

УДК: 633.525.2:577.112

Грінченко Д.Г., аспірант

Поспелов С.В., кандидат с.-г. наук

Полтавська державна аграрна академія, Полтава, Україна

ЛЕКТИНИ КРОПИВИ ДВОДОМНОЇ (*URTICA DIOICA* L.) ТА ОСОБЛИВОСТІ ЇХ ВИЯВЛЕННЯ

Резюме: Наведені літературні та експериментальні дані щодо лектинів кропиви дводомної. Кореневище кропиви дводомної містить шість форм хітинспецифічних ізолектинів, які мають імуномодулюючу активність і відіграють важливу роль у захисті рослин від патогенів. Гемаглютинуюча активність лектинів в екстрактах листків кропиви дводомної за традиційних методів не спостерігається, але реєструється в кислому і лужному середовищі.

Ключові слова: кропива дводомна, крапива двудомная, аглютинація, гемаглютинація, лектини, *Urtica dioica*, UDA.

Лектини кропиви дводомної (*Urtica dioica* L.) входять в групу N-ацетил-D-глюкозамінспецифічних лектинів. Вони зв'язують N-ацетил-D-глюкозамін (2-ацетамідо-2-дезоксид-D-глюкопіранозу) і/або β 1–4 зв'язані олігомери цього вуглеводу (хітинові олігосахариди), не взаємодіючи при цьому з D-манозою та D-глюкозою. Білкова частина містить залишки амінокислот [1, 3].

Визначення молекулярної маси дозволило зробити висновок, що фітолектин кропиви дводомної складається з одного поліпептиду з масою близько 9 кДа (за амінокислотним складом – 8526 Д). В амінокислотному складі лектину кропиви особливо багато гліцину та цистину і незвично високий вміст триптофану (таблиця) [1].

Таблиця

Амінокислотний склад лектину кропиви дводомної

Амінокислота	Моль-%	Залишків/моль	Амінокислота	Моль-%	Залишків/моль
Asp	9,3	7	Met	0,0	0
Thr	2,4	2	Ile	1,2	1
Ser	11,7	9	Leu	1,2	1
Glu	7,9	6	Tyr	3,6	3
Pro	0,0	0	Phe	0,0	0
Gly	18,4	14	His	2,2	2
Cys	16,2	12	Lys	2,1	2
Ala	3,7	3	Arg	7,8	6
Val	2,7	2	Trp	9,7	7

Кореневище кропиви містить шість форм ізолектинів. Усі вони здатні викликати утворення інтерферону у свіжих людських лімфоцитах. Рентгеноструктурним аналізом вивчена структура ізолектину-1 кореневища кропиви. Поліпептидний ланцюг ізолектину вміщує дві гевейноподібні ділянки з хітиновз'язуючими місцями, а третинна структура у доменах підтримується чотирма дисульфідними зв'язками. В кристалі C-термінальна область зв'язує іони цинку біля місць зв'язування вуглеводів. Два іони цинку зв'язують дві незалежні молекули способом «хвіст до хвоста». Таким чином, His-47 молекули 1 і His-67 молекули 2 координують перший іон цинку, тоді, як другий іон цинку зв'язує Asp-75 молекули 1 і His-47 молекули 2 [1, 8].

Лектин взаємодіє з вуглеводами та глікокон'югатами – N-ацетил-D-глюкозаміном і його олігомерами. Вуглеводозв'язуюче місце лектину найбільш комплементарне до N, N', N''-триацетилхітотріози. Воно складається з трьох ділянок зв'язування, кожна з яких дещо

відрізняється за вуглеводною специфічністю. Лектин кропиви також має гідрофобний район, суміжний із вуглеводзв'язуючим місцем. Рівноважний діаліз та ультрафіолетова диференційна спектроскопія показує, що лектин кропиви на кожную молекулу, що складається з одного поліпептидного ланцюга, має два вуглеводзв'язуючих місця [1].

Очищений білок досить стабільний – тепло- і кислотостійкий. Він не денатурується 0,1 н. HCl, 1 н. CH₃COOH, 5 %-ною трихлороцтовою кислотою. Однак, при pH вище 12 його активність швидко зникає. Без помітної втрати активності білок витримує 15-хвилинне прогрівання при +80 °C, і при подальшому кип'ятіння у воді втрачає лише 50 % своєї активності [1, 8].

Вважають, що хітиносpezifічні (хітинзв'язуючі) лектини відіграють важливу роль у захисті рослин від патогенів. Так лектин кропиви демонструє протигрибкову активність *in vitro* та інсектицидну активність [1, 4, 8].

Лектини кропиви діють синергічно з хітиназами в інгібуванні росту грибів, а без хітинази пригнічують ріст грибів *Trichoderma hamatum*, *Phycomyces blakesleenus*, *Botrytis cinerea* на 50 % в концентрації 50, 80 і 45 мкг/мл відповідно. Інші хітиносзв'язуючі лектини (лектин зародків пшениці, бульб картоплі, насіння дурману звичайного, чистотілу та коренів лаконосу американського) неактивні проти цих грибів [1, 8].

Подібно до лектину зародків пшениці, він володіє інсектицидною дією. Однак, випробування показало, що ця дія в двічі слабша за аналогічну дію лектину зародків пшениці (АЗП) [1].

В діапазоні концентрацій 30–300 мкг/мл лектин індукує синтез інтерферону в лімфоцитах. Він також володіє мітогенною активністю щодо Т-лімфоцитів мишей і людини, тобто, має імуномодуючу активність.

Доведено, що лектини кропиви дводомної інгібують проліферацію на лінії пухлинних клітин і блокують зв'язування епідермального фактора росту з його рецептором. Крім того, він також є потужним і селективним інгібітором вірусу імунодефіциту людини (ВІЛ-1 і ВІЛ-2) та росту клітин при гіперплазії простати [1, 5, 8].

У літературних джерелах описується отримання лектинів кропиви дводомної шляхом екстракції при низьких значеннях pH (0,1 н. HCl або 0,5 н. CH₃COOH) [2, 5]. За таких умов лектини були виявлені лише в коренях та кореневищах. Відмічається також наявність лектинів у насінні (зокрема недозрілому), проте не в листках і стеблах [7, 8]. Однак, білоруські дослідники відмічають лектинову активність у листках кропиви дводомної. В своїх дослідженнях вони користувались іншою методикою виявлення лектинів [2].

За їхньою методологією, підготовка екстрактів для дослідження рослин на присутність лектинів здійснювалася за допомогою гомогенізації рослинної сировини в 0,9-процентному розчині NaCl у співвідношенні 1:6. Гомогенат перемішували протягом доби, осад відокремлювали фільтруванням і центрифугуванням протягом 15 хв при 5000 об./хв. Виділення препаратів лектинів здійснювали за методом преципітації та їх діалізу проти етанолу. Ідентифікацію гемолітичної і гемаглютинуючої активності лектинів здійснювали на імунологічних планшетах з U-подібними лунками за допомогою мікротитрування досліджуваних білків із подальшим додаванням у них 2,5 % суспензії еритроцитів кролика. Фітогемаглютинуючу активність лектинів (ФГА) виражали в величинах, обернених мінімальній концентрації білка, при якій відзначали реакцію гемаглютинації (мкг білка/мл), після чого переводили даний показник у перерахунку на сиру масу [2]. За результатами цих досліджень, в екстрактах листків кропиви дводомної титр аглютинації складав 1:256 (1130,0 ± 2,32 Од / мг білка) і в коренях – 1:112 (373,0 ± 1,02 Од / мг білка) [2].

Найчастіше для виявлення активності лектинів використовують метод аглютинації з суб'єктивною оцінкою одержаних результатів. Принцип методу полягає в тому, що до серії послідовних розведень лектину додають суспензію еритроцитів (1–5 %) у забуференому фізіологічному розчині, і після інкубації результат аглютинації спостерігають візуально (неозброєним оком або під мікроскопом) [1].

За нашими дослідженнями в умовах фізіологічного розчину гемаглютинуюча активність лектинів в екстрактах з листків кропиви дводомної, зібраної в період цвітіння, не спостерігалася. Проте була достатньо високою в кислому і лужному забуференому середовищі. У дослідженні використовували еритроцити людини. В імунологічних планшетах з U-подібними лунками готувалися серії послідовно розведеного екстракту листків кропиви в фізіологічному розчині, а також буферних розчинах із діапазоном рН – 4,0; 4,5; 5,0; 5,5; 6,0; 6,5; 7,0; 7,5; 8,0, (за Мак-Ільвеном), куди додавали суспензію еритроцитів. Після інкубації результат аглютинації спостерігали візуально. Оцінку гемаглютинуючої активності виражалася в балах (від 0 до 3).

Виявленню гемаглютинуючої активності лектинів кропиви дводомної може заважати низка факторів. Наприклад, лектини кореневищ кропиви рекомендують екстрагувати 0,1 М розчином соляної кислоти для збільшення виходу [1]. Проте лектини інших частин рослини недостатньо вивчені для рекомендування цього методу екстракції [7, 8].

Аглютинуюча активність лектинів із кореневищ кропиви дводомної може інгібуватися простими моносахаридами (маннози, глюкози та їх похідних) [8].

Бібліографія.

1. Антонюк В.О. Лектини та їх сировинні джерела / Антонюк В.О. – Львів: ПП «Кварт», 2005. – 554 с.
2. Канделинская О.Л. Лектины лекарственных растений дикорастущей флоры Беларуси: перспективы использования / О.Л. Канделинская, Е.Р. Грищенко, Л.В. Обуховская [и др.] // Вестник Фонда фундаментальных исследований. – 2011. – № 2. – С. 169–182.
3. Куркин В.А. Изучение возможностей комплексной переработки корней и корневищ крапивы двудомной / В.А. Куркин, В.М. Рыжов, Э.А. Балагозян // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2012. – Т 14. – № 1(9). – С. 2246–2248.
4. Ямалеева А.А. Лектины растений и их биологическая роль: автореф. дис... на соискание науч. степени д-ра биол. наук.: спец. 03.00.12 «Физиология и биохимия растений» / Ямалеева Анна Александровна; Уфа., 2001. – 349 с.
5. Dennis A. African Prune and Stinging Nettle for Benign Prostatic Hyperplasia (BPH) / Awang Dennis, Saw Palmetto // Canadian Pharmaceutical Journal, 1997. – November. – P. 37–40, 43–44, 62.
6. Peumans W.J. An unusual lectin from stinging nettle (*Urtica dioica*) rhizomes / W.J. Peumans, M.D. Ley, W.F. Broekaert // FEBS. – 1984. – 177(1): 99–103.
7. Treasure J. *Urtica* semen reduces serum creatinine levels / Jonathan Treasure // The Journal of the American Herbalists Guild. – 2003. – 4(2): 22–25.
8. *Urtica*: therapeutic and nutritional aspects of stinging nettles / [Edited by Gulsel M. Kavalali, University of Istanbul, Turkey]. – This edition published in the Taylor & Francis e-Library, 2004.

Наведені літературні та експериментальні дані щодо лектинів кропиви дводомної. Кореневище кропиви дводомної містить шість форм хітинспецифічних ізолектинів, які мають імуномодулюючу активність і відіграють важливу роль у захисті рослин від патогенів. Гемаглютинуюча активність лектинів в екстрактах листків кропиви дводомної за традиційних методів не спостерігається, але реєструється в кислому і лужному середовищі.

ЛЕКТИНЫ КРАПИВЫ ДВУДОМНОЙ (*URTICA DIOICA* L.) И ОСОБЕННОСТИ ИХ ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Гринченко Д.Г., Поспелов С.В.

Приводятся литературные и экспериментальные данные относительно лектинов крапивы двудомной. Корневище крапивы двудомной содержит шесть форм хитинспецифических изолектинив, которые имеют иммуномодулирующую активность и играют важную роль в защите растений от патогенов. Гемагглютинирующая активность лектинов в экстрактах

листьев крапивы двудомной при традиционных методах выявления не наблюдается, однако определяется в кислой и щелочной забуференной среде.

STINGING NETTLE (*URTICA DIOICA* L.) LECTINS AND FEATURES OF THEIR DETECTION

Grinchenko D.G., Pospelov S.V.

Nettle roots and rhizomes contain six forms of lectins. They all have immunomodulatory activity to man and play an important role in plants immunity. In the literature describes method of effective extraction nettle lectins at low pH. Under these conditions, lectins were detected only in the roots and rhizomes, lectins presence was observed in seeds. According to our research lectin agglutination activity of nettle leaves extracts in a saline solution is not observed, but there is enough in low and high pH buffered solution.

УДК: 633.88

Лікарське рослинництво: від досвіду минулого до новітніх технологій: матеріали другої Міжнародної науково–практичної інтернет–конференції. – Полтава, 2013. – 161с.

Наведені результати досліджень лікарських рослин, особливості їх біології, фізіології і фітохімії, розмноження і культивування, використання у медицині та промисловості.

Приведены результаты изучения лекарственных растений, особенности их биологии, физиологии и фитохимии, размножения и возделывания, использования в медицине и промышленности.

The results of studies of officinal plants are given. The peculiarity their biology, physiology and phytochemistry, reproduction and cultivation, use in medicine and industry was considered.

Редакційна колегія:

С.В.Поспєлов (відповідальний редактор)

П.В.Писаренко

М.М.Опара

В.М.Самородов

Д.Б.Рахметов

О.Ю.Коновалова

С.В.Клименко

Р.А.Колєснікова (літературний редактор)

С.В.Шершова (відповідальний секретар)

Л.В.Чеботарьова (технічний секретар)