

<https://doi.org/10.15407/frg2025.03.258>

УДК 577.1

ВПЛИВ СПОСОБУ ЕКСТРАКЦІЇ НА БІОАКТИВНІСТЬ ЕКСТРАКТІВ ІЗ ТРАНСГЕННИХ КОРЕНІВ І НЕТРАНСФОРМОВАНИХ РОСЛИН *BIDENS PILOSA* L.

Н.А. МАТВЄЄВА, Т.А. БОГДАНОВИЧ

*Інститут клітинної біології та генетичної інженерії Національної академії
наук України*

03143 Київ, вул. Академіка Заболотного, 148

e-mail: bogdanovych_tais@ukr.net

Рослини є природним джерелом біологічно активних сполук. Завдяки таким властивостям вони використовуються в альтернативній медицині і як сировина для вироблення лікарських засобів з широким спектром активності. Разом з тим, біотехнологічні корені, отримані шляхом генетичної трансформації з використанням *Agrobacterium (Rhizobium) rhizogenes*, можуть мати більший вміст біоактивних сполук. Тому визначення умов ефективного екстрагування біоактивних сполук з таких коренів є важливим етапом розроблення технологій використання ліній, отриманих шляхом генетичної трансформації. Серед рослин, які становлять інтерес як джерело біологічно активних сполук з широким спектром активності, привертає увагу причепа волосиста (*Bidens pilosa* L.). Це рослини тропічного регіону, які, однак, можуть рости і в помірних широтах. Ми дослідили вплив концентрації етанолу на вміст флавоноїдів у екстрактах з причепа волосистої та біоактивність таких екстрактів. Дослідження, проведені з використанням *in vitro* культивованих рослин і трьох ліній біотехнологічних коренів, виявили значне збільшення вмісту вказаних сполук в екстрактах, отриманих з використанням етанолу в концентраціях 70 і 96 % — до $41,86 \pm 5,5$ мг РЕ/г сухої речовини (СР) з нетрансформованих коренів та $60,17 \pm 4,6$... $82,15 \pm 5,5$ мг РЕ/г СР з біотехнологічних коренів. Найменший вміст флавоноїдів був у водних екстрактах ($34,25 \pm 5,0$ з коренів контрольних рослин і $24,47 \pm 1,6$... $32,09 \pm 2,1$ мг РЕ/г СР з трансгенних коренів). Екстракти з високим вмістом флавоноїдів характеризувались і більшою антирадикальною активністю у реакції з 2,2-дифеніл-1-пікрілгідразил радикалом (ДФПГ). Зокрема, відсоток інгібування ДФПГ радикала в екстрактах, отриманих з використанням 70 % етанолу, був у 2,60, 3,65 та 2,96 рази більший, ніж аналогічний параметр водних екстрактів з трьох ліній коренів відповідно. Отже, для отримання екстракту з рослин і біотехнологічних коренів причепа волосистої з високим вмістом флавоноїдів та високою антирадикальною активністю доцільним є використання етанолу концентрацією 70 %.

Ключові слова: *Bidens pilosa* L., біотехнологічні корені, екстрагування, флавоноїди, антирадикальна активність.

Цитування: Матвєєва Н.А., Богданович Т.А. Вплив способу екстракції на біоактивність екстрактів із трансгенних коренів і нетрансформованих рослин *Bidens pilosa* L. *Фізіологія рослин і генетика*. 2025. 57, № 3. С. 258—267.
<https://doi.org/10.15407/frg2025.03.258>

Відомо, що рослини є природним джерелом біологічно активних сполук. Завдяки таким властивостям вони використовуються в альтернативній медицині і як сировина для вироблення лікарських засобів з широким спектром активності. Саме тому вивчення рослин-продуцентів залишається одним із провідних напрямів біотехнологічних досліджень. Разом з тим, важливим є як визначення способів екстрагування цінних сполук, так і розроблення нових підходів для підвищення біологічної цінності рослин. Останнє може бути здійснено, зокрема, завдяки генетичній трансформації з використанням *Agrobacterium (Rhizobium) rhizogenes* та отриманню біотехнологічних коренів з підвищеним вмістом біоактивних сполук.

Рослини *Bidens pilosa* L. (череда волосиста, причепа) належать до родини Asteraceae. Вони походять з тропічних регіонів Америки, однак також поширені й у помірних широтах [1]. Місцеві жителі у регіонах значного поширення причепи волосистої (наприклад, у Південній Америці, Уганді, Кенії, Австралії, Гімалаях) вживають її в їжу [2, 3]. Попри те, що ці рослини є бур'янами, а також у багатьох країнах вважаються інвазійними рослинами, які можуть засмічувати посіви на полях, вони завдяки комплексу біологічно активних сполук застосовуються в альтернативній медицині та можуть використовуватись як лікарська сировина [2, 3]. Встановлено, що рослини причепи містять різні хімічні компоненти, зокрема поліацетилени, поліацетиленглікозиди, флавоноїди, флавонові глікозиди, халкони, фенольні кислоти, терпени, жирні кислоти, фітостероли тощо [4, 5].

Листки та квітки використовуються для лікування розладів шлунка, геморою та діабету в альтернативній медицині. Рослини також використовуються в медицині народів Азії, Африки, Океанії для лікування низки захворювань [6]. Екстракти з причепи характеризуються протизапальною [7] та протимікробною дією [8], здатні інгібувати циклооксигеназу (що свідчить про наявність специфічної протизапальної активності) [9] й проявляти антигіпертензивну дію внаслідок підвищення чутливості до інсуліну [10].

Раніше нами було отримано шляхом генетичної трансформації з використанням *A. rhizogenes* трансгенні корені рослин *B. pilosa* [11]. Метою даної роботи було дослідити вплив концентрації етанолу на вміст флавоноїдів у екстрактах з трансформованих коренів, а також листків і коренів нетрансформованих рослин причепи волосистої та антирадикальну активність таких екстрактів.

Методика

Культивування рослин. Для визначення впливу концентрації екстрагента на вміст флавоноїдів у екстракті з рослини трансгенні корені культивували *in vitro* у чашках Петрі на агаризованому середовищі Мурасіге та Скуга (Duchefa, Netherland) із удвічі зменшеним вмістом компонентів та додаванням цукрози у концентрації 20 г/л (рис. 1). Зразки вирощували за температури 24 °C та 16-годинного освітлення. Корені та листки рослин, що вирости, збирали, висушували на ліофільній сушарці Labconco freeze dryer 4.5 та подрібнювали з використанням пристрою Retsch Mixer Mill MM400 (Німеччина). Подрібно-

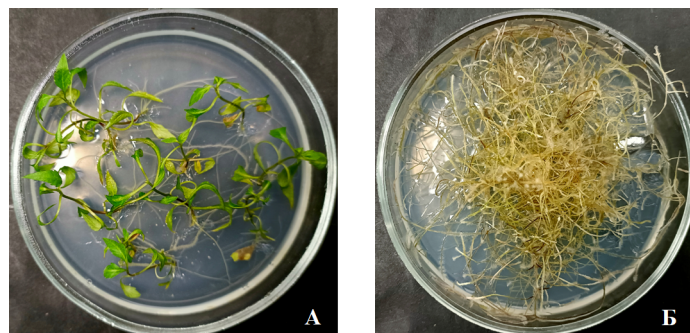


Рис. 1. Рослини (А) та трансгенні корені (Б) *Bidens pilosa* L., культивовані in vitro

ні зразки використовували для отримання екстрактів. Екстрагентами слугували деіонізована вода та етанол у концентраціях 40, 70 та 96 %. Екстрагували на ротаційному шейкері Gio Gyrotory Shaker (New Brunswick Scientific, США) упродовж доби. Екстракти центрифугували (Eppendorf Centrifuge 5415 C) за 14000 об/хв протягом 10 хв та використовували для визначення загального вмісту флавоноїдів.

Визначення вмісту флавоноїдів. Для визначення вмісту флавоноїдів використовували модифікований метод, який передбачає реакцію з хлоридом алюмінію [12]. До 1 мл деіонізованої води додавали 250 мкл екстракту і 75 мкл 5 %-го розчину NaNO_2 , перемішували; через 5 хв додавали 75 мкл 10 %-го розчину AlCl_3 , 0,5 мл 1 М розчину NaOH і 0,6 мл деіонізованої води. Оптичну густину зразків вимірювали на спектрофлуориметрі Fluorat-02 Panorama за $\lambda = 510$ нм. Вміст флавоноїдів оцінювали в мг/г сухої речовини (СР) у рутиновому еквіваленті (РЕ) за допомогою калібрувального графіка $C = 1,1811x$, $R^2 = 0,9989$. Калібрування проводили з використанням розчину рутину (1 мг/мл).

Визначення антирадикальної активності. Для визначення активності використовували стандартну реакцію з 2,2-дифеніл-1-пікрилгідразил радикалом (DPPH, Sigma) [13]. Зразки вимірювали на спектрофлуориметрі Fluorat-02 Panorama за $\lambda = 515$ нм. Здатність нейтралізувати радикал DPPH* (RSA) у відсотках визначали за формулою: $\text{RSA} = 100(A_0 - A_1)/A_0$, де A_0 — поглинання 0,0001 М розчину DPPH; A_1 — поглинання зразка в реакції.

Статистична обробка. Усі аналізи проводили в трьох повтореннях. Статистичну обробку та побудову діаграм здійснювали в програмному середовищі Microsoft Excel та R версії 3.5.3, використовуючи інтегроване середовище розробки RStudio версії 1.2. Результати виражені як середнє значення та стандартне відхилення (SD). Відмінності між варіантами вважали вірогідними на рівні значущості $p < 0,05$ (ANOVA-тест).

Результати та обговорення

У результаті проведених досліджень встановлено, що за використання 40 % етанолу для отримання флавоноїдовмісного екстракту з коренів нетрансформованих рослин причепи вміст цільових сполук ви-

явився найменшим порівняно з використанням інших екстрагентів і становив $23,75 \pm 3,8$ мг РЕ/г сухої речовини коренів (рис. 2). В разі використання деіонізованої води вміст флавоноїдів у екстракті був на 44,21 % більшим та становив $34,25 \pm 5,1$ мг РЕ/г сухої речовини. При використанні 70 % етанолу вміст флавоноїдів значимо не відрізнявся від вмісту сполук у водному екстракті ($35,10 \pm 0,7$), а за збільшення концентрації етанолу до 96 % вміст флавоноїдів виявився більшим — $41,86 \pm 5,5$ мг РЕ/г сухої речовини коренів. Таким чином, збільшення концентрації етанолу з 40 до 96 % уможливило значно підвищити вміст флавоноїдів у отриманому екстракті з коренів рослин причепи.

Аналіз екстрактів з листків рослин причепи показав значне збільшення вмісту флавоноїдів у екстрактах з високою концентрацією етанолу. Так, за екстрагування деіонізованою водою вміст флавоноїдів становив $38,39 \pm 6,5$ мг РЕ/г сухої речовини листків, натомість за екстрагування 40 %-м етанолом — $46,65 \pm 4,3$ мг РЕ/г сухої речовини (див. рис. 2). Разом з тим, за використання етанолу у концентраціях 70 і 96 % вміст флавоноїдів у екстрактах з листків був ще більшим та становив, відповідно, $78,28 \pm 5,3$ і $68,18 \pm 6,4$ мг РЕ/г сухої речовини. Таким чином, найімовірніше, доцільно використовувати етанол у високій концентрації (70 % та вище) для отримання екстрактів з листків причепи з більшим вмістом флавоноїдів.

Дослідження антирадикальної активності різних екстрактів, як з коренів, так і з листків рослин *B. pilosa*, виявило збільшення відсотка інгібування ДФПГ радикала в екстрактах, отриманих з використанням етанолу у концентраціях 70 і 96 %. Найменшу активність проявляли водні екстракти, причому це було характерно і для екстрактів з коренів, і для екстрактів з листків культивованих *in vitro* рослин. Так, відсоток інгібування ДФПГ водними та етанольними — 40, 70 і 96 % — екстрактами з коренів причепи становив $33,05 \pm 8,6$ %, $36,15 \pm 2,0$ %, $67,57 \pm 7,2$ і $72,86 \pm 3,2$ %, відповідно (рис. 3). Аналогічні параметри, які характеризували екстракти з листків, становили, відпо-

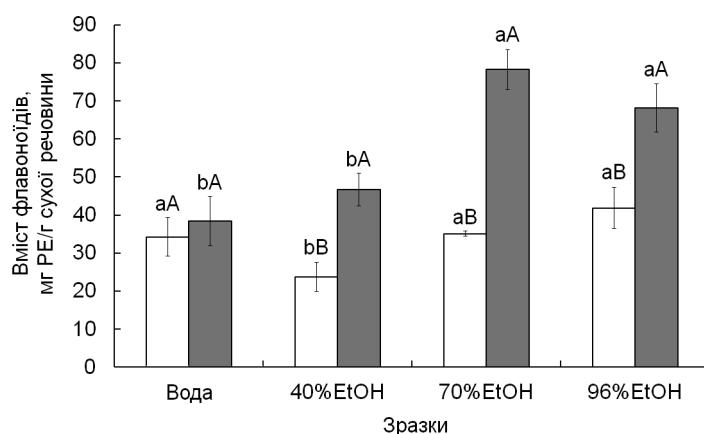


Рис. 2. Вміст флавоноїдів у екстрактах з коренів (білі стовпчики) та листків (сірі) рослин *Bidens pilosa* L., культивованих *in vitro* (тут і далі прописними літерами позначено відмінності між відповідними групами — екстрактами коренів та листків або різних ліній; рядковими літерами — відмінності між варіантами однієї групи за $p < 0,05$)

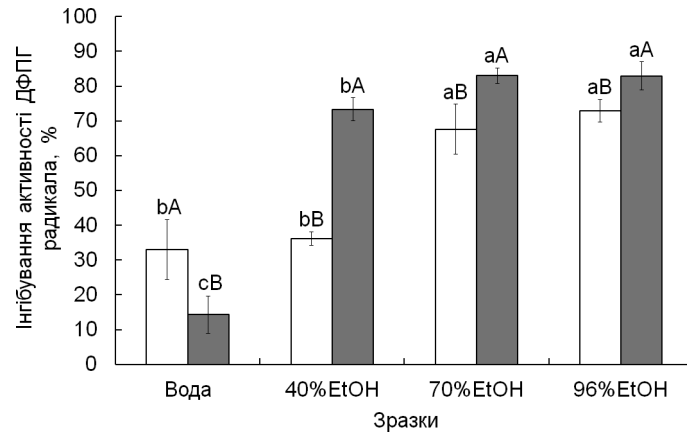


Рис. 3. Відсоток інгібування ДФПГ радикала у екстрактах з коренів (білі стовпчики) та листків (сірі) рослин *Bidens pilosa* L., культивованих in vitro

відно, $14,27 \pm 5,4$ %, $73,35 \pm 3,3$, $82,99 \pm 2,2$ та $82,91 \pm 4,1$ % (див. рис. 3). Такі значення узгоджувалися з даними щодо вмісту флавоноїдів у зразках: чим більшим був вміст флавоноїдів, тим більшим виявився і відсоток інгібування ДФПГ радикала. Ці результати співвідносяться з отриманими нами раніше даними стосовно кореляції вмісту флавоноїдів і антирадикальної активності в екстрактах з інших лікарських рослин, культивованих in vitro [14].

Аналіз екстрактів, отриманих з трьох ліній біотехнологічних коренів *B. pilosa*, показав чітку тенденцію збільшення вмісту флавоноїдів за використання етанолу у високих концентраціях (рис. 4). Зокрема, за використання для отримання екстрактів деіонізованої води вміст флавоноїдів у екстрактах з усіх ліній коренів був невисоким та становив у лініях № 1, 2 та 3, відповідно, $32,09 \pm 2,1$, $24,67 \pm 3,0$ та $24,47 \pm 1,6$ мг РЕ/г сухої речовини коренів. В разі використання 40 % етанолу для екстрагування вміст флавоноїдів у екстрактах із вказаних ліній становив відповідно $44,49 \pm 3,0$, $35,10 \pm 4,4$ та $56,23 \pm 4,1$ мг РЕ/г

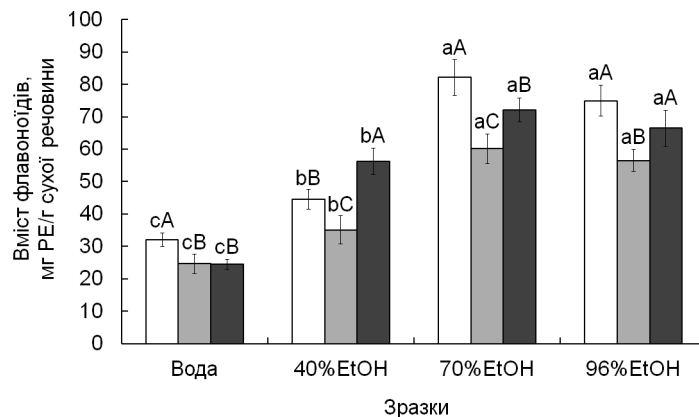


Рис. 4. Вміст флавоноїдів у екстрактах з трьох ліній трансгенних коренів *Bidens pilosa* L., культивованих in vitro (білі стовпчики — лінія № 1, світло-сірі — лінія № 2, темно-сірі — лінія № 3)

сухої речовини коренів. Використання етанолу у концентрації 70 % значно збільшило вміст екстрагованих флавоноїдів — відповідно до $82,15 \pm 5,5$, $60,17 \pm 4,6$ та $72,11 \pm 3,7$ мг РЕ/г сухої речовини у трьох лініях коренів. Вміст флавоноїдів у екстрактах за використання 96 % етанолу був дещо меншим (на 7,8—8,8 %) та дорівнював $74,93 \pm 4,8$, $56,50 \pm 3,3$ і $66,47 \pm 5,6$ мг РЕ/г сухої речовини у трьох лініях коренів, відповідно.

Виявлено, що екстракти з трансгенних коренів з вищим вмістом флавоноїдів, а саме ті, що були отримані з використанням 70 та 96 % етанолу, мають більшу здатність інгібувати ДФПГ радикал (рис. 5). Такі особливості відзначено для усіх трьох досліджуваних ліній коренів. Зокрема, відсотки інгібування ДФПГ радикала в екстрактах, отриманих з використанням 70 % етанолу, були у 2,60, 3,65 та 2,96 раза більші, ніж відповідні параметри, які мали водні екстракти з трьох ліній коренів. Екстракти з трьох ліній трансгенних коренів (№ № 1, 2 та 3), отримані з використанням 96 % етанолу, мали відсоток інгібування ДФПГ радикала у 2,79, 4,09 та 3,26 раза більший ніж той, що демонстрували водні екстракти.

Раніше було виявлено відмінності у вмісті поліфенолів, зокрема флавоноїдів, у різних частинах рослин *B. pilosa*, зібраних у природних умовах. Так, найбільший вміст сполук був саме у листках цієї рослини і значно менший — у коренях [15]. Авторами також виявлено кореляцію між вмістом флавоноїдів і здатністю екстрактів з причепи інгібувати ДФПГ радикал. Такі особливості синтезу флавоноїдів і біоактивності екстрактів з коренів та листків можна пояснити, вірогідно, тим, що пагони рослини адаптовані до високої інсоляції й, таким чином, збільшення вмісту флавоноїдів і антиоксидантної активності є захисним природним механізмом рослин. Разом з тим, відповідно до результатів наших досліджень, такі особливості спостерігалися також і в рослинах, які вирощували *in vitro*, що свідчить про генетичну детермінованість подібних відмінностей.

Раніше вивченню рослин причепи *B. pilosa* приділялось, на нашу думку, незаслужено мало уваги, зважаючи на перспективність ви-

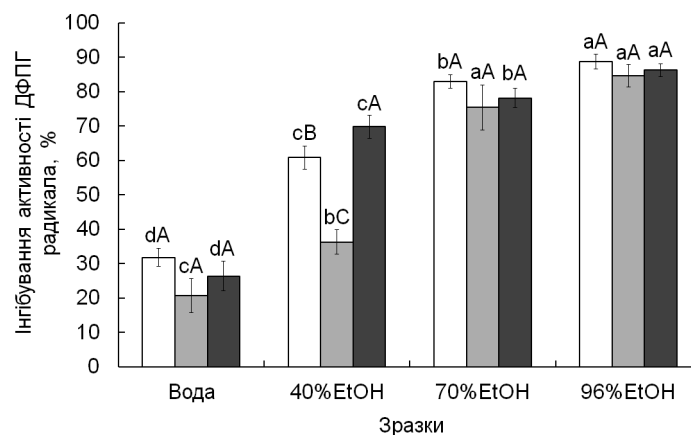


Рис. 5. Відсоток інгібування ДФПГ радикала в екстрактах з трьох ліній трансгенних коренів *Bidens pilosa* L., культивованих *in vitro* (білі стовпчики — лінія № 1, світло-сірі — лінія № 2, темно-сірі — лінія № 3)

користання цих рослин як джерела низки біоактивних сполук. Саме тому кількість знайдених публікацій, наприклад, у системі PubMed за 20 років, з 1990 до 2010 року менше 200. Здебільшого увага приділялась визначенню хімічного складу та наявності різних метаболітів [16–19], антиоксидантних і протипухлинних властивостей рослин [20–22], визначенню можливості використання рослин для лікування різних захворювань [23–27]. Для отримання екстрактів використовували різні розчинники — воду, етанол, бутанол [28–30]. В останні роки інтерес до причепи волосистої значно зріс, про що свідчить, зокрема, кількість публікацій (понад 300), ідентифікованих у системі PubMed лише за останні 5 років. У новітніх дослідженнях значна увага приділялась аналізу протизапальної, протимікробної, цитостатичної активності екстрактів з причепи [31–34]. Однак досі відсутні публікації стосовно дослідження біоактивності трансгенних коренів причепи волосистої, а також порівняльних особливостей складу та біоактивності різних екстрактів.

Таким чином, встановлено відмінності вмісту флавоноїдів і біоактивності екстрактів з трансгенних коренів порівняно з екстрактами коренів нетрансформованих рослин. Підвищення концентрації етанолу за отримання екстрактів з трансгенних коренів причепи збільшувало вміст у них флавоноїдів та підвищувало антирадикальну активність у реакції з ДФПГ радикалом. Те саме спостерігалось і щодо екстрактів з коренів і листків рослин причепи, культивованих у стерильних умовах. Збільшення вмісту флавоноїдів у екстрактах за використання 70 та 96 % етанолу може свідчити про більший вміст агліконів і менший вміст глікозильованих флавоноїдів у біотехнологічних коренях. Вірогідно, для отримання екстракту з рослин і біотехнологічних коренів причепи волосистої з високим вмістом флавоноїдів та високою антирадикальною активністю доцільним є використання етанолу концентрацією 70 %.

Робота виконана за підтримки гранту МОН 0125U000412.

REFERENCES

1. Ballard, R. (1986). *Bidens pilosa* complex (Asteraceae) in North and Central America. *Amer. J. Bot.*, 73, pp. 1452–1465. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1986.tb10891.x>
2. Bhatt, K.C., Sharama, N. & Pandey, A. (2009). «Ladakhi tea» *Bidens pilosa* L. (Asteraceae): a cultivated species in the cold desert of Ladakh Himalaya. *India. Genet Resour Crop Evol.*, 56, pp. 879–882. <https://doi.org/10.1007/s10722-009-9441-3>
3. Mitich, L.W. (1994). Beggarticks. *Weed Technol.*, 8, pp. 172–175. <https://doi.org/10.1017/S0890037X00039403>
4. Tran Dang Xuan & Tran Dang Khanh. (2016). Chemistry and pharmacology of *Bidens pilosa*: an overview. *J. Pharm. Investig.*, 46, No. 2, pp. 91–132. <https://doi.org/10.1007/s40005-016-0231-6>
5. Alvarez, L., Marquina, S., Villarreal, M.L., Alonso, D., Aranda, E. & Delgado, G. (1996). Bioactive polyacetylenes from *Bidens pilosa*. *Planta Medica*, 62, pp. 355–357. <https://doi.org/10.1055/s-2006-957902>
6. Bartolome, A.P., Villaseñor, I.M. & Yang, W.-C. (2013). *Bidens pilosa* L. (Asteraceae): botanical properties, traditional uses, phytochemistry, and pharmacology. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2013, 340215. <https://doi.org/10.1155/2013/340215>

7. Horiuchi, M. & Seyama, Y. (2008). Improvement of the anti-inflammatory and anti-allergic activity of *Bidens pilosa* L. var. *radiata* Scherff treated with enzyme (Cellulosine). *J. Health Sci.*, 54, pp. 294-301. <https://doi.org/10.1248/jhs.54.294>
8. Lawal, O.A., Amisu, K.O., Akinyemi, S.K., Sanni, A.A., Simelane, M.B.C., Mosa, R.A. & Opoku A.R. (2015). In vitro Antibacterial Activity of Aqueous Extracts of *Bidens pilosa* L. (Asteraceae) from Nigeria. *British Microbiol. Res. J.*, 8, No. 4, pp. 525-531. <https://doi.org/10.9734/BMRJ/2015/17900>
9. Jager, A.K., Hutchings, A. & van Staden, J. (1996). Screening of Zulu medicinal plants for prostaglandin synthesis inhibitors. *J. Ethnopharmacol.*, 52, No. 2, pp. 95-100. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(96\)01395-5](https://doi.org/10.1016/0378-8741(96)01395-5)
10. Dimo, T., Rakotonirina, S.V., Tan, P.V., Azay, J., Dongo, E. & Cros, G. (2002). Leaf methanol extract of *Bidens pilosa* prevents and attenuates the hypertension induced by high-fructose diet in Wistar rats. *J. Ethnopharmacol.*, 83, No. 3, pp. 183-191. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(02\)00162-9](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(02)00162-9)
11. Matvieieva, N.A. & Shakhovskiy, A.M. (2015). Establishment of *Bidens pilosa* L. 'hairy' root culture. *Bull. Ukr. Soc. Genet. Breed.*, 13(1), pp. 46-50 [in Ukrainian]. <http://jnas.nbuv.gov.ua/article/UJRN-0000436321>
12. Pekal, A. & Pyrzynska, K. (2014). Evaluation of Aluminium Complexation Reaction for Flavonoid Content Assay. *Food Analyt. Methods*, 7, No. 9, pp. 1776-1782. <https://doi.org/10.1007/S12161-014-9814-X>
13. Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT — Food Sci. Technol.*, 28, No. 1, pp. 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
14. Matvieieva, N.A., Morgun, B.V., Lakhneko, O.R., Duplij, V.P., Shakhovsky, A.M., Ratushnyak, Y.I., Sidorenko, M., Mickevicius, S. & Yevtushenko, D.P., (2020). *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation enhances the antioxidant potential of *Artemisia tilesii* Ledeb. *Plant Physiol. Biochem.*, 152, pp. 177-183. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.04.020>
15. Cortés-Rojas, D.F., Chagas-Paula, D.A., Da Costa, F.B., Souza, C.R.F. & Oliveira, W.P. (2013). Bioactive compounds in *Bidens pilosa* L. populations: a key step in the standardization of phytopharmaceutical preparations. *Rev. Bras. Farmacogn.*, 23, No. 1, pp. 28-35 <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2012005000100>
16. Chiang, Y.M., Chuang, D.Y., Wang, S.Y., Kuo, Y.H., Tsai, P.W. & Shyur, L.F. (2004). Metabolite profiling and chemopreventive bioactivity of plant extracts from *Bidens pilosa*. *J. Ethnopharmacol.*, 95, No. 2-3, pp. 9-19. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.08.010>
17. Geissberger, P. & Sequin, U. (1991). Constituents of *Bidens pilosa* L.: do the components found so far explain the use of this plant in traditional medicine? *Acta Tropicana*, 48, No. 4, pp. 251-261. [https://doi.org/10.1016/0001-706x\(91\)90013-a](https://doi.org/10.1016/0001-706x(91)90013-a)
18. Ubillas, R.P., Mendez, C.D., Jolad, S.D., Luo, J., King, S.R., Carlson, T.J. & Fort, D.M. (2000). Antihyperglycemic acetylenic glucosides from *Bidens pilosa*. *Planta Medica*, 66, No. 1, pp. 82-83. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1243117>
19. Wang, R., Wu, Q.X. & Shi, Y.P. (2010). Polyacetylenes and flavonoids from the aerial parts of *Bidens pilosa*. *Planta Medica*, 76, No. 9, pp. 893-896. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1240814>
20. Yang, H.L., Chen, S.C., Chang, N.W., Chang, J.M., Lee, M.L., Tsai, P.C., Fu, H.H., Kao, W.W., Chiang, H.C., Wang, H.H. & Hseu, Y.C. (2006). Protection from oxidative damage using *Bidens pilosa* extracts in normal human erythrocytes. *Food Chem. Toxicol.*, 44, No. 9, pp. 1513-1521. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2006.04.006>
21. Abajo, C., Boffill, M.A., del Campo, J., Alexandra Méndez, M., González, Y., Mitjans, M. & Pilar Vinardell, M. (2004). In vitro study of the antioxidant and immunomodulatory activity of aqueous infusion of *Bidens pilosa*. *J. Ethnopharmacol.*, 93, No. 2-3, pp. 319-323. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.03.050>
22. Kwiecinski, M.R., Felipe, K.B., Schoenfelder, T., de Lemos Wiese, L.P., Rossi, M.H., Goncalves, E., Felicio, J.D., Filho, D.W. & Pedrosa, R.C. (2008). Study of the antitumor potential of *Bidens pilosa* (Asteraceae) used in Brazilian folk medicine. *J. Ethnopharmacol.*, 117, No. 1, pp. 69-75. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.01.017>
23. Horiuchi, M., Wachi, H. & Seyama, Y. (2010). Effects of *Bidens pilosa* L. var. *radiata* Scherff on experimental gastric lesion. *J. Natural Medicines*, 64, No. 4, pp. 430-435. <https://doi.org/10.1007/s11418-010-0426-5>

24. Chien, S.C., Young, P.H., Hsu, Y.J., Chen, C.H., Tien, Y.J., Shiu, S.Y., Li, T.H., Yang, C.W., Marimuthu, P., Tsai, L.F. & Yang, W.C. (2009). Anti-diabetic properties of three common *Bidens pilosa* variants in Taiwan. *Phytochemistry*, 70, No. 10, pp. 1246-1254. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2009.07.011>
25. Yoshida, N., Kanekura, T., Higashi, Y. & Kanzaki, T. (2006). *Bidens pilosa* suppresses interleukin-1beta-induced cyclooxygenase-2 expression through the inhibition of mitogen activated protein kinases phosphorylation in normal human dermal fibroblasts. *J. Dermatol.*, 33, No. 10, pp. 676-683. <https://doi.org/10.1111/j.1346-8138.2006.00158.x>
26. Chang, S.L., Chiang, Y.M., Chang, C.L., Yeh, H.H., Shyur, L.F., Kuo, Y.H., Wu, T.K. & Yang, W.C. (2007). Flavonoids, centaurein and centaureidin, from *Bidens pilosa*, stimulate IFN-gamma expression. *J. Ethnopharmacol.*, 112, No. 2, pp. 232-236. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.03.001>
27. Kumari, P., Misra, K., Sisodia, B.S., Faridi, U., Srivastava, S., Luqman, S., Darokar, M.P., Negi, A.S., Gupta, M.M., Singh, S.C. & Kumar, J.K. (2009). A promising anti-cancer and antimalarial component from the leaves of *Bidens pilosa*. *Planta Medica*, 75, No. 1, pp. 59-61. <https://doi.org/10.1055/s-0028-1088362>
28. Chang, C.L., Kuo, H.K., Chang, S.L., Chiang, Y.M., Lee, T.H., Wu, W.M., Shyur, L.F. & Yang, W.C. (2005). The distinct effects of a butanol fraction of *Bidens pilosa* plant extract on the development of Th1-mediated diabetes and Th2-mediated airway inflammation in mice. *J. Biomed. Sci.*, 12, No. 1, pp. 79-89. <https://doi.org/10.1007/s11373-004-8172-x>
29. Suzigan, M.I., Battochio, A.P., Coelho, K.L. & Coelho, C.A. (2009). An aqueous extract of *Bidens pilosa* L. protects liver from cholestatic disease: experimental study in young rats. *Acta Cirurgica Brasil.*, 24, No. 5, pp. 347-352. <https://doi.org/10.1590/s0102-86502009000500003>
30. Andrade-Neto, V.F., Brandão, M.G., Oliveira, F.Q., Casali, V.W., Njaine, B., Zalis, M.G., Oliveira, L.A. & Krettli, A.U. (2004). Antimalarial activity of *Bidens pilosa* L. (Asteraceae) ethanol extracts from wild plants collected in various localities or plants cultivated in humus soil. *Phytotherapy Res.*, 18, No. 8, pp. 634-639. <https://doi.org/10.1002/ptr.1510>
31. Tsuruta, K., Shidara, T., Miyagishi, H., Nango, H., Nakatani, Y., Suzuki, N., Amano, T., Suzuki, T. & Kosuge, Y. (2023). Anti-Inflammatory Effects of Miyako *Bidens pilosa* in a Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis and Lipopolysaccharide-Stimulated BV-2 Microglia. *Int. J. Mol. Sci.*, 24, No. 18, 13698. <https://doi.org/10.3390/ijms241813698>
32. Pereira, C.H., Martins, A.F.L., Morais, M.O., de Sousa-Neto, S.S., da Silva, A.C.G., Arantes, D.A.C., De Oliveira Moreira, V.H.L., Valadares, M.C., Freitas, N.M.A., Leles, C.R. & Mendonca, E.F. (2024). Oral mucositis management with photobiomodulation, *Bidens pilosa* L. (Asteraceae) and *Curcuma longa* L. (Zingiberaceae), the FITOPROT herbal medicine, and its influence on inflammatory cytokine levels: a randomized clinical trial. *Support Care Cancer*, 32, No. 9, p. 628. <https://doi.org/10.1007/s00520-024-08842-3>
33. Vargas-Casanova, Y., Bravo-Chaucanes, C.P., Martínez, A.X.H., Costa, G.M., Contreras-Herrera, J.L., Medina, R.F., Rivera-Monroy, Z.J., García-Castañeda, J.E. & Parra-Giraldo, C.M. (2023). Combining the peptide RWQWRWQWR and an Ethanolic Extract of *Bidens pilosa* Enhances the activity against sensitive and resistant *Candida albicans* and *C. auris* strains. *J. Fungi (Basel)*, 9, No. 8, 817. <https://doi.org/10.3390/jof9080817>
34. Ali, D.S., El-Haddad, A.E., Mohamed, H.S., El-Bassuony, A.A., Hegab, M.M., Abdelgayed, G., Ebaid, H., Ahmed, S.A. & Kamel, E.M. (2025). Quercetin Derivatives from *Bidens pilosa* Suppressed Cell Proliferation via Inhibition of RSK2 Kinase and Aldose Reductase Enzymes: UPLC-MS/MS, GC-MS, In Vitro, and Computational Studies. *Appl. Biochem. Biotechnol.* <https://doi.org/10.1007/s12010-024-05134-8>

Received 09.06.2025

EFFECT OF EXTRACTION METHOD ON BIOACTIVITY OF EXTRACTS FROM TRANSGENIC ROOTS AND UNTRANSFORMED PLANTS OF *BIDENS PILOSA* L.

N.A. Matvieieva, T.A. Bohdanovych

Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, National Academy of Sciences of Ukraine
148 Akademika Zabolotnoho St., Kyiv, 03143, Ukraine
e-mail: bogdanovych_tais@ukr.net

Plants are a natural source of biologically active compounds. Due to these properties, they are used both in alternative medicine and as raw material for the production of drugs with

a wide spectrum of activity. At the same time, biotechnological roots obtained by genetic transformation using *Agrobacterium (Rhizobium) rhizogenes* may have a higher content of bioactive compounds. Therefore, determining the conditions for obtaining extracts with high bioactivity from such roots is an important stage in the development of technologies for using the transgenic lines. Among the plants that are of interest as a source of biologically active compounds with a wide spectrum of activity there is spanish needle (beggarticks) *Bidens pilosa* L. These are plants of the tropical region, which, however, also grow in temperate latitudes. In this work, the effect of ethanol concentration on the flavonoids content in extracts of *Bidens pilosa* L. and the bioactivity of such extracts was analysed. Studies conducted using *in vitro* cultivated plants and three lines of biotechnological roots revealed a significant increase in these compounds content in extracts obtained using ethanol at concentrations of 70 % and 96 % — up to 41.86 ± 5.5 mg RE/g dry weight (DW) in non-transformed roots and $60.17 \pm 4.6 \dots 82.15 \pm 5.5$ mg RE/g DW in biotechnological roots. The lowest flavonoids content was in aqueous extracts (34.25 ± 5.0 in the roots of control plants and $24.47 \pm 1.6 \dots 32.09 \pm 2.1$ mg RE/g DW in transgenic roots). Extracts with a high content of flavonoids were also characterized by greater antiradical activity in the reaction with the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH). In particular, the percentage of inhibition of DPPH radical in extracts obtained using 70 % ethanol was 2.60, 3.65 and 2.96 times higher than those of aqueous extracts from three root lines, respectively. Therefore, to obtain an extract from plants and biotechnological roots of *B. pilosa* with a high content of flavonoids and high antiradical activity, it is advisable to use ethanol at a concentration of 70 %.

Key words: *Bidens pilosa* L., biotechnological roots, flavonoids, antiradical activity.

ORCID

Н.А. МАТВЄЄВА — N.A. Matvieieva <https://orcid.org/0000-0002-4877-5222>

Т.А. БОГДАНОВИЧ — T.A. Bohdanovych <https://orcid.org/0000-0002-1834-523X>