

## Badania aktywności cytotoksycznej ekstraktów, frakcji i izolowanych związków gatunków z rodzaju *Eryngium*

### *Studies on cytotoxic activity of extracts, fractions and isolated compounds of Eryngium species*

Małgorzata Kikowska, Natalia Turowska, Barbara Thiem

Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej i Biotechnologii Roślin, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

#### Streszczenie

Praca przedstawia przegląd piśmiennictwa na temat stanu badań aktywności cytotoksycznej/proapoptotycznej ekstraktów, frakcji, olejków eterycznych czy izolowanych związków z organów roślin należących do rodzaju *Eryngium*, a także objaśnia, które związki mogą odgrywać znaczącą rolę w tym procesie. Do tej pory w tych taksonach wykryto wiele metabolitów wtórnych o potencjalnych właściwościach farmakologicznych, głównie saponiny triterpenowe, flawonoidy, kwasy fenolowe, kumaryny i furanokumaryny, olejki eteryczne, seskwiterpeny oraz poliacetyleny. Różne organy tych roślin posiadają szeroki zakres zastosowań leczniczych w tradycyjnej medycynie. W pracy tej przedstawiono aktywność cytotoksyczną/proapoptotyczną gatunków *Eryngium*. Artykuły naukowe zostały zebrane za pośrednictwem internetowych baz danych: PubMed, Science Direct, Scopus i Google Scholar. (*Farm Współ 2020; 13: 106-110*)

*Słowa kluczowe: aktywność cytotoksyczna, aktywność proapoptotyczna, ekstrakty, olejki eteryczne, mikołajki*

#### Abstract

This work is a literature review on the current state of the research on the cytotoxic/proapoptotic activity of extracts, fractions, essential oils or isolated compounds as well as explicates which biocompounds are the most relevant in this process. A plethora of active phytochemical constituents of these taxa have been revealed so far, namely triterpenoid saponins, flavonoids, phenolic acids, coumarins and furanocoumarins, essential oils, sesquiterpenes, and polyacetylenes. Various organs of these plants have an immense range of medicinal uses in traditional medicine. In the present review, the cytotoxic/proapoptotic activity of *Eryngium* species has been reported. The references were collected through online databases: PubMed, Science Direct, Scopus and Google Scholar. (*Farm Współ 2020; 13: 106-110*)

*Keywords: cytotoxic activity, proapoptotic activity, extracts, essential oils, Sea Holly*

#### Wstęp

W ostatnich latach wzrasta zainteresowanie produktami pochodzenia roślinnego o potencjalnej wartości przeciwnowotworowej, a dostępne badania sugerują obiecujące działanie gatunków należących do rodzaju *Eryngium*. Wstępne doświadczenia *in vitro* nie mogą co prawda być w pełni równoznaczne z badaniami o charakterze *in vivo*, jednakże stanowią cenną informację do dalszych eksperymentów prowadzonych w tym kierunku. Choroby nowotworowe mają zróżnicowane podłoże molekularne (w tym także zmiany metaboliczne) i są główną przyczyną śmierci

na świecie. Komórki rakowe cechuje m.in. nasiloną proliferacją, co wynika z nabytych zmian genetycznych i epigenetycznych. W miarę rozwoju guza powstają komórki zdolne do tworzenia przerzutów. Pomimo pojawienia się nowoczesnych technologii opracowywania leków przeciwnowotworowych, takich jak wspomagane komputerowo projektowanie leków i chemia kombinatoryczna, poszukiwanie nowych substancji o aktywności cytotoksycznej z produktów naturalnych jest wyjątkowo potrzebne. Liczne badania wskazują, że cytotoksyczne związki indukują apoptozę i nekrozę lub zaburzają rozmaite szlaki sygnalizacji komór-

kowej, prowadząc w ten sposób do śmierci komórki lub zatrzymania cyklu komórkowego. Stąd apoptoza lub indukcja nekrozy przez substancje cytotoksyczne może stanowić radykalne podejście terapeutyczne do chemioterapii raka. Biorąc pod uwagę, że ponad 60% leków przeciwnowotworowych pochodzi bezpośrednio lub pośrednio z roślin, a większość z nich to związki cytotoksyczne, to bardzo istotne są badania różnorodnych zasobów roślinnych pod kątem nowych, naturalnych związków i ich potencjalnych właściwości [1-3]. Oznaczanie cytotoksyczności związków chemioterapeutycznych wobec komórek w hodowlach *in vitro* stanowi ważny wstęp do badań toksykologicznych, niezbędnych do określenia prawidłowego działania oraz bezpieczeństwa leku. W celu wykazania aktywności cytotoksycznej ekstraktów, frakcji lub izolowanych związków w opisanych badaniach zastosowano bezpośredni pomiar żywotności komórek po uprzednim wybarwieniu błękitem trypanu lub pośrednie testy pomiarowe, które związane są z aktywnością niektórych enzymów komórkowych, np. mitochondrialnego białka – dehydrogenazy bursztynianowej (test MTT) czy aktywności cytoplazmatycznego enzymu – dehydrogenazy mleczanowej (test LDH). Test MTT jest obecnie najczęściej stosowany do oceny działania cytotoksycznego i zalecany jako referencyjny przez międzynarodowe organizacje normotwórcze. W badaniach tych, za miarę aktywności cytotoksycznej najczęściej przyjmuje się wartość  $IC_{50}$ , czyli takie stężenie analizowanej próbki, które powoduje zahamowanie wzrostu badanej populacji komórek o 50% [4].

Opisane w niniejszym przeglądzie mikołajki należą do rodzaju *Eryngium*, który jest najliczniejszym taksonem w rodzinie *Apiaceae*, podrodzinnie *Saniculoideae*. Rośliny z tego rodzaju występują prawie na całym świecie. Różne organy mikołajków, szczególnie części nadziemne i korzenie, mają szeroki zakres zastosowań leczniczych w tradycyjnej medycynie. Ponadto, dla tych surowców, w kilku badaniach wykazano aktywność przeciwutleniającą, przeciwbakteryjną, przeciwgrzybiczą, przeciwwirusową, przeciwzapalną i neuroprotekcijną. Wymienione aktywności przypisuje się obecności związków: saponin triterpenowych pochodnych barygenolu, flawonoidów należących do grup flawonolu, flawanonu oraz flawonu, kwasów fenolowych, kumaryn i furanokumaryn, olejków eterycznych, charakteryzujących się obecnością mono- i seskwiterpenowych węglowodorów, poliacylenów, ekdysteroidów, fitosteroli, lignanów i betain [5-7].

## Aktywność cytotoksyczna/proapoptotyczna

Właściwości cytotoksyczne ekstraktu etanolowego z owoców *E. planum* (mikołajka płaskolistnego) badano na siedmiu nowotworowych liniach komórkowych białaczki: ML-1, J-45.01, EOL, HL-60, 1301, C-8166, U-266B1 oraz dwóch nienowotworowych liniach WICL i H-9. Metodą zastosowaną w badaniu zmian integralności błon komórkowych był bezpośredni pomiar żywotności tych komórek po uprzednim wybarwieniu ich błękitem trypanu. Zauważono, że linie komórkowe 1301 i HL-60 wykazywały żywotność 62 i 55% po 24 godzinach traktowania ekstraktem z owoców *E. planum* w stężeniu 300  $\mu\text{g/ml}$ . Ponadto ekstrakt ten indukował apoptozę komórek dwóch ludzkich linii białaczkowych, mianowicie C-8166 i J45.01 po 24 godzinach inkubacji, podczas gdy umiarkowany efekt zaobserwowano dla linii komórkowych HL-60 i ML-1. Wartości  $IC_{50}$  ekstraktu etanolowego mikołajka płaskolistnego były wysokie i wahały się od 15 do 187  $\mu\text{g/ml}$  dla wszystkich badanych linii [8].

Osiem saponin typu oleananu wyizolowanych z całych roślin *E. yuccifolium* (mikołajka jukkolistnego) razem z 64 innymi związkami saponinowymi poddano badaniom przesiewowym na aktywność cytotoksyczną w stosunku do kilku linii komórek nowotworowych. Testem WST-8 mierzono wzrost i żywotność komórek nowotworowych, takich jak rak płuc (A549), gruczolakorak prostaty (PC-3), białaczka (HL-60) i rak trzustki (PANC-5) oraz nienowotworowych fibroblastów płuc (MRC-5). Cztery z nich wykazywały umiarkowaną cytotoksyczność wobec linii komórkowych A549 ( $GI_{50}$  od  $4,3 \pm 0,34 \mu\text{M}$  do  $8,35 \pm 2,89 \mu\text{M}$ ), PC-3 ( $GI_{50}$  od  $5,08 \pm 0,38 \mu\text{M}$  do  $11,32 \pm 1,60 \mu\text{M}$ ), HL-60 ( $GI_{50}$  od  $7,11 \pm 0,55 \mu\text{M}$  do  $9,38 \pm 1,48 \mu\text{M}$ ) i MRC-5 ( $GI_{50}$  od  $3,54 \pm 0,34 \mu\text{M}$  do  $8,71 \pm 1,45 \mu\text{M}$ ), a trzy z nich umiarkowaną aktywność w stosunku do PANC-5 ( $GI_{50}$  od  $11,45 \pm 0,75 \mu\text{M}$  do  $16,02 \pm 0,61 \mu\text{M}$ ). Autorzy badania zauważają, że wiele opublikowanych prac wskazuje na związek pomiędzy budową saponin a ich działaniem cytotoksycznym. Działanie saponin analizowanych w niniejszej pracy eksperymentalnej przypisywane jest grupie angeloilowej przy węglu C21 i grupie acetylowej przy węglu C22 [9]. W późniejszych latach zbadano kolejne dwie saponiny – eryngiozyd M i sanikulasaponinę II, wyizolowane korzenia *E. yuccifolium* ekstrahowanego alkoholem etylowym. Związki te wykazały słabą cytotoksyczność w stosunku do komórek raka płuc (odpowiednio  $GI_{50} = 37,5 \pm 1,59 \mu\text{M}$

i  $35,5 \pm 1,11 \mu\text{M}$ ). Ponadto eryngiozyd N, inny związek saponinowy, nie był aktywny przeciwko komórkom rakowym [10].

Wyniki testu żywotności XTT wykazały, że ekstrakt metanolowy z liści i łodyg *E. creticum* (mikołajka kreteńskiego) hamował wzrost komórek nowotworowych piersi (MCF7) odpowiednio o 72 i 68%. Jak wykazały badania fitochemiczne, analizowany ekstrakt bogaty był w terpenoidy, fenolokwasy, flawonoidy i alkaloidy. Z kolei próbki ekstrahowane octanem etylu lub wodą nie wykazywały żadnej aktywności cytotoksycznej w stosunku do badanej nowotworowej linii komórkowej [11].

Aktywność cytotoksyczną wodnych ekstraktów z nadziemnych i korzeniowych części *E. maritimum* (mikołajka nadmorskiego) i *E. kotschyi* badano na różnych liniach komórkowych: ludzkiego raka wątroby (HepG2), raka krtani (Hep2), glejaka (U138 MG), z tkanki nabłonkowej pobranej z nerki kotawca zielonosiwego – linia komórkowa o komórkach podobnych do fibroblastów (Vero). Zastosowano dwa popularne testy cytotoksyczności – MTT i LDH. Wartości stężenia hamującego ekstraktów w większości przypadków wahały się w granicach od 16,33 do 125,66  $\mu\text{g/ml}$ . Najwyższą cytotoksyczność (z zastosowaniem testu MTT) stwierdzono w linii Hep2 dla ekstraktu z korzeni *E. maritimum* (30,25  $\mu\text{g/ml}$ ) i korzeni *E. kotschyi* (32,86  $\mu\text{g/ml}$ ), w linii U138 MG dla ekstraktu z części nadziemnej *E. maritimum* (47,00  $\mu\text{g/ml}$ ) i korzeni *E. kotschyi* (43,00  $\mu\text{g/ml}$ ), w linii HepG2 dla ekstraktu z części nadziemnej *E. maritimum* (32,42  $\mu\text{g/ml}$ ) i *E. kotschyi* (31,75  $\mu\text{g/ml}$ ), w linii Vero dla ekstraktu z korzeni *E. maritimum* (16,33  $\mu\text{g/ml}$ ) i *E. kotschyi* (16,04  $\mu\text{g/ml}$ ). Wartości  $\text{IC}_{50}$  były zawsze niższe niż w teście LDH. Autorzy sugerują, że ponieważ aktywności cytotoksyczne mierzone testem MTT były niższe niż w przypadku testu LDH, saponiny zawarte w ekstrakcie roślinnym mogłyby aktywować te zależne od ATP receptory purynergiczne, powodując przepuszczalność błon i wymianę jonową. Autorzy wskazują na zawartość szeregu grup związków w tych gatunkach, podobnie jak w całym rodzaju *Eryngium*. Analizy fitochemiczne badanych gatunków wykazały obecność oprócz głównych związków – saponin triterpenowych, także podstawowych związków fenolowych, monoterenów, seskwiterpenów, triterpenoidów, flawonoidów, kumaryn, steroidów, acetylenów i innych klas związków. Jak zauważają autorzy badań kryteria aktywności cytotoksycznej dla surowych ekstraktów, uważanych

za substancję czynną przeciwko komórkom rakowym, ustalone przez *National Cancer Institute* (NCI) określono dla  $\text{IC}_{50} < 30 \mu\text{g/ml}$ . Wszystkie ekstrakty roślinne w tym eksperymencie posiadały wartości  $\text{IC}_{50}$  powyżej 30  $\mu\text{g/ml}$ , co wskazuje na brak działania przeciwnowotworowego testowanych ekstraktów dla badanych typów komórek. Wartości te nie pasują dokładnie do miary NCI,  $\text{IC}_{50}$  wszystkich ekstraktów roślinnych zmierzone w obu testach dla linii komórkowych Hep2 jako 30,25–55,00  $\mu\text{g/ml}$  i dla komórek Hep2 zmierzone w teście MTT jako 31,75–48,27  $\mu\text{g/ml}$ , ponieważ wskazują na ich słabą aktywność. Chociaż wartości  $\text{IC}_{50}$  zmierzone w teście MTT dla linii komórkowych Vero okazały się znacznie niższe ( $\text{IC}_{50}$  16,04–32,92  $\mu\text{g/ml}$ ) niż opisane limity, zagadnienia te nie zostały omówione w niniejszej publikacji, ponieważ komórki te nie były nowotworowe [12].

Pięć saponin wyizolowanych z korzeni *E. campestre* (mikołajka polnego) wykazywało słabą ( $\text{IC}_{50}$  pomiędzy 40 a 100  $\mu\text{g/ml}$ ), a dwie saponiny ( $> 100 \mu\text{g/ml}$ ) niską aktywność cytotoksyczną wobec ludzkich komórek nowotworowych jelita grubego (HCT116 i HT-29) z zastosowaniem testu MTT. Dla porównania wartość  $\text{IC}_{50}$  dla kontroli pozytywnej aktywności cytotoksycznej – paklitakselu, wynosiła  $8,0 \pm 6,0$  i  $5,3 \pm 1,2 \text{ ng/ml}$  względem linii HCT116 i HT-29 [13]. Z kolei olejek eteryczny, jego frakcje i czysty związek – kampesterolid, pozyskane z nadziemnych części *E. campestre*, zostały ocenione *in vitro* pod kątem ich właściwości cytotoksycznych na mysich komórkach rakowych przypominających makrofagi. Frakcje, podobnie jak kampesterolid, wykazały najlepsze działanie toksyczne w stosunku do linii J774. Wartość  $\text{IC}_{50}$  dla olejku eterycznego o pełnym składzie, bogatego w germakren D, kampesterolid, germakren B, mircen,  $\alpha$ -kadinol i spatulenol wynosiła  $20,09 \pm 2,00 \mu\text{g/ml}$ , frakcji ECC1 o niskiej zawartości kampesterolidu – 1,2%, ale bogatego w mircen (38%) i farnezer (9%)  $12,23 \pm 1,42 \mu\text{g/ml}$ , frakcji S31 z 30% zawartością kampesterolidu  $8,29 \pm 1,79 \mu\text{g/ml}$ , frakcji EC1 z 70% zawartością kampesterolidu wynosiła  $6,70 \pm 1,65 \mu\text{g/ml}$  oraz samego związku kampesterolidu  $4,82 \pm 0,10 \mu\text{g/ml}$ . Z niniejszych badań wynika, że kampesterolid wydaje się być odpowiedzialny, przynajmniej częściowo, za cytotoksyczność wzbogaconych frakcji. Wartość  $\text{IC}_{50}$  dla kontroli dodatniej – kamptotecyny wynosiła  $0,007 \pm 0,005 \mu\text{M}$  [14].

W innym badaniu ludzkie linie komórek nowotworowych traktowano rosnącymi stężeniami olejków eterycznych z nadziemnych części *E. campestre* (miko-

łajka polnego) i *E. amethystinum* (mikołajka amethystowego) przez 72 godziny i analizowano za pomocą testu MTT. Oba olejki eteryczne wykazywały silne działanie cytotoksyczne przeciw wszystkim liniom komórek nowotworowych, w szczególności w stosunku do komórek raka okrężnicy (HCT116), w których wartości  $IC_{50}$  wynosiły 1,64 i 1,65  $\mu\text{g/ml}$  odpowiednio dla olejku *E. campestre* i olejku *E. amethystinum*. Aktywność była znacząca także w przypadku komórek raka piersi i komórek czerniaka. Wartości  $IC_{50}$  w zakresie od 1,57  $\mu\text{g/ml}$  olejku eterycznego *E. campestre* na komórkach A375 do 5,32  $\mu\text{g/ml}$  olejku eterycznego *E. amethystinum* na komórki MDA-MB 231. W amerykańskim programie badań przesiewowych roślin NCI olejek jest ogólnie uważany za obiecujący, jeśli wartość  $IC_{50}$  po inkubacji od 48 do 72 godzin jest mniejsza niż 20  $\mu\text{g/ml}$ . Głównym składnikiem obecnym w obu olejkach eterycznych był gerkmen D, związek o udokumentowanych aktywnościach biologicznych, w tym także przeciwnowotworowych. Jednakże, jak uważają autorzy, stężenia głównych związków nie mogą w pełni wyjaśnić ogólnego działania cytotoksycznego olejków eterycznych mikołajków, co oznacza, że niektóre inne związki mogą działać synergicznie, przyczyniając się do tej aktywności [15].

Wyniki testu MTT wykazały, że ekstrakty z części nadziemnych *E. billardieri* wykazywały działanie cytotoksyczne na komórki raka trzustki (PANC-1) w czasie (24 i 48 godzin) i dawce – sposób zależny (0-1600  $\mu\text{g/ml}$ ). Wartość  $IC_{50}$  dla ekstraktu heksanowego wynosiła 836,2  $\mu\text{g/ml}$  (24 godz.) i 217,3  $\mu\text{g/ml}$  (48 godz.), dla ekstraktu dichlorometanowego 1128  $\mu\text{g/ml}$  (24 godz.) i 306,8  $\mu\text{g/ml}$  (48 godz.) oraz dla ekstraktu metanolowego 1329  $\mu\text{g/ml}$  (24 godz.) i 448,5  $\mu\text{g/ml}$  (48 godz.). Jak wykazała analiza qRT-PCR wszystkie ekstrakty regulowały poziom ekspresji proapoptotycznego mRNA Bax w komórkach PANC-1. Natomiast ekstrakt dichlorometanowy i heksanowy indukowały wysoki poziom apoptozy mierzonej metodą cytometrii przepływowej po inkubacji komórek z aneksyną V i jodkiem propidyny [16]. Odkrycia te korelowały z innymi badaniami grupy badawczej, które wskazywały na cytotoksyczny wpływ metanolowego ekstraktu *E. billardieri* na komórki nowotworowe piersi (MCF-7), raka płuc (A549), ludzkiego raka wątroby (HepG-2) oraz raka okrężnicy (HT-29). Wartości  $IC_{50}$  w teście MTT dla tych linii nowotworowych odpowiednio wynosiły: 6,5  $\mu\text{g/ml}$ , 37,6  $\mu\text{g/ml}$ , 59,9  $\mu\text{g/ml}$  oraz 6,7  $\mu\text{g/ml}$  [17].

Wyniki testu MTT wykazały znaczne zahamowanie proliferacji komórek rakowych mysiego czerniaka (B16F10) oraz ludzkich: czerniaka (SKMEL28), raka sutka (MCF-7), raka płuc (A549) i glejaka (HS683, U373) ( $IC_{50} = 0,3\text{-}29 \mu\text{M}$ ) traktowanych alifatycznymi C17 poliacetylenami typu falkarinolu izolowanymi korzenia *E. tricuspidatum* ekstrahowanego eterem naftowym, a mianowicie falkarindiolem, 3,8-dioctanem falkarindiolu, 11-acetoksy-falkarindiol i 8-octanem falkarindiolu. Autorzy publikacji wskazują, że falkarinol jest jednym z najbardziej aktywnych poliacetylenów, który posiada już udokumentowane liczne właściwości biologiczne, w tym przeciwnowotworowe. Pozostałe związki z analizowanych w niniejszym eksperymencie nie były badane, a także część z nich nie została poznana. Jeden z nich 1,2-dihydro-11-acetoksy-falkarindiol był nieaktywny w stosunku do wszystkich linii komórkowych, charakteryzując się  $IC_{50} > 100 \mu\text{M}$  [18].

Aktywność cytotoksyczna ekstrahowanych eterem naftowym części nadziemnych tunezyjskich gatunków *Eryngium*: *E. maritimum*, *E. ilicifolium*, *E. barrelieri*, *E. glomeratum*, *E. tricuspidatum*, *E. triquetrum*, *E. dichotomum* i *E. campestre* została zbadana w stosunku do linii komórkowej podobnej do makrofagów (J774) oraz nienowotworowej linii komórkowej fibroblastów (WI38). Wyniki testu MTT wskazywały na aktywność badanych ekstraktów w zakresie  $IC_{50}$  od 0,3  $\mu\text{g/ml}$  do 43,9  $\mu\text{g/ml}$ . Najsilniejszą aktywnością cytotoksyczną *in vitro* ( $IC_{50} = 0,3 \mu\text{g/ml}$ ) charakteryzował się ekstrakt *E. triquetrum*, wyjątkowo bogaty w falkarinol. Wartość  $IC_{50}$  dla kamptotecyny – kontroli pozytywnej w niniejszym eksperymencie wyniosła  $0,17 \pm 0,04 \mu\text{M}$ . Jak wykazali autorzy badań nie zaobserwowano selektywnego działania dla większości ekstraktów [19].

W innym eksperymencie badano właściwości cytotoksyczne ekstraktu metanolowego z liści *E. caucasicum* (mikołajka kaukaskiego) na linie komórkowe ludzkiego raka wątroby (HepG2) i raka okrężnicy (HCT116) oraz porównawczo na nienowotworową linię ludzkich fibroblastów. Wyniki testu MTT nie wykazały żadnego znaczącego działania cytotoksycznego ekstraktu na badane linie [20].

## Podsumowanie

Spośród prawie 250 gatunków roślin należących do rodzaju *Eryngium* do tej pory tylko znikoma liczba taksonów została zbadana pod kątem ich aktywności cytotoksycznej. Warto zaznaczyć, że wśród analizowanych gatunków, które wykazują obiecujące wła-

ściwości są trzy krajowe mikołajki: *E. maritimum*, *E. planum* i *E. campestre*. Dane przedstawione w pracy stanowią cenne informacje do dalszych eksperymentów w szeroko rozumianym poszukiwaniu związków przeciwnowotworowych w obrębie rodzaju *Eryngium*, bogatego w kompleksy triterpenowych saponin i wieloskładnikowe olejki eteryczne.

Potencjał ekstraktów roślinnych i czystych związków wyizolowanych z różnych surowców z kilku gatunków *Eryngium* wykazano *in vitro* na różnych rodzajach komórek nowotworowych. To sugeruje możliwe ich zastosowanie jako naturalnych, obiecujących środków przeciwnowotworowych, dla których konieczne są dalsze badania w celu ustalenia ich skuteczności *in vivo*

i wyjaśnienia mechanizmów działania na poziomie molekularnym i biochemicznym.

Konflikt interesów / Conflict of interest

Brak/None

Adres do korespondencji / Correspondence address

✉ Małgorzata Kikowska

Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej i Biotechnologii Roślin

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

ul. św. Marii Magdaleny 14; 61-861 Poznań

☎ (+48 61) 668 78 47

✉ kikowska@ump.edu.pl

### Piśmiennictwo/References

- Iqbal J, Abbasi BH, Mahmood T, et al. Plant-derived anticancer agents: A green anticancer approach. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2017;7(12):1129-50.
- Zyad A, Leouifoudi I, Tilaoui M, et al. Natural products as cytotoxic agents in chemotherapy against cancer. *Cytotoxicity* 2018;65-88.
- Merina N, Chandra KJ, Jibon K. Medicinal plants with potential anticancer activities: A review. *Int Res J Pharm.* 2012;3(6):26-30.
- Anuszewska EA. Badanie aktywności cytotosycycznej produktów leczniczych i wyrobów medycznych. *Gazeta Farm.* 2010;5:36-8.
- Erdem SA, Nabavi SF, Orhan IE, et al. Blessings in disguise: a review of phytochemical composition and antimicrobial activity of plants belonging to the genus *Eryngium*. *DARU* 2015;23(53):1-22.
- Wang P, Su Z, Yuan W, et al. Phytochemical constituents and pharmacological activities of *Eryngium* L. (Apiaceae). *Pharm Crops.* 2012;3:99-120.
- Kikowska M, Thiem B. *In Vitro* Systems of Selected *Eryngium* Species (*E. planum*, *E. campestre*, *E. maritimum*, and *E. alpinum*) for Studying Production of Desired Secondary Metabolites (Phenolic Acids, Flavonoids, Triterpenoid Saponins, and Essential Oil). W: Kishan Gopal Ramawat, Halina Maria Ekiert, Shaily Goyal. *Plant Cell and Tissue Differentiation and Secondary Metabolites. Fundamentals and applications.* Cham: Springer, 2020:pp.1-33.
- Bogucka-Kocka A, Smolarz HD, Kocki J. Apoptotic activities of ethanol extracts from some Apiaceae on human leukaemia cell lines. *Fitoterapia* 2008;79(7-8):487-97.
- Wang P, Ownby S, Zhang ZZ, et al. Cytotoxicity and inhibition of DNA topoisomerase I of polyhydroxylated triterpenoid and triterpenoid glycosides. *Bioorg Med Chem Lett.* 2010;20(9):2790-6.
- Wang P, Yuan W, Deng G, et al. Triterpenoid saponins from *Eryngium yuccifolium* 'Kershaw Blue'. *Phytochem Lett.* 2013;6(2):306-9.
- Hassan R, Hussein F, Hawraa M, et al. Antioxidant, cytotoxic, properties and phytochemical screening of two Lebanese medicinal plants. *Int Res J Pharm.* 2013;4(5):132-6.
- Yurdakök B, Baydan E. Cytotoxic effects of *Eryngium kotschyi* and *Eryngium maritimum* on Hep2 and HepG2, Vero and U138MG cell lines. *Pharm Biol.* 2013;51(12):1579-85.
- Kartal M, Mitaine-Offer AC, Paululat T, et al. Triterpene saponins from *Eryngium campestre*. *J Nat Prod.* 2006;69(7):1105-8.
- Medbouhi A, Benbelaid F, Djabou N, et al. Essential oil of Algerian *Eryngium campestre*: chemical variability and evaluation of biological activities. *Molecules* 2019;24(14): 2575.
- Cianfaglione K, Blomme EE, Quassinti L, et al. Cytotoxic essential oils from *Eryngium campestre* and *Eryngium amethystinum* (Apiaceae) growing in Central Italy. *Chem Biodivers.* 2017;14(7).
- Roshanravan N, Asgharian P, Dariushnejad H, et al. *Eryngium billardieri* induces apoptosis via Bax gene expression in pancreatic cancer cells. *Adv Pharm Bull.* 2018;8(4):667-74.
- Esmaili S, Irani M, Zehan HM, et al. Cytotoxic activity of some ethnic medicinal plants from southwest of Iran. *Res J Pharmacogn.* 2016;3(1):43-7.
- Djebara A, Ciavatta ML, Mathieu V, et al. Oxygenated C17 polyacetylene metabolites from Algerian *Eryngium tricuspdatum* L. roots: Structure and biological activity. *Fitoterapia* 2019;138:104355.
- Landoulsi A, Hennebelle T, Bero J, et al. Antimicrobial and light-enhanced antimicrobial activities, cytotoxicity and chemical variability of all Tunisian *Eryngium* Species. *Chem Biodivers.* 2020;17(4):e1900543.
- Mostafa K, Zahra Y, Zaher M, et al. Cytotoxic effect of methanolic extracts of *Fritillaria imperialis* bulbs and *Eryngium caucasicum* leaves on hepatoma and colon cancer cells. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2019;9(8):353-8.