

Kinga Miętkiewska, Dominika Łażewska, Izabela Czapska-Pietrzak,
*Elżbieta Studzińska-Sroka

Przywrotnik pospolity (*Alchemilla vulgaris* L.) – związki czynne, aktywność biologiczna oraz zastosowanie lecznicze

Lady's mantle (*Alchemilla vulgaris* L.) – active compounds,
biological activity and therapeutic use

Katedra i Zakład Farmakognozji, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
Kierownik Katedry i Zakładu: prof. dr hab. n. farm. Wiesława Byłka

SUMMARY

Lady's mantle (*Alchemilla vulgaris* L.), belonging to Rosaceae family, is a perennial occurring in the Northern Hemisphere. The raw material used in medicine is herb containing: tannins, flavonoids and carbohydrates. In folk medicine it was used to soothe menopausal complaints, dysmenorrhea, to treat flatulence, diarrhea, mouth and throat inflammation and for eczema and skin rashes. Many researches proved number of biological properties of *A. vulgaris* that can be used in medicine. The results of experiments on: antimicrobial, anti-inflammatory, antioxidant, antiproliferative effects, as well as on elastase activity and wound healing process were also presented. The antidiabetic and anxiolytic properties and the vasorelaxant effect of Lady's mantle, that can be used in hypertension treatment, was also described. The results of a clinical trial showed the possibility of *A. vulgaris* extract using in menstrual disorders, aphthous stomatitis and as component anti-wrinkle creams. The article contains information on the safety of products from Lady's mantle.

Keywords: lady's mantle, chemical composition, *in vitro* and *in vivo* studies, therapeutic use, medicinal effect

STRESZCZENIE

Przywrotnik pospolity (*Alchemilla vulgaris* L.), należący do rodziny różowatych, to bylina występująca na półkuli północnej. Surowcem stosowanym w lecznictwie jest ziele, zawierające związki takie jak: garbniki, flawonoidy i węglowodany. W medycynie ludowej *A. vulgaris* był wykorzystywany w uśmierzaniu dolegliwości menopauzalnych i menstruacyjnych, w terapii wzdęć, biegunek, stanów zapalnych jamy ustnej i gardła, a także w leczeniu egzem i wysypek skórnych. Liczne badania wykazały, że aktywność biologiczna przywrotnika pospolitego jest wielokierunkowa. W pracy zaprezentowano wyniki eksperymentów nad działaniem przeciwdrobnoustrojowym, przeciwzapalnym, przeciwutleniającym i antyproliferacyjnym, a także wpływem na aktywność elastazy i na proces gojenia ran. Opisano badania dotyczące działania przeciwcukrzycowego i przeciwlękowego oraz właściwości obniżania napięcia naczyń. Zamieszczono też wyniki badań klinicznych wskazujące na możliwość zastosowania ekstraktu z *A. vulgaris* w zaburzeniach miesiączkowania i owrzodzeniu aftowym jamy ustnej oraz w kremach przeciwzmarszczkowych. Artykuł zawiera także informacje o bezpieczeństwie stosowania *A. vulgaris*.

Słowa kluczowe: przywrotnik pospolity, skład chemiczny, badania *in vitro* i *in vivo*, zastosowanie terapeutyczne, efekty lecznicze

Wstęp

Przywrotnik pospolity (*Alchemilla vulgaris* L., syn. *Alchemilla xanthochlora* Rothm., *Alchemilla silvestris* Schm.) jest byliną należącą do rodziny różowatych (*Rosaceae*). Występuje na obszarze od Ameryki Północnej, przez Grenlandię i Europę aż do Azji. Roślina ta jest często stosowana w arabskiej medycynie, gdzie wykorzystywana była w leczeniu otyłości oraz bólów i zapaleń żołądkowo-jelitowych. W medycynie ludowej znana jako ziele Matki Boskiej, stosowana jest wewnętrznie w łagodzeniu dolegliwości menopauzalnych i menstruacyjnych, zaburzeń żołądkowo-jelitowych, a zewnętrznie do płukania w stanach zapalnych jamy ustnej, gardła oraz w leczeniu wrzodów, egzem i wysypek skórnych (1, 2).

Morfologia

Przywrotnik pospolity jest gatunkiem zbiorowym. Jego łodyga osiąga wysokość do 30 cm, jest żywozielona, niekiedy żółtawo- lub sinawonabiegła, w dolnej części naga, w górnej owłosiona. Liście są okrągławo-nerkowate, podzielone na 8-9 kłap o kształcie półokrągłym lub półeliptycznym, ułożone w rozetę. Błazka liściowa o brzegu ostro ząbkowanym jest owłosiona. Kwiaty, zielone lub żółtozielone, mają 4-działkowy kielich z kieliszkiem i pozbawione są korony kwiatowej. Owocem jest stożkowaty orzeszek (3).

Chemizm

Stosowane w celach leczniczych kwitnące ziele zawiera garbniki (5-8%, największa ich ilość występuje w trakcie kwitnienia) zbudowane w większości z kwasu elagowego, jak również z kwasu galusowego. Do elagotanoidów zawartych w *A. vulgaris* należą: agrimonina (3,5-3,8%), pedunkulagina (1,2%) i lewigatyna (0,9%) (2, 4). Dostępne są również badania oceniające zawartość tanin w różnych częściach surowca: w liściach 15%, w kwiatach 12%, w ziele 12-13% (2, 5). Ponadto w roślinie tej występują flawonoidy, głównie flawonole: w liściach (2,2-2,5%) i w kwiatach (1,0-1,9%). Są to zwłaszcza pochodne kwercetyny: 3-glukuronid kwercetyny, 3-glukozyd kwercetyny, 3-rutynozyd kwercetyny (rutyna) i 3-arabinozyd kwercetyny (2, 6, 7, 8). W kwiatach stwierdzono też obecność leukocyjanidyn (1%) (2). Do grupy polifenolowych związków *A. vulgaris* należą kwasy fenolowe (kwas galusowy, chlorogenowy, elagowy) (9, 10). W przywrotniku występują również fitosterole i glikowodany (2).

Aktywność biologiczna

Właściwości przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze

Działanie przeciwdrobnoustrojowe etanolowego ekstraktu z liści *A. vulgaris* (otrzymanego przez czterodniowe wytrząsanie suchego surowca w temperaturze pokojowej) zostało zbadane dla wzorcowych 10 szczepów bakterii i jednego szczepu grzyba drożdżoidalnego (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Kocuria rhizophila*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium*, *Proteus vulgaris*, *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes* oraz *Candida albicans*). Badanie wykonano metodą studzienkową, stosując ekstrakt w stężeniu 4 mg/studzienkę oraz kwas nalidyksowy (30 µg), chloramfenikol (30 µg), ampicylinę (10 µg), nowobiocynę (30 µg) i nystatynę (10 µg) jako kontrole pozytywne. Otrzymane wyniki, w postaci stref zahamowania wzrostu (mm), wykazały słabą przeciwbakteryjną aktywność ekstraktu z liści przywrotnika. Najsilniejsze działanie zaobserwowano wobec *S. aureus* (12 mm; antybiotyki: 15-20 mm), *K. rhizophila* (14 mm; antybiotyki: 10-30 mm), *P. vulgaris* (10 mm; antybiotyki: 10-26 mm), *E. faecalis* (12 mm; antybiotyki: 16-28 mm). Badany ekstrakt wykazywał też działanie przeciwgrzybicze (10 mm, podczas gdy dla nystatyny strefa ta wynosiła 22 mm). Pozostałe drobnoustroje były niewrażliwe na działanie badanego ekstraktu w zastosowanym stężeniu (11).

Właściwości przeciwwirusowe

Aktywność przeciwwirusowa ekstraktów octanoetylowych z korzeni przywrotnika i etanolowego z nadziemnych części rośliny była testowana *in vitro* na hodowlach komórkowych linii Vero (komórki nerki małpy). Ekstrakty dodawano na 1 godzinę przed zakażeniem komórek wirusem krowianki lub ektromelii (ortopoksywirusy). Wyniki, wyrażone jako wskaźnik neutralizacji (NI), odczytywano po 6 dniach trwania eksperymentu. Testowane ekstrakty hamowały namnażanie wirusów w hodowlach komórek Vero. Najsilniejsze działanie odnotowano dla ekstraktu octanoetylowego z korzeni przywrotnika (w stężeniu 280 µg/ml wskaźnik NI wynosił odpowiednio 4,0 i 3,5 lg dla wirusa krowianki i ektromelii). Ekstrakt z części nadziemnych działał słabiej, przy czym aktywność obu badanych ekstraktów była zależna od zastosowanego stężenia. Substancja wzorcowa, którą był NIOC-14, związek syntetyczny o działaniu przeciwwirusowym, wykazywała silniejsze działanie od testowanych ekstraktów (w stężeniu 2 µg/ml – wirus krowianki i 0,025 µg/ml – wirus ektromelii, wskaźnik NI wynosił odpowiednio 2,14

i 2,83 lg). Dla ekstraktu z korzeni przywrotnika wykazano również wysoką zawartość katechin i leukocyjanidyn (70%). Ekstrakt alkoholowy z części nadziemnych zawierał głównie flawonoidy (71%). Dodatkowe testy potwierdziły, że badane ekstrakty charakteryzowały się niską toksycznością wobec użytej linii komórkowej (ekstrakty octanoetylowe z korzeni przywrotnika były około 10-krotnie mniej toksyczne wobec badanych komórek niż ekstrakty z części nadziemnych rośliny) (12).

Właściwości przeciwzapalne i przeciwutleniające

Przeciwzapalne działanie frakcji wodnej handlowego wodno-alkoholowego ekstraktu z *A. vulgaris* (Pharma & Plantas Laboratories) wykazano w badaniu *in vitro* oceniającym zdolność hamowania 15-lipooksygenazy. Ponieważ metabolity kwasu arachidonowego są ważnymi mediatorami stanu zapalnego, to hamowanie ich syntezy, m.in. przez szlak lipooksygenazy, może przynajmniej częściowo warunkować działanie przeciwzapalne. Wyniki badań dowiodły, że *A. vulgaris* w zastosowanym do badań modelu wykazywał silną aktywność przeciwzapalną. Otrzymane wyniki wskazywały, że ekstrakt z *A. vulgaris* ($IC_{50} = 0,52$ mg/ml) działał porównywalnie z ekstraktami z *Filipendula ulmaria* ($IC_{50} = 0,46$ mg/ml) i *Rosmarinus officinalis* ($IC_{50} = 0,65$ mg/ml). Pozostałe 13 ekstraktów z innych roślin miało słabszą aktywność ($IC_{50} = 1,16-3,34$ mg/ml) (13).

Ten sam ekstrakt przebadano pod kątem jego przeciwutleniających właściwości, które oceniono metodami ze stabilnym rodnikiem DPPH, z rodnikiem nadtlenkowym i rodnikiem hydroksylowym. W teście z DPPH ekstrakt z *A. vulgaris* działał lepiej od kilkunastu innych testowanych ekstraktów roślinnych ($IC_{50} = 0,09$ mg/ml, drugi pod względem siły działania w badanej grupie ekstraktów) i tylko kilkakrotnie słabiej od zastosowanych substancji wzorcowych: witaminy E ($IC_{50} = 0,025$ mg/ml) i kwercetyny ($IC_{50} = 0,012$ mg/ml). Również wynik eksperymentu oceniającego zdolność wychwytu rodników nadtlenkowych uszeregował ekstrakt z *A. vulgaris* w grupie ekstraktów o wysokiej aktywności przeciwutleniającej (*A. vulgaris*: $IC_{50} = 0,95$ mg/ml, kwercetyna: $IC_{50} = 0,15$ mg/ml). Test badający zdolność wychwytu rodników hydroksylowych, najbardziej toksycznych dla komórek organizmu, wykazał, że ekstrakt z przywrotnika ma dużą zdolność zmiatania rodników hydroksylowych, tylko pięciokrotnie słabszą od kwercetyny ($IC_{50} = 0,18$ mg/ml dla przywrotnika oraz $IC_{50} = 0,034$ mg/ml dla wzorcowej kwercetyny) (13).

W innym eksperymencie badano zdolność wodno-alkoholowych ekstraktów z *A. vulgaris* (kwiatostan

i liście) do ochrony bakterii *Escherichia coli* przed bakteriostatycznym i bakteriobójczym działaniem H_2O_2 i menadionu (menadion w pożywce tlenowej wytwarza anion ponadtlenkowy O_2^- , co wywołuje stan stresu oksydacyjnego). Otrzymane rezultaty pozwoliły stwierdzić, że badane ekstrakty wykazywały znaczący efekt ochronny wobec szczepów bakterii poddanych działaniu H_2O_2 . Obliczony współczynnik, opisujący wpływ ekstraktów na wzrost *E. coli* (swoista szybkość wzrostu *E. coli* w pożywce zawierającej ekstrakty i H_2O_2 w porównaniu do swoistej szybkości wzrostu w pożywce zawierającej tylko H_2O_2), świadczył o silnym działaniu ekstraktów z *A. vulgaris*, zarówno z liści, jak i kwiatostanów. Natomiast w eksperymencie z menadionem wykorzystanie ekstraktu z liści *A. vulgaris* obniżało bakteriostatyczne działanie tej substancji niemal dwukrotnie. W tym samym badaniu przeprowadzono testy *in vitro*, stosując wolny rodnik DPPH oraz test oceniający właściwości chelatujące ekstraktu z liści przywrotnika. Okazało się, że wykazywał on wysoką (71,8%) zdolność zmiatania wolnego rodnika oraz chelatowania jonów żelaza (II) (84,6%). Badany był również bezpośredni ochronny wpływ ekstraktu wobec bakteryjnego, plazmidowego DNA, narażonego na uszkodzenia pod wpływem rodników hydroksylowych. Zastosowanie ekstraktu z liści przywrotnika skutkowało średnią aktywnością ochronną (37,2%) (14).

Aktywność przeciwutleniająca została również zbadana metodą z użyciem kationorodnika ABTS^{•+}. Okazało się, że wśród ponad 20 wybranych do badań roślin napar z nadziemnych części *A. vulgaris* charakteryzowała najwyższa aktywność przeciwutleniająca ($4,79 \pm 0,14$ mmol TEAC), stąd został uznany jako dobre źródło przeciwutleniaczy. Oznaczona całkowita zawartość polifenoli była jedną z najwyższych wśród badanych prób i wynosiła $946,59 \pm 2,26$ μ mol QE (15).

Właściwości przeciwcukrzycowe

Przeciwcukrzycowe właściwości przywrotnika zostały ocenione w eksperymencie prowadzonym na myszach. Myszy (5-7 osobników) karmiono przez 12 dni paszą zawierającą zhomogenizowany materiał roślinny, stanowiący 6,25% diety, następnie wywoływano u nich cukrzycę przez dootrzewnowe podanie 200 mg/kg m.c. streptozotocyny w buforze cytrynianowym 0,5 mol/l, pH = 4,5. Przez cały okres eksperymentu (40 dni) myszy codziennie ważono, mierzono ilość spożytej paszy i płynów. Poziom glukozy i insuliny w osoczu oznaczano na początku badania oraz po 3, 10, 17, 24, 30 i 40 dniach doświadczenia. Otrzymane wyniki pokazały, że wprowadzenie do

diety przywrotnika nie miało wpływu na hiperfagię, polidypsję, hiperglikemię, hipoinsulinemię oraz na utratę masy ciała myszy (16).

Właściwości ułatwiające gojenie ran

Badania Shrivastavy i wsp. (17) z użyciem wątrobowych komórek nabłonkowych typu Chang oraz komórek nabłonkowych MDBK i hodowli miofibroblastów z aort szczurzych wykazały, że pod wpływem ekstraktu wodno-glicerynowego z nadziemnych części rośliny (wyprodukowanego przez Laboratoires Biosphere-99, który zawierał garbniki 2,67%, w tym 3,8% kwasu elagowego) oraz flawonoidy (kwercetyna 0,67% i luteolina 0,0069%) zaobserwowano nasilenie proliferacji komórek, co uważa się za bardzo istotne w procesie zasklepienia ran (18). Po 72 godzinach trwania doświadczenia, w zależności od stężenia ekstraktu (0,1-1%), wykazano nasilony wzrost liczby komórek, który przy stężeniu 1% ekstraktu osiągał $21,3 \pm 2,1\%$, $15,5 \pm 2,2\%$ oraz $10,6 \pm 0,6\%$ poprawy, odpowiednio dla komórek MDBK, miofibroblastów i komórek Chang w porównaniu do prób kontrolnych. Ponadto podczas badania nie odnotowano istotnych zmian w morfologii komórek oraz oznak cytotoksyczności badanych ekstraktów (17).

Korzystny wpływ tego samego ekstraktu z *A. vulgaris* na proces gojenia ran potwierdzono również w eksperymencie na szczurach (17). Przez 7 kolejnych dni trzem grupom szczurów nanoszono na świeżo powstałe rany powierzchniowe o średnicy około 8 mm odpowiednio: grupie 1 – 3% roztwór glicerynowy ekstraktu z *A. vulgaris*, grupie 2 – glicerynę, grupie 3 – jałową wodę destylowaną. W grupie 1 odnotowano istotnie szybsze gojenie się ran już w drugim dniu badania (średnica ran leczonych preparatem zawierającym ekstrakt z *A. vulgaris* zmniejszyła się o około 10%) w porównaniu do grup 2 i 3. Natomiast średnice ran w grupach 2 i 3 nie uległy istotnym statystycznie zmianom w stosunku do dnia pierwszego. Trzeciego dnia rany w grupie 1 uległy zmniejszeniu o kolejne 23% w stosunku do również przyspieszonego gojenia ran w grupie 2. Może to wskazywać na addytywność działania *A. vulgaris* i gliceryny w procesie zasklepienia powierzchniowych uszkodzeń skóry. Ponadto godny uwagi jest fakt, iż już szóstego dnia zaobserwowano całkowite zasklepienie ran leczonych preparatem zawierającym 3% ekstraktu z *A. vulgaris* w glicerynie, podczas gdy w grupach 2 i 3 uzyskano ten efekt dopiero w siódmym dniu doświadczenia. Autorzy sugerują, że pozytywny wpływ ekstraktu w glicerynie na proces gojenia się ran ma związek z działaniem promitotycznym. Chociaż mechanizm aktywności promitotycznej *A. vulgaris* nie jest znany, można przypuszczać, że

ma on związek z hamowaniem proteazy – jednego z enzymów odpowiedzialnych za rozkład macierzy zewnątrzkomórkowej, dzięki czemu nowo powstająca w procesie gojenia macierz może gromadzić się bardziej intensywnie (6, 19).

Na podstawie uzyskanych wyników autorzy sugerują, że za ułatwienie procesu gojenia ran prawdopodobnie odpowiadają występujące w *A. vulgaris* kwas elagowy oraz inne związki z grupy polifenoli. Związki te zapobiegają wspomnianej enzymatycznej degradacji macierzy zewnątrzkomórkowej i peroksydacji lipidów w skórze (20, 21). Stwierdzono również, że istotne w leczeniu ran przeciwutleniające właściwości *A. vulgaris* mogą wynikać z obecności w ekstrakcie kwercetyny, która ponadto wykazuje działanie przeciwzapalne (22), podobnie jak występująca w *A. vulgaris* w śladowych ilościach luteolina (23).

Właściwości przeciwmarszczkowe

Według dostępnych publikacji naukowych związki katechinowe wykazują zdolność do hamowania elastazy (5, 24). Ze względu na wysoką zawartość tanin, przywrotnik pospolity stał się przedmiotem badań mających potwierdzić wpływ surowca na aktywność enzymu. W badaniu *in vitro* wykorzystano świńską elastazę trzustkową (PPE) oraz ludzką elastazę leukocytarną (HLE). Stwierdzono, że ekstrakt z *A. vulgaris* wykazywał niekompetycyjne hamowanie obu enzymów, a siła jego działania zwiększała się wraz ze stężeniem tanin (stopień hamowania PPE wynosił 83% przy zawartości 0,027 mg garbników/ml).

Następnie przeprowadzono badania *in vivo*. Ich celem była obserwacja wpływu kosmetyku zawierającego kompleks roślinny, w którego składzie znalazł się przywrotnik pospolity, na elastyczność skóry. W eksperymencie brało udział 6 kobiet pomiędzy 45. a 55. rokiem życia, a badany preparat nakładany był dwa razy dziennie na skórę wokół oczu przez 45 dni trwania badania. Ocenę głębokości zmarszczek przeprowadzono na początku badania, przed rozpoczęciem stosowania preparatu, jak i w chwili zakończenia badania, a działanie preparatu kosmetycznego było porównywane z próbką kontrolną, czyli z produktem pozbawionym roślinnych związków biologicznie aktywnych. Wyniki badań wskazują, że zawartość kompleksu roślinnego spowodowała wzrost elastyczności skóry oraz zmniejszenie głębokości zmarszczek o 36,7% (25).

Wpływ na naczynia i właściwości hipotensyjne

Prowadzone przez Takir i wsp. (27) badania oceniały właściwości obniżania napięcia naczyń krwionośnych pod wpływem ekstraktów z ziela przywrotnika:

metanolowego (18-godzinna ekstrakcja w aparacie Soxhleta) oraz wodnego (24-godzinna maceracja w temperaturze pokojowej). Ekstrakty badano w warunkach *in vitro* na izolowanych szczurzych tętnicach kregkowych. Bezpośredni wpływ ekstraktów z *A. vulgaris* na zdolność rozszerzania naczyń krwionośnych badano na drodze stosowania ich na tętnice kregkowe, poddane uprzednio działaniu prostaglandyny $\text{PGF}_{2\alpha}$, która spowodowała ich skurcz. Oba testowane ekstrakty wykazywały zależną od stężenia zdolność rozkurczania tętnicy kregkowej. Przeciwnie efekty działania ekstraktów obserwowano po uprzednim traktowaniu izolowanych naczyń chlorkiem potasu.

Zdolność ekstraktów z *A. vulgaris* do rozkurczania naczyń krwionośnych została również określona w innych badaniach. Okazało się, że ekstrakt metanolowy powodował rozkurcz badanych naczyń, natomiast ekstrakt wodny – zwiększenie skurczu, gdy izolowane szczurze tętnice kregkowe poddano uprzednio działaniu jonów sodu i potasu. Gdy jednak działaniu ekstraktów (metanolowego i wodnego) poddano naczynia w obecności inhibitorów endotelialnych lub po usunięciu endotelium, rozkurczowa aktywność ekstraktu metanolowego z *A. vulgaris* została całkowicie zniesiona. Wydaje się więc, że obniżanie napięcia naczyń krwionośnych pod wpływem ekstraktu metanolowego z *A. vulgaris* jest zależne od śródbłonna, a także od śródbłonkowych czynników naczyniowych, takich jak: NO i $\text{PGF}_{2\alpha}$ (27).

Oceniano również wpływ ekstraktu metanolowego i wodnego z *A. vulgaris*, które podawano dożołądkowo szczurom, na skurczowe ciśnienie krwi. Zwierzęta podzielono na 4 grupy. Grupa 1 stanowiła kontrolę. Grupom 2, 3 i 4 podawano inhibitor enzymu syntazy NO (L-NAME w dawce 60 mg/kg/dzień). Badane ekstrakty, w dawce 300 mg/kg/dzień, podawano szczurom zarówno z grupy 3 (ekstrakt metanolowy), jak i 4 (ekstrakt wodny). Ciśnienie tętnicze krwi u zwierząt mierzono za pomocą mankietu zainstalowanego na ogonie. Stwierdzono, że ekstrakt metanolowy z *A. vulgaris* stosowany przez okres 2 tygodni spowodował statystycznie istotne obniżenie ciśnienia tętniczego krwi. Natomiast ekstrakt wodny podawany w ten sam sposób okazał się nieskuteczny (26). Wyniki opisanych powyżej badań sugerują korzystny wpływ ekstraktu metanolowego z *A. vulgaris* w chorobach sercowo-naczyniowych, w szczególności w nadciśnieniu.

Właściwości przeciwłękowe

Sufka i wsp. (28) w badaniu na kurczętach testował właściwości przeciwłękowe wodno-alkoholowego ekstraktu z *A. vulgaris*. Badanie prowadzono na

18-dniowych pisklętach, którym podawano ekstrakt dootrzewnowo. Następnie kurczęta poddano trwającej 3 min obserwacji w towarzystwie dwóch innych kurcząt lub w warunkach odizolowania. Aby ocenić wpływ podanej substancji określono: opóźnienie przyjęcia brzusznej pozycji leżącej (aby oszacować stopień uspokojenia), liczbę wydawanych dźwięków (aby określić odczuwane odosobnienie) oraz stopień odczuwania bólu (obserwacje dotyczyły czasu trwania podniesionej kończyny w odpowiedzi na wstrzyknięcie 50 μl 0,10% roztworu formaliny do podeszwowej powierzchni stopy). Rezultaty przeprowadzonych badań skriningowych wykazały, że ekstrakt z *A. vulgaris* w testowanych dawkach (28 mg/kg) nie miał właściwości uspokajających, nie wpływał na odczuwanie odosobnienia, jak również nie obniżał reakcji na ból badanych kurcząt. Otrzymane wyniki sugerowały, że badany wodno-alkoholowy ekstrakt z *A. vulgaris* w wybranym modelu badawczym nie wykazywał aktywności przeciwłękowej.

Właściwości przeciwnowotworowe

Zbadano wpływ ekstraktów z ziela przywrotnika na proliferację komórek nowotworowych czerniaka mysiego B16. Rezultaty testu odczytywano po dwóch dniach inkubacji. Działanie antyproliferacyjne zostało wykazane tylko w przypadku zastosowania wyższych stężeń ekstraktu (> 0,05 mg/ml). W niskich stężeniach (< 0,025 mg/ml) takiego wpływu na komórki melanomy B16 nie odnotowano (13).

Działanie lecznicze

Prowadzono badania kliniczne z udziałem 341 dziewcząt w wieku 11-17 lat cierpiących na zaburzenia miesiączkowania. Wybranych do badań pacjentkom podawano 50-60 kropli płynnego ekstraktu z *A. vulgaris*, zawierającego 5,8% garbników i 2,2% glikozydów flawonoidowych, 3-5 razy dziennie. Zaobserwowano, że w wyniku zastosowanej terapii krwawienia miesiączkowe trwały nie dłużej niż 3-5 dni. Ekstrakt wykazywał również działanie polegające na zmniejszeniu intensywności krwawienia miesiączkowego, gdy był podawany profilaktycznie 10-15 dni przed menstruacją. Podczas badań nie zaobserwowano występowania działań niepożądanych, a stosowany ekstrakt uznano za bezpieczny (2).

Celem innych prac było sprawdzenie skuteczności 3% glicerynowego preparatu zawierającego ekstrakt z *A. vulgaris* (Aphtarine) w przypadku występowania owrzodzenia aftowego, czyli jednego z najczęstszych nawracających typów owrzodzeń w obrębie błony śluzowej jamy ustnej. Badanie otwarte prowadzono z udziałem 48 pacjentów w wieku od 4 do 44 lat,

z wyłączeniem pacjentów z owrzodzeniami opryszczkowymi. Założeniem eksperymentu było określenie właściwości gojących i tolerancji na zalecany pacjentom preparat. Preparat stosowano 3 razy dziennie. Otrzymane wyniki pozwoliły na stwierdzenie, że łągodził on dyskomfort i powodował całkowite wyleczenie u większości pacjentów (60,4%) w ciągu 2 dni, a u 75% pacjentów w ciągu 3 dni, co było znacznie lepszym wynikiem w porównaniu z liczbą pacjentów nieleczonych (10,4 i 33,3%) oraz leczonych konwencjonalnie (15 i 40%). Stosowany preparat był dobrze tolerowany przez pacjentów, co sugeruje, że badany środek zawierający ekstrakt z *A. vulgaris* jest bezpieczny i wykazuje dużą skuteczność w leczeniu aftowych owrzodzeń jamy ustnej (29).

Dawkowanie i sposób podania

Ziele przywrotnika pospolitego wykorzystywane jest głównie do przygotowania naparów i odwarów. Zwykle do przyrządzenia pojedynczej porcji naparu wykorzystuje się od 2 do 4 g suszonego ziele, które zalewa się 150 ml gorącej wody i pozostawia na 10 min. Zwyczajowa dzienna dawka ziele przywrotnika wynosi od 5 do 10 g. Zaleca się stosowanie 3 porcji naparu w ciągu dnia, pomiędzy posiłkami. Odwary przygotowywane do płukania jamy ustnej i gardła oraz do wewnątrz można wykorzystać do sporządzania kompresów na otarcia i lekkie oparzenia skóry (30).

Bezpieczeństwo stosowania

W celu określenia mutagenności przywrotnika pospolitego wykonano test Ames, stosując szczepy *Salmonella typhimurium* TA 98 i TA 100. Badaniom poddano handlową nalewkę *Alchemillae*

tinctura (surowiec ekstrahowano 70% etanolem w stosunku 1:5). Nalewka nie wykazywała mutagenności (31). Wykonano także inne badanie, stosując ekstrakt etanolowy sporządzony za pomocą 70% etanolu i ekstrakt wodny. Do wywołania efektu mutagennego u szczepów *S. typhimurium* TA 98 i TA 100 wykorzystano 2-nitrofluoren. Stwierdzono, że badane ekstrakty nie wykazywały aktywności bądź wykazywały tylko słabą aktywność antymutagenną. Zawartość garbników w badanych ekstraktach nie korelowała z właściwościami przeciwmutagennymi, jednak wolne od garbników frakcje nie hamowały działania mutagennego. Na tej podstawie wysnuto przypuszczenie, że frakcja garbników bierze udział w antymutagenności badanych ekstraktów (32).

W badaniach polegających na podawaniu nastoletnim pacjentkom płynnego ekstraktu z *A. vulgaris* w regularnych odstępach czasu przez okres 6 lat nie stwierdzono żadnych znaczących zmian w monitorowanych parametrach biochemicznych. Świadczy to o wysokim bezpieczeństwie stosowania ekstraktów z *A. vulgaris* (2).

Podsumowanie

Przywrotnik pospolity jest byliną o potwierdzonym, różnorodnym spektrum działania biologicznego. Udowodniono m.in. właściwości: przeciwwirusowe, przeciwutleniające, przeciwzapalne, ułatwiające gojenie oraz hamujące aktywność elastazy. Za aktywność biologiczną *A. vulgaris* odpowiedzialne są prawdopodobnie związki polifenolowe, w tym substancje o charakterze garbników i flawonoidów. Właściwości biologiczne przywrotnika stwarzają możliwości jego szerszego zastosowania w lecznictwie i kosmetyce.

Piśmiennictwo

1. PDR for Herbal Medicines. 3rd ed. Med Econom Comp, New Jersey 2004; 730-1.
2. Bradley P. British Herbal Compendium. Vol. 2. A Handbook of scientific information on widely used plant drugs. Bournemouth BHMA British Herbal Medicine Association 2006; 251-3.
3. Strzelecka H, Kowalski J. Encyklopedia zielarstwa i ziołolecznictwa. PWN, Warszawa 2000; 258-9.
4. Geiger C, Scholz E, Rimpler H. Ellagotannins from *Alchemilla xanthochlora* and *Potentilla erecta*. *Planta Med* 1994; 60(4):384-5.
5. Lamaison JL, Carnat A, Petitjean-Freytet C. Teneur en tannins et activité inhibitrice de l'élastase chez les *Rosaceae*. *Ann Pharm Franc* 1990; 48:335-40.
6. Lamaison JL, Carnat A, Petitjean-Freytet C i wsp. Quercetin-3-glucuronide, main flavonoid of *Alchemilla*, *Alchemilla xanthochlora* Rothm. (*Rosaceae*). *Ann Pharm Franc* 1991; 49:186-9.
7. D'Agostino M, Dini I, Ramundo E i wsp. Flavonoid glycosides of *Alchemilla vulgaris* L. *Phytother Res* 1998; 12:162-3.
8. Fraisse D, Carnat A, Carnat AP i wsp. Standardization of the aerial parts of *Alchemilla*. *Ann Pharm Franc* 1999; 57:401-5.
9. Duckstein SM, Lotter EM, Meyer U i wsp. Phenolic constituents from *Alchemilla vulgaris* L. and *Alchemilla mollis* (Busser) Rothm. at different dates of harvest. *Z Naturforsch C* 2013; 68(1-2):529-40.
10. Fecka I. Development of chromatographic methods for determination of agrimoniin and related polyphenols in pharmaceutical products. *J AOAC Int* 2009; 92(2):410-8.
11. Dilek K, Mustafa O. Antimicrobial activity of selected plant spices marketed in the West Anatolia. *Int J Agr Biol* 2010; 12(6):916-20.

12. Filipkova EI. Antiviral activity of Lady's Mantle (*Alchemilla vulgaris* L.) extracts against orthopoxviruses. *Bull Exp Biol Med* 2017; 163(3):374-7.
13. Trouillas P, Calliste C-A, Allais D-P i wsp. Antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative properties of sixteen water plant extracts used in the Limousin countryside as herbal teas. *Food Chem* 2003; 80:399-407.
14. Oktyabrsky O, Vysochina G, Muzyka N i wsp. Assessment of anti-oxidant activity of plant extracts using microbial test systems. *J Appl Microbiol* 2009; 106:1175-83.
15. Kiselova Y, Ivanova D, Chervenkov T i wsp. Correlation between the *in vitro* antioxidant activity and polyphenol content of aqueous extracts from Bulgarian herbs. *Phytother Res* 2006; 20:961-5.
16. Swanston-Flatt SK, Day C, Bailey CJ i wsp. Traditional plant treatments for diabetes. Studies in normal and streptozotocin diabetic mice. *Diabetol* 1990; 33:462-4.
17. Shrivastava R, Cucuat N, John GW. Effects of *Alchemilla vulgaris* and glycerine on epithelial and myofibroblast cell growth and cutaneous lesion healing in rats. *Phytother Res* 2007; 21:369-73.
18. Baum CL, Arpey CJ. Normal cutaneous wound healing: clinical correlation with cellular and molecular events. *Dermatol Surg* 2005; 31:674-86.
19. Jonadet M, Meunier MT, Villie F i wsp. Flavonoids extracted from *Ribes nigrum* L. and *Alchemilla vulgaris* L. 1. *In vitro* inhibitory activities on elastase, trypsin and chymotrypsin. 2. Angioprotective activities compared *in vivo*. *J Pharmacol* 1986; 17:21-7.
20. Jimenez F, Mitts TF, Liu K i wsp. Ellagic and tannic acids protect newly synthesized elastic fibers from premature enzymatic degradation in dermal fibroblast cultures. *J Invest Dermatol* 2006; 126:1272-80.
21. Murthy KN, Reddy VK, Veigas JM i wsp. Study on wound healing activity of *Punica granatum* peel. *J Med Food* 2004; 7:256-9.
22. Morikawa K, Nonaka M, Narahara M i wsp. Inhibitory effect of quercetin on carrageenan-induced inflammation in rats. *Life Sci* 2003; 74:709-21.
23. Gutierrez-Venegas G, Kawasaki-Cardenas P, Rita Arroyo-Cruz S i wsp. Luteolin inhibits lipopolysaccharide actions on human gingival fibroblasts. *Eur J Pharmacol* 2006; 541:95-105.
24. Jonadet M, Meunier MT, Villie F i wsp. Catechines et oligomeres flavanoliques de *Cupressus sempervirens* L. Activites inhibitrices vis-a-vis de l'elastase *in vitro* et activites angioprotectrices comparees *in vivo*. *Ann Pharm Franç* 1984; 42:161-7.
25. Benaiges A, Marcet P, Armengol R i wsp. Study of the refirming effect of a plant complex. *Inter J Cosm Sci* 1998; 20:223-33.
26. Takır S, Sezgi B, Süzgeç-Selçuk S i wsp. Endothelium-dependent vasorelaxant effect of *Alchemilla vulgaris* methanol extract: a comparison with the aqueous extract in rat aorta. *Nat Prod Res* 2014; 28:2182-5.
27. Takır S, Altun IH, Sezgi B i wsp. Vasorelaxant and blood pressure lowering effects of *Alchemilla vulgaris*: A comparative study of methanol and aqueous extracts. *Pharmacogn Mag* 2015; 11(41):163-9.
28. Sufka KJ, Roach JT, Chambliss WG i wsp. Anxiolytic properties of botanical extracts in the chick social separation-stress procedure. *Psychopharmacol (Berl)* 2001; 153(2):219-24.
29. Shrivastava R, John GW. Treatment of aphthous stomatitis with topical *Alchemilla vulgaris* in glycerine. *Clin Drug Invest* 2006; 26(10):567-73.
30. Wichtl M (red.). *Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals. A Handbook for practice on a scientific basis.* Medpharm Sci Publ, Stuttgart 2004; 94-6.
31. Schimmer O, Krüger A, Paulini H i wsp. An evaluation of 55 commercial plant extracts in the Ames mutagenicity test. *Pharmazie* 1994; 49(6):448-51.
32. Schimmer O, Lindenbaum M. Tannins with antimutagenic properties in the herb of *Alchemilla* species and *Potentilla anserina*. *Planta Med* 1995; 61(2):141-5.

Adres/address:

*dr n. farm. Elżbieta Studzińska-Sroka
Katedra i Zakład FarmakognozjiUniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
ul. Świecickiego 4, 60-781 Poznań

tel.: +48 (61) 854-67-09

faks: +48 (61) 854-67-01

e-mail: ela_studzinska@op.pl

Konflikt interesów**Conflict of interest**

Brak konfliktu interesów

None

otrzymano/received: 20.06.2018

zaakceptowano/accepted: 25.07.2018