

Research Progress on Pharmacological Effects of Asiatic Acid and Its Derivatives

Yanqiu Meng, Xueyu Lu, Yi Tang, Jia Cao, Liwei Liu

Shenyang University of Chemical Technology, Shenyang Liaoning
Email: myq6581@163.com, xueylu@163.com

Received: Mar. 3rd 2016; accepted: Mar. 17th, 2016; published: Mar. 22nd, 2016

Copyright © 2015 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

Abstract

Asiatic acid is a type of pentacyclic triterpene acid from *Centella asiatica*. It has been found that Asiatic acid has various of pharmacological effects, such as anti-inflammatory, hepatoprotective, antibacterial, anti-depressant, hypoglycemia, antitumor and so on. In this paper, the research progress of pharmacological activity of asiatic acid and its structural modification has been reviewed and forecasted.

Keywords

Asiatic Acid, Asiatic Acid Derivatives, Pharmacological Effects, Structural Modification

积雪草酸药理作用及其衍生物的研究进展

孟艳秋, 鹿学宇, 汤义, 曹佳, 刘立伟

沈阳化工大学, 辽宁 沈阳
Email: myq6581@163.com, xueylu@163.com

收稿日期: 2016年3月3日; 录用日期: 2016年3月17日; 发布日期: 2016年3月22日

摘要

积雪草酸是一种乌苏烷型五环三萜酸, 主要来源于伞形科植物积雪草。研究发现积雪草酸具有抗炎护肤、

保肝、抑菌、抗抑郁、降血糖、抗肿瘤等药理作用。本文对积雪草酸的药理活性及结构修饰的研究进展进行综述并进行展望。

关键词

积雪草酸, 积雪草酸衍生物, 药理作用, 结构修饰

1. 引言

积雪草酸(Asiatic acid, AA), 又名亚细亚酸, 是天然植物积雪草(*Centella asiatica* (L.) Urban)的三萜提取物的主要成分之一, 具有乌苏烷型骨架结构[1] [2], 其结构如图 1。它是由 Bontems 在 1941 年首次分离, 由 Polonsky 确定了结构。其化学名: 2 α , 3 β , 23-三羟基-乌苏烷型-12-烯-28-酸。积雪草酸为白色粉末, 无臭, 味苦, 分子式为 C₄₈H₇₈O₅, 分子量为 488.70, 熔点为 325℃~330℃, 不溶于水, 溶于无水乙醇、二甲亚砜、四氢呋喃等有机溶剂。

AA 及其衍生物具有广泛的生物学活性, 包括抗菌、抗病毒、抗阿尔茨海默病、保护心脑血管以及抗肿瘤等作用。在很长的一段时间里, 积雪草酸主要被用作伤口愈合, 保护细胞活性免受由紫外线引起的老化。最近, 积雪草酸具有引起各种肿瘤细胞凋亡的活性成为了研究热点。例如, 积雪草酸已经被陆续报道具有强烈的抑制各种肿瘤细胞增长的活性, 包括肝癌、乳腺癌、黑色素瘤、恶性胶质瘤和胃肠道肿瘤细胞[3]。随着国内外对积雪草酸及其衍生物的深入研究, 其药理活性和医用价值正不断被发现。

作为积雪草主要的有效成分, 积雪草酸显示了广泛的药理作用。大部分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奠定了理论基础。但是积雪草酸也存在溶解度小、生物利用度低、难透过血脑屏障等问题。因此, 对积雪草酸进行更广泛的结构修饰和活性筛选研究是十分有必要的, 它可以满足药物开发的要求。

本文在前人对积雪草酸的研究成果基础上, 综合阐述了积雪草酸的药理作用以及结构修饰概况, 以期对后者有一定借鉴意义。

2. 积雪草酸的药理作用

2.1. 护肤作用

自从 1971 年 Chasseaud 等[4]确定了积雪草酸本身具有治疗皮肤创伤的作用以后, 积雪草提取物(主要含积雪草酸和积雪草皂苷)就一直用于治疗皮肤创伤与慢性溃疡, 也用于治疗因结核病和麻风病而引起的皮肤变形。通常皮肤很容易直接暴露在紫外线(UVA)下, 是对 UVA 最易感的器官。UVA 损伤后会出

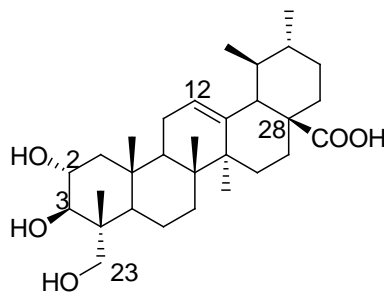


Figure 1. Asiatic acid

图 1. 积雪草酸

现皮肤的早老现象,即光老化。UVA 介导的信号转导途径最终导致光老化,其最重要的两个原因是氧自由基的过度产生和基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMPs)的出现。用紫外线照射 HaCaT 角化细胞,可诱导氧化应激,增强 MMP-2 的表达,造成 UVA 介导的信号通路的改变。积雪草酸能够显著抑制紫外线诱导的氧自由基类产物的生成和脂质过氧化反应。用 5 微摩尔的积雪草酸处理后可以使 UVA 诱导的 MMP-2 的表达水平下降,并降低 MMP-2 蛋白的活性[5]。另外,UVA 能够增加 HaCaT 细胞 p53 表达,这是 UVA 诱导的 DNA 损伤和细胞死亡的特点。积雪草酸预处理后也可显著抑制这一过程。因此,积雪草酸能有效抑制由 UVA 导致的皮肤损伤,预防 UVA 诱导的光老化。通过比较积雪草酸、积雪草苷、羟基积雪草酸对鼠伤口愈合的作用,发现积雪草酸是促进伤口愈合的最有效成分[6]。

2.2. 抑菌作用

研究发现,积雪草酸对白色念珠菌、克柔念珠菌、新生隐球菌、大肠杆菌、申克孢子丝菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、志贺氏菌等微生物均具有很好的抑制作用[7]。

2.3. 抗抑郁作用

为了提高药物的生物利用度,李铁军等[8]合成了积雪草酸钠、铵等盐类衍生物,采用经典的小鼠悬尾及强迫游泳实验模型,发现积雪草酸、积雪草酸钠盐及羟基积雪草酸在 30 mg/kg 剂量下可明显缩短小鼠悬尾及强迫游泳的不动时间。此外,在拮抗由利血平引起的小鼠眼睑下垂的实验中,他们还发现积雪草酸钠盐、积雪草酸及羟基积雪草酸在 60 mg/kg 剂量下具有明显的拮抗作用,效果明显优于三环类上市药物多塞平,因此可以判断积雪草酸及其衍生物具有较强的抗抑郁活性。

2.4. 降糖作用

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,具体作用尚不明确,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[9]。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、超氧化物歧化酶(SOD)、ATP 酶、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[10]。

2.5. 抗炎作用

据报道,积雪草酸可以显著抑制肿瘤坏死因子(TNF- α)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[11]。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- α 的分泌发挥作用[12]。由于积雪草酸具有良好的抗炎作用,在临床上已用于外科疾病的治疗和美容保健领域,如皮肤创伤、慢性溃疡、伤口迟缓愈合、外科手术损伤和蜂窝织炎及洗发生发等方面。

2.6. 对肝损伤的保护作用

积雪草酸可抑制大鼠肝星状细胞(HSC-T6)活化和转化,使 α 肌动蛋白(α -SMA)表达下降,从而抑制肝纤维化。积雪草酸保肝的作用机制是通过保护肝脏细胞线粒体和清除超氧阴离子和羟自由基。研究表明,积雪草酸能够抑制 TGF- β 诱导的大鼠肝星状细胞活化和转化[13]。积雪草酸上调 Smad7 mRNA 负反馈信号,通过 Smad7 阻止 TGF- β 诱导的大鼠肝星状细胞 I 型胶原蛋白合成,从而达到抑制肝纤维化的效果。积雪草酸是一种能显著地抗肝纤维化的药物。其类似物对由半乳糖胺和四氯化碳诱导的肝细胞毒性具有较强的保护作用。鉴于目前三萜类化合物广泛的研究前景,并且积雪草酸在清除自由基、保护线粒体等方面的作用都强于齐墩果酸(OA)和熊果酸(UA),积雪草酸具有被研发成为新型护肝药的前景。

2.7. 改善认知作用

历史上早有将积雪草提取物用作补脑用品的记载。许多研究证实了积雪草酸及其类似物具有抗抑郁的作用。在筛选具有抗抑郁作用的天然活性成分过程中, 研究人员发现积雪草的化学成分中除挥发油和极性较大的苷类成分外, 非挥发性脂溶性部分也具有很强的抗抑郁作用, 对该部分进行分离, 发现活性部位是积雪草总苷元, 进一步分离得到积雪草酸和羟基积雪草酸, 均显示较强抗抑郁作用。

阿尔茨海默症(Alzheimer's disease, AD)是一种大家较为熟悉的神经退行性疾病, 已经严重影响人们的日常生活。目前, 对 AD 的研究成为热点。通常在 AD 病人的脑内可以观察到 β -淀粉样蛋白(amyloid-beta peptide, A β peptide)的沉积。A β 蛋白的聚集与氧化应激、线粒体损伤等多种因素相关。通过研究积雪草酸及其类似物对抗 A β 诱导的神经毒性的作用, 发现积雪草酸能够增强认知, 并通过增强细胞的抗氧化作用而达到神经保护的目的[14]。积雪草酸对 A β 诱导的细胞凋亡具有很强的保护作用, 在阻断 A β 诱导的细胞凋亡时仍能保持海马回的生理功能。

2.8. 保护心脑血管

心脑血管疾病是心血管疾病和脑血管疾病的统称, 泛指由于高脂血症、血液粘稠、动脉粥样硬化、高血压等所导致的心脏、大脑及全身组织发生缺血性或出血性的疾病, 包括冠心病、心绞痛、心肌梗塞、脑梗塞、脑痴呆、脑出血等。积雪草酸及其衍生物具有显著的抗心肌梗死活性, 对于防治冠心病、心绞痛、心肌梗死和脑血栓形成、脑栓塞等心脑血管疾病均有特效[15]。

2.9. 抗肿瘤作用

目前国内外研究表明积雪草酸对结肠癌细胞、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。

1) 诱导肿瘤细胞凋亡作用: Hsu 等[16]发现积雪草酸可诱导人乳腺癌细胞 MCF-7 和 MDA-MB-231 的凋亡, 其作用机制是通过激活有丝分裂原激活蛋白激酶(MAPKs)p38 信号传导通路而诱导细胞凋亡。Park 等[17]发现积雪草酸可诱导人黑色素瘤细胞 SK-MEL-2 的凋亡, 其作用机制为通过增加细胞内活性氧(ROS), 提高 Bax 的表达而改变 Bax/Bcl-2 的比例, 进而激活 caspase-3 等途径而诱导细胞凋亡。黄云虹等[18]发现积雪草酸皂苷与长春新碱合用对人口腔鳞癌细胞敏感株 KB 及耐药株 KBv200、人乳腺癌细胞敏感株 MCF-7 和耐药株 MCF-7/ADM 均有显著的协同作用, 合并用药组 KB 细胞凋亡率、Bcl-2 蛋白磷酸化水平明显高于长春新碱单用组, 且仅有合用组检测到活化后的 caspase-3 蛋白。

2) 增加细胞内钙离子水平: AA 在增加细胞内钙离子水平的过程可被胞内钙离子释放阻滞剂(如 TMB-8 和 dantrolene)抑制, 而胞外钙离子螯合剂(如 EGTA)对该过程没有抑制作用, 说明在 AA 诱导的 HepG2 细胞凋亡主要与内源性钙离子的释放相关[19]。

3) 提高细胞内 p53 蛋白的表达: AA 可明显提高细胞内 p53 蛋白的表达, 这一过程可被内源性钙离子释放阻滞剂(如 BAPTA/AM 和胞内钙离子螯合剂 TMB-8 和 dantrolene)抑制。与 AA 对野生型 HepG2 细胞的作用相比, AA 对于 p53 缺陷型的 Hep3B 细胞的作用并不明显, 推测 AA 诱导的细胞凋亡过程与 p53 蛋白相关, 并且内源性钙离子的释放在 p53 蛋白表达的上游; p53 蛋白是调控细胞周期的最重要的抗癌蛋白之一, 提高癌细胞内 p53 蛋白的表达, 可诱导肝癌细胞的凋亡。AA 可以通过诱导胞内钙离子释放, 促进 p53 表达增加, 最终导致 HepG2 细胞凋亡[20]。

3. 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重要意义。近年来,积雪草酸的结构修饰主要集中于对其 C-2、C-3、C-23 位羟基, C-11 位烯丙基和 C-28 位羧基的改造。

孙宏斌等[21]将积雪草酸的 2, 3, 23 位羟基进行乙酰化保护, 28 位羧基与不同氨基酸反应合成一系列 AA 的氨基酸类衍生物, 其中 28 位羧基与甘氨酸、丙氨酸及苯丙氨酸反应得到的 1a、1b、1d (见图 2), 在其对 rabbit 肌糖原磷酸化酶的抑制活性实验中表现出一定活性, 其 IC_{50} ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 值分别为 101、112.3 和 104.3, 而将乙酰氧基水解成羟基后, 所得衍生物在 $100\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下均无活性, 其抑制活性数据如表 1 所示。这些数据表明将积雪草酸的 2, 3, 23 三位羟基制备成前药形式, 再将 28 位与氨基酸进行酰化所得到的积雪草酸的氨基酸类衍生物对糖原磷酸化酶具有抑制作用。

朱尚涉等[22]将 AA 的 A 环进行改造得到化合物 2、3、4、5、6 (见图 3), 并检测其对 P388D1 淋巴瘤细胞系、Malme-3M 黑色素瘤细胞系和 Detoit 551 正常细胞系的细胞毒性(ED_{50} 值达到 $4\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 被视为具细胞毒性)。检测数据如表 2 所示, 表明对 A 环进行改造后的积雪草酸衍生物对 P388D1 淋巴瘤细胞系, Malme-3M 黑色素瘤细胞系均有不同程度的细胞毒性, 但 4, 6 对 P388D1 淋巴瘤细胞系的细胞毒性最强; 2 对 Malme-3M 黑色素瘤细胞系的细胞毒性强于其他衍生物, 但对正常细胞系的细胞毒性也是最大的。

陈海生[23]将积雪草酸与氯化亚铂酸钾等试剂反应, 得到积雪草酸的有机铂酸盐 7 和 8 (图 4)。然后分别以高、中、低三个剂量组并以卡铂阳性药对荷 Lewis 肺癌小鼠的抑癌作用进行试验, 结果表明该铂盐类衍生物的三个剂量组都具有显著的抗肿瘤作用。

张蓉仙等[24]将积雪草酸与有抗炎、杀菌、抗癌活性的稀土硝酸盐配合后得到三种积雪草酸配合物 $\text{LnAA}(\text{NO}_3)_3\cdot 3\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}\cdot n\text{H}_2\text{O}$ ($\text{Ln} = \text{La}, \text{Ce}, \text{Eu}$) (衍生物 9-11)。对食管癌细胞(Eca-109)处理 48 h 后, 观察到三者的 IC_{50} ($\mu\text{mol}/\text{L}$) 分别为: 38.0, 27.8, 46.7, 均小于 AA (IC_{50} : $61.7\ \mu\text{mol}/\text{L}$), 如表 3 所示, 结果表明 AA 与稀土盐形成的 1:1 配合物对肿瘤细胞抑制率显著增加。稀土积雪草酸配合物能明显抑制钙离子诱导的线粒体肿胀, 表明积雪草酸稀土配合物能直接作用于线粒体, 可作为线粒体靶向性抗肿瘤化合物。

姚其正等[25]将积雪草酸与 13-正辛基小檗碱和小檗碱成盐, 得到衍生物 13-B-8-AA (12) 和 B-AA (13), 再分别进行体外和体内活性测试。体外测试将其作用于小鼠白血病细胞 L1210、人慢性髓原细胞 K562 及人肺腺癌细胞 A549, 并以顺铂为阳性对照。如表 4 所示, 13-B-8-AA 和 B-AA 对 L1210、K562、A549 的 IC_{50} ($\mu\text{mol}/\text{L}$) 分别为: 7.99、2.23、12.10 和 3.70、33.58、 >100 , 均小于顺铂(IC_{50} ($\mu\text{mol}/\text{L}$): 28.60, 58.10, 58.73), 表明与顺铂相比 B-AA 和 13-B-8-AA 有较强的抑制肿瘤生长作用。体内测试 13-B-8-AA 和 B-AA 对小鼠 S180 肉瘤(实体瘤)的抑瘤率, 数据见表 5, 表明在相同处理条件下, 13-B-8-AA 的抑瘤率 41.61% 大于 B-AA 的 39.19%, 13-B-8-AA 比 B-AA 毒性低。

Honda 等[26]将熊果酸和齐墩果酸 C-3 位羟基氧化成酮后, 将 A 环打开得到化合物 1 和 2。对前列腺细胞 NRP152、NRP154 增长抑制作用的试验研究表明, 熊果酸和齐墩果酸的 IC_{50} 均大于 $5.0\ \mu\text{mol}/\text{L}$, 化合物 1 和 2 的 IC_{50} 值分别为 2.4、 $1.5\ \mu\text{mol}/\text{L}$ 。可见 A 环开环的化合物抑制前列腺细胞 NRP152、NRP154 的生长活性一般优于母体化合物。李剑飞等[27]将 C-28 位引入氟氯苯胺基团后得到化合物 3, 对 MGC-803、NCI-H460、HeLa、HepG2 细胞株的毒性试验表明, 化合物 3 的毒性作用优于母体化合物 AA。化合物 1-3 的结构见图 5。Meng 课题组[28]将 C-2、C-3、C-23 位羟基酯化, C-12 位成脒, C-28 位成酯, 体外 SGC-7901、A549、HT-1080 细胞抑制试验显示, C-12 位成脒之后其抗肿瘤活性提高, 但是被溴取代之后其抗肿瘤活性降低, C-28 位成乙酯后化合物对 A549 的毒性明显优于对照药吉非替尼, 对 HT-1080 的细胞毒性略优于吉非替尼; 体外 HeLa、HepG2、BGC-823 细胞抑制试验显示, 将 C-2、C-3、C-23 位羟基酯化, 能够明显提高其抗肿瘤活性, 同时将 C-11 位氧化成羰基, C-28 位成酯或酰胺其抗肿瘤活性均有提高。通过对比试验表明, C-28 位引入酰胺基团所得化合物对肿瘤细胞的活性抑制程度有可能高于引入酯基所得化合物[29]。

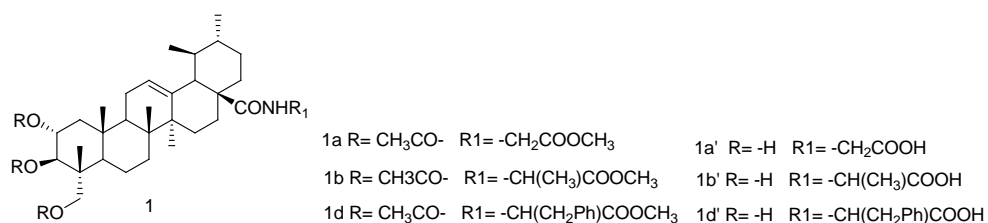


Figure 2. Amino acids derivatives of asiatic acid

图 2. 积雪草酸的氨基酸类衍生物

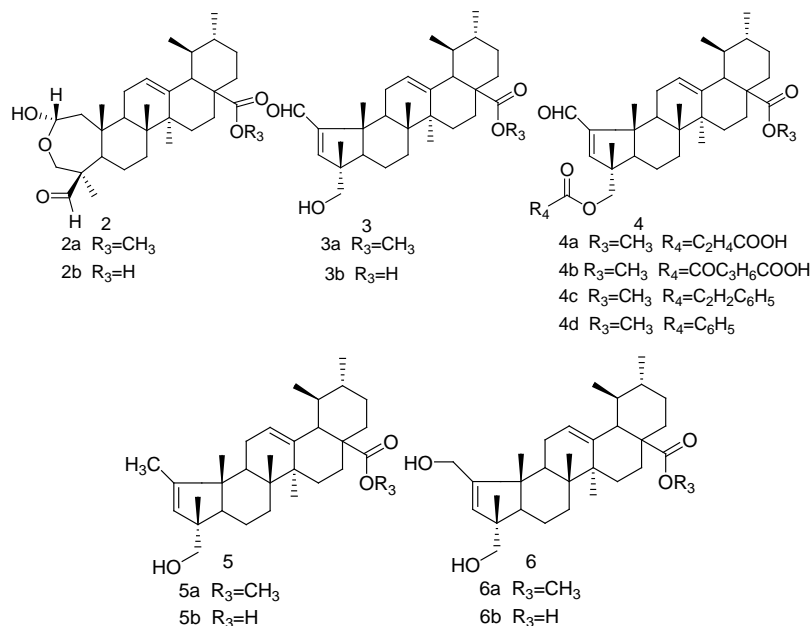


Figure 3. Asiatic acid A ring modification derivatives

图 3. A 环被修饰的积雪草酸衍生物

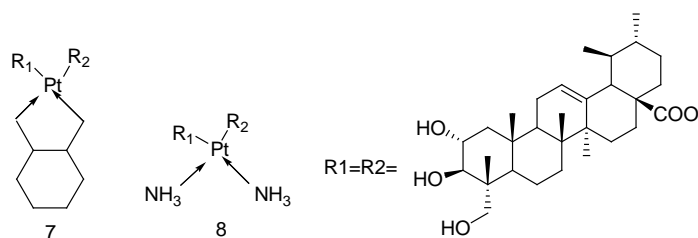


Figure 4. Asiatic acid organic molybdate salt derivatives

图 4. 积雪草酸的有机铂酸盐衍生物

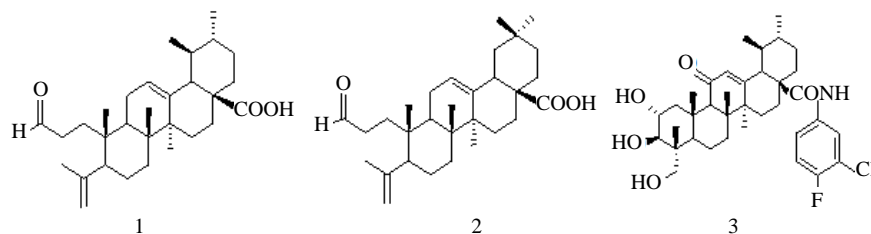


Figure 5. Compounds 1 - 3

图 5. 化合物 1~3

Table 1. Inhibitory activity of amino acids derivatives of asiatic acid on rabbit muscle glycogen phosphorylation
表 1. 积雪草酸氨基酸衍生物对 rabbit 肌糖原磷酸化酶的抑制活性

Compound	IC ₅₀ (μmol·L ⁻¹)
1a	101
1b	112.3
1d	104.3
1a'	NI
1b'	NI
1d'	NI

IC₅₀ 值均为三次实验的平均值, NI 表示在 100 μmol·L⁻¹ 浓度下没有活性。

Table 2. Cytotoxicity of asiatic acid A ring modification derivatives to different cell lines (P388D1, Malme-3M, Detoit 551)
表 2. A 环被修饰的积雪草酸衍生物对不同细胞系(P388D1、Malme-3M、Detoit 551)的细胞毒性

化合物种类	P388D1	Malme-3M	Detoit 551
2a	4.3	9.0	27.8
2b	6.81		
3a	2.4	2.9	4.7
4a	0.54		
4b	4.06		
4c	38.59		
4d	34.12		
5a	4.29		
6a	22.70		
ADR	0.7	1.0	

Table 3. IC₅₀ value of asiatic acid complexes on Eca-109 cell line
表 3. 积雪草酸配合物对 Eca-109 细胞株的 IC₅₀ 值

配合物	AA	配合物 a(9)	配合物 b(10)	配合物 c(11)
IC ₅₀	61.7	38.0	27.8	46.7

Table 4. Inhibitory effect of B-AA, 13-B-8-AA to the growth of a wide variety of tumor cell lines *in vitro*
表 4. B-AA、13-B-8-AA 对多种肿瘤细胞株的体外生长抑制作用

细胞株	顺铂		13-B-8-AA		B-AA	
	IC ₅₀ μmol/L	I 20 μmol/L	IC ₅₀ μmol/L	I 20 μmol/L	IC ₅₀ μmol/L	I 20 μmol/L
L1210	28.60	47.11	7.99	67.03	0.91	55.43
K562	58.10	43.74	2.23	74.50	0.86	67.69
A549	58.73	41.94	12.10	52.48	5.84	54.46

I: 20 μmol/L 的抑制率(%), 小鼠白血病细胞 L1210、人慢性髓原细胞 K562、人肺腺癌细胞 A549。

Table 5. Inhibition rate of B-AA, 13-B-8-AA to mice S180 sarcoma (entity type)**表 5.** B-AA、13-B-8-AA 对小鼠 S180 肉瘤(实体型)的抑制率

组别	剂量 (mg/kg)	给药方案	动物数 (0 天/10 天)	给药开始体重 (g)	实验结束去瘤体重 (g)	瘤重 (g)	抑制率 (%)
空白对照生理盐水	0.5 ml	ip × 7	10/10	19.41	21.35	1.53	
B-AA	2.5	ip × 7	10/10	19.44	17.41**	0.93**	39.19
13-B-8-AA	2.5	ip × 7	10/10	18.22	18.68**	0.89**	41.61
CTX	30	ip × 7	10/7	19.49	18.06**	0.34**	77.70

与对照组比较 $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

4. 展望

作为积雪草的有效成分, 积雪草酸具有广泛的药理作用, 如抗炎、护肤、保肝、抗抑郁、降血糖、神经保护、抗肿瘤等。积雪草酸的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、生物利用度低等不足, 所以还需要对积雪草酸进行更广泛的结构修饰和活性筛选研究, 为找到更高效、低毒的药物奠定理论基础。

致 谢

本文工作由国家自然科学基金项目(21372156)、辽宁省教育厅高等学校优秀人才支持计划项目(LR2013017)资助。

参考文献 (References)

- [1] 冯旭, 郭飞飞, 赵龙, 等. 积雪草酸药理作用及其结构修饰的研究进展[J]. 中草药, 2014, 45(7): 1037-1042.
- [2] 刘华清, 许青云, 王天麟. 积雪草酸的研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2014, 33(4): 30-33.
- [3] Li, Y., Yang, F., Yuan, M.X., Jiang, L.J., Yuan, L., Zhang, X.W., *et al.* (2015) Synthesis and Evaluation of Asiatic Acid Derivatives as Anti-Fibrotic Agents: Structure/Activity Studies. *Steroids*, **96**, 44-49. <http://dx.doi.org/10.1016/j.steroids.2014.11.001>
- [4] Chasseaud, L.F., Fry, B.J., Hawkins, D.R., Lewis, J.D., Sword, I.P., Taylor, T., *et al.* (1971) Metabolism of Asiatic Acid, Madeassic Acid and Asiaticoside in Rat. *Arzneimittel-Forschung*, **21**, 1379-1384.
- [5] Lee, Y.S., Jin, D.Q., Beak, S.M., Lee, E.S. and Kim, J.A. (2003) Inhibition of Ultraviolet-A-Modulated Signaling Pathways by Asiatic Acid and Ursolic Acid in HaCaT Human Keratinocytes. *European Journal of Pharmacology*, **476**, 173-178. [http://dx.doi.org/10.1016/S0014-2999\(03\)02177-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0014-2999(03)02177-0)
- [6] Maquart, F.X., Chastang, F., Simeon, A., Birembaut, P., Gillery, P. and Wegrowski, Y. (1999) Triterpenes from *Centella asiatica* Stimulate Extracellular Matrix Accumulation in Rat Experimental Wounds. *European Journal of Dermatology*, **9**, 289-296.
- [7] Masoko, P., Picard, J., Howard, R.L., Mampuru, L.J. and Eloff, J.N. (2010) *In Vivo* Antifungal Effect of *Combretum* and *Terminalia* Species Extracts on Cutaneous Wound Healing in Immunosuppressed Rats. *Pharmaceutical Biology*, **48**, 621-632. <http://dx.doi.org/10.3109/13880200903229080>
- [8] Li, T.J., Li, B., Qin, Y., *et al.* (2004) The Application of Asiatic Acid and Its Derivatives in the Preparation of Antidepressants. CN: 1543964.
- [9] Yang, J., Chen, H., Zhang, L., Wang, Q. and Lai, M.-X. (2010) Anti-Diabetic Effect of Standardized Extract of *Potentilla discolor* Bunge and Identification of Its Active Components. *Drug Development Research*, **71**, 127-132.
- [10] 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.
- [11] Thuong, P.T., Jin, W.Y., Lee, J.P., Seong, R.S., Lee, Y.-M., Seong, Y.H., *et al.* (2005) Inhibitory Effect on TNF- α -Induced IL-8 Production in the HT₂₉ Cell of Constituents from the Leaf and Stem of *Weigela subsessilis*. *Archives of Pharmacal Research*, **28**, 1135-1141. <http://dx.doi.org/10.1007/BF02972975>

- [12] Nguyen, X.N., Bui, H.T., Tran, H.Q., *et al.* (2011) 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. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **21**, 1777-1781. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2011.01.066>
- [13] Gohil, K.J., Patel, J.A. and Gajjar, A.K. (2010) Pharmacological Review on *Centella asiatica*: A Potential Herbal Cure-All. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **72**, 546-556. <http://dx.doi.org/10.4103/0250-474X.78519>
- [14] Chong, N.J. and Aziz, Z. (2013) A Systematic Review of the Efficacy of *Centella asiatica* for Improvement of the Signs and Symptoms of Chronic Venous Insufficiency. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, Article ID: 627182. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/627182>
- [15] 崔福贵. 积雪草酸衍生物在制备防治心、脑血管疾病的药物中的用途[P]. CN: 1582946A, 2005-2-23.
- [16] Hsu, Y.-L., Kuo, P.-L., Lin, L.-T. and Lin, C.-C. (2005) 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. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **313**, 333-344. <http://dx.doi.org/10.1124/jpet.104.078808>
- [17] Park, B.C., Bosire, K.O., Lee, E.S., Lee, Y.S. and Kim, J.-A. (2005) Asiatic Acid Induces Apoptosis in SK-MEL-2 Human Melanoma Cells. *Cancer Letters*, **218**, 81-90. <http://dx.doi.org/10.1016/j.canlet.2004.06.039>
- [18] Huang, Y.H., Zhang, S.H., Zhen, R.X., Xu, X.-D. and Zhen, Y.-S. (2004) Asiaticoside Inducing Apoptosis of Tumor Cells and Enhancing Anti-Tumor Activity of Vincristine. *Chinese Journal of Cancer*, **23**, 1599-1604.
- [19] 李萍, 丁建花, 顾兵, 等. 积雪草苷对实验大鼠乳腺增生的防治[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2002, 22(6): 470-473.
- [20] Lee, Y.S., Jin, D.-Q., Kwon, E.J., Park, S.H., Lee, E.-S., Jeong, T.C., *et al.* (2002) Asiatic Acid, a Triterpene, Induces Apoptosis through Intracellular Ca²⁺ Release and Enhance Expression of p53 in HepG2 Human Hepatoma Cells. *Cancer Letters*, **186**, 83-91. [http://dx.doi.org/10.1016/S0304-3835\(02\)00260-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-3835(02)00260-4)
- [21] 孙宏斌, 张丽颖, 柳军. 熊果烷型五环三萜氨基酸衍生物、其制备方法及其医药用途[P]. 中国专利: CN101337984A, 2009-01-07.
- [22] Jew, S.S., Park, H.G. and Kim, H.D. (1998) Preparation of Asiatic Acid Derivatives Having Modified A-Ring as Anti-cancer and Liver-Protecting Agents. WO: 98/23575.
- [23] 陈海生. 有机酸铂盐及其制备方法和在制备抗癌药物中的应用[P]. 中国专利: CN101289467A, 2008-10-22.
- [24] 张蓉仙, 朱禹, 郭文洁, 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.
- [25] 姚其正, 李晶晶, 李耐三. 具有抗肿瘤作用的 13-正-辛基小藜碱新氧生物[P]. 中国专利: CN101012227A, 2007-08-08.
- [26] Finlay, H.J., Honda, T., Gribble, G.W., Danielpour, D., Benoit, N.E., Suh, N., *et al.* (1997) Novel A-Ring Cleaved Analogs of Oleanolic and Ursolic Acids which Affect Growth Regulation in NRP.152 Prostate Cells. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **7**, 1769-1772.
- [27] Li, J.-F., Huang, R.-Z., Yao, G.-Y., Ye, M.-Y., Wang, H.-S., Pan, Y.-M., *et al.* (2014) Synthesis and Biological Evaluation of Novel Aniline-Derived Asiatic Acid Derivatives as Potential Anticancer Agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **86**, 175-179. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.08.003>
- [28] 薛箐, 王楠, 孟艳秋. 积雪草酸衍生物的合成及抗肿瘤活性的研究[J]. 沈阳化工大学学报, 2014, 28(1): 24-31.
- [29] 孟艳秋, 张良峰, 张译, 等. 积雪草酸衍生物的合成及抗肿瘤活性研究[J]. 化学通报, 2015, 78(4): 358-363.