

УДК 582.29

## ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА И СВОЙСТВ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ ЛИШАЙНИКА *USNEA BARBATA*

© *Н.С. Лыскова\**, *Ю.Г. Базарнова*, *И.В. Кручина-Богданов*

*Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,  
ул. Политехническая, 29, Санкт-Петербург, 195251 (Россия),  
e-mail: nadya1702@yandex.ru*

В современном обществе значение многих биологических ресурсов остается недооцененным. К одним из уникальных малоизученных биоресурсов относятся лишайники. Это удивительные организмы, образованные симбиозом водоросли и гриба. Благодаря такому сочетанию лишайники обладают рядом уникальных свойств и постепенно находят применение в различных областях деятельности человека.

В данной статье приведены результаты исследования состава биологически активных вторичных лишайниковых метаболитов лишайника Уснея бородатая (*Usnea barbata*), собранного в Архангельской области. Изучена антиоксидантная активность и противомикробные свойства сухого экстракта лишайника по отношению к бактериям *Vac. Subtilis*. Подобраны условия экстрагирования биологически активных метаболитов с использованием таких систем растворителей, как вода, водно-этанольные смеси с содержанием этанола 40 и 70%, 1,4-диоксан и смесь 1,4-диоксана с водой (1:1). С использованием современных аналитических методов был исследован состав вторичных метаболитов в полученных экстрактах. Методом спектроскопии в УФ и видимой области спектра определено содержание усниновой кислоты, которое составляет от 16,2 (растворитель – вода) до 60,0 (1,4-диоксан) мг/100 мл экстракта.

Показано, что диоксанный экстракт обладает выраженными антиоксидантными свойствами. Действующие вещества (в пересчете на усниновую кислоту) сухого экстракта лишайника *Usnea barbata* способны угнетать рост бактерий *Vac. Subtilis*.

*Ключевые слова:* лишайниковые вещества, *Usnea barbata*, биологически активные вторичные метаболиты, усниновая кислота, экстракция, антиоксидантная активность.

### **Введение**

Среди разнообразия биологических ресурсов малоизученными объектами дикой природы до сих пор остаются лишайники.

Лишайники – это удивительные организмы, образованные симбиозом водоросли и гриба. Благодаря подобному сочетанию лишайники отличаются от других растительных организмов набором уникальных свойств, вследствие чего они нашли применение в различных отраслях промышленности и медицины [1–3].

Наиболее ценными фитокомпонентами лишайников являются продукты вторичного метаболизма этих растений, а именно лишайниковые кислоты, которые не образуются в других систематических группах растений [4]. Среди них отдельно стоит отметить усниновую, барбатовую, фумар процетраровую и скваматовую кислоты, благодаря которым лишайники способны проявлять выраженное антибактериальное воздействие по отношению к грамположительным микроорганизмам [5]. Наиболее перспективной среди них с точки зрения промышленного использования является усниновая кислота, которая обладает различными видами физиологической активности: противовирусной, антибиотической, анальгетической, антибактериальной, инсектицидной [6]. Таким образом, комплексные исследования состава и свойств вторичных метаболитов лишайников является весьма актуальными.

---

*Лыскова Надежда Сергеевна* – магистрант Высшей школы биотехнологии и пищевых технологий, e-mail: nadya1702@yandex.ru

*Базарнова Юлия Генриховна* – доктор технических наук, профессор, директор Высшей школы биотехнологии и пищевых технологий, e-mail: j.bazarnowa2012@yandex.ru

*Кручина-Богданов Игорь Владимирович* – кандидат химических наук, e-mail: igogo011@gmail.com

---

\* Автор, с которым следует вести переписку.

Состав лишайников во многом зависит от почвенно-климатических условий произрастания [7]. Лишайники – весьма неприхотливые организмы, которые можно встретить как на почве и стволах деревьев, так и на малопригодных для жизни предметах, в том числе на камне, стекле, застывшей лаве [1]. Практический интерес представляют барьерные и антиоксидантные свойства вторичных метаболитов лишайников.

Цель настоящей работы – изучение состава и свойств вторичных метаболитов лишайника Уснея бородатая (*Usnea barbata*).

### Экспериментальная часть

В качестве объектов исследования были выбраны образцы слоевища лишайника семейства *Parmeliaceae* (Уснея бородатая – *Usnea Barbata* (L.) Weber ex F.H.Wigg.), вторичным лишайниковым веществом которого является усниновая кислота [5]. Сбор образцов проводили в начале ноября 2015 года в Архангельской области. Лишайник высушивали при комнатной температуре в течение нескольких суток и использовали для получения жидких экстрактов.

Для получения экстрактов навеску сухого измельченного сырья заливали экстрагирующей смесью в соотношении 1 : 40 по массе. Для приготовления экстрагирующих смесей использовали бидистиллированную воду; этиловый спирт 96%; водно-этанольные смеси с содержанием этанола 40 и 70% (по объему); 1,4-диоксан (ч.д.а.) и смесь 1,4-диоксана с водой в соотношении 1 : 1 (по объему). Для увеличения полноты экстрагирования фитокомпонентов лишайника использовали УЗ-обработку экстрактов с частотой 18 кГц и ультратермостат.

Условия проведения экстракции и состав экстрагирующих смесей приведены в таблице 1 (в таблице 1 и далее по тексту образцы экстрактов, полученные с применением УЗ-обработки, обозначены номером с индексом \*).

После экстрагирования вытяжки отделяли от шрота методом фильтрации через обеззоленный фильтр и центрифугированием (14000 об/мин, 3 мин). Для дальнейших исследований использовали надосадочную жидкость.

В полученных экстрактах определяли общее содержание фенольных соединений (ФС) методом калибровочного графика по хлорогеновой кислоте, используя реактив Фолина-Чокальтеу ( $\lambda=730$  нм) [8, 9]; содержание сухих веществ – рефрактометрическим методом; массовую долю сухого остатка – высушиванием при температуре  $(130\pm 2)$  °С.

Содержание растворимых углеводов определяли методом ионно-эксклюзионной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) [10]. Для этого исследуемый экстракт сгущали под вакуумом, после чего разбавляли 0,5 мл воды, вносили 0,1 мл концентрированной серной кислоты и выдерживали в термостате при температуре 106 °С в течение 2,5 ч, после чего гидролизат подвергали повторному сгущению. Полученный гидролизат использовали далее для определения моносахаридов. Разделение проводили на стеклянной колонке 9×500 мм с ионообменной смолой Hitachi 2614 в H<sup>+</sup>-форме при 55 °С. Подвижная фаза: 10 мМ хлорная кислота; 1,0 мл/мин. Детектор: УФ, 210 нм. Объем вводимой пробы – 50 мкл.

Анализ вторичных лишайниковых метаболитов осуществляли методом восходящей тонкослойной хроматографии (ТСХ) [11–13]. В качестве растворителей использовали смеси: А) толуол : 1,4-диоксан : ледяная уксусная кислота (180 : 45 : 5) и Б) толуол : ледяная уксусная кислота (170 : 30). После разделения пластинки обрабатывали раствором 10% серной кислоты и подсушивали в сушильном шкафу в течение 10 мин при температуре 80 °С.

Летучие компоненты экстрактов исследовали методом капиллярной газовой хроматографии (ГХ). ГХ-анализ был проведен с использованием газового хроматографа Shimadzu GC-2010, с установленной капиллярной кварцевой колонкой DB-5MS (5%-фенил-метилполисилоксан, 15 м × 0,25 мм, толщина пленки – 0,25 мкм). Инжектор и интерфейс работали при температуре 250 и 380 °С соответственно. Температуру печи повышали с 70 до 290 °С со скоростью 5 °С/мин, а затем держали в изотермических условиях 10 мин. Гелий использовали в качестве газа-носителя со скоростью потока 1 мл/мин. Исследуемые экстракты вводили в импульсном режиме (для первых 0,5 мин скорость потока составляла 1,5 мл/мин, а затем 1 мл/мин до конца анализа). Для идентификации веществ использовали табличные значения индекса Ковача (Rk).

Содержание усниновой кислоты в экстрактах определяли методом спектроскопии в УФ и видимой области спектра. Для количественного анализа использовали метод градуировочного графика ( $\lambda=230$  нм) [14–16].

Таблица 1. Состав экстрагирующих смесей и условия проведения экстракции

Экстрагент	Вода	Этанол – вода 2 : 3	Этанол – вода 7 : 3	96% этанол	1,4-диоксан – вода 1 : 1	1,4-диоксан
Мацерация, 70 °С, 30 мин	1	2	3	4	5	6
Мацерация, 40 °С, 30 мин, УЗ 18 кГц	1*	2*	3*	4*	5*	6*

Антиоксидантную активность (АОА) исследуемых экстрактов определяли с помощью феррицианидного метода [17].

Экстракт 6\* (1,4-диоксан) использовали для оценки барьерных свойств методом диффузии в питательную среду МПА (мясопептонный агар) [18, 19]. 10 мл исследуемого экстракта высушивали под вакуумом при температуре 40 °С и разбавляли ацетоном количестве 10 мл (образец А) и 25 мл (образец Б). Об антимикробных свойствах судили по образованию вокруг дисков, обработанных растворами сухих экстрактов в ацетоне, зон задержки роста внесенной в питательную среду тест-культуры *Bacillus subtilis* (штамм 78А) из коллекции лаборатории МИП «Аналитика. Технологии» (СПбПУ, ВШБТИПТ).

### Обсуждение результатов

Результаты исследований характеристик экстрактов лишайника *Usnea barbata* и содержание в них фенольных соединений приведены в таблице 2. Содержание фенолов в полученных экстрактах лишайника в зависимости от растворителя изменяется в пределах от 3,01 до 13,47 мг/г сухого сырья.

Установлено, что наибольшая полнота извлечения ФС достигается при использовании смеси 1,4-диоксана с водой (1 : 1) (образец 5 и 5\*). Наибольшее количество экстрактивных веществ извлекается 40% этиловым спиртом (0,34–0,35%), меньше всего – диоксаном (0,08–0,11%). УЗ обработка увеличивает переход фенольных соединений в экстракты. Полученные результаты согласуются с данными авторов [20, 21].

Результаты исследований нелетучих компонентов экстрактов лишайника *Usnea barbata* методом ВЭЖХ приведены на рисунке и в таблице 3.

Моносахариды хорошо растворимы в воде, поэтому их содержание в экстрактах 1\* (вода) и 4\* (вода – этанол) намного выше, чем в экстракте 6\* (диоксан). Кроме углеводов в экстрактах обнаружены глицерин, лимонная и янтарная кислоты.

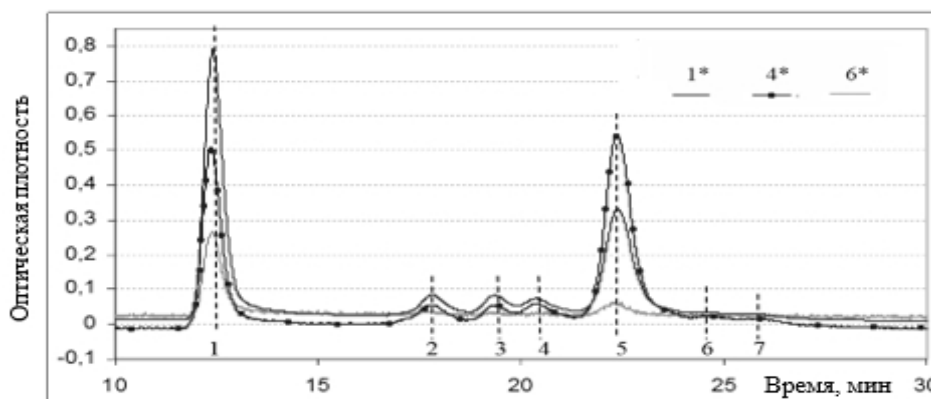
С помощью метода ГХ в экстрактах 1\*, 4\* и 6\* идентифицированы некоторые летучие компоненты, среди которых доминируют фенол и  $\alpha$ -линоленовая кислота, ванилиновая кислота, орцинол и его метиловый эфир; лауриновая кислота. Среди сопутствующих веществ обнаружены кофейная кислота, стеариновая кислота, наонакозан.

Результаты исследования содержания вторичных лишайниковых метаболитов методом ТСХ в экстрактах, полученных с использованием ультразвука, показали, что исследуемые фитокомпоненты лучше извлекаются 1,4-диоксаном, хуже – водой.

Результаты исследований содержания усниновой кислоты во всех исследуемых экстрактах в максимуме поглощения  $\lambda=230$  нм представлены в таблице 4.

Таблица 2. Характеристики экстрактов лишайника *Usnea barbata* и содержание в них фенольных соединений

Мацерация 70 °С, 30 мин						
Номер образца	1	2	3	4	5	6
Общее содержание экстрактивных веществ, %	0,27±0,06	0,34±0,09	0,32±0,07	0,28±0,07	0,24±0,09	0,11±0,01
Массовая доля сухого остатка, %	0,30±0,04	0,35±0,04	0,33±0,01	0,33±0,02	0,28±0,04	0,12±0,02
Содержание фенольных соединений, мг/г сухого сырья	3,01±0,12	7,47±0,29	10,13±0,57	10,33±0,75	13,29±0,29	...
Мацерация 40 °С, 30 мин, с использованием УЗ обработки						
Номер образца	1*	2*	3*	4*	5*	6*
Общее содержание экстрактивных веществ, %	0,22±0,07	0,28±0,07	0,27±0,06	0,23±0,07	0,23±0,07	0,08±0,01
Массовая доля сухого остатка, %	0,25±0,02	0,31±0,04	0,31±0,04	0,25±0,04	0,26±0,03	0,11±0,02
Содержание фенольных соединений, мг/г сухого сырья	3,12±0,19	7,73±0,29	10,67±0,57	10,93±0,23	13,47±0,76	...



ВЭЖХ профили экстрактов 1\*, 4\*, 6\*. Идентифицированные компоненты: 1 – олигосахариды, 2 – лимонная кислота, 3 – глюкоза, 4 – галактоза, 5 – маннит, 6 – янтарная кислота, 7 – глицерин

Таблица 3. Результаты исследований содержания некоторых сахаров в экстрактах лишайника *Usnea barbata* методом ионно-экслюзионной ВЭЖХ

Компонент	Время выхода, мин	Содержание сахаров, мг/л		
		Мацерация 40 °С, 30 мин, с использованием УЗ обработки		
		1*	4*	6*
Олигосахариды	12,4	1115	760	349
Глюкоза	19,3	85	70	7
Галактоза	20,4	70	79	5

Выявлено, что наибольший выход усниновой кислоты достигается при использовании 1,4-диоксана, в водном экстракте ее содержится примерно в 3 раза меньше. Полученные результаты хорошо согласуются с данными авторов [15].

Результаты исследования антиоксидантных свойств экстрактов лишайника *Usnea barbata* приведены в таблице 5. Показано, что из трех исследуемых экстрактов выраженной антиоксидантной активностью обладает экстракт 6\*.

Для исследований барьерных свойств экстрактов по отношению к бактериям рода *Bacillus* использовали диоксановый экстракт (6\*), поскольку диоксан извлекает более полный спектр лишайниковых веществ. Результаты исследований представлены в таблице 6.

Таблица 4. Результаты исследования содержания усниновой кислоты (УК) в экстрактах лишайника *Usnea barbata*

Мацерация 70 °С, 30 мин						
Экстракт	1	2	3	4	5	6
Содержание УК, мг/100 мл экстракта	19,0	21,3	31,0	36,0	52,0	58,5
Мацерация 40 °С, 30 мин, с использованием УЗ обработки						
Экстракт	1*	2*	3*	4*	5*	6*
Содержание УК, мг/100 мл экстракта	16,2	26,8	37,3	38,5	39,4	60,0

Таблица 5. Результаты исследования антиоксидантных свойств экстрактов

Образец	1*	4*	6*
Чистый растворитель	329	330	340
Экстракт	332	332	373
<b>АОА</b>	<b>300</b>	<b>200</b>	<b>3300</b>

Таблица 6. Результаты исследований антимикробных свойств экстракта 6\* по отношению к бактериям *Bac. subtilis*

Образец	Количество добавленного ацетона, мл	Диаметр дисков, мм	Диаметр зоны подавления, мм	
			контроль	исследуемый образец
А	10	17,0	18,2	29,0
Б	25	17,0	18,0	27,0

В результате анализа полученных результатов установлено, что исследуемый экстракт лишайника *Usnea barbata* проявляет выраженные бактериостатические свойства по отношению к бактериям *Bac. subtilis*. Установленная эффективная концентрация действующих веществ экстракта 6\* (в пересчете на усниновую кислоту) составила от 0,24 до 0,6 мг/мл экстракта. Полученные результаты согласуются с данными авторов [21].

### Выводы

Подобран состав экстрагирующих смесей и режимы экстракции для получения извлечений из сухого лишайника *Usnea barbata*. Получены жидкие экстракты на основе систем растворителей следующего состава: вода, водно-спиртовые смеси с содержанием спирта 40 и 70%; вода – 1,4-диоксан (1 : 1) и 1,4-диоксан. Подобраны режимы экстракции: мацерация при 70 °С в течение 30 мин и мацерация с использованием УЗ (18 кГц).

Изучен состав вторичных метаболитов лишайника *Usnea barbata*. Установлено, что содержание фенольных веществ в полученных экстрактах изменяется в пределах от 3,01 мг/г (водный экстракт) до 13,47 мг/г (экстракт 1,4-диоксан – вода (1 : 1)).

Содержание олигосахаридов в экстрактах составляет от 349 (6\*) до 1115 мг/л (1\*), моносахаридов: глюкоза от 7 (6\*) до 85 (1\*) мг/л, галактоза от 5 (6\*) до 79 (4\*) мг/л.

В экстрактах идентифицированы: усниновая кислота, 3-формил-6-метокси-1,8-дигидроксиантрахинон, малоновая кислота и др. Среди идентифицированных летучих компонентов экстрактов доминируют фенол и α-линоленовая кислота, ванилиновая кислота, α-линоленовая кислота, орцинол и его метиловый эфир; лауриновая кислота. Среди сопутствующих веществ в экстрактах обнаружены кофейная кислота, стеариновая кислота, онакозан.

Значения антиоксидантной активности экстрактов лишайника *Usnea barbata* составили от 200 до 3300 условных оптических единиц. Выявлено, что из трех исследуемых образцов только диоксанный экстракт лишайника обладает выраженными антиоксидантными свойствами.

Показано, что действующие вещества (в пересчете на усниновую кислоту) сухого экстракта лишайника *Usnea barbata* способны угнетать рост бактерий *Bac. Subtilis* в концентрации от 0,24 до 0,6 мг/мл экстракта.

### Список литературы

1. Андреев М.П., Ахти Т., Войцехович А.А., Гагарипа Л.В., Гимельбрайт Д.Е., Давыдов Е.А. Флора лишайников России. М., 2014. 536 с.
2. Моисеева Е.Н. Биохимические свойства лишайников и их практическое значение. Л., 1961. 82 с.
3. Курсанов А.Л., Дьячков Н.Н. Лишайники и их практическое использование. М., Л., 1945. 56 с.
4. Яцына А.П. Практикум по лишайникам. Витебск, 2012. 224 с.
5. Равинская А.П. Лишайниковые кислоты и их биологическая роль // Новости систематики низших растений. 1984. Т. 21. С. 160–179.
6. Соколов Д.Н., Лузина О.А., Салахутдинов Н.Ф. Усниновая кислота: получение, строение, свойства и химические превращения // Успехи химии. 2012. №81(8). С. 747–768.
7. Равинская А.П., Вайнштейн Е.А. Влияние некоторых экологических факторов на содержание лишайниковых веществ // Экология. 1975. №3. С. 82–85.
8. Блажей А., Шутый Л. Фенольные соединения растительного происхождения. М., 1977. 239 с.
9. Загоскина Н.В., Николаева Т.Н., Лапшин П.В., Заварзина А.Г., Заварзин А.А. О содержании фенольных соединений в различных видах лишайников Кольского полуострова // Химия растительного сырья. 2011. №4. С. 245–249.
10. Waksmundzka-Hajnos M., Sherma J. High Performance Liquid Chromatography in Phytochemical Analysis. CRC Press, 2010. 996 p.
11. Elix J.A. A Catalogue of Standardized Chromatographic Data and Biosynthetic Relationships for Lichen Substances. Third Edition, Canberra, 2014. 323 p.
12. Huneck S., Yoshimura I. Identification of Lichen Substances. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 1996. 493 p.
13. Culberson C. F., Kristinsson H.-D. A standardized method for the identification of lichen products // Journal of Chromatography. 1970. N46. Pp. 85–93.
14. Marcano V., Alcocer V.R., Mendez A.M. Occurrence of usnic acid in *Usnea laevis* Nylander (lichenized Ascomycetes) from the Venezuelan Andes // Journal Ethnopharmacol. 1999. Vol. 66. Pp. 343–346.
15. Cansarana D., Kahyab D., Yurdakulola E., Atakolb O. Identification and Quantitation of Usnic Acid from the Lichen *Usnea* Species of Anatolia and Antimicrobial Activity // Zeitschrift für Naturforsch. 2006. Vol. 61, N11-12. Pp. 773–776.
16. Nunes P.S., Jesus D.C., Bezerra M.S. et al. Validation of a UV-VIS Spectrophotometric method for the determination of usnic acid /collagen-based membranes // Scientia Plena. 2015. N11. Pp. 1–9.

17. Saranyapiriya Gunasekaran, Vinoshene Pillai Rajan, Surash Ramanathan, Vikneswaran Murugaiyah, Mohd. Wahid Samsudin, Laily B Din. Antibacterial and antioxidant activity of lichens *Usnea rubrotincta*, *Ramalina dumeticola*, *Cladonia verticillata* and their chemical constituents // *Malaysian Journal of Analytical Sciences*. 2016. Vol. 20, N1. Pp. 1–13.
18. МУК 4.2.1890-04 Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: методические указания. 04.02.2004.
19. Lina Abuiraq, Ghassan Kanan, Mohammed Wedyan, Ahmed El-Oqlah. Efficacy of Extracts of Some Lichens for Potential Antibacterial Activity // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2015. Vol. 6, N1. Pp. 318–331.
20. Zugic A., Jeremic I., Isakovic A., Arsic I., Savic S., Tadic V.. Evaluation of Anticancer and Antioxidant Activity of a Commercially Available CO<sub>2</sub> Supercritical Extract of Old Man's Beard (*Usnea barbata*) // *PLoS ONE*. 01/2016. Pp. 14. DOI: 10.1371/journal.pone.0146342
21. Ranković B., Kosanić M., Stanoković T., Vasiljević P., Manojlović N. Biological Activities of *Toninia candida* and *Usnea barbata* Together with Their Norstictic Acid and Usnic Acid Constituents // *International Journal of Molecular Sciences*. 2012. Vol. 13. Pp. 14707–14722.

*Поступило в редакцию 19 апреля 2017 г.*

*После переработки 19 октября 2017 г.*

Lyskova N.S.\* , Bazarnova Iu.G., Kruchina-Bogdanov I.V. STUDY OF THE COMPOSITION AND PROPERTIES OF SECONDARY METABOLITES OF THE LICHEN *USNEA BARBATA*

Peter the Great St.Petersburg Polytechnic University, Polytechnicheskaya, 29, St.Petersburg, 195251 (Russia),  
e-mail: nadya1702@yandex.ru

In the modern society value of many biological resources remains underestimated. Lichens are one of the unique poorly studied bioresources. These are amazing organisms, formed by symbiosis of algae and fungus. Due to this combination, lichens have a number of unique properties.

In this article the results of study the composition of biologically active secondary lichen metabolites of the *Usnea barbata* lichen. Antioxidant activity and antimicrobial properties of dry lichen extract against bacteria *Bac. Subtilis*. The conditions for extraction of biologically active metabolites using solvent systems such as water, water-ethanol mixtures with ethanol content of 40 and 70%, 1,4-dioxane and a mixture of 1,4-dioxane and water (1: 1) were selected. With use of the modern analytical methods, the composition of secondary metabolites in the extracts was studied. By the method of spectroscopy in the UV and visible region of the spectrum to determine the content usnic acid, which is 16,2 (solvent - water) to 60,0 (1,4-dioxane) mg/100 ml of extract.

It is shown that the dioxane extract has pronounced antioxidant properties. The active substances (in terms of usnic acid) of the dry extract of lichen *Usnea barbata* are able to inhibit the growth of bacteria *Bac. Subtilis*.

**Keywords:** lichen substances of *Usnea barbata*, biologically active secondary metabolites, usnic acid, extraction, antioxidant activity.

### References

1. Andreev M.P., Akhti T., Voitsekhovich A.A., Gagaripa L.V., Gimel'brapt D.E., Davydov E.A. *Flora lichainikov Ros-sii*. [Flora of lichens of Russia]. Moscow, 2014, 536 p. (in Russ.).
2. Moiseeva E.N. *Biokhimicheskie svoystva lichainikov i ikh prakticheskoe znachenie*. [Biochemical properties of lichens and their practical importance]. Leningrad, 1961, 82 p. (in Russ.).
3. Kursanov A.L., D'iachkov N.N. *Lichainiki i ikh prakticheskoe ispol'zovanie*. [Lichens and their practical use]. Moscow, Leningrad, 1945, 56 p. (in Russ.).
4. Iatsyna A.P. *Praktikum po lichainikam*. [Practice on lichens]. Vitebsk, 2012, 224 p. (in Russ.).
5. Ravinskaia A.P. *Novosti sistematiki nizshikh rastenii*, 1984, vol. 21, pp. 160–179. (in Russ.).
6. Sokolov D.N., Luzina O.A., Salakhutdinov N.F. *Uspekhi khimii*, 2012, vol. 81, no. 8, pp. 747–768. (in Russ.).
7. Ravinskaia A.P., Vainshtein E.A. *Ekologiya*, 1975, no. 3, pp. 82–85. (in Russ.).
8. Blazhei A., Shutyi L. *Fenol'nye soedineniia rastitel'nogo proiskhozhdeniia*. [Phenolic compounds of plant origin]. Moscow, 1977, 239 p. (in Russ.).
9. Zagoskina N.V., Nikolaeva T.N., Lapshin P.V., Zavarzina A.G., Zavarzin A.A. *Khimiia rastitel'nogo syr'ia*, 2011, no. 4, pp. 245–249. (in Russ.).
10. Waksmondzka-Hajnos M., Sherma J. *High Performance Liquid Chromatography in Phytochemical Analysis*, CRC Press, 2010, 996 p.
11. Elix J.A. *A Catalogue of Standardized Chromatographic Data and Biosynthetic Relationships for Lichen Substances*, Third Edition, Canberra, 2014, 323 p.
12. Huneck S., Yoshimura I. *Identification of Lichen Substances*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 1996, 493 p.
13. Culberson C.F., Kristinsson H.-D. *Journal of Chromatography*, 1970, no. 46, pp. 85–93.
14. Marcano V., Alcocer V.R., Mendez A.M. *Journal Ethnopharmacol.*, 1999, vol. 66, pp. 343–346.
15. Cansarana D., Kahyab D., Yurdakulola E., Atakolb O. *Zeitschrift für Naturforsch.*, 2006, vol. 61, no. 11-12, pp. 773–776.
16. Nunes P.S., Jesus D.C., Bezerra M.S. et al. *Scientia Plena.*, 2015, no. 11, pp. 1–9.
17. Saranyapiriya Gunasekaran, Vinoshene Pillai Rajan, Surash Ramanathan, Vikneswaran Murugaiyah, Mohd. Wahid Samsudin, Laily B Din. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 2016, vol. 20, no. 1, pp. 1–13.
18. MUK 4.2.1890-04 *Opređenje chuvstvitel'nosti mikroorganizmov k antibakterial'nym preparatam. Meto-dicheskie ukazaniia, ot 04.02.2004*. [MUK 4.2.1890-04 Determination of the sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs. Methodical instructions, dated 04.02.2004]. (in Russ.).
19. Lina Abuiraq, Ghassan Kanan, Mohammed Wedyan, Ahmed El-Oqlah, *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 2015, vol. 6, no. 1, pp. 318–331.
20. Zugic A., Jeremic I., Isakovic A., Arsic I., Savic S., Tadic V. *PLoS ONE*, 01/2016. Pp. 14. DOI: 10.1371/journal.pone.0146342
21. Ranković B., Kosanić M., Stanojković T., Vasiljević P., Manojlović N. *International Journal of Molecular Sciences*, 2012, vol. 13, pp. 14707–14722.

Received April 19, 2017

Revised October 19, 2017

\* Corresponding author.

