

УДК 543.068.7 ÷ 582.29

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА ЛИШАЙНИКОВ РОДА *CLADONIA*

Степанова Альбина Васильевна
инженер-исследователь

Аньшакова Вера Владимировна

канд. пед. наук

Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова
Якутск

author@apriori-journal.ru

Аннотация. В статье представлены материалы об определении некоторых биологически активных веществ в лишайниках рода *Cladonia* методом хроматографии.

Ключевые слова: лишайники; биологически активные вещества.

BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES IN THE LICHEN GENUS *CLADONIA*

Stepanova Albina Vasilievna

engineer

Anshakova Vera Vladimirovna

candidate of pedagogical sciences

North-Eastern Federal University, Yakutsk

Abstract. The article presents materials on the determination of some biologically active substances in the lichen genus *Cladonia*.

Key words: lichens; biologically active substances.

В слоевищах лишайников содержатся биологически активные вещества (БАВ) различных групп: углеводы (70-80 %) в виде лишайникового крахмала лихенина [1]; дубильные вещества (1-2 %); лишайниковые кислоты (2-3 %); микроэлементы. Содержание в слоевище лишайников БАВ обуславливает довольно широкое их использование в официальной и народной медицине для лечения болезней желудочно-кишечного тракта, органов дыхания, инфекционных заболеваний кожи, эндокринных нарушений, также применение их в качестве иммуномодулирующих, противоопухолевых, гепатопротекторных и детоксикационных препаратов [2-4].

Целью данной работы является определение некоторых биологически активных веществ в лишайниках методом хроматографии.

Объектом исследования служили лишайники рода *Cladonia*, произрастающие в Центральной Якутии. Предварительно был составлен список определяемых соединений для оценки содержания физиологически активных компонентов: арбутин, галловая кислота, коричная кислота, хлорогеновая кислота, кверцетин, рутин, урсоловая кислота, байкалин, байкалеин, кемпферол, лютеолин, скутелларин, дельфинидин, апигенин, изорамнетин, гиперозид. Среди этих веществ имеются флавоноиды, органические кислоты, полифенольные соединения и т.п.

Методы исследования.

Для каждого из перечисленных соединений была проведена оптимизация условий масс-спектрометрического определения для режима тандемного масс-детектирования в режиме регистрации отрицательных ионов. Были подобраны ионные переходы, потенциал декластеризации и энергия соударений в камере столкновений. Также получены спектры хроматограмм в УФ диапазоне (230-400 нм).

В качестве неподвижной фазы при анализе проб использовали колонку с обращено-фазовым сорбентом AcclaimRSLC, длиной 150 мм, внутренним диаметром 2.1 мм, размером зерна сорбента 3 мкм, фирмы

«Thermo». При хроматографическом разделении использовали программу градиентного элюирования.

Пробоподготовка заключалась в приготовлении трех различных экстрактов тремя растворителями – метиловым спиртом, этилацетатом и дихлорметаном. Полученные экстракты высушивали в вакуумном роторном испарителе и снова растворяли в 2 мл метилового спирта. Затем экстракты отфильтровали, разбавляя в 10 раз водой.

Кроме того, определяли летучие компоненты исследуемого образца методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием.

В работе использовали газовый хроматомасс-спектрометр GCMS-2010 Ultra фирмы Shimadzu (Япония). Разделение проводили на колонке ZB-5 MS 30м x 0,25 мм, с использованием градиентного режима нагрева: 0-2 мин – 40°C, 2-28 мин 40-300°C, 28-34 мин – 300°C. Сканирование проводили в диапазоне m/z 15-400 Да. Температура инжектора –250°C, температура источника ионизации –250°C, температура интерфейса – 250°C, напряжение на детекторе –400 еВ. Ввод пробы осуществляли в двух режимах: ввод 0.5 мл нагретого (80°C, 10 мин) пара над образцом порошка растительного происхождения с добавкой 1 мл метанола и 1 мкл жидких экстрактов CH₂Cl₂, EtOAc и MeOH из этого порошка, разбавленных в 100 раз в CH₂Cl₂.

Результаты и обсуждение.

В ходе предварительных экспериментов в образце были обнаружены следующие соединения, которые представлены в таблице 1.

Также в экстрактах присутствовала коричная кислота в следовых количествах. Не найдены арбутин, байкалин, байкалеин, кемпферол, скутелларин, дельфинидин, апигенин, изорамнетин, вогонин, рутин. Однако сопоставление УФ и МС/МС спектров позволяют судить о том, что в данном образце содержатся дополнительные неидентифицированные соединения. Их идентификация требует дополнительных исследований.

Химические вещества, обнаруженные в экстрактах

	Содержание в колбе, мкг					
	Гиперозид	Кверцетин	Лютеолин	Галловая кислота	Урсоловая кислота	Хлорогеновая кислота
MeOH экстр.	0,15	0,06	0,02	16	108	0,04
EtOAc экстр.	0,04	0,04	0,01	12	9	0
CH ₂ Cl ₂ экстр.	<ПО	<ПО	<ПО	<ПО	<ПО	<ПО

Наибольшее извлечение целевых компонентов показал вариант экстракции с использованием метанола (рис. 1).

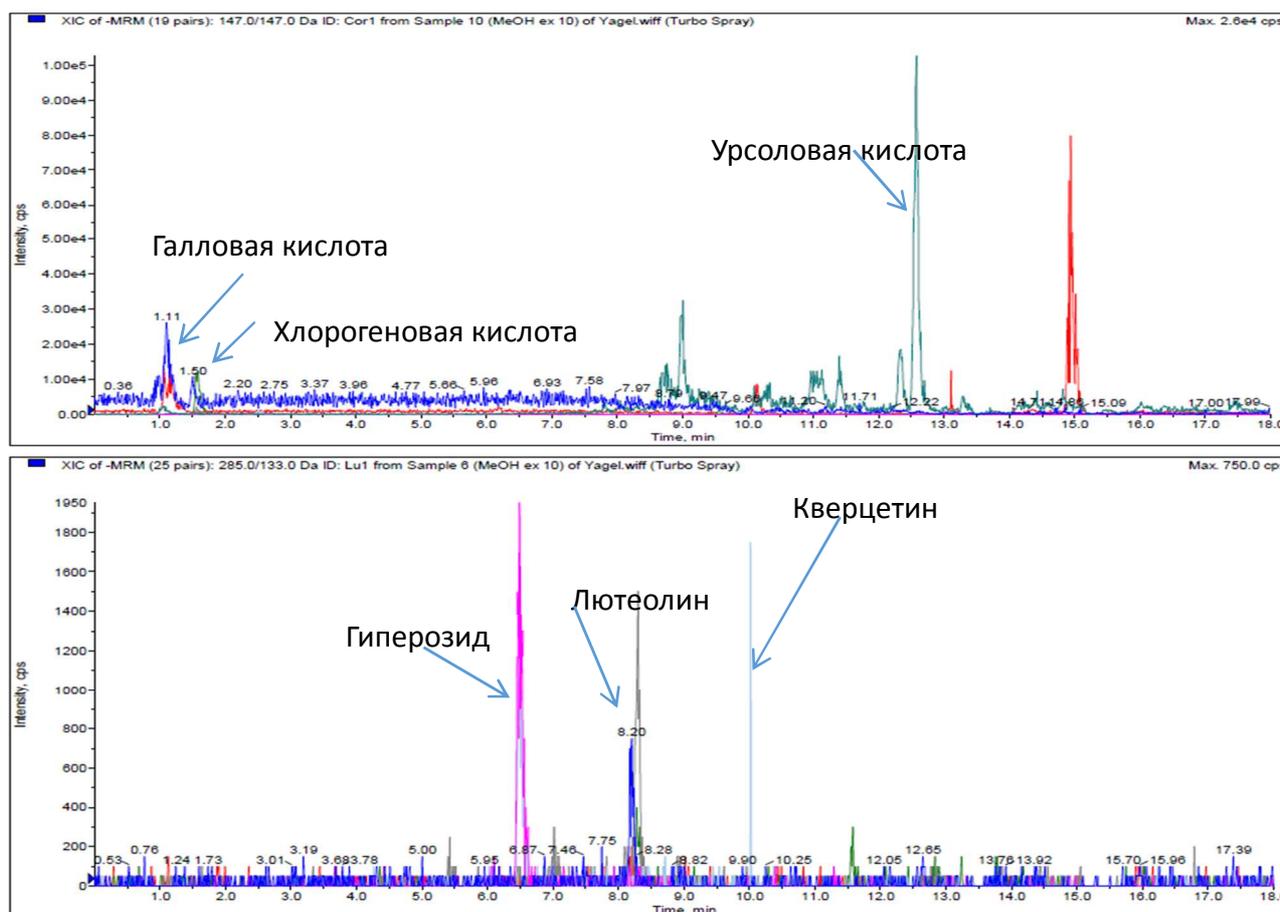


Рис. 1. Хроматограммы MeOH экстракта с извлечением ионных переходов обнаруженных соединений

В экстракте EtOAc было обнаружено сравнительно меньшее число летучих компонентов (около 20). Из них характерными для исследуемого образца являются предельные кислоты и их эфиры.

Экстракция CH_2Cl_2 и MeOH позволяет выделить намного больше (около 100) летучих компонентов из исследуемого объекта.

Основными компонентами CH_2Cl_2 и MeOH экстрактов являются предельные углеводороды и спирты. Кроме того в CH_2Cl_2 обнаружен ароматический спирт – 2,4-диизобутил-фенола.

Выводы. Химические ГХ-МС профили исследованных экстрактов типичны для растительных объектов, однако следует отметить отсутствие летучих производных фурана, что косвенно свидетельствует об отсутствии в образце больших количеств моно- и дизамещенных сахаридными остатками органических компонентов.

Исследованный образец растительного сырья не содержит больших количеств среднелетучих органических соединений сложной структуры, таких как, например, незамещенные сапонины и сесквитерпены. Перспективы исследования химического состава образца принадлежат методам жидкостной хроматографии, позволяющей идентифицировать и определять нелетучие физиологически активные компоненты.

Методом ВЭЖХ-МС в образцах экстрактов обнаружили галловую кислоту, коричную кислоту, хлорогеновую кислоту, кверцетин, рутин, урсоловую кислоту, лютеолин и гиперозид. Однако сопоставление УФ и МС/МС спектров позволяют судить о том, что в данном растении содержатся дополнительные неидентифицированные соединения. Их идентификация требует дополнительных исследований.

Список использованных источников

1. Оводов Ю.С. Полисахариды грибов, мхов и лишайников, структура и физиологическая активность // Проблемы химии древесины и лесохимии. Труды коми научного центра УрО РАН. 1997. № 156. С. 21-30.
2. Аньшакова В.В. Механохимическая технология получения биоккомплексов на основе лишайникового сырья // Биофармацевтический журнал. 2011. Т. 3. № 5. С. 33-42.
3. Вершинина С.Э., Вершинин К.Е., Кравченко О.Ю. Элементный состав лишайников р. *Cetraria* Ach. из различных регионов России // Химия растительного сырья. 2009. № 1. С. 141-146.
4. Чуркина Е.В., Кершенгольц Б.М., Шаройко В.В. Эффект препарата «Ягель» из слоевищ лишайника рода *Cladonia* на секрецию инсулина // Дальневосточный медицинский журнал. 2011. № 2. С. 67-70.