

УДК 54.05:543.06

## ПЕРВИЧНЫЕ И ВТОРИЧНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ *LASALLIA PENNSYLVANICA*

© *И.В. Слепцов\**, *И.А. Прокопьев*, *А.Н. Журавская*

*Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, пр. Ленина, 41,  
Якутск, 677980, (Россия), e-mail: neroxasg@mail.ru*

Проведено выделение гирофоровой кислоты из талломов *Lasallia pensylvanica* и ее идентификация методами ИК-, УФ-, МС-спектрометрии и дифференциальной сканирующей калориметрии. Установлено, что среднее содержание гирофоровой кислоты в исследованном лишайнике составляла 36 мг/г. Показано, что гирофоровая кислота проявляла антиоксидантную активность относительно супероксид-анион, NO, DPPH и ABTS радикалов, ингибировала перекисное окисление липидов и восстанавливала ионы Fe (II). При этом противорадикальная активность гирофоровой кислоты относительно супероксид-аниона и NO радикалов была выше в 1.3 и 1.6 раза соответственно по сравнению с дигидро-кверцетином. Из талломов лишайника *Lasallia pensylvanica* выделены нейтральные липиды, гликолипиды, фосфолипиды и фракция водорастворимых полисахаридов. Показано, что основными фракциями липидов являются нейтральные и фосфолипиды, содержание которых составило 84.2 и 73.2 мг/г соответственно. Выход фракции водорастворимых полисахаридов из талломов *Lasallia pensylvanica* составил 46%. Установлено, что основными мономерами водорастворимой фракции полисахарида *Lasallia pensylvanica* являются глюкоза и манноза. Проведено изучение состава и содержания низкомолекулярных соединений, выполняющих функцию крио- и осмопротекторов, к которым относятся гидроксипролин, глутамин, арабитол, рибитол, маннитол, сахароза, трегалоза в талломах *Lasallia pensylvanica*.

*Ключевые слова:* *Lasallia pensylvanica*, вторичные метаболиты, гирофоровая кислота, липиды, полисахариды, полиолы, антиоксидантная активность.

*Работа выполнена в рамках НИР VI.62.1. «Разработка биопрепаратов из тканей растений и животных Якутии на основе изучения особенностей их биохимического состава и механизмов адаптации к условиям Севера» (№ госрегистрации - АААА-А17-117020110055-3) и поддержана проектом РФФИ № 18-44-140019 p\_a «Качественные и количественные характеристики криопротекторов лишайников Арктики и Субарктики».*

### **Введение**

Химический состав лишайников вызывает большой интерес для фундаментальной и прикладной науки из-за уникальной группы соединений, известной как лишайниковые вещества, которые возникают в результате симбиоза гриба и водоросли [1, 2]. Первые исследования лишайниковых веществ начались в конце XIX в, а в 1907 г. немецкий исследователь В. Цопф составил первую сводку, в которую вошли описания 143 соединений. На сегодняшний день известно более 800 специфических, не встречающихся у других групп организмов, соединений, синтезируемых лишайниками, основными представителями которых являются липиды, полисахариды, лишайниковые вещества и др. [3]. Биологическая роль многих соединений лишайников при протекании метаболических процессов остается недостаточно ясной. Одной из функций не-

---

*Слепцов Игорь Витальевич* – кандидат биологических наук, научный сотрудник,  
e-mail: neroxasg@mail.ru

*Прокопьев Илья Андреевич* – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник,  
e-mail: ilya.a.prokoriev@mail.ru

*Журавская Алла Николаевна* – доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник,  
e-mail: jan43@mail.ru

которых фенольных соединений признается защита от действия высокой инсоляции путем поглощения избыточного УФ-излучения. Также было обнаружено ингибирующее действие лишайниковых фенольных соединений на рост и развитие высших растений, водорослей и грибов. Кроме того, фенольные метаболиты, выделенные из лишайников, проявляют выраженное бактерицидное действие

---

\* Автор, с которым следует вести переписку.

в отношении грамположительных микроорганизмов и микобактерий, включая штаммы, устойчивые к антибиотикам [4]. Хорошо известна устойчивость лишайников к низким температурам и обезвоживанию, обусловленная наличием соединений, обладающих крио- и осмопротекторными свойствами, к которым относятся полиолы, нередуцирующие сахара и многие другие низкомолекулярные соединения. В то же время вопрос видоспецифичности крио- и осмопротекторов лишайников все еще остается слабоизученным [5].

Химический состав листовых лишайников, произрастающих на территории Якутии, является слабоизученным. Большой интерес для исследования представляет лишайник *Lasallia pensylvanica*, который распространен на территории Южной и Восточной Якутии [6]. Известно, что на территории криолитозоны, в том числе в Центральной Якутии, у растений и лишайников формируются физиологические и биохимические адаптации под влиянием экстремальных условий, таких как короткий вегетационный период, низкая температура воздуха, многолетние мерзлые грунты, продолжительное дневное освещение, высокая солнечная инсоляция и др. [7–9]. Территория Якутии обладает значительными запасами природного лишайникового сырья, что обуславливает высокий потенциал развития биотехнологического производства. В настоящее время в Якутии и Бурятии на основе лишайников рода *Cladonia* налажено производство ряда пищевых биологически активных добавок – «Ягель», «Ягель детокс», «Кладосент» и т.д. [10, 11]. *Lasallia pensylvanica* может быть перспективным источником сырья для выделения биологически активных веществ и дальнейшего их применения в области создания биопрепаратов.

Цель исследования – изучить качественный и количественный состав фенольных соединений, липидов и углеводов лишайника *Lasallia pensylvanica*, произрастающего в Южной Якутии.

### Экспериментальная часть

Объектом исследования служил листоватый, эпилитный лишайник *Lasallia pensylvanica* (Hoffm.) Llano (семейство *Umbilicariaceae*). Сбор образца производился в Южной Якутии в конце августа 2016 г.

Для выделения и последующей идентификации гирофоровой кислоты брали 50 г измельченных воздушно-сухих талломов лишайника, после чего экстрагировали в два этапа. На первом этапе измельченные талломы лишайника трижды экстрагировали легким петролейным эфиром (температура кипения фракции 40–70 °С) в соотношении 1 : 20 в течение 12 ч для удаления загрязняющих веществ (липидов, терпенов). На втором этапе оставшийся шрот лишайников трижды экстрагировали ацетоном (Вектон, Россия) в соотношении 1 : 20 в течение 48 ч. Полученные экстракты *Lasallia pensylvanica* объединяли и упаривали на ротаторном испарителе Heidolph Hei-VAP Value (Германия) при температуре 40 °С до выпадения мелкокристаллического осадка гирофоровой кислоты. Полученные осадки отделяли фильтрованием на бумажных фильтрах (диаметр пор 3–5 мкм), после чего отчищали последовательной перекристаллизацией из ацетона. Определение гирофоровой кислоты в талломах *Lasallia pensylvanica* проводили методом ВЭЖХ на Милихром А-02 фирмы «ЭкоНова» (Россия) [12]. Для градуировки использовался стандарт выделенной гирофоровой кислоты.

Для идентификации гирофоровой кислоты использовали методы МС-, ИК-, УФ-спектроскопии и дифференциальную сканирующую калориметрию (ДСК) для определения температуры плавления. Масс-спектры выделенных соединений были получены методом LC/ESI-qTOF. Перед вводом образцов в масс-спектрометр проводили их предварительное хроматографическое разделение на хроматографе Agilent 1290 (США) [13]. ИК-спектры выделенных соединений снимали на инфракрасном спектрометре с преобразователем Фурье Varian 7000 FT-IR (США) с приготовленных из бромида калия таблеток в диапазоне 4000–400 см<sup>-1</sup>. УФ-спектр метанольного раствора гирофоровой кислоты (1 мМ) снимали на спектрофотометре Shimadzu UV-2600 (Япония) в диапазоне 190–400 нм. Для определения температур плавления гирофоровой кислоты использовали метод дифференциальной сканирующей калориметрии. Пробы сканировали в интервале температур 40–250 °С, скорость роста температур составляла 20 К/мин в атмосфере инертного газа. Идентификацию гирофоровой кислоты проводили, сопоставляя полученные результаты с уже известными литературными данными [14].

Противорадикальную активность 1 мМ растворов гирофоровой кислоты и дигидрокверцетина (ДКВ) в диметилсульфоксиде (ДМСО) оценивали по степени гашения супероксид анион радикалов [15], NO радикалов [16], DPPH радикалов, ABTS радикалов [17]. Антиоксидантную активность измеряли по подавлению перекисного окисления липидов (ПОЛ) и восстановлению ионов Fe<sup>2+</sup> [18]. Веществом для сравнения антиоксидантной активности являлся дигидрокверцетин (ДКВ). Все измерения выполнены в четырех повторностях. Значение полумаксимальной ингибирующей концентрации (IC<sub>50</sub>) рассчитывали на основе построенных графиков доза-эффект.

Экстракцию липидов из талломов лишайника *Lasallia pensylvanica* проводили методом Фолча [19], смесью хлороформа и метанола в соотношении 2 : 1 по объему при комнатной температуре в течение 24 ч и постоянном перемешивании на Heidolph Multi Reax (Германия). Содержание общих липидов (ОЛ) определяли гравиметрическим методом. Для разделения липидов использовали препаративную колоночную хроматографию с «гравитационным» элюированием, наполненную сорбентом Silica gel 230 mesh (Sigma-Aldrich, Германия) (диаметр колонки 15 мм, высота слоя сорбента 250 мм). Для разделения фракций липидов использовали последовательное элюирование различными растворителями: нейтральные липиды (НЛ) – хлороформом, гликолипиды (ГЛ) – ацетоном, фосфолипиды (ФЛ) – метанолом [20, 21].

Для выделения водорастворимых полисахаридов из талломов *Lasallia pensylvanica* брали воздушно-сухой биологический материал массой 50 г, из которого удаляли липиды, олигосахариды, моносахариды, пептиды, аминокислоты, лишайниковые кислоты, терпены последовательной промывкой петролейным эфиром, хлороформом, ацетоном, этанолом. После удаления органических растворителей, получившийся шрот промывали избытком дистиллированной воды и высушивали на лиофильной установке Jouan LP3 (Франция) при температуре холодной ловушки  $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$  и давлении 0.2 мБар. Из полученного сухого шрота выделяли водорастворимые полисахариды лишайника по методу Горшкова и др. [22].

Для определения моносахаридного состава полученную фракцию полисахаридов подвергали полному кислотному гидролизу 2М раствором трифторуксусной кислоты (ТФУ) в течение 5 ч при  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ . После кислотного гидролиза полностью выпаривали ТФУ до образования сухого остатка. Полученный осадок растворяли в 0.5 мл пиридина и добавляли 0.1 мл гексаметилдисилазан и 0.05 мл триметилхлорсилан, для получения триметилсилильных (ТМС) производных. Силирование проводили при температуре  $80\text{ }^{\circ}\text{C}$  в течение 1 ч [23].

Идентифицировали полученные ТМС производные методом ГХ-МС на газовом хроматографе МА-ЭСТРО 7820 (Россия) и масс-спектрометрическом детекторе Agilent 5975 (США). Разделение проводили на колонке HP-5MS (30 м  $\times$  0.25 мм, Agilent, США) со скоростью потока газа-носителя (гелий) 1 мл/мин. Ввод образца в колонку составлял 0.5 мкл при температуре инжектора  $250\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Анализировали в градиентном режиме: 3 мин  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ , от  $100\rightarrow 200\text{ }^{\circ}\text{C}$  со скоростью  $2\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{мин}$  и от  $200\rightarrow 250\text{ }^{\circ}\text{C}$  со скоростью  $3\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{мин}$ . Для идентификации полученных пиков использовали базу данных NIST 11 [24].

Определение содержания соединений, способных проявлять крио- и осмопротекторную функцию, в талломах *Lasallia pensylvanica* проводили методом ГХ-МС [25].

Полученные результаты представлены в виде средней арифметической величины и ее стандартного отклонения ( $M \pm SD$ ). Значимость отличия средних значений определяли с помощью критерия Стьюдента, при уровне  $p \leq 0.05$ . Расчет проводился с помощью пакета AnalystSoft, StatPlus – программа статистического анализа, v.2007.

### **Обсуждение результатов**

Для идентификации гирофоровой кислоты в выделенном из *Lasallia pensylvanica* образце были сняты УФ-, ИК-, МС-спектры и установлена температура плавления с помощью ДСК. Одним из классических методов идентификации веществ является спектр в видимом и ультрафиолетовом диапазоне. Полученный УФ-спектр имел максимумы поглощения при 216, 270 и 307 нм (рис. 1), соответствующий стандарту гирофоровой кислоты из литературных данных [14].

Температура плавления полученного образца составляла  $192\text{ }^{\circ}\text{C}$ , при этом наблюдалось разрушение исследуемой пробы (рис. 2). По литературным данным точка плавления для гирофоровой кислоты составляет  $220\text{--}225\text{ }^{\circ}\text{C}$ , также с разрушением исходного вещества [14].

ИК-спектр гирофоровой кислоты: 3527, 3094, 3049, 1657, 1640, 1608, 1503, 1463, 1444, 1381, 1349, 1312, 1242, 1201, 1144, 1070, 1048, 993, 973, 892, 861, 831, 794, 737,  $695\text{ см}^{-1}$ .

ИК-спектр исследуемого образца содержит полосы поглощения валентных колебаний карбонильной группы ( $1700\text{--}1650\text{ см}^{-1}$ ); валентных колебаний скелета ароматического кольца ( $1650\text{--}1570\text{ см}^{-1}$ ); валентных антисимметричных и симметричных колебаний C–O–C сложной эфирной связи ( $1300\text{--}1250$  и  $1120\text{--}1070\text{ см}^{-1}$  соответственно); валентных колебаний C–O связи ( $1250\text{--}1180\text{ см}^{-1}$ ) и деформационных внеплоскостных колебаний C–H связей ароматического кольца ( $1000\text{--}650\text{ см}^{-1}$ ). Более достоверным при идентификации веществ ИК спектроскопией является сравнение полученных результатов с литературными данными, что позволяет точно идентифицировать исследуемый образец, как гирофоровую кислоту. Полученный ИК-спектр выделенной гирофоровой кислоты полностью соответствует литературным данным [14].

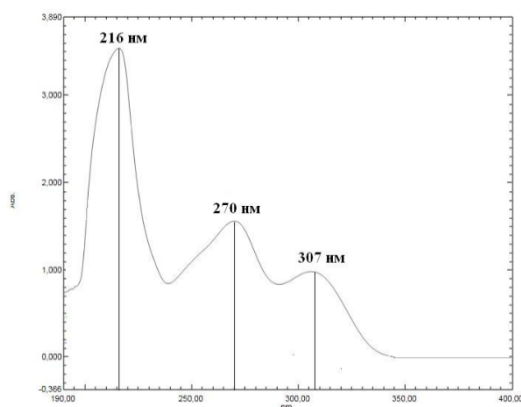


Рис. 1. УФ-спектр гирофоровой кислоты из *Lasallia pensylvanica*

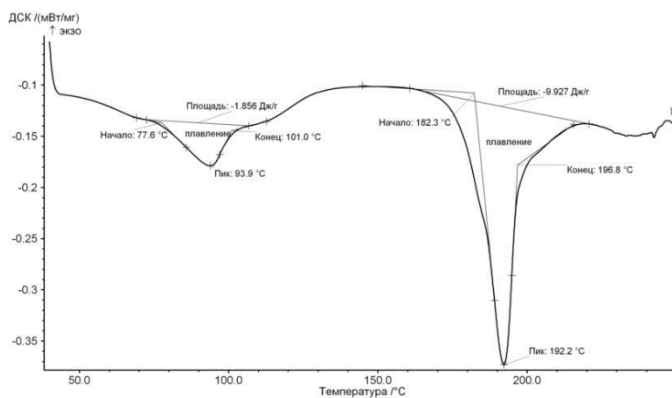
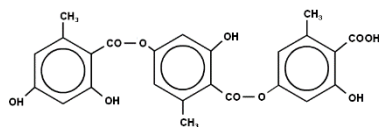


Рис. 2. ДСК гирофоровой кислоты из *Lasallia pensylvanica*

Одним из наиболее эффективных методов в области идентификации веществ является масс-спектрометрия. Молекулярным ионом исследуемого вещества пик с  $m/z = 467.09$ , который расщепляется также на более низкоинтенсивные фрагменты с  $m/z = 317.06$ ,  $m/z = 167.03$  и  $m/z = 123.04$ , соответствующий формулам, указанным на рисунке 3. Следовательно, можно утверждать, что молекулярный ион с  $m/z = 467.09$  является депротонированной формой гирофоровой кислоты. Таким образом, по полученным данным УФ-, ИК-, МС-спектра и температуры плавления выделенное вещество из *Lasallia pensylvanica* является гирофоровой кислотой. Среднее содержание гирофоровой кислоты в талломах *Lasallia pensylvanica* определяли методом ВЭЖХ, и его концентрация составляла  $36 \pm 2.5$  мг/г.

Проверена антиоксидантная активность гирофоровой кислоты из *Lasallia pensylvanica* в сравнении с дигидрокверцетином (ДКВ). Показано, что гирофоровая кислота в 1.3 и 1.6 раз эффективнее инактивировала супероксид анион и NO радикалы, соответственно, по сравнению с ДКВ (табл. 1). Степень ингибирования ПОЛ гирофоровой кислотой и ДКВ статистически значимо не отличалось. При этом противорадикальная активность, по отношению к DPPH и ABTS радикалам, а также железозаменяющая способность гирофоровой кислоты была ниже, чем у ДКВ. Таким образом, выделенная гирофоровая кислота из *Lasallia pensylvanica* проявляет антиоксидантную активность, сопоставимую с флавоноидом ДКВ.

Далее были проведены исследования по выделению липидов из *Lasallia pensylvanica* с последующим разделением их на колоночной хроматографии на фракции: нейтральные липиды (НЛ), гликолипиды (ГЛ) и фосфолипиды (ФЛ). Показано (табл. 2), что основными липидами являются НЛ и ФЛ, содержание которых составило 84.25 и 73.25 мг/г сухой массы, соответственно, концентрация ГЛ 17.75 мг/г сухой массы.



Гирофоровая кислота ( $M = 468$  г/моль)

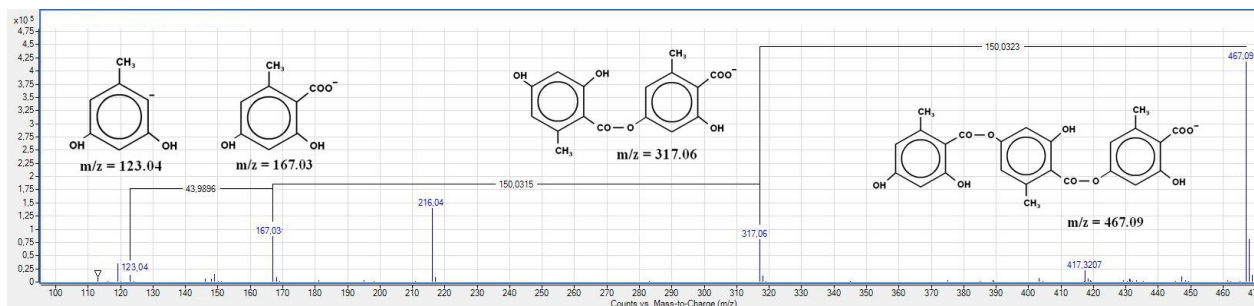


Рис. 3. Масс-спектр исследуемого вещества из *Lasallia pensylvanica*

Из талломов *Lasallia pensylvanica* выделена фракция водорастворимых полисахаридов (ВРПС), выход которой составил 46% от сухой массы. Установлено, что основными мономерами выделенной фракции полисахарида *Lasallia pensylvanica* являются глюкоза и манноза (табл. 3).

Проведено исследование содержания низкомолекулярных соединений, способных проявлять крио- и осмопротекторную функцию в талломах *Lasallia pensylvanica*. Обнаружены такие соединения, как гидроксипролин, глютамин, арабитол, рибитол, маннитол, сахароза, трегалоза, проявляющие крио- и осмопротекторные свойства [5, 26, 27]. Также обнаружен неидентифицированный олигосахарид ( $R_t = 32.5$  мин).

Таблица 1. Антиоксидантная активность гирофоровой кислоты из *Lasallia pensylvanica*

Название вещества	IC <sub>50</sub>					Концентрация восстановленных ионов Fe <sup>2+</sup>
	Супероксид анион радикал	NO радикал	ПОЛ	DPPH	ABTS	
	μM					
Гирофоровая кислота	157.8±6.3*	151.1±16.6*	187.6±16.9	925.9±90.2*	74.6±6.0*	94.7±8.5*
Дигидрокверцетин	<b>208.7±22.9</b>	<b>241.0±26.5</b>	<b>208.7±22.9</b>	<b>35.4±5.7</b>	<b>38.0±5.3</b>	<b>420.4±58.8</b>

Таблица 2. Содержание липидов в *Lasallia pensylvanica*

Липиды	Содержание, мг/г сухой массы
Нейтральные липиды	84.2
Гликолипиды	17.7
Фосфолипиды	73.2
Общие липиды	175.2

Таблица 3. Мономерный состав выделенных фракций полисахаридов из *Lasallia pensylvanica*

Полисахаридная фракция	Относительное суммарное содержание, %						
	Ara	Gal	Rha	Man	Xyl	Glc	GalA
ВРПС	–	–	–	4,6	–	95,4	–

Таблица 4. Содержание низкомолекулярных соединений крио- и осмопротекторного действия в *Lasallia pensylvanica*, усл.ед./г сухой массы

Соединение	<i>L. pensylvanica</i>
Гидроксипролин	0.3±0.0
Глютамин	0.2±0.0
Арабитол	17.8±0.9
Рибитол	14.0±0.8
Маннитол	35.7±2.2
Сахароза	3.1±0.2
Трегалоза	1.3±0.2
не идентифицированный олигосахарид ( $R_t = 32.5$ мин)	43.2±1.7

Примечание. Значения представлены в виде среднего ± стандартное отклонение (M±σ). За 1 усл. ед. принят 1 мкг TMS-производных идентифицированных соединений.

### Выводы

Проведена идентификация гирофоровой кислоты в талломах лишайника *Lasallia pensylvanica*, экспериментально выделен ее образец, результаты исследований которого согласуются с литературными данными [6, 14]. Методом ВЭЖХ установлено содержание гирофоровой кислоты в выделенном образце, которое составило 36±2.5 мг/г.

Исследована антиоксидантная активность выделенной из *Lasallia pensylvanica* гирофоровой кислоты относительно супероксид-анион, NO, DPPH и ABTS радикалов. Противорадикальная активность гирофоровой кислоты относительно супероксид-аниона и оксида азота была выше в 1.3 и 1.6 раза по сравнению с ДКВ соответственно. Антиоксидантная активность гирофоровой кислоты и ее относительно высокое содержание в талломах *Lasallia pensylvanica* делает последний перспективным сырьевым источником для получения гирофоровой кислоты и дальнейшее его использования в качестве антиоксиданта в фармацевтической, косметической и пищевой промышленности.

Установлено количественное содержание НЛ, ГЛ и ФЛ в талломах *Lasallia pensylvanica*. Изучен мономерный состав водорастворимой фракции полисахаридов *Lasallia pensylvanica*, которыми являются глюкоза и манноза.

Изучен состав и содержание низкомолекулярных соединений, выполняющих функцию крио- и осмопротекторов, среди которых идентифицированы гидроксипролин, глютамин, арабитол, рибитол, маннитол, сахараза, трегалоза в талломах *Lasallia pensylvanica*.

### Список литературы

1. Шапиро И.А. Загадки растения сфинкса. Л., 1991. 82 с.
2. Дембицкий В.М., Толстиков Г.А. Органические метаболиты лишайников. Новосибирск, 2005. 135 с.
3. Elix J.A. A Catalogue of Standardized Chromatographic Data and Biosynthetic Relationships for Lichen Substances. Canberra, 2014. 323 p.
4. Molnar K., Farkas E. Current Results on Biological Activities of Lichen Secondary Metabolites: a Review // Z. Naturforsch. 2010. Vol. 65. Pp. 157–173.
5. Порядина Л.Н., Прокопьев И.А., Конорева Л.А., Чесноков С.В., Слепцов И.В., Филиппова Г.В., Шашурин М.М. Адаптационные биохимические механизмы, обеспечивающие устойчивость лишайников к экстремальным условиям среды обитания (обзор) // Природные ресурсы Арктики и Субарктики. 2018. Т. 26. №4. С. 109–118.
6. Гагарина Л.В., Гимельбрант Д.Е., Давыдов Е.А., Жданов И.С., Кузнецова Е.С., Степанчикова И.С. Флора лишайников России: Род *Protoparmelia*, семейства *Coenogoniaceae*, *Gyalectaceae* и *Umbilicariaceae*. М.; СПб., 2017. 195 с.
7. Журавская А.Н. Адаптация к экстремальным условиям среды и радиочувствительность растений Якутии. Новосибирск, 2011. 104 с.
8. Саввинов Д.Д. Гидротермический режим почв в зоне многолетней мерзлоты. Новосибирск: Наука, 1976. 254 с.
9. Иванов Б.И., Львова П.М., Анисимова К.А., Иванов А.С. Хлебные злаки в Якутии. Якутск: Изд-во ЯФ СО АН СССР, 1985. 164 с.
10. Бураева Л.Б., Николаева М.Г., Пожарицкая О.Н., Дугарова Г.О., Николаев С.М., Асеева Т.А. Радиопротекторное действие растительного препарата «Кладосент» при острой лучевой болезни у белых крыс // Растительные ресурсы. 1998. №1. С. 77–81.
11. Кершенгольц Б.М., Журавская А.Н., Хлебный Е.С., Шейн А.А., Филиппова Г.В., Шашурин М.М., Аньшаква В.В. Биопрепараты из природного арктического биосырья в сохранении здоровья населения в условиях изменений климата // Экология человека. 2010. №3. С. 8–15.
12. Прокопьев И.А., Шейн А.А., Филиппова Г.В., Филиппов Э.В., Шашурин М.М., Гладкина Н.П. Годовая динамика содержания усниновой кислоты в талломах лишайников родов *Cladonia* и *Flavocetraria*, произрастающих в Центральной Якутии // Химия растительного сырья. 2015. №4. С. 45–49.
13. Прокопьев И.А., Шаварда А.Л., Филиппова Г.В., Шейн А.А. Применение высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения содержания вторичных метаболитов лишайников // Журнал аналитической химии. 2017. Т. 72. №11. С. 1025–1031.
14. Huneck S., Yoshimura I. Identification of lichen substances. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1996. 493 p.
15. Nishikimi M., Rao N.A., Yagi K. The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen // Biochemical and biophysical research communications. 1972. Vol. 46. N2. Pp. 849–854.
16. Marcocci L., Packer L., Droy-Lefaix M.T., Sekaki A., Gardes-Albert M. Antioxidant action of Ginkgo biloba extract EGB 761 // Methods in enzymology. 1994. Vol. 234. Pp. 462–475.
17. Mareček V., Míkyška A., Hampel D., Čejka P., Neuwirthová J., Malachová A. ABTS and DPPH methods as a tool for studying antioxidant capacity of spring barley and malt // Journal of cereal science. 2017. Vol. 73. Pp. 40–45.
18. Рогожин В.В. Методы биохимических исследований. Якутск, 1999. 113 с.
19. Folch J., Lees M., Stanley G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues // J. Biol. Chem. 1957. Vol. 226. N1. Pp. 497–509.
20. Ветчинникова Л.В., Серебрякова О.С., Ильинова М.К. Жирнокислотный состав липидов пыльцы основных представителей рода *Betula L.* // Труды Карельского научного центра РАН. 2012. №2. С. 56–62.
21. José L. Guil-Guerrero Ignacio Rodríguez-García Lipids classes, fatty acids and carotenes of the leaves of six edible wild plants // European Food Research and Technology. 1999. Vol. 209. N5. Pp. 313–316.
22. Горшкова Р.П., Назаренко Е.Л., Зубков В.А., Степаненко Л.С., Исаков, В.В. Структурное исследование полисахаридов лишайников *Cetraria cucullata* и *C. isidantica* // Биоорганическая химия. 1997. Т. 23. №2. С. 134–138.
23. York W.S., Darvill A.G., McNeil M., Stevenson T.T., Albersheim P. Isolation and characterization of plant cell walls and cell wall components // Methods in enzymology. 1986. Vol. 118. Pp. 3–40.
24. Standard Reference Data Program, National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD. Standard Reference Database IA. URL: <http://www.nist.gov/srd/nist1a.htm>
25. Петрова Н.В., Сазанова К.В., Медведева Н.А., Шаварда А.Л. Особенности метаболомного профиля на разных стадиях онтогенеза *Prunella vulgaris (Lamiaceae)* при выращивании в климатической камере // Химия растительного сырья. 2018. №3. С. 139–147.

26. Fontaniella B., Vicente C., Legaz M.E. The cryoprotective role of polyols in lichens: Effects on the redistribution of RNase in *Evernia prunastri* thallus during freezing // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2000. Vol. 38. Pp. 621–627.
27. Lineberger R.D., Steponkus P.L. Cryoprotection by glucose, sucrose, and raffinose to chloroplast thylakoids // *Plant Physiology*. 1980. Vol. 65. N2. Pp. 298–304.

Поступила в редакцию 26 февраля 2019 г.

После переработки 28 мая 2019 г.

Принята к публикации 3 июня 2019 г.

**Для цитирования:** Слепцов И.В., Прокопьев И.А., Журавская А.Н. Первичные и вторичные метаболиты *Lasallia pensylvanica* // *Химия растительного сырья*. 2019. №4. С. 149–156. DOI: 10.14258/jcprm.2019045213.

*Sleptsov I.V.\**, *Prokopiev I.A.*, *Zhuravskaya A.N.* PRIMARY AND SECONDARY METABOLITES *LASALLIA PENNSYLVANICA*

*Institute of Biological Problems of Cryolithozone SB RAS, pr. Lenina, 41, Yakutsk, 677980, (Russia),  
e-mail: neroxasg@mail.ru*

Gyrophoric acid was isolated from thalluses of *Lasallia pensylvanica* and identification using IR, UV, MS spectrometry and differential scanning calorimetry. It was established that the content of gyrophoric acid in the lichen was 36 mg/g. It was shown that the gyrophoric acid exhibited antioxidant activity relative to the superoxide anion, NO, DPPH and ABTS radicals, inhibited the lipid peroxidation and reduced Fe (II) ions. At the same time, the antiradical activity of the gyrophoric acid relative to the superoxide anion and nitric oxide was higher by 1.3 and 1.6 times, respectively, compared with taxifolin. Neutral lipids, glycolipids, phospholipids and a fraction of water-soluble polysaccharides were isolated from the thalluses of *Lasallia pensylvanica*. It was shown that the main lipid fractions are neutral and phospholipids, the content of which were 84.25 and 73.25 mg/g, respectively. The yield of the fraction of water-soluble polysaccharides from the thalluses of *Lasallia pensylvanica* was 45.98%. It is established that the main monomers of the water-soluble fraction of the polysaccharide *Lasallia pensylvanica* are glucose and mannose. The study of the composition and content of low molecular weight compounds in the thalluses of *Lasallia pensylvanica*, performing the function of cryo- and osmoprotectants. Found compounds such as hydroxyproline, glutamine, arabitol, ribitol, mannitol, sucrose, trehalose.

*Keywords:* *Lasallia pensylvanica*, secondary metabolites, lipids, polysaccharides, antioxidant activity.

---

\* Corresponding author.

## References

1. Shapiro I.A. *Zagadki rasteniy sfinksy*. [Riddles of the sphinx plant]. Leningrad, 1991, 82 p. (in Russ.).
2. Dembitskiy V.M., Tolstikov G.A. *Organicheskiye metabolity lishaynikov*. [Organic metabolites of lichens]. Novosibirsk, 2005, 135 p. (in Russ.).
3. Elix J.A. *A Catalogue of Standardized Chromatographic Data and Biosynthetic Relationships for Lichen Substances*, Canberra, 2014, 323 p.
4. Molnar K., Farkas E. *Z. Naturforsch.*, 2010, vol. 65, pp. 157–173.
5. Poryadina L.N., Prokop'yev I.A., Konoreva L.A., Chesnokov S.V., Sleptsov I.V., Filippova G.V., Shashurin M.M. *Prirodnyye resursy Arktiki i Subarktiki*, 2018, vol. 26, no. 4, pp. 109–118. (in Russ.).
6. Gagarina L.V., Gimel'brant D.Ye., Davydov Ye.A., Zhdanov I.S., Kuznetsova Ye.S., Stepanchikova I.S. *Flora lishaynikov Rossii: Rod Prototarmelia, semeystva Coenogoniaceae, Gyalectaceae i Umbilicariaceae*. [Lichen flora of Russia: Genus Prototarmelia, families Coenogoniaceae, Gyalectaceae and Umbilicariaceae]. Moscow, St. Petersburg, 2017, 195 p. (in Russ.).
7. Zhuravskaya A.N. *Adaptatsiya k ekstremal'nym usloviyam sredy i radiochuvstvitel'nost' rasteniy Yakutii*. [Adaptation to extreme environmental conditions and radiosensitivity of plants in Yakutia]. Novosibirsk, 2011, 104 p. (in Russ.).
8. Savvinov D.D. *Gidrotermicheskiy rezhim pochv v zone mnogoletney merzloty*. [Hydrothermal regime of soils in the permafrost zone]. Novosibirsk, 1976, 254 p. (in Russ.).
9. Ivanov B.I., L'vova P.M., Anisimova K.A., Ivanov A.S. *Khlebnyye zlaki v Yakutii*. [Cereals in Yakutia]. Yakutsk, 1985, 164 p. (in Russ.).
10. Burayeva L.B., Nikolayeva M.G., Pozharitskaya O.N., Dugarova G.O., Nikolayev S.M., Aseyeva T.A. *Rastitel'nyye resursy*, 1998, no. 1, pp. 77–81. (in Russ.).
11. Kershengol'ts B.M., Zhuravskaya A.N., Khlebnyy Ye.S., Shein A.A., Filippova G.V., Shashurin M.M., An'shakova V.V. *Ekologiya cheloveka*, 2010, no. 3, pp. 8–15. (in Russ.).
12. Prokop'yev I.A., Shein A.A., Filippova G.V., Filippov E.V., Shashurin M.M., Gladkina N.P. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2015, no. 4, pp. 45–49. (in Russ.).
13. Prokop'yev I.A., Shavarda A.L., Filippova G.V., Shein A.A. *Zhurnal analiticheskoy khimii*, 2017, vol. 72, no. 11, pp. 1025–1031. (in Russ.).
14. Huneck S., Yoshimura I. *Identification of lichen substances*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1996, 493 p.
15. Nishikimi M., Rao N.A., Yagi K. *Biochemical and biophysical research communications*, 1972, vol. 46, no. 2, pp. 849–854.
16. Marcocci L., Packer L., Droy-Lefaix M.T., Sekaki A., Gardes-Albert M. *Methods in enzymology*, 1994, vol. 234, pp. 462–475.
17. Mareček V., Mikyška A., Hampel D., Čejka P., Neuwirthová J., Malachová A. *Journal of cereal science*, 2017, vol. 73, pp. 40–45.
18. Rogozhin V.V. *Metody biokhimicheskikh issledovaniy*. [Methods of biochemical research]. Yakutsk, 1999, 113 p. (in Russ.).
19. Folch J., Lees M., Stanley G.H. *J. Biol. Chem.*, 1957, vol. 226, no. 1, pp. 497–509.
20. Vetchinnikova L.V., Serebryakova O.S., Il'inova M.K. *Trudy Karel'skogo nauchnogo tsentra RAN*, 2012, no. 2, pp. 56–62. (in Russ.).
21. José L. *European Food Research and Technology*, 1999, vol. 209, no. 5, pp. 313–316.
22. Gorshkova R.P., Nazarenko Ye.L., Zubkov V.A., Stepanenko L.S., Isakov, V.V. *Bioorganicheskaya khimiya*, 1997, vol. 23, no. 2, pp. 134–138. (in Russ.).
23. York W.S., Darvill A.G., McNeil M., Stevenson T.T., Albersheim P. *Methods in enzymology*, 1986, vol. 118, pp. 3–40.
24. *Standard Reference Data Program, National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD. Standard Reference Database 1A*. URL: <http://www.nist.gov/srd/nist1a.htm>
25. Petrova N.V., Sazanova K.V., Medvedeva N.A., Shavarda A.L. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2018, no. 3, pp. 139–147. (in Russ.).
26. Fontaniella B., Vicente C., Legaz M.E. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2000, vol. 38, pp. 621–627.
27. Lineberger R.D., Steponkus P.L. *Plant Physiology*, 1980, vol. 65, no. 2, pp. 298–304.

Received February 26, 2019

Revised May 28, 2019

Accepted June 3, 2019

**For citing:** Sleptsov I.V., Prokopiev I.A., Zhuravskaya A.N. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2019, no. 4, pp. 149–156. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2019045213.