

Н. В. Толкачова¹, О. З. Комаровська-Порохнявець²,
Н. Г. Марінцова², Л. Р. Журахівська²

¹Державний бюджетний заклад Республіки Крим
“Нікітський ботанічний сад – Національний науковий центр”,
²Національний університет “Львівська політехніка”,
кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології

БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ СТЕРОЇДНИХ ГЛІКОЗИДІВ ЦИБУЛЬ

© Толкачова Н. В., Комаровська-Порохнявець О. З.,
Марінцова Н. Г., Журахівська Л. Р., 2015

Вивчена біологічна активність сум стероїдних глікозидів, які виділені з суцвіть трьох видів цибулі: *Allium aflatunense* Purple Sensation, *Allium chrystophii* Trautv., *Allium schoenoprasum* L. Встановлено, що вони не володіють бактерицидними властивостями, але проявляють високу фунгіцидну та рістрегулюючу активність. Екологічна безпека і біологічна активність вивчених сполук може викликати інтерес щодо їх використання в медицині, косметології та сільському господарстві.

Ключові слова: *Allium aflatunense*, *Allium chrystophii*, *Allium schoenoprasum*, стероїдні глікозиди, біологічна активність.

The biological activity of the sums of steroid glycosides extracted from inflorescences of three onion species, such as *Allium aflatunense* Purple Sensation, *Allium chrystophii* Trautv., and *Allium schoenoprasum* L., has been studied. It has been revealed that they have no antibacterial properties, however, they display high fungicidal and growth-regulating activity. The environmental security and biological activity of the studied compounds can be applied in medicine, cosmetology and agriculture.

Key words: *Allium aflatunense*, *Allium chrystophii*, *Allium schoenoprasum*, steroid glycosides, biological activity.

Постановка проблеми і її зв'язок з важливими науковими завданнями. Великим класом природних сполук з групи сапонінів є стероїдні глікозиди. Завдяки широкому спектра біологічної активності та екологічній безпеці ці сполуки за останній час все більше привертають увагу дослідників [1, 2]. Крім того, стимуляція росту і фітоімунітету рослин стероїдними глікозидами дозволяє розглядати ці сполуки як природні адаптогени [3].

Перспективними з погляду пошуку сапоніновмісних видів є рослини роду *Allium*, тим більше, що в літературі відсутні дані про стероїдні глікозиди певних видів цибулі. Саме тому дослідження біологічної активності стероїдних глікозидів представників родини *Alliaceae* є актуальним.

Мета роботи – дослідити бактерицидну, фунгіцидну та рістрегулюючу активності сум стероїдних глікозидів, що були виділені з суцвіть трьох видів цибуль: *Allium aflatunense* Purple Sensation (1), *Allium chrystophii* Trautv. (2) і *Allium schoenoprasum* L. (3) з метою їх подальшого практичного використання в медицині, косметології і сільському господарстві як речовин, що здатні інгібувати ріст і розвиток дріжджоподібних грибів, а також підвищувати схожість та стійкість рослин до хвороб.

Експериментальна частина. Як об'єкти дослідження обрано суми стероїдних глікозидів, які було виділено з суцвіть цибуль *Allium aflatunense* Purple Sensation (1), *Allium chrystophii* Trautv. (2) і

Allium schoenoprasum L. (3), зібраних на території біосферного заповідника “Асканія-Нова” імені Ф. Е. Фальц-Фейна у 2014 році.

Свіжозібрані та подрібнені суцвіття тричі екстрагували 70 % етиловим спиртом, нагріваючи сировину на водяній бані із зворотним холодильником протягом трьох годин. Одержаний екстракт упарювали на роторному випарювачі при 50 °С до водного залишку і послідовно обробляли хлороформом та *n*-бутиловим спиртом. Бутанольний екстракт упарювали. Очищували суміш сапонінів за допомогою колонкової хроматографії з використанням колонки 100 мм із фазою SupelcocoClean C18 (150–200 мкм, Supelco).

Антимікробну активність вивчали методом дифузії в агар і методом серійних розведень досліджуваної речовини [4]. У дослідах використовували такі тестові культури: бактерії *Escherichia coli* 67, *Staphylococcus aureus* 209-р, *Mycobacterium luteum* ВКМ В-868 и гриби *Candida tenuis* ВКМ Y-70, *Aspergillus niger* ВКМ F-1119. Ступінь активності досліджуваних сполук оцінювали за величиною зон пригнічення росту тестових культур мікроорганізмів. Повторність досліду трикратна.

Мінімальну бактерицидну (МБцК), бактериостатичну (МБсК) і фунгіцидну (МФцК), фунгістатичну (МФсК) концентрації визначали методом серійних розведень у межах 0,9–2000 мкг/см³. Для цього досліджувані речовини розчиняли в 70 % етанолі, досягаючи необхідної концентрації.

Визначення МБсК (МФсК). Певний об'єм розчину речовини вносили в живильне середовище (МПБ – для бактерій; неохмелене пивне сусло – для грибів). До живильного середовища інокулювали посівний матеріал бактерій (10⁶ клітин /см³) або (10⁵ спор/см³) грибів. Засіяні пробірки витримували в термостаті при відповідній температурі (37 °С для бактерій; 30 °С для грибів) протягом 24–72 годин. Результати оцінювали за наявністю або відсутністю росту мікроорганізмів (за ступенем мікробного помутніння живильного середовища).

Визначення МБцК (МФцК). Розчини середовища, що виявилися візуально прозорими, висівали на стерильний 2 % МПА (для бактерій) або 2 % СА (для грибів) і інкубували в термостаті за оптимальних для росту мікроорганізмів температурних режимів. Оцінювали результати для тестових бактерій через 24 год, для тестових грибів – 48–72 год. За відсутністю росту колоній мікроорганізмів на інкубованих чашках Петрі визначали МБцК або МФцК досліджуваної речовини. Повторність досліду трикратна.

Рістрегулюючу активність вивчали за стандартною методикою в модифікації Сергєєвої [5] на агаризованому середовищі такого складу (г/дм³): MgSO₄ · 7H₂O – 1; K₂HPO₄ – 1; FeSO₄ · 7H₂O – 0.02; агар-агар – 8, в яке вносили розчин препарату в концентрації 1, 10, 100 мг/дм³ середовища і розливали в чашки Петрі; в контрольні чашки вносили еквівалентну кількість розчинника. У досліді використовували насіння однодольних (овес посівний) і дводольних (крес-салат) рослин, які пророщували на агаризованому середовищі 72 години у термостаті при температурі 22 °С з подальшим дорощуванням проростків протягом 96 год у витяжній шафі зі штучним освітленням при 19-20 °С. Наприкінці досліду визначали схожість насіння і лінійні розміри частин рослин. Результати представлені у відсотках порівняно з контролем. При показнику, що перевищує 100 %, фіксували стимуляцію зростання, а за меншого, ніж 100 % – його пригнічення. Повторність дослідів трикратна.

Результати та їх обговорення. Первинну оцінку антимікробної активності здійснено за допомогою методу дифузії речовини в агар [4] при концентраціях речовини від 0,1 до 10,0 %. Аналіз отриманих результатів свідчить про те, що сполука **3** має помірні бактерицидні властивості відносно *Staphylococcus aureus* в концентрації 5 і 10 %, при цьому зони затримки росту бактерії становили відповідно 9 і 12 мм.

Крім того, в результаті експериментів встановлено, що тестові культури бактерій *Escherichia coli* і *Mycobacterium luteum* виявилися нечутливими до дії сум стероїдних глікозидів в діапазоні концентрацій 0,9–2000 мкг / см³.

**Бактерицидна активність сум стероїдних глікозидів
суцвіть цибуль методом дифузії в агар**

Код речовини	Концентрація, %	Діаметр зон пригнічення росту мікроорганізмів, мм		
		<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>M. luteum</i>
1	10,0	0	0	0
	5,0	0	0	0
	0,5	0	0	0
	0,1	0	0	0
2	10,0	0	0	0
	5,0	0	0	0
	0,5	0	0	0
	0,1	0	0	0
3	10,0	0	12,0	0
	5,0	0	9,0	0
	0,5	0	0	0
	0,1	0	0	0

При використанні методу дифузії речовини в агар в концентраціях речовин 5 і 10 % визначено зони пригнічення росту дріжджової культури *Candida tenuis*: 23–25 мм для сполуки **1**, 19–21 мм – для сполуки **2** і 9–12 мм – для зразка **3** (табл. 2).

**Фунгіцидна активність сум стероїдних глікозидів суцвіть цибуль
(метод дифузії речовин в агар)**

Код речовини	Концентрація, %	Діаметр зон пригнічення росту мікроорганізмів, мм	
		<i>Candida tenuis</i>	<i>Aspergillus niger</i>
1	10,0	25,0	0
	5,0	23,0	0
	0,5	0	0
	0,1	0	0
2	10,0	21,10	0
	5,0	19,0	0
	0,5	0	0
	0,1	0	0
3	10,0	12,0	0
	5,0	9,0	0
	0,5	0	0
	0,1	0	0

У табл. 3 наведено результати вивчення фунгіцидних властивостей глікозидів. На основі отриманих даних встановлено, що сполуки **1** і **2** проявляють фунгістатичну дію щодо *C. tenuis* в концентрації 2000 мкг/см³.

Тестова культура цвілевого гриба *A. niger* виявилася резистентною до дії всіх сум стероїдних глікозидів в діапазоні концентрацій 0,9-2000 мкг/см³.

У результаті досліджень потенційної рiстрегулюючої активності речовин [5] встановлено, що залежно від концентрації вони проявляють як рiстстимулюючий, так і інгiбуючий ефект (табл. 4).

Таблиця 3

**Дослідження мінімальної фунгістатичної концентрації сум
стероїдних глікозидів суцвіть цибуль методом серійних розведень**

Код	Культури грибів	Концентрація сполуки, мкг/см ³				
		2000	1200-1800	500-1000	0,9-250	0 (К)
1	<i>C. tenuis</i>	±	+	+	+	+
	<i>A. niger</i>	+	+	+	+	+
2	<i>C. tenuis</i>	±	+	+	+	+
	<i>A. niger</i>	+	+	+	+	+
3	<i>C. tenuis</i>	+	+	+	+	+
	<i>A. niger</i>	+	+	+	+	+

Позначення: + ріст культури мікроорганізму; ± пригнічення росту мікроорганізму

Таблиця 4

**Кількісні показники ристрегулюючої активності сум
стероїдних глікозидів суцвіть цибуль**

Код сполуки	Концен- трація речо- вин, мг/дм ³	Лінійні розміри частин рослин і схожість, % до контролю*					
		Овес			Крес-салат		
		Корінь	Стебло	Схожість	Корінь	Стебло	Схожість
Контроль	Розчин- ник (70 % етанол)	100,0 ± 2,2	100,0 ± 2,1	100,0 ± 1,9	100,0 ± 2,1	100,0 ± 1,8	100,0 ± 2,5
1	100	98,4 ± 1,7	89,0 ± 1,5	72,6 ± 1,7	126,0 ± 1,7	114,2 ± 2,1	100,0 ± 2,4
	10	102,1 ± 1,8	81,2 ± 2,0	78,6 ± 2,4	161,0 ± 2,3	73,0 ± 1,9	83,2 ± 2,6
	1	110,3 ± 2,1	78,4 ± 1,7	81,8 ± 1,6	149,3 ± 1,9	71,1 ± 2,1	83,1 ± 2,1
2	100	105,4 ± 2,5	94,8 ± 1,6	70,6 ± 1,5	145,4 ± 1,6	76,0 ± 2,1	77,0 ± 2,4
	10	112,6 ± 1,9	86,7 ± 1,6	78,6 ± 1,7	151,0 ± 1,9	78,5 ± 1,8	83,1 ± 2,8
	1	114,0 ± 1,8	82,4 ± 2,4	82,0 ± 2,0	163,5 ± 2,1	82,2 ± 2,1	100,3 ± 2,7
3	100	92,2 ± 2,5	104,2 ± 1,9	76,9 ± 2,1	114,2 ± 1,7	102,0 ± 2,1	91,0 ± 2,3
	10	108,4 ± 1,8	109,7 ± 2,4	77,3 ± 1,9	102,0 ± 2,1	108,4 ± 2,0	100,5 ± 2,1
	1	115,3 ± 2,4	116,2 ± 1,9	79,4 ± 2,3	96,0 ± 1,3	111,3 ± 1,7	100,2 ± 1,9

* Статистично вірогідні результати відносно контролю при $p \leq 0,05$; обсяг досліджуваної вибірки $n > 25$.

Так, сполуки **1** і **2** суттєво стимулювали зростання кореня крес-салату у всіх досліджених концентраціях. Зокрема, максимальні показники спостерігалися за дії речовини **1** в концентрації 10 мг/дм³ (рістстимулюючий ефект 61 %), а сполука **2** стимулювала зростання кореня на 63 % в концентрації 1 мг/дм³. Крім того, спостерігалося пригнічення росту стебла крес-салату (крім сполуки **3** і сполуки **1** в концентрації 100 мг/дм³).

Зростання кореня вівса стимулювали речовини **2** і **3** в концентрації 1 мг/дм³ на 14 і 15 % відповідно. При цьому сполуки **1** і **2** пригнічували ріст стебла вівса у всіх досліджених

концентраціях, а при дії речовини **3** в концентрації 1 мг/дм³ спостерігався рістстимулюючий ефект на 16 %.

Висновки. 1. У результаті дослідження біологічної активності сум стероїдних глікозидів, виділених з суцвіть трьох видів цибуль, встановлено, що вони практично не володіють бактерицидними властивостями, але проявляють високу фунгіцидну активність і характеризуються рістрегулюючими ефектами з вибірковою дією.

2. Завдяки виявленій фізіологічній активності та екологічній безпеці даних сполук, представляє інтерес використання їх в медицині, косметології та сільському господарстві.

1. Кинтя П. К., Лазурьевский Г. В., Балашова Н. Н., Балашова И. Т., Суружису А. И., Лях В. А. *Строение и биологическая активность стероидных гликозидов ряда спиростана и фуростана*. Кишинев, 1987. 142 с. 2. Yang C.-R., Zhang Y., Jacob M. R., Khan S. I. *Antifungal activity of C-27 steroidal saponins // Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2006. Vol. 50, № 5. P. 1710-1714. 3. Васильева И. С., Удалова Ж. В., Зиновьева С. В., Пасешниченко В. А. *Стероидные фуростаноловые гликозиды – новый класс природных адаптогенов // Прикладная биохимия и микробиология*. 2009. – Т. 45. – № 5. – С. 517–526. 4. Лабинская А. С. *Микробиология с техникой микробиологических исследований*. – М., 1978. – 394 с. 5. Сергеева Т. А. *Методика лабораторных испытаний гербицидов // Защита растений*. 1963. – № 2. – С. 42–44.