

Zakład Botaniki Farmaceutycznej. Instytut Analizy i Technologii Farmaceutycznej.  
Akademia Medyczna w Lublinie  
Kierownik: doc. dr hab. Tadeusz Krzaczek

Kazimiera GRZYCKA, Jadwiga MIŁKOWSKA

### Badanie aktywności cytostatycznej pektoliny

Исследование цитостатической активности пектолинарина

The Investigation of Cytostatic Activity of Pectolarine

Flawonoidy stanowią dużą grupę związków naturalnych, bardzo rozpowszechnionych w świecie roślinnym. Występują najczęściej w formie glikozydów, rzadko aglikonów. Poza rolę, jaką odgrywają w biologii roślin i zwierząt, odznaczają się wielokierunkowym działaniem farmakologicznym. Jak podaje Jerzmanowska (5), wywierają one korzystny wpływ na krążenie i akcję serca, działają ochronnie w stosunku do promieni X i promieni radioaktywnych, wykazują również słabe działanie bakteriostatyczne i antyhistaminowe.

Badania frakcji flawonoidowej z *Helichrysum arenarium*, prowadzone przez Jelinka i wsp. (cyt. wg 11) na zwierzętach doświadczalnych, pozwoliły na stwierdzenie, że flawonoidy działają zólcioepdnie oraz ochronnie na mięsz wtroby, a także obniżają ciśnienie krwi. Potwierdzeniem tych obserwacji są wyniki uzyskane przez Szadowską (11). Według Bukowieckiego i Furmanowej (2) niektóre z flawonoidów, jak np. rutyna, wywołują zaburzenia w strukturze chromosomów, co potwierdziły badania wpływu pochodnych rutyny i kwercetyny na mitozę (3). O cytotoksycznym działaniu flawonoidów na komórki rakowe donoszą Kuphan i wsp. (8). Stwierdzono również doświadczalnie, że flawonoidy indukują działanie enzymów rozkładających niektóre karcynogeny, np. benzopiren (6).

W Zakładzie Botaniki Farmaceutycznej AM w Lublinie prowadzone są od lat poszukiwania nowych roślin pod kątem ich zastosowania w lecznictwie. Badania aktywności cytostatycznej wyciągów z tych roślin pozwoliły na wyróżnienie gatunków odznaczających się najwyższą aktywnością (4, 9). W celu dokładniejszego określenia charakteru związków zawartych w badanych wyciągach wydzielono i zbadano dwie frakcje: octanową i etanolową (7) i przebadano ich wpływ na mitozę. Spośród badanych roślin na uwagę zasługuje między innymi *Cirsium rivulare*, którego frakcja octanowa hamuje mitozę w granicach 62—89%.

W oparciu o uzyskane wyniki postanowiono przebadać wpływ wyizolowanej z ziela *Cirsium rivulare* pektolinaryny, głównego składnika frakcji octanowej, na przebieg podziałów mitotycznych w korzeniach *Allium cepa* L.

### CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Opierając się na dotychczasowych wynikach zbadano aktywność cytostatyczną 1, 0,5 i 0,3% roztworów pektolinaryny. Zastosowano następujące testy: a) pomiar długości korzeni, b) oznaczanie indeksu mitotycznego (IM) w korzeniach przybyszowych *Allium cepa* L. Wzrost elongacyjny korzeni określano przed badaniami cytologicznymi po 24-godzinnej inkubacji w badanych roztworach.

Do obserwacji cytologicznych sporządzano po 10 preparatów dla każdego stężenia i liczono w nich 1000—1200 komórek, uwzględniając komórki dzielące się.

Wyniki obliczano jako średnią arytmetyczną. Równocześnie nastawiano próby kontrolne (woda). Zahamowanie wzrostu korzeni doświadczalnych w stosunku do kontrolnych oraz zahamowanie podziałów mitotycznych w korzeniach doświadczalnych obliczano w procentach (10).

Do interpretacji statystycznej wyników zastosowano metodę probitową (1), pozwalającą na określenie stężenia związku, obniżającego indeks mitotyczny o 50% ( $IM_{50}$ ) w stosunku do kontroli.

### OMÓWIENIE WYNIKÓW

Dane liczbowe dotyczące wpływu badanych roztworów pektolinaryny na wzrost liniowy korzeni oraz ilość podziałów mitotycznych zestawiono w tab. 1.

Korzenie cebuli inkubowane przez 24 godz. w 0,3, 0,5 i 1% roztworach pektolinaryny nie zmieniły swojej barwy ani turgoru. Wystąpiło natomiast wyraźne hamowanie wzrostu na długość w granicach od 50% w stężeniu 0,3%, poprzez 64% dla stężenia 0,5%, aż do 86% w roztworze 1%. Również od stężenia roztworów uzależnione było działanie mitostaticzne pektolinaryny (tab. 1). Zahamowanie mitoz wynosiło 45% w roztworze o najniższym stężeniu (0,3%) i zwiększało się wraz ze wzrostem stężenia, osiągając wielkość 96% w roztworze 1%. Występowała zatem wyraźna korelacja między długością korzeni i aktywnością mitotyczną. Dowodzi to, że zahamowanie wzrostu korzeni na długość jest związane głównie z zahamowaniem podziałów mitotycznych.

Nawet najsilniejszy (1%) roztwór pektolinaryny nie powodował widocznych zmian w makroskopowym wyglądzie korzeni, wywoływał on jednak wyraźne zaburzenia w przebiegu podziałów, co przejawiało się w zmienionych obrazach figur mitotycznych. W preparatach cytologicznych obserwowano zjawisko silnego skracania i grubienia chromosomów,

Tab. 1. Wpływ roztworów pektoliny na wzrost korzeni i podziały mitotyczne w stożkach wzrostu korzeni *Allium cepa* L.The effect of pectolinarine solution on the growth of roots and mitotic divisions in meristems of growth of *Allium cepa* L. roots

Stężenie roztworu w %	Zmiany po 24-godzinnej inkubacji			
	przyrost korzeni w cm	zahamowanie przyrostu w %	IM w %	zahamowanie mitoz w %
1	0,2	86	0,32 ± 0,12	96
0,5	0,5	64	3,28 ± 0,42	57
0,3	0,7	50	4,16 ± 0,29	45
woda	1,4		7,57 ± 0,77	
		IM <sub>50</sub>	0,32—0,34	

widoczne w profazie i metafazie, oraz występowanie mostków łączących grupy rozchodzących się chromosomów w anafazie. Stwierdzono również występowanie komórek 2-jądrowych.

Podobne obrazy występowały w preparatach cytologicznych z korzeni inkubowanych w 0,5% roztworze pektoliny. W roztworze 0,3% mitozy zmienione wynosiły zaledwie 16% przy stosunkowo wysokim, bo 45%, zahamowaniu podziałów (tab. 2). Komórki 2-jądrowe występowały sporadycznie. Wartość IM<sub>50</sub> dla pektoliny wynosiła 0,32—0,34% (tab. 1).

Tab. 2. Procent mitoz zmienionych pod wpływem 24-godzinnego działania roztworów pektoliny

Percentage of mitoses changed under the influence of 24-hour action of pectolinarine solution

Stężenie roztworu w %	Liczba figur mitotycznych		Mitozy zmienione w %	Liczba komórek 2-jądrowych
	wszystkich	zmienionych		
1	3	3	100	9
0,5	33	12	36	2
0,3	43	7	16	sporad.

We wszystkich grupach doświadczalnych, poza omówionymi zmianami w wyglądzie stadiów podziałowych, nie obserwowano jąder uszkodzonych. Wszystkie jądra interfazowe posiadały typową strukturę z jąderkami i błoną jądrową.

## PIŚMIENNICTWO

1. Broda B.: Przewodnik do obliczeń statystycznych w biologii. Warszawa 1976.
2. Bukowiecki H., Furmanowa M.: Cytostatyki pochodzenia roślinnego. Farm. Pol. **28**, 585, 1972.
3. Grzycka K., Miłkowska J.: Badania aktywności cytostatycznej związków pochodnych rutyny i kwercetyny oraz hydroksychinolin. Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, Sectio D **32**, 339, 1977.
4. Grzycka i wsp.: Badania aktywności biologicznej wybranych gatunków roślin kwiatowych. Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, Sectio D **33**, 275, 1978.
5. Jerzmanowska Z.: Substancje roślinne. PWN, Warszawa 1967.
6. Kohlmünzer S.: Farmakognozja. PZWL, Warszawa 1977.
7. Krzaczek T. i wsp.: Badania aktywności cytostatycznej frakcji octanowej i etanolowej. Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, Sectio D **36**, 125, 1982.
8. Kuphan S. M. i wsp.: Cytotoxic Flavones from *Eupatorium species*. Tetrahedron **25**, 1603, 1969.
9. Miłkowska J. i wsp.: Badania aktywności biologicznej wybranych gatunków roślin kwiatowych. Część II. Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, Sectio D **35**, 170, 1980.
10. Oświecimska M. i wsp.: Skriningowe badania cytostatycznej aktywności wyciągów roślinnych. Acta Pol. Pharm. **34**, 313, 1977.
11. Szadowska A.: Działanie farmakologiczne preparatów galenowych i flawonoidów wyosobnionych z kocanki piaskowej (*Helichrysum arenarium*). Acta Pol. Pharm. **19**, 465, 1962.

Otrzymano 6 I 1983.

## РЕЗЮМЕ

Исследовали цитостатическую активность пектолинарина, выделенного из травы *Cirsium rivulare* (Jacq.) All. Обнаружено, что он оказывает тормозящее воздействие на рост корней и митотическое деление пропорциональной концентрации.  $IM_{50}$  для исследованного вещества колеблется в границах 0,32—0,34%. Кроме того, он нарушает течение митотического цикла.

## SUMMARY

The cytostatic activity of pectolinarine isolated from the herb *Cirsium rivulare* (Jacq.) All. has been investigated. It was found that pectolinarine has an inhibitory effect on the growth of roots and mitotic divisions. This effect is proportional to the concentration.  $IM_{50}$  for the investigated substance oscillates between 0.32—0.34%. Pectolinarine also causes perturbations in the course of mitotic cycle.