

# Aktywność farmakologiczna pentacyklicznych związków triterpenowych

Zakład Farmakognozji, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku  
p.o. Kierownika Zakładu: dr Michał Tomczyk

## PHARMACOLOGICAL ACTIVITY OF PENTACYCLIC TRITERPENE COMPOUNDS

### SUMMARY

*Pentacyclic triterpenes are structurally divers, widespread secondary metabolites of plants. This review shows that their pharmacological potential is very high. In many experiments, in vitro and in vivo, it was stated that they display various pharmacological effects, among others anti-cancer, antioxidant, anti-inflammatory, anti-diabetic, anti-atherosclerotic, spasmolytic, anti-allergic. They are promising compounds for the development of new multi-targeting bioactive agents.*

**KEY WORDS:** PENTACYCLIC TRITERPENES – URSANE – LUPANE – OLEANE TYPE – PHARMACOLOGICAL ACTIVITY

## Podstawowe struktury pentacyklicznych związków triterpenowych i ich występowanie w świecie roślin

Triterpeny, obok steroli, saponin i glikozydów narsercowych, należą do grupy triterpenoidów. Triterpeny pentacykliczne charakteryzują się obecnością pięciu sześciowęglowych lub jednego pięcio- i czterech sześciowęglowych pierścieni. Ich szkielet jest uformowany z sześciu jednostek izoprenowych i powstaje w wyniku cyklizacji cząsteczki skwalenu. Związki te są zazwyczaj bezbarwne, krystaliczne, mało reaktywne i mają wysoką temperaturę topnienia. Strukturę triterpenów pentacyklicznych podzielono na kilka typów przedstawionych na rycinie 1.

Do poszczególnych typów należą następujące pochodne:

- typ ursanu: kwas ursolowy,  $\alpha$ -amyryna, uwaol,
- typ oleananu: kwas oleanolowy,  $\beta$ -amyryna, erytrodiol,
- typ lupanu: lupeol, betulina, kwas betulinowy,
- typ taraksastanu: taraksasterol,
- typ tarakseranu: tarakserol (1-4).

Związki triterpenowe występują na ogół w korze, korku, żywicy, skórcie i woskowym nalocie liści oraz kwiatów, pełniąc funkcję ochronną przed atakiem owadów i drobnoustrojów (1). Są szeroko rozpo-

wszechnione w świecie roślin i stanowią przedmiot licznych badań fitochemicznych i farmakologicznych. W tabeli 1 przedstawiono występowanie poszczególnych związków w surowcach roślinnych (4, 5).

Rośliny o wysokiej zawartości triterpenów pentacyklicznych często są wykorzystywane w fitoterapii ze względu na cenne właściwości lecznicze (4). Niniejszy przegląd obejmuje głównie aktywność pochodnych ursanu, oleanu i lupanu.

## Aktywność farmakologiczna pentacyklicznych pochodnych triterpenowych

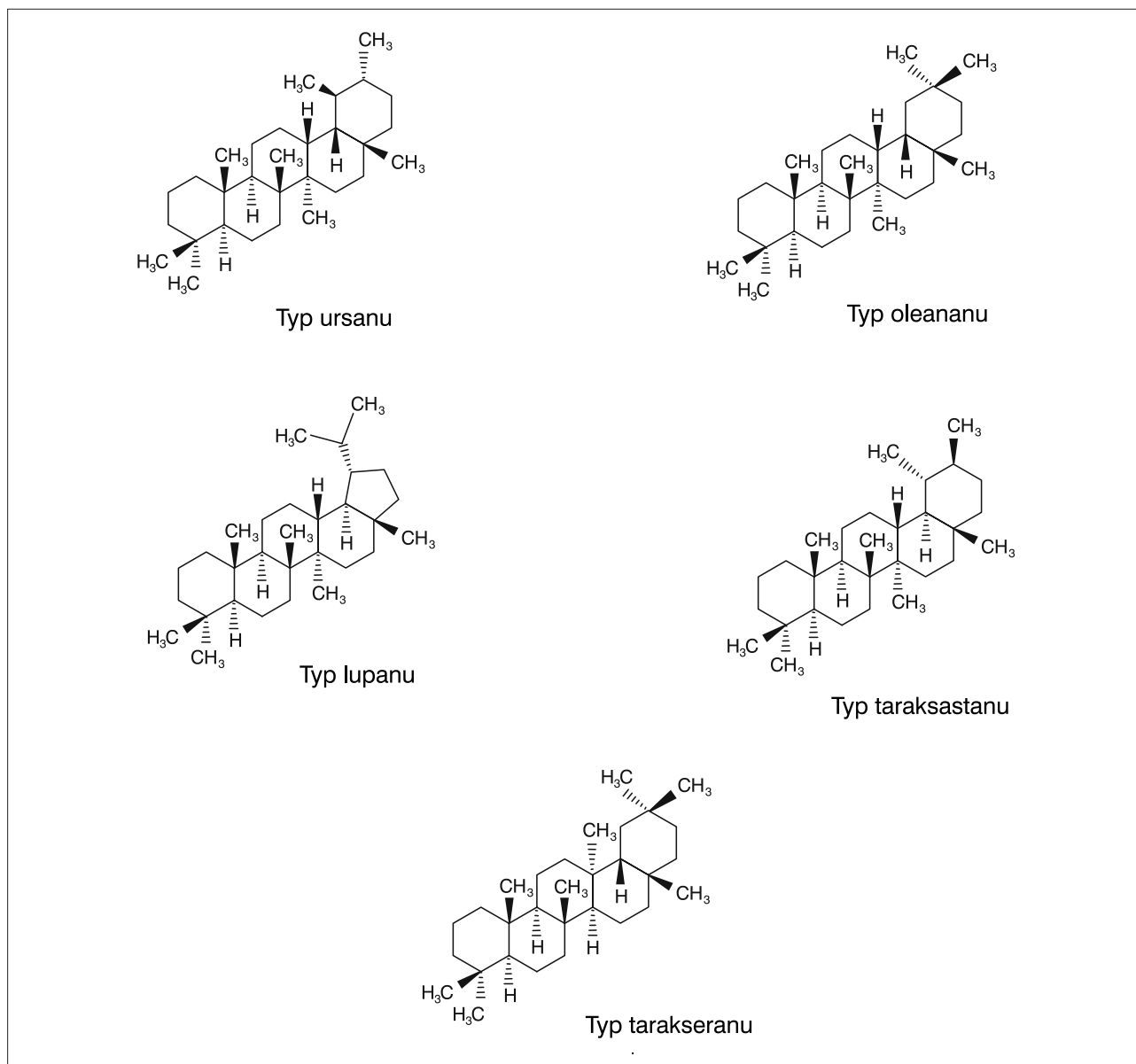
### Aktywność przeciwnowotworowa

Komórki rakowe dysponują szerokimi możliwościami namnażania, transformacji, tworzenia przerzutów do innych organów i tkanek oraz oporności na terapię, co utrudnia ich niszczenie. W związku z tym ważne jest znalezienie leków działających precyzyjnie w poszczególnych stadiach karcynogenezy i poznanie dokładnego mechanizmu ich działania (6). Związki triterpenowe mogą być potencjalnym elementem strategii przeciwnowotworowej. Przeprowadzone badania wykazują ich aktywność na wielu etapach powstawania nowotworu.

### Aktywność antyoksydacyjna i cytoochronna

W ostatnich latach pojawiło się wiele danych wskazujących na istotną rolę stresu oksydacyjnego w przebiegu transformacji nowotworowej. W komórkach nowotworowych stwierdzono nasilone wytwarzanie wolnych rodników, co może prowadzić do niestabilności genomu, mutacji DNA, wzrostu tempa proliferacji oraz potencjalnej oporności na terapię (7). Triterpeny można uznać za potencjalne czynniki cytoochronne i przeciwnowotworowe z uwagi na ich działanie przeciwko wolnym rodnikom (8).

Przebadano aktywność antyoksydacyjną wybranych triterpenów metodami *in vitro* i *in vivo* na organizmach myszy i szczurów narażonych na działanie wolnych rodników.



Ryc. 1. Podstawowe struktury pentacyklicznych związków triterpenowych.

W tkankach prostaty myszy, w których wywołano silny stres oksydacyjny za pomocą testosteronu, po podaniu lupeolu odnotowano spadek poziomu produktów peroksydacji lipidów i liczby wolnych rodników oraz wzrost aktywności enzymów (dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), katalaza (CAT), reduktaza glutationowa (GR), transferaza S-glutationowa (GST)). Na podstawie otrzymanych wyników można przypuszczać, że lupeol jest potencjalnym czynnikiem zapobiegającym nowotworom prostaty wywołanym stresem oksydacyjnym (9). Podobne badania, prowadzone na organizmach myszy ze zmianami w wątrobie, wywołanymi silnym karcynogenem DMBA (dimetylobenzoantracen),

wykazały, że lupeol powoduje spadek poziomu peroksydacji lipidów i wzrost aktywności enzymów antyoksydacyjnych. Może być on zatem traktowany jako czynnik hepatoprotekcyjny wobec czynników karcynogennych (10). Hepatoprotective działanie lupeolu stwierdzono także w testach na szczurach poddanych działaniu silnie karcynogennej aflatoksyny B<sub>1</sub>. Lupeol obniżał poziom stresu oksydacyjnego poprzez redukcję poziomu peroksydacji lipidów oraz wzmożenie aktywności SOD, CAT, peroksydazy glutationowej (GPx), GR, GST, dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej (G6PD) i czynników nieenzymatycznych, takich jak glutation zredukowany (GSH), witaminy C i E. Ponadto wyka-

**Tabela 1.** Rozpowszechnienie pentacyklicznych triterpenów w roślinach leczniczych i użytkowych.

| Związek                       | Rodzina               | Gatunek                        | Część rośliny          |
|-------------------------------|-----------------------|--------------------------------|------------------------|
| Kwas oleanolowy               | <i>Oleaceae</i>       | <i>Olea europaea</i>           | liście, owoce, kora    |
|                               | <i>Myrtaceae</i>      | <i>Syzygium aromaticum</i>     | kwiaty                 |
|                               | <i>Lamiaceae</i>      | <i>Rosmarinus officinalis</i>  | liście                 |
|                               |                       | <i>Melissa officinalis</i>     | liście                 |
|                               |                       | <i>Lavandula angustifolia</i>  | liście, kwiaty         |
| <i>Loranthaceae</i>           | <i>Viscum album</i>   | ziele                          |                        |
| Kwas ursolowy                 | <i>Lamiaceae</i>      | <i>Rosmarinus officinalis</i>  | liście                 |
|                               |                       | <i>Salvia officinalis</i>      | liście                 |
|                               |                       | <i>Lavandula angustifolia</i>  | liście, kwiaty         |
|                               |                       | <i>Thymus vulgaris</i>         | liście                 |
|                               |                       | <i>Origanum majorana</i>       | liście                 |
|                               | <i>Apocynaceae</i>    | <i>Nerium oleander</i>         | liście                 |
|                               | <i>Rosaceae</i>       | <i>Malus domestica</i>         | owoce, skórka, wytloki |
| <i>Rubiaceae</i>              | <i>Coffea arabica</i> | liście                         |                        |
| Kwas betulinowy               | <i>Platanaceae</i>    | <i>Platanus acerifolia</i>     | kora                   |
|                               | <i>Betulaceae</i>     | <i>Betula alba</i>             | kora                   |
|                               | <i>Lamiaceae</i>      | <i>Rosmarinus officinalis</i>  | liście                 |
| Betulina                      | <i>Betulaceae</i>     | <i>Betula alba</i>             | kora                   |
|                               | <i>Oleaceae</i>       | <i>Olea europaea</i>           | kora                   |
|                               | <i>Caprifoliaceae</i> | <i>Sambucus nigra</i>          | kora                   |
| $\alpha$ - i $\beta$ -Amyryna | <i>Gentianaceae</i>   | <i>Centaurium erythraea</i>    | ziele                  |
|                               | <i>Ericaceae</i>      | <i>Arctostaphylos uva-ursi</i> | liście                 |
| $\beta$ -Amyryna              | <i>Apiaceae</i>       | <i>Pimpinella anisum</i>       | nasiona                |
|                               | <i>Lamiaceae</i>      | <i>Salvia officinalis</i>      | liście                 |
|                               | <i>Solanaceae</i>     | <i>Solanum lycopersicum</i>    | skórka owoców          |
| Lupeol                        | <i>Asphodelaceae</i>  | <i>Aloë vera</i>               | liście                 |
|                               | <i>Ericaceae</i>      | <i>Arctostaphylos uva-ursi</i> | liście                 |
|                               | <i>Betulaceae</i>     | <i>Betula alba</i>             | kora                   |
|                               | <i>Vitaceae</i>       | <i>Vitis vinifera</i>          | liście                 |
|                               | <i>Asteraceae</i>     | <i>Calendula officinalis</i>   | kwiaty                 |

ziano, że skuteczność lupeolu jest porównywalna do sylimaryny (11).

Badano również aktywność lupeolu przeciwko reakcjom rodnikowym wywołanym przez metale ciężkie indukujące nowotwory nerek i wątroby. U szczurów, którym wstrzyknięto podskórnie kadm, wykazano

spadek poziomu produktów peroksydacji lipidów i wzrost poziomu antyoksydantów w nerkach (12). Podobne efekty dla lupeolu i jego estru linoleinianowego uzyskano w tkance wątrobowej. Aktywność linoleinianu lupeolu była zbliżona do aktywności sylimaryny (13).

W innym teście skórę myszy, w celu indukcji nowotworu, poddawano działaniu wolnego rodnika – nadtlenku benzoilu. Podany jednocześnie lupeol zredukował stopień uszkodzeń DNA, białek i lipidów, obniżył poziom generowanego nadtlenku wodoru, zmniejszył ilość produktów peroksydacji lipidów oraz podwyższył aktywność CAT, GPx, GR, GST i GSH. Związek ten może więc być traktowany jako potencjalny czynnik zapobiegający rozwojowi nowotworów skóry (14, 15).

Aktywność kwasu oleanolowego, kwasu 2-hydroksyoleanolowego (kwas krategolowy), erytrodiolu i uwaolu, przebadano na liniach komórkowych raka sutka MCF-7. Wykazano, że uwaol, kwas oleanolowy i krategolowy obniżają poziom wolnych rodników w komórkach i chronią je przed uszkodzeniami wywołanymi nadtlenkiem wodoru. Ponadto dla wszystkich czterech triterpenów odnotowano działanie ochronne wobec uszkodzeń DNA pod wpływem nadtlenku wodoru. Dodatkowo wykazano cytotoksyczność erytrodiolu, uwaolu i kwasu oleanolowego wobec komórek raka sutka (16). Natomiast badania na liniach komórkowych białaczki szpikowej (L1210, K562 i HL-60) wykazały aktywność antyoksydacyjną kwasu oleanolowego i ursolowego. Oba triterpeny spowodowały obniżenie częstości występowania uszkodzeń DNA indukowanych nadtlenkiem wodoru. Odnotowano również działanie cytotoksyczne kwasu oleanolowego i ursolowego wobec komórek białaczki (17).

### **Wpływ na apoptozę**

Jedną z cech charakterystycznych transformacji nowotworowej jest zanik zdolności komórek do apoptozy. Mutacje genowe, prowadzące do rozwoju nowotworu, warunkują upośledzenie mechanizmów regulacji cyklu komórkowego i niekontrolowane podziały. Zaburzenia te polegają na utracie równowagi w odniesieniu do czynników pro- i antyapoptotycznych oraz na uszkodzeniu białek uczestniczących w procesie programowanej śmierci komórki. Przywrócenie komórkom nowotworowym zdolności do obumierania jest potencjalnym punktem uchwytu leków przeciwnowotworowych (6). Pochodne triterpenowe zostały przebadane pod kątem zdolności do indukowania apoptozy w komórkach nowotworowych. W przypadku poszczególnych pochodnych udowodniono szereg mechanizmów aktywacji apoptozy poprzez szlak zewnątrzpochozny oraz wewnątrzpochozny.

Kwas betulinowy indukuje apoptozę poprzez mechanizm mitochondrialny. W badaniach na liniach komórek nowotworowych, związek ten powodował utratę potencjału błonowego mitochondriów, uwolnienie z mitochondriów cytochromu *c* i czynnika

indukcji apoptozy (AIF), aktywację kaspaz cytozolowych oraz fragmentację jądra (18). Innym udowodnionym mechanizmem działania kwasu betulinowego jest generowanie reaktywnych form tlenu (ROS). Zaobserwowano, że w komórkach nowotworowych poddanych działaniu kwasu betulinowego dochodziło do wzrostu poziomu ROS, których obecność powoduje aktywację kaspaz cytozolowych i apoptozę (19). W badaniach na hodowli komórkowej czerniaka wykazano, że ROS uwalniane pod wpływem kwasu betulinowego są również odpowiedzialne za indukcję proapoptotycznych kinaz rodziny MAPK, takich jak p38 oraz SAP/JNK (20).

Kolejnym dyskutowanym mechanizmem jest wpływ kwasu betulinowego na ekspresję białek rodziny Bcl-2, które są czynnikami zarówno pro- jak i antyapoptotycznymi. Ich bilans warunkuje przeżycie lub śmierć komórki. Przykładowo, w badaniach na liniach komórkowych różnych nowotworów, poddanych działaniu kwasu betulinowego, odnotowano wzrost ilości białek proapoptotycznych Bax i Bcl-X<sub>s</sub>. (19, 21-23). Kwas betulinowy uczestniczy w regulacji apoptozy także poprzez modulację aktywności czynnika transkrypcji jądrowej NF-κB. Badania wykazały, że aktywuje on czynnik NF-κB, który odpowiada za nasilenie transkrypcji genów białek regulujących apoptozę (24). Natomiast w badaniach na komórkach lekoopornego nowotworu prostaty z konstytutywną nadekspresją czynnika NF-κB, uzyskano przeciwny efekt. W komórkach wykazano spadek ekspresji czynnika NF-κB, spowodowany działaniem kwasu betulinowego. Mniejsza aktywność NF-κB skutkowałą zmianą stosunku ilościowego białek Bcl-2/Bax oraz rozpadem jądrowego enzymu naprawczego – polimerazy poli-ADP-rybozy (PARP) – co w efekcie indukowało śmierć komórek (25). Odmienne wyniki dotyczące aktywności NF-κB są prawdopodobnie spowodowane jego wielokierunkowym i niekiedy przeciwstawnym działaniem w zakresie regulacji cyklu komórkowego i proliferacji (26).

Badania przeprowadzone na komórkach raka prostaty wykazały aktywację apoptozy przez kolejny triterpen – lupeol. Działanie lupeolu wiąże się ze szlakiem zewnątrzpochoznym. W komórkach poddanych działaniu lupeolu stwierdzono wzrost ekspresji białka Fas, które stanowi receptor błonowy aktywujący szlak apoptozy (tzw. receptor śmierci) oraz wzrost ekspresji białka FADD, uczestniczącego w przekazywaniu sygnału od receptora Fas. Ponadto zaobserwowano rozkład enzymu PARP, co skutkowało kondensacją i degradacją chromatyny (27). Doświadczenia, prowadzone na komórkach raka trzustki opornych na terapię rekombinowanym białkiem TRAIL (*TNF-related apoptosis-inducing ligand*), wskazały mechanizm, dzie-

ki któremu lupeol uwrażliwia je na działanie tego czynnika. Komórki te wykazują nadekspresję białka cFLIP, będącego inhibitorem kaspazy-8. W ten sposób zostaje zahamowany szlak apoptozy zapoczątkowany przez białka TRAIL. Komórki nowotworowe poddane działaniu lupeolu wykazały spadek ekspresji białek cFLIP i uwrażliwienie na działanie białek TRAIL (28). Inne badania na komórkach raka trzustki udowodniły, że lupeol redukuje ekspresję antyapoptotycznej onkoproteiny Ras odpowiedzialnej za wzrost komórek nowotworowych (29).

Kolejne triterpeny, dla których udowodniono aktywność proapoptotyczną, to kwas ursolowy, oleanolowy i  $\beta$ -amyryna. Badania, przeprowadzone na liniach komórkowych czerniaka B16F-10, wykazały aktywację apoptozy przez kwas ursolowy na drodze różnorodnych mechanizmów. Stwierdzono wzrost ekspresji białka p53, które jest istotnym czynnikiem regulującym cykl komórkowy, proces starzenia i apoptozę komórek. Wykazano także wzrost ekspresji kaspazy-3. Ponadto zaobserwowano spadek ekspresji proapoptotycznego białka Bcl-2, poprzez inhibicję czynnika NF- $\kappa$ B, odpowiedzialnego za regulację ekspresji białek z rodziny Bcl-2 (30). W linii komórkowej nowotworu układu nerwowego (1321N1), poddanej działaniu kwasu oleanolowego, stwierdzono wzrost produkcji reaktywnych form tlenu oraz azotu, których obecność wiązała się z utratą potencjału błonowego mitochondriów i dezintegracją ich błon (31). Badania na liniach komórkowych białaczki szpikowej HL60 wskazały kolejny mechanizm indukcji apoptozy przez kwas oleanolowy. Stwierdzono aktywację kaspazy 3 i 9 oraz rozpad enzymu PARP (32). Kolejny triterpen,  $\beta$ -amyryna, powoduje indukcję apoptozy w komórkach nowotworowych poprzez generowanie wolnych rodników. Badania *in vitro* wykazały także, że hamuje on aktywność oksydazy ksantynowej, co z kolei może świadczyć o potencjalnej aktywności antyoksydacyjnej  $\beta$ -amyryny wobec zdrowych komórek (33).

### Wpływ na angiogenezę

Wzrost nowotworu może następować pod warunkiem dostarczania mu substancji odżywczych i tlenu. Unaczynienie guza jest istotnym etapem karcynogenezy, bez którego nowotwór pozostaje w stadium przedinwazyjnym. Dopiero pobudzenie angiogenezy warunkuje dalszy wzrost i tworzenie przerzutów. Proces angiogenezy jest indukowany m.in. przez czynnik wzrostu śródbłonna naczyń (VEGF), czynnik wzrostu fibroblastów (FGF), czynnik wzrostu nowotworu (TGF) oraz interleukinę 8 (IL-8). Zastosowanie związków obniżających aktywność tych czynników stanowi kolejną strategię walki z nowotworem (6).

Badania prowadzone w warunkach *in vitro* i *in vivo* wykazały, że niektóre pochodne triterpenowe są zdolne przeciwdziałać rozrostowi nowotworu na etapie angiogenezy.

Kwas betulinowy hamował aktywność czynnika FGF w komórkach śródbłonna naczyniowego pochodzących z aorty wołowej (34). Badania prowadzone na linii komórkowej raka prostaty wykazały spadek ekspresji czynnika VEGF pod wpływem kwasu betulinowego (35). Hamowanie ekspresji czynnika VEGF przez kwas betulinowy zostało potwierdzone również w badaniach na linii komórkowej nowotworu endometrium. Oprócz tego odnotowano obniżenie ekspresji czynnika HIF-1 $\alpha$  (*hypoxia-induced factor 1*), regulującego ekspresję genu VEGF.

Ponadto zaobserwowano obniżenie aktywności prolidazy – enzymu odpowiedzialnego za metabolizm kolagenu i odgrywającego rolę w angiogenezie. Prolidaza degraduje cząsteczki kolagenu i dostarcza budulca do syntezy nowych łańcuchów kolagenu przez unaczyniający się nowotwór. Zmniejszenie jej aktywności skutkowało hamowaniem biosyntezy kolagenu przez komórki nowotworowe. Prolidaza odpowiada także za aktywację czynnika HIF-1 i pośrednio VEGF (36). Badania na linii komórkowej nowotworu endometrium pokazują szerzej mechanizmy hamowania biosyntezy kolagenu przez kwas betulinowy. Kolagen, jako białko macierzy pozakomórkowej, pełni rolę budulcową, odpowiada za integralność tkanek i interakcje międzykomórkowe. Oddziałuje na komórki poprzez receptory powierzchniowe zwane integrynami  $\alpha_2\beta_1$ . Reguluje wzrost, różnicowanie oraz procesy nowotworzenia. Wytwarzanie kolagenu jest regulowane m.in. poprzez czynnik wzrostowy IGF-I i pośrednio przez aktywność prolidazy. W komórkach nowotworowych, poddanych działaniu kwasu betulinowego, stwierdzono spadek biosyntezy kolagenu oraz obniżenie aktywności prolidazy. Ponadto zaobserwowano spadek ekspresji integryny  $\alpha_2$  oraz receptora dla IGF-I i jego białek sygnałowych – kinaz MAP. Odnotowano także wzrost ekspresji czynnika NF- $\kappa$ B, który odpowiada za spadek ekspresji białek biosyntezy kolagenu (37).

Kolejne triterpeny o potencjalnej aktywności przeciwnowotworowej, to lupeol, kwas ursolowy i oleanolowy. Testy z użyciem modelu śródbłonna ludzkiej żyły pępowinowej udowodniły hamujący wpływ lupeolu na angiogenezę (38). Kwas ursolowy w testach *in vitro* hamował aktywność urokinazy i katepsyny B – enzymów uczestniczących w etapie degradacji macierzy pozakomórkowej przez rozwijający się guz (39). Testy na modelach biologicznych wykazały, że kwasy ursolowy i oleanolowy są zdolne do inhibicji proliferacji komórek śródbłonna naczyniowego (40).



### ***Ochrona komórek poprzez działanie antyoksydacyjne***

Wolne rodniki są zaangażowane w powstawanie uszkodzeń wielu narządów i stanowią bezpośrednią przyczynę degradacji DNA, starzenia organizmu i różnorodnych chorób. Triterpeny pentacykliczne wykazują udowodnioną aktywność antyoksydacyjną, co wiąże się z ich potencjalnym zastosowaniem jako czynników cytoochronnych (8). Wyniki badań potwierdzają działanie ochronne triterpenów wobec komórek nerek, wątroby, serca i limfocytów.

Wolne rodniki odpowiadają za uszkodzenia nerek w przebiegu kamicy nerkowej. Kamienie szczawianowo-wapniowe indukują peroksydację lipidów, stres oksydacyjny i uszkodzenie tkanek. W jednym z doświadczeń implantowano kawałki cynku do tkanki nerkowej szczurów oraz podawano im szczawian amonu, co zapoczątkowało rozwój kamicy szczawianowej. Kuracja lupeolem i betuliną podniosła poziom antyoksydantów: CAT, SOD, GPx, GST, GSH oraz witamin C i E w tkance nerkowej, a także obniżyła poziom peroksydacji lipidów i stopień uszkodzenia narządu (41).

Prowadzono badania na liniach hepatocytów narażonych na działanie etanolu. Hepatotoksyczność etanolu polega na generowaniu anionorodnika ponadtlenkowego i nadtlenu wodoru, które powodują uszkodzenia hepatocytów na drodze stresu oksydacyjnego. W komórkach poddanych działaniu etanolu oraz kwasu betulinowego i betuliny stwierdzono zmniejszenie produkcji tych rodników i zabezpieczenie komórek wątrobowych przed uszkodzeniem (42). Działanie hepatochronne wykazano także dla octanu  $\alpha$ -amyryny. Związek ten, poprzez działanie antyoksydacyjne, przyczynił się do zmniejszenia uszkodzeń hepatocytów u szczurów, które poddano intoksykacji tetrachlorkiem węgla (43). Inny triterpen, kwas oleanolowy, został przebadany w kierunku aktywności przeciwwolnorodnikowej na hepatocytach myszy i szczurów. Metodą RT-PCR analizowano RNA hepatocytów po podaniu kwasu oleanolowego. Stwierdzono nasilenie ekspresji genów kodujących metalotioneinę oraz czynnik transkrypcyjny Nrf-2 (*Nuclear factor-like 2*). Metalotioneina jest białkiem wiążącym metale i odpowiada za detoksykację metali ciężkich w wątrobie. Unieszkodliwia także wolne rodniki. Natomiast Nrf-2 nasila ekspresję genów kodujących enzymy antyoksydacyjne (44).

Badano kardioochronne działanie lupeolu i linoleinianu lupeolu w przebiegu terapii cyklofosfamidem, odznaczającym się wysoką kardiotoksycznością. U szczurów, którym podano cyklofosfamid, a następnie lupeol i linoleinian lupeolu, zaobserwowano zmniejszenie poziomu markerów uszkodzenia kardio-

miocytów (dehydrogenaza mleczanowa i fosfokinaza keratynowa) oraz wzrost aktywności SOD, CAT, GPx, GR, GST, GSH, G6PD oraz witamin C i E w surowicy krwi (45).

Testy *in vitro* na ludzkich limfocytach wykazały aktywność antyoksydacyjną kwasu ursolowego. Limfocyty były poddane stresowi oksydacyjnemu w wyniku działania promieniowania UVB i wolnych rodników. Po podaniu kwasu ursolowego odnotowano spadek produktów peroksydacji lipidów, obniżenie poziomu fragmentacji DNA i wzrost żywotności limfocytów (46).

### ***Aktywność przeciwzapalna***

Choroby zapalne są wysoce szkodliwym i szeroko rozpowszechnionym problemem zdrowotnym. Proces zapalny może dotyczyć wielu tkanek, często przechodzi w stan przewlekły i wiąże się z występowaniem dokuczliwego bólu, który trudno opanować farmakologicznie. Przewlekłe zapalenie, spowodowane chorobą autoimmunizacyjną, może prowadzić ponadto do uszkodzenia wielu narządów, jak stawy, płuca, nerki, przewód pokarmowy, wątroba (47, 48). Stan zapalny może także sprzyjać rozwojowi nowotworów (49).

Odkryto kilka mechanizmów działania przeciwzapalnego triterpenów. Ich aktywność opiera się głównie na hamowaniu aktywności enzymów uczestniczących w reakcji zapalnej, jak fosfolipaza  $A_2$ , cyklooksygenaza, lipooksygenaza, syntaza tlenu azotu, elastaza. Kolejny mechanizm to obniżenie wytwarzania prostaglandyn oraz cytokin prozapalnych: czynnika martwicy guza (TNF- $\alpha$ ), interferonu (IFN- $\gamma$ ), interleukin (IL). Triterpeny mogą także obniżać aktywność bądź liczbę komórek uczestniczących w procesie zapalnym.

Przeprowadzono szeroko zakrojone badania przesiewowe, dotyczące zdolności hamowania fosfolipazy  $A_2$  przez wybrane wyciągi roślinne w warunkach *in vitro*. Fosfolipaza  $A_2$  odpowiada za tworzenie mediatorów bólu i zapalenia. Wykazano, że najwyższą aktywnością hamującą odznaczały się wyciągi z *Betula alba*, zawierające jako główny składnik betulinę i kwas betulinowy (50). Testy *in vitro* i *in vivo* wykazały hamujący wpływ kolejnego triterpenu – kwasu oleanolowego – na aktywność fosfolipazy  $A_2$ . Badano aktywność tego enzymu w płynie maziowym, opłucnowym oraz jadach węży indyjskich *Vipera russelli* i *Naja naja*. Zaobserwowano nieodwracalną inhibicję fosfolipazy  $A_2$  poprzez utworzenie kompleksu kwasu oleanolowego z tym enzymem. Kolejne testy przeprowadzono na myszach z zapaleniem indukowanym fosfolipazą  $A_2$ . Wykazano zahamowanie aktywności hemolitycznej oraz zmniejszenie obrzęku łapy pod wpływem kwasu oleanolowego (51).

Badania aktywności przeciwzapalnej pochodnych kwasów oleanolowego i ursolowego, przeprowadzone w warunkach *in vitro*, wykazały ich zdolność do hamowania syntezy kolejnych enzymów prozapalnych, cyklooksygenazy 2 i syntazy tlenu azotu, przez aktywowane makrofagi mysie. Dodatkowo zaobserwowano zahamowanie aktywności czynnika transkrypcyjnego NF- $\kappa$ B, który odgrywa rolę w przebiegu procesów zapalnych i progresji nowotworu (52, 53). Kolejny udowodniony mechanizm przeciwzapalny wiąże się z oddziaływaniem na elastazę, która hydrolizuje elastynę ścian naczyń krwionośnych, co skutkuje wzrostem ich przepuszczalności i nasileniem migracji komórek prozapalnych. Wykazano, że kwas ursolowy, oleanolowy, bosweliowy oraz  $\alpha$ - i  $\beta$ -amyryna hamują aktywność elastazy w warunkach *in vitro*. Kwas bosweliowy hamował dodatkowo aktywność lipooksygenazy (54).

Aktywność przeciwzapalną wykazano również dla octanów  $\alpha$ -amyryny,  $\beta$ -amyryny i lupeolu w testach na modelu zapalenia ucha u myszy. Efekt ten jest związany z obniżeniem poziomu cyklooksygenazy 2 i prostaglandyny E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) (55). Działanie przeciwzapalne octanów  $\alpha$ - i  $\beta$ -amyryny wiąże się także z hamowaniem aktywności lipooksygenazy, co zostało potwierdzone w badaniach *in vitro* na ludzkich neutrofilach (56). Inny mechanizm działania octanów  $\alpha$ - i  $\beta$ -amyryny jest związany z zahamowaniem sekrecji cytokiny prozapalnej TNF- $\alpha$  przez indukowane makrofagi (57). Również pod wpływem lupeolu wykazano spadek produkcji cytokin, takich jak TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  oraz prostaglandyny E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) przez aktywowane makrofagi w warunkach *in vitro*. Natomiast w badaniach *in vivo* lupeol wstrzyknięty miejscowo zmniejszał obrzęk ucha u myszy z indukowanym zapaleniem, poprzez hamowanie nacieku neutrofilów do tkanki objętej procesem zapalnym (58). Po podaniu lupeolu myszom obserwowano zmniejszenie liczby limfocytów T subpopulacji CD4+ i CD8+ oraz cytokin prozapalnych IL-2, IL-4, IFN- $\gamma$  (59). W badaniach na zwierzętach z indukowanym ostrym procesem zapalnym zaobserwowano supresję migracji leukocytów, spadek produkcji PGE<sub>2</sub> i zmniejszenie obrzęku łapy pod wpływem kwasu ursolowego (60). Badania na myszach z indukowanym reumatoidalnym zapaleniem stawów (RZS) wykazały, że kwas ursolowy powoduje przywrócenie równowagi aktywności limfocytów pomocniczych Th<sub>1</sub> i Th<sub>2</sub>. Balans ten jest zaburzony w RZS na korzyść Th<sub>1</sub>. We krwi myszy poddanych terapii kwasem ursolowym odnotowano spadek produkcji cytokin wytwarzanych przez Th<sub>1</sub> (IL-2, TNF- $\alpha$  i IFN- $\gamma$ ). Natomiast ilość cytokin wytwarzanych przez Th<sub>2</sub> (IL-4 i IL-5) była zwiększona (61). Testy *in vitro* na aktywowanych endotoksyną makrofagach mysich wykazały hamujący wpływ be-

tuliny i kwasu betulinowego na produkcję PGE<sub>2</sub> i tlenu azotu (62).

Choroby zapalne wiążą się również z nadprodukcją wolnych rodników. Rodniki są generowane w tkance przez granulocyty oraz makrofagi i odpowiadają za zniszczenia stawów poprzez peroksydację i degradację lipidów błon komórkowych. U szczurów z indukowanym zapaleniem stawów lupeol powodował spadek poziomu peroksydacji lipidów i wzrost aktywności enzymów SOD, CAT, GPx, GSH (63). Przebadano działanie przeciwzapalne i przeciwrodnikowe  $\alpha$ - i  $\beta$ -amyryny na modelu ostrego zapalenia trzustki (OZT) u szczurów. Udowodniono, że pochodne te zmniejszają nasilenie przebiegu OZT poprzez mechanizm antyoksydacyjny. Stwierdzono redukcję obrzęku trzustki, spadek poziomu amylazy i lipazy trzustkowej w osoczu, obniżenie produkcji TNF- $\alpha$  i IL-6, spadek aktywności mieloperoksydazy trzustkowej, spadek poziomu peroksydacji lipidów oraz obniżenie ekspresji syntazy tlenu azotu (64).

Inne badania na zwierzęcych modelach zapalenia wskazały na odmienny mechanizm działania, związany z glikokortykoidami. Dotyczył on betuliny, kwasu betulinowego i ursolowego (65).

Proces zapalny przyczynia się także do rozwoju nowotworu. Badania przeprowadzone w ostatnich latach potwierdziły, że mediatory i komórki zaangażowane w proces zapalny stanowią istotny element środowiska komórek rakowych. Wspomagają one proliferację, angiogenezę i tworzenie przerzutów. Ponadto przewlekłe zapalenie obniża aktywność immunologiczną organizmu oraz osłabia efekt przeciwnowotworowy hormonów i czynników chemoterapeutycznych. Można więc przypuszczać, że czynniki przeciwzapalne, w tym triterpeny, mogą przyczyniać się do zapobiegania progresji procesów nowotworowych (8, 49).

#### **Aktywność przeciwcukrzycowa**

Triterpeny pentacykliczne dają obiecujące efekty w badaniach na zwierzęcych modelach cukrzycy. Obserwowano wyrównanie poziomu glukozy w osoczu oraz unormowanie innych parametrów, których zaburzenie jest charakterystyczne dla przebiegu tej choroby. U szczurów z indukowaną cukrzycą podawanie kwasu oleanolowego skutkowało spadkiem poziomu glukozy oraz wzrostem poziomu insuliny w osoczu. Ponadto odnotowano obniżenie poziomu triglicerydów, cholesterolu całkowitego i frakcji LDL. Obserwowane efekty – hipoglikemiczny i hipolipemiczny – wiążą się prawdopodobnie ze stymulacją wydzielania insuliny przez kwas oleanolowy. Działanie to powoduje zmniejszenie zaburzeń metabolizmu cukrów i lipidów w przebiegu cukrzycy (66). Stymulację wydzielania

insuliny udowodniono również w przypadku kwasu ursolowego w badaniach na myszach z indukowaną cukrzycą. Zaobserwowano wzrost poziomu insuliny w osoczu, wyrównanie glikemii, wzrost tolerancji glukozy i wrażliwości tkanek na insulinę. Stwierdzono także, że kwas ursolowy działa ochronnie na komórki  $\beta$  trzustki (67). Podobne efekty dał octan  $\alpha$ -amyryny w testach na modelach cukrzycy u myszy i szczurów. Podanie tego triterpenu skutkowało wyrównaniem zaburzeń metabolicznych i poprawą ogólnego stanu organizmu (68). Także inne estry  $\alpha$ -amyryny wykazały pozytywny efekt hipoglikemiczny u szczurów z indukowaną hiperglikemią (69).

Najnowsze badania dotyczyły ochronnego działania kwasu oleanolowego i ursolowego wobec powikłań nerkowych w przebiegu cukrzycy. Przewlekła hiperglikemia powoduje nieenzymatyczną glikację białek, które akumulując się w tkankach, uszkodzają narządy. Podawanie kwasu oleanolowego i ursolowego myszom z cukrzycą skutkowało obniżeniem poziomu produktów glikacji białek, jak glikowana hemoglobina w osoczu (HbA1c), glikowana albumina w moczu oraz N<sup>ε</sup>-karboksymetylolizyna w nerkach (CML). Kolejnym efektem hiperglikemii jest indukowanie swoistych szlaków metabolicznych glukozy, prowadzących do powstania polihydroksyalkoholi. W ten mechanizm zaangażowane są enzymy: reduktaza aldozowa (AR) i dehydrogenaza sorbitolu (SDH). Obserwuje się wzrost poziomu sorbitolu i fruktozy, które sprzyjają glikacji białek i prowadzą do nefropatii. Oba triterpeny powodowały obniżenie aktywności i ekspresji AR i SDH oraz spadek poziomu sorbitolu i fruktozy w tkance nerek. Ponadto zaobserwowano wzrost aktywności gliksalazy, która metabolizuje prekursor glikacji białek, jak gliksal i metylogliksal (70). Wszystkie wymienione mechanizmy wskazują na potencjalną rolę triterpenów zarówno w korygowaniu parametrów metabolicznych zaburzonych przez cukrzycę, jak i w zapobieganiu jej powikłań.

#### **Aktywność przeciwmiażdżycowa**

Triterpeny pentacykliczne mogą przyczyniać się także do zapobiegania chorobom spowodowanym przewlekłą hipercholesterolemią. Podwyższony poziom cholesterolu powoduje odkładanie się blaszek miażdżycowych w naczyniach, co może prowadzić do ich niedrożności, w efekcie czego dochodzi do uszkodzenia narządów, takich jak nerki, serce, wątroba (71). Badano aktywność lupeolu i linoleinianu lupeolu w kierunku zapobiegania nefropatii u szczurów w przebiegu przewlekłej hipercholesterolemii indukowanej dietą. Odnotowano spadek poziomu cholesterolu, triglicerydów i fosfolipidów w tkance

nerek, obniżenie poziomu markerów uszkodzenia nerek, jak dehydrogenaza laktozowa i alkaliczna fosfataza w osoczu oraz zwiększenie aktywności enzymów i czynników antyoksydacyjnych: SOD, CAT, GSH, witaminy C i E (72). Podobne efekty uzyskano w badaniach aktywności kardioprotekcyjnej lupeolu i linoleinianu lupeolu u szczurów z hiperlipidemią. Zaobserwowano obniżenie poziomu cholesterolu, triglicerydów i fosfolipidów w osoczu oraz obniżenie aktywności enzymów, będących markerami uszkodzenia kardiomiocytów, jak dehydrogenaza laktozowa, aminotransferaza asparaginianowa i alaninowa oraz fosfataza alkaliczna (73). Zbliżone wyniki dały badania nad efektem hepatochronnym powyższych związków. Triterpeny te spowodowały wyrównanie zaburzeń poziomu lipidów i obniżenie aktywności markerów uszkodzenia hepatocytów u szczurów z hipercholesterolemią (74).

Kwas ursolowy, oleanolowy i betuliny przebadano w warunkach *in vitro* w kierunku hamowania aktywności acylotransferazy cholesterolowej (ACAT). Enzym ten występuje w dwóch izoformach (ACAT-1 i ACAT-2). Forma ACAT-2 odpowiada za estryfikację cholesterolu łańcuchami lipidowymi podczas jego absorpcji przez komórki nabłonka jelitowego. Forma ACAT-1 występuje w komórkach piankowatych, znajdujących się w ścianie naczyń i odgrywających znaczącą rolę w procesie powstawania blaszki miażdżycowej. Zahamowanie aktywności ACAT-1 i ACAT-2 może przyczyniać się do zapobiegania miażdżycy w przebiegu hipercholesterolemii. Spośród wymienionych triterpenów, kwas betuliny odznaczał się najwyższym stopniem inhibicji omawianego enzymu (75).

#### **Aktywność gastroochronna i przeciwwrzodowa**

Wykazano aktywność przeciwwrzodową półsyntetycznej pochodnej betuliny (bis-hemifitalanu betuliny) na zwierzęcym modelu wrzodów żołądka indukowanych indometacyną, kwasem acetylosalicylowym i etanolem. Terapia tą pochodną skutkowała zmniejszeniem stopnia uszkodzenia śluzówki żołądka oraz powierzchni owrzodzenia (76). Podobne działanie zaobserwowano w przypadku kwasu oleanolowego i jego pochodnych w badaniach na zwierzęcych modelach wrzodów żołądka indukowanych etanolem i kwasem acetylosalicylowym. Triterpeny zahamowały zmiany patologiczne w śluzówce żołądka, przy czym siła działania kwasu oleanolowego była zbliżona do omeprazolu i ranitydyny (77). Podobne efekty zaobserwowano w przypadku pochodnej fridelanu na modelu wrzodów żołądka indukowanych etanolem u myszy. Odnotowano zmniejszenie obszaru i stopnia



uszkodzeń śluzówki żołądka. Stwierdzono, że aktywność przeciwrzodowa tej pochodnej jest porównywalna do omeprazolu (78).

Badania aktywności gastroochronnej lupeolu na zwierzęcym modelu zmian w śluzówce żołądka indukowanych etanolem wskazały szereg mechanizmów działania tego triterpenu. Powodował on zmniejszenie stopnia uszkodzenia śluzówki oraz wzrost liczby grup sulfhydrylowych w ochronnej warstwie śluzu. Stwierdzono, że efekt działania lupeolu jest związany z pobudzeniem syntezy prostaglandyn i tlenku azotu w organizmie. Substancje te mają udowodnione działanie gastroochronne poprzez pobudzanie syntezy śluzu. Aktywność lupeolu była hamowana przez inhibitory cyklooksygenazy i syntazy tlenku azotu.

Kolejny mechanizm działania lupeolu wiąże się z pobudzaniem receptorów  $\alpha_2$ -adrenergicznych. Skutkuje to obniżeniem impulsacji współczulnej, która jest nasiloną pod wpływem etanolu. Ponadto stwierdzono, że lupeol wpływa na aktywność kanałów potasowych w ścianie żołądka, co przyczynia się do uregulowania zaburzeń mikrokrążenia krwi w śluzówce. Kolejny mechanizm działania wiąże się z wpływem lupeolu na wewnątrzkomórkowy poziom jonów wapniowych. Wyczerpanie zapasów jonów  $\text{Ca}^{2+}$  w komórkach gruczołowych śluzówki żołądka przyczynia się do jej uszkodzeń. Lupeol zapobiega tym zmianom, a jego efekt jest hamowany przez antagonistę kanałów wapniowych – werapamil. Odkrycie mechanizmów działania lupeolu pozwala stwierdzić, że może on być potencjalnym czynnikiem gastroochronnym (79).

### **Zapobieganie kamicy nerkowej**

Za przyczynę tworzenia kamieni nerkowych uważa się m.in. podwyższony poziom kwasu moczowego, wapnia i szczawianów w moczu. Składniki te ulegają wytrąceniu w kanalikach nerkowych jako kamienie szczawianowo-wapniowe, fosforanowo-wapniowe, moczanowe i inne. Obniżenie poziomu szczawianów i wapnia wydalanych z moczem zapobiega tworzeniu kamieni nerkowych. Analizowano efekt działania betuliny i lupeolu u szczurów z indukowaną hiperkalsurią. Odnotowano spadek poziomu wapnia i szczawianów wydalanych z moczem, co skutkowało obniżeniem ryzyka tworzenia kamieni nerkowych. Ponadto zaobserwowano wzrost poziomu magnezu i glikoaminoglikanów w moczu, które przeciwdziałają tworzeniu kamieni. Stwierdzono także spadek proteinurii i wzrost klirensu kreatyniny. Ponadto odnotowano obniżenie poziomu markerów uszkodzenia nerek, takich jak fosfataza alkaliczna i dehydrogenaza mleczanowa (80).

### **Aktywność przeciwbólowa i spazmolityczna**

Interesujące wyniki przyniosły badania dotyczące efektu przeciwbólowego  $\alpha$ - i  $\beta$ -amyryny u szczurów, którym wstrzykiwano formalinę i kapsaicynę w okolicę pyszczka. Wyzwalano w ten sposób reakcję behawioralną na bodziec bólowy, polegającą na pocieraniu miejsca wstrzyknięcia. Wcześniejsze podanie  $\alpha$  i  $\beta$ -amyryny skutkowało obniżeniem częstotliwości reakcji na ból, co świadczy o efekcie analgetycznym tych związków. Wyniki eksperymentu wskazały dwa potencjalne mechanizmy działania przeciwbólowego  $\alpha$ - i  $\beta$ -amyryny. Pierwszy z nich przebiega na drodze hamowania kaskady kwasu arachidonowego, co w efekcie hamuje uwalnianie mediatorów bólu, jak prostaglandyny i neuropeptydy (m.in. substancja P). Działanie to jest podobne do efektu niesteroidowych leków przeciwzapalnych i przeciwbólowych.

Drugi zaobserwowany mechanizm wydaje się być bardziej interesujący. Po raz pierwszy odnotowano aktywność przeciwbólową  $\alpha$ - i  $\beta$ -amyryny przebiegającą, przynajmniej częściowo, na drodze oddziaływania z obwodowymi receptorami opioidowymi. Zostało to potwierdzone eksperymentalnie poprzez częściowe zahamowanie efektu analgetycznego  $\alpha$ - i  $\beta$ -amyryny przez antagonistę receptorów opioidowych – nalokson. Podobny rezultat dało jednoczesne podanie morfiny i naloksonu (81).

Wcześniejsze badania opisują szerzej efekt przeciwbólowy  $\alpha$ - i  $\beta$ -amyryny, przebiegający na drodze hamowania uwalniania mediatorów bólu i zapalenia. Badano reakcję na ból trzewny u myszy z indukowanym zapaleniem pęcherza moczowego. Oba związki redukowały odczuwanie bólu na drodze hamowania uwalniania substancji P oraz jej przyłączenia do receptorów  $\text{NK}_1$ . Jednocześnie wykazano, że podanie tych triterpenów skutkuje relaksacją mięśni gładkich pęcherza moczowego, co potęguje efekt przeciwbólowy. Działanie spazmolityczne  $\alpha$ - i  $\beta$ -amyryny polega na otwieraniu kanałów potasowych zależnych od ATP, obecnych w komórkach mięśniowych (82). Aktywność spazmolityczną potwierdzono także dla kwasu eukaliptanowego, należącego do pochodnych oleananu. Mechanizm jego działania opiera się na hamowaniu napływu jonów wapnia do komórki (83).

### **Aktywność antyagregacyjna**

Badania w warunkach *in vitro* na płytkach krwi z indukowanym za pomocą adrenaliny procesem agregacji wykazały, że kwas ursolowy i oleanolowy wykazują aktywność antyagregacyjną, a ich siła działania jest porównywalna do kwasu acetylosalicylowego (84). Działanie antyagregacyjne kwasu oleanolowego potwierdzono także w badaniach *in vivo*, prowadzonych

na organizmach myszy, u których indukowano agregację płytek za pomocą kolagenu i ADP. Zaobserwowano ponadto, że pod wpływem kwasu oleanolowego zwiększa się ruchliwość elektroforetyczna trombocytów (54). Efekt antyagregacyjny w warunkach *in vitro* stwierdzono także w przypadku  $\beta$ -amyryny. W tym badaniu zaobserwowano ponadto po raz pierwszy, że aktywność antyagregacyjna  $\beta$ -amyryny jest sześć razy silniejsza niż kwasu acetylosalicylowego (85).

#### Aktywność przeciwalergiczna

Kwas oleanolowy został poddany badaniom na świnkach morskich w kierunku hamowania reakcji anafilaktycznej. Wykazano, że w organizmach zwierząt z indukowanym wstrząsem anafilaktycznym, kwas oleanolowy hamował tworzenie przeciwciał, degranulację mastocytów oraz obniżał poziom histaminy w tkance płuc. Pozwala to na stwierdzenie, że wykazuje on potencjalną aktywność przeciwalergiczną i przeciw-wstrząsową (86). Wykazano również, że pochodne kwasu oleanolowego oraz  $\alpha$ - i  $\beta$ -amyryna wykazują aktywność przeciwświądową. Zostało to potwierdzone w badaniach na myszach z wywołanym świądem. Powyższe triterpeny powodowały osłabienie odruchu drapania, a w przypadku  $\alpha$ - i  $\beta$ -amyryny także zahamowanie degranulacji mastocytów (87, 88).

#### Działanie przeciwdrobnoustrojowe

W ostatnich latach pojawiły się doniesienia wskazujące na potencjalną rolę triterpenów w profilaktyce i terapii chorób wywoływanych przez wirusy, bakterie, grzyby i pierwotniaki. Jednym z przykładów jest hamowanie aktywności wirusa HIV przez betulinę i jej pochodne, co wykazano w badaniach *in vitro* na zakażonych liniach komórkowych. Pochodne betuliny wykazywały następujące mechanizmy działania: hamowanie wnikania wirusa HIV do komórek, inhibicję proteazy i odwrotnej transkryptazy oraz przeciwdziałanie dojrzewaniu wirusa w zakażonych komórkach (89). Hamowanie aktywności proteazy wirusa HIV w testach *in vitro*, potwierdzono także w przypadku kwasu ursolowego oraz uwaolu (90). W testach *in vitro* wykazano ponadto aktywność pochodnych betuliny przeciwko innym wirusom, jak wirus grypy typu A, wirus *Herpes simplex* typu 1, *Coxsackie*, *Papilloma* oraz wirus ECHO 6, który jest czynnikiem etiologicznym zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych (91, 92). Aktywność przeciwwirusowa kwasu betuliny została potwierdzona także w badaniach *in vivo* na myszach zakażonych wirusem HBV. Wykazano, że kwas betuliny zatrzymywał replikację wirusa zapalenia wątroby typu B w hepatocytach. Mechanizm działania opiera się na supresji dysmutazy ponadtlenkowej (SOD2)

przez kwas betuliny. Efekt ten zachodzi wybiórczo w zakażonych hepatocytach i prowadzi do nadprodukcji reaktywnych form tlenu, co wpływa hamująco na replikację wirusa HBV (93). Natomiast pochodne kwasu oleanolowego hamują aktywność proteazy wirusa HCV, co stwierdzono w testach *in vitro* (94).

Lupeol,  $\alpha$ - i  $\beta$ -amyryna oraz ich octany wykazują potencjalną aktywność przeciwgruźliczą. W testach *in vitro* wykazano, że hamują one wzrost *Mycobacterium tuberculosis* (95). Wysoką aktywność przeciwgruźliczą stwierdzono w badaniach *in vitro* także dla estrów kwasu betuliny, ursolowego i oleanolowego (96). Triterpeny wykazują ponadto aktywność przeciwbakteryjną przeciw szerokiemu spektrum innych drobnoustrojów. W testach *in vitro* odnotowano hamowanie wzrostu *Bacillus cereus* i *Streptococcus pneumoniae* przez kwas oleanolowy oraz pochodne kwasu ursolowego (97). Dla tych dwóch kwasów stwierdzono także aktywność przeciwko szczepom MRSA (szczonep *S. aureus* odporne na metycylinę) i szczepom VRE (szczonep z rodzaju *Enterococcus* odporne na wankomycynę) (98). Ponadto w przypadku betuliny i jej półsyntetycznych pochodnych, odnotowano działanie przeciw *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* oraz *Chlamydia pneumoniae* (99, 100).

Wykazano również aktywność przeciwgrzybiczą octanów  $\alpha$ - i  $\beta$ -amyryny w badaniach *in vitro*. Pochodne te hamowały adhezję grzyba *Candida albicans* do komórek nabłonka (101). Ponadto stwierdzono aktywność octanu  $\beta$ -amyryny, lupeolu i kwasu betuliny przeciwko dermatofitom z rodzaju *Microsporum* i *Trichophyton* (102).

Kwas betuliny wykazuje ponadto potencjalną aktywność przeciwmalaryczną. W testach *in vitro* stwierdzono hamowanie wzrostu *Plasmodium falciparum*. Działanie to nie zostało niestety potwierdzone w badaniach *in vivo* (103). Podobną aktywność zaobserwowano w warunkach *in vitro* w przypadku kwasu oleanolowego, epi-oleanolowego, ursolowego oraz  $\alpha$ - i  $\beta$ -amyryny (104-106). Wyniki badań aktywności antymalarycznej kwasu oleanolowego pozwalają na wskazanie potencjalnego mechanizmu działania tego związku. Kwas oleanolowy wbudowuje się w membrany erytrocytów, co prawdopodobnie wpływa niekorzystnie na rozwój pasożyta (107). Kwasy oleanolowy i ursolowy wykazują ponadto działanie hamujące wzrost świdrowców (*Trypanosoma brucei rhodesiense* i *T. cruzi*), co zostało stwierdzone w badaniach *in vitro* (106-108). Kwas epi-oleanolowy hamuje wzrost wiciowca (*Leishmania donovani*) w warunkach *in vitro* (109).

Tabela 2 podsumowuje typy aktywności wybranych triterpenów pentacyklicznych.

Tabela 2. Typy aktywności farmakologicznej wybranych triterpenów pentacyklicznych.

| Aktywność             | Lupeol | Betulina | Kwas betulinowy | Kwas oleanolowy | Kwas ursolowy | $\alpha$ -Amyryna | Octan $\alpha$ -amyryny | $\beta$ -Amyryna | Octan $\beta$ -amyryny |
|-----------------------|--------|----------|-----------------|-----------------|---------------|-------------------|-------------------------|------------------|------------------------|
| Przeciwnowotworowa    | +      |          | +               | +               | +             |                   |                         | +                |                        |
| Antyoksydacyjna       | +      | +        |                 | +               | +             |                   | +                       |                  |                        |
| Przeciwzapalna        | +      | +        | +               | +               | +             | +                 | +                       | +                | +                      |
| Przeciwcukrzycowa     |        |          |                 | +               | +             |                   | +                       |                  |                        |
| Przeciwmiążdżycowa    | +      |          | +               | +               | +             |                   |                         |                  |                        |
| Przeciwwrzodowa       | +      | +        |                 | +               |               |                   |                         |                  |                        |
| Przeciwkamicowa       | +      | +        |                 |                 |               |                   |                         |                  |                        |
| Przeciwbólowa         |        |          |                 |                 |               | +                 |                         | +                |                        |
| Antyagregacyjna       |        |          |                 | +               | +             |                   |                         | +                |                        |
| Przeciwalergiczna     |        |          |                 | +               |               | +                 |                         | +                |                        |
| Przeciwwirusowa       |        | +        | +               | +               | +             |                   |                         |                  |                        |
| Przeciwbakteryjna     | +      | +        | +               | +               | +             | +                 | +                       | +                | +                      |
| Przeciwgrzybicza      | +      |          | +               |                 |               |                   | +                       |                  | +                      |
| Przeciwpierwotniakowa |        |          | +               | +               | +             | +                 |                         | +                |                        |

## Piśmiennictwo

1. Harborne JB, Baxter H. *Phytochemical dictionary. A handbook of bioactive compounds from plants.* Taylor and Francis, London 1993. 2. Steglich W, Fugmann B, Lang-Fugmann S (red.). *Römpp Encyclopedia – Natural Products.* Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2000. 3. Xu R, Fazio G, Matsuda S. On the origins of triterpenoid skeletal diversity. *Phytochem* 2004; 65:261-91. 4. Jäger S, Trojan H, Kopp T i wsp. Pentacyclic triterpene distribution in various plants – rich sources for a new group of multipotent plant extracts. *Molecules* 2009; 14:2016-31. 5. Akihisa T, Yasukawa B, Oinuma H i wsp. Triterpene alcohols from the flowers of *Compositae* and their anti-inflammatory effects. *Phytochem* 1996; 43:1255-60. 6. Bal J. *Biologia molekularna w medycynie.* Wyd Nauk PWN Warszawa 2001; 336-81. 7. Ścibior-Bentkowska D, Czczot H. Komórki nowotworowe a stres oksydacyjny. *Post Hig Med Dośw* 2009; 63:58-72. 8. Laszczyk M. Pentacyclic triterpenes of the lupane, oleanane and ursane group as tools in cancer therapy. *Planta Med* 2009; 75:1549-60. 9. Prasad S, Kalra N, Singh M i wsp. Protective effects of lupeol and mango extract against androgen induced oxidative stress in Swiss albino mice. *Asian J Androl* 2008; 10:313-8. 10. Prasad S, Kalra N, Shukla Y. Hepatoprotective effects of lupeol and mango pulp extract of carcinogen induced alteration in Swiss albino mice. *Mol Nutr Food Res* 2007; 51:352-9. 11. Preetha S, Kannappan M, Selvakumar E i wsp. Lupeol ameliorates aflatoxin B1-induced peroxidative hepatic damage in rats. *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol* 2006; 143:333-9. 12. Nagaraj M, Sunitha S, Varalakshmi P. Effect of lupeol, a pentacyclic triterpene, on the lipid peroxidation and oxidant status in rat kidney after chronic cadmium exposure. *J Appl Toxicol* 2000; 20:413-7. 13. Sunitha S, Nagaraj M, Varalakshmi P. Hepatoprotective effect of lupeol and

lupeol linoleate on tissue antioxidant defence system in cadmium-induced hepatotoxicity in rats. *Fitoter* 2001; 72:516-23. 14. Sultana S, Saleem M, Sharma S i wsp. Lupeol, a triterpene, prevents free radical mediated macromolecular damage and alleviates benzoyl peroxide induced biochemical alterations in murine skin. *Indian J Exp Biol* 2003; 41:827-31. 15. Saleem M, Alam A, Arifin S i wsp. Lupeol, a triterpene, inhibits early responses of tumor promotion induced by benzoyl peroxide in murine skin. *Pharmacol Res* 2003; 43:127-34. 16. Allouche Y, Warleta F, Campos M i wsp. Antioxidant, antiproliferative and pro-apoptotic capacities of pentacyclic triterpenes found in the skin of olives on MCF-7 human breast cancer cells and their effects on DNA damage. *J Agric Food Chem* 2011; 59:121-30. 17. Ovesna Z, Kozics K, Slamenova D. Protective effects of ursolic acid and oleanolic acid in leukemic cells. *Mutat Res* 2006; 600:131-7. 18. Fulda S, Scalfidi C, Suzin S i wsp. Activation of mitochondria and release of mitochondrial apoptogenic factors by betulinic acid. *J Biol Chem* 1998; 273:33942-8. 19. Wick W, Grimmel C, Wagenknecht B i wsp. Betulinic acid-induced apoptosis in glioma cells: A sequential requirement for new protein synthesis, formation of reactive oxygen species, and caspase processing. *J Pharmacol Exp Therapeut* 1999; 289:1306-12. 20. Tan Y, Yu R, Pezzuto J. Betulinic acid-induced programmed cell death in human melanoma cells involves mitogen-activated protein kinase activation. *Clin Canc Res* 2003; 9:2866-75. 21. Häcker G, Vaux L. Apoptosis. A sticky business. *Curr Biol* 1995; 6:622-4. 22. Fulda S, Friesen C, Los M i wsp. Betulinic acid triggers CD95 (APO-1/Fas)- and p35-independent apoptosis via activation of caspases in neuroectodermal tumors. *Canc Res* 1997; 57:4956-64. 23. Fulda S. Betulinic acid for cancer treatment and prevention. *Int J Mol Sci* 2008; 9:1096-107. 24. Kasperczyk H, La Ferla-Bruhl K, Westhoff M i wsp. Betulinic acid as



- new activator of NF-kappaB: molecular mechanisms and implications for cancer therapy. *Oncogene* 2005; 46:6945-56. **25.** Rabi T, Shukla S, Gupta S. Betulinic acid suppresses constitutive and TNF-alpha-induced NF-kappaB activation and induces apoptosis in human prostate carcinoma PC-3 cells. *Mol Carcinog* 2008; 47:964-73. **26.** Skrzycki M, Ścibior-Bentkowska D, Podsiad M i wsp. Poziom białka czynników transkrypcyjnych AP-1 i NF-κB w wybranych nowotworach przewodu pokarmowego człowieka. *Pol Merkur Lek* 2008; 150:510-5. **27.** Saleem M, Kweon M, Yun J i wsp. A novel dietary triterpene lupeol induces Fas-mediated apoptotic death of androgen-sensitive prostate cancer cells and inhibits tumor growth in a xenograft model. *Canc Res* 2005; 65:11203-13. **28.** Murtaza I, Saleem M, Adhami V i wsp. Suppression of cFLIP by lupeol, a dietary triterpene, is sufficient to overcome resistance to TRAIL-mediated apoptosis in chemoresistant human pancreatic cells. *Canc Res* 2009; 69:1156-65. **29.** Saleem M, Kaur S, Kweon M i wsp. Lupeol, a fruit and vegetable based triterpene, induces apoptotic death of human pancreatic adenocarcinoma cells via inhibition of Ras signaling pathway. *Carcinogenesis* 2005; 26:1956-64. **30.** Manu K, Kuttan G. Ursolic acid induces apoptosis by activating p53 and caspase-3 gene expressions and suppressing NF-kappaB mediated activation of Bcl-2 in B16F-10 melanoma cells. *Immunopharmacol* 2008; 8:974-81. **31.** Martin R, Carvalho-Tavares J, Ibeas E i wsp. Acidic triterpenes compromise growth and survival of astrocytoma cell lines by regulating reactive oxygen species accumulation. *Canc Res* 2007; 67:3741-51. **32.** Zhang P, Li H, Chen D i wsp. Oleanolic acid induces apoptosis in human leukemia cells through caspase activation and poly(ADP-ribose) polymerase cleavage. *Acta Biochim Biophys Sin* 2007; 39:803-9. **33.** Lin K, Huang A, Tu H i wsp. Xanthine oxidase inhibitory triterpenoid and phloroglucinol from guttiferaceae plants inhibit growth and induced apoptosis in human NTUB1 cells through a ROS-dependent mechanism. *J Agric Food Chem* 2011; 59:407-14. **34.** Kwon H, Shim J, Kim J i wsp. Betulinic acid inhibits growth factor-induced *in vitro* angiogenesis via the modulation of mitochondrial function in endothelial cells. *Jpn J Canc Res* 2002; 93:417-25. **35.** Chintharlapalli S, Papinemi S, Ramiah S i wsp. Betulinic acid inhibits prostate cancer growth through inhibition of specificity protein transcription factors. *Canc Res* 2007; 67:2816-2823. **36.** Karna E, Szoka Ł, Pałka J. Betulinic acid inhibits the expression of hypoxia-inducible factor 1 alpha and vascular endothelial growth factor in human endometrial adenocarcinoma cells. *Mol Cell Biochem* 2010; 340:15-20. **37.** Karna E, Pałka J. Mechanism of betulinic acid inhibition of collagen biosynthesis in human endometrial adenocarcinoma cells. *Neoplasma* 2009; 56:361-6. **38.** You Y, Nam N, Kim Y i wsp. Antiangiogenic activity of lupeol from *Bombax ceiba*. *Phytother Res* 2003; 17:341-4. **39.** Jedinak A, Muckova M, Kostalova D i wsp. Antiprotease and antimetastatic activity of ursolic acid isolated from *Salvia officinalis*. *Z Naturforsch C Biosci* 2006; 61:777-82. **40.** Sohn K, Lee H, Chung H i wsp. Anti-angiogenic activity of triterpene acids. *Canc Lett* 1995; 94:213-8. **41.** Malini M, Lenin M, Varalakshmi P. Protective effect of triterpenes on calcium oxalate crystal-induced peroxidative changes in experimental urolithiasis. *Pharmacol Res* 2000; 41:413-8. **42.** Szuster-Ciesielska A, Kandeferszerzeń M. Protective effects of betulin and betulinic acid against ethanol-induced cytotoxicity in HepG2 cells. *Pharmacol Rep* 2005; 57:588-95. **43.** Donfack J, Simo C, Ngameni B i wsp. Antihepatotoxic and antioxidant activities of methanol extract and isolated compounds from *Ficus chlamydocarpa*. *Nat Prod Commun* 2010; 10:1607-12. **44.** Liu J, Wu Q, Lu Y i wsp. New insights into generalized hepatoprotective effects of oleanolic acid: key roles of metallothionein and Nrf2 induction. *Biochem Pharmacol* 2008; 76:922-8. **45.** Sudharsan P, Mythili Y, Selvakumar E i wsp. Cardioprotective effect of pentacyclic triterpene, lupeol and its ester on cyclophosphamide-induced oxidative stress. *Hum Exp Toxicol* 2005; 24:313-8. **46.** Ramachandran S, Prasad N. Effect of ursolic acid, a triterpenoid antioxidant, on ultraviolet-B radiation-induced cytotoxicity, lipid peroxidation and DNA damage in human lymphocytes. *Chem Biol Interact* 2008; 176:99-107. **47.** Gołąb J, Jakóbsiak M, Lasek W i wsp. *Immunologia*. PWN, Warszawa 2008; 377-82. **48.** Mutschler E, Geisslinger G, Kroemer H i wsp. *Kompendium farmakologii i toksykologii Mutschlera*. MedPharm Polska, Wrocław 2008; 437. **49.** Mantovani A, Allavena P, Sica A i wsp. Cancer-related inflammation. *Nature* 2008; 454:436-44. **50.** Bernard P, Scior T, Didier B i wsp. Ethnopharmacology and bioinformatic combination for leads discovery: application to phospholipase A(2) inhibitors. *Phytochem* 2001; 58:865-74. **51.** Dharmappa K, Kumar R, Nataraju A i wsp. Anti-inflammatory activity of oleanolic acid by inhibition of secretory phospholipase A2. *Planta Med* 2009; 75:211-5. **52.** Suh N, Honda T, Finlay H i wsp. Novel triterpenoids suppress inducible nitric oxide synthase (iNOS) and inducible cyclooxygenase (COX-2) in mouse macrophages. *Canc Res* 1998; 58:717-23. **53.** Garg A, Aggarwal B. Nuclear transcription factor-κB as a target for cancer drug development. *Leuk* 2002; 16:1053-68. **54.** Sun H, Fang W, Wang W i wsp. Structure-activity relationships of oleanane and ursane type triterpenoids. *Bot Stud* 2006; 47:339-68. **55.** Akihisa T, Kojima N, Kikuchi T i wsp. Anti-inflammatory and chemopreventive effects of triterpene cinnamates and acetates from shea fat. *J Oleo Sci* 2010; 59:273-80. **56.** Kweifio-Okai G, Macrides T. Antilipoxigenase activity of amyirin triterpenes. *Res Comm Chem Pathol Pharmacol* 1992; 78:367-72. **57.** Ding Y, Nguyen H, Kim S i wsp. The regulation of inflammatory cytokine secretion in macrophage cell line by the chemical constituents of *Rhus sylvestris*. *Bioorg Med Chem Lett* 2009; 19:3607-10. **58.** Fernandez M, de las Heras B, Garcia M i wsp. New insights into the mechanism of action of the anti-inflammatory triterpene lupeol. *J Pharm Pharmacol* 2001; 53:1533-9. **59.** Bani S, Kaul A, Khan B i wsp. Suppression of T-lymphocyte activity by lupeol isolated from *Crataeva religiosa*. *Phytother Res* 2006; 20:279-87. **60.** Kang S, Yoon S, Roh D i wsp. The anti-arthritis effect of ursolic acid on zymosan-induced acute inflammation and adjuvant-induced chronic arthritis models. *J Pharm Pharmacol* 2008; 60:1347-54. **61.** Ahmad S, Khan B, Bani S i wsp. Amelioration of adjuvant-induced arthritis by ursolic acid through altered Th1/Th2 cytokine production. *Pharmacol Res* 2006; 53:233-40. **62.** Reyes C, Nunez M, Jimenez I i wsp. Activity of lupane triterpenoids from *Maytenus* species as inhibitors of nitric oxide and prostaglandin E2. *Bioorg Med Chem* 2006; 14:1573-9. **63.** Geetha T, Varalakshmi P, Latha R. Effect of triperpenes from *Crataeva nurvala* stem bark on lipid peroxidation in adjuvant induced arthritis in rats. *Pharmacol Res* 1998; 37:191-5. **64.** Melo C, Carvalho K, Neves J i wsp. α-, β-Amyrin, a natural triterpenoid ameliorates L-arginine-induced acute pancreatitis in rats. *World J Gastroenterol* 2010; 34:4272-80. **65.** Recio M, Giner R, Manez S i wsp. Investigations on the steroidal anti-inflammatory activity of triterpenoids from *Diospyros leucomelas*. *Planta Med* 1995; 61:9-12. **66.** Gao D, Li Q, Li Y i wsp. Antidiabetic potential of oleanolic acid from *Ligustrum lucidum*. *Can J Physiol Pharmacol* 2007; 85:1076-83. **67.** Jang S, Yee S, Choi J i wsp. Ursolic acid enhances the cellular immune system and pancreatic beta-cell function in streptozotocin-induced diabetic mice fed a high-fat diet. *Int Immunopharm* 2009; 9:113-9. **68.** Singh A, Yadav D, Maurya R i wsp. Antihyperglycaemic activity of alpha-amyrin acetate in rats and db/db mice. *Nat Prod Res* 2009; 23:876-82. **69.** Narender T, Khaliq T, Singh A i wsp. Synthesis of alpha-amyrin derivatives and their *in vivo* antihyperglycemic activity. *Eur J Med Chem* 2009; 44:1215-22. **70.** Wang Z, Hsu C, Huang C i wsp. Anti-glycative effects of oleanolic acid and ursolic acid in kidney of diabetic mice. *Eur J Pharmacol* 2010; 628:255-60.



71. Thor P. Podstawy patofizjologii człowieka. Vesalius, Kraków 2009; 281-5. 72. Sudhahar V, Ashok Kumar S, Varalakshmi P i wsp. Protective effect of lupeol an lupeol linoleate in hypercholesterolemia associated renal damage. *Mol Cell Biochem* 2008; 317:11-20. 73. Sudhahar V, Kumar S, Sudharsan P i wsp. Protective effect of lupeol and its ester on cardiac abnormalities in experimental hypercholesterolemia. *Vasc Pharmacol* 2007; 46:412-8. 74. Sudhahar V, Ashokkumar S, Varalakshmi P. Effect of lupeol and lupeol linoleate on lipemic – hepatocellular aberrations in rats fed a high cholesterol diet. *Mol Nutr Food Res* 2006; 50:1212-9. 75. Lee W, Im K, Park Y i wsp. Human ACAT-1 and ACAT-2 inhibitory activities of pentacyclic triterpenes from the leaves of *Lycopus lucidus*. *Biol Pharmaceut Bull* 2006; 29:382-4. 76. Karachurina L, Sapozhnikova T, Zarudii F i wsp. Antiinflammatory and antiulcer properties of betulin bis-hemiphthalate. *Pharmaceut Chem J* 2002; 36:432-3. 77. Astudillo L, Rodriguez J, Schmeda-Hirschmann G. Gastroprotective activity of oleanolic acid derivatives on experimentally induced gastric lesions in rats and mice. *J Pharm Pharmacol* 2002; 54:583-8. 78. de Andrade S, Comunello E, Noldin V i wsp. Antilcerogenic activity of fractions and 3,15-dioxo-21 $\alpha$ -hydroxy-friedelane isolated from *Maytenus robusta* (Celastraceae). *Pharmacol Res* 2008; 31:41-6. 79. Lira S, Rao V, Carvalho A i wsp. Gastroprotective effect of lupeol on ethanol-induced gastrin damage and the underlying mechanism. *Inflammopharmacol* 2009; 17:221-8. 80. Vidya L, Varalakshmi U. Control of urinary risk factors of stones by betulin and lupeol in experimental hiperoxaluria. *Fitoterapia* 2000; 71:535-43. 81. Pinto S, Pinto L, Guedes M i wsp. Antinociceptive effect of triterpenoid  $\alpha,\beta$ -amyrin in rats in orofacial pain induced by formalin and capsaicin. *Phytomed* 2008; 15:630-4. 82. Lima-Junior R, Sousa D, Brito G i wsp. Modulation of acute visceral nociception and bladder inflammation by plant triterpene,  $\alpha,\beta$ -amyrin in a mouse model cystitis: role of tachykinin NK1 – receptors, and K<sup>+</sup>ATP channels. *Inflamm Res* 2007; 56:487-94. 83. Begum S, Sultana I, Siddiqui B i wsp. Structure and spasmolytic activity of eucalyptanoic acid from *Eucalyptus camaldulensis* var. *obtusata* and synthesis of its active derivative from oleanolic acid. *J Nat Prod* 2002; 65:1939-41. 84. Jin J, Lee Y, Heo J i wsp. Antiplatelet pentacyclic triterpenoids from leaves of *Campsis grandiflora*. *Arch Pharm Res* 2004; 27:376-80. 85. Ching J, Chua T, Chin L i wsp.  $\beta$ -amyrin from *Ardisia elliptica* Thunb. is more potent than aspirin inhibiting collagen-induced platelet aggregation. *Indian J Exp Biol* 2010; 48:275-9. 86. Zhang L, Ma T. Antagonistic effect of oleanolic acid on anaphylactic shock. *Acta Pharmacol Sin* 1995; 16:527-30. 87. Matsuda H, Dai Y, Ido Y i wsp. Studies on *Kochia* fructus. V. Antipruritic effects of oleanolic acid glycosides and the structure – requirement. *Biol Pharmaceut Bull* 1998; 11:1231-3. 88. Oliveira F, Lima-Junior R, Cordeiro W i wsp. Pentacyclic triterpenoids,  $\alpha,\beta$ -amyryns, suppress the scratching behavior in a mouse model of pruritis. *Pharmacol Biochem Behav* 2004; 78:719-25. 89. Alakurtti S, Mäkelä T, Koskimies S i wsp. Pharmacological properties of the ubiquitous natural product betulin. *Eur J Pharmaceut Sci* 2006; 29:1-13. 90. Min B, Jung H, Lee J i wsp. Inhibitory effect of triterpenes from *Crataegus pinatifida* on HIV-1 protease. *Planta Med* 1999; 65:374-5. 91. Baltina L, Flekhter O, Nigmatullina L i wsp. Lupane triterpenes and derivatives with antiviral activity. *Bioorg Med Chem Lett* 2003; 13:3549-52. 92. Pavlova N, Savinova O, Nikolaeva S i wsp. Antiviral activity of betulin, betulinic and betulonic acids against some enveloped and non-enveloped viruses. *Fitoter* 2003; 74:489-92. 93. Yao D, Li H, Gou Y i wsp. Betulinic acid-mediated inhibitory effect on hepatitis B virus by suppression of manganese superoxide dismutase expression. *FEBS J* 2009; 276:2599-614. 94. Ma C, Wu X, Masao H i wsp. HCV protease inhibitory, cytotoxic and apoptosis-inducing effects of oleanolic acid derivatives. *J Pharm Pharmaceut Sci* 2009; 12:243-8. 95. Higuchi C, Sannomiya M, Pavan F i wsp. *Byrsonima fagifolia* Niedenzu apolar compounds with antitubercular activity. *Evid Base Compl Alternative Med* 2008; 17:1-5. 96. Tanachachairatana T, Bremner J, Chokchaisiri R i wsp. Antimycobacterial activity of cinnamate-based esters of the triterpenes betulinic, oleanolic and ursolic acids. *Hem Pharmaceut Bull* 2008; 56:194-8. 97. Cunha W, de Matos G, Souza M i wsp. Evaluation of the antibacterial activity of the methylene chloride extract of *Miconia ligustroides*, isolated triterpene acids, and ursolic acid derivatives. *Pharmaceut Biol* 2010; 48:166-9. 98. Horiuchi K, Shiota S, Hatano T i wsp. Antimicrobial activity of oleanolic acid from *Salvia officinalis* and related compounds on vancomycin-resistant enterococci (VRE). *Biol Pharmaceut Bull* 2007; 30:1147-9. 99. Kazakova O, Giniyatullina G, Tolstikov G i wsp. Synthesis, modifications and antimicrobial activity of the methylpiperazinyl amides of triterpenic acids. *Bioorg Khim* 2010; 36:416-22. 100. Salin O, Alakurtti S, Pohjala L i wsp. Inhibitory effect of natural product betulin and its derivatives against the intracellular bacterium *Chlamydia pneumoniae*. *Biochem Pharmacol* 2010; 80:1141-51. 101. Johann S, Soldi C, Lyon J i wsp. Antifungal activity of the amyryn derivatives and *in vitro* inhibition of *Candida albicans* adhesion to human epithelial cells. *Lett Appl Microbiol* 2007; 45:148-53. 102. Kuate J, Mouokeu S, Wabo H i wsp. Antidermatophytic triterpenoids from *Syzygium jambos* (L.) Alston (Myrtaceae). *Phytother Res* 2007; 21:149-52. 103. Steele J, Warhurst D, Kirby G i wsp. *In vitro* and *in vivo* evaluation of betulinic acid as an antimalarial. *Phytother Res* 1999; 13:115-9. 104. Moon H, Jung J, Lee J. Antiplasmodial activity of triterpenoid isolated from whole plants of *Viola* genus from South Korea. *Parasitol Res* 2007; 100:641-4. 105. Chung I, Kim M, Park S i wsp. *In vitro* evaluation of the antiplasmodial activity of *Dendropanax moribifera* against chloroquine-sensitive strains of *Plasmodium falciparum*. *Phytother Res* 2009; 11:1634-7. 106. van Baren C, Anao I, Leo Di Lira P i wsp. Triterpenic acids and flavonoids from *Satureja parvifolia*. Evaluation of their antiprotozoal activity. *Z Naturforsch C Biosci* 2006; 61:189-92. 107. Sairafianpour M, Bahreininejad B, Witt M i wsp. Terpenoids of *Salvia hydrangea*: two new, rearranged 20-norabietanes and the effect of oleanolic acid on erythrocyte membranes. *Planta Med* 2003; 69:846-50. 108. Abe F, Yamauchi T, Nagao T i wsp. Ursolic acid as a trypanocidal constituent in rosemary. *Biol Pharmaceut Bull* 2002; 25:1485-87. 109. Camacho M, Mata R, Castaneda P i wsp. Bioactive compounds from *Celaenodendron mexicanum*. *Planta Med* 2000; 66:463-8.

otrzymano/received: 14.10.2011  
zaakceptowano/accepted: 07.11.2011

Adres/address:  
\*dr n. farm. Jolanta Nazaruk  
Zakład Farmakognozji UM w Białymstoku  
ul. Mickiewicza 2a, 15-089 Białystok  
tel.: +48 (85) 748-56-92  
e-mail: jolanta.nazaruk@umwb.edu.pl