

©Borgis

*Katarzyna Karłowicz-Bodalska¹, Stanisław Han¹, Tomasz Han², Marta Miranowicz³,
Agnieszka Bodalska³

Centella asiatica (L.) Urban, syn. *Hydrocotyle asiatica* L. – wąkrota azjatycka – znana roślina lecznicza Dalekiego Wschodu

¹Zakład Farmacji Przemysłowej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
Kierownik Zakładu: dr Stanisław Han

²Przedsiębiorstwo Produkcji Farmaceutycznej Hasco-Lek S.A.

³Studenckie Koło Naukowe, Zakład Farmacji Przemysłowej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
Opiekun Koła: mgr farm. Katarzyna Karłowicz-Bodalska

CENTELLA ASIATICA (L.) URBAN, SYN.
HYDROCOTYLE ASIATICA L. – CHEMISTRY AND
ACTIVITY

SUMMARY

The leaves and the whole herb of Indian Pennywort (*Centella asiatica* (L.) Urban), (often mentioned in combination with the related marsh pennywort *Hydrocotyle vulgaris* L.) are used in *Ajurveda* medicine for thousands of years for improving memory and as *remedium* for treatment of central nervous system diseases, vasculo-cardiac disorders, chronic gastric ulcers, dermatopathies, hard healing wounds, lepra, and in edema with increased capillary filtration. The main components of this longevity herb, responsible for above activity, are the triterpenoids, mainly asiatic and madecassic acids and their sugar esters (pseudosaponins), asiaticoside and madecassoside. The objective of this article was to demonstrate some last investigations of the healing properties of *Centella asiatica* herb and of its active pseudosaponins, especially asiaticoside and madecassoside, mainly related to their action for some connective tissue and mental disorders.

KEY WORDS: *CENTELLA ASIATICA* – *HYDROCOTYLE ASIATICA* – *GOTU KOLA* – *TRITERPENOIDS* – *ASIATIC AND MADECASSIC ACIDS* – *ASIATICOSIDE* – *MADECASSOSIDE* – *AJURVEDA MEDICINE* – *WOUNDS HEALING* – *MEMORY ENHANCER*

Wstęp

Centella asiatica (L.) Urban, syn. *Hydrocotyle asiatica* (L.) wąkrota azjatycka, rodz. *Apiaceae* (Selerowate), ang. *Indian Pennywort*, *Indian Hydrocotyle* – jest cenioną rośliną medycyny ajurwedyjskiej (*ayur* – życie i *veda* – wiedza), jednej z najstarszych metod leczenia, rozpo-

wszechnionej w południowo-wschodniej Azji, głównie w Indiach, od ponad 3000 lat. Medycyna ajurwedyjska wywodzi się z tekstów religijnych holistycznej wizji rzeczywistości, według której (w odniesieniu do medycyny) organizm ludzki tworzy układ całościowy bez podziału na ciało i duszę. Podstawowym założeniem tej metody jest usuwanie przyczyny choroby, nie tylko jej skutków, a także traktowanie, jako obiektu leczenia, całego organizmu, a nie jego pojedynczych organów. Proces leczenia według tego systemu obejmuje trzy etapy: przygotowanie, terapię właściwą oraz oczyszczanie i regenerację (wzmacnianie i usuwanie z organizmu substancji toksycznych). W medycynie ajurwedyjskiej, poza wąkrotą azjatycką, wykorzystywanych jest wiele roślin leczniczych, m.in. kardamon (*Elettaria cardamomum*), rauwolfia (*Rauwolfia serpentina*), sandałowiec biały (*Santalum album*), witania ospała (*Withania somnifera*), miłorząb dwuklapowy (japoński) (*Ginkgo biloba*), biedrzyga (*Podophyllum hexandrum*) i in. (1).

Centella asiatica (L.) Urban występuje rodzimie i jest hodowana w tropikalnych i subtropikalnych krajach południowo-wschodniej Azji, głównie w Indiach, Chinach, Japonii, Malezji i Indonezji, lecz również w Południowej Afryce, na Madagaskarze, w Australii oraz w Południowej i Środkowej Ameryce, najczęściej na terenach obfitujących w wodę, zarówno nasłonecznionych, jak i zacienionych.

Roślina jest znana pod różnymi nazwami. W Indiach i Nepalu powszechnie znana jest jako *Gotu kola* oraz *Brahmi* (od imienia bogini mądrości) i *Saraswati* (od imienia bogini wiedzy i mądrości).

W Indiach, w zależności od położenia geograficznego uprawianych terenów, *Centella asiatica* przyjmuje różne lokalne nazwy, np. *Manimuni* (Assam), *Karinga*, *Karivana* (okolice Bombaju), *Vallari* (wyżyna Dekanu), *Brahmi*, *Brahma-manduki*, *Brahmi Bhe-da*, *Khulakudi*, *Madukaparni* (dial. hindu), *Vallarai*, *Yoshanavalli*, *Chandaki* (dial. tamilski), *Mandooka-parni* i *Eka-parni* (sanskryt) (2).

Surowcem leczniczym pozyskiwanym z wąkroty azjatyckiej w medycynie Dalekiego Wschodu są zarówno liście, jak i cała roślina z korzeniami, stosowane od tysięcy lat jako swoiste *panaceum* w różnych chorobach ośrodkowego układu nerwowego (usprawnienie funkcji szarych komórek, poprawa pamięci i kojarzenia, podwyższanie I.Q., w depresji), w niedomodze układu sercowo-naczyniowego (w nadciśnieniu, zaburzeniach krążenia obwodowego), chorobie wrzodowej przewodu pokarmowego, w chorobach skóry, w tym w leczeniu trudno gojących się ran. Lekarze indyjscy stosują preparaty z wąkroty azjatyckiej zewnątrz i wewnątrz w chronicznych owrzodzeniach, egzemach, łuszczycy, trądziku, a także w malarii oraz jako środek ogólnie wzmacniający. *Brahmi* jest jedną z postaci tego leku określaną jako *Rasayana* (środek odmładzający) lub jako podwyższający inteligencję (*Caraca samhta*) i wydłużający okres życia (*Bhavaprakasha*). Dla poprawienia pamięci oraz w zaburzeniach sfery mentalnej stosuje się proszek z wysuszonych liści (w określonych dawkach) z mlekiem (1).

Substancję biologicznie czynną surowca stanowi zespół związków triterpenowych, pochodnych zarówno ursanu (kwas azjatykowy i madekasowy oraz ich estry cukrowe – azjatykozyd i madekasozyd), jak i oleananu (kwas terminolowy i azjatykozyd B) (1, 3).

Z surowca otrzymywane są wyciągi: TECA (titrated extract of *Centella asiatica*), TTFCA (total triterpenoid fraction of *Centella asiatica*), TTF (total triterpenic fraction), CATTFF (*Centella asiatica* total terpenic fraction), ETCA (Estratto Titolato di *Centella asiatica*). Wszystkie wymienione nazwy, jak wynika z danych piśmiennictwa, są różnymi akronimami tego samego ekstraktu, znanego w handlu jako Madecassol (TECA) lub Centellase i Blastostimulina (TTFCA), zawierającego dodatkowo 40% azjatykozydu i 60% kwasu azjatykowego i madekasowego.

TECA jest oczyszczonym, frakcjonowanym wyciągiem, wzbogaconym we frakcje obu kwasów triterpenowych oraz azjatykozyd (jak wyżej). Proces oczyszczania surowca nie jest uszczegółowiony. Według European Medicines Agency (EMA) (4) stosowane metody otrzymywania wyciągów nie tylko nie zapewniają stałej jakości uzyskiwanego produktu, lecz

również mogą wywierać niekorzystny wpływ na macierzystą (pierwotną) strukturę chemiczną zawartych w nim związków. Ponadto w otrzymanym produkcie finalnym nie jest zachowana naturalna proporcja składników biologicznie aktywnych.

Szeroki wachlarz właściwości biologicznych, potwierdzony wynikami badań (od eksperymentów *in vitro* do prób klinicznych włącznie), spowodował powszechne zainteresowanie wąkrotą azjatycką. W miarę poszerzania badań chemicznych i biologicznych wyciągów z tej rośliny, prowadzonych powszechnie na świecie, a szczególnie intensywnie w krajach azjatyckich, w piśmiennictwie pojawiają się liczne opracowania przeglądowe, przedstawiające wyniki aktualnych badań, które ogólnie potwierdzają skuteczność wąkroty azjatyckiej w ograniczaniu objawów wielu chorób oraz celowość szerokiego stosowania przetworów z tej rośliny w medycynie ajurwedyjskiej od tysięcy lat (5-11). W dalszym ciągu monografia przetworów z *Centella asiatica* nie znalazła jak dotąd miejsca w urzędowym lekospisie produktów ziołowych Wspólnoty Europejskiej HMPC (*Committee on Herbal Medicinal Products*). Pełna dokumentacja, obowiązująca przy publikowaniu poszczególnych monografii w tym lekospisie, opatrzona odnośnym numerem urzędowego biuletynu, wymaga m.in. szczegółowego określenia procesu wytwarzania wyciągu, zapewniającego zachowanie stałej jakości produktu leczniczego.

HMPC w dniu 15 stycznia 2010 roku na posiedzeniu grupy roboczej MLWP (*Working Party on Community Monographs and Community List*), zajmującej się oceną i spisem monografii, na podstawie obecnych danych wyraziła opinię, zgodnie z wymogami obowiązującymi we Wspólnocie Europejskiej, że ekstrakt TECA nie może być aktualnie zarejestrowany jako preparat ziołowy, ze względu na jego zmienny skład oraz nieznaną proces otrzymywania. Z tego powodu, mimo licznych danych piśmiennictwa dotyczących bezpieczeństwa i skuteczności stosowania w różnych chorobach produktów zawierających wyciąg TECA, nie jest możliwe opracowanie monografii dla tego wyciągu, ponieważ wszystkie dotychczasowe dane nie odnoszą się do wyciągu roślinnego (4).

Produkowane na bazie wyciągów z wąkroty azjatyckiej preparaty (np. Medacassol i Analen – mazidla, Alveo – płyn, Varixinal – tabletki i Cicatridine – globulki), obecne w sprzedaży w wielu krajach Wspólnoty Europejskiej: Belgii, Francji, Grecji, we Włoszech, Hiszpanii i Portugalii, również w Polsce, mają status suplementów diety.

Przedsiębiorstwo Produkcji Farmaceutycznej (PPF) Hasco-Lek produkuje preparaty Detocell Cellulit

(kapsułki miękkie) oraz Detocell Aqua – suplementy diety przeznaczone dla kobiet ze skłonnością do cellulitu (nieprawidłowego metabolizmu tkanki tłuszczowej) rozmieszczonego w skórze w postaci nieregularnych zgrubień. Preparat Detocell Cellulit zawiera jako substancję czynną, poza olejem rybim (kwasy z grupy *omega-3*) i olejem z ogórecznika (kwasy *omega-6*), wyciąg suchy z wąkroty azjatyckiej, wspomagający krążenie obwodowe oraz pobudzający rozwój fibroblastów (najliczniejszych komórek tkanki łącznej właściwej) do syntezy kolagenu, elastyny i kwasu hialuronowego, warunkując właściwe dożywianie i dotlenianie komórek.

Detocell Aqua jest przeznaczony dla kobiet ze skłonnością do cellulitu oraz zatrzymywania wody w organizmie, szczególnie w II fazie cyklu miesięczkowego. Zawiera, poza wyżej wymienionymi olejami wyciągi suche z wąkroty azjatyckiej, morszczynu i korzenia pokrzywy zwyczajnej.

Wykorzystywanie przetworów z wąkroty azjatyckiej do gojenia zmienionej chorobowo struktury skóry (wyprysków, trądziku, oparzeń, odleżyn, wyrównywania zbliznowaceń) jest znane i od dawna stosowane w różnych preparatach dermatologicznych i kosmetycznych. W dostępnym piśmiennictwie, informacje dotyczące badania mechanizmu i leczenia licznych chorób skóry preparatami sporządzonymi na bazie wyciągów z wąkroty azjatyckiej, bądź azjatykozydu, są dość liczne (9, 12-20).

Roślina macierzysta i substancja lecznicza

Centella asiatica (L.) Urban – jest rośliną trwałą, występującą w zwartych skupiskach charakteryzujących się obfitością liści (zielony dywan) lub jako chwast pól uprawnych na dużych przestrzeniach do wysokości 600 m nad poziomem morza. Wykształca długą, pełzającą łodygę, opatrzoną ukorzenionymi węzłami. Z węzłów wyrastają okrągławe, nerkowate lub dłoniaste liście na długich ogonkach, zwykle 5-10 razy dłuższych od blaszki liściowej. U nasady liści wyrastają małe przylistki. Kwiatostanem jest baldach złożony z 1-5 siedzących drobnych kwiatów o barwie od blad różowej do czerwonej. Owocem jest rozłupka o długości do 8 mm. Surowiec jest prawie bezwonny o słabo wyczuwalnym, korzennym smaku. Surowiec pozyskiwany jest przede wszystkim ze stanowisk naturalnych Indii, Sri Lanki, Madagaskaru i Afryki Południowej w okresie całego roku. Zbiór jest suszony powietrznie, na słońcu.

Wąkrota azjatycka pokrojem i składem chemicznym przypomina występującą w Europie wąkrotę zwyczajną (*Hydrocotyle vulgaris* L.), od której różni się nieco morfologią liści, kwiatostanu oraz owoców.

Szczegółowa monografia rośliny i surowca znajduje się w opracowaniu Hagers Handbuch pharm. Praxis (21).

Chemizm

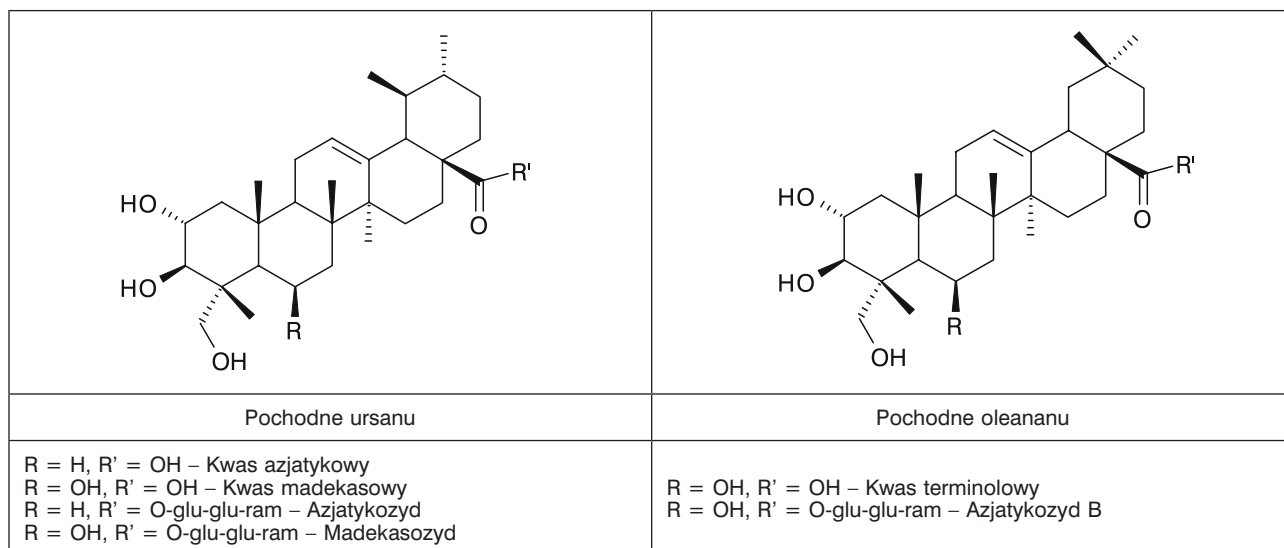
Triterpenoidy

Głównymi składnikami chemicznymi ziela wąkroty azjatyckiej, prawdopodobnie odpowiedzialnymi za wielokierunkowe działanie biologiczne surowca, są pięciocykliczne triterpenowe kwasy pochodne ursanu: azjatykowy i 6-hydroksyazjatykowy (madekasowy) oraz ich estry cukrowe (pseudosaponiny), wśród których przeważają ilościowo dwa związki: azjatykozyd i madekasozyd; oraz pochodne oleananu – kwas terminolowy i jego tricukrowy ester – azjatykozyd B (ryc. 1). W mniejszych ilościach występują izomeryczne oligoglikozydy triterpenowe typu ursanu – centelasaponozydy B, C i D.

Z ziela wyizolowano i zidentyfikowano ponadto dalsze triterpenoidy pochodne ursanu i oleananu, a mianowicie kwasy: ursolowy (i jego lakton), betulinowy, bramikowy, centelikowy, tankunikowy oraz bramozyd, braminozyd, tankunizyd i in. (21, 22).

Stwierdzono przy tym, że skład chemiczny wąkroty azjatyckiej jest zróżnicowany w zależności od miejsca występowania rośliny, np. w Indiach stwierdzono obecność 5 różnych odmian chemicznych, zawierających w większości kwas azjatykowy i madekasowy oraz ich pochodne. W Chinach i na Madagaskarze natomiast występują rasy chemiczne *Centella asiatica* zawierające głównie pochodne kwasu madekasowego. Zaobserwowano również, że zawartość procentowa czterech podstawowych związków frakcji triterpenowej: kwasów (azjatykowego, madekasowego) oraz azjatykozydu i madekasozydu, w wyciągach wodnych i alkoholowych (ekstrahowanych z upraw polowych) różni się znacznie w zależności od ekotypu (23). Podobnie, zawartość całej frakcji triterpenoidowej w ziele waha się, w zależności od miejsca zbioru, w granicach od 1-8% (21).

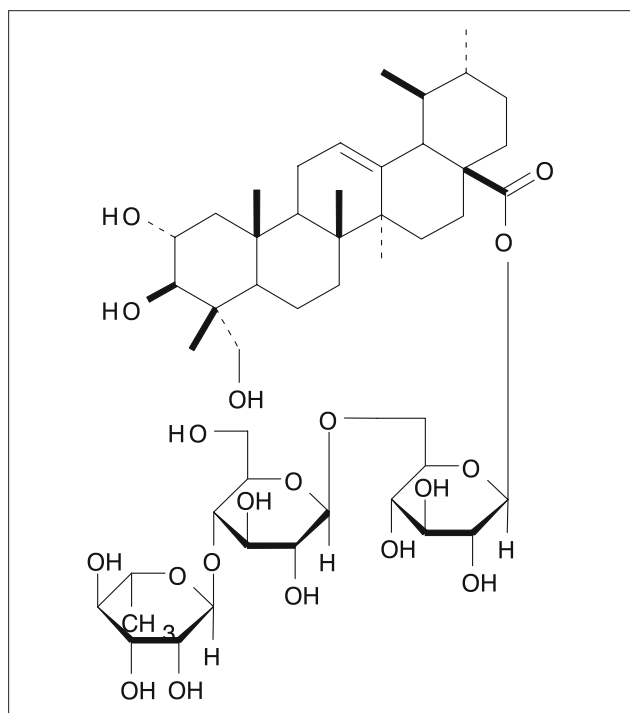
Schaneberg i wsp. (3) dostosowali metodę wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) do oznaczania zawartości bioskładników frakcji triterpenowej w ekstrakcie metanolowym z *Centella asiatica* oraz w otrzymany z surowca produktach handlowych. W badanych mieszaninach autorzy oznaczyli jakościowo i ilościowo, poza czterema znanymi pochodnymi ursanu (kwasami: azjatykowym i madekasowym oraz ich tricukrowymi estrami: azjatykozydem i madekasozydem), dwie pochodne oleananu (kwas terminolowy i azjatykozyd B), obecne w każdej badanej frakcji triterpenowej (ryc. 1). Strukturę dwóch ostatnich składników ustalono



Ryc. 1. Triterpenoidy wąkroty azjatyckiej.

po zastosowaniu analiz ^1H - i ^{13}C -NMR oraz MS. Wzór strukturalny azjatykozydu przedstawiono na rycinie 2.

W publikowanym opracowaniu Schaneberg i wsp. (3) opisali szczegółowo warunki, w których po 50 min uzyskiwali rozdział i oznaczenie wyżej wymienionych związków w zakresie stężeń do $0,01 \mu\text{g/ml}$. Według autorów oznaczenie każdego pojedynczego składnika frakcji triterpenowej jest celowe nie tylko ze względu na dokładniejszą standaryzację surowca, lecz również



Ryc. 2. Wzór strukturalny azjatykozydu.

dla właściwego określenia aktywności każdego badanego preparatu rynkowego. Stosując dostosowaną do zamierzonych analiz metodę HPLC autorzy wykazali bowiem, że badane preparaty handlowe różniły się znacznie składem jakościowym i ilościowym.

Z wcześniejszych opracowań (13) wiadomo, że określona aktywność terapeutyczna wyciągów z zieleń wąkroty azjatyckiej wiąże się z obecnością konkretnego składnika frakcji triterpenowej, np. właściwość leczenia trudno gojących się ran przypisuje się przede wszystkim azjatykozydowi, co wykazano w testach modelowych *in vitro* i *in vivo*. Związek ten działa ponadto przeciwzapalnie (m.in. w artretyzmie), anksjolitycznie, jako przeciwutleniacz oraz hamuje tworzenie się wrzodów (12, 24, 25). Madekasozyd i kwas madekasowy wykazują działanie przeciwzapalne, bromozyd (także wyciąg zawierający znaczną ilość tego związku) działają uspokajająco, całkowita frakcja triterpenowa działa przeciwdepresyjnie, surowy wyciąg zawierający izotankunizyd i tankunizyd powoduje bezpłodność, natomiast centellozyd i jego pochodne okazały się pomocne w leczeniu nadciśnienia żylnego (1). Jak wynika z przeprowadzonych badań całościowy zespół frakcji nie przedstawia precyzyjnie leku na konkretną chorobę, zwłaszcza gdy procentowa zawartość głównego składnika działającego w mieszaninie nie jest znana. Z tego względu określenie bioaktywnych substancji frakcji triterpenowej w ekstraktach z *C. asiatica* ma, wg Schaneberga (3), istotne znaczenie dla zapewnienia deklarowanego działania, skuteczności i powtarzalności preparatów sporządzanych z tego surowca.

Ostatnio Tassanawat i wsp. (26) opisali przystosowanie dwóch biologicznych testów: ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) oraz Eastern blotting

(biochemiczną metodę opartą na analizie białek i najczęściej używaną do wykrywania epitopów cukrowych) do ilościowego oznaczania dwóch głównych triterpenowych estrów cukrowych: azjatykozydu (AS) i madekasozydu (MA) w wyciągach z *Centella asiatica*. Autorzy wykorzystali do tego celu wytwarzanie przeciwciała poliklonalnego w odniesieniu do madekasozydu (MA-Pab). Otrzymany MA-Pab okazał specyficzny wobec MA i AS. Opracowane metody wykazują dobrą swoistość, dokładność i zgodność z metodą HPLC oraz umożliwiając szybkie i proste wykonanie oznaczenia zawartości triterpenowych estrów cukrowych w materiale roślinnym.

Flawonoidy

W liściach *Centella asiatica* występują flawonole – głównie 3-glukozydy kwercetyny i kemferolu, 7-glukozyd kemferolu, (3-O-(6-O- α -L-arabinypranozylo)- β -D-galakto-pyranozydy kwercetyny i kemferolu; brak połączeń flawonu (21, 27).

Olejek eteryczny i oleje tłuste

Analiza olejku eterycznego (ok. 0,1%) wykazała obecność 11 monoterpenu (ok. 20%) oraz 9 ich pochodnych tlenowych, 14 seskwiterpenów (68,8%) i 5 ich tlenowych pochodnych. Głównymi składnikami olejku eterycznego są humulen (21,06%), kariofyllen (19,06%), bicyklogermakren (11,22%), germakren B (6,29%) i myrcen (6,55%) (1).

W skład frakcji olejowej wchodzi kwasów: olejowego, palmitynowego, stearynowego, lignocerylowego, linolowego i linolenowego.

Inne związki

W *Centella asiatica* stwierdzono ponadto obecność takich związków, jak aminokwasy, garbniki, cukry, fitosterole, kwas rozmarynowy oraz poliacetyleny i inne (28, 29).

Opis surowca

Według Farmakopei Polskiej IX (30) *Centellae asiaticae herba* – ziele wąkroty azjatyckiej – stanowią wysuszone, połamane nadziemne części *Centella asiatica* (L.) Urban, zawierające w wysuszonym surowcu nie mniej niż 6% sumy pochodnych triterpenoidów w przeliczeniu na azjatykozyd.

PDR (*Physicians' Desk References*) for Herbal Medicines (31) wymienia jako surowiec wysuszone, nadziemne części, świeże i wysuszone liście oraz łodygę *Centella asiatica* (Gotu kola).

ESCOPE (*European Scientific Cooperation on Phytotherapy*) (32) podaje, zgodnie z Farmakopeą Europejską (*European Pharmacopoeia*) (33), poniższą definicję

dla surowca: *Centellae asiaticae herba* stanowią wysuszone fragmenty nadziemnych części *Centella asiatica* (L.) Urban, zawierające nie mniej niż 6% wszystkich pochodnych triterpenoidowych, wyrażonych jako azjatykozyd, w odniesieniu do suchej masy surowca.

Centella asiatica (L.) Urban (również jako *Hydrocotyle asiatica* (L.)) jest wymieniana jako surowiec w Indian Herbal Pharmacopoeia, German Homeopathic Pharmacopoeia (GHP) oraz farmakopei chińskiej (*Pharmacopoeia of the People's Republic of China*) (3).

Działanie farmakologiczne i lecznicze

C. asiatica (CA) wykazuje wielokierunkowe działanie farmakologiczne, które oceniano różnymi testami modelowymi *in vitro* i *in vivo*. Bliższe dane dotyczące stosowanych metod i materiału doświadczalnego znajdują się w cytowanym piśmiennictwie.

Pośród różnych rodzajów chorób, w których stosowano wyciągi z wąkroty azjatyckiej z dobrym skutkiem, choroby związane z funkcją tkanki łącznej oraz ośrodkowego układu nerwowego stanowią znaczący procent przypadków. Tassanawat i wsp. (26) wymieniają dwa główne związki frakcji triterpenowej – azjatykozyd i madekasozyd, jako substancje biologicznie aktywne stosowane w leczeniu ran i polepszaniu pamięci.

Działanie *Centella asiatica* na tkankę łączną

Badania biologiczne

Prowadzone badania wykazały, że miejscowe zastosowanie przetworów (maść, wyciągi) z ziele *Centella asiatica* (CA) w leczeniu owrzodzeń i ran skóry powoduje wzrost proliferacji fibroblastów oraz przyspieszenie syntezy kolagenu. Maquart i wsp. (15, 16) stosowali w tym celu z dobrym skutkiem maść zawierającą 0,1-0,2% ekstraktu etanolowego z CA. Substancją odpowiedzialną za powyższe właściwości ziele wąkroty był azjatykozyd (13, 14).

Po podaniu szczurom *per os* i miejscowo na ranę preparatów z CA zaobserwowano wzrost produkcji fibroblastów i syntezy kolagenu w miejscu zranienia, a następnie przyspieszenie ziarninowania, zwiększenie syntezy całkowitego kolagenu, białek i heksozaminy. U zwierząt otrzymujących preparaty z wąkroty stwierdzono wyższy stopień epitelializacji i szybsze gojenie ran w porównaniu z kontrolą (34, 35).

Kimura i wsp. (12) wykazali, że miejscowe zastosowanie azjatykozydu nawet w dawkach 1 ng-10 pg, ułatwia gojenie się ran pooparzeniowych (kontrola – *vehiculum*). Aby wyjaśnić mechanizm tego działania autorzy przebadali wpływ azjatykozydu na poziom różnych cytokin generowanych w ranie

(*in situ*). Stwierdzili, że stosowanie małych dawek azjatykozydu (10 pg, 100 ng, czy 1 ng) podwyższa w wydzielinie z rany poziom chemoatraktantu monocytu proteiny-1 (MCP-1), naczyniowego śródbłonkowego czynnika wzrostu (VEGH) i interleukiny-1B (IL-1B). Azjatykozid w dawkach 100 ng-10 pg/ml podwyższa poziom MCP-1 w komórkach ludzkich keratynocytów (HaCaT), lecz nie ma bezpośredniego wpływu na produkcję VEGF. W tych samych dawkach azjatykozid w obecności MCP-1 podwyższa ekspresję IL-1B w makrofagach THP-1, lecz nie ma wpływu na produkcję IL-1B bez MCP-1, czy z lipopolisacharydami (LPS).

Powyższe obserwacje sugerują, że przyspieszenie procesu leczenia ran pooparzeniowych przez azjatykozid może być spowodowane wzmożeniem angiogenezy, w wyniku stymulowania produkcji VEGF (przez podwyższenie ekspresji MCP-1 w keratynocytach) i podwyższenia ekspresji IL-1B w makrofagach (indukowanych przez azjatykozid plus MCP-1). Oparzenia i rany indukują początkowo martwicę skrzepową i powodują tworzenie się blizn po zagojeniu. Makrofagi migrują do zranionych miejsc, niszczą drobnoustroje i wytwarzają cytokiny, które włączają stopniowo inne komórki nacieku zapalnego, odpowiedzialne za odwrotny efekt stanu zapalnego (17).

Azjatykozid, wodne i alkoholowe wyciągi z surowca oraz wydzielone frakcje triterpenowe zawierające azjatykozid, podwyższają zawartość kolagenu w warstwie komórek zawierających fibronektynę, przyspieszając proces gojenia ran. Azjatykozid podwyższa zawartość hydroksyproliny, siłę napięcia komórki oraz pobudza proces syntezy kolagenu i angiogenezy, co wykazano na modelach zwierzęcych (12).

Przeprowadzono szereg badań *in vivo* podając zwierzętom na otwarte rany *in situ* i *per os* alkoholowe wyciągi oraz wydzielone związki, uzyskując każdorazowo potwierdzenie zwiększenia proliferacji komórkowej i syntezy kolagenu w miejscu zranienia oraz białek i kolagenu w ziarninie ran. Odnotowano również wyższą kontrakcję ran, krzyżowe usieciowanie kolagenu oraz szybszą epitelializację w porównaniu z kontrolą. Sunilkumar i wsp. (36), w trakcie prowadzenia eksperymentów zaobserwowali zróżnicowane działanie terpenoidów CA w różnych stadiach procesu gojenia ran. Stwierdzili także, że proces leczenia przebiegał korzystniej po zastosowaniu postaci żelowych niż maści lub kremów.

Shetty i Pemmineti (37) badali właściwość leczenia ran przez etanolowy wyciąg z ziela CA u albinotycznych szczurów z cukrzycą wywołaną działaniem streptozotocyny. Obszar uszkodzeń tkanki (rany cięte lub martwicze), mierzony w grupie zwierząt leczonych

wyciągiem z CA, był wyraźnie mniejszy w porównaniu z próbą kontrolną. Zaobserwowano przy tym znaczny wzrost masy ziarniny oraz zwiększenie zawartości hydroksyproliny. Badania histologiczne leczonej tkanki otrzymanej z próby badanej wykazały szybsze narastanie kolagenu w porównaniu z grupą kontrolną. Stężenie glukozy we krwi zwierząt z cukrzycą, leczonych wyciągiem z CA, było znacznie niższe od jej stężenia we krwi zwierząt z grupy kontrolnej. Zauważono związek pomiędzy szybkością gojenia się rany a poziomem glukozy we krwi. Wyniki tego badania dowodzą, że etanolowy wyciąg z CA wykazuje lecznicze właściwości zarówno w odniesieniu do zwykłych uszkodzeń tkanki (rany cięte i martwicze), jak i do ran wywołanych przez cukrzycę.

Świeży sok z ziela CA, przyjmowany w ilości 200 i 600 mg/kg dwa razy dziennie, przeciwdziałał tworzeniu nadżerek i wrzodów żołądka wywołanych aspiryną i etanolem, z efektem podobnym do leczenia sukralfatem (38). *Centella* znacznie podwyższała wydzielanie mucyny oraz glikoprotein, markerów podwyższonego czynnika obrony śluzówki żołądka (39).

Działanie lecznicze

Na szczególną uwagę zasługują w tym miejscu prace Cesarone, Incandela, Belcaro i De Sanctis (40-45). Autorzy wykazali, że frakcja triterpenowa wąkroty azjatyckiej (w dawce 180 mg/*pro die*) powoduje poprawę u pacjentów z nadciśnieniem żylnym przez polepszenie przesączania włócniczkowego i zmniejszanie obrzęku stawu skokowego. Frakcja triterpenowa działa również korzystnie w mikroangiopatii cukrzycowej poprzez poprawienie mikrokrążenia i obniżenie przepuszczalności kapilarnej (45). Zmniejszenie obrzęku jest korzystne w odniesieniu do progresji neuropatii, zwłaszcza w początkowym stadium mikroangiopatii, przeciwdziałając postępowi choroby (41).

Bylka i wsp. (46) opracowały przegląd doniesień piśmiennictwa w zakresie wykorzystywania wąkroty azjatyckiej w polepszaniu gojenia się skaleczeń, ran przerostowych, oparzeń, łuszczycy i twardziny (przewlekła choroba powodująca stwardnienie skóry i tkanek w wyniku nadmiernego gromadzenia kolagenu). Mechanizm działania w tych schorzeniach polega na zwiększeniu proliferacji fibroblastów powodując wzrost stężenia międzykomórkowej fibronektyny, zwiększenie syntezy kolagenu oraz polepszenie wytrzymałości na rozciąganie nowo powstałej skóry. Następuje zahamowanie fazy zapalnej blizn przerostowych i keloidów (przerośnięta, stwardniała blizna). Wyniki badań wskazują, że CA może być stosowana w leczeniu fotostarzenia się skóry, cellulitu i rozstępów.

Chong i Aziz (6) przeprowadzili analizę dotychczasowych danych piśmiennictwa odnoszących się do skuteczności preparatów z CA w redukowaniu objawów chronicznej niewydolności żylną (CVI). Przeprowadzona analiza wykazała, że frakcja triterpenowa CA poprawia parametry mikrokrążenia, jak przezskórne ciśnienie parcjalne CO₂ i O₂, ponadto zmniejsza obrzęk w okolicy stawu skokowego i usprawnia odpowiadź żylną-tętniczą. U pacjentów, którym podawano triterpeny z CA, zaobserwowano wyraźną poprawę w przypadku takich objawów CVI, jak uczucie ciężkości, ból i obrzęk kończyn dolnych. Autorzy wnioskują, że *Centella asiatica* może być wykorzystywana w leczeniu CVI, nie mniej jednak wskazane jest, dla uniknięcia ryzyka błędu, prowadzenie dalszych, poszerzonych badań z dokładną dokumentacją, która w wielu analizowanych publikacjach okazała się niepełna.

Centella wywiera również wpływ na tkankę łączną żyłaków. Po podaniu pacjentom z żyłakami podudzi 30 mg frakcji triterpenowej (TTFCA) 2 razy dziennie przez 3 miesiące stwierdzono znaczące obniżenie stężenia enzymów (β -glukuronidazy, β -N-acetyloglukozamidazy i arylosulfatazy) biorących udział w metabolizmie mukopolisacharydów, w porównaniu z odnośnymi wartościami wyjściowymi (47).

Garcia Hernandez i wsp. (48) przebadali efektywność dostępnych produktów kosmetycznych (kremy), zawierających triterpeny z CA, w zapobieganiu tworzenia się rozstępów skórnych (*striae gravidarum*) u kobiet ciężarnych. Badania prowadzili w okresie 15 mies. zarówno na pacjentkach, u których pojawiły się wcześniej pierwsze objawy rozciągnięć skóry, jak i na ciężarnych, bez uprzednich zmian skórnych. Grupa kontrolna otrzymywała *placebo* (krem bez substancji aktywnych). Autorzy stwierdzili efektywność w zahamowaniu tworzenia się dalszych rozstępów u pacjentek, u których przed rozpoczęciem eksperymentu zaobserwowano występowanie tych objawów, jak i w zapobieganiu powstawaniu zmian u ciężarnych, do tej pory niewykazujących rozstępów skórnych.

Mechanizm działania

Szlaki molekularne, leżące u podstawy zróżnicowanej aktywności biologicznej triterpenoidów wyizolowanych z CA, Christopher i wsp. (49) badali z udziałem mikromacierzy genów wraz z przeprowadzeniem reakcji łańcuchowej z odwrotną transkryptazą polimerazy w czasie rzeczywistym (RT-PCR). Badania powyższe prowadzili w celu określenia ekspresji genów w ludzkich fibroblastach. Hodowle tych komórek wykorzystywali jako system modelowy do oceny znaczenia TECA (mianowanego wyciągu z CA) oraz czterech głównych składników frakcji triterpenowej w procesie

leczenia ran. Stwierdzili, że TECA powoduje w tym procesie ekspresję genów biorących udział w angiogenezie i przebudowie matrycy zewnątrzkomórkowej, jak również w różnym stopniu wzrost czynnika genów. Zakres i liczba tych zmian zależała m.in. od dawki bioaktywnych triterpenów, szczególnie obu wolnych kwasów (azjatykowego i madekasowego), przy czym ekspresja ujawnia się po 48 godz. od rozpoczęcia podawania preparatu TECA. Autorzy wnioskują, że ekspresja genów wywołana przez triterpeny wąkroty azjatyckiej jest konsekwencją ich głównego zastosowania w leczeniu schorzeń związanych z zaburzeniami tkanki łącznej, np. w leczeniu ran oraz w mikroangiopatiach. Autorzy zwracają uwagę, że leczenie ran jest skomplikowanym biologicznym procesem, angażującym różne typy komórek, złożonym z etapów o zróżnicowanym przedziale czasowym: od sekund do minut (koagulacja), od minut do godzin (stan zapalny), od godzin do dni (migracja i proliferacja) i od dni do miesięcy (kształtowanie blizn – remodelowanie).

Triterpeny CA wpływają na syntezę kolagenu powiązaną z przebudową macierzy zewnątrzkomórkowej oraz na modulację mikrokrążenia. Profilowanie transkrypcyjne umożliwia przetestowanie szerokiego zakresu potencjalnej aktywności poszczególnych związków (w czasie rzeczywistym) oraz dostarcza danych, potrzebnych do określenia aktywności badanego związku. Identyfikacja genów modulowanych przez badane triterpeny, umożliwia określenie ilościowej korelacji między bioaktywnością CA a efektami klinicznymi na poziomie molekularnym.

W rezultacie przeprowadzonych badań na hodowlach ludzkich fibroblastów, Christopher i wsp. (49) wykazali, że triterpeny wąkroty azjatyckiej biorą udział w modulowaniu ekspresji genów oraz, że wolne kwasy TECA prawdopodobnie mają silniejszą aktywność biologiczną niż ich estry. Autorzy określili efektywne stężenie wyizolowanych z *C. asiatica* triterpenoidów oraz czas ich działania na hodowle fibroblastów, wymagane do uzyskania wyraźnej odpowiedzi genowej. Wyczerpujące dane zawarte są w powyższej publikacji.

Działanie *Centella asiatica* na ośrodkowy układ nerwowy

Badania farmakologiczne i kliniczne

Przeprowadzone badania *in vivo*, jak i badania kliniczne wyciągów oraz wydzielonych frakcji z ziela CA na funkcje ośrodkowego układu nerwowego (OUN), wykazały działanie ochronne tych substancji na neurony oraz zapobiegające załamaniom psychicznym i innym chorobom mentalnym (50, 51).

Ramanathan i wsp. (52) badali wpływ wyciągów z wąkroty azjatyckiej na procesy wytwarzania wolnych rodników i ekscytotoksyczności u szczurów, wywołane działaniem glutaminianu sodu (MSG). Autorzy stwierdzili znaczne podwyższenie poziomu enzymów (katalazy, dysmutazy ponadtlenkowej) i nadtlenków lipidowych w hipokampie i prążkowi, przy niezmiennym poziomie MSG. Pod wpływem wyciągu z CA odnotowali wyraźny efekt ochronny frakcji triterpenów na hipokamp, co wskazuje na właściwość hamowania przez CA neurodegeneracji, spowodowanej ekscytotoksycznością MSG.

Lee i wsp. (53), badali działanie ochronne kwasu azjatykowego oraz jego pochodnych (wydzielonych z CA) na komórki korowe. Stwierdzili, że związki te wzmacniają komórkowy mechanizm obrony oksydacyjnej, przez co stają się efektywne w ochranianiu neuronów przed działaniem oksydacyjnym wywołanym nadmiarem glutaminianów.

Wodny wyciąg z liści CA podwyższa zdolność pojmowania i pamięć oraz znacznie obniża poziom norepinefryny, dopaminy oraz serotoniny i ich metabolitów w mózgu zwierząt doświadczalnych (54).

Syrop sporządzony z wąkroty i *Bacopa monnieri* usprawnia proces postrzegania (badania prowadzono na białych myszach) (2). Podobne wyniki uzyskali Veerendra Kumar i Gupta (55). Autorzy stwierdzili, że wodny wyciąg z ziela CA podwyższa właściwości poznawcze oraz wykazuje działanie antyoksydacyjne w wywołanym przez streptozotocynę zaburzeniu mentalnym i stresie oksydacyjnym u szczurów. Ci sami autorzy, badając wpływ różnych wyciągów z CA na pojmowanie i czynniki stresu oksydacyjnego u szczurów stwierdzili, że podwyższenie poziomu percepcji tych zwierząt jest powiązane z mechanizmem antyoksydacyjnym w OUN (56).

Mook-Jung i wsp. (57) w badaniach *in vitro* wykazali, że kwas azjatykowy i jego pochodne zmniejszają apoptozę komórek poprzez obniżanie stężenia wolnych rodników nadtlenkowych oraz β -amyloidu, co sugeruje możliwość wykorzystania tych związków w zapobieganiu rozwojowi choroby Alzheimera oraz obniżeniu neurotoksyczności β -amyloidu.

Podawanie wodnego wyciągu z ziela CA myszom po urodzeniu i młodym osobnikom dorosłym w ciągu fazy rozwojowej, wywiera wpływ na rozwój neuronów oraz wywołuje podwyższenie sprawności mózgu u badanych zwierząt (58).

Pod wpływem wyciągu ze świeżych liści CA Mohandas Rao i wsp. (59) stwierdzili u zwierząt doświadczalnych (szczury) istotne podwyższenie długości dendrytów, zarówno w intersekcjach, jak i w ich punktach rozgałęzień (wierzchołkowych i podstaw-

nych). Zwierzęta otrzymywały ekstrakt w ilości 4 i 6 ml/kg masy ciała dziennie przez 4-6 tygodni. Wynik eksperymentu wskazuje, że biozwiązki zawarte w świeżych liściach *C. asiatica* stymulują wzrost rozgałęzień neuronów.

Ważnym elementem właściwości leczniczych wąkroty azjatyckiej jest zdolność odnowy aksonów. U szczurów, którym podano ekstrakt z ziela CA w wodzie pitnej, stwierdzono szybszą odnowę aksonalną (w porównaniu z kontrolą) i szybsze zdrowienie czynnościowe (60).

Ekstrakt etanolowy z CA przyspiesza odnowę nerwów po podaniu *per os*; surowiec zawiera ponadto liczne aktywne frakcje podwyższające proces elongacji neurytów *in vitro*, co sugeruje, że biozwiązki zawarte w ekstraktach z wąkroty mogą okazać się zdolne do przyspieszenia odbudowy uszkodzonych neuronów (60).

Działanie przeciwdepresyjne

Fracja triterpenowa wąkroty azjatyckiej wykazuje działanie przeciwdepresyjne w teście wymuszonego pływania u myszy oraz usprawnia zaburzenia równowagi w poziomach aminokwasów. Triterpeny powodują nadto znaczną redukcję poziomu kortykosteronu w surowicy i podwyższają zawartość neurotransmiterów monoaminy w mózgu szczurów (61, 62).

Działanie trankwilizujące i sedatywne (62)

Fracja estrowa biozwiązków wąkroty azjatyckiej wykazuje słabą aktywność sedatywną, działa natomiast hypotensyjnie na zwierzęta doświadczalne (myszy i szczury) oraz jako czynnik hamujący akcję serca (kardiodepresant).

Bramozyd wykazuje działanie sedatywne, ekwiwalentne do słabych trankwilizatorów. Badanie efektów psychotropowych wąkroty azjatyckiej wykazało widoczne pogłębienie hipnozy barbituranowej u szczurów bez istotnych zmian w neurochemii mózgu, poza znaczącym zwiększeniem w nim zawartości histaminy i katecholoaminy (cyt. za 2).

Działanie anksjolityczne

Sarris i wsp. (7) prześledzili dane piśmiennictwa (do października 2012) dotyczące możliwości wykorzystania roślin leczniczych w terapii niektórych chorób układu nerwowego, szczególnie stanów lękowych. Spośród 1525 przebadanych z tego zakresu pozycji piśmiennictwa autorzy wyszczególnili jedynie 21 ekstraktów roślinnych z przeprowadzoną dokumentacją kliniczną i stwierdzili, że ekstrakt z *Centella asiatica* wykazywał najsilniejszą aktywność anksjolityczną. W konkluzji autorzy stwierdzili, że do tej pory brak jest wyczerpującego przeglądu anksjolityków roślinnych z

wyczerpującą dokumentacją badań przedklinicznych lub klinicznych.

Działanie antyoksydacyjne

Orhan i wsp. (63) przeprowadzili badanie ekstraktów etanolowych z *C. asiatica* pochodzących z Turcji i Indii w zakresie właściwości antyoksydacyjnych oraz hamowania aktywności 4 enzymów: acetylocholinoesterazy (AChE), butyrylocholinoesterazy (BchE), tyrozynazy (Tyro) i lipooksygenazy (Lox) przy użyciu testu ELISA. Uzyskane wyniki autorzy porównywali z odnośnymi danymi otrzymanymi dla standaryzowanego wyciągu z roślin pochodzących z Chin. Ekstrakty z Turcji i Indii wykazywały niższą aktywność w testach antyoksydacyjnych, natomiast wszystkie okazały znaczące zahamowanie aktywności wobec BchE i Tyro. Metodą HPLC wykazano najwyższą zawartość kwasu p-hydroksybenzoesowego w surowcu tureckim, podczas gdy w próbkach pochodzących z Indii odnotowano najwyższą zawartość kwasu chlorogenowego.

Działanie antybiotyczne

Kędzia i wsp. (64) stwierdzili, że ekstrakt alkoholowo-wodny (30% etanol) z *Centella asiatica* wykazuje silniejszą aktywność antybiotyczną w porównaniu z innymi wyciągami z ziela, jednak znacznie słabszą od tetracykliny.

Ekstrakt alkoholowo-wodny (60% etanol) wykazuje również silniejsze działanie antyoksydacyjne od pozostałych ekstraktów z ziela. Badania prowadzono *in vitro* wobec kwasu chlorogenowego jako substancji odniesienia.

Autorzy udowodnili ponadto, że ekstrakt alkoholowo-wodny z ziela CA wykazuje działanie bakteriostatyczne wobec wszystkich badanych bakterii Gram-dodatnich (13 szczepów) i Gram-ujemnych (8 szczepów) wyizolowanych z ran o różnej etiologii (minimalne stężenie hamujące MIC wynosiło 10-40 mg/ml.). Badany wyciąg nie wykazał działania mutagennego (test Ames) ani drażniącego (wytyczne OECD). Autorzy wnioskują, że aplikowany miejscowo krem lub żel, zawierający 5% badanego ekstraktu z ziela CA (5 mg/g preparatu), może znaleźć zastosowanie w leczeniu zakażonych ran.

Działania uboczne

Fracje triterpenowe wąkroty azjatyckiej, podawane do wewnątrz, zarówno w badaniach farmakologicznych, jak i klinicznych, charakteryzowały się dobrą tolerancją, bardzo rzadko z nieznacznymi objawami zaburzeń gastrycznych. W większości badań randomizowanych, kontrolowanych placebo, w których dawka

dzienna podawanej *per os* frakcji triterpenowej wynosiła 60-180 mg, a kuracja trwała niekiedy do 12 miesięcy, nie odnotowano żadnych efektów ubocznych. Wykazano również, że podawanie ekstraktu z CA 139 pacjentom w dawkach od 60 do 150 mg dziennie przez okres od 2-18 miesięcy, nie wykazało żadnych efektów niepożądanych. Odnotowano jedynie 3 przypadki reakcji alergicznych (32).

Podsumowanie

Centella asiatica (L.) Urban, syn. *Hydrocotyle asiatica* L. – wąkrota azjatycka, znana również pod nazwą Gotu kola, jest jedną z najbardziej cenionych roślin leczniczych Dalekiego Wschodu, wykazującą szeroki zakres właściwości terapeutycznych (bywa porównywana z żeń-szeniem).

W medycynie ajurwedyjskiej, *Centella asiatica* oraz otrzymywane z niej produkty, były stosowane od tysięcy lat zewnętrznie i wewnętrznie w różnych chorobach ośrodkowego układu nerwowego, w niedomodze układu sercowo-naczyniowego, w chorobach skórnych, w tym w leczeniu trudno gojących się ran i jako środek ogólnie wzmacniający. Prowadzone systematycznie badania farmakodynamiczne potwierdzają ogólnie znane, wielokierunkowe działanie lecznicze wąkroty azjatyckiej.

Substancjami chemicznymi, odpowiedzialnymi za wielokierunkowe działanie rośliny, jest zespół pseudo-saponin triterpenowych pochodnych ursanu i oleananu, wśród których szczególne znaczenie dla lecznictwa mają kwasy: azjatykowy i madekasowy oraz ich estry cukrowe: azjatykozyd i madekasozyd. Skład frakcji triterpenowej wyciągów pozyskiwanych z roślin hodowanych w odmiennych warunkach klimatycznych różni się znacznie ilościowo i jakościowo, co utrudnia opracowanie jednorodnego wyciągu o powtarzalnych właściwościach leczniczych.

Z tego względu, w urzędowym lekospisie produktów ziołowych Wspólnoty Europejskiej, brak jest monografii przetworów z wąkroty azjatyckiej. Znajdujące się w obrocie handlowym ekstrakty nie stanowią oryginalnego wyciągu roślinnego, zapewniającego zachowanie stałej jakości leku.

Obiecujące działanie lecznicze wąkroty azjatyckiej budzi nieustające zainteresowanie naukowców, czego wyrazem są liczne publikacje związane z farmakologią wyciągów z tej rośliny, często sugerujące konieczność kontynuowania poszerzonych, wielokierunkowych badań biologicznych i chemicznych.

Piśmiennictwo

1. Sushma T, Sangeeta G, Gambir IS. *Centella asiatica*: a concise drug review with probable clinical uses. J Stress Physiol Biochem 2011; 7:39-44. 2. Jamil SS, Nizami Q, Salam M. *Centella*

- asiatica* (Linn.) Urban. A review. *Natur Prod Radiance* 2007; 6(2):158-70. **3.** Schaneberg BT, Mikell JR, Bedir E i wsp. An improved HPLC method for quantitative determination of six terpenes in *Centella asiatica* extracts and commercial products. *Pharmazie* 2003; 58(6):381-4. **4.** European Medicines Agency (EMA) 2010. **5.** *Centella asiatica* Monograph *Altern Med Rev* 2007; 12(1):69-72. **6.** Chong NJ, Aziz Z. A systematic review of the efficacy of *Centella asiatica* for improvement of the signs and symptoms of chronic venous insufficiency (Review). *Evid-Based Complement Altern Med* 2013; p.2013: article number 627182. **7.** Sarris J, McIntyre E, Camfield DA. Plant-based medicines for anxiety disorders, Part I: a review of preclinical studies. *CNS Drugs* 2013; 27(3):207-19. **8.** Sarris J, McIntyre E, Camfield DA. Plant-based medicines for anxiety disorders, Part II: a review of clinical studies with supporting preclinical evidence (Review). *CNS Drugs* 2013; 27(4):301-19. **9.** Brinkhaus B, Lindner M, Schuppan D i wsp. Chemical, pharmacological and clinical profile of the East Asian medical plant *Centella asiatica*. *Phytomed* 2000; 7(5):427-48. **10.** Król D. Wąkrota azjatycka (*Cetella asiatica* (L.) – właściwości lecznicze. *Post Fitoter* 2010; 2:101-5. **11.** Seevaratnam V, Banumathi P, Premalatha MR i wsp. Functional properties of *Centella asiatica* (L.): A review. *Int J Pharm Pharmaceut Sci* 2012; 4(Suppl. 5):8-14. **12.** Kimura Y, Sumiyoshi M, Samukawa K-I i wsp. Facilitating action of asiaticoside at low doses on burn wound repair and its mechanism. *Eur J Pharmacol* 2008; 584:415-23. **13.** Shukla A, Rasik AM, Jain GK i wsp. *In vitro* and *in vivo* wound healing activity of asiaticoside isolated from *Centella asiatica*. *J Ethnopharmacol* 1999; 65:1-11. **14.** Mackay D, Miller AL. Nutritional support for wound healing. *Altern Med Rev* 2003; 8:359-77. **15.** Maquart FX, Chastang F, Simeon A i wsp. Triterpenes from *Centella asiatica* stimulate extracellular matrix accumulation in rat experimental wounds. *Eur J Dermatol* 1999; 9(4):289-96. **16.** Maquart FX, Bellon G, Gillery P i wsp. Stimulation of collagen synthesis in fibroblast cultures by a triterpene extracted from *Centella asiatica*. *Connect Tissue Res* 1990; 24:107-20. **17.** Katarnowski M, Magic Z, Pejnovic N. Early inflammatory cytokine and acute phase protein response under the stress of thermal injury in rats. *Physiol Res* 1999; 48:473-82. **18.** Atavilla D, Saitta A, Cucinotta D i wsp. Inhibition of lipid peroxidation restores impaired vascular endothelial growth factor expression and stimulates wound healing and angiogenesis in the genetically diabetes mouse. *Diabetes* 2001; 50:667-74. **19.** Wyk B-E, Wink M: *Rośliny lecznicze świata*. MedPharm Polska, Wrocław 2008; 90. **20.** Lamer-Zarawska E, Kowal-Gierczak B, Niedworok J. *Fitoterapia i leki roślinne*. PZWL Warszawa 2000; 431-2. **21.** Hansel R, Keller K, Rimpler R i wsp. *Centella asiatica*. [W:] *Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis*. 5 Auflage, B.4, Springer Verl. Berlin, Heidelberg, New York 1992. **22.** Matsuda H, Morikawa T, Ueda H, Yoshikawa M. Medicinal foodstuffs. XXVII. Saponin constituents of Gotu Kola (2): structures of new ursane- and oleanane-type triterpene oligoglycosides, centellasaponins B, C and D from *Centella asiatica* cultivated in Sri Lanka. *Chem Pharm Bull* 2001; 49:1368-71. **23.** Randriamampionona D, Diallo B, Rakotoniriana F i wsp. Comparative analysis of active constituents in *Centella asiatica* samples from Madagascar: application for *ex situ* conservation and clonal propagation. *Fitoterapia* 2007; 78:482-9. **24.** Liang X, Huang YN, Chen SW i wsp. Antidepressant-like effect of asiaticoside in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 2008; 3:444-9. **25.** Liu M, Dai Y, Yao X i wsp. Anti-rheumatoid arthritic effect of madecassoside on type II collagen-induced arthritis in mice. *Int Immunopharmacol* 2008; 11:1561-6. **26.** Tassanawat P, Putalum W, Yusakul G i wsp. Production of polyclonal antibody against madecassoside and development of immunoassay methods for analysis of triterpene glycosides in *Centella asiatica*. *Phytochem Anal* 2013; 24:256-62. **27.** Hiller K. Isolierung von Quercetin 3-O-(6-O- α -L-arabinopyranosyl)- β -D-galaktopyranosid aus *Hydrocotyle vulgaris* L. *Pharmazie* 1979; 34:192-3. **28.** *Centella asiatica* Monograph. *Altern Med Rev* 2007; 12(1):69-72. **29.** Yoshida M, Fuchigami M, Nagao T i wsp. Antiproliferative constituents from *Umbelliferae* plants. VII. Active triterpenes and rosmarinic acid from *Centella asiatica*. *Biol Pharm Bull* 2005; 28(1):173-5. **30.** *Farmakopea Polska IX T1*. 2011; 359-61. **31.** Physicians Desk Reference for Herbal Drugs. Medical Economics Company Montvale, New Jersey 2000; 359-61. **32.** ESCOP Monographs (European Scientific Cooperative on Phytotherapy) Second Ed. Supplement 2009; 36-44. **33.** *Centella – Centellae asiaticae herba*. European Pharmacopoeia, Council of Europe. **34.** Suguna L, Sivakumar P, Chandrakasan G. Effect of *Centella asiatica* extract on dermal wound healing in rats. *Indian J Exp Biol* 1996; 34:1208-11. **35.** Shetty BS i wsp. Effect of *Centella asiatica* L. (*Umbelliferae*) on normal and dexamethasone-suppressed wound healing in rats. *Int J Low Extrem Wounds* 2006; 5:137-43. **36.** Sunilkumar I, Parameshwaraiah S, Shivakumar HG. Evaluation of topical formulations of aqueous extract of *Centella asiatica* on open wounds in rats. *Indian J Exp Biol* 1998; 36(6):569-72. **37.** Shetty BS, Pemmineti S. Evaluation of *Centella asiatica* leaf extract for wound healing in streptozotocin induced diabetic rats. *Res J Pharm, Biol Chem Sci* 2013; 4:1082-90. **38.** Sairam K, Rao CV, Goel RK. Effect of *Centella asiatica* L. on physical and chemical factors induced gastric ulceration and secretion in rats. *Indian J Exp Biol* 2001; 39:137-42. **39.** Cheng CL, Koo MW. Effects of *Centella asiatica* on ethanol induced gastric mucosal lesions in rats. *Life Sci* 2000; 67:2647-53. **40.** Incandela I, Cesarone MR, Cacchio M i wsp. Effects of the total triterpenic fraction of *Centella asiatica* in chronic venous insufficiency and in high-perfusion microangiopathy. *Angiology* 2001; 52(Suppl. 2):9-13. **41.** Incandela L, Belcaro G, Cesarone MR i wsp. Treatment of diabetic microangiopathy and edema with total triterpenic fraction of *Centella asiatica*: a prospective, placebo-controlled randomized study. *Angiology* 2001; 52(Suppl. 2):27-31. **42.** De Sanctis MT, Belcaro G, Incandela L i wsp. Treatment of edema and increased capillary filtration in venous hypertension with total triterpenic fraction of *Centella asiatica*: a clinical prospective randomized trial with a microcirculatory model. *Angiology* 2001; 52(Suppl. 2):55-9. **43.** Cesarone MR, Belcaro G, Rulo A i wsp. Microcirculatory effects of total triterpenic fraction of *Centella asiatica* in chronic venous hypertension: measurement by laser Doppler, TePO2-CO2, and leg volumetry. *Angiology* 2001; 52(Suppl. 2):45-8. **44.** Cesarone MR, Belcaro G, De Sanctis MT i wsp. Effects of the total triterpenic fraction of *Centella asiatica* in venous hypertensive microangiopathy: a prospective, placebo-controlled, randomized trial. *Angiology* 2001; 52(Suppl. 2):15-8. **45.** Cesarone MR, Incandela I, De Sanctis MT i wsp. Evaluation of treatment of diabetic microangiopathy with total triterpenic fraction of *Centella asiatica*: a clinical prospective randomized trial with microcirculatory model. *Angiology* 2001; 52(Suppl. 2):49-54. **46.** Bylka W, Znajdek-Awiżeń P, Studzińska-Sroka E i wsp. *Centella asiatica* in cosmetology. *Post Dermatol Alergol* 2013; 30(1):46-9. **47.** Arpaia MR, Ferrone R, Amitrano P. Effect of *Centella asiatica* extract on mucopolisaccharide metabolism in subjects with varicose veins. *Int J Clin Pharmacol Res* 1990; 10:229-33. **48.** Garcia Hernandez JA, Madera Gonzalez D, Padilla Castillo M. Use of specific anti-stretch mark cream for preventing or reducing the severity of *striae gravidarum*. Randomized, double-blind controlled trial. *Intern J Cosm Sci* 2013; 35:233-7. **49.** Christopher D, Hashim CP, Ali JM i wsp. Gene expression changes in the human fibroblast induced by *Centella asiatica* triterpenoids. *Planta Med* 2003; 69:725-32. **50.** Sakina MR, Dandiya PC. A psychoneuropharmacological profile of *Centella asiatica* extract. *Fitoterapia* 1990; 61:291-6. **51.** Subathra M, Shila S, Devi MA i wsp.

- Emerging role of *Centella asiatica* in improving age-related neurological antioxidant status. *Exp Gerontol* 2005; 40(8-9):707-15.
- 52.** Ramanathan M, Sivakumar S, Anandvijayakumar PR i wsp. Neuroprotective evaluation of standardized extract of *Centella asiatica* in monosodium glutamate treated rats. *Indian J Exp Biol* 2007; 45(5):425-31.
- 53.** Lee MK, Kim SR, Sung SH i wsp. Asiatic acid derivatives protect cultured cortical neurons from glutamate-induced excitotoxicity. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 2000; 108 (1-2):75-86.
- 54.** Nalini K, Aroor AR, Karanth KS i wsp. Effect on *Centella asiatica* fresh leaf aqueous extract on learning and memory and biogenic amine turnover in albino rats. *Fitoterapia* 1992; 3:232-7.
- 55.** Veerendra Kumar MH, Gupta YK. Effect of *Centella asiatica* on cognition and oxidative stress in an intracerebroventricular streptozotocin model of Alzheimer's disease in rats: *Clin Exper Pharmacol Physiol* 2003; 30(5-6):336-42.
- 56.** Veerendra Kumar MH, Gupta YK. Effect of different extracts of *Centella asiatica* on cognition and markers of oxidative stress in rats. *J Ethnopharmacol* 2002; 79(2):253-60.
- 57.** Mook-Jung I, Shin JE, Yun S i wsp. Protective effects of asiaticoside derivatives against beta-amyloid neurotoxicity. *J Neurosci Res* 1999; 58(3):417-25.
- 58.** Rao SB, Chetana M, Uma Devi P. *Centella asiatica* treatment during postnatal period enhances learning and memory in mice. *Physiol Behav* 2005; 86(4):449-57.
- 59.** Mohandas Rao KG, Muddanna Ra, Gurumadhava Rao S. *Centella asiatica* (L.) leaf extract treatment during the growth spur period enhances hippocampal CA3 neuronal dendritic arborization in rats. *Evid-Based Complement Alternat Med* 2006; 3:349-57.
- 60.** Soumyanath A, Zhong YP, Gold SA i wsp. *Centella asiatica* accelerates nerve regeneration upon oral administration and contains multiple active fractions increasing neurite elongation *in vitro*. *J Pharm Pharmacol* 2005; 57:1221-9.
- 61.** Chen Y, Han T, Rui Y i wsp. Effect of total triterpenes from *Centella asiatica* on the depression behaviour and concentration of amino acids in forced swimming mice. *Zhong Yao Cai* 2003; 26(12):870-3 (cyt. za 2).
- 62.** Wijeweera P, Armason JT, Koszycki D i wsp. Evaluation of anxiolytic properties of Gotu Kola – (*Centella asiatica*) extracts and asiaticoside in rat behavioral models. *Phytomed* 2006; 13(9-10):668-76.
- 63.** Orhan IE, Atasu E, Senol FS i wsp. Comparative studies on Turkish and Indian *Centella asiatica* (L.) Urban (Gotu kola) samples for their enzyme inhibitory and antioxidant effects and phytochemical characterization. *Ind Crops Prod* 2013; 47:316-22.
- 64.** Kędzia B, Bobkiewicz-Kozłowska T, Furmanowa M i wsp. Badania nad właściwościami biologicznymi wyciągów z ziela *Centella asiatica* (L.) Urban. *Herba Pol* 2007; 53:34-44.

otrzymano/received: 10. 09.2013
zaakceptowano/accepted: 01.10.2013

Adres/address:
*mgr farm. Katarzyna Karłowicz-Bodalska
Zakład Farmacji Przemysłowej
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
ul. Borowska 211, 50-556 Wrocław
tel.: +48 (71) 784-05-77, fax: +48 (71) 784-05-76
e-mail: katarzyna.karlowicz-bodalska@umed.wroc.pl