

## 积雪草酸药理作用及其结构修饰的研究进展

冯旭<sup>1</sup>, 郭飞飞<sup>2</sup>, 赵龙<sup>2</sup>, 张黎<sup>3\*</sup>

1. 海军医学研究所, 上海 200433

2. 天津科技大学, 天津 300457

3. 第二军医大学附属长海医院, 上海 200433

**摘要:** 积雪草酸是伞形科植物积雪草中的一种重要的五环三萜酸类化合物, 具有广泛的生物学活性, 如抗肿瘤、改善认知、抗糖尿病、抗炎、抑菌、促进伤口愈合等作用。积雪草酸及其衍生物的药理作用及结构修饰已成为研究的热点。对积雪草酸的药理活性及结构修饰研究进展进行综述并进行展望。

**关键词:** 积雪草酸; 抗肿瘤; 抗炎; 结构修饰; 五环三萜酸

中图分类号: R285; R284 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)07-1037-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.07.026

## Research progress on pharmacological effects of asiatic acid and its structural modification

FENG Xu<sup>1</sup>, GUO Fei-fei<sup>2</sup>, ZHAO Long<sup>2</sup>, ZHANG Li<sup>3</sup>

1. Naval Medical Research Institute of PLA, Shanghai 200433, China

2. Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China

3. Affiliated Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

**Key words:** asiatic acid; antitumor; anti-inflammation; structural modification; pentacyclic triterpene acid

积雪草酸 (asiatic acid) 又名亚细亚酸, 是伞形科植物积雪草 *Centella asiatica* (L.) Urban 中提取的三萜酸, 属于五环三萜类化合物中的乌苏烷型。积雪草属全世界约有植物 20 种, 主产于斯里兰卡、印度、马来西亚、印度尼西亚、南非、澳大利亚, 分布在热带、亚热带地区。我国仅产积雪草 1 种, 并广泛分布于华南、华中、华东、中南、西南各地, 多生长在海拔 2 000 m 以下的阴湿地方。不同季节、不同产地收获的积雪草中所含的积雪草酸不同<sup>[1]</sup>, 砂土种植的积雪草含有更高量的积雪草酸<sup>[2]</sup>。积雪草酸在其他植物中也广泛存在<sup>[3]</sup>。

自从 1971 年发现积雪草酸具有治疗皮肤创伤作用以后, 积雪草酸及其衍生物的药理作用及结构修饰研究就成为关注的热点。本文对此进行综述, 为积雪草酸的深入研究提供参考。

### 1 积雪草酸的生物活性

#### 1.1 保肝作用

目前已有报道积雪草酸在体内、体外表现出阻断或逆转肝纤维化的作用, 具有保肝作用。积雪草酸可以降低大鼠的肝脏纤维化程度、转氨酶和胆红素的异常升高, 缓解 CCl<sub>4</sub> 引起的肝脏损伤<sup>[4]</sup>。积雪草酸可调节转化生长因子- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) 通路, 抑制 I 型胶原蛋白的表达, 上调 caspase-3 表达, 从而诱导肝星状细胞凋亡<sup>[5]</sup>。

积雪草酸对 D-氨基半乳糖 (D-GalN) 诱导的原代鼠肝损伤具有中等强度的保护作用<sup>[6-8]</sup>。其机制可能是通过对线粒体的保护作用或通过改善细胞的氧化还原状态, 逆转 D-GalN 和脂多糖 (LPS) 引起的类脂化合物 C<sub>4</sub> 的合成来保护肝实质细胞的<sup>[9-10]</sup>。

#### 1.2 抗肿瘤作用

目前国内外研究表明积雪草酸对结肠癌细胞、

收稿日期: 2013-07-17

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (21302222)

作者简介: 冯旭 (1980—), 男, 助理研究员, 博士, 研究方向为天然药物。Tel: (021)81883187 E-mail: zhenlunfeng@163.com

\*通信作者 张黎 Tel: (021)31162333 E-mail: lizhangsmmu@gmail.com

肝癌细胞、乳腺癌细胞、黑色素瘤细胞、人神经母细胞瘤细胞、血液病肿瘤等具有显著的抑制作用。积雪草酸诱导细胞凋亡的途径之一是 caspase 途径。积雪草酸作用于结肠癌细胞 SW480 后, 细胞失去了其原有的贴壁性状, 且形态由纺锤状变为圆形, 细胞核收缩、DNA 凝聚并片段化, 表明积雪草酸可呈剂量、时间依赖性地诱导 SW480 凋亡, 其机制可能是通过降低线粒体细胞膜电位, 导致细胞色素 C (CytC) 从线粒体释放到胞浆, 释放到胞浆的 CytC 能与凋亡相关因子 (Apaf-1) 结合, 使其形成多聚体, 并促使 caspase-9 与其结合形成凋亡小体, caspase-9 被激活, 进而激活 caspase-3, 从而诱导细胞凋亡<sup>[11]</sup>。积雪草酸可以诱导人宫颈癌 HeLa 细胞凋亡, 其 IC<sub>50</sub> 为 (80±1.6) μmol/L<sup>[12]</sup>。积雪草酸可剂量和时间依赖性地诱导人神经母细胞瘤细胞 U-87MG 和结肠癌细胞 RKO 死亡, 同时诱导细胞凋亡和坏死。另外, 在不同细胞系所发生的凋亡和坏死的比例不同, 如积雪草酸主要诱导 U-87MG 细胞坏死, 而 RKO 细胞主要通过凋亡途径死亡, 同时与线粒体膜电位变化和 caspase-9、caspase-3 水平有关, 且 Ca<sup>2+</sup>浓度的增加为积雪草酸诱导细胞死亡的重要原因<sup>[13]</sup>。积雪草酸可呈剂量、时间依赖性地降低人体黑色素瘤细胞 SK-MEL-2 的活性, 诱导细胞凋亡, 通过对其机制进行研究发现, 积雪草酸可通过增加细胞内活性氧(ROS)水平, 增加 Bax/Bcl-2 值, 激活 caspase-3, 从而诱导细胞凋亡<sup>[14]</sup>。积雪草酸具有抑制前列腺癌等恶性肿瘤的作用, 研究其机制表明内质网的破损和细胞内钙离子动态平衡失调是凋亡的早期现象, 认为内质网破裂导致细胞内钙离子释放, 同时导致 caspase-2、3、8 的活性增加, 且积雪草酸诱导凋亡早期是 caspase 依赖性的, 而晚期与 caspase 无关<sup>[15]</sup>。积雪草酸对人胃癌细胞 MK-1、人宫颈癌细胞 HeLa、鼠黑色素瘤细胞 B16F10 均具有显著的抑制增殖作用<sup>[16]</sup>。积雪草酸可通过调控细胞周期的进程和下调生存素 (survivin) 和 Bcl-2 mRNA 的表达来诱导慢性髓细胞白血病急变株 K562 和多发性骨髓瘤细胞株 RPMI 8226 的凋亡<sup>[17-18]</sup>。

积雪草酸诱导凋亡的另一主要途径是通过线粒体凋亡途径。积雪草酸通过上调 VDAC 蛋白水平, 诱导线粒体通透性转换孔开放, 导致线粒体膜电位下降, ATP 水平下降, 胞内 ROS 增多, 最终诱导 HepG2 细胞凋亡<sup>[19]</sup>。积雪草酸及其稀土配合物可通

过直接作用于线粒体来抑制食管癌细胞 Eca-109 的增殖<sup>[20]</sup>。通过研究积雪草酸对人乳腺癌细胞株 MCF-7 和 MDA-MB-231 的作用表明, 积雪草酸可剂量、时间依赖性地诱导 2 株细胞的生长, 使细胞停滞于 S-G<sub>2</sub>/M 期, 诱导细胞凋亡; 其机制可能为通过增加 p21/WAF1 的水平, 并下调细胞周期素 B1(cyclin B1)、cyclin A、细胞分裂周期基因 2(Cdc2)、Cdc25C 的水平来抑制细胞周期, 通过细胞外调节蛋白激酶 ERK1/2 途径和 p38 途径使细胞停滞于 S-G<sub>2</sub>/M 期, 同时通过线粒体凋亡途径诱导细胞凋亡<sup>[21]</sup>。积雪草酸可以通过诱导胞内钙离子的释放, 促进 p53 蛋白的表达, 从而诱导 HepG2 细胞凋亡<sup>[22]</sup>。

积雪草酸在体内也显示出很好的抗肿瘤作用, 积雪草酸可以明显地减少苯二甲酸 (TPA) 引起的小鼠皮肤肿瘤的发生, 其作用是通过抑制一氧化氮合酶、环氧合酶-2 (COX-2) 的表达实现的<sup>[23]</sup>。

### 1.3 改善认知作用

积雪草酸具有增强记忆力、改善神经认知障碍的功效, 对人类的神经退行性病变具有一定的缓解作用。

积雪草酸对大脑中动脉栓塞 (MCAO) 模型小鼠的神经具有保护作用, 呈“U 型”剂量-反应关系, 30、165 mg/kg 的积雪草酸对脑梗死体积无影响, 而 75 mg/kg 的积雪草酸可以减少 46% 的脑梗死体积, 其机制可能与减少血脑屏障的通透性、降低线粒体细胞膜电位的下降程度和清除释放的 CytC 有关<sup>[24]</sup>。在神经生长因子的条件下, 积雪草酸可显著增加 SH-SY5Y 细胞轴突的延伸, 同时可加快 SD 大鼠受损坐骨神经突的再生, 通过作用于胞外信号调节激酶 ERK 信号转导途径加快受损神经修复<sup>[25]</sup>。积雪草酸可缓解 β-淀粉样蛋白引起的神经毒性, 减少神经元的变性与死亡, 对阿尔茨海默病 (AD) 有一定的治疗与预防作用<sup>[26]</sup>。将积雪草酸作用于原代大鼠皮层神经元细胞, 发现积雪草酸可通过下调淀粉蛋白前 β 位分解酶 1 (BACE1) 的表达、上调人解整合素样金属蛋白酶 10 (ADAM10) 的表达从而减少 Aβ 的生成量, 同时还可促进神经突和树突的再生, 提示积雪草酸具有一定的治疗 AD 的作用<sup>[27]</sup>。积雪草酸可剂量依赖性地对抗 C<sub>2</sub>-神经酰胺引起的细胞数量的减少和神经突的缺失, 抑制基质金属蛋白酶 (MMPs) 水平的降低, 减少 ROS 的产生, 下调 Bax 的表达和抑制 caspase-3 的活性, 通过作用于 ERK1/2 途径而发挥其神经保护作用<sup>[28]</sup>。积雪草酸

对 $\beta$ -淀粉样蛋白25-35(A $\beta$ <sub>25-35</sub>)诱导的B103细胞凋亡抑制率能达到80%，且能抑制H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>诱导的细胞毒性<sup>[29]</sup>。

积雪草酸可明显地增强过表达 $\alpha$ -突触核蛋白( $\alpha$ -synudein)的转基因PD果蝇的攀爬能力和寿命，且对SH-SY5Y神经细胞具有保护作用，明显地拮抗鱼藤酮、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和谷氨酸诱导的细胞形态学改变和存活率下降，可很好地拮抗PD样损伤，其保护作用可能是通过清除自由基和过量的ROS，减少线粒体外膜电压依赖性阴离子通道(VDAC)的表达和降低线粒体膜电位实现的，0.01~100 nmol/L的积雪草酸可以有效地缓解鱼藤酮和H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>引起的SH-SY5Y细胞的线粒体功能障碍和氧化损伤<sup>[30]</sup>。

积雪草酸有增强学习能力的活性。积雪草酸衍生物作用于东莨菪碱引起的学习记忆获得型障碍小鼠模型，发现0.1~10 mg/kg的积雪草酸衍生物可以明显缩短被动回避实验中小鼠进入暗室的潜伏期，缩短水迷宫实验的逃避潜伏期和总游泳距离，对东莨菪碱引起的记忆障碍有明显的改善作用，其机制可能与中枢胆碱能系统、谷氨酸能系统有关<sup>[31]</sup>。急性摄入积雪草酸可显著增强SD大鼠被动回避实验中的学习记忆能力，增强主动回避实验中的学习能力，而对主动回避实验的记忆能力无影响，说明积雪草酸具有一定的增强学习记忆的作用<sup>[32]</sup>。

积雪草酸可以明显缩短小鼠强迫游泳实验和悬尾实验中的不动时间，并可以拮抗利血平所致的眼睑下垂，表明积雪草酸具有抗抑郁作用<sup>[33]</sup>。

#### 1.4 降糖作用

积雪草酸可对抗链脲佐菌素引起的糖尿病大鼠心肌线粒体的细胞膜电位、ATP酶活性、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)活性的下降，对糖尿病的并发症起到一定的缓解作用<sup>[34]</sup>。积雪草酸可显著地增加四氧嘧啶诱导的糖尿病小鼠的葡萄糖排出量，可能通过抑制糖元磷酸化酶的活性从而达到降血糖的效果<sup>[35]</sup>。积雪草酸及其衍生物对糖原磷酸化酶具有抑制作用，其中积雪草酸的IC<sub>50</sub>为17  $\mu$ mol/L<sup>[36]</sup>。积雪草酸对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶也具有抑制作用，其IC<sub>50</sub>为(30.03 $\pm$ 0.41)  $\mu$ g/mL<sup>[37]</sup>。

#### 1.5 抗炎作用

积雪草酸可以显著抑制肿瘤坏死因子(TNF- $\alpha$ )引起的白细胞介素-8(IL-8)的分泌量的增加，具有明显的抗炎效果<sup>[38]</sup>。积雪草酸可以显著抑制LPS引起的RAW264.7细胞的炎症反应，其机制是通过

降低NO的量和TNF- $\alpha$ 的分泌而发挥作用的<sup>[39]</sup>。积雪草酸可以通过抑制诱导型NO合酶(iNOS)、COX-2、IL-6、IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 的表达从而显著抑制LPS诱导的鼠巨噬细胞RAW264.7炎症反应<sup>[40]</sup>。

#### 1.6 抑菌作用

积雪草酸对白色念珠菌、新生隐球菌、申克孢子丝菌、大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、志贺氏菌、金黄色葡萄球菌、克柔念珠菌等微生物均具有很好的抑制作用<sup>[41-43]</sup>。可以降低铜绿假单胞菌对抗生素的耐药性，且能够协同增强抗生素的作用<sup>[44]</sup>。

#### 1.7 护肤作用

积雪草酸可对抗UVA照射引起的ROS的增多、脂质过氧化，并可明显地抑制UVA引起的MMP-2和p53的表达，从而减少胶原蛋白的分解、角化细胞的凋亡，保护皮肤对抗紫外线的损伤<sup>[45]</sup>。可以显著促进成纤维细胞中I型胶原蛋白的合成<sup>[46]</sup>。比较积雪草酸提取物及3种主要成分积雪草酸、积雪草苷、羟基积雪草酸对鼠伤口愈合的作用，发现积雪草酸是最有效的促进伤口愈合的成分<sup>[47]</sup>。

### 2 积雪草酸的结构修饰

积雪草酸是一种多功能活性成分，但由于其溶解度小、生物利用度低、难透过血脑屏障等缺点从而限制了其应用。因此，为了寻找高效、低毒的新药，对积雪草酸进行结构修饰和性状改善，获得生物利用度更高、活性更好的衍生物，对积雪草酸的应用与开发具有非常重要的意义。

#### 2.1 化学修饰

通过评价合成的24种积雪草酸衍生物对糖原磷酸化酶的抑制作用，发现积雪草酸苄酯衍生物显示出比积雪草酸更强的抑制作用；C-28位引入亲水基团后，其抑制糖原磷酸化酶的作用显著降低或完全丧失；同时研究还表明积雪草酸(2 $\alpha$ -OH)比毛花猕猴桃酸(2 $\beta$ -OH)拥有更强的功能活性<sup>[48]</sup>。对积雪草酸的C-2、3、23和28位上的功能基团进行了修饰，并评价了所得到的5个化合物的保肝作用，结果表明，将C-23位上的羟基修饰成醛基后，可以显著地减轻D-GalN和CCl<sub>4</sub>诱导的原代肝实质细胞的损伤程度；在C-2位上引入苄氧基或羰基后保肝作用显著增强；将C-2位上的氧去除后，对CCl<sub>4</sub>诱导的肝损伤具有明显的缓解作用，对D-GalN诱导的肝损伤有中等强度的保护作用，分别为58.3%和30.7%；在C-2位上引入甲氧基后，其保肝作用基本丧失<sup>[49]</sup>。

对化学合成的 10 个积雪草酸衍生物的伤口愈合活性进行评价, 表明甲基乙基-2-羰基-3, 23-异丙基积雪草酸具有很强的促进伤口愈合和防止瘢痕增生的作用<sup>[50]</sup>。用化学方法对积雪草酸进行结构修饰, 得到积雪草酸衍生物 3 $\beta$ , 23-二羟基熊果-12-烯-28-醇, 通过对其抑菌活性进行测定后发现, 与积雪草酸相比, 其抑菌活性基本丧失<sup>[42]</sup>。对合成的 28 种积雪草酸衍生物的改善认知活性进行评价, 当 C-2 羰基化后, 神经保护作用降低, C-2 位的羟基丢失后, 对其神经保护作用影响不大<sup>[29]</sup>。积雪草酸 C-28 位甲酯化和糖苷化后, 其细胞毒性降低; 当 C-2 位氰基化后, 细胞毒性急剧上升, 引入苯氧基后, 细胞毒性下降; C-11 位羰基化后, 细胞毒性急剧降低<sup>[51]</sup>。

稀土化合物具有抗炎、抗肿瘤等一系列特殊的药理作用, 且毒性低, 至今未发现口服或外用稀土配合物后在体内的积累。通过体外抗氧化实验发现, 积雪草酸稀土配合物体外清除氧自由基的能力与积雪草酸相当, 基本保持积雪草酸的抗氧化作用, 说明积雪草酸经配合后主要活性基团没有改变。对积雪草酸及其稀土配合物的抗肿瘤作用进行研究, 发现与积雪草酸相比, 其配合物 AA-Tb、AA-Ce、AA-Eu 的细胞毒性更强, 通过 Ca<sup>2+</sup>诱导的线粒体肿胀实验发现积雪草酸可与线粒体发生直接作用, 诱导细胞凋亡<sup>[52]</sup>。

由于乌苏烷型五环三萜类化合物的活性位点少, 化学修饰位点多局限在 C-2、3、23 位羟基, C-28 羰基, C-12 双键等, 所获得的化合物结构相对单一, 不利于其构效关系研究。

## 2.2 生物转化

目前关于积雪草酸生物转化的研究较少, 使用烟草赤星病菌 *Alternaria longipes* 对积雪草酸进行结构修饰, 得到了 C-22 位和 C-30 位羟基化的积雪草酸衍生物, 分别为 2 $\alpha$ , 3 $\beta$ , 23, 30-四羟基乌苏-12-烯-28-酸、2 $\alpha$ , 3 $\beta$ , 22 $\beta$ , 23-四羟基乌苏-12-烯-28-酸和 2 $\alpha$ , 3 $\beta$ , 22 $\beta$ , 23, 30-五羟基乌苏-12-烯-28-酸<sup>[53]</sup>。用 *Penicillium lilacinum* 和 *Fusarium equiseti* 对积雪草酸进行转化可以获得单一的转化产物 2 $\alpha$ , 3 $\beta$ , 15 $\alpha$ , 23-四羟基乌苏-12-烯-28-酸; *Streptomyces griseus* 可以对积雪草酸进行转化, 获得 3 个代谢产物 2 $\alpha$ , 3 $\beta$ , 21 $\beta$ , 23-四羟基乌苏-12-烯-28-酸、2 $\alpha$ , 3 $\beta$ , 23-三羟基乌苏-12-烯-28, 30-二酸和 2 $\alpha$ , 3 $\beta$ , 23, 30-四羟基乌苏-12-烯-28-酸<sup>[54]</sup>。使用微生物对积雪草酸进行生物转

化, 主要的化学反应类型为羟基化、羰基化, 取代位点主要是 C-7、15、21、22、30, 羟基化产物羟基的相对构型在 C-7、21、22 为  $\beta$  构型, 在 C-15 为  $\alpha$  构型。

## 3 展望

积雪草酸为中药积雪草的主要有效成分, 积雪草早在《神农本草经》中已有记载, 其在医药领域中的应用已有几千年的历史, 疗效确切。作为积雪草的有效成分, 积雪草酸显示了广泛的药理作用, 如抗炎、护肤、保肝、抗抑郁、降血糖、神经保护、抗肿瘤等, 多数药理活性的作用机制已经明确, 为积雪草酸及其衍生物的开发应用提供了理论依据。但是积雪草酸也存在溶解度小、生物利用度低、难透过血脑屏障等不足, 所以需要积雪草酸进行更广泛的结构修饰和活性筛选研究, 以满足药物开发的需要。同时, 还应对积雪草酸及其结构类似物进行更深入的临床前研究, 为开发积雪草酸药物奠定理论基础。

## 参考文献

- [1] 赵宇新, 李曼玲, 冯伟红, 等. 积雪草酸的研究进展 [J]. 中国中医药信息杂志, 2002, 9(8): 81-84.
- [2] Devkota A, Dall A S, Innocenti G, *et al.* Quantitative analysis of secondary metabolites in *Centella asiatica* grown under different habitats [J]. *Chem Anal*, 2009, 54(1): 69-75.
- [3] Tsiri D, Aligiannis N, Graikou K, *et al.* Triterpenoids from *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh [J]. *Helv Chim Acta*, 2008, 91(5): 2110-2114.
- [4] 杨光, 谭家驹, 何瑞华, 等. 积雪草酸阻断大鼠肝纤维化的实验研究 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2009, 15(7): 540-542.
- [5] 汤丽霞, 杨光, 谭家驹. 积雪草酸诱导大鼠肝星状细胞凋亡 [J]. 中草药, 2009, 40(12): 230-232.
- [6] Jeong B S, Lee M K, Kim Y C, *et al.* Modification of C2 functional group on asiatic acid and the evaluation of hepatoprotective effects [J]. *Arch Pharmacol Res*, 2007, 30(3): 282-289.
- [7] Lee M K, Kim S H, Yang H, *et al.* Asiatic acid derivatives protect primary cultures of rat hepatocytes against carbon tetrachloride-induced injury via the cellular antioxidant system [J]. *Nat Prod Commun*, 2009, 4(6): 765-768.
- [8] Jeong B S, Kim Y C, Lee E S. Modification of C2, 3, 23, 28 functional groups on asiatic acid and evaluation of hepatoprotective effects [J]. *Bull Korean Chem Soc*, 2007, 28(6): 977-982.

- [9] Gao J, Chen J, Tang X H, *et al.* Mechanism underlying mitochondrial protection of asiatic acid against hepatotoxicity in mice [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2006, 58(2): 227-233.
- [10] Ma K F, Zhang Y Y, Zhu D Y, *et al.* Protective effects of asiatic acid against *D*-galactosamine/ lipopolysaccharide-induced hepatotoxicity in hepatocytes and kupffer cells co-cultured system via redox-regulated leukotriene C<sub>4</sub> synthase expression pathway [J]. *Eur J Pharmacol*, 2009, 603(3): 98-107.
- [11] Tang X L, Yang X Y, Jung H J, *et al.* Asiatic acid induces colon cancer cell growth inhibition and apoptosis through mitochondrial death cascade [J]. *Biol Pharm Bull*, 2009, 32(8): 1399-1405.
- [12] Takaya M, Nomura M, Takahashi T, *et al.* 23-Hydroxyursolic acid causes cell growth-inhibition by inducing caspase-dependent apoptosis in human cervical squamous carcinoma HeLa cells [J]. *Anticancer Res*, 2009, 29(4): 995-1000.
- [13] Cho C W, Choi D S, Cardone M H, *et al.* Glioblastoma cell death induced by asiatic acid [J]. *Cell Biol Toxicol*, 2006, 22(6): 393-408.
- [14] Park B C, Bosire K O, Lee E S, *et al.* Asiatic acid induces apoptosis in SK-MEL-2 human melanoma cells [J]. *Cancer Lett*, 2005, 218(1): 81-90.
- [15] Guefinkel D M, Chow S, Hurren R, *et al.* Disruption of the endoplasmic reticulum and increases in cytoplasmic calcium are early events in cell death induced by the natural triterpenoid asiatic acid [J]. *Apoptosis*, 2006, 11(9): 1463-1471.
- [16] Yoshida M, Fuchigami M, Nagao T, *et al.* Antiproliferative constituents from umbelliferae plants VII. Active triterpenes and rosmarinic acid from *Centella asiatica* [J]. *Biol Pharm Bull*, 2005, 28(1): 173-175.
- [17] 吕婷婷, 刘芳, 陈燕, 等. 积雪草酸对多发性骨髓瘤细胞增殖活性的影响及其机制探讨 [J]. *中草药*, 2010, 41(9): 1484-1488.
- [18] 吕婷婷, 陈燕, 姜旭东, 等. 积雪草酸对慢性髓细胞白血病急变株 K562 细胞增殖的影响及其机制 [J]. *中国医院药学杂志*, 2010, 30(17): 1428-1431.
- [19] 周军, 高静, 方春钱, 等. 积雪草酸对肝癌细胞增殖作用的影响 [J]. *江苏大学学报: 医学版*, 2009, 19(6): 475-479.
- [20] 张蓉仙, 朱禹, 郭文浩, 等. 线粒体靶向的积雪草酸稀土配合物的合成及抗肿瘤活性 [J]. *化学试剂*, 2009, 31(12): 961-963.
- [21] Hsu Y L, Kuo P L, Lin L T, *et al.* Asiatic acid, a triterpene, induces apoptosis and cell cycle arrest through activation of extracellular signal-regulated kinase and p38 mitogen-activated protein kinase pathways in human breast cancer cells [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2005, 313(1): 333-344.
- [22] Lee Y S, Jin D Q, Kwon E J, *et al.* Asiatic acid, a triterpene, induces apoptosis through intracellular Ca<sup>2+</sup> release and enhanced expression of p53 in HepG2 human hepatoma cells [J]. *Cancer Lett*, 2002, 186(1): 83-91.
- [23] Park B C, Bosire K O, Lee E S, *et al.* Asiatic acid induces apoptosis in SK-MEL-2 human melanoma cells [J]. *Cancer Lett*, 2005, 218(1): 81-90.
- [24] Krishnamurthy R G, Senut M C, Zemke D, *et al.* Asiatic acid, a pentacyclic triterpene from *Centella asiatica*, is neuroprotective in a mouse model of focal cerebral ischemia [J]. *J Neurosci Res*, 2009, 87(11): 1-18.
- [25] Soumyanath A, Zhong Y P, Gold S A, *et al.* Centella asiatica accelerates nerve regeneration upon oral administration and contains multiple active fractions increasing neurite elongation *in vitro* [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2005, 57(2): 1221-1229.
- [26] Jew S S, Yoo C H, Lim D Y, *et al.* Structure-activity relationship study of asiatic acid derivatives against beta amyloid(A beta)-induced neurotoxicity [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2000, 10(2): 119-121.
- [27] Patil S P, Maki S, Khedkar S A, *et al.* Withanolide A and asiatic acid modulate multiple targets associated with amyloid- $\beta$  precursor protein processing and amyloid- $\beta$  protein clearance [J]. *J Nat Prod*, 2010, 73(7): 1196-1202.
- [28] Zhang X N, Wu J Y, Dou Y, *et al.* Asiatic acid protects primary neurons against C<sub>2</sub>-ceramide-induced apoptosis [J]. *Eur J Pharmacol*, 2012, 679(1): 51-59.
- [29] Inhee M J, Shin E J, Sung H Y, *et al.* Protective effects of asiaticoside derivatives against beta-amyloid neurotoxicity [J]. *J Neurosci Res*, 1999, 58(3): 417-425.
- [30] Xiong Y Y, Ding H Q, Xu M F, *et al.* Protective effects of asiatic acid on rotenone- or H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced injury in SH-SY5Y cells [J]. *Neurochem Res*, 2009, 34(2): 746-754.
- [31] Kim S R, Koo K A, Lee M K, *et al.* Asiatic acid derivatives enhance cognitive performance partly by improving acetylcholine synthesis [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2004, 56(9): 1275-1282.
- [32] Nasir M N, Habsah M, Zamzuri I, *et al.* Effects of asiatic acid on passive and active avoidance task in male sprague-dawley rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 134(3): 203-209.
- [33] 曹尉尉, 陆波. 积雪草总三萜酸及其主要成分的抗抑郁活性研究 [J]. *药学实践杂志*, 2008, 26(3):

- 185-187.
- [34] 方春钱, 高静, 周军, 等. 积雪草酸对糖尿病大鼠心脏及其线粒体的保护作用 [J]. 江苏大学学报: 医学版, 2010, 20(2): 157-165.
- [35] Yang J, Chen H, Zhang L, *et al.* Anti-diabetic effect of standardized extract of *Potentilla discolor* Bunge and identification of its active components [J]. *Drug Dev Res*, 2010, 71(2): 127-132.
- [36] Zhang L Y, Chen J, Gong Y C, *et al.* Synthesis and biological evaluation of asiatic acid derivatives as inhibitors of glycogen phosphorylases [J]. *Chem Biol*, 2009, 6(6): 864-874.
- [37] Hou W L, Li Y F, Zhang Q, *et al.* Triterpene acids isolated from *Lagerstroemia speciosa* leaves as alpha-glucosidase inhibitors [J]. *Phytother Res*, 2009, 23(5): 614-618.
- [38] Thuong P T, Jin W, Lee J, *et al.* Inhibitory effect on TNF-alpha-induced IL-8 production in the HT29 cell of constituents from the leaf and stem of *Weigela subsessilis* [J]. *Arch Pharmacol Res*, 2005, 28(10): 1135-1141.
- [39] Nguyen X N, Bui H T, Tran H Q, *et al.* A new ursane-type triterpenoid glycoside from *Centella asiatica* leaves modulates the production of nitric oxide and secretion of TNF-alpha in activated RAW 264. 7 cells [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2011, 21(6): 1777-1781.
- [40] Yun K J, Kim J Y, Kim J B, *et al.* Inhibition of LPS-induced NO and PGE(2) production by asiatic acid via NF-kappa B inactivation in RAW 264. 7 macrophages: Possible involvement of the IKK and MAPK pathways [J]. *Int Immunopharmacol*, 2008, 8(3): 431-441.
- [41] Masoko P, Picard, Howard R L, *et al.* *In vivo* antifungal effect of *Combretum* and *Terminalia* species extracts on cutaneous wound healing in immunosuppressed rats [J]. *Pharm Biol*, 2010, 48(6): 621-632.
- [42] 赵龙铉, 周晓琳, 郑吕吉, 等. 3β, 23-二羟基熊果-12-烯-28-醇的合成、表征及抑菌活性研究 [J]. 大连大学学报, 2009, 20(6): 34-37.
- [43] Bisoli E, Garcez W S, Hamerski L, *et al.* Bioactive pentacyclic triterpenes from the stems of *Combretum laxum* [J]. *Molecules*, 2008, 13(11): 2717-2728.
- [44] Garo E, Eldridge G R, Goering M G, *et al.* Asiatic acid and corosolic acid enhance the susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms to tobramycin [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2007, 51(5): 1813-1817.
- [45] Lee Y S, Jin D Q, Beak S M, *et al.* Inhibition of ultraviolet-A-modulated signaling pathways by asiatic acid and ursolic acid in HaCaT human keratinocytes [J]. *Eur J Pharmacol*, 2003, 476(3): 173-178.
- [46] Bonte F, Dumas M, Chaudagne C, *et al.* Influence of asiatic acid, madecassic acid, and asiaticoside on human collagen-I synthesis [J]. *Planta Med*, 1994, 60(2): 133-135.
- [47] Maquart F X, Chastang F, Simeon A, *et al.* Triterpenes from *Centella asiatica* stimulate extracellular matrix accumulation in rat experimental wounds [J]. *Eur J Dermatol*, 1999, 9(4): 289-296.
- [48] Zhang L Y, Chen J, Gong Y C, *et al.* Synthesis and biological evaluation of asiatic acid derivatives as inhibitors of glycogen phosphorylase [J]. *Chem Biodivers*, 2009, 6(6): 864-874.
- [49] Zhao L X, Park H G, Jew S S, *et al.* Modification of C11, C28, C2, 3, 23 or C2, 23, 28 functional groups on asiatic acid and evaluation of hepatoprotective effects [J]. *Bull Korean Chem Soc*, 2007, 28(6): 970-976.
- [50] Jeong B S. Structure-activity relationship study of asiatic acid derivatives for new wound healing agent [J]. *Arch Pharmacol Res*, 2006, 29(7): 556-562.
- [51] Dong M S, Jung S H, Kim H J, *et al.* Structure-related cytotoxicity and anti-hepatofibrotic effect of asiatic acid derivatives in rat hepatic stellate cell-line, HSC-T6 [J]. *Arch Pharmacol Res*, 2004, 27(5): 512-517.
- [52] 林娜. 积雪草酸及其稀土配合物抑制肿瘤细胞增殖的作用及其线粒体机制 [D]. 镇江: 江苏大学, 2009.
- [53] He W N, Dai J G, Ye M, *et al.* Microbial transformation of asiatic acid by *Alternaria longipes* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2010, 12(9): 760-764.
- [54] Guo F F, Feng X, Chu Z Y, *et al.* Microbial transformation of asiatic acid [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2013, 15(1): 15-21.