

\*Justyna Chanaj-Kaczmarek, Magdalena Ulikowska, Marlena Dudek-Makuch

## Badania nad aktywnością biologiczną soku z liści *Kalanchoe daigremontiana*

### Investigation on biological activity of the juice from leaves of *Kalanchoe daigremontiana*

Katedra i Zakład Farmakognozji, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu  
Kierownik Katedry: dr hab. n. farm. Judyta Cielecka-Piontek

#### SUMMARY

**Introduction.** Mother of thousands (*Kalanchoe daigremontiana*) in folk medicine is applied in the form of compresses fresh, crushed leaf, or juice of the leaves of inflammation of the skin, burns and wound healing.

**Aim.** The aim of the study was to compare the anti-inflammatory and antioxidant properties of juices obtained from the leaves of *K. daigremontiana*, as well as to determine the content of the polyphenols and flavonoids.

**Material and methods.** Compared the anti-hyaluronidase activity and antioxidant potential (DPPH and FRAP) of juices from *K. daigremontiana* using a spectrophotometric methods. Moreover, total phenolic content and total flavonoid content were determined by spectrophotometric methods, with the Folin-Ciocalteu reagent (FC) and  $AlCl_3$  reagent respectively.

**Results.** The obtained results indicate that the juice prepared from the leaves is characterized by a higher content of active compounds and shows a higher anti-inflammatory and antioxidant activity than the commercial preparation.

**Conclusions.** Juices from *K. daigremontiana* could be helpful in the treatment of skin diseases.

**Keywords:** *Kalanchoe daigremontiana*, polyphenols, antioxidant activity, anti-inflammatory activity

#### STRESZCZENIE

**Wstęp.** Żyworódka daigremonta (*Kalanchoe daigremontiana*) w lecznictwie ludowym stosowana jest w postaci okładów ze świeżych, zmiażdżonych liści lub soku z liści w stanach zapalnych skóry, oparzeniach i trudno gojących się ranach.

**Cel pracy.** Celem badań było porównanie właściwości przeciwzapalnych i przeciwutleniających soku otrzymanego z liści żyworódki daigremonta we własnym zakresie oraz preparatu handlowego, a także oznaczenie w nich zawartości sumy polifenoli i flawonoidów.

**Materiał i metody.** Porównano zdolność hamowania aktywności hialuronidazy oraz aktywność przeciwutleniającą (FRAP i DPPH) badanych soków metodami spektrofotometrycznymi. Zawartość związków polifenolowych i flawonoidów w sokach z liści oceniono przy użyciu metod spektrofotometrycznych z użyciem odpowiednio odczynników Folin-Ciocalteu (FC) i  $AlCl_3$ .

**Wyniki.** Uzyskane wyniki wskazują, że sok z liści otrzymany we własnym zakresie charakteryzuje się wyższą zawartością związków biologicznie aktywnych oraz wykazuje wyższą aktywność przeciwzapalną i przeciwutleniającą niż preparat handlowy.

**Wnioski.** Soki z żyworódki daigremonta mogą być stosowane pomocniczo w stanach zapalnych skóry.

**Słowa kluczowe:** żyworódka daigremonta, polifenole, aktywność antyoksydacyjna, aktywność przeciwzapalna

#### Wstęp

Żyworódka daigremonta (*Kalanchoe daigremontiana* Raym. – Hamet & H. Perrier; syn. *Bryophyllum daigremontianum*, ang. *Mother of thousands*) jest sukulentem

należącym do rodziny Gruboszowatych (*Crassulaceae*), jednym ze 150 gatunków z rodzaju *Kalanchoe*. W stanie naturalnym preferuje ona podłoża piaskowców lub wapieni występujących na terenach krajów

tropikalnych i subtropikalnych Afryki, Azji (wyspy Oceanu Indyjskiego) oraz Ameryki Północnej (1, 2). W klimacie umiarkowanym uprawiana jest w szklarniach i w doniczkach (3).

*Kalanchoe daigremontiana* jest rośliną wieloletnią. Łodyga jest prosta, pojedyncza, wzniesiona na wysokość od 30 do 100 cm. Liście są mięsiste, kształtu lancetowatego, barwy ciemnozielonej z fioletowymi lub czerwono-brunatnymi plamami na spodniej stronie (1, 3, 4). Charakterystyczną cechą są ich ząbkowane brzegi z purpurowymi rozmnóżkami pąkowymi (tzw. bulbillami) (4), które powstają w zagłębieniach liści z komórek merystematycznych i służą do rozmnażania wegetatywnego rośliny (5). Zjawisko rozwijania się młodych roślin na roślinie macierzystej nazywa się żyworodnością, stąd wzięła się polska nazwa rodzaju *Kalanchoe*. Kwiatostanem jest wiecha z kilkoma skupiskami wiszących kwiatów kształtu dzwonekowanego i barwy szarawopurpurowej do czerwonej (4).

W Polsce i na świecie dostępne są preparaty lecznicze oraz kosmetyczne oparte na dwóch gatunkach z rodzaju *Kalanchoe*: żyworódki pierzastej (*Kalanchoe pinnata* (Lam.) Person, *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken) oraz żyworódki daigremonta. Preparaty z żyworódki pierzastej czasami błędnie opisywane są przez producentów jako preparaty z *K. daigremontiana*. Żyworódka pierzasta w odróżnieniu od żyworódki daigremonta nie tworzy licznych rozmnóżek na brzegach liści. Rozmnóżki pojawiają się na brzegach owalnych liści, pomiędzy ich ząbkami, zwykle po odłamaniu i opadnięciu liścia na podłoże. Różnice w budowie morfologicznej obu gatunków przedstawiono na rycinie 1a, b.

Skład chemiczny żyworódki daigremonta jest dobrze poznany. W liściach *K. daigremontiana* stwierdzono obecność flawonoidów (pochodnych kemferolu i kwercetyny) (6), kwasów organicznych (chlorogenowy, ferulowy, galusowy, kawowy, *p*-kumarowy, protokatechowy, syryngowy,  $\beta$ - i  $\gamma$ -rezorcyloyowy,

jabłkowy) (7, 8), jak również witaminy E (w formie  $\beta$ -,  $\gamma$ - i  $\delta$ -tokomonolenolu oraz  $\alpha$ -,  $\gamma$ - i  $\delta$ -tokoferolu) (9) oraz makroelementów (wapń, potas, sód). W częściach nadziemnych i korzeniu rośliny występują sterole (2, 10), triterpeny (11-okso-epi- $\beta$ -amyryna) (2) oraz bufadienolidy (11-13).

Dla gatunku *K. daigremontiana* dostępne są liczne badania dotyczące aktywności biologicznej, w których udowodniono m.in. działanie przeciwdrobnoustrojowe (2), przeciwwirusowe (6), przeciwutleniające (7, 14, 15), cytotoksyczne (2, 7, 16) oraz owadobójcze (13).

Żyworódka daigremonta stosowana jest w medycynie ludowej wewnątrz w zapaleniu stawów, jako środek przeciwgorączkowy, przeciwkaszlowy i przeciwwrzodowy (6). W tradycyjnej medycynie chińskiej wykorzystywana jest jako środek przeciwwymiotny i przeciwkaszlowy (17). Natomiast okłady ze świeżych, zmiażdżonych liści lub soku z liści stosowane są w trudno gojących się ranach (18).

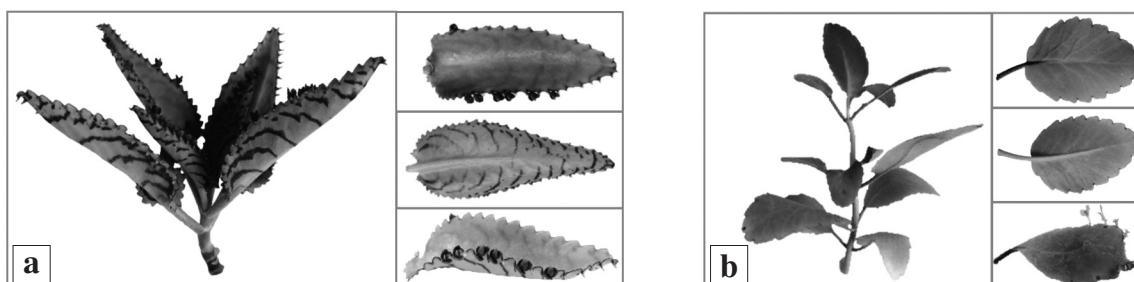
Z uwagi na wąski indeks terapeutyczny oraz ryzyko powstania kardiotoksyczności, spowodowany obecnością bufadienolidów w żyworódce daigremonta, nie zaleca się stosowania do wewnątrz preparatów sporządzonych z tego gatunku (14).

### Cel pracy

Celem pracy było porównanie właściwości przeciwzapalnych i przeciwutleniających soku otrzymanego z liści żyworódki daigremonta we własnym zakresie oraz preparatu handlowego, oznaczenie w nich zawartości sumy polifenoli i flawonoidów.

### Materiał i metody

W badaniach wykorzystano produkt handlowy firmy Dermesa (zakupiony w styczniu 2018 roku) – sok z *K. daigremontiana* konserwowany spirytusem (23-25% etanolu w 100 ml produktu), błędnie określony przez producenta jako sok z żyworódki pierzastej, oraz sok z liści *K. daigremontiana* wyciśnięty we własnym



Ryc. 1a, b. Charakterystyka botaniczna żyworódki daigremonta (a) i żyworódki pierzastej (b)

zakresie. Liście żyworódki daigremonta zebrano w Ogrodzie Farmakognostycznym Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu w 2017 roku. Sok uzyskano poprzez zmiksowanie liści, a następnie wyciśnięcie go przez gazę jałową. Z 400 g surowca otrzymano 385 ml soku. Następnie w cylindrze miarowym o pojemności 100 ml odmierzone 77 ml soku i uzupełniono 23 ml etanolu, w celu otrzymania produktu analogicznego do soku firmy Dermesa.

## Badania aktywności biologicznej

### Badanie zdolności hamowania aktywności hialuronidazy

Hamowanie aktywności hialuronidazy oznaczono metodą spektrofotometryczną opisaną przez Studzińską-Srokę i wsp. (19). Do studzienek płytki 96-dołkowej odmierzano kolejno 25  $\mu$ l buforu (50 mmol, pH = 7,0 zawierającego 77 mmol NaCl i 1 mg/ml albuminy), 25  $\mu$ l hialuronidazy (30 jedn./ml buforu octanowego o pH = 7,0), 10  $\mu$ l soku oraz 15  $\mu$ l buforu octanowego (pH = 4,5). Płytkę inkubowano przez 15 minut w temperaturze 37°C, dodano 25  $\mu$ l kwasu hialuronowego (HA) (0,3 mg/ml buforu octanowego o pH = 4,5) i ponownie inkubowano w temperaturze 37°C przez 45 minut. Następnie dodano 200  $\mu$ l roztworu 2,5% CTAB (bromek heksadecylotrimetyloamoniowy) w 2% NaOH o pH 12,0. Absorbancję mierzono przy długości fali  $\lambda$  = 600 nm (Multiskan GOx1510, Thermo Fisher Scientific, Finlandia) po 10-minutowej inkubacji w temperaturze pokojowej. Dla każdego soku przygotowano po trzy próby. W trakcie oznaczenia przygotowano również dwie próby ślepe, w których 10  $\mu$ l soku zastąpiono 10  $\mu$ l wody do wstrzykiwań (próba ślepa 1) oraz 25  $\mu$ l hialuronidazy zastąpiono 25  $\mu$ l buforu octanowego (próba ślepa 2). Z uzyskanych wyników obliczono procentową zdolność hamowania aktywności hialuronidazy przez soki z żyworódki daigremonta, według poniższego wzoru:

$$\text{Zdolność hamowania hialuronidazy (\%)} = \frac{T_s - T_c}{T_H - T_c} \times 100$$

$T_s$  – średnia absorbancja próby badanej (enzym + HA + substancja badana),

$T_c$  – średnia absorbancja próby ślepej 1 (enzym + HA),

$T_H$  – średnia absorbancja próby ślepej 2 (HA + substancja badana).

### Badanie aktywności przeciwutleniającej metodą DPPH

Badanie przeprowadzono według zmodyfikowanej metody Brand-Williamsa i wsp. (20). Pomiar zdolności antyoksydacyjnej wykonano za pomocą syntetycznego rodnika DPPH $\cdot$  (2,2-difenylo-2-pikrylohydrazyl). Do probówek typu Eppendorf o pojemności 2 ml dodawano kolejno po 0,2 ml wodnych rozcieńczeń soków (co odpowiadało zawartości 4, 18, 32  $\mu$ l soku w próbie), a następnie roztwór rodnika DPPH $\cdot$  w ilości 1,4 ml. Każdą próbę wymieszano w wytrząsarce typu Vortex i inkubowano przez 30 minut w ciemnym miejscu. Absorbancję mierzono (spektrofotometr UV/VIS Lambda 35, Perkin-Elmer) przy długości fali  $\lambda$  = 517 nm, wobec próby odniesienia, którą stanowił metanol. Dla każdego rozcieńczenia przygotowano po 6 prób. Na podstawie uzyskanych wartości absorbancji obliczono procentowy stopień zmiatania rodników DPPH $\cdot$  przez badane soki według poniższego wzoru:

$$\text{Stopień zmiatania rodnika DPPH} \cdot (\%) = \frac{A_{\text{DPPH} \cdot} - A_{\text{próby}}}{A_{\text{DPPH} \cdot}} \times 100$$

$A_{\text{DPPH} \cdot}$  – średnia absorbancja roztworu rodnika DPPH $\cdot$ ,

$A_{\text{próby}}$  – średnia absorbancja próby badanej.

### Badanie aktywności przeciwutleniającej metodą FRAP

Oznaczenie przeprowadzono według zmodyfikowanej metody Tiverona i wsp. (21). Do probówek typu Eppendorf o pojemności 2 ml dodawano kolejno: 30  $\mu$ l wodnych rozcieńczeń soków (co odpowiadało zawartości 3,6; 5,4; 7,2  $\mu$ l soku w próbie), a następnie przygotowaną mieszaninę FRAP (25,0 ml buforu octanowego o pH = 3,6; 2,5 ml 10 mmol roztworu TPTZ – 2,4,6-tris(2-pirydylo)-S-triazyny w 40 mmol HCl oraz 2,5 ml 20 mmol roztworu FeCl $_3$ ·6H $_2$ O) w ilości 0,9 ml. Każdą próbę wymieszano w wytrząsarce typu Vortex, następnie inkubowano 30 minut w temperaturze 37°C, chroniąc przed dostępem światła. Absorbancję mierzono przy długości fali  $\lambda$  = 593 nm wobec próby odniesienia, którą przygotowano w sposób analogiczny do próby badanej, zastępując sok metanolem. Dla każdego rozcieńczenia przygotowano po 6 prób.

### Oznaczenie zawartości sumy polifenoli (TPC)

TPC określono przy użyciu zmodyfikowanej metody Menga i wsp. (22). Do probówek typu Eppendorf

o pojemności 2 ml dodawano kolejno: 0,1 ml rozcieńczeń soków (co odpowiadało zawartości 14  $\mu$ l soku z liści oraz 30  $\mu$ l soku firmy Dermesa w próbie) lub rozcieńczeń roztworu kwasu galusowego oraz 0,1 ml odczynnika Folina-Ciocalteu (FC). Po upływie 3 minut dodano 1,0 ml 7% roztworu wodnego węgla sodu. Po upływie 60 minut zmierzono absorbancję (spektrofotometr UV/VIS Lambda 35, Perkin-Elmer) 6 przygotowanych prób przy długości fali  $\lambda = 760$  nm wobec próby ślepej. Wyniki oznaczeń TPC podano w mg ekwiwalentu kwasu galusowego w ml soku, wykorzystując krzywą kalibracyjną kwasu galusowego ( $y = 97,47x + 0,036$ ,  $R^2 = 0,9999$ ) w zakresie stężeń 1,66-5,83  $\mu$ g/ml.

#### Oznaczenie zawartości sumy flawonoidów (TFC)

TFC wykonano przy użyciu zmodyfikowanej metody Meda i wsp. (23). Do probówek typu Eppendorf o pojemności 2 ml dodawano kolejno: 0,5 ml rozcieńczeń soków (co odpowiadało zawartości 0,1 ml soku z liści oraz 0,18 ml soku firmy Dermesa w próbie) lub rozcieńczeń roztworów kwercetyny, następnie 0,5 ml metanolowego roztworu chlorku glinu. Próby wymieszano w wytrząsarce typu Vortex i inkubowano w ciemnym miejscu przez 10 minut. Dla każdego rozcieńczenia przygotowano po 6 prób. W podobny sposób przygotowano próbę odniesienia, zastępując roztwór chlorku glinu metanolem. Pomiar absorbancji (spektrofotometr UV/VIS Lambda 35, Perkin-Elmer) dokonywano przy długości fali  $\lambda = 415$  nm wobec próby ślepej. Wyniki TFC wyrażono jako  $\mu$ g kwercetyny w ml soku, wykorzystując krzywą kalibracyjną kwercetyny w zakresie stężeń 6,0-14,0  $\mu$ g/ml ( $y = 0,048x - 0,004$ ,  $R^2 = 0,9999$ ).

### Wyniki i dyskusja

Przegląd surowców roślinnych stosowanych aktualnie w chorobach skórnych potwierdza, iż większość z nich wykazuje zdolność hamowania hialuronidazy oraz działanie przeciwzapalne. Hialuronidazy pełnią istotną rolę w wielu fizjologicznych i patologicznych procesach zachodzących w organizmach żywych (24-26). Poprzez degradację kwasu hialuronowego biorą udział w rozprzestrzenianiu się procesu zapalnego. Powstające fragmenty kwasu hialuronowego o niskiej masie cząsteczkowej powodują zwiększenie napływu leukocytów do ogniska zapalenia i powodują ekspresję genów czynników prozapalnych w obrębie zmiany zapalnej (27). Wzrost ich aktywności wpływa na rozszerzenie naczyń krwionośnych, zwiększenie ich przepuszczalności, a w konsekwencji powstanie miejscowego zaczerwienienia, obrzęku oraz

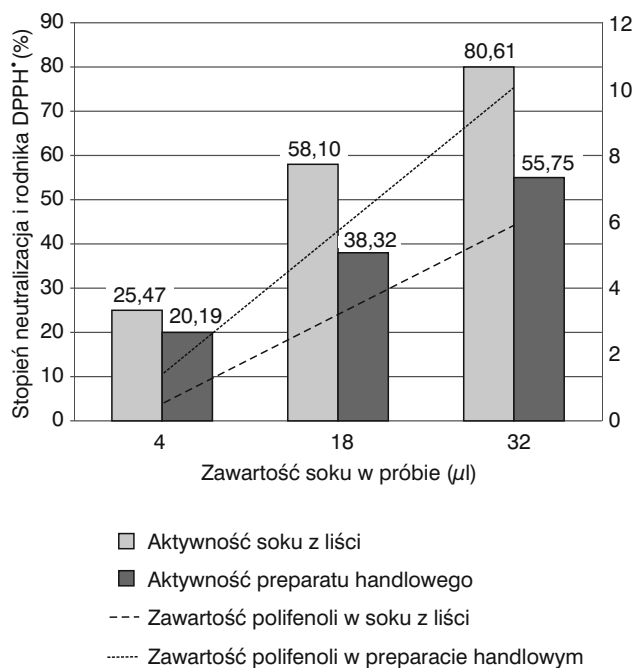
podwyższenia temperatury ciała w miejscu zapalenia. Wysoką aktywność w zakresie hamowania hialuronidazy wykazują rośliny z rodziny *Lamiaceae*, np. mięta lekarska, rozmaryn lekarski, szalwia lekarska, cząber ogrodowy, majeranek i tymianek właściwy (28), żołąca drobnokwiatowa (19) oraz nadziemne części wiesiołka dwuletniego i dziwnego (29).

Na podstawie dostępnych publikacji wynika, iż działanie przeciwzapalne *in vivo* oraz przyspieszające gojenie się ran wykazano jedynie dla *K. pinnata* (30-32). Badanie zdolności hamowania aktywności hialuronidazy przeprowadzono metodą spektrofotometryczną, która polega na pomiarze natężenia zmętnienia, powstałego w wyniku wytrącenia kwasu hialuronowego. Uzyskane wyniki wskazują, że sok z liści charakteryzuje się umiarkowaną aktywnością hamowania aktywności hialuronidazy ( $13,22 \pm 2,86\%$ ), jednak działał dwukrotnie silniej niż preparat handlowy ( $5,83 \pm 1,68\%$ ). Wykazana aktywność może być związana z obecnością w sokach związków polifenolowych, głównie flawonoidów i kwasów fenolowych, które należą do inhibitorów hialuronidaz o udokumentowanej aktywności (33-35).

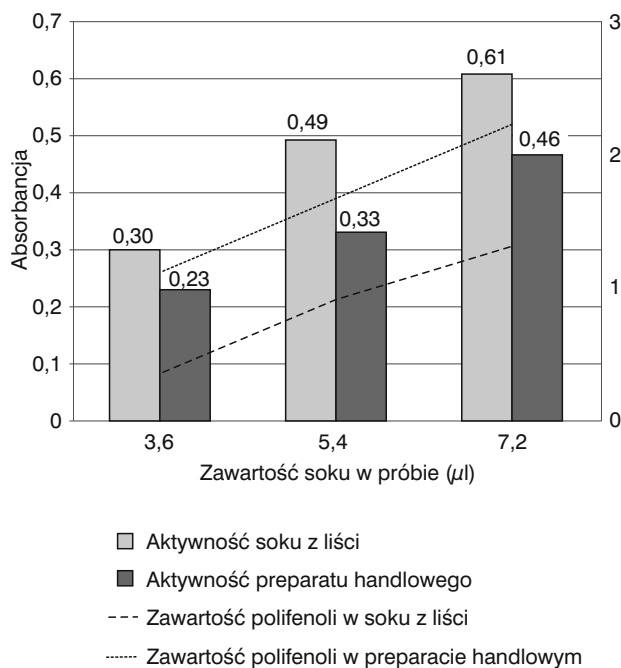
Ponadto zapaleniu zazwyczaj towarzyszy zwiększone wydzielanie wolnych rodników, które wpływają na utrzymanie się i rozwój stanu zapalnego. Z analizy dostępnego piśmiennictwa wynika, że ekstrakty z roślin z rodzaju *Kalanchoe* wykazują aktywność przeciwutleniającą poprzez neutralizowanie rodnika hydroksylowego, anionorodnika ponadtlenkowego, nadtlenku wodoru i tlenku azotu (36, 37), chelotowanie lub redukcję metali (36, 38, 39) oraz wzrost aktywności enzymów uczestniczących w obronie przed wolnymi rodnikami: dysmutazy ponadtlenkowej, katalazy, peroksydazy glutationowej i reduktazy glutationowej (40, 41). Badania aktywności przeciwutleniającej przeprowadzono przy użyciu dwóch metod spektrofotometrycznych: DPPH i FRAP.

Oba soki wykazywały zdolność do neutralizowania wolnych rodników DPPH $\cdot$  i redukcji jonów Fe (III). Wraz ze wzrostem stężenia badanych soków wzrastała aktywność przeciwutleniająca. Sok z liści żyworołki daigremonta we wszystkich badanych stężeniach charakteryzował się wyższą zdolnością do zmiatania rodnika DPPH $\cdot$  i redukcji jonów Fe (III) niż sok firmy Dermesa (ryc. 2, 3).

Dotychczas przeprowadzone badania aktywności przeciwutleniającej dotyczą jedynie wyciągów z żyworołki daigremonta. Wykazano w nich, że zarówno macerat alkoholowy ze świeżych liści, jak również frakcja metanolowa z korzeni *K. daigremontiana* wykazują zdolność neutralizacji rodników DPPH $\cdot$ ,



Ryc. 2. Zależność aktywności przeciwutleniającej oznaczonej metodą DPPH od zawartości polifenoli



Ryc. 3. Zależność aktywności przeciwutleniającej oznaczonej metodą FRAP od zawartości polifenoli

Tab. 1. Zawartość związków polifenolowych w sokach z żyworoćki daigremonta

Sok	Zawartość (ml soku)	
	flawonoidy (mg w przeliczeniu na kwercetynę)	polifenole (mg w przeliczeniu na kwas galusowy)
Sok z liści otrzymany we własnym zakresie	0,09 ± 0,00	0,31 ± 0,01
Sok firmy Dermesa	0,06 ± 0,00	0,18 ± 0,01

z wartością  $IC_{50}$  równą odpowiednio 180 µg/ml (7) oraz 21,80 µg/ml (17). Frakcja metanolowa otrzymana z korzeni żyworoćki daigremonta redukowała ponadto peroksydację lipidów oraz chroniła białkowe i lipidowe składniki krwi przed stresem oksydacyjnym (17).

Zaobserwowane różnice w aktywności biologicznej badanych soków są prawdopodobnie związane ze składem ilościowym związków polifenolowych. Wyniki badań przedstawione w tabeli 1 wskazują, że sok wyciśnięty z liści we własnym zakresie zawierał 1,7 raza więcej polifenoli oraz 1,5 raza więcej flawonoidów niż sok pochodzący z firmy Dermesa. Całkowita zawartość flawonoidów stanowiła około 30% oznaczonej sumy

polifenoli, co wskazuje, że w skład frakcji polifenolowej soków wchodzi także inne związki, np. obecne w surowcu kwasy fenolowe (7).

### Wnioski

1. Sok z liści *Kalanchoe daigremontiana* firmy Dermesa charakteryzował się słabszą aktywnością przeciwzapalną oraz przeciwutleniającą w porównaniu do soku otrzymanego we własnym zakresie, co prawdopodobnie związane jest z mniejszą zawartością związków polifenolowych.
2. Stwierdzona aktywność biologiczna może częściowo uzasadniać tradycyjne stosowanie soku z liści *Kalanchoe daigremontiana* w stanach zapalnych skóry.

## Piśmiennictwo

- Eggl U. Illustrated handbook of succulent plants. *Crassulaceae*. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg 2003; 143-53.
- Nahar K, Khan MGU, Rahman MS i wsp. Antimicrobial and cytotoxic activities of *Bryophyllum daigremontianum*. *J Pharmacol Sci* 2008; 7:99-101.
- Rauh W. Succulent and xerophytic of Madagascar. Strawberry Press, Mill Valley 1995.
- Cullen J, Alexander JCM, Brady A i wsp. The European garden of flora, dilleniaceae to leguminosae, dicotyledons. Bath Press, Avon 1995.
- Szweykowska A, Szweykowski J. Rozmnażanie się roślin i związane z nim struktury. Wyd Nauk PWN, Warszawa 2003.
- Ūrményi FG, Saraiva GD, Casanova LM i wsp. Anti-HSV-1 and HSV-2 flavonoids and a new kaempferol triglycoside from the medicinal plant *Kalanchoe daigremontiana*. *Chem Biodivers* 2016; 13:1707-14.
- Bogucka-Kocka A, Zidorn C, Kasprzycka M i wsp. Phenolic acid content, antioxidant and cytotoxic activities of four *Kalanchoe* species. *Saudi J Biol Sci* 2018; 25(4):622-30.
- Phillips RD, Jennings DH. Succulence, cations, and organic acids in leaves of *Kalanchoe daigremontiana* grown in long and short days in soil and water culture. *New Phytol* 1976; 77:599-611.
- Kruk J, Pisarski A, Szymanska R. Novel vitamin E forms in leaves of *Kalanchoe daigremontiana* and *Phaseolus coccineus*. *J Plant Physiol* 2011; 168:2021-7.
- Kalinowska M, Nes WR, Crumley FG i wsp. Stereochemical differences in the anatomical distribution of C-24 alkylated sterols in *Kalanchoe daigremontiana*. *Phytochem* 1990; 29:3427-34.
- Fürer K, Raith M, Brenneisen R i wsp. Two new flavonol glycosides and a metabolite profile of *Bryophyllum pinnatum*, a phytotherapeutic used in obstetrics and gynaecology. *Planta Med* 2013; 79:1565-71.
- Moniuszko-Szajwaj B, Pecio Ł, Kowalczyk M i wsp. New bufadienolides isolated from the roots of *Kalanchoe daigremontiana* (*Crassulaceae*). *Molecules* 2016; 21:1-13.
- Hermawan W, Maharani R, Fajriah S i wsp. Insecticidal bufadienolides from the leaves of *Kalanchoe daigremontiana* (*Crassulaceae*). *Jurnal ILMU DASAR* 2010; 11:115-9.
- Kolodziejczyk-Czepas J, Stochmal A. Bufadienolides of *Kalanchoe* species: an overview of chemical structure, biological activity and prospects for pharmacological use. *Phytochem Rev* 2017; 16:1155-71.
- Sharker SM, Hossain MK, Haque MR i wsp. Phytochemical and pharmacological studies of *Bryophyllum daigremontianum* (Raym.). *Am J Pharm Tech Res* 2013; 3:484-92.
- Alvarado-Palacios QG, San Martin-Martinez E, Gomez-García C i wsp. Nanoencapsulation of the Aranto (*Kalanchoe daigremontiana*) aquoethanolic extract by nanospray dryer and its selective effect on breast cancer cell line. *IJPPR* 2015; 7:888-95.
- Kolodziejczyk-Czepas J, Nowak P, Wachowicz B i wsp. Antioxidant efficacy of *Kalanchoe daigremontiana* bufadienolide – rich fraction in blood plasma *in vitro*. *Pharm Biol* 2016; 54:3182-8.
- Anisimov MM, Gerasimenko EL, Chaikina EL i wsp. Biological activity of metabolites of the herb *Kalanchoe daigremontiana* (Hamet de la Bathie) Jacobs et Perr. *Biol Bull* 2009; 36:568-74.
- Studzińska-Sroka E, Dudek-Makuch M, Chanaj-Kaczmarek J i wsp. Anti-inflammatory activity and phytochemical profile of *Galinsoga parviflora* Cav. *Molecules* 2018; 23:2133.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm Wiss Technol* 1995; 28:25-30.
- Tiveron AP, Melo PS, Bergamaschi KB i wsp. Antioxidant activity of Brazilian vegetables and its relation with phenolic composition. *Int J Mol Sci* 2012; 13:8943-57.
- Meng CC, Jalil AMM, Ismail A. Phenolic and theobromine contents of commercial dark, milk and white chocolates on the Malaysian market. *Molecules* 2009; 14:200-9.
- Meda A, Lamien CE, Romito M i wsp. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chem* 2005; 91:571-7.
- Lin Y, Mahan K, Lathrop WF i wsp. A hyaluronidase activity of the sperm plasma membrane protein PH-20 enables sperm to penetrate the cumulus cell layer surrounding the egg. *J Cell Biol* 1994; 125:1157-63.
- Martin-DeLeon PA. Epididymal SPAM1 and its impact on sperm function. *Mol Cell Endocrinol* 2006; 250:114-21.
- Hynes WL, Walton SL. Hyaluronidases of Gram-positive bacteria. *FEMS Microbiol Lett* 2000; 183:201-7.
- Kraśiński R, Tchórzewski H. Hialuronian jako czynnik regulujący proces zapalenia. *Postępy Hig Med Dosw* 2007; 61:683-9.
- Ippoushi K, Yamaguchi Y, Itou H i wsp. Evaluation of inhibitory effects of vegetables and herbs on hyaluronidase and identification of rosmarinic acid as a hyaluronidase inhibitor in lemon balm (*Melissa officinalis* L.). *Food Sci Technol Res* 2000; 6:74-7.
- Granica S, Czerwinska ME, Piwowarski JP i wsp. Chemical composition, antioxidative and anti-inflammatory activity of extracts prepared from aerial parts of *Oenothera biennis* L. and *Oenothera paradoxa* Hudziok obtained from seeds cultivation. *J Agric Food Chem* 2013; 61:801-10.
- Ojewole JAO. Antihypertensive properties of *Bryophyllum pinnatum* (Lam) Oken leaf extracts. *Am J Hypertens* 2002; 15:34.
- Afzal M, Gupta G, Kazmi I i wsp. Anti-inflammatory and analgesic potential of a novel steroidal derivative from *Bryophyllum pinnatum*. *Fitoterapia* 2012; 83:85-8.
- Chibli LA, Rodrigues KC, Gasparetto CM i wsp. Anti-inflammatory effects of *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken ethanol extract in acute and chronic cutaneous inflammation. *J Ethnopharmacol* 2014; 11:330-8.
- Ao C, Higa T, Ming H i wsp. Isolation and identification of antioxidant and hyaluronidase inhibitory compounds from *Ficus microcarpa* L. fil. bark. *J Enzyme Inhib Med Chem* 2010; 25:406-13.
- Lee JH, Kim GH. Evaluation of antioxidant and inhibitory activities for different subclasses flavonoids on enzymes for rheumatoid arthritis. *J Food Sci* 2010; 75:212-7.
- Tunali S, Yanardag R, Ozmen HD. *In vitro* inhibition of hyaluronidase by chemical substances. *J Biotechnol* 2017; 256:83.
- Sharma NK, Priyanka Jha KK. Evaluation of analgesic and anti-inflammatory activity of *Kalanchoe spanthulata* leaves extract. *J Adv Scient Res* 2011; 2:71-3.
- Jaiswal S, Chawla R, Sawhney S. *Kalanchoe pinnata* – a promising source of natural antioxidants. *Eur J Med Plants* 2014; 4:1210-22.

38. Verma VK, Kumar S, Rani VK i wsp. Compound profiling in methanol extract of *Kalanchoe blossfeldiana* (Flaming katy) leaves through GC-MS analysis and evaluation of its bioactive properties. *Glob J Adv Biol Sci* 2015; 1:38-49.
39. Mohan SC, Balamurugan V, Shalini ST i wsp. Metal ion chelating activity and hydrogen peroxide scavenging activity of medicinal plant *Kalanchoe pinnata*. *J Chem Pharm Res* 2012; 4:197-202.
40. Lai ZR, Peng WH, Ho YL i wsp. Analgesic and anti-inflammatory activities of the methanol extract of *Kalanchoe gracilis* (L.) DC stem in mice. *Am J Chin Med* 2010; 38:529-46.
41. Fondjo FA, Kamgang R, Essame Oyono JL i wsp. Anti-dyslipidemic and antioxidant potentials of methanol extract of *Kalanchoe crenata* whole plant in streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats. *Trop J Pharm Res* 2012; 11:767-75.

**Konflikt interesów**

**Conflict of interest**

Brak konfliktu interesów

None

otrzymano/received: 12.11.2018

zaakceptowano/accepted: 16.01.2019

Adres/address:

\*dr n. farm. Justyna Chanaj-Kaczmarek

Katedra i Zakład Farmakognozji

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego

w Poznaniu

ul. Święcickiego 4, 60-681 Poznań

tel./fax: +48 (61) 854-67-01

e-mail: justyna.chanaj-kaczmarek@ump.edu.pl