

УДК 615.739.6+577.15/17
© 1998.

ПОСПЕЛОВ С. В., кандидат сельскохозяйственных наук
Полтавский государственный сельскохозяйственный институт

ОЦЕНКА АКТИВНОСТИ ЛЕКТИНСОДЕРЖАЩИХ ЭКСТРАКТОВ ЭХИНАЦЕИ ПУРПУРНОЙ

Растительные лектины известны науке уже более ста лет. Тот факт, что в последние десятилетия ежегодно проводятся международные конференции «Interlec», посвященные изучению и использованию этих белковых соединений, свидетельствует о важности и необходимости изучения лектинов. Уникальная способность обратимо и избирательно взаимодействовать с углеводами, поли- и олигосахаридами придает им много функций, значение которых до конца не изучено.

Химический состав растений рода эхинацея (*Echinacea Moench*) в отечественной и зарубежной литературе освещен достаточно полно [7, 9]. Эти виды давно и интенсивно изучаются как за рубежом, так и у нас в стране. Вместе с тем, сведения о наличии в них лектинов носят фрагментарный характер. Поэтому в этом плане более детальный анализ достаточно актуален.

Оценка активности лектинов проводилась нами путем постановки реакции гемагглютинации в иммунологических планшетах [2]. Для этого в каждую лунку добавляли по 0,05 мл физиологического раствора, доведенного до нужного значения pH, затем вносили по 0,05 мл экстракта и готовили серию последовательных двукратных разведений. В каждую лунку добавляли по 0,05 мл 2-процентной суспензии эритроцитов, и смесь оставляли при температуре 25°C на 2 часа, после чего проводили визуальную оценку по пятибалльной шкале.

Углеводную специфичность определяли по разработанной нами методике [1, 4]. Препарат лектина с постоянным титром (1:4) помещали в иммунологические планшеты, смешивали с равными объемами углеводов в серии их последовательных двукратных разведений. Систему инкубировали 1 час при комнатной температуре, после чего в каждую лунку вводили равный ис-

Проведені дослідження змісту й активності лектинів в різних частинах ехінацеї пурпурової (Echinacea purpurea (L.) Moench). Експериментальним шляхом визначені оптимальні параметри оцінки активності її лектинів.

ходному объему лектина объем 2-процентной суспензии трижды отмытых эритроцитов и оставляли на 60—120 минут при температуре 25°C. Аналогично проводили постановку реакции гемагглютинации с лектинами без

добавления сахара-ингибитора. Для оценки специфичности подсчитывали сумму активности лектина без сахара-ингибитора, затем сумму активности с углеводом и по разности сумм определяли сродство лектина к сахарам.

Известно, что плоды и семена содержат максимальное количество лектинов [2]. Исходя из этого, нами при исследовании плодов эхинацеи были отработаны условия оценки активности лектинов при их взаимодействии с эритроцитами разных групп крови человека в системе АВО. Пробы измельчали и после 2-часовой экстракции физиологическим раствором (1:10) раствор охлаждали до 4°C, насыщали 96-градусным этанолом до 20-процентной конечной концентрации и доводили до pH=3,0 1н HCl. Смесь выдерживали 2 часа при температуре 4°C и полученный осадок отделяли центрифугированием (15 мин при 3000 об./мин), растворяли в 1 мл физиологического раствора и оценивали на активность агглютинации. Супернатант доводили до pH=8,0 1н NaOH, охлаждали 2 часа и опять центрифугировали. Осадок растворяли в 1 мл физиологического раствора. Второй, третий и четвертый этапы заключались в последовательном насыщении надосадочной жидкости охлажденным 96-градусным этанолом до 35%, 50% и 76% конечной концентрации с отделением осадка после каждого этапа.

Из литературных источников нам известно об обнаружении лектинов в эхинацее узколистной (*Echinacea angustifolia* DC. var.

angustifolia) [8]. Авторы упомянутой публикации, к сожалению, не приводят данных активности, а также того, в каких частях растения были выявлены эти соединения. Исследования лектинов в эхинацее пурпурной (*Echinacea purpurea* (L.) Moench) начали проводиться сравнительно недавно [3, 6, 10].

Нами была проведена экстракция корней, листьев, стеблей, соцветий и плодов фосфатно-цитратным буфером на основе физиологического раствора с pH 4,2; 7,0; 8,0 в отношении сырья: экстрагент — 1:5 и 1:10. Во всех случаях были получены отрицательные результаты. Несколько иные данные характерны для исследований Н. Ф. Погорелой, В. А. Меньшовой, А. В. Брайон и др., проведенным в Киевском национальном университете [3]. По их результатам, водно-солевые экстракты корней и стеблей 10-дневных растений, а также стеблей, листьев, соцветий и плодов растений второго года, не взаимодействовали с эритроцитами человека. В то же время экстракты корней и соцветий проявили специфическую активность. По нашему мнению,

различия в данных объясняются неоднородностью сырья и разными условиями опытов. Кроме того, эритроциты человека как модель оценки активности лектинов не совсем подходят для этих целей. Это подтверждают указанные ранее авторы [3], которые получили положительную реакцию практически во всех вариантах при использовании эритроцитов крысы.

Активность лектинов в плодах эхинацеи определялась нами поэтапно в процессе проведения ступенчатого низкотемпературного этанольного фракционирования до 20%, 35%, 50% и 76% конечной концентрации.

Осадок и надосадочная жидкость в каждом этапе проверялась на наличие лектинов. При этом реакция агглютинации регистрировалась только в двух вариантах: при 20-процентном насыщении этанолом с pH=3,0 (титр агглютинации 1:256) и pH=8,0 (титр 1:512).

В первом случае при начальном разведении наблюдалась реакция торможения агглютинации.

1. Гемагглютинирующая активность экстракта плодов эхинацеи пурпурной на разных этапах этанольного фракционирования (в баллах)

Этапы фракционирования	Величина активности
Экстракция физиологическим раствором	0,0
Осадок после 20-процентного насыщения, pH=3,0	14,0
Осадок после 20-процентного насыщения, pH=8,0	22,0
Супернатант при 20-процентном насыщении	0,0
Супернатант при 35-процентном насыщении	0,0
Осадок после 50-процентного насыщения	0,0
Супернатант при 50-процентном насыщении	0,0
Осадок после 76-процентного насыщения	0,0
Супернатант при 76-процентном насыщении	0,0

Нами установлено, что оптимальными условиями для оценки активности лектинов были насыщение экстракта этанолом до 20-процентной конечной концентрации, доведение раствора до pH=8,0, охлаждение и центрифугирование.

Полученный осадок проявил высокую активность в реакции с эритроцитами разных групп крови человека в системе ABO: с O(I) группой она составила 16,0 баллов, A(II) — 15 баллов и AB (IV) — 11 баллов.

Кроме экстракции плодов физиологическим раствором, в своих опытах мы использовали в качестве экстрагента фосфат-

но-цитратную буферную смесь на основе физиологического раствора с разным значением pH (табл. 2). После 2-часовой экстракции раствор насыщали этанолом до 20-процентной конечной концентрации, а осадок после центрифугирования проверяли на гемагглютинирующую активность. Данные таблицы 2 свидетельствуют о том, что экстракция лектинов происходила при использовании нейтрального буфера. Однако, сравнивая способность извлечения, следует все-таки отдать предпочтение физиологическому раствору

2. Гемагглютинирующая активность белковых соединений при экстракции буферными растворами (в баллах)

Условия экстрагирования	Величина активности
Экстрагирование при pH=4,2	0,0
Экстрагирование при pH=5,0	0,0
Экстрагирование при pH=7,0	4,0
Экстрагирование при pH=8,0	0,1

При фракционировании белков экстрактов установлено, что лектины главным образом сосредоточены в глобулиновой фракции белков во всех исследуемых частях растения [3]. Авторы отмечают, что двухлетние растения характеризуются более высокой лектиновой активностью, чем однолетние.

В процессе экспериментов нами была отмечена следующая важная особенность: при последовательном разделении лектина в двухкратных планшетах его активность вначале высокая, затем снижается, после чего опять повышается. Таким образом, наблюдалось торможение реакции агглютинации, сходное с тем, что происходит при определении наличия взаимодействия углеводов с лектинами. Вероятно, это было вызвано наличием в растворе полисахаридного комплекса, который "маскировал" активность лектинов, что следует учитывать при поиске лектинов в растениях. Указанная особенность определения активности лектинов у эхинацеи пурпурной наводит на мысль, что, используя их углеводную специфичность, можно разработать простой и быстрый метод оценки не только качественного, но и количественного содержания углеводов в растительных экстрактах.

По разработанной ранее методике [1] мы провели оценку взаимодействия лектинов с углеводами арабинозой, глюкозой, галактитом, ксилозой, галактозой, фруктозой. При этом торможения реакции агглютинации практически не наблюдалось. Вероятно, при наличии более широкого спектра углеводов мы смогли бы выявить специфичность, так нами наблюдалась подобная реакция с полисахаридным комплексом.

Обнаружение и изучение лектинов в видах рода *Echinacea* не только расширяет наше представление о лектинах и химическом составе представителей данного рода. До настоящего времени точно не установлено, какие вещества или комплексы каких соединений обеспечивают высокий и разнообразный фармакологический эффект препаратов из растений этого рода. Мы полностью согласны с исследователями из Литвы [10], которые допускают тесную взаимосвязь лечебного действия экстракта эхинацеи с лектинами, которые в нем содержатся. Это полностью соответствует высказанной ранее гипотезе о фармакологической роли лектинов [5].

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Гольинская Е. А., Поспелов С. В., Самородов В. Н. Методы оценки физиологической активности лектина к сахарам // Докл. АН СССР № 1732276, кл. 6.01.13.353. - Огубл. 07.05.92, Бюл. № 17.
2. Луцки М. Д., Панасюк Е. Н., Луцки А. Д. Лектины // Львов: Вища школа, 1981. - 156 с.
3. Погоріла Н. Ф., Меншова В. О., Брайон О. В. та ін. Лектини - біологічно активні речовини ехінацеї пурпурної // Фармацевтичний журнал. - 1997. - № 4. - С. 20-23.
4. Поспелов С. В., Самородов В. М. Углеводная специфичность лектинов и совершенствование методов ее определения // Продуктивність і якість сільськогосподарської продукції. Наукові праці Полтавського СГІ. - Т. 17. - Полтава. - 1995. - С. 184-188.
5. Поспелов С. В., Самородов В. Н. Лектины лекарственных растений: стратегия поиска, оценка активности и возможное фармакологическое действие // Там же. - С. 177-183.
6. Поспелов С. В., Самородов В. Н. Поиск и свойства лектинов эхинацеи пурпурной // Проблемы лекарственного растениеводства. / Тех. доп. Мажар. наук.-практ. конф. з нагоди 80-річчя інституту лікарських рослин УАН, - Полтава. - 1996. - С. 239-240.
7. Самородов В. Н., Поспелов С. В., Моисеева Г. Ф. и др. Фитохимический состав представителей рода эхинацея (*Echinacea* Moench.) и его фармакологические свойства (обзор) // Химико-фармацевтический журнал. - Т. 30, № 4. - 1996. - С. 32-37.
8. Haralan J. J., Beck M.L., Cwenstby. Transfusion. - 1963, vol. 23. - S. 519-522.
9. Hobbs C.H. *Echinacea Handbook*. - Oregon, 1987. - 118 S.
10. Kondrotas A., Janulis V., Jurkstiene V. et al. Hemoagglutinative properties of *Desmodium canadense* and *Echinacea purpurea* (oncoimmunostimulators) // Tartanting molisline konferencija «Laboratorine ir klinike imunologija» kugsejo 19-21, Birtonas, Lithuania. - Vilnius. - 1996.

ВІСНИК

ПОЛТАВСЬКОГО ДЕРЖАВНОГО СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКОГО ІНСТИТУТУ

1 '98

Видається в грудні 1998 року

Матеріали друкують як
мовами оригіналів —
українською та російською

Науково-
виробничий
журнал

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ:

В. М. Писаренко,
головний редактор
В. С. Панькін,
заступник
головного редактора
В. М. Самородов,
заступник
головного редактора
С. С. Бакай
В. П. Бердник
В. В. Гришко
Г. П. Жемела
О. Ф. Манжос
М. Т. Ноздрін
П. В. Писаренко,
відповідальний секретар
Б. І. Рабштина
І. С. Трончук
М. М. Чекалін

EDITORIAL BOARD:

V. Pysarenko,
editor-in-chief
V. Rankin,
deputy
editor-in-chief
V. Samorodov,
deputy
editor-in-chief
S. Bakay
Y. Berdnyk
V. Gryshko
G. Gemela
O. Mangos
M. Nozdren
P. Pysarenko,
executive secretary
V. Rabshytina
I. Tronchuk
M. Chekalina

Засновник —

Полтавський державний
сільськогосподарський
інститут

РЕДАКЦІЯ:

Адреса редакції:

51400, м. Полтава,
вул. Шевченка, 1/3
Інститутський державний
сільськогосподарський
університет, наукова частина
Тел. 2-26-19

Свідоцтво

Державного реєстраційно-
логового управління
№ 295 від 10.12.1998

Іздается в друку

с 1978 року

РЕДАКЦІЙНА РАДА:

Б. Аранчій, П. П. Герцен, А. Т. Гурбань, А. Ф. Карі-
лева, М. В. Кір'ян, В. Ф. Коваленко, О. М. Куценко,
В. Д. Мединець, М. М. Овара, А. Т. Опря, В. І. Пере-
бийніс, Т. В. Сахно, Д. М. Фесенко, М. А. Якименко.

Науково-виробничий
журнал «Вісник» 1998
Видавництво «Веретка»
1998

Видавець —

Видавничо-поліграфічне
додаткове підприємство
«Веретка» Полтава,
вул. Пушкіна, 35, тел. 2-26-19
1998

З М І С Т

3 ПИСАРЕНКО В. М. СТОРІНКА РЕДАКТОРА

СІЛЬСЬКЕ ГОСПОДАРСТВО

- | | | |
|----|---|---|
| 4 | ПЕРЕБИЙНІС В. І. | Енергія як чинник функціонування аграрної сфери виробництва |
| 8 | ШЕВНИКОВ М. Я. | Роль мінерального та симбіотичного азоту в живленні сої |
| 10 | САМОРОДОВ В. Н. | Особенности проявления партенокарпии в роде груша (Pyrus L.) |
| 15 | ПОСПЕЛОВ С. В. | Оценка активности лектинсодержащих экстрактов эхинацеи пурпурной |
| 18 | ФЕДОСЕЕНКО Д. В.,
ШЕВНИКОВ Н. Я.,
ПРОСЯНИКА А. В. | Устойчивость к холоду кукурузы, сои и амаранта, вызванная обработкой семян и растений абсцизовой кислотой и Z-(α -амино- β -метоксикарбонил) акриловой кислоты калиевой солью (фумараном) |
| 22 | ПИСАРЕНКО П. В. | Екологічні аспекти захисту рослин від бур'янів при використанні мінералізованої (пластової) води |
| 24 | МАНЖОС С. Б. | Боротьба з чорпоширом нетреболистим на неорних землях Полтавщини |
| 28 | ПИСАРЕНКО П. В. | Фітотоксичність мінералізованої (пластової) води в посівах озимої пшениці |

ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА ТА ТВАРИННИЦТВО

- | | | |
|----|--|--|
| 31 | БЕРДНИК В. П. | Проблеми та завдання ветеринарної медицини |
| 34 | ЦАНИКАР І. І. | Діагностика та профілактика заразних захворювань перепелів у господарствах України |
| 38 | ПЕРЕДЕРА С. Б.,
ПЕРЕДЕРА Ж. О.,
ПЕРЕДЕРА Р. В. | Методи визначення бактеріальної забрудненості повітря птахівничих приміщень |
| 40 | ЦАНИКАР І. І.,
СКРИПКА М. В. | Біологічні властивості збудника псевдомонозу птахів та його чутливість до антибіотиків |
| 42 | КУРИЛО Ю. Г.,
ШАПОВАЛОВА М. Б.,
БУБЛИК І. Ю. | Вплив рівня протеїну в раціоні кнурів на деякі біохімічні показники їх крові та продукцію сперми |

ЕКОНОМІКА

- | | | |
|----|-------------------------------------|--|
| 45 | РАБІПТИНА В. М.,
ПИСАРЕНКО В. В. | Мінералізовані (пластові) води, як напрямок освоєння концепції соціально-етичного маркетингу |
| 48 | БАКАЙ С. С.,
ПИСАРЕНКО В. В. | Соціально-етичний аспект маркетингу в сортовому навінництві |

СТОРІНКА МОЛОДОГО ВЧЕНОГО

- | | | |
|----|-----------------|--|
| 50 | ПОСПЕЛОВА А. Д. | Оценка биологической активности лектинов и лектиносодержащих растительных экстрактов |
|----|-----------------|--|

54 РЕЦЕНЗІЇ