ARTICLE

DOI 10.36074/grail-of-science.14.04.2023.028

АНТИБАКТЕРІАЛЬНА ТА ЦИТОСТАТИЧНА АКТИВНІСТЬ ЛУНАРІЇ ОДНОРІЧНОЇ (*LUNARIA ANNUA* L.)

НАУКОВО-ДОСЛІДНА ГРУПА:

Мегалінська Ганна Петрівна
канд. біол. наук, доцент,
Український державний університет імені Михайла Драгоманова, Україна

Білик Жанна Іванівна
канд. біол. наук, доцент,
Український державний університет імені Михайла Драгоманова, Україна

Білик Валентина Григорівна
Доктор пед. наук, професор
Український державний університет імені Михайла Драгоманова, Україна

Сікура Аніта Йосипівна
канд. біол. наук, професор,
Закарпатський угорський інститут імені Ференца Ракоці II, Україна

Книш Світлана Іванівна
канд. пед. наук, доцент,
Український державний університет імені Михайла Драгоманова, Україна

Даниленко Євген Володимирович
Керівник гуртка біології
Київський палац дітей та юнацтва, Україна

Анотація: *В статті наведено експериментальні дані щодо антибактеріальної та цитостатичної активності сировини Лунарії однорічної. Результати експерименту свідчать, що водний екстракт насіння лунарії виявив значний антибактеріальний ефект відносно всіх тестових мікроорганізмів. Найбільш чутливими виявилися бактерії виду Staphylococcus aureus, менш чутливими були кишкова паличка, синьогнійна паличка та протей звичайний. Плодові оболонки лунарії не виявили антибактеріальної активності, а водний екстракт з пагонів продемонстрував незначну антибактеріальну активність відносно грам-негативних бактерій та відсутність впливу на грам-позитивні коки. Водний екстракт плодів лунарії (стулка, реплюм з діафрагмою) виявив властивості стимулятора проліферації. Проведений експеримент дозволяє класифікувати плоди лунарії як мітостимулювальної засіб, стимулювальна активність якого дорівнює 50% від стимулювальної дії соку алоє. Пагони лунарії однорічної виявилися*

 Авторські права захищені | Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License

активним цитостатиком. Гальмування мітотичної активності спостерігалося при концентрації 150 мг/мл. Порівняння цитостатичної активності представників родини капустяних можна провести, порівнюючи коефіцієнти в рівняннях трендів кривих, побудованих в системі координат, - концентрація досліджуваного субстрату, процент кількості бічних коренів по відношенню до контролю. Враховуючи цей показник, можна стверджувати, що плоди лунарії близькі за своїм значенням цитостатичного ефекту до плодів гірчиці білої і мають вдвічі меншу активність відносно листків капусти. Обговорюються питання щодо внесення лунарії однорічної до списку офіцинальних лікарських рослин.

Ключові слова: *Лунарія однорічна, цитостатична активність, антибактеріальна активність.*

В Україні зустрічається два види роду Lunaria, - це лунарія оживаюча (Lunaria radiviva) та лунарія однорічна (Lunaria annua). Лунарія оживаюча [1] розповсюджена в листяних лісах в Карпатах та на Закарпатті. За даними деяких авторів [1] цей вид також зустрічається в Лівобережному Лісостепу.

Лунарія однорічна широко культивується в агроценозах, тому її екземпляри все частіше зустрічаються в околицях Києва та в деяких місцях Київської області. Нами знайдені локалітети цього виду на схилах Київського моря в районі Старих Петрівців, а також в прибережній зоні р. Десни в районі Рожнів.

За даними Гродзинського А.М. [1] хімічний склад цієї рослини родини Капустяних вивчений недостатньо. На думку Дроздової І.Л. [5] необхідно розширювати асортимент фітопрепаратів та поповнювати офіцинальну медицину новими лікарськими рослинами, зокрема перспективним видом автор вважає Лунарію однорічну.

В довідниках лікарських рослин представники роду Лунарія розглядаються як неофіцинальні види, які в народній медицині використовують як заспокійливий та сечогінний засіб. Якщо використовувати філогенетичний метод для вивчення фізіологічної активності лунарії однорічної, то можна очікувати, що ця рослина містить сполуки сірки, як і інші види родини Brassicaceae і тому може володіти фунгіцидними та антибактеріальними властивостями.

Тому метою представленого дослідження було вивчення антибактеріальної та цитостатичної активності Лунарії однорічної. Антибактеріальна активність досліджувалася диско-дифузійним методом [3]. На чашки Петрі з підсушеним середовищем засівали досліджувану культуру суцільним газоном. Стерильним пінцетом на агар накладали паперові диски (4–5 штук), змочені розчином досліджуваної рідини на рівній відстані один від одного. Розміри зони гальмування росту бактерій визначають ступінь чутливості мікроорганізмів до даного розчину. Тест-мікроорганізмами були: Escherihia coli (Migula 1985) Castellani and Chalmers 1919 ATCC 25922 (кишкова паличка), Proteus vulgaris Hauser, 1885 ATCC 6896 (протей вульгарний), Pseudomonas aeruginosa Schroeter 1872, Migula 1900 ATCC 9027 (синьогнійна паличка), дріжджі Candida albicans (C.P. Robin) Berkhout 1923 ATCC 885-653 (кандида біла). Всі мікроорганізми були отримані з Української колекції мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН

All rights reserved | Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License

України. [3]. Цитостатичну активність досліджували методом Іванова В.Б. Суть методу базується на інгібуванні мітозу при утворенні бічних коренів, при цьому ріст головного кореня гальмується, а диференціація клітин триває. Раніше для вивчення інгібіторів проліферації використовували проростки гірчиці, кукурудзи, але у цих рослин бічні корені з'являються пізно, а ріст головного кореня обумовлюється як мітозом, так і розтягуванням. У методі Іванова В. Б. використовують проростки огірка та інших рослин родини Гарбузових, для яких характерний ранній розвиток бічних коренів. Вплив водних витяжок рослин оцінювали за зміною інтенсивності мітотичного поділу, що проявляється у розвитку бічних коренів. Автори методики запропонували замінити культуру тканини, яка є дорогим експериментальним матеріалом для визначення мітотичної активності на меристематичну тканину рослин родини Гарбузові. Вихідний розчин готували з розрахунку 5 г на 100 мл води, потім здійснювали розведення від 50 до 450 мг/мл. 10 насінин пророщували в кожному варіанті розведення. Кожний дослід проводили у трикратній повторності.

Цитостатики – це речовини різної хімічної будови, які вибірково пригнічують проліферацію клітин, паралельно інгібуючи ріст і окремі процеси метаболізму клітин. Вони широко застосовуються в медичній практиці в якості імунодепресантів та в рослинництві як регулятор росту. Цитостатики блокують проходження клітиною мітотичного циклу за рахунок пригнічення різних процесів. Важливість питань, які вирішують за допомогою цитостатиків, робить актуальним пошук нових рослин з цитостатичною активністю.

Результати вивчення антибактеріальної активності різних видів сировини лунарії однорічної представлені в таблиці 1.

Таблиця 1

Антибактеріальна активність Lunaria annua

Тестові мікроорганізми	Зона лізису (мм)		
	Насіння	Пагони	Плодові оболонки
Proteus vulgaris	12±1,1	-	-
Escherichia coli	12±0,7	7±0,2	-
Pseudomonas aeruginosa	12±0,4	8±0,9	-
Staphylococcus epidermidis	15±1,6	-	-
Staphylococcus aureus	14±0,6	-	-

Як свідчать результати дослідження, плодові оболонки стручечків лунарії (стулки, реплюм з діафрагмою) не виявили антибактеріальної активності. За даними Лейнса і Фліге [2] стулки плодів Лунарії виділяють клей, який складається з полісахаридів і забезпечує прикріплення насіння Лунарії до стулок, а останні забезпечують перенесення вітром на велику відстань відразу декількох насінин. Наявність полісахаридів на оплодні та мікроелементів в складі діафрагми може тільки стимулювати ріст бактерій.

Водний екстракт з пагонів Лунарії продемонстрував незначну антибактеріальну активність відносно грам-негативних бактерій і відсутність впливу на грам-позитивні коки. В той же час водний екстракт насіння виявив значний антибактеріальний ефект відносно всіх тестових мікроорганізмів. При

 Авторські права захищені | Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License

цьому найбільш чутливими виявилися коки (Staphylococcus aureus та Staphylococcus epidermidis).

Зона гальмування росту стафілококу 15 мм, що подібно до дії таких антибіотиків як норфлоксацин, ванкоміцин, оксицилін, цефотетан.

Кишкова паличка, синьогнійна паличка та протей звичайний теж виявилися чутливими до екстракту насіння лунарії однорічної з зоною гальмування до 12 мм, що подібно до дії таких антибіотиків як пеніцилін, канаміцин, тетрациклін, рифампін. Можна зробити висновок, що значна антибактеріальна дія характерна тільки для насіння Лунарії однорічної. Ряд авторів [6], які вивчали склад жирних кислот в насінні Лунарії, повідомляють, що в насінні міститься біля 10% стеаринової та ліноленової кислот, 16% олеїнової кислоти, 32% нервонової кислоти та 21% ерукової. Нервонова та ерукова кислоти містяться в таких рослинах як Cannabis sativa, Acer truncatum та в інших видах рослин родини капустяних. Нервонова кислота – мононенасичена омега – 9 жирна кислота, яка приймає участь у синтезі мієлінової оболонки нейронів мозку і сприяє покращенню когнітивних функцій. В медицині нервонову кислоту застосовують при нейропатіях різного генезу. В народній медицині всі перераховані рослини з високим вмістом нервонової кислоти використовуються при нервовому виснаженні як заспокійливий засіб. Ерукова кислота міститься в насінні рослин родини капустяних, серед яких найбільшу кількість містять ріпак, гірчиця, суріпка. Це теж омега – 9 – ненасичена жирна кислота, яка використовується в косметичній та лакофарбовій промисловості [5].

Результати вивчення цитостатичної активності Лунарії однорічної представлені в таблицях 2, 3, 4.

Таблиця 2

Цитостатична активність плодів Лунарії однорічної

Концентрація мг/мл	Кількість бічних коренів (шт)	Процент по відношенню до контролю	Довжина головного кореня (мм)	Процент по відношенню до контролю
Контроль (0)	8,1±1,3	100%	83,4±3,7	100%
50 мг/мл	9,4±1,1	116%	89,7±3,9	107,5%
100 мг/мл	9,6±1,4	118,5%	82,1±2,9	98%
150 мг/мл	8,5±1,7	105%	65,6±4,2	79%
200 мг/мл	10,2±1,9	126%	95,5±4,7	115%
250 мг/мл	13,6±2,4	168%	97,8±3,3	117%
300 мг/мл	11,4±2,1	141%	84±5,1	101%
350 мг/мл	11,4±3,2	141%	68,7±1,9	82%
400 мг/мл	12,2±1,5	151%	101,4±4,6	122%
450 мг/мл	10,3±3,1	127%	76,8±5,4	92%

Як свідчать результати експерименту, представлені в таблиці 2, водний екстракт плодів лунарії однорічної (стулки, реплюм з діафрагмою) виявляє властивості стимулятора проліферації. При всіх тестових концентраціях спостерігалося збільшення кількості бічних коренів, що є показником стимуляції мітозу на рівні клітин перициклу. В межах концентрації від 200 до 450 мг/мл інтенсивність мітотичних поділів збільшувалася на 40-60% відносно контролю. Цей факт свідчить, що плодові оболонки містять речовини стимулюючої дії,

All rights reserved | Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License

якими згідно літературних даних можуть бути мікроелементи та полісахариди. Для порівняння стимулюючої активності плодів лунарії нами проводився експеримент щодо вивчення стимулюючої активності Aloe arborescens, результати цитостатики якого представлені в таблиці 3. Aloe arborescens виявився більш ефективним стимулятором. Водна витяжка цієї рослини стимулює мітотичний поділ на 25%-125% відносно контролю. Можна стверджувати, що стимулятивна активність плодових оболонок лунарії однорічної дорівнює приблизно половині стимулювальної активності соку алое.

Таблиця 3

Цитостатична активність водного екстракту з листків Aloe arborescens

Концентрація мг/мл	Кількість бічних коренів (шт)	Процент по відношенню до контролю	Довжина головного кореня (мм)	Процент по відношенню до контролю
Контроль (0)	8,0±1,2	100%	7±3,7	100%
50 мг/мл	10,0±1,2	125%	7±3,9	100%
100 мг/мл	17,0±1,3	212%	12±2,9	171%
150 мг/мл	18,0±1,6	225%	11±4,2	157,1%
200 мг/мл	14,0±1,7	175%	12±4,7	171%
250 мг/мл	12,0±2,5	150%	13±3,3	158,7%
300 мг/мл	13,0±2,2	162%	10±5,1	142%
350 мг/мл	13,0±3,4	162%	13±1,9	185,7%
400 мг/мл	12,0±1,6	150%	10±4,6	142%
450 мг/мл	12,0±3,3	150%	10±5,4	142%

Цитостатична активність пагонів Лунарії однорічної представлена в таблиці 4.

Таблиця 4

Цитостатична активність пагонів Лунарії однорічної

Концентрація мг/мл	Кількість бічних коренів (шт)	Процент по відношенню до контролю	Довжина головного кореня (мм)	Процент по відношенню до контролю
Контроль (0)	11,7±5,1	100%	53,8±4,1	100%
50 мг/мл	9,4±1,1	80%	89,7±3,9	167%
100 мг/мл	11,5±3,1	98%	57,4±2,9	107%
150 мг/мл	-	-	20,3±0,7	38%
200 мг/мл	-	-	17,2±1,3	32%
250 мг/мл	-	-	10±0,7	19%
300 мг/мл	-	-	6,8±0,3	13%
350 мг/мл	-	-	6,1±0,2	11%
400 мг/мл	-	-	6,1±0,7	11%
450 мг/мл	-	-	3,2±0,3	6%

Як свідчать результати експерименту водна витяжка з пагонів лунарії демонструє цитостатичну активність при концентрації 150 мг/мл. На рис 1. зображені криві залежності цитостатичної активності плодів та пагонів Лунарії однорічної від концентрації екстракту. Якщо аналізувати рівняння трендів, то можна стверджувати, що коефіцієнт 0,091 має плюсове значення і це свідчить про стимулювальний ефект плодів Лунарії.

2022 Авторські права захищені | Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License

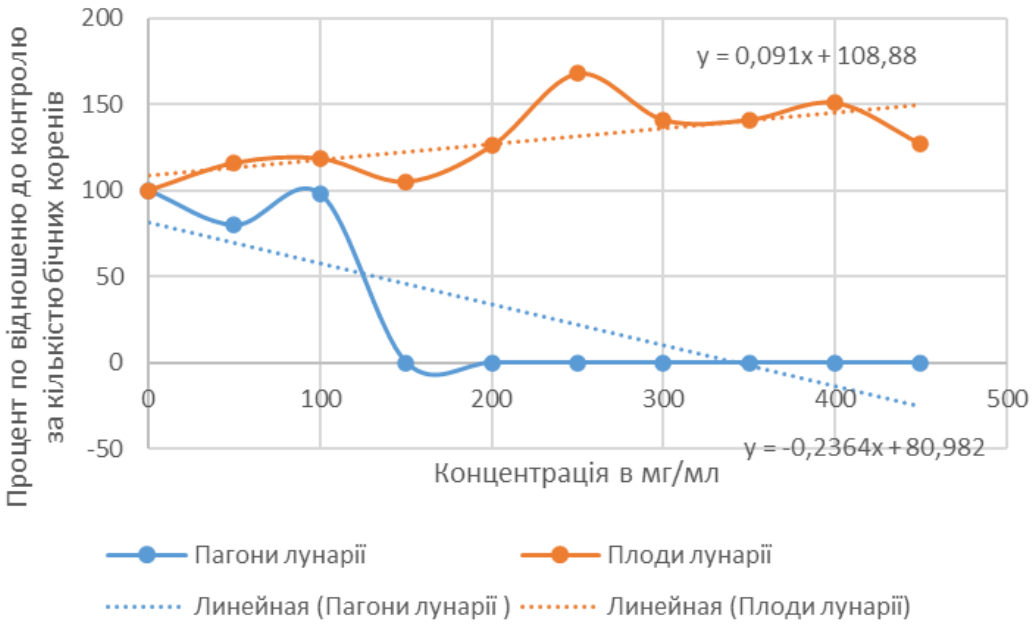


Рис. 1. Порівняння цитостатичної активності плодів та пагонів лунарії однорічної

Аналогічний коефіцієнт в рівнянні тренду для пагонів Лунарії однорічної – 0,236 має від'ємне значення, що свідчить про гальмувальний ефект цієї сировини [8].

На рис 2. зображено криві цитостатичної активності плодів Лунарії та екстракту пагонів Алое деревоподібного. Як свідчить аналіз коефіцієнтів на трендах цього графіку, стимулювальний ефект алое деревоподібного в 2 рази більше, ніж стимулювальний ефект плодів Лунарії однорічної.

Ми порівняли цитостатичну активність лунарії з цитостатичною активністю інших представників родини Капустяних. Нижче представлені дані щодо цитостатичної активності Гірчиці білої та Капусти білокачанної (таблиця 5, 6).

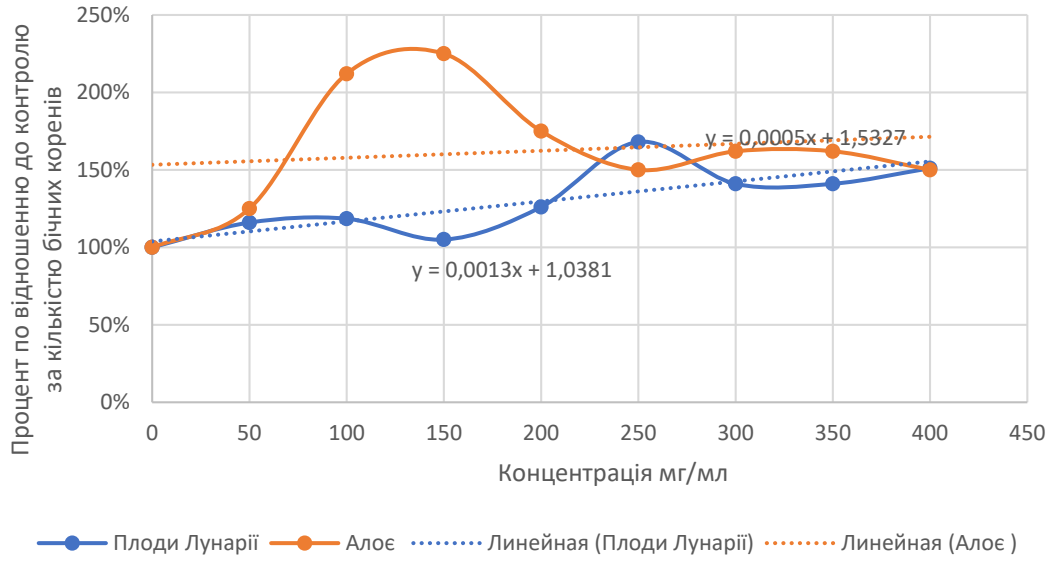


Рис. 2. Порівняння цитостатичної активності плодів лунарії однорічної та алоє

All rights reserved | Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License

Таблиця 5

Цитостатична активність плодів Гірчиці білої

Концентрація мг/мл	Кількість бічних коренів (шт)	Процент по відношенню до контролю	Довжина головного кореня (мм)	Процент по відношенню до контролю
Контроль (0)	29,8±0,4	100%	10,8±0,6	100%
50 мг/мл	97,0±1,3	325%	5,7±1,7	52,7%
100 мг/мл	42,6±1,2	142%	10,2±0,7	94,4%
150 мг/мл	27,2±0,4	91,2%	8,7±0,3	80,5%
200 мг/мл	35,8±0,2	120%	9,6±0,25	88,88%
250 мг/мл	67,9±0,1	227%	11,1±1,4	102%
300 мг/мл	90,0±0,4	302%	4,8±1,3	44,4%
350 мг/мл	24,6±4,3	82,5%	7,2±2,1	67%
400 мг/мл	26,1±1,3	87,58%	6,7±1,0	62,03%
450 мг/мл	11,9±0,8	40%	3,8±1,7	35%

Таблиця 6.

Цитостатична активність листків Капусти білокачанної

Концентрація мг/мл	Кількість бічних коренів (шт)	Процент по відношенню до контролю	Довжина головного кореня (мм)	Процент по відношенню до контролю
Контроль (0)	49,16±3,2	100%	18,16±0,7	100%
50 мг/мл	52,25±1,2	106%	9,0±0,2	49,5%
100 мг/мл	66,12±0,3	134%	23,8±2,1	131%
150 мг/мл	45,6 1,7	92%	11±1,0	60,57%
200 мг/мл	56,2 0,3	114%	20,42±0,3	112,72%
250 мг/мл	63 2,6	128%	15,6±2,4	86,04%
300 мг/мл	50,4 2,5	102%	18±2,1	99,11%
350 мг/мл	55 1,6	111%	15±3,4	82,59%
400 мг/мл	44,5 3,2	90,52%	10,6±1,7	58,37%
450 мг/мл	0	0	0	0%

Порівняння цитостатичної активності пагонів лунарії однорічної з аналогічним показником водного екстракту з листків капусти білокачанної (табл. 4,6) свідчать, що пагони лунарії виступають більш активним цитостатиком і пригнічують мітотичний поділ на рівні концентрації 150 мг/мл. Водний екстракт з листків капусти виявив амфотерну дію на мітоз. При концентрації до 300 мг/мл спостерігається ефект стимуляції поділу клітин.

Порівняння цитостатичної активності плодів лунарії однорічної та плодів гірчиці білої (табл. 2,5) свідчить, що плоди обох рослин родини Капустяних виступають стимуляторами проліферації.

При цьому плоди лунарії однорічної мають більшу стимулювальну активність, ніж насіння гірчиці білої. Насіння рослин роду Sinapis використовується як засіб, що стимулює роботу шлунково-кишкового тракту та

2022 Авторські права захищені | Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License

як протизапальний засіб. Порівняння стимулювальної активності обох видів свідчить на користь плодів лунарії, що може виступати аргументом до введення лунарії у список фармакопейних рослин.

Висновки

1. На думку ряда авторів [1,5] Лунарія однорічна перспективний вид для поповнення офіцинальної медицини новими лікарським рослинами. Проте хімічний склад та фізіологічна активність цієї рослини вивчена недостатньо.

2. Експеримент по вивченню антибактеріальних властивостей сировини Лунарії однорічної дозволяє зробити висновок, що суттєву антимікробну активність має насіння Lunaria annue відносно всіх тестових мікроорганізмів.

3. Найбільш чутливим до дії водного екстракту з насіння Лунарії виявилися грам-позитивні коки. Зона гальмування росту стафілококу 15 мм, що подібно до дії таких антибіотиків як норфлоксацин, ванкоміцин, оксицилін.

4. Кишкова паличка теж чутлива до дії екстракту з насіння Лунарії з зоною гальмування до 12 мм, що подібно дії таких антибіотиків як пеніцилін, канаміцин, тетрациклін, рифампін.

5. Аналіз літературних джерел [6] дозволяє пояснити той феномен, що в народній медицині насіння Лунарії використовують як заспокійливий засіб тим, що в насінні міститься 32% нервонової кислоти, яка приймає участь у синтезі мієлінової оболонки нейронів. В медицині нервонову кислоту застосовують при нейропатіях різного генезу. Співставляючі літературні і експериментальні данні можна висунути гіпотезу, що насіння Лунарії може бути активним при лікуванні менінгіту (протикокова активність у поєднанні з відновленням нейронів).

6. Проведений експеримент дозволяє класифікувати плоди Лунарії як мітостимулювальний засіб, стимулювальна активність якого дорівнює 50% від стимулювальної дії соку алоє. Пагони лунарії однорічної виявились активними цитостатиками. Гальмування мітотичної активності спостерігалося при концентрації 150 мг/мл.

Список використаних джерел:

[1] Гродзинський А.М. (1992) Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник. Київ: «Українська енциклопедія». 544 с.

[2] Leins P., Fligge K., Erbar C. (2018) Silique valves as sails in anemochory of Lunaria (Brassicaceae). *Plant biology* 20: 2.

[3] Valgas C. (2007) Screening methods to determine antibacterial activity of natural products. *Brazilian Journal of Microbiology*. 38.

[4] Иванов В.Б. (2011) Использование корней как тест-объектов для оценки биологического действия химических соединений. *Физиология растений.* 58:6.

[5] Дроздова І.Л., Трембаля Я.С., Мішакова Є.І. (2019) Анатомічна будова вегетативних органів Лунника однорічного. Науково-практичний вісник «*Людина та її здоров'я*» 1.

[6] Головкин В.В., Бойкая Е.А., Лях В.А., Доля В.С. (2018) Биология плодообразования лунарии однолетней. Вістник Національного Університету. 2.

[7] Лабінська А.С. (2008) Загальна та санітарна мікробіологія. Москва: БІНОМ. 1080 с.

[8] Мегалинская А. П., Билык Ж. И., Даниленко Е. В., Маруненко И. М., Сокульская М. О. (2018) Сравнительний анализ цитостатической и антибактериальной активности амброзии полыннолистой и других лекарственных растений. *Science Review* 1 (8) Vol. 2.

All rights reserved | Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License