

Magdalena Wyszowska-Kolatko

„Ocena aktywności biologicznej *in vitro* wyciągów z wąkroty azjatyckiej”

## Streszczenie

Światowa Organizacja Zdrowia określiła wąkrotę azjatycką jako jedną z najważniejszych na świecie roślin leczniczych. Zainteresowanie ekstraktami z wąkroty azjatyckiej obserwuje się również w przemyśle kosmetycznym. Ogromna popularność ekstraktów z wąkroty azjatyckiej oraz wyizolowanych z niej składników aktywnych skutkuje tym, że roślina w stanie naturalnym jest zagrożona wyginięciem. Metodą alternatywną wykorzystywaną do pozyskiwania dużej ilości biomasy z wąkroty azjatyckiej, w celu otrzymywania z niej ekstraktów, jak również składników aktywnych są hodowle roślinne kultur *in vitro*.

Projekt realizowany w ramach pracy doktorskiej obejmuje badania aktywności biologicznej i bezpieczeństwa stosowania dwóch wyciągów wodnych z wąkroty azjatyckiej otrzymanych z rośliny pochodzącej ze stanowiska szklarniowego (CA1) i z rośliny z hodowli *in vitro* (CA2), których aktywność nie została do tej pory oceniona. Wyciągi roślinne są mieszaniną wielu różnych związków aktywnych biologicznie, nierzadko wykazujących działanie synergistyczne lub antagonistyczne. Dlatego, w ramach pracy doktorskiej postanowiono sprawdzić, czy działanie biologiczne wyciągów jest uzależnione od obecności dwóch, oznaczonych w nich składników aktywnych, azjatykozydu i madekasozydu.

W ramach pracy doktorskiej oceniono wpływ testowanych wodnych wyciągów z wąkroty azjatyckiej na żywotność i proliferację komórek 3 linii prawidłowych (HaCaT, BJ-5ta, C8D1A) i 3 linii nowotworowych (A375, WM793, HepG2) przy użyciu testów MTT, testu z czerwienią obojętną i testu z fioletem krystalicznym. Zbadano również słabo do tej pory poznaną aktywność glioprotekcyjną testowanych wyciągów, azjatykozydu i madekasozydu. W celu oszacowania potencjału mutagennego wyciągi wodne z wąkroty azjatyckiej objęte projektem badano w teście Ames, wykorzystując szczepy *Salmonella typhimurium* TA98 i TA100 stosowane w rutynowych badaniach screeningowych mutagenności. Do oceny potencjału antyoksydacyjnego wykorzystano testy kolorymetryczne (DPPH i FRAP) oraz dokonano analizy wpływu badanych

wyciągów na poziom reaktywnych form tlenu w hodowli komórek fibroblastów i hepatocytów (test ROS-Glo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Ze względu na bardzo słabo poznaną aktywność fotoprotekcyjną wyciągów z wąkroty azjatyckiej, wykonano analizę spektralną w zakresie UV.

Niezależne testy żywotności i wpływu na proliferację wykazały, że obydwie testowane wodne wyciągi z wąkroty azjatyckiej (CA1 i CA2) są bezpieczne w stosunku do prawidłowych komórek skóry (keratynocytów i fibroblastów) oraz hepatocytów, wykazały działanie glioprotekcyjne oraz były pozbawione aktywności mutagennej. Analiza otrzymanych wyników pozwoliła na ocenę potencjalnej aktywności biologicznej badanych ekstraktów. Obydwie testowane wyciągi charakteryzowały się działaniem antyoksydacyjnym i fotoprotekcyjnym. Ekstrakt z rośliny szklarniowej wykazywał dodatkowo działanie przeciwstarzeniowe. Badania przeprowadzone z wykorzystaniem komórek czerniaka wykazały, że ekstrakt z rośliny *in vitro* (CA2) i azjatykozyd działały chemoprewencyjnie, a ekstrakt z rośliny szklarniowej (CA1) oraz obie saponiny działały cytostatycznie w stosunku do komórek nowotworowych czerniaka skóry (A375).

Analiza wyników pozwoliła zdefiniować madekasozyd jako składnik o bardzo silnej aktywności przeciwstarzeniowej, przeciwłuszczykowej, a także cytostatycznej w stosunku do komórek czerniaka linii A375. Wyniki dotyczące madekasozydu stanowią ogromną wartość naukową, ponieważ właściwości tego składnika nie zostały opisane w literaturze tak dokładnie jak właściwości azjatykozydu.

Uzyskane wyniki mają charakter aplikacyjny, przyczyniły się do poszerzenia wiedzy o aktywności rośliny *Centella asiatica*, pozwoliły po raz pierwszy wykazać działania wyciągów CA1 i CA2, porównać aktywność wyciągów otrzymanych z roślin z hodowli szklarniowej i z hodowli *in vitro*, a także po raz pierwszy wyłoniły madekasozyd jako składnik ekstraktów z wąkroty azjatyckiej o bardzo silnej, korzystnej aktywności biologicznej.

**Słowa kluczowe:** Wąkrota azjatycka, aktywność biologiczna, bezpieczeństwo stosowania, testy alternatywne, hodowle komórek skóry.