

АКТИВНІСТЬ ЛЕКТИНІВ ЗВІРОБОЮ ЗВИЧАЙНОГО (*HYPERICUM PERFORATUM* L.) В ОНТОГЕНЕЗІ

Семенко М.В.

Полтавський національний педагогічний університет імені В. Г. Короленка

Наукові керівники – *Онішко В.В.*, доктор педагогічних наук, професор, завідувачка кафедри ботаніки, екології та методики навчання біології Полтавського національного педагогічного університету імені В. Г. Короленка;
Поспелов С.В., доктор сільськогосподарських наук, професор кафедри землеробства і агрохімії імені В. І. Сазанова Полтавської державної академії

Звіробій звичайний (*Hypericum perforatum* L.) посідає одне із чільних місць серед лікарських рослин у фармацевтичній промисловості [5]. Це, насамперед, обумовлено його хімічним складом і тим, що із сировини звіробою звичайного виробляють багато медичних препаратів, які використовують для лікування шлункового тракту, печінки [8], нирок, дихальних шляхів [10]. Він входить до складу багатьох антибактеріальних, в'язучих, антисептичних засобів [9]. Унікальні лікарські властивості звіробою зумовлені комплексною дією наявних у ньому фенольних сполук, однак це питання не до кінця вивчено. У зв'язку з цим заслуговують на увагу лектини – біологічно активні сполуки білкової природи, здатні до специфічного і зворотного зв'язування вуглеводів і вуглеводмісних сполук [2]. Різноманітні властивості лектинів сприяють їх широкому використанню в біохімії, гістохімії, створенні лікарських препаратів [3; 6].

Водночас оцінка звіробою як сировинної бази фітолектинів в достатній мірі не проводилася. Потребують додаткового вивчення вміст білкових сполук у різних частинах і органах, терміни заготівлі сировини з максимальним накопиченням сполук і т.д. Якщо багато рослин мають достатній рівень наукового вивчення щодо названих аспектів, то для звіробою звичайного вони потребують детального опрацювання.

Тому саме цим зумовлена актуальність роботи й окреслено коло наших досліджень.

У якості рослинної сировини використовували надземну частину звіробою звичайного *Hypericum perforatum* L. сорту Топаз генеративного періоду онтогенезу, вирощеного на дослідних ділянках ботанічного саду Полтавського національного педагогічного університету імені В. Г. Короленка в 2016-2018 роках. Збір проводили у фази пагоноутворення, бутонізації, квітання і плодоношення.

Повітряно-суху сировину подрібнювали, просіювали на ситах з діаметром отворів 1 мм і використовували для подальшої екстракції лектинів. Для цього одну частину сировини заливали десятьма частинами фізіологічного розчину (0,9% NaCl), настоювали 2 години при кімнатній температурі й фільтрували.

Оцінку активності лектинів проводили шляхом постановки реакції гемаглютинації в імунологічних планшетах [1]. Для цього в кожну лунку планшета додавали по 0,05 мл фізіологічного розчину, потім вносили по 0,05 мл екстракту й готували серію послідовних дворазових розведень. Після цього в кожну лунку додавали по 0,05 мл 2%-ної суспензії відмитих еритроцитів і планшет залишали при 25 С⁰ на 2 години. Оцінку проводили візуально за п'ятибальною шкалою [7]:

3 бали – різко виражена аглютинація. Еритроцити у вигляді тонкої плівки більш-менш рівномірно розподіляються по всьому дну лунки;

2 бали – помірна аглютинація. Еритроцити розходяться по дну лунки на відстань, що перевищує в діаметрі 2 мм, утворюючи кільце з різко вираженою зернистістю по краях;

1 бал – слабка аглютинація. Еритроцити розходяться по дну лунки на відстань менше 2-х мм, утворюючи колечко або диск;

0,5 бала – мінімальна аглютинація. У центрі сукупності еритроцитів, які осіли на дно лунки, виникає невеликий просвіт;

0 балів – відсутність аглютинації. Еритроцити скупчуються в центрі лунки.

Після візуальної оцінки аглютинації в кожній лунці серії розведень, підраховували суму в усіх лунках, де реакція визначалася. Таким чином, максимальна активність в восьми лунках може становити: $8 \times 3,0 = 24$ бали [4].

Аналіз доступної нам літератури показав, що, не дивлячись на встановлений факт наявності лектинів у звіробою звичайного, багато аспектів залишаються маловивченими. Відсутність системних даних стосовно динаміки накопичення лектинів на різних етапах онтогенезу звіробою звичайного в умовах України спонукало нас вивчити це питання. У статті наведені дані оцінки активності лектинів в екстрактах різних частин і органах звіробою звичайного сорту Топаз.

Спостерігається загальна тенденція високого рівня гемаглютинуючої активності екстрактів бутонів і суцвіть, а також листків. Нижчі показники були характерні для стебел і плодів. У кінці вегетації відмічається поступове зниження активності фітолектинів.

На *рисунку 1* показана зміна активності лектинів у листках звіробою звичайного. В період пагоноутворення аглютинуюча активність екстрактів листків становила в середньому 19,7 балів. Під час бутонізації вона знижувалась до 11,8 балів, а у подальшому показники знову зростали до 18,0-19,3 балів. На нашу думку, це свідчить про те, що під час пагоноутворення в листках активно синтезуються лектини, а в період бутонізації вони транспортуються в генеративні частини рослини. У подальшому (період квітування і плодоношення) їх кількість зростає і залишається відносно стабільною до кінця вегетації.

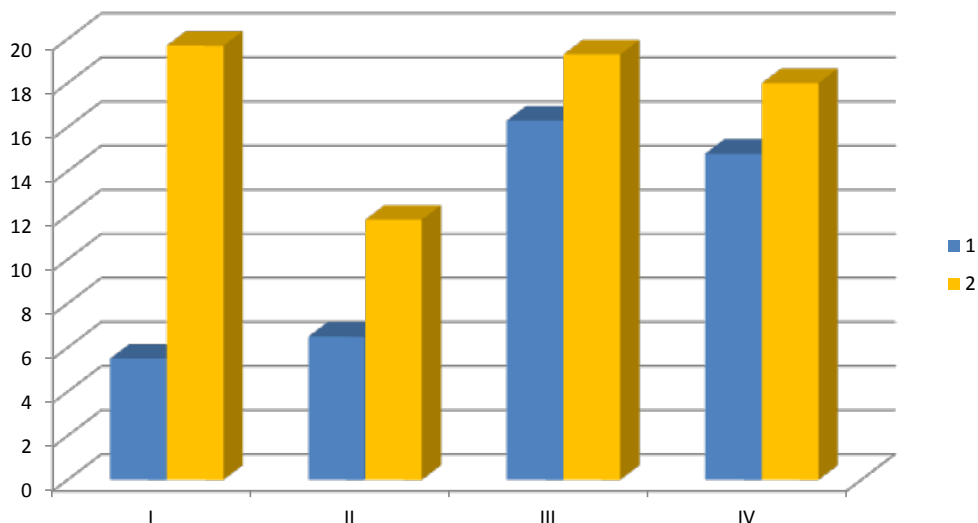


Рис. 1. Динаміка активності лектинів вегетативних органів звіробою звичайного у різні фази онтогенезу
Фази онтогенезу: I – пагоноутворення; II – бутонізація; III – квітування; IV – плодоношення.
Вегетативні органи: 1 – стебла; 2 – листки;

Аглютинуюча активність екстрактів стебел на початку вегетації була мінімальною (5,5-6,5 балів), але із розвитком рослин зростала і в кінці вегетації досягала свого максимуму (14,8-16,3 бали). Вказаний факт наводить на думку, що лектини виконують важливу транспортну функцію, обумовлену їх властивістю обернено зв'язувати оліго- та полісахариди, які також містяться у звіробої [5]. На користь цього свідчить той факт, що в сухих стеблах була виявлена активність така ж, що й під час вегетації.

Було встановлено, що в генеративних органах накопичуються лектини у значній кількості. Їх активність була найвища у бутонах, що формуються, і становила 23,3-24 бали (рис. 2). Під час квітування вона знижувалась (21,8 бали), а під час утворення плодів – до 19,7 бали.

Варто зазначити, що аглютинуюча активність екстрактів плодів була на високому рівні і становила 12,8 бали.

На підставі отриманих даних можна припустити, що основним місцем синтезу, а потім і локалізації, лектинів у звіробою звичайного слід вважати листки. В міру формування і росту пагона фітолектини можуть транспортуватись у стебла і бутони. Можливо, що вагому роль при цьому грають полісахариди звіробою звичайного, котрі сприяють як ефективному транспорту білків, так і накопиченню їх в різних частинах і органах.

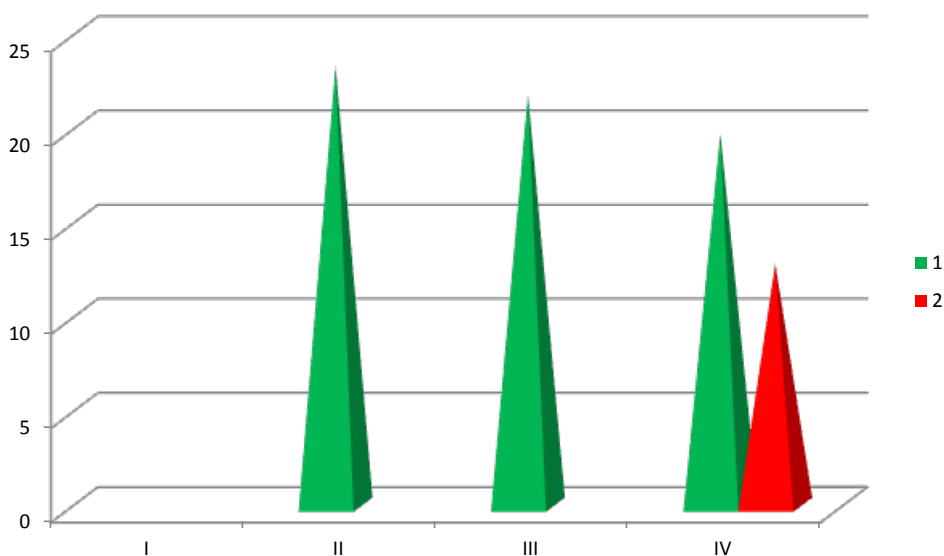


Рис. 2. Динаміка активності лектинів генеративних органів звіробою звичайного у різні фази онтогенезу.

Фази онтогенезу: I – пагоноутворення; II – бутонізація; III – квітіння; IV – плодоношення.

Генеративні органи: 1 – бутони/суцвіття; 2 – плоди.

В результаті досліджень встановлені певні закономірності зміни активності лектинів в онтогенезі звіробою звичайного сорту Топаз. У рослин другого року вегетації, починаючи з фази цвітіння, висока активність лектинів характерна для листків (18,0-19,3 бали) і стебел (14,8-16,3 бали). Максимальна гемаглютинуюча активність встановлено в екстрактах суцвіть, особливо у період бутонізації (23,3 бали). Коробочки звіробою звичайного володіють середніми показниками – 12,8 балів.

Надземна частина звіробою звичайного сорту Топаз, зібрана у період масового цвітіння, містить значну кількість лектинів і може бути сировинним джерелом цих унікальних білкових сполук.

Список використаних джерел:

1. Луцик М. Д., Панасюк Е. Н., Луцик А. Д. Лектины / М. Д. Луцик, Е. Н. Панасюк, А. Д. Луцик. – Львов, 1981. – 156 с.
2. Маменко П. Н. Функции лектинов растений при абиотических и биотических стрессах / П. Н. Маменко // Физиология растений и генетика. 2014. – Т. 46. – №2. – С.95–107.
3. Павловская Н. Е., Гагарина И. Н. Функциональная роль лектинов растений как предпосылка для их применения в биотехнологии / Н. Е. Павловская, И. Н. Гагарина // Химия растительного сырья. – 2017. – №1. – С. 21–35.

4. Поспелов С. В. Лектины представителей рода Эхинацея (*Echinacea* Moench). 1. Методические аспекты оценки активности / С. В. Поспелов // Полтава: Химия растительного сырья. 2012. – № 3. – С.143–148.
5. Сологуб В. А., Грицик А. Р. Перспективи використання видів звіробою в медицині та фармації / В. А. Сологуб, А. Р. Грицик // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14. – № 5. – С. 183–186.
6. Шакирова Ф. М., Безрукова М. В. Современные представления о предполагаемых функциях лектинов растений / Ф. М. Шакирова, М. В. Безрукова // Журнал общей биологии. – 2007. – Т. 68. – №2. – С. 109–125.
7. А.с. № 1732276 (СССР). Способ оценки физиологической активности лектинов к сахарам / Е.Л. Гольнская, С.В. Поспелов, В.Н. Самородов / 1992.
8. Mahmoud Bahmani et al., Overview of the Therapeutic Effects of *Origanum vulgare* and *Hypericum perforatum*. Journal of Clinical and Diagnostic Research. 2018 Jul, Vol-12(7): FE01-FE04
9. Marrelli M, Statti G, Conforti F, Menichini F. New potential pharmaceutical applications of hypericum species. Mini Rev Med Chem. 2016;16:710-20.
10. Valvassori, Samira S., Borges, Cenita, Bavaresco, Daniela V., Varela, Roger B., Resende, Wilson R., Peterle, Bruna R., Arent, Camila O., Budni, Josiane, & Quevedo, João. (2018). *Hypericum perforatum* chronic treatment affects cognitive parameters and brain neurotrophic factor levels. Revista Brasileira de Psiquiatria, 40(4), 367-375.