligação da tubulina na colchicina (MAN et al., 2010).

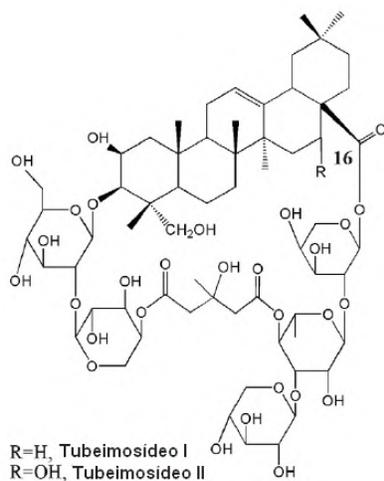


Figura 7. Estrutura de tubeimosídeos. Fonte: MAN et al., 2010.

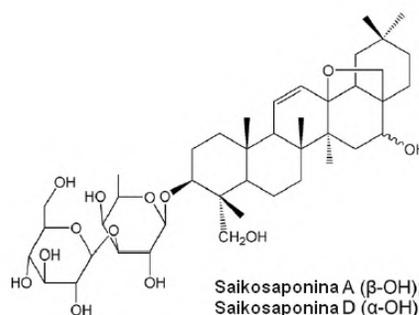


Figura 8. Estrutura de saikosaponinas. Fonte: MAN et al., 2010.

A Saikosaponina A (figura 8) reduz a atividade da maquinaria transcriptional mediada pelos genes p15 e p16, fator responsável pela inibição do crescimento de células HepG2 (WEN-SHENG apud MAN et al., 2010). O composto também mostrou inibir o crescimento e a

viabilidade de células das linhagens MDA-MB-231 e MCF-7 (ambas de câncer de mama), de uma forma dose-dependente. O tratamento com a Saikosaponina D diminuiu a proliferação de células HepG2 e Hep3B, de uma forma dose-dependente, induzindo, também, a apoptose em ambas as linhagens celulares. Em adição, a saikosaponina D inibiu a proliferação de células da linhagem A549 por indução da apoptose e o bloqueio da progressão do ciclo celular na fase G1 (MAN et al., 2010).

Saponinas derivadas da *Platycodon grandiflorum* podem suprimir a invasão e a migração tumoral pela inibição das proteínas MMP-2 e MMP-9. O Platycodon D (figura 9) é uma das platycodigeninas que representa uma candidata contra o câncer, devido a sua propriedade indutora de apoptose, por meio da clivagem e ativação de proteínas específicas. O composto ainda apresenta atividade antileucemia e anti-mitótica, promovendo apoptose e a supressão da atividade da telomerase em células de leucemia humana (DASTAGER et al., 2008).

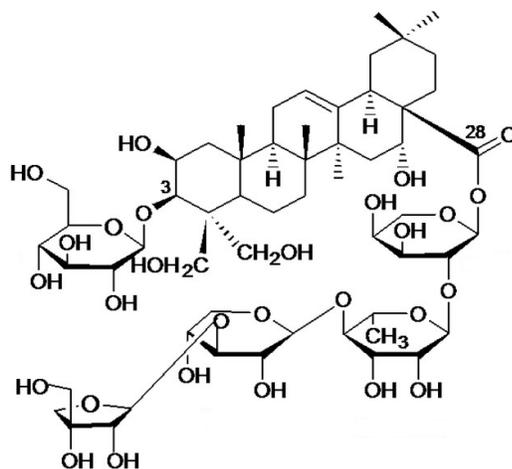


Figura 9. Estrutura do Platycodon D. Disponível em: <<https://www.thieme-connect.de/media/plantamedica/201214/w0104pm01.jpg>> Acesso em: 30 out. 2012.

As saponinas derivadas da semente de soja (Figura 10), da espécie *Glycine max* (Fabaceae) (MISSOURI BOTANICAL GARDEN, 2013.) inibem metástases de células tumorais pela supressão das proteínas MMP-2 e MMP-9, bem como pela estimulação da secreção da TIMP-2. Em doses fisiologicamente relevantes, essas saponinas podem suprimir células de câncer de cólon da linhagem HCT-15, por inibição da fase S do ciclo celular, o que acarreta a macroautofagia (ZHANG; POPOVICH, 2008).

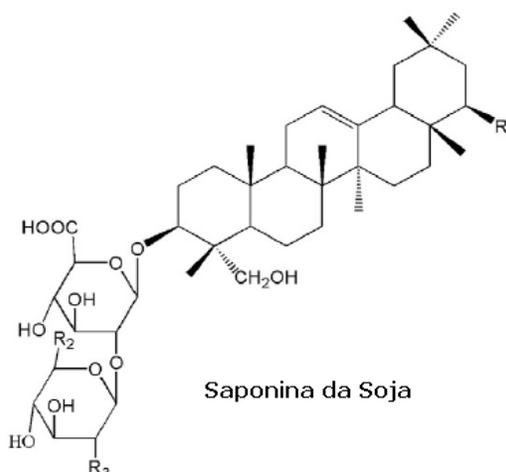


Figura 10. Estrutura geral de saponinas obtidas da semente de soja. Disponível em: <<http://ars.elsa-cdn.com/content/image/1-s2.0-S0027510799002250-gr6.gif>> Acesso em: 30 out. 2012.

As saponinas da *Pulsatilla koreana* (figura 11) foram testadas para sua atividade citotóxica *in vitro* contra as linhagens de células cancerosas A-549, SK-OV-3, SK-MEL-2 e HCT15, usando o método da sulforodamina B (SRB); e para sua atividade antitumoral *in vivo*, usando ratos do tipo BDF1, inoculados com carcinoma pulmonar de Lewis (LLC) (MAN et al. apud BANG et al., 2005). A saponina Pulsatilla D demonstrou uma potente taxa de inibição do crescimento tumoral (IR, 82%) na dose de 6,4 mg/kg em ratos BDF1 inoculados com células de LLC (GAO et al., 2003).

Dentre os **espirostanos**, a Polifilina D (PD) (figura 12), a formosanina C (figura 13) e a dioscina (figura 14), pertencentes à classe das saponinas diosgenila, demonstraram significativa atividade anti-câncer e imunoestimulativa (MAN et al., 2010). Uma recente pesquisa mostrou que a PD é um potente indutor de apoptose, por provocar disfunção mitocondrial na célula neoplásica em conjunto com estresse de retículo endoplasmático (SIU et al., 2008).

Além da PD e da formosanina C, há também a dioscina, o qual demonstrou potente atividade antiproliferativa contra muitas células de diversas linhagens de leucemia humana e tumores sólidos. Uma análise proteômica revelou que a dioscina induziu apoptose por via mitocondrial (WANG, Y. et al., 2006).

A formosanina C, principalmente encontrada em *Rhizoma paris* mostrou efeito em respostas imunes. Ratos tratados por via intraperitoneal com 1-2,5 mg/kg de formosanina C apresentaram retardo no crescimento do hepatoma MH134 transplantado subcutaneamente. O mecanismo da ação antitumoral da formosanina C pode estar relacionado com a modificação do

sistema imune, o que contribuiria para aumentar a atividade antitumoral do 5-. A ativação da caspase-2, em conjunto com a disfunção mitocondrial podem contribuir para o efeito antitumoral da formosanina C no em células HT-29 de câncer colo-retal humano (NAM et al., 2008).

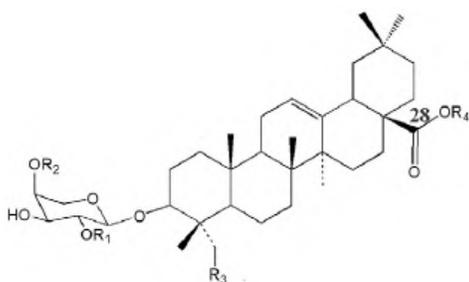


Figura 11. Estrutura de uma saponina da *Pulsatilla koreana*. Fonte: MAN et al., 2010.

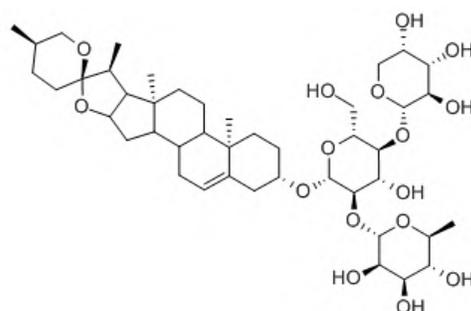


Figura 12. Estrutura da Polifilina D (PD). Disponível em: <<http://www.chemicalbook.com/CAS/GIF/50773-41-6.gif>> Acesso em: 12 nov. 2012.

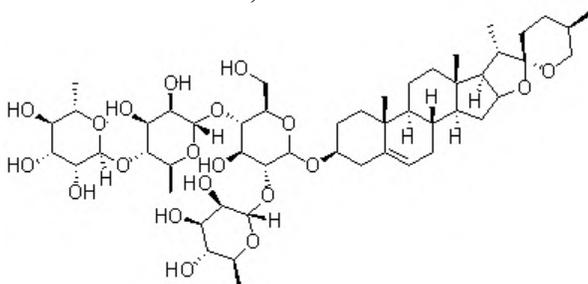


Figura 13. Estrutura da formosanina C. Disponível em: <<http://www.chemblink.com/structures/50773-42-7.gif>> Acesso em: 12 nov. 2012.

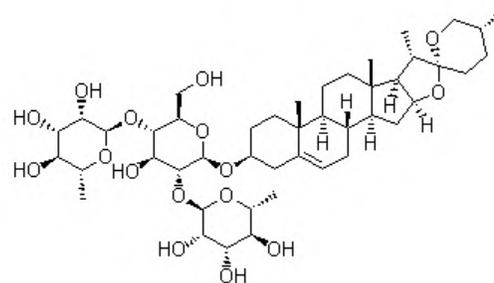


Figura 14. Estrutura da dioscina. Disponível em: <<http://www.chemblink.com/structures/19057-60-4.gif>> Acesso em: 12 nov. 2012.

Dentre a classe dos **furostanos**, muitos compostos demonstraram alguma atividade anticâncer, como a protoneodioscina, a protodioscina, a protoneogracilina e a protogracilina, bem como seus derivados, como a metil protoneodioscina, a metil protodioscina, a metil protoneogracilina e a metil protogracilina. Tais compostos demonstraram atividades citotóxicas contra células cancerosas da linhagem K562 (HU et al., 1997).

Desses compostos, em especial, a metil protogracilina (figura 15) foi citotóxica contra todos os tipos de células cancerosas contra as quais foi testada, incluindo células de leucemia e tumores sólidos do painel de câncer humano do NCI (*National Cancer Institute* – um órgão norte-americano direcionado ao tratamento do câncer e a pesquisas na área de oncologia). A metil protogracilina demonstrou seletividade contra células de câncer de cólon da linhagem KM12,

células cancerosas do sistema nervoso central (SNC) da linhagem U251, duas linhagens de melanomas (MALME-3M e M14), duas linhagens de câncer renal (786-0 e UO-31) e uma linhagem de câncer de mama (MDA-MB-231) (HU et al., 2001).

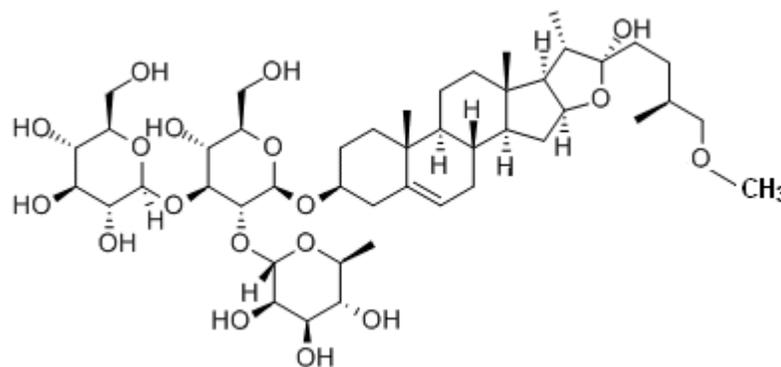


Figura 15. Estrutura da metil protogracilina. Disponível em: <<http://www.chemicalbook.com/CAS%5CGIF%5C54848-30-5.gif>> Acesso em: 05 jan. 2013.

Por toda a riqueza de conhecimentos que a revisão de Man et al. (2010) apresenta acerca das saponinas como agentes quimioterápicos, o trabalho desses autores foi escolhido como base para a abordagem a respeito das saponinas com atividade antitumoral. Semelhantemente a Man et al. (2010), os artigos obtidos da literatura para esta revisão bibliográfica foram distinguidos conforme a espécie de plantas de que tratavam, a família dessas, o tecido da planta, do qual era obtido as saponinas ou os extratos que as continham, os compostos bioativos, os antígenos (células tumorais) contra os quais foram testados, a metodologia utilizada, a dose de princípio ativo empregado e por fim, a referência da qual se obteve tais dados. Essas informações foram reunidas em uma tabela (Apêndice A), a fim de apresentar um panorama do conteúdo abordado, bem como a natureza dos principais artigos científicos que compõem tal abordagem.

3.2 RELAÇÃO ESTRUTURA QUÍMICA E ATIVIDADE ANTITUMORAL

Diferenças na estrutura das saponinas que incluem a estrutura da porção aglicona, o número de moléculas de açúcar aderido à porção aglicona por meio de ligações glicosídicas e a configuração desses açúcares podem influenciar significativamente a resposta biológica a esses compostos, especialmente, tratando-se de atividade antitumoral (MAN et al., 2010).

Quanto à influência da porção aglicona na atividade antitumoral das saponinas, observa-se que pequenas mudanças como na posição ou no número de grupos hidroxilas, bem como a alternância de configuração da aglicona (entre configuração R/S), podem provocar um discreto aumento na atividade. Mudanças de maiores proporções podem provocar diminuição ou perda na atividade (MAN et al., 2010).

A literatura indica que o grupo hidroxila da posição C-16 do tubeimosídeo II (figura 16) desempenha um importante papel no aumento da atividade biológica desse composto, bem como no decréscimo de sua toxicidade (YU; MA; YU, 2001).

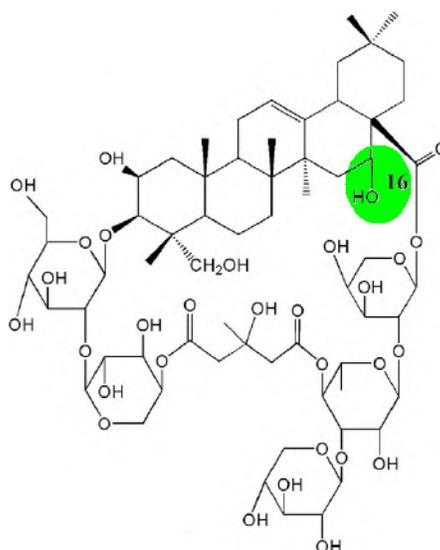
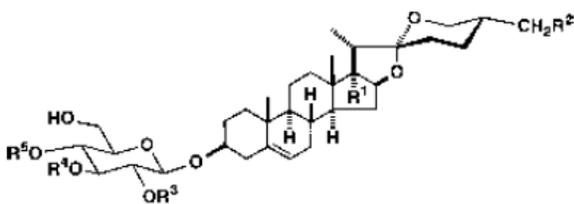


Figura 16. Estrutura do tubeimosídeo II, ressaltando o grupo hidroxila na posição C-16. Fonte: MAN et al., 2010.

Em relação às saponinas pennogenila e diosgenila contra células da linhagem HL-60 (ver os compostos 9-12 da figura 17), o grupo 17α -hidroxila da aglicona reduz fracamente suas citotoxicidades. Mudanças na posição C-27 da aglicona dessas saponinas, como a introdução de um grupo hidroxila ou de um monossacarídeo diminuem significativamente a atividade antitumoral desses compostos (ver os compostos 13 e 14 da figura 17) (MIMAKI et al., 2001).



	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	IC ₅₀ (µg/ml)
1	H	H	H	H	H	20.0 <
2	H	H	Rha	H	H	1.8
3	H	H	Rha	Glc	H	2.1
4	H	H	Rha	H	Glc	1.8
5	H	H	Rha	Rha	H	2.0
6	H	H	Rha	H	Rha	3.3
7	H	H	Rha	H	Araf	0.5
8	H	H	Rha	Gal	H	9.2
9	OH	H	Rha	H	H	5.1
10	OH	H	Rha	Glc	H	5.0
11	OH	H	Rha	H	Araf	1.5
12	OH	H	Rha	Gal	H	13.2
13	H	OH	Rha	H	H	20.0 <
14	H	OH	Rha	H	Glc	20.0 <
15	H	H	H	Rha	H	20.0 <
16	H	H	H	H	Rha	20.0 <

Glc: β-D-glucopyranosyl
 Gal: β-D-galactopyranosyl
 Rha: α-L-rhamnopyranosyl
 Araf: α-L-arabinofuranosyl

Figura 17. Efeito da substituição no C-17 (destacados em vermelho) e no C-27 (destacados em azul), na atividade antitumoral das saponinas pennogenila e diosgenila, contra células da linhagem HL-60. Fonte: MIMAKI et al., 2001.

Ginsenosídeos com estrutura damarano são enquadrados em dois principais subgrupos: os panaxadióis (PPD) e os panaxatrióis (PPT). Como a terminologia sugere, essa nomenclatura refere-se ao número de grupamentos hidroxilas presentes na aglicona da saponina. A literatura aponta atividades maiores para os compostos PPD em relação aos compostos PPT, indicando que hidroxilas associadas em demasia à porção aglicona do composto podem acarretar no decréscimo da atividade antitumoral desse. Ainda, as agliconas desses compostos são mais efetivas que do que suas porções glicosilas. Por exemplo, no caso dos ginsenosídeos Rh₁ e Rh₂ (figura 18), esses compostos possuem a mesma unidade glicosídica ligada à sua porção aglicona, diferindo apenas na posição da unidade açúcar no núcleo esteróide. O composto Rh₁ possui sua porção açúcar ligada ao carbono C-6, enquanto o composto Rh₂ possui sua unidade glicosídica ligada à posição C-3, o que explicaria a maior atividade indutora de apoptose do ginsenosídeo Rh₂ em relação ao Rh₁ (WANG, W. et al., 2007).

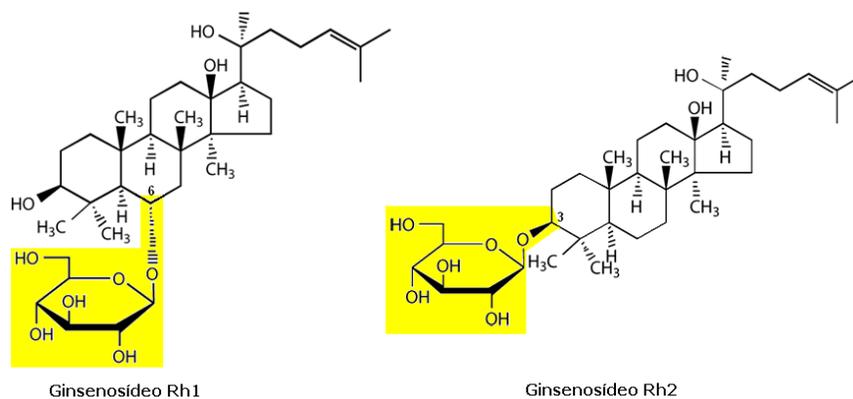


Figura 18. Estrutura dos ginsenosídeos Rh₁ (PPT) e Rh₂ (PPD), salientando a diferença dos compostos quanto à posição da unidade glicosídica.

Em relação às saponinas metil protoneogracilina (configuração S) e metil protogracilina (configuração R) (figura 19), baseando-se em estudos de relação estrutura-atividade presentes na literatura, a configuração R/S do carbono C-25 desempenha um papel crítico na seletividade de saponinas contra células tumorais de leucemia humana. (MAN et al., 2010). O ensaio *in vitro* de Hu e Yao (2003), empregou a metil protoneogracilina e a metil protogracilina contra várias linhagens de células tumorais (entre elas, as linhagens CCRF-CEM, MOLT-4 e PRMT-8226, todas de leucemia humana). Dos resultados obtidos, foi possível concluir que a diferença entre a configuração R e S do C-25 não acarreta diferenças na seletividade contra células de tumores sólidos, porém, desempenha um papel fundamental na seletividade contra células de tumores líquidos, sendo os compostos de configuração S (como a metil protoneogracilina) mais seletivos do que os de configuração R. Ainda, a saponina gracilina, do tipo espirostanol, demonstrou nenhuma atividade comparada às saponinas metil protoneogracilina e metil protogracilina (saponinas do tipo furostanol). Isso pode estar relacionado ao anel F da gracilina, cujo fechamento desempenha um papel fundamental no decréscimo da seletividade contra células de leucemia humana.

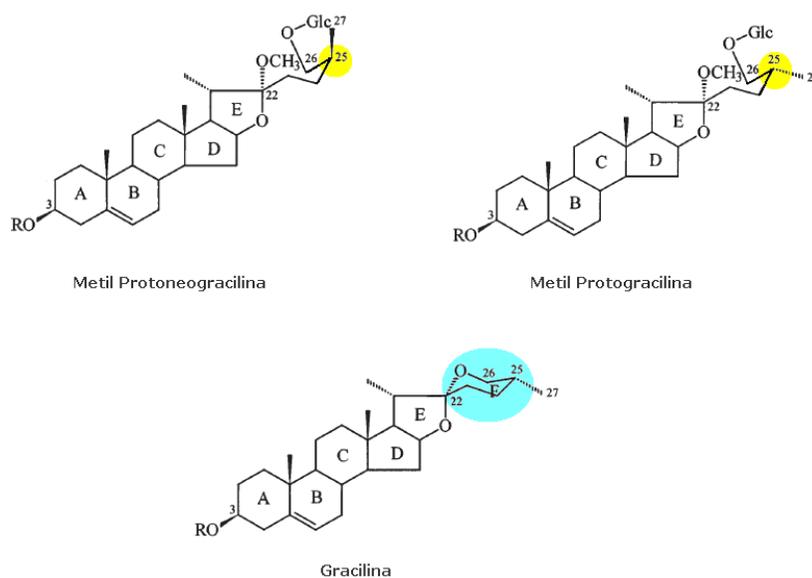
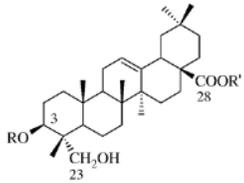


Figura 19. Estruturas da metil protoneogracilina e da metil protogracilina, ressaltando a configuração S e R do C-25, respectivamente. Também, a estrutura da gracilina, destacando o anel F fechado.

Comparando diferentes saponinas, a cadeia lateral do açúcar, o tipo de ligação efetuada pelo açúcar, o número de unidades glicosídicas ligadas à porção aglicona da saponina, o tipo de açúcar ligado à aglicona, bem como a posição dessa cadeia glicosídica na porção aglicona, são fatores que desempenham papel fundamental na atividade antitumoral (MAN et al., 2010). Por exemplo, comparando-se saponinas derivadas de hederagenina para células KB com a mesma porção aglicona e o mesmo comprimento da cadeia lateral glicosídica, o tipo de ligação formada pelas unidades açúcar determinam a potência da atividade antitumoral. Derivados de hederagenina que contêm ligações glicosídicas do tipo 1→2 e 1→3 geralmente demonstram uma atividade mais potente do que os compostos que exibem ligações glicosídicas do tipo 1→4 (figura 20) (CHWALEK et al., 2006).

O número de unidades glicosídicas aderidas à porção aglicona, desempenha importante influência no efeito antitumoral das saponinas, de modo que o aumento do número de moléculas de açúcar aderidas à porção aglicona reduz a potência do composto. As saponinas do tipo diosgenina contrariam essa regra em termos de atividade hemolítica (HD_{50}), tendo a diosgenina trissacarídica maior atividade hemolítica sobre eritrócitos humanos, comparada à sua congênera monossacarídica (figura 21) (WANG, W. et al., 2007).



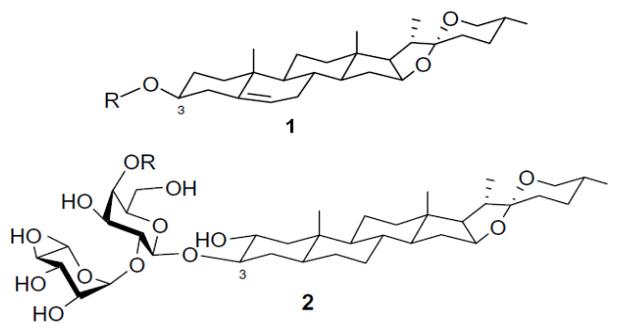
Osídico part	IC ₅₀ (μM)
α-L-Ara (1)	9.8 ± 0.3 ^a
α-L-Rha-(1→2)-α-L-Ara (2)	5.5 ± 0.1
α-L-Rha-(1→3)-α-L-Ara (4)	8.6 ± 0.3 ^a
α-L-Rha-(1→4)-α-L-Ara (5)	> 13.3 [5%] ^a
α-L-Rha-(1→2)-β-L-Ara (3)	> 13.3 [20%] ^b
β-D-Xyl-(1→2)-α-L-Ara (6)	8.7 ± 0.1 ^a
β-D-Xyl-(1→3)-α-L-Ara (8)	8.6 ± 0.2 ^a
β-D-Xyl-(1→4)-α-L-Ara (9)	9.0 ± 0.1 ^a
β-D-Xyl-(1→2)-β-L-Ara (7)	> 13.6 [31%] ^b
β-D-Glc-(1→2)-α-L-Ara (10)	> 13.0 [31%] ^b
β-D-Glc-(1→3)-α-L-Ara (12)	11.6 ± 0.3 ^a
β-D-Glc-(1→4)-α-L-Ara (13)	8.5 ± 0.7
β-D-Glc-(1→2)-β-L-Ara (11)	> 13.0 [43%] ^b
SN 38 ^a	0.1

R = α-L-Ara	R' = H (1)		
	R' = CH ₃ (1a)		
R = α-L-Rha-(1→2)-α-L-Ara	R' = H (2)		
	R' = CH ₃ (2a)		
R = α-L-Rha-(1→2)-β-L-Ara	R' = H (3)		
	R' = CH ₃ (3a)		
R = α-L-Rha-(1→3)-α-L-Ara	R' = H (4)		
	R' = CH ₃ (4a)		
R = α-L-Rha-(1→4)-α-L-Ara	R' = H (5)		
	R' = CH ₃ (5a)		
R = β-D-Xyl-(1→2)-α-L-Ara	R' = H (6)	R = β-D-Glc-(1→2)-α-L-Ara	R' = H (10)
	R' = CH ₃ (6a)		R' = CH ₃ (10a)
R = β-D-Xyl-(1→2)-β-L-Ara	R' = H (7)	R = β-D-Glc-(1→2)-β-L-Ara	R' = H (11)
	R' = CH ₃ (7a)		R' = CH ₃ (11a)
R = β-D-Xyl-(1→3)-α-L-Ara	R' = H (8)	R = β-D-Glc-(1→3)-α-L-Ara	R' = H (12)
	R' = CH ₃ (8a)		R' = CH ₃ (12a)
R = β-D-Xyl-(1→4)-α-L-Ara	R' = H (9)	R = β-D-Glc-(1→4)-α-L-Ara	R' = H (13)
	R' = CH ₃ (9a)		R' = CH ₃ (13a)

^a valor em 24 horas de incubação em meio de cultura DMEF-10%FCS.

^b Percentagem de morte celular observada nessa respectiva concentração.

Figura 20. Estrutura das saponinas de hederagenina, apresentando diferentes tipos de cadeias laterais glicosídicas, e atividade inibitória IC₅₀ sobre células KB, relativa ao tipo de cadeia lateral glicosídica e ao tipo de ligação formada pelas unidades de açúcar. Fonte: CHWALEK et al., 2006.



	HD ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)
1 R = β-D-Glc-(1→	≥ 100 (no activity at 100 μg/mL)	> 34.5 ^a
2 R = α-L-Rha	9.6 ± 0.6	3.9 ^b

^a ensaio realizado contra células tumorais HL-60.

^b ensaio realizado contra células tumorais A-549.

Figura 21. Efeito do número de unidades de açúcar ligadas à porção aglicona sobre a atividade hemolítica e a atividade citotóxica de saponinas do tipo diosgenina. Dados experimentais: WANG, Y. et al., 2007.

Outro trabalho a ser citado é o de Kuljanabhadgavad et al. (2008), que trata da atividade citotóxica de quatro saponinas triterpênicas obtidas da *Chenopodium quinoa* Willd.

(Chenopodiaceae), conhecida como quinoa. A quinoa é uma planta extensamente consumida como alimento nas comunidades andinas. É conhecida por conter altos teores de proteínas e por ser particularmente rica em aminoácidos essenciais e carboidratos, possuindo um valor nutricional maior do que o de outros cereais, como o milho, a aveia, o trigo e o arroz (KULJANABHAGAVAD et al., 2008). Estudos com saponinas isoladas das sementes de *C. quinoa* demonstraram que os compostos presentes nessa planta exercem atividade antimicrobiana, antiviral e redutora das taxas de colesterol, e aumentam a absorção de fármacos pela membrana das mucosas. Essas saponinas também agem como adjuvante imunológico e de absorção, aumentando a resposta antígeno-anticorpo (ESTRADA; LI; LAARVELD, 1998). Utilizando essas informações Kuljanabhagavad et al. (2008) realizaram estudo centrado no isolamento, na elucidação estrutural, nas atividades biológicas e na relação estrutura-atividade das saponinas e suas agliconas contidas na *C. quinoa*.

As saponinas obtidas das cascas de sementes, das sementes e das flores de *C. quinoa*, convertidos em pó, foram isoladas por uma combinação de cromatografia em coluna de gel de sílica, resultando em vinte compostos (figura 22), cuja pureza foi confirmada utilizando cromatografia líquida de alta resolução (CLAE). Já as estruturas dos compostos foram elucidadas por meio de técnicas de espectrometria de massas, RMN ^1H e ^{13}C (KULJANABHAGAVAD et al., 2008).

Dos compostos isolados, apenas os compostos 1-4, considerados novos, bem como suas agliconas, o ácido 3 β -hidróxi-23-oxo-olean-12-en-28-óico (I), o ácido 3 β -hidróxi-27-oxo-olean-12-en-28-óico (II) e o ácido serjânico (III) foram testados para atividade citotóxica em células HeLa, empregando o método MTT. Posteriormente, comentou-se a relação estrutura-atividade que regeria a ação citotóxica desses compostos (KULJANABHAGAVAD et al., 2008).

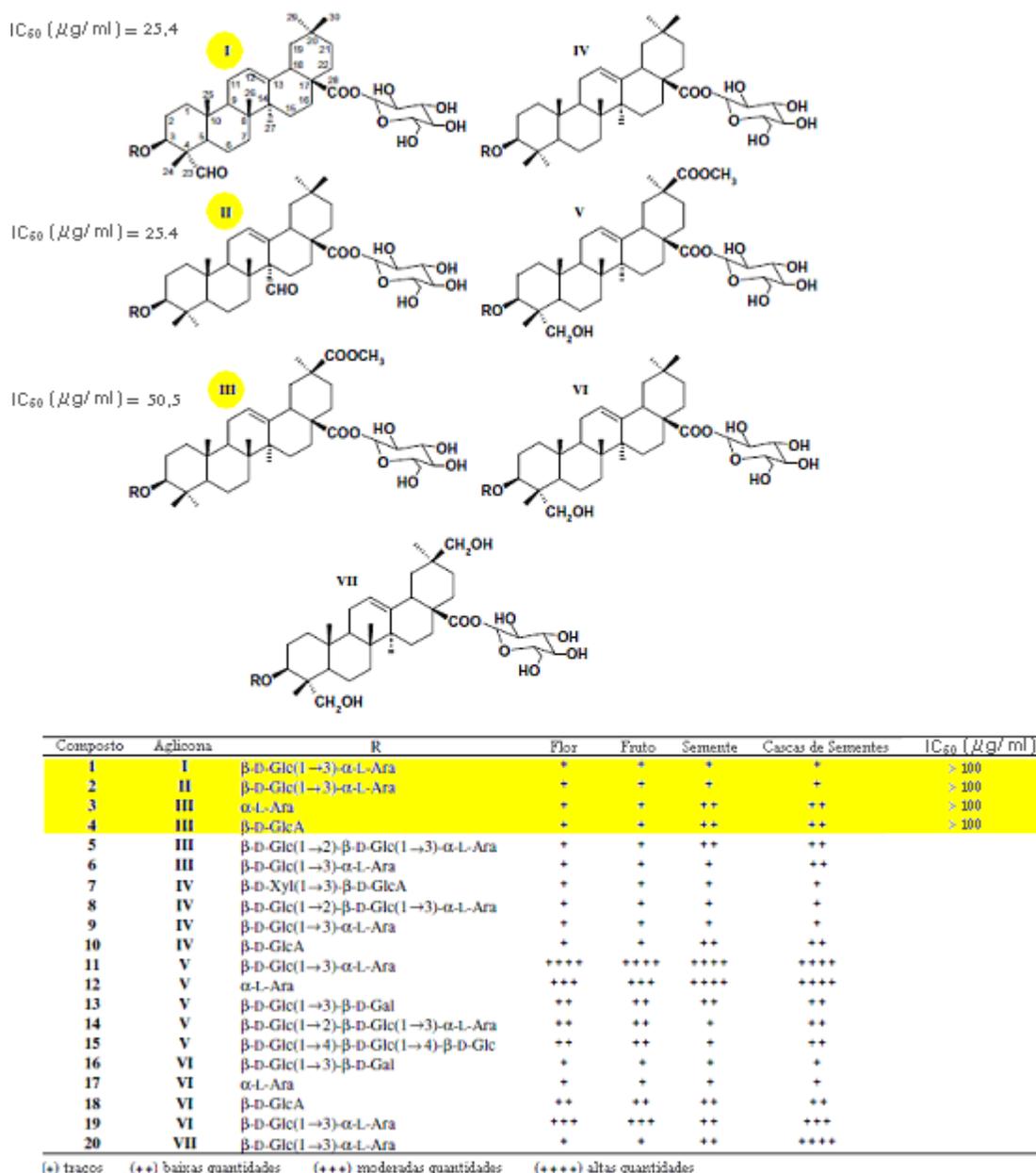


Figura 22. Estrutura dos compostos extraídos da *Chenopodium quinoa*. Em destaque, os compostos testados para atividade citotóxica, bem como suas respectivas agliconas. Fonte: KULJANABHAGAVAD et al., 2008.

Os efeitos citotóxicos das saponinas 1 e 2 foram muito similares ($IC_{50} > 100 \mu\text{g/ml}$). Esses compostos têm o mesmo peso molecular e ambos apresentam açúcares na posição C-3 unidos por ligação 1 \rightarrow 3, assim como uma unidade glicose presente na posição C-28. As agliconas das saponinas 1 e 2 são diferentes, sendo a da saponina 1, o ácido 3 β -hidróxi-23-oxo-olean-12-en-28-óico (I), e a da saponina 2, o ácido 3 β -hidróxi-27-oxo-olean-12-en-28-óico (II), respectivamente. Entretanto, ambas as agliconas apresentam a mesma atividade IC_{50} de 25,4 $\mu\text{g/ml}$. Uma

explicação para tal resultado, pode ser que grupamentos CHO na posição C-23 ou na posição C-27 estão correlacionados com o aumento da atividade citotóxica desses compostos, pois formam bases de Schiff com os prótons de grupos amino e com bases de DNA. Alguns autores apontam a substituição do grupo hidroximetileno na posição C-23 como promotor da atividade citotóxica, assim como a presença de um ácido carboxílico livre na posição C-28 como essencial para a citotoxicidade (BANG et al., 2005).

Os efeitos citotóxicos das saponinas bidesmosídicas 3 e 4 foram muito similares ($IC_{50} > 100 \mu\text{g/ml}$). Esses compostos possuem a mesma aglicona (ácido serjânico (III), $IC_{50} 50 \mu\text{g/ml}$), mas diferentes unidades açúcar ligadas à posição C-3. O composto 3 contém a arabinose na posição C-3, enquanto o composto 4 contém o ácido glicurônico nessa mesma posição. Ambos os compostos têm uma glicose ligada à posição C-28 (KULJANABHAGAVAD et al., 2008).

Os resultados demonstraram que as substituições nas agliconas I, II e III não provocam o aumento da citotoxicidade da aglicona. Sabe-se que essas agliconas não possuem atividade sobre a biomembrana de células cancerosas, mas agem sobre outros alvos, como proteínas que possuem grupos funcionais reativos, como o grupo aldeído (KULJANABHAGAVAD et al., 2008).

Dando seqüência à abordagem acerca da relação estrutura-atividade de saponinas antitumorais, tem-se o trabalho de Chwalek et al. (2006), elegido, para essa revisão bibliográfica, como o segundo mais importante artigo científico a tratar desse tema. Nesse estudo, os autores realizaram a síntese de treze diglicosídeos de hederagenina, testando e avaliando suas atividades hemolítica e citotóxica. Por fim, os autores realizaram comparações entre os compostos sintetizados, elaborando um extenso estudo da relação estrutura-atividade e o efeito hemolítico e antitumoral dessas saponinas. A hederagenina é uma classe de triterpenóides naturais, distribuída em abundância entre os grandes vegetais. Esse grupo contém muitas saponinas detentoras de atividade hemolítica, como a δ -hederina e a α -hederina, essa última, possuindo, além da forte atividade hemolítica, a atividade moluscicida e citotóxica (BARTHOMEUF et al., 2002) contra vários tipos de linhagens de células cancerosas. Estudos relatam que a α -hederagenina afeta células tumorais por indução de apoptose e alterações na membrana da célula neoplásica (DANLOY et al., 1994). Entretanto, são escassos os estudos comparativos da relação-estrutura-atividade relacionada aos efeitos farmacológicos das saponinas de hederagenina, fato que acabou instigando o estudo de Chwalek et al. (2006).

O primeiro passo do estudo foi a síntese da δ -hederina, da α -hederina, bem como de onze análogos (figura 23), usando métodos de síntese química previamente descritos por Plé, Chwalek e Voutquenne-Nazabadioko (apud CHWALEK et al., 2006).

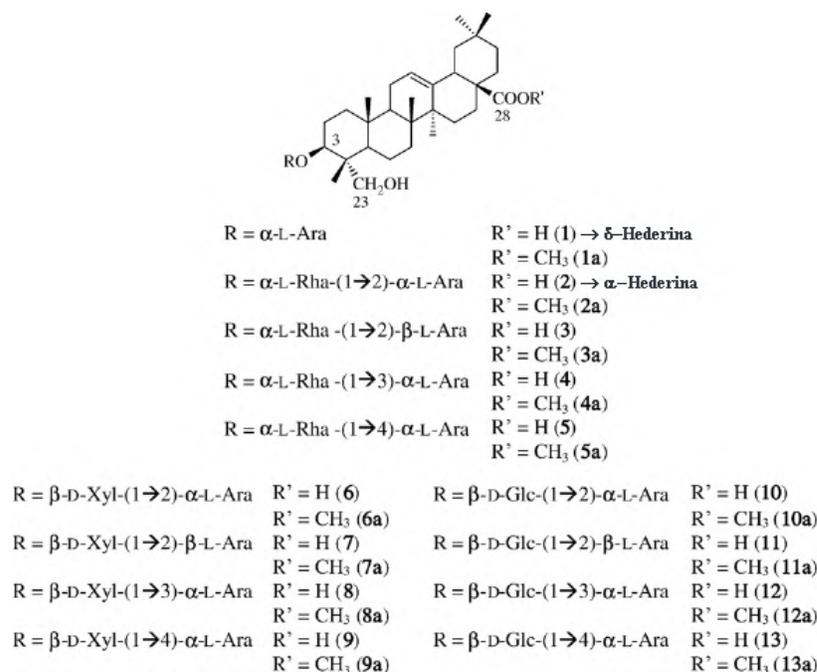


Figura 23. Estrutura da δ -hederina, da α -hederina e dos seus análogos. Fonte: CHWALEK et al., 2006.

Para a avaliação da atividade hemolítica HD₅₀ e HD₁₀₀, foram utilizados eritrócitos de carneiro, contra os quais foram testadas concentrações de 1 a 100 μ g/ml de cada saponina sintetizada. Já a atividade inibitória do crescimento IC₅₀ foi mensurada empregando-se concentrações de 1, 2,5, 5, 7,5 e 10 μ g/ml de cada saponina sintetizada contra células KB, cultivadas em meio HAM F12. Inicialmente, foi determinado o IC₅₀ da α -hederina, empregada contra células KB cultivadas nos meios de cultura DMEM-10% FCS e HAM F12. O motivo de testar a atividade IC₅₀ da α -hederina em dois diferentes meios de cultura foi avaliar a influência do meio na inibição do crescimento celular. Por fim, o IC₅₀ foi determinado pelo método MTT e por espectrofotometria, empregando-se um comprimento de onda de 540nm (CHWALEK et al., 2006).

Quanto à influência do meio na inibição do crescimento celular, constatou-se que a citotoxicidade da α -hederina, na concentração mais alta testada (10 μ g/ml), foi de 29% no meio

DMEM-10% FCS e 97% no meio HAM F12, motivo pelo qual esse último meio foi escolhido para os testes com as demais saponinas (CHWALEK et al., 2006).

Tratando-se da citotoxicidade, o α -hederina foi o composto mais ativo, com um IC_{50} de 5,5 μ M. Os compostos possuindo a β -L-arabinose em sua cadeia lateral glicosídica (os compostos 3, 7 e 11, mostrados na figura 23), apresentaram as mais fracas atividades citotóxicas (tabela 1). Já as saponinas possuindo uma α -L-arabinose como segunda unidade açúcar, como a α -hederina (composto 2) e a saponina de número 4 (figura 23), demonstraram forte atividade citotóxica (IC_{50} de 5,5 e 8,6 μ M, para os compostos 2 e 4, respectivamente). Quando a α -L-arabinose foi substituída com uma β -D-xilose (compostos 6, 8 e 9) a inibição do crescimento manteve valores semelhantes (IC_{50} de 8,7, 8,6 e 9,0 μ M, para os compostos 6, 8 e 9, respectivamente). Entre saponinas possuindo a β -D-glicose como segundo açúcar (compostos 10, 12 e 13), a saponina 10 (com a ligação glicosídica do tipo (1 \rightarrow 2)) teve a citotoxicidade mais fraca em todas as concentrações testadas ($IC_{50} >13,0$ μ M). Já as saponinas 12 (ligação glicosídica (1 \rightarrow 3) e IC_{50} de 11,6 μ M) e a saponina 13 (ligação (1 \rightarrow 4) e IC_{50} de 8,5 μ M) foram menos ativas que a α -hederina, mas ainda assim, mais ativas que a saponina 10. Comparando-se as atividades do composto 1 (IC_{50} de 9,8 μ M) e do composto 1a (IC_{50} de 14,3 μ M), é possível notar que a esterificação da δ -hederina (1a) induz um decréscimo na atividade citotóxica. A esterificação da α -hederina (composto 2a, IC_{50} de 5,5 μ M) não influencia na inibição do crescimento das células KB. Já para saponinas metiladas contendo α -L-ramnose como segunda unidade açúcar (compostos 3a-5a), observou-se um leve aumento da atividade citotóxica do composto 3a (IC_{50} de 13,1 μ M), que possui uma β -L-arabinose como primeira unidade açúcar, bem como da atividade citotóxica do composto 5a ($IC_{50} >13,1$), inativo em sua forma carboxilada (composto 5, $IC_{50} >13,3$ μ M). Quando a L-arabinose foi substituída pela β -D-xilose (compostos 6a-9a) houve decréscimo da atividade citotóxica em relação a dos compostos 6-9 (tabela 1), exceto para o composto 7a, possuindo uma β -L-arabinose. O composto 8a (ligação glicosídica (1 \rightarrow 3), $IC_{50} >13,3$ μ M) não foi mais citotóxico do que a sua forma natural, o composto 8 (IC_{50} de 8,6 μ M). Na série dos compostos contendo uma unidade glicose como açúcar secundário (10a-13a, tabela 1), a esterificação diminuiu a atividade citotóxica, exceto para a saponina 10a (com uma ligação glicosídica (1 \rightarrow 2)). O composto 11a, possuindo uma β -L-arabinose, foi o menos citotóxico (CHWALEK et al., 2006).

Tabela 1. Atividades IC₅₀ das treze saponinas contendo L- arabinose , sintetizadas por Chwalek et al. (2006) (coluna esquerda). Na coluna direita, os análogos metil éster dos treze compostos, denominados de série a, e suas respectivas atividades citotóxicas inibidoras do crescimento celular.

Osídico part	IC ₅₀ (µM)	Osídico part	IC ₅₀ (µM)
α-L-Ara (1)	9.8 ± 0.3	α-L-Ara (1a)	14.3 ± 0.5
α-L-Rha-(1→2)-α-L-Ara (2)	5.5 ± 0.1	α-L-Rha-(1→2)-α-L-Ara (2a)	5.5 ± 0.2
α-L-Rha-(1→3)-α-L-Ara (4)	8.6 ± 0.3	α-L-Rha-(1→3)-α-L-Ara (4a)	9.6 ± 0.2
α-L-Rha-(1→4)-α-L-Ara (5)	> 13.3 [5%]	α-L-Rha-(1→4)-α-L-Ara (5a)	> 13.1 [20%]
α-L-Rha-(1→2)-β-L-Ara (3)	> 13.3 [20%]	α-L-Rha-(1→2)-β-L-Ara (3a)	13.1 ± 0.3
β-D-Xyl-(1→2)-α-L-Ara (6)	8.7 ± 0.1	β-D-Xyl-(1→2)-α-L-Ara (6a)	9.5 ± 0.6
β-D-Xyl-(1→3)-α-L-Ara (8)	8.6 ± 0.2	β-D-Xyl-(1→3)-α-L-Ara (8a)	> 13.3 [25%]
β-D-Xyl-(1→4)-α-L-Ara (9)	9.0 ± 0.1	β-D-Xyl-(1→4)-α-L-Ara (9a)	13.3 ± 0.1
β-D-Xyl-(1→2)-β-L-Ara (7)	> 13.6 [31%]	β-D-Xyl-(1→2)-β-L-Ara (7a)	> 13.3 [42%]
β-D-Glc-(1→2)-α-L-Ara (10)	> 13.0 [31%]	β-D-Glc-(1→2)-α-L-Ara (10a)	11.5 ± 0.5
β-D-Glc-(1→3)-α-L-Ara (12)	11.6 ± 0.3	β-D-Glc-(1→3)-α-L-Ara (12a)	12.8 ± 0.1
β-D-Glc-(1→4)-α-L-Ara (13)	8.5 ± 0.7	β-D-Glc-(1→4)-α-L-Ara (13a)	10.4 ± 0.3
β-D-Glc-(1→2)-β-L-Ara (11)	> 13.0 [43%]	β-D-Glc-(1→2)-β-L-Ara (11a)	> 12.8 [20%]
SN 38 ^a	0.1	SN 38 ^a	0.1

Fonte: CHWALEK et al., 2006.

Quanto à atividade hemolítica (HD₅₀ e HD₁₀₀), a α-hederina (HD₅₀ = 11,3 µM e HD₁₀₀ = 28,8 µM) também demonstrou-se mais ativa dentre os demais compostos contendo L-arabinose, que foram testados. A δ-hederina, que possui apenas um açúcar na cadeia glicosídica, demonstrou uma considerável atividade hemolítica (HD₅₀ = 14,0 µM e HD₁₀₀ = 41,1 µM), embora fracamente menos ativa que a da α-hederina. Comparando-se as atividades hemolíticas das saponinas 2-5, contendo uma α-L-ramnopiranosose como segunda unidade açúcar, a saponina 3, com uma configuração β-L anomérica para a arabinopiranosose, demonstrou fraca atividade hemolítica (HD₅₀ = nenhuma atividade hemolítica observada e HD₁₀₀ > 133 µM) até mesmo para as mais altas concentrações em que foi testada. A substituição na posição 2 da α-L-arabinopiranosose, foi aproximadamente duas vezes mais hemolítica do que a substituição na posição 3 e cinco vezes mais hemolítica do que a substituição observada para o composto 5, que contem uma ligação glicosídica do tipo (1→4) (tabela 2). Dentre as atividades dos compostos 6-9, com a β-D-xilopiranosose como unidade secundária de açúcar, a saponina 7 foi inativa para todas as concentrações testadas. A atividade fracamente aumentou para o composto 8 (ligação glicosídica

(1→3)), 6 (ligação (1→2)) e 9 (ligação (1→4)), nessa respectiva ordem (tabela 2). Na série das saponinas contendo glicose como açúcar secundário (compostos 10-13), as saponinas 10 e 11 (possuindo uma ligação (1→2), não demonstraram atividade hemolítica. Em compensação, o composto 13, contendo uma ligação glicosídica (1→4), foi o mais ativo dessas saponinas (10-13), com valores de $HD_{50} = 20,0 \mu\text{M}$ e $HD_{100} = 32,6 \mu\text{M}$, em contraste com as séries de saponinas 2, 4 e 5, contendo uma α -L-ramnopirranose na cadeia glicosídica (em que a saponina mais ativa foi a 2, contendo uma ligação (1→2)), e a série das saponinas 6, 8 e 9 (em que a saponina mais ativa foi a 8, contendo uma ligação (1→3)) (CHWALEK et al., 2006).

Um aumento geral na atividade hemolítica foi observado para os metil ésteres de saponinas (1a-13a), quando comparados a seus correspondentes ácidos carboxílicos (tabela 2). Três exceções foram observadas com os compostos 4a e 8a, possuindo uma ligação glicosídica (1→3) e com o composto 13a, com uma ligação (1→4). Isso, porque as atividades desses compostos foram praticamente idênticas as dos seus derivativos ácidos carboxílicos de hederagenina (compostos 4, 8 e 13). O aumento na atividade hemolítica das saponinas foi muito significativo, especialmente, no caso da saponina 10a, possuindo uma ligação glicosídica (1→2) entre a β -D-glicose e a α -L-arabinose ($HD_{50} = 6,6 \mu\text{M}$ e $HD_{100} = 10,7 \mu\text{M}$). Enquanto esse composto foi inativo em sua forma natural (composto 10), na forma metil éster foi a saponina mais hemolítica. Essa saponina foi aproximadamente três vezes mais ativa do que a saponina 13a ($HD_{50} = 18,8 \mu\text{M}$ e $HD_{100} = 25,6 \mu\text{M}$), contendo uma ligação glicosídica (1→4). Para as saponinas esterificadas (1a-13a), a ordem da atividade hemolítica em cada série não foi a mesma que a observada para suas respectivas séries ácido carboxílico. A α -hederina metil éster (2a) possuindo uma ligação glicosídica (1→2) entre a α -L-ramnose e a α -L-arabinose foi uma das duas mais ativas saponinas ($HD_{50} = 6,8 \mu\text{M}$ e $HD_{100} = 13,1 \mu\text{M}$). As saponinas menos hemolíticas foram aquelas detentoras de uma configuração β anomérica para a L-arabinose (os compostos 3a, 7a e 11a). A saponina 7a, entretanto, demonstrou atividade hemolítica de 100% quando altas concentrações foram testadas (CHWALEK et al., 2006).

Tabela 2. Atividades HD₅₀ e HD₁₀₀ das treze saponinas contendo L- arabinose , sintetizadas por Chwalek et al. (2006) (coluna esquerda). Na coluna direita, os análogos metil éster dos treze compostos, denominados de série a, e suas respectivas atividades hemolíticas.

Osídico part	HD ₅₀ (µM)	Osídico part	HD ₅₀ (µM)
α-L-Ara (1)	14.0 ± 0.3	α-L-Ara (1a)	11.0 ± 0.2
α-L-Rha-(1→2)-α-L-Ara (2)	11.3 ± 0.1	α-L-Rha-(1→2)-α-L-Ara (2a)	6.8 ± 0.3
α-L-Rha-(1→3)-α-L-Ara (4)	20.5 ± 0.1	α-L-Rha-(1→3)-α-L-Ara (4a)	18.3 ± 1.7
α-L-Rha-(1→4)-α-L-Ara (5)	58.4 ± 0.2	α-L-Rha-(1→4)-α-L-Ara (5a)	11.0 ± 0.2
α-L-Rha-(1→2)-β-L-Ara (3)	nha	α-L-Rha-(1→2)-β-L-Ara (3a)	nha
β-D-Xyl-(1→2)-α-L-Ara (6)	29.9 ± 0.1	β-D-Xyl-(1→2)-α-L-Ara (6a)	11.8 ± 0.1
β-D-Xyl-(1→3)-α-L-Ara (8)	26.1 ± 1.2	β-D-Xyl-(1→3)-α-L-Ara (8a)	21.1 ± 0.4
β-D-Xyl-(1→4)-α-L-Ara (9)	38.8 ± 0.5	β-D-Xyl-(1→4)-α-L-Ara (9a)	29.6 ± 0.5
β-D-Xyl-(1→2)-β-L-Ara (7)	nha	β-D-Xyl-(1→2)-β-L-Ara (7a)	108.2 ± 3.1
β-D-Glc-(1→2)-α-L-Ara (10)	nha	β-D-Glc-(1→2)-α-L-Ara (10a)	6.6 ± 0.2
β-D-Glc-(1→3)-α-L-Ara (12)	44.9 ± 0.6	β-D-Glc-(1→3)-α-L-Ara (12a)	35.0 ± 0.4
β-D-Glc-(1→4)-α-L-Ara (13)	20.0 ± 0.2	β-D-Glc-(1→4)-α-L-Ara (13a)	18.8 ± 0.2
β-D-Glc-(1→2)-β-L-Ara (11)	nha	β-D-Glc-(1→2)-β-L-Ara (11a)	nha
Osídico part	HD ₁₀₀ (µM)	Osídico part	HD ₁₀₀ (µM)
α-L-Ara (1)	41.1	α-L-Ara (1a)	16.1
α-L-Rha-(1→2)-α-L-Ara (2)	28.8	α-L-Rha-(1→2)-α-L-Ara (2a)	13.1
α-L-Rha-(1→3)-α-L-Ara (4)	33.3	α-L-Rha-(1→3)-α-L-Ara (4a)	39.2
α-L-Rha-(1→4)-α-L-Ara (5)	66.6	α-L-Rha-(1→4)-α-L-Ara (5a)	26.1
α-L-Rha-(1→2)-β-L-Ara (3)	> 133 [19%]	α-L-Rha-(1→2)-β-L-Ara (3a)	> 131 [37%]
β-D-Xyl-(1→2)-α-L-Ara (6)	40.7	β-D-Xyl-(1→2)-α-L-Ara (6a)	26.6
β-D-Xyl-(1→3)-α-L-Ara (8)	33.9	β-D-Xyl-(1→3)-α-L-Ara (8a)	33.3
β-D-Xyl-(1→4)-α-L-Ara (9)	54.3	β-D-Xyl-(1→4)-α-L-Ara (9a)	39.9
β-D-Xyl-(1→2)-β-L-Ara (7)	nha	β-D-Xyl-(1→2)-β-L-Ara (7a)	133.2
β-D-Glc-(1→2)-α-L-Ara (10)	nha	β-D-Glc-(1→2)-α-L-Ara (10a)	10.7
β-D-Glc-(1→3)-α-L-Ara (12)	65.2	β-D-Glc-(1→3)-α-L-Ara (12a)	51.2
β-D-Glc-(1→4)-α-L-Ara (13)	32.6	β-D-Glc-(1→4)-α-L-Ara (13a)	25.6
β-D-Glc-(1→2)-β-L-Ara (11)	nha	β-D-Glc-(1→2)-β-L-Ara (11a)	> 128 [32%]

nha: nenhuma atividade hemolítica observada.

Fonte: CHWALEK et al., 2006.

Para finalizar, encerra-se a abordagem acerca da relação estrutura-atividade das saponinas com o trabalho de Li et al. (2012), que trata da atividade antitumoral de triterpenos isolados de um hidrolisado das saponinas totais da *Gynostemma pentaphyllum*. As saponinas conhecidas como ginsenosídeos estão largamente distribuídas entre o gênero *Panax* (família Araliaceae) e a espécie *Gynostemma pentaphyllum* (da família Cucurbitaceae). Metabólitos secundários peculiares a essas espécies de plantas, os ginsenosídeos têm sido bastante investigados e estudados devido a sua boa atividade antitumoral (WANG; ZHAO, 2007). Estudos prévios da relação estrutura-atividade

entre os ginsenosídeos e seus efeitos antitumorais demonstraram que as agliconas dessas saponinas são mais efetivas do que suas porções glicosídicas, de modo que a presença de moléculas de açúcar, ligadas à porção aglicona, reduzem a atividade dessas saponinas (ZHAO; WANG, 2007). A planta *G. pentaphyllum* foi usada ao longo da história, na medicina tradicional chinesa, para tratamento da tosse, da bronquite crônica e de infecções causadas por hepatite. É conhecida por ser a única planta não pertencente ao gênero *Panax*, rica em saponinas do tipo ginsenosídeos (LI et al., 2012).

O estudo começou com a obtenção das saponinas de *G. pentaphyllum* de acordo com o método descrito por Wei et al. (citado por LI et al., 2012), as saponinas de *G. pentaphyllum* foram hidrolisadas e o hidrolisado (100 g) foi submetido à cromatografia em coluna de gel de sílica, eluída com uma mistura de éter de petróleo: acetona, em diferentes proporções, de modo a se obter nove frações. Após a separação das saponinas contidas no hidrolisado de *G. pentaphyllum*, as estruturas desses compostos foram identificadas empregando-se métodos de RMN ^1H e ^{13}C (LI et al., 2012).

Dentre as saponinas hidrolisadas de *G. pentaphyllum*, cinco compostos foram identificados como novos: a gipensapogenina A (1), a gipensapogenina B (2), a gipensapogenina C (3), o 3-O- β -D-glicopiranosil-gipensapogenina D (4), e a gipensapogenina D (5). Esses compostos, então, foram testados quanto a suas atividades citotóxicas IC_{50} frente a células tumorais humanas, das linhagens A549 (Adenocarcinoma Alveolar Humano), U87 (Glioblastoma – Tumor Cerebral Humano) e Hep3B (Hepatoma Humano). A estrutura dos cinco compostos testados, bem como suas respectivas atividades citotóxicas IC_{50} , para as diferentes linhagens celulares contra os quais foram empregados, estão explicitados na figura 24 (LI et al., 2012).

Quanto à relação estrutura-atividade documentada para esses compostos, investigações determinaram que a atividade citotóxica dos ginsenosídeos está relacionada ao tipo de aglicona que compõe a molécula, bem como ao tipo de açúcares que constituem a cadeia lateral glicosídica. Quanto ao número de açúcares que compõem a cadeia glicosídica, a atividade de vários ginsenosídeos têm demonstrado crescer nessa ordem: glicosídeo tetrassacarídeo < glicosídeo trissacarídeo < glicosídeo dissacarídeo < glicosídeo monossacarídeo, indicando que o aumento no número de unidades açúcar presentes na cadeia glicosídica reduz a atividade da saponina (LI et al., 2012).

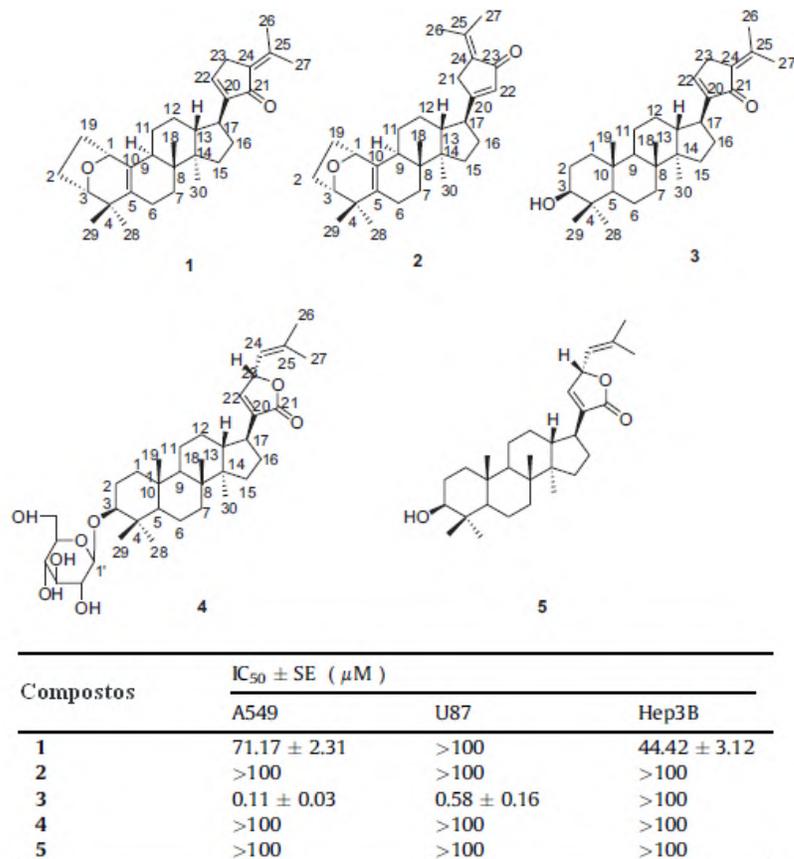


Figura 24. Estruturas dos ginsenosídeos isolados de *G. pentaphyllum* e suas respectivas atividades citotóxicas contra as linhagens de células cancerosas humanas, contra as quais esses compostos foram testados. Fonte: LI et al., 2012.

Dentre as saponinas testadas para atividade citotóxica, a saponina 3 foi a que demonstrou maior atividade citotóxica, sobretudo contra as linhagens celulares A549 e U87 (IC₅₀ 0,11 ± 0,03 μM e 0,58 ± 0,16 μM, respectivamente). Observou-se que esse composto trata-se de uma saponina triterpênica do tipo damarano contendo em sua cadeia lateral um anel de cinco membros insaturado, no qual está presente um grupamento cetônico. O composto 1 demonstrou seletiva atividade citotóxica contra as linhagens celulares A549 e Hep3B (IC₅₀ 71,17 ± 2,31 μM e 44,42 ± 3,12 μM, respectivamente). Entretanto, quando comparado ao composto 3, observa-se que a atividade do composto 1 foi muito menor, sugerindo que a presença de sete membros no anel A reduz significativamente a atividade. Apesar desse fato, é possível afirmar que o composto 1 exerce maior atividade citotóxica contra células da linhagem Hep3B do que o composto 3, sugerindo que a presença de sete membros no anel A aumenta a atividade contra a linhagem celular Hep3B (LI et al., 2012).

Em síntese, esse estudo demonstrou que o composto 3 detém significativa ação contra alguns tipos de células cancerosas humanas. Ainda, a descoberta e a identificação estrutural das saponinas ativas pode promover uma oportunidade no desenvolvimento de novos compostos voltados à prevenção do câncer, bem como, ao seu tratamento (LI et al., 2012).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Entre importantes trabalhos que tratam da atividade anti-câncer das saponinas, está o artigo de Kim et al. (2010), cujo foco central foi a avaliação da atividade antitumoral do composto K (figura 25), um derivado de saponina obtida do Ginseng. O composto K (20-O-(β -D-glicopiranosil)-20(S)-protopanaxadiol, IH901) foi testado contra células humanas de câncer de mama, da linhagem MCF-7, baseando-se em informações prévias, obtidas da literatura pelos autores, de que o composto K suprime a proliferação de vários tipos de cânceres e induz apoptose, pelo mecanismo de inibição da ciclooxigenase-2 (COX-2). A COX-2, expressa excessivamente em células tumorais, promove angiogênese e replicação celular, por meio da síntese de prostaglandinas (LEE et al., 2007). O composto K, então, atua inibindo a COX-2, via cascata de sinalização mediada por proteína K AMP dependente (AMPK). A proteína K dependente de AMP desempenha maior atividade quanto maior for o estresse metabólico experimentado pela célula. Nesse quesito, o composto K desempenha papel fundamental, gerando espécies reativas de oxigênio as quais induzem sinalizações apoptóticas, por exemplo através da interação com a proteína AMPK, de modo a aumentar sua atividade inibitória sobre a COX-2 (PARK et al., 2009).

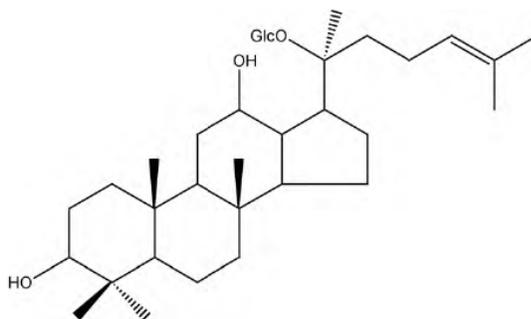


Figura 25. Estrutura do composto K (20-O-(β -D-glicopiranosil)-20(S)-protopanaxadiol). Fonte: KIM et al., 2010.

Primeiramente, o composto K foi preparado por incubação de ginsenosídeos do tipo protopanaxadiol, com Bacteróides JY-6, uma bactéria encontrada na flora intestinal humana. O meio de incubação foi extraído com *n*-butanol. O sobrenadante foi concentrado em vácuo e posteriormente, submetido à cromatografia em coluna de sílica-gel, eluída com clorofórmio/metanol/H₂O (65:35:10), para isolamento do composto K. Feito o isolamento, o composto K, então, foi caracterizado por espectrometria de massas e ressonância magnética nuclear (RMN) do ¹H e do ¹³C (KIM et al., 2010).

As células humanas de câncer de mama (MCF-7) foram obtidas da American Type Culture Collection (Rockville, MD, USA) e foram mantidas a 37 °C em uma incubadora de atmosfera umidificada de 5% de CO₂ no ar, em um meio de cultura RPMI 1640. Contra essas células, empregaram-se concentrações de 10, 20, 30, 40 e 50 µg/ml de composto K, por 48 horas. Decorrido esse tempo, mensurou-se a atividade inibitória IC₅₀ do composto K sobre as células cancerosas MCF-7. Também foram avaliados a taxa de apoptose, a taxa de produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) intracelular (por método DCFH-DA), e a taxa de produção de PGE₂ (Kit do R&D Systems) (KIM et al., 2010).

Os resultados obtidos demonstraram que o composto K inibiu 50% de um total de células cancerosas MCF-7 em uma concentração de 35 µg/ml (IC₅₀) (KIM et al., 2010).

O composto K induziu significativamente a ativação da proteína AMPK, de uma forma tempo-dependente, bem como inibiu a expressão da COX-2 de uma forma tempo-dependente, acarretando a queda da produção basal de PGE₂ e conseqüentemente a diminuição na viabilidade de células MCF-7 (KIM et al., 2010).

Dando continuidade ao assunto, sobre a atividade antitumoral de saponinas, segue-se com o trabalho de Pan et al. (2012), cujo foco foi o isolamento de um novo cardenolídeo tupichinolídeo (que foi denominado composto 1) e de uma nova saponina esteróide, a tupichinina A (denominada composto 2). Esses novos compostos foram isolados juntamente a mais sete compostos já conhecidos, obtidos dos rizomas da *Tupistra chinensis*. A *Tupistra chinensis* (Liliaceae) é uma planta largamente distribuída no sudoeste da China e comumente usada na medicina tradicional chinesa para tratar irritação na garganta, doenças reumáticas e mordidas de cobra. De acordo com os resultados de literatura, os extratos dessa espécie possuem atividade antitumoral (LI; ZOU; WANG, 2007). Em especial, o extrato etanólico dessa planta demonstrou efeito inibitório contra linhagens de células cancerosas humanas (PAN; CHANG; WU, 2000). De

posse dessas informações, Pan et al. (2012) isolaram os dois novos compostos (o tupichinolídeo e a tupichinina A), juntamente com mais sete outros compostos já conhecidos para o rizoma de *Tupistra chinensis*. A figura 26 traz a estrutura dos nove compostos isolados.

A extração partiu da secagem da amostra (4,8 kg de rizomas de *T. chinensis*) ao ar livre, seguindo com a posterior extração da amostra, empregando 95% de etanol à temperatura ambiente. O extrato etanólico resultante foi evaporado à vácuo, resultando em um resíduo dividido entre porção aquosa e porção acetato de etila (EtOAc). A porção EtOAc foi submetida à cromatografia em coluna de gel de sílica eluída com um gradiente de acetona em éter de petróleo. Da separação cromatográfica, restaram o tupichinolídeo (referido como composto 1), a tupichinina A (referida como composto 2), juntamente com mais sete compostos conhecidos pelos autores. O composto 1 e o composto 2 foram submetidos à hidrólise ácida, a fim de se distinguir a porção açúcar referente a cada composto. Para o composto 1, o monossacarídeo presente foi a L-ramnose, já para o composto 2, foi a D-xilose. A fim de se determinar a estrutura dos compostos isolados, foram utilizados ressonância magnética nuclear (RMN) do ^{13}C e do ^1H , bem como espectroscopia do infravermelho (IV) (PAN et al., 2012).

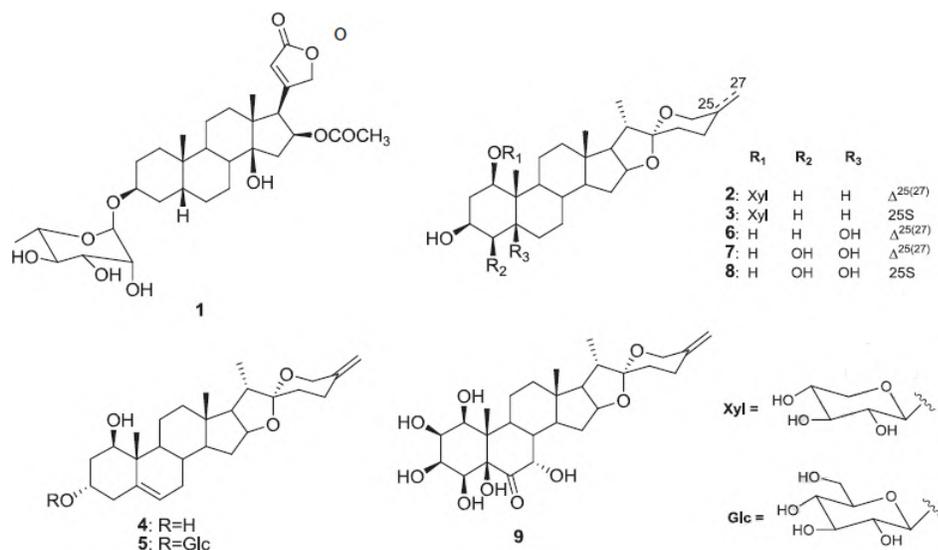


Figura 26. Estruturas dos compostos 1-9, isolados a partir do rizoma da *Tupistra chinensis*. Fonte: PAN et al., 2012.

A citotoxicidade dos compostos 1 e 2 contra as linhagens de células cancerosas humanas HL-60, SMMC-7721, A-549, MCF-7 e SW480, foi avaliada empregando o método MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio), usando cisplatina como controle

positivo. Após 12 horas de incubação a 37°C (em meio RPMI-1640), os compostos testes foram adicionados. O composto 1 (o cardenólídeo tupichinolídeo) exibiu potente atividade tóxica contra as linhagens celulares HL-60, SMMC-7721, A-549, MCF-7 e SW480, exibindo IC₅₀ de 0,06, 0,06, 0,06 e 0,12 µM, respectivamente. Duas saponinas esteróides, o composto 2 (a tupichinina) e o composto 5, demonstraram moderada citotoxicidade contra muitas das células selecionadas, enquanto os outros compostos foram inativos nesses testes (IC₅₀>40 µM) (PAN et al., 2012).

O próximo trabalho deste painel de compostos antitumorais é o de Zhao et al. (2010), que apresenta a elucidação estrutural de uma saponina, obtida de *Panax japonicus*, por técnicas de RMN. Ao final do artigo, foi apresentado, de maneira sucinta, a avaliação da atividade antitumoral da nova saponina, empregando o método MTT e usando a cisplatina como controle positivo.

Rizomas secos de *P. japonicus*, na forma de pó, foram submetidos a extrações com etanol 70%. Posteriormente, empregou-se, sobre o material vegetal, técnicas de cromatografia em coluna, das quais foram obtidas duas frações. Por meio de técnicas de espectroscopia como o ¹³C NMR, associado à espectroscopia de IV, descobriu-se que as frações 1 e 2 se tratavam dos compostos 3-O-[β-D-glicopiranosil-(1→2)-β-D-glicopiranosil-6'-O-*n*-butil éster] e do ginsenosídeo R₀, respectivamente, figura 27 (ZHAO et al., 2010).

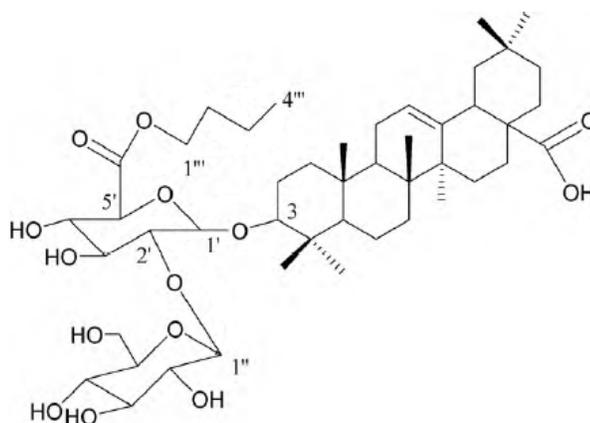


Figura 27. Estrutura do composto 1 (3-O-[β-D-glicopiranosil-(1→2)-β-D-glicopiranosil-6'-O-*n*-butil éster]). Fonte: ZHAO et al., 2010.

Elucidada a estrutura do composto 1, a substância passou por um ensaio a fim de se avaliar sua atividade antitumoral contra as linhagens celulares A2780 e OVCAR-3 (ambas, de câncer ovariano humano). O método empregado foi o MTT utilizando a cisplatina como controle

positivo. O composto 1 mostrou moderada atividade antitumoral contra as células A2780 e as OVCAR-3, exibindo valores de IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$) de 21,1 e 35,2, respectivamente (ZHAO et al., 2010).

Outro recente trabalho, o artigo de Xu et al. (2010), traz a planta *Pulsatilla chinensis* (Bunge) Regel, uma espécie com longa história de uso medicinal na China, conhecida por seu efeito antitérmico e por suas atividades de detoxificação. As raízes de *P. chinensis* têm sido largamente empregadas na medicina tradicional chinesa como tratamento adjuvante de amebíases intestinais, malária, trichomoníase vaginal, infecções bacterianas e tumores malignos (CHENG et al., 2008). Alguns estudos sugeriram que o extrato aquoso de *P. chinensis* inibiu o crescimento de células tumorais da linhagem HepA (tumor hepático) xenoenxertadas em ratos (ZHUANG et al., 1999). Há referências que também apontam o extrato alcoólico de *P. chinensis* como um potente inibidor da proliferação de células cancerosas das linhagens 7721 (câncer hepático), hela (tumor cervical uterino) e MKN-45 (tumor gastrointestinal), apresentando um efeito inibitório que supera o efeito do extrato aquoso (CAI et al., 1999). Com base nessas informações, os autores do artigo em questão realizaram um ensaio *in vitro* e *in vivo*, a fim de determinar a atividade citotóxica e antitumoral das saponinas totais presentes na *P. chinensis* (PRS) (XU et al., 2010).

Procedeu-se a extração das saponinas a partir de 2,4 kg de material vegetal, que consistia de raízes secas de *P. chinensis*. O material vegetal, então, foi submetido a três extrações sucessivas usando 70% de álcool sob refluxo. O resíduo resultante (280 g) foi submetido à cromatografia em coluna de resina D101, eluída com gradientes de uma mistura água-álcool, em que o álcool estava presente em uma proporção de 60%. Efetuada a cromatografia, obteve-se um novo resíduo em forma de pó (125 g), o qual foi empregado nas análises fitoquímicas e nos estudos farmacológicos (XU et al., 2010).

A viabilidade celular foi testada pelo método MTT, baseando-se na redução do MTT pela desidrogenase mitocondrial de células intactas, que resulta na formação de um produto formazano de coloração roxa. As células de linhagem 7402 (tumor hepático humano) foram colocadas em tubos de ensaio, em volumes de 100 μl . Em um dos tubos, foram introduzidas as saponinas totais da *P. chinensis* (PRS, obtidas do extrato etanólico da planta), nas concentrações de 0, 12,5, 25, 50, 100 e 200 $\mu\text{g/ml}$. Em outro tubo, no qual estava presente o grupo de células 7402 controle, foi introduzido o quimioterápico conhecido 5-FU (5-fluoruracila) na concentração de 5 $\mu\text{g/ml}$. Os tubos foram adicionados de reagente tetrazólio e incubados por 24 horas. Transcorrido esse

tempo, os tubos tiveram sua quantidade de formazano determinada por meio da medida da absorbância a 540 nm, usando um leitor ELISA. A partir dessas medidas, calculou-se a taxa de proliferação celular e a atividade inibitória das PRS, expressas em IC₅₀, obtidas pelo método MTT. Já a avaliação da taxa de apoptose foi realizada em discos de Petri incubados com PRS (0, 12,5, 25, 50 µg/ml) por 48 horas. Após esse tempo, a taxa de apoptose foi determinada empregando-se a citometria por fluorescência FACScan (XU et al., 2010).

A atividade antitumoral *in vivo* foi avaliada em ratos Balb/c de 20-24 g, xenoenxertados (subcutaneamente) com fragmentos de tecidos tumorais humanos 7402 de 3-5 mm³. Quando o tumor atingiu em torno de 60 mm³, os animais foram divididos em três grupos: o grupo controle, tratado com 100 mg/kg de PRS administradas por gavagem; o grupo teste, que recebeu uma dose de 200 mg/kg de PRS v.o. gavagem e por fim, o grupo referência, tratado com ciclofosfamida em uma dose de 40 mg/kg. Os ratos foram tratados por 19 dias, após os quais foram sacrificados para a excisão e posterior avaliação da massa tumoral, a partir da qual foi determinada a atividade antitumoral *in vivo* (XU et al., 2010).

Os resultados da determinação da viabilidade celular indicaram que as saponinas da *P. chinensis* reduziram significativamente a proliferação das células 7402, de uma forma dose-dependente, aumentando da dose de 25 µg/ml a dose de 200 µg/ml. A taxa de proliferação celular decaiu 74,65% quando administrada uma dosagem de 200 µg/ml de PRS, após 24 horas de incubação, exibindo um IC₅₀ de 150,35 µg/ml. Quanto à taxa de apoptose, constatou-se que a porcentagem de células apoptóticas aumentou de 12,01 ± 4,34% a 50,42 ± 2,10% conforme se aumentava a concentração administrada de PRS de 0-50 µg/ml (XU et al., 2010).

Quanto à atividade antitumoral *in vivo*, o crescimento dos tumores 7402 foi inibido em uma proporção de 41,01% a 40,05% (para as doses de 200 mg/kg e 100mg/kg, respectivamente), em comparação com os animais tratados com a ciclofosfamida (XU et al., 2010).

Assim sendo, foi possível afirmar que as saponinas da *P. chinensis* demonstraram atividade apoptótica e inibitória do crescimento de células tumorais 7402 *in vitro*, bem como a redução dos tumores formados por tal tipo celular, na avaliação antitumoral *in vivo* (XU et al., 2010).

CONCLUSÃO

Esse trabalho demonstrou a eficaz atividade de saponinas derivadas de plantas, bem como dos seus derivados sintéticos, contra uma grande variedade de células tumorais, seja em ensaios *in vitro*, como em estudos *in vivo*, que empregavam modelos animais. Por sua abundância no reino vegetal, bem como sua gama de efeitos biológicos, reportados por diversos pesquisadores do mundo inteiro, as saponinas são consideradas compostos promissores no tratamento de várias doenças (distúrbios cardiovasculares, infecções por HSV e HIV e distúrbios do sono), entre essas, o câncer. Um dos países que lidera pesquisas acerca da atividade antitumoral de saponinas (bem como de outros efeitos biológicos) é a China, por possuir a maior variedade de plantas estudadas ricas nesses compostos, de grande emprego na medicina tradicional.

Entretanto, é importante observar as diferenças culturais e burocráticas que envolvem a pesquisa e o emprego de novos compostos em diferentes regiões do mundo. Independente de pesquisadores chineses comentarem o emprego de saponinas na prática clínica, não há relatos de estudos sobre os efeitos desses compostos em humanos, que avaliem não apenas a eficácia dos efeitos farmacológicos dessas substâncias, mas seus potenciais efeitos colaterais, adversos e tóxicos ao organismo. Também não há estudos considerando as diferenças farmacocinéticas entre os extratos, compostos químicos ou as distintas formas farmacêuticas, potenciais à administração dessas substâncias, bem como diferenças de biodisponibilidade desses compostos, existente entre as diversas vias de administração.

Por tais razões, pode-se falar de saponinas apenas como compostos promissores e como protótipos a fármacos, pois ainda há uma série de estudos a serem feitos, com maior rigor, avaliando não apenas a eficácia de saponinas no tratamento de tumores em humanos, mas sua toxicidade e seus riscos potenciais ao organismo humano. Também é necessário avaliar

peculiaridades inerentes à forma farmacêutica e à via de administração nas quais são empregadas essas substâncias. Assim sendo, espera-se que as informações coletadas nesse trabalho possam oferecer base a futuras pesquisas, que façam das saponinas, mais do que uma promessa, e sim, compostos passíveis de serem empregados na prática clínica como fármacos, em medicamentos disponíveis ao uso pela população.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, Michelle M. et al. Design and Synthesis of Potent Quillaja Saponin Vaccine Adjuvants. **Journal of American Chemical Society**, v. 132, n.6, p. 1939-1945, 2010.
- BANG, Seong-Cheol et al. Antitumor activity of *Pulsatilla koreana* saponins and their structure-activity relationship. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**. v. 53, n. 11, p. 1451-1454, 2005.
- BARTHOMEUF, Chantal et al. *In vitro* activity of hederacolchisid A1 compared with other saponins from *Hedera colchica* against proliferation of human carcinoma and melanoma cells. **Planta Medica**, v. 68, n. 8, p. 672-675, 2002.
- CAI, Y.; TANG, Y.M.; LIANG, B.W. Experimental studies on antitumor effects of *Pulsatilla chinensis* (Bunge) Regel *in vitro*. **Chinese Traditional Herbal Drugs**, v. 30, p. 441-443, 1999.
- CHENG, Lin et al. Silver complexation and tandem mass spectrometry for differentiation of triterpenoid saponins from the roots of *Pulsatilla chinensis* (Bunge) Regel. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 22, n. 23, p. 3783-3790, 2008.
- CHWALEK, Martin et al. Structure-activity relationships of some hederagenin diglycosides: Haemolysis, cytotoxicity and apoptosis induction. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1760, n. 9, p. 1418-1427, 2006.
- DANLOY, Sophie et al. Effects of α -hederin, a saponin extracted from *Hedera helix*, on cells cultured *in vitro*. **Planta Medica**, v. 60, n. 1, p. 45-49, 1994.
- DASTAGER, Syed G. et al. *Microbacterium kribbense* sp. nov., isolated from soil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 58, n. 11, p. 2536-2540, 2008.
- ENCYCLOPEDIA OF LIFE. *Acacia victoriae*. Disponível em: <<http://eol.org/pages/643404/details>>. Acesso em: 07 jan. 2013.
- ESTRADA, Alberto; LI, Bing; LAARVELD, Bernard. Adjuvant action of *Chenopodium quinoa* saponins on the induction of antibody responses to intragastric and intranasal administered antigens in mice. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 21, n. 3, p. 225-236, 1998.
- GAO, Xiang-Dong et al. Pulsatilloside A and anemoside A3 protect PC12 cells from apoptosis induced by sodium cyanide and glucose deprivation. **Planta Medica**, v. 69, n. 2, p. 171-174, 2003.
- HARIDAS, Valsala et al. Avicins: Triterpenoid saponins from *Acacia victoriae* (Benth) induce apoptosis by mitochondrial perturbation. **PNAS**, v. 98, n. 10, p. 5821-5826, 2000.
- HARIDAS, Valsala et al. Avicin D: a protein reactive plant isoprenoid dephosphorylates Stat 3 by regulating both kinase and phosphatase activities. **PLoS ONE**, v. 4, n. 5, p. 1-13, 2009.

HSU, Ya-Ling; KUO, Po-Lin; LIN, Chun-Ching. The proliferative inhibition and apoptotic mechanism of saikosaponin D in human non-small cell lung cancer A549 cells. **Life Sciences**, v. 75, n. 10, p. 1231–1242, 2004.

HU, Ke; YAO, Xinsheng. Methyl protogracillin (NSC-698792): the spectrum of cytotoxicity against 60 human cancer cell lines in the National Cancer Institute's anticancer drug screen panel. **Anticancer Drugs**, v. 12, n. 6, p. 541–547, 2001.

HU, Ke; YAO, Xinsheng. The Cytotoxicity of Methyl Protoneogracillin (NSC-698793) and Gracillin (NSC-698787), Two Steroidal Saponins from the Rhizomes of *Dioscorea collettii* var. hypoglauca, against Human Cancer Cells *in vitro*. **Phytotherapy Research**, v. 17, n. 6, p. 620–626, 2003.

JAYATILAKE, Gamini S. et al. Isolation and structures of avicins D and G: in vitro tumor-inhibitory saponins derived from *Acacia victoriae*. **Journal of Natural Products**, v. 66, n. 6, p. 779–783, 2003.

KANG, Ji-Hye et al. Soybean saponin inhibits tumor cell metastasis by modulating expressions of MMP-2, MMP-9 and TIMP- 2. **Cancer Letters**, v. 261, n. 1, p. 84–92, 2008.

KIM, Areum Daseul et al. Ginseng saponin metabolite induces apoptosis in MCF-7 breast cancer cells through the modulation of AMP-activated protein kinase. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 30, n. 2, p. 134–140, 2010.

KULJANABHAGAVAD, Tiwatt et al. Triterpene saponins from *Chenopodium quinoa* Willd. **Phytochemistry**, v. 69, n. 9, p. 1919–1926, 2008.

LACAILLE-DUBOIS, M.A.; WAGNER, W. Bioactive Saponins From Plants: An Update. **Studies in Natural Products Chemistry**, v. 2, p. 633–687, 2000.

LEE, Sang-Jun et al. Antitumor activity of a novel ginseng saponin metabolite in human pulmonary adenocarcinoma cells resistant to cisplatin. **Cancer Letters**, v. 144, n. 1, p. 39–43, 1999.

LEE, Eun Jeong et al. Cyclooxygenase-2 promotes cell proliferation, migration and invasion in U2OS human osteosarcoma cells. **Experimental & Molecular Medicine**, v. 39, n. 4, p. 469–476, 2007.

LI, Q.; ZOU, K.; WANG, J.Z. Antitumor test of *Tupistra* extracts. **Chinese Journal of Ethnomedicine and Ethnopharmacology**, v. 86, p. 164–167, 2007.

LI, Ning et al. Triterpenes possessing an unprecedented skeleton isolated from hydrolyzate of total saponins from *Gynostemma pentaphyllum*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 50, p. 173–178, 2012.

MAN, Shuli et al. Chemical study and medical application of saponins as anti-cancer agents. **Fitoterapia**, v. 81, n. 7, p. 703–714, 2010.

MIMAKI, Yoshihiro et al. Cytotoxic Activities and Structure–Cytotoxic Relationships of Steroidal Saponins. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 24, n. 11, p. 1286–1289, 2001.

MISSOURI BOTANICAL GARDEN. *Glycine max.* Disponível em: <<http://www.missouribotanicalgarden.org/gardens-gardening/your-garden/plant-finder/plant-details/kc/d254/glycine-max.aspx>>. Acesso: 05 jan. 2013.

NAM, Do-Hyun et al. Activation of notch signaling in a xenograft model of brain metastasis. **Clinical Cancer Research**, v. 14, n. 13, p. 4059–4066, 2008.

PAN, W.B.; CHANG, F.R.; WU, Y.C. Spirostanol saponins from the under- ground parts of *Tupistra chinensis*. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 48, n. 9, p. 1350–1353, 2000.

PAN, Zheng-Hong et al. A cytotoxic cardenolide and a saponin from the rhizomes of *Tupistra chinensis*. **Fitoterapia**, v. 83, n. 8, p. 1489–1493, 2012.

PARK, In-Ja et al. Green tea catechin controls apoptosis in colon cancer cells by attenuation of H₂O₂-stimulated COX- 2 expression via the AMPK signaling pathway at low-dose H₂O₂. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1171, p. 538–544, 2009.

RODRIGUEZ, Jaime; CASTRO, Rita; RIGUERA, Ricardo. Holothurinosides: New Antitumour Non Sulphated Triterpenoid Glucosides From The Sea Cucumber *Holothuria Forskalii*. **Tetrahedron**, v. 41, n. 26, p. 4753–4762, 1991.

SCHENKEL, Eloir Paulo; GOSMANN, Grace; ATHAYDE, Margareth Linde. Saponinas. In: SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Editorada UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 6.ed., p. 711–740, 2010.

SHIBATA, Shoji. Chemistry and cancer preventing activities of ginseng saponins and some related triterpenoid compounds. **Journal of Korean Medical Science**, v.16, p. S28–S37, 2001.

SIU, Fung-Ming et al. Proteomic and transcriptomic study on the action of a cytotoxic saponin (Polyphyllin D): induction of endoplasmic reticulum stress and mitochondria-mediated apoptotic pathways. **Proteomics**, v. 8, n. 15, p. 3105–3117, 2008.

SPARG, S.G.; LIGHT, M.E.; STADEN, J. van. Biological activities and distribution of plant saponins. **Journal of Ethnopharmacology**, n. 94, n. 2-3, p. 219–243, 2004.

WANG, Ying et al. Proteomic approach to study the cytotoxicity of dioscin (saponin). **Proteomics**, v. 6, n. 8, p. 2422–2432, 2006.

WANG, Wei. *In vitro* anti-cancer activity and structure–activity relationships of natural products isolated from fruits of *Panax ginseng*. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, v. 59, n. 5, p. 589–601, 2007.

WANG, Yibing et al. Exploration of the correlation between the structure, hemolytic activity, and cytotoxicity of steroid saponins. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 15, n. 7, p. 2528–2532, 2007.

XU, Qiong-ming et al. Antitumor activity of *Pulsatilla chinensis* (Bunge) Regel saponins in human liver tumor 7402 cells *in vitro* and *in vivo*. **Phytomedicine**, v. 19, n. 3-4, p. 293–300, 2012.

YOKOSUKA, Akihito; MIMAKI, Yoshihiro; SASHIDA, Yutaka. Spirostanol saponins from the rhizomes of *Tacca chantrieri* and their cytotoxic activity. **Phytochemistry**, v. 61, n. 1, p. 73–78, 2002.

YU, Ting-Xi; MA, Run-Di; YU, Li-Jian. Structure–activity relationship of tubeimosides in anti-inflammatory, antitumor, and antitumor-promoting effects. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 22, n. 5, p. 463–468, 2001.

ZHANG, Wei; POPOVICH, David G. Effect of soyasapogenol A and soyasapogenol B concentrated extracts on HEP-G2 cell proliferation and apoptosis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 8, p. 2603–2608, 2008.

ZHAO, Yuying et al. Isolation, structural determination, and evaluation of the biological activity of 20(S)-25-methoxyl-dammarane-3beta, 12beta, 20-triol [20(S)-25-OCH₃-PPD], a novel natural product from *Panax notoginseng*. **Medicinal Chemistry**, v. 3, n. 1, p. 51-60, 2007.

ZHAO, Hong et al. A new triterpene saponin from *Panax japonicus* C. A. Meyer var *major* (Burk.) C. Y. Wu et K. M. Feng. **Chinese Chemical Letters**, v. 21, n. 10, p. 1216–1218, 2010.

ZHUANG, X.H.; GENG, B.Q.; YONG, D.G. Experimental studies on antitumor effects of *Pulsatilla chinensis* (Bunge) Regel. **Journal of Practical Oncology**, v. 14, p. 94–96, 1999.

APÊNDICE A - Saponinas com atividade antitumoral: estudos, plantas de origem e metodologia.

Espécies/ Órgãos	Família	Saponinas Bioativas ou Frações Utilizadas	Tipo Principal de Aglicona	Alvo	Metodologia	Dose	Referência
<p><i>Astragalus</i> <i>ssp.</i>, <i>Ornithogalum</i> <i>saudersiae</i>, <i>Pulsatilla</i> <i>koreana</i>, <i>Acacia</i> <i>victoriae</i>, <i>Bolbostemma</i> <i>paniculatum</i>, <i>Platycodon</i> <i>grandiflorum</i>, <i>Paris</i> <i>polyphylla</i>, <i>Glycine Max</i></p> <p>Os mais variados tipos, com destaque para raízes, rizomas e caules em forma de bulbo.</p>	<p>Agavaceae, Dioscoreaceae, Liliaceae, Solanaceae, Scrophulariaceae, Amaryllidaceae, Leguminosae, Rhamnaceae, Leguminosae, Araliaceae, Scrophulariaceae, Campanulaceae e Caryophyllaceae</p>	<p>Cicloartanos, Damaranos, Oleananos, Espirostanos, Furostanos.</p>	<p>Esteróides e Triterpenos</p>	<p>Células tumorais das linhagens Hep G2, HeLa, MDA-MB-231, MCF-7, Hep 3B, A-549, HCT-15, SK-OV-3, SK-MEL-2, Carcinoma de pulmão de Lewis (LLC), MH-134, HT-29, K-562, KM-12, U251, MALME-3M e M14, 786-0, UO-31, dentre outras.</p>	<p>Uma revisão bibliográfica dos principais trabalhos que relatam a atividade antitumoral de saponinas. Nesse trabalho, são apresentados os mecanismos de ação de cinco classes de saponinas priorizadas pelos autores. Além de um estudo farmacológico, o trabalho apresenta a relação estrutura-atividade envolvida no mecanismo de ação das saponinas detalhadas no artigo.</p>	<p>Não detalhado, pois trata-se de uma revisão bibliográfica.</p>	<p>MAN et al., 2010.</p>

<i>Panax ginseng</i> Raízes	A r a l i a c e a e	Ginsenosídeos de protopanaxadiol, composto K (20-O-D-glicopiranosil-20(S)-protopanaxadiol, IH901)	Esteróide	Células tumorais de mama da linhagem MCF-7.	O ginsenosídeo classificado como composto K foi testado frente a células tumorais de mama (MCF-7) e células normais de mama (MCF-10A), a fim de avaliar sua atividade inibidora do crescimento celular IC ₅₀ .	10, 20, 30, 40 e 50 µg/ml.	KIM et al., 2010.
<i>Chenopodium quinoa</i> Willd. Flores, frutas, cascas de sementes e sementes	Chenopodiaceae	3b-[(O-b-D-glicopiranosil-(1-3)-α-L-arabinopiranosil)oxi]-23-oxo-olean-12-en-28-oico ácido β-D-glicopiranosídeo, 3b-[(O-β-D-glicopiranosil-(1-3)-α-L-arabinopiranosil)oxi]-27-oxo-olean-12-en-28-óico ácido β-D-glicopiranosídeo, 3-O-α-L-arabinopiranosil ácido serjânico 28-O-β-D-glicopiranosil éster, 3-O-β-D-glicuronopiranosil ácido serjânico 28-O-β-D-glicopiranosil éster, bidesmosídeos de ácido serjânico, bidesmosídeos de ácido oleanólico, bidesmosídeos de	Triterpeno	Células tumorais das linhagens HeLa e Caco-2.	Trata-se de um estudo da relação estrutura-atividade de vinte saponinas extraídas de <i>Chenopodium quinoa</i> Willd., com base nas atividades antitumorais desses compostos, previamente levantada pelos autores do trabalho na literatura científica.	Não detalhado no artigo, pois os autores apenas empregaram valores de atividade já obtidos previamente da literatura.	KULJANABHAGA VAD et al., 2008.

		ácido fitolacagênico, bidesmosídeos de hederagenina e bidesmosídeo de ácido 3 β ,23,30-triidróxi olean-12-en-28-óico.					
<i>Tupistra chinensis</i> Rizomas	Liliaceae	Cardenólídeo Tupichinolídeo e a saponina Tupichinina A	Esteróide	Células cancerosas humanas das linhagens: HL-60, SMMC-7721, A-549, MCF-7 e SW480.	<p>Extração do Tupichinolídeo e da Tupichinina A a partir de amostras secas de rizomas de <i>Tupistra chinensis</i> e do rizoma seco, convertido em pó, a temperatura ambiente, usando etanol a 95%. Por evaporação rotatória, obteve-se uma fração acetato de etila, a qual foi submetida a cromatografia em coluna de sílica gel.</p> <p>O Tupiquinolídeo e a Tupichinina A foram então separados, isolados e purificados por hidrólise ácida.</p> <p>Após, procedeu-se o ensaio de citotoxicidade, avaliando a Tupichinina A e o Tupichinolídeo contra as linhagens celulares HL-60, 122 SMMC-7721, A-549, MCF-7 e SW480 pelo método MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-brometo de difeniltetrazolio) usando a cisplatina como controle</p>	Não detalhado pelos autores.	PAN et al., 2012.

					positivo.		
-	-	δ-hederina, α-hederina e onze análogos sintetizados identificados por números (3-13).	Terpeno	Células KB da linhagem DSMZ ACC 136.	As saponinas δ-hederina, α-hederina não foram obtidas de plantas, mas sintetizadas por meio de seqüências de reações químicas. Logo após, foram testadas para as atividades hemolíticas (empregando-as em eritrócitos de carneiros) e inibidoras do crescimento (contra as células KB). As atividades hemolítica e inibidora do crescimento foram expressas em HD ₅₀ e IC ₅₀ , respectivamente.	1 a 100 µg/ml (para avaliação da atividade hemolítica) e 1, 2.5, 5, 7.5 e 10 µg/ml (para avaliação da atividade citotóxica)	CHWALEK et al., 2006.
<i>Gynostemma pentaphyllum</i>	Araliaceae	Gypensapogenina A, Gypensapogenina B, Gypensapogenina C, 3-O-b-D-Glicopiranosil-Gypensapogenina D e Gypensapogenina D	Triterpeno	Células tumorais humanas das linhagens A549, U87 e Hep3B.	Trata-se da elucidação da estrutura de cinco sapogeninas, as Gypensapogeninas A-D. Com a elucidação da estrutura, por espectroscopia de massas e espectroscopia RMN ¹³ C, os autores propuseram a relação estrutura-atividade que rege o mecanismo de ação farmacológica das Gypensapogeninas, já documentada na literatura científica.	Não detalhado pelos autores.	LI et al., 2012.
<i>Panax japonicus</i> C. A. Meyer Rizomas	Araliaceae	Ácido oleanólico 3-O-[β-D-glicopiranosil-(1→2)-β-D-glicopiranosil-6'-O-n-butil éster]	Triterpeno	Células tumorais humanas da linhagem A2780 e OVCAR-3	Elucidação da estrutura da saponina ácido oleanólico 3-O-[β-D-glicopiranosil-(1→2)-β-D-glicopiranosil-6'-O-n-butil éster], obtida do <i>Panax japonicus</i> , pelas técnicas de espectroscopia RMN ¹³ C e espectroscopia	Não detalhado. Os autores não realizaram nenhum ensaio, apenas usaram valores de atividade, contra	ZHAO et al., 2010.

					IV.	células tumorais, obtidos da literatura.	
<i>Pulsatilla chinensis</i> (Bunge) Regel Raízes	A r a l i a c e a e	Saponinas de <i>P. chinensis</i> (PRS) presentes no extrato etanólico.	Triterpenos	Células humanas de tumor hepático linhagem 7402.	Extração das PRS em álcool 70% sob refluxo. O resíduo resultante foi cromatografado em coluna de resina D101 e posteriormente eluído com álcool 60%. Após, sofreu liofilização, resultando em um pó que foi empregado nas análises fitoquímicas e farmacológicas. Parte das células tumorais 7402 foram incubadas em placas de Petri para avaliação da viabilidade e da atividade apoptótica. A porção restante de células tumorais foi inoculada em ratos Balb/c, por via subcutânea, na região das axilas.	0, 12,5, 25, 50, 100 e 200 µg/ml, para os testes <i>in vitro</i> e 100mg/kg, para os testes em animais.	XU et al., 2012.

