

УДК: 615.322:582.734.4

Джан Т.В.¹, кандидат. фарм. н., Поспелов С.В.², кандидат с.-г.н.,
Клименко С.В.³, доктор б. н.

¹Відкритий міжнародний університет розвитку людини «Україна», Київ, Україна

²Полтавська державна аграрна академія, Полтава, Україна

³Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка НАНУ, Київ, Україна

ДОСЛІДЖЕННЯ ГЕМАГЛЮТИНУЮЧОЇ АКТИВНОСТІ ЕКСТРАКТІВ ЛИСТЯ СОРТІВ ХЕНОМЕЛЕСУ (*CHAENOMELES* LINDL.)

Ключеві слова: лектини, реакція гемаглютинації, сорти хеномелесу, *Chaenomeles* Lindl.

Лектини належать до поширеної в природі групи вуглеводз'язуючих білків. Вони володіють унікальною властивістю сприймати та розшифровувати інформацію, носіями якої є вуглеводи і вуглеводні залишки у складі інших макромолекул, зокрема поверхневих рецепторів клітинних мембран. На цьому ґрунтується здатність лектинів до реакції специфічного розпізнавання, що реалізується у багатьох біологічних процесах, як в нормі, так і при патологічних станах [2]. За допомогою рентгенструктурного аналізу вдалося встановити топологічну подібність ряду відомих лектинів рослинного та тваринного походження, що може свідчити на користь існування загальних молекулярних механізмів вуглевод-білкового розпізнавання, на яких базується широкий спектр біологічної активності цих молекул [3].

Інтерес до лектинів з боку фармацевтичної науки проявлявся з моменту їх відкриття, так як вони мають ряд унікальних властивостей, які дозволяють вважати перспективним їх застосування у фармацевтичній та медичній практиці. На сьогодні вони знайшли практичне застосування у ряді медичних галузей, таких як гістологія (виявлення вуглеводних структур на поверхні клітин і тканин), діагностика імунодефіцитних станів і виявлення хромосомних порушень, трансплантологія (розділення клітин крові та лімфоїдних клітин, відмінних за антигенними властивостями). Велика перспектива застосування лектинів у очищенні крові від вірусів, патологічно змінених глікопротеїнів, у цілеспрямованій доставці ліків до нормальних або патологічно змінених клітин і тканин організму або до інфекційних агентів [2].

Тому пошук нових лектинів, отримання та вивчення їх властивостей на сьогоднішній день залишається актуальним завданням. З цією метою були проведені дослідження лектинів листя видів хеномелесу (*Chaenomeles* Lindl.) сортів української селекції згідно методичних рекомендацій М.Д. Луцика та ін. [6]. Найбільші показники гемаглютинуючої активності (титр реакції гемаглютинації 2⁷-2⁸) був зафіксований в екстрактах рослинної сировини, зібраної у липні, що відповідає максимальному нагромадженню всіх біологічно активних речовин в цей період [5]. Відповідний зразок рослинної сировини подрібнювали і гомогенізували з забуференим фізіологічним розчином (ЗФР) у співвідношенні 1:2, 1:5, 1:8 або 1:10. При цьому ЗФР мав наступний склад: в 1 л дистильованої води розчиняли 8 г NaCl, 0,2 г KCl, 1,15 г Na₂HPO₄·12H₂O, рН доводили до 7,4 за допомогою 1М HCl або NaOH. Гомогенат фільтрували, вміст лектинів визначали у фільтрованому екстракті за допомогою реакції гемаглютинації. Відомі також інші способи визначення активності лектинів [1,3,7], які застосовуються залежно від об'єкту досліджень і мають різну чутливість.

Неохідно зазначити, що незважаючи на ефективність вказаних способів, вони не враховують таку важливу властивість лектинів, як зміну активності залежно від рН середовища.

Тому метою нашого дослідження було розробка методики визначення активності лектинів хеномелесу. Об'єктом дослідження було листя сортів хеномелесу *Chaenomeles* Lindl. селекції Національного ботанічного саду ім. М.М. Гришка НАН України (НБС). Листя збирали у липні 2014 року.

Рослинний матеріал хеномелесу розмелювали і екстрагували 0,05М розчином хлоридної кислоти у співвідношенні 1:20. Суміш фільтрували і фільтрат центрифугували 20 хвилин при швидкості 3000 об/хв. Осад відкидали, із надосадової рідини етанолом у співвідношенні 3:1 осаджували лектини. Одержану суміш центрифугували 20 хвилин при швидкості 3000 об/хв, осад розчиняли в 1,0 мл 0,9% розчину NaCl. Для визначення активності видалених лектинів готували фосфатно-цитратну буферну суміш з рН 4,0-8,0.

Для визначення лектинів готували серію послідовних двократних розведень екстракту в стандартних планшетах для імунологічних реакцій. У ряд лунок U-подібної форми вносили по 0,05 мл буферної суміші, потім у першу лунку додавали 0,05 мл лектинів і перемішували. З першої лунки переносили в другу 0,05 мл суміші, з другої лунки переносили 0,05 мл в третю і т.д. Отримували серію розведень лектинів в 2, 4, 8, 16 і т. д. разів. В кожну лунку вносили по 0,05 мл 2% суспензії еритроцитів, перемішували та витримували одну годину при температурі 22-23⁰С. Оцінку активності зразка проводять візуально в балах: від 0 балів (аглотинація відсутня) до 3-х балів (повна аглотинація), після чого підраховували суму в усіх 8-ми лунках [4]. Для порівняння проводили оцінку гемаглютинуючої активності екстрактів традиційним методом, із застосуванням фізіологічного розчину.

В результаті було встановлено, що лектини хеномелесу змінюють свою активність залежно від рН середовища (таблиця). З наведених даних можна зробити висновок, що в діапазоні рН=7,0-7,5 для усіх сортів спостерігалась максимальна активність. Якщо при рН=4,0-6,5 та 8,0 активність не перевищувала 15,4 одиниць, то при рН 7,0-7,5 вона становила в середньому по сортах 18,7 – 20,9 одиниць.

Таблиця

Залежність гемаглютинуючої активності лектинів хеномелесу від рН буферної системи (в балах)

Сорт хеномелесу	рН буферу									Фізіол. розчин
	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0	6,5	7,0	7,5	8,0	
Чудовий Ольги	4	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5	6,5	6,5	9,0	6,5
Святковий	16	9,5	3,5	20	8,5	17,5	24	24	24	17,5
Ян	16	0	0,5	2,0	3,5	8,0	19,5	24	4,0	10,5
Амфора	16	3,0	3,0	4,0	6,0	8,5	16	24	19	11,5
Голд	16	0	0,5	3,5	4,5	10	16,5	13,5	1,0	13,0
Альоша	17	6,5	4,0	5,0	8,0	13	23	24	17	15,0
Вітамінний	18	18	10,5	9,0	14	17	24	24	24	18,5

При визначенні активності лектинів із використанням фізіологічного розчину як екстрагенту вона становила у середньому по сортах 12,8 одиниць, що на 5,9-8,1 одиниць менше порівняно із способом, де екстрагентом була 0,05М хлоридна кислота.

Таким чином, нами пропонується метод визначення активності лектинів листя хеномелесу, який включає екстракцію 0,05М розчином хлоридної кислоти, подальшу концентрацію білків етанолом та проведення реакції гемаглютинації у буферній системі з рН=7,0-7,5. Це дає можливість з високою точністю проводити масові аналізи та визначати перспективні сировинні об'єкти, що може бути

цінним для одержання субстанцій різної фармакологічної активності. Цікавими з цієї точки зору є дослідження [8], в якому із плодів хеномелесу методом афінної хроматографії був виділений лектин із молекулярною масою 16 кД і вмістом полісахаридів близько 57%. Гемаглютинуюча активність цього лектину показала пригнічення активності N-ацетиллактозаміну і курячого овальбуміну.

Бібліографія

1. Адамовская В.Г., Личневский А.А., Молодченкова О.О. и др.. Биохимический метод оценки ярового ячменя на устойчивость к фузариозной и гельминтоспориозной инфекции // 36. наук. пр. СГІ. - Одеса, 2002. - вип. (42): С. 83-88.
2. Антонюк В.О. Лектини: поширення і функції в живих організмах та особливості заготівлі сировини // Український біофармацевтичний журнал. – 2013. - №6 (29). – С. 4-10.
3. Антонюк В.О. Лектини та їх сировинні джерела. - Львів: Кварта, 2005. - С. 108-124.
4. Гольнская Е.Л., Поспелов С.В., Самородов В.Н. Способ оценки физиологической активности лектинов к сахарам. / А.с. № 1732276, МКИ G 01N33/53, Заявл. 05.06.1989 г. // Бюл. “Изобретения и открытия”, №17.
5. Джан Т.В., Рудік Г.О. Дослідження вегетативних органів представників родів *Chaenomeles* Lindl. та *Cydonia* Mill. на вміст біологічно активних речовин (лектинів) // Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. – 2011. - №29. – С. 64-66.
6. Луцик М.Д., Панасюк Е.Н., Антонюк В.А. и др. Методы поиска лектинов (фитогемагглютининов) и определение их иммунохимической специфичности. Методические рекомендации. – Львов, 1980.
7. Тимофеева О.А., Невмержицкая Ю.Ю., Мифтахова И.Г. и др.. Лектины клеточной стенки в адаптивных реакциях озимой пшеницы // Растения и стресс: всерос. симпозиум: тезисы докл., 9-12 нояб. 2010, - М., 2010. - С. 419.
8. Ishiwari A., Akutsu T., Ikegaya H., Sakurada K. Purification and Characterization of a Lectin from Chinese Quince (*Chaenomeles sinensis*) Fruit // Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology. – 2010. – V. 19 (2), P. 243-245.

УДК: 633.88+615.32:58

ББК: 42.143 Кр

Л 56

Л 56 Лікарське рослинництво: від досвіду минулого до новітніх технологій: матеріали п'ятої Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції. – Полтава, 27-28 грудня 2016 р. – Полтава: РВВ ПДАА, 2016.– 334 с.

ISBN 978-966-2088-78-6

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

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

The results of studies of Medicinal Herbs & Spices are given. The features of their introduction, biology, breeding, physiology and phytochemistry, propagation and cultivation, use in medicine and industry was considered.

Редакційна колегія:

Аранчій В. І., професор, ректор ПДАА (Україна) – **голова**, Устименко О. В., директор ДСЛР ІАіП (Україна) – **співголова**, Поспелов С.В., професор (Україна) – **відповідальний редактор**, Глушенко Л. А., к. б. н. (Україна) – **відповідальний секретар**, Антоняк Г.Л., д. б. н. (Україна), Бабаєва О. Ю., к. б. н. (Росія), Буюн Л.І., д. б. н. (Україна), Гасимова В., доцент (Азербайджан), Гвенцадзе Л. И., д. б. н. (Грузія), Гогіташвілі Е. В., д. б. н. (Грузія), Дікова Б., PhD (Болгарія), Дитченко Т. І., к. б. н. (Білорусь), Жусупова Г.Е., д.х.н. (Казахстан), Йосебідзе Т.І., д. б. н. (Грузія), Кіснічан Л.П., ст. н. с. (Молдова), Колдаєв В.М., д. б. н. (Росія), Коновалова О. Ю., д. фарм. н. (Україна), Корсун В. Ф., д. фарм. н. (Росія), Корулькин Д. Ю., д. х. н. (Казахстан), Курловіч Т.В., к. б. н. (Білорусь), Міщенко Л. Т., д. б. н. (Україна), Моисеев Д.В., к. фарм. н. (Білорусь), Музичкіна Р. А., д. х. н. (Казахстан), Мучаїдзе М. Н., д. с.-г. н. (Грузія), Ніколова М., PhD (Болгарія), Петренкова В.П., д. с-г. н., чл.-кор. НААН (Україна), Самедова А.А., к. б. н. (Азербайджан), Самородов В.М., доцент (Україна), Ткаченко К.Г., д. б. н. (Росія), Шамаль Н.В., с. н. с. (Білорусь), Шатковський А.П., д. с.-г. н. (Україна), Шилова І.В., д. фарм. н. (Росія).

Рецензенти:

Георги Констадинов – доктор наук, професор Інституту ґрунтознавства, агротехнології та захисту рослин ім. Никола Пушкарова, Болгарія

Вікторія Почерняєва – доктор медичних наук, професор кафедри онкології та радіології ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», науковий співробітник Державного Експертного центру МОЗ України, Україна

Она Рагажинскиене – Habil. Dr. of Biology, Doctor of Pharmacy, професор, зав. відділу лікарських та ароматичних культур Ботанічного саду Університету Вітаутаса Великого, Литва

На обкладинці: Гавсевич Петро Іванович (1883-1920)

Рекомендовано до видання Полтавським відділенням Українського ботанічного товариства (протокол №14 від 28 грудня 2016 р.)

Відповідальність за зміст і редакцію наведених матеріалів несуть автори.

УДК: 633.88+615.32:58

ББК: 42.143 Кр

© – Полтавська державна аграрна академія, 2016 р.

© – фото авторів, 2016 р.

ISBN 978-966-2088-78-6

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНА АГРАРНА АКАДЕМІЯ НАУК
ПОЛТАВСЬКА ДЕРЖАВНА АГРАРНА АКАДЕМІЯ
ДОСЛІДНА СТАНЦІЯ ЛІКАРСЬКИХ РОСЛИН ІАП НААН
ПОЛТАВСЬКЕ ВІДДІЛЕННЯ УКРАЇНСЬКОГО БОТАНІЧНОГО ТОВАРИСТВА**

**Матеріали п'ятої Міжнародної науково-практичної
інтернет-конференції**

Лікарське рослинництво: від досвіду минулого до новітніх технологій

**До 100-ліття системного вивчення
лікарських рослин в Україні**



ПОЛТАВА - 2016

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНА АГРАРНА АКАДЕМІЯ НАУК
ПОЛТАВСЬКА ДЕРЖАВНА АГРАРНА АКАДЕМІЯ
ДОСЛІДНА СТАНЦІЯ ЛІКАРСЬКИХ РОСЛИН ІАП НААН
ПОЛТАВСЬКЕ ВІДДІЛЕННЯ УКРАЇНСЬКОГО БОТАНІЧНОГО ТОВАРИСТВА

Матеріали п'ятої Міжнародної науково-практичної
інтернет-конференції
**Лікарське рослинництво: від досвіду
минулого до новітніх технологій**

**До 100-ліття системного вивчення
лікарських рослин в Україні**

Материалы пятой Международной научно-практической
интернет-конференции

**Лекарственное растениеводство:
от опыта прошлого к современным
технологиям**

**К 100-летию системного изучения
лекарственных растений в Украине**

Proceedings of Fifth International Scientific and Practical
Internet Conference
**Medicinal Herbs: from Past Experience
to New Technologies**

**In honor of the 100th anniversary of the system studying of
medicinal plants in Ukraine**