

УДК 581.192:582.33

## СОДЕРЖАНИЕ МИНЕРАЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ И НЕКОТОРЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ТКАНЯХ ПОБЕГОВ *TETRALOPHOZIA SETIFORMIS* (EHRH.) SCHLJAKOV, *PTILIDIUM PULCHERRIMUM* (WEBER) VAIN. И *RADULA COMPLANATA* (L.) DUMORT ИЗ ФЛОРЫ РЕСПУБЛИКИ КОМИ

© Т.И. Шишова\*, И.В. Бешлей, К.Г. Уфимцев, М.В. Дулин, В.В. Володин

Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, ул. Коммунистическая, 28,  
Сыктывкар, 167982 (Россия), e-mail: shirshova@ib.komisc.ru

Проведено исследование химического состава биологически активных веществ (нейтральных липидов и их жирнокислотного состава, протеиногенных аминокислот) и содержания макро- и микроэлементов в побегах трех видов печёночников из флоры Республики Коми – *Tetralophozia setiformis* (Ehrh.) Schljakov, *Ptilidium pulcherrimum* (Weber) Vain. и *Radula complanata* (L.) Dumort. Показано, что содержание нейтральных липидов в изученных представителях лежит в нижних пределах, характерных для растений (0.3; 0.9; 0.5% массы сухого сырья). Жирнокислотный состав нейтральных липидов представлен молекулами с цепями от C12 до C20. Установлено, что основную долю составляют предельные жирные кислоты, среди которых доминируют пальмитиновая (C16:0), стеариновая (C18:0) и арахидоновая (C20:0). Непредельные кислоты представлены в основном олеиновой и линолевой кислотами. Липиды *P. pulcherrimum* отличаются довольно высоким содержанием редко встречающейся в растениях непредельной вакценовой кислоты (3.0% общего содержания кислот), которую относят к необычным жирным кислотам. Массовая доля азота в сухом сырье трех видов печёночников находится в пределах от 0.83 до 1.27%. Из 17 протеиногенных кислот во всех образцах печёночников доминирующими являются аспарагиновая и глутаминовая, входящие в состав белков всех известных живых организмов, а также аланин, лейцин и лизин. Кроме того, обнаружено довольно высокое содержание частично заменимой аминокислоты – аргинин. Сравнение содержания микро- и макроэлементов в трех исследованных видах показало, что *T. setiformis* характеризуется более высоким содержанием натрия, железа, алюминия и свинца, *P. pulcherrimum* – марганца, калия и фосфора, *R. complanata* – кальция, магния, цинка, меди, бария и стронция. Тестирование образцов на присутствие алкалоидов с использованием осадочных реакций и УФ-детектирования экстрактов дало отрицательный результат для двух видов, но положительную реакцию с двумя реактивами и интенсивное свечение при УФ-детектировании экстрактов *P. pulcherrimum*, что требует дополнительного более детального изучения.

*Ключевые слова:* печёночники, нейтральные липиды, высшие жирные кислоты, протеиногенные аминокислоты, макро- и микроэлементы, алкалоиды, каннабиноиды.

*Работа выполнена в рамках темы госзадания: «Разработка биокаталитических систем на основе ферментов, микроорганизмов и растительных клеток, их иммобилизованных форм и ассоциаций для переработки растительного сырья, получения биологически активных веществ, биотоплива, ремедиации загрязненных почв и очистки сточных вод», № госрегистрации АААА-А17-117121270025-1*

### Введение

Шишова Татьяна Ивановна – кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии и биотехнологии,  
e-mail: shirshova@ib.komisc.ru

Бешлей Игорь Васильевич – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории биохимии и биотехнологии, e-mail: beshley@ib.komisc.ru

Окончание на С. 204

Печёночники (Hepaticae) – одна из древнейших групп высших наземных растений, родственная листостебельным мхам (Bryophyta), широко распространенная по всему миру, своеобразная и очень интересная в научном отношении группа высших растений, характеризующаяся чрезвычайным разнообразием форм гаметофита при весьма

\* Автор, с которым следует вести переписку.

простом и довольно однотипном строении спорофита. Преимущественно мелкие размеры ее представителей, их незначительная роль в сложении фитоценозов, сложность идентификации значительного числа растений этой группы являются причиной того, что печёночники в настоящее время наиболее слабо изучены по сравнению с группами других высших растений как в России, так и в мире в целом [1]. Несмотря на то, что в растительных сообществах лесной зоны печёночники не играют заметной роли, хотя встречаются здесь почти повсеместно, они являются одним из множества компонентов экосистемы и заслуживают тщательного изучения. В настоящее время в мире известно 7275 видов печёночников (386 родов, 86 семейств). Во флоре России насчитывается 455 видов из 105 родов [1–3], в Республике Коми, согласно последним неопубликованным данным, выявлено 183 вида (73 рода, 37 семейств).

Несмотря на высокое таксономическое разнообразие печёночников, в настоящее время химически изучено около 10% видов этого рода [4]. В 1994 году японский фитохимик Йошинори Асакава обнаружил в растении-эндемике Японии *Radula perrottetii* Gottsche., относящемуся к классу юнгерманиевых печёночников (Jungermanniopsida Stotler et Crand.-Stotl.), вещество, близкое по структуре к одному из основных соединений конопли, *тетрагидроканнабинолу* (ТГК), оказывающему самое сильное психотропное воздействие на нервную систему человека, названное им перроттетиненом (ПЭТ) [4–7]. Позже похожие вещества были обнаружены и в других представителях рода *Radula* Dumort. Например, из *Radula marginata* Gottsche, Lindenb. et Nees, произрастающей в Новой Зеландии, были выделены ПЭТ и его кислотное производное, а также каннабиноид, очень похожий на ТГК, фармакологические свойства которого пока мало изучены [8, 9]. Группе швейцарских ученых во главе с профессором Бернского университета Юргом Гертшем (Jürg Gertsch) удалось установить структуру ПЭТ печёночников *Radula*, подтвердить их сходство с ТГК конопли и найти метод синтеза этого вещества в лаборатории в количествах, достаточных для экспериментов [10].

Анализ около 1000 видов печёночников, собранных в Европе, Новой Зеландии, Северной и Южной Америке, Пакистане, Тайване и Японии с использованием современных физико-химических методов анализа (ТСХ, ГХМС и ВЭЖХ), позволил распознать наличие специфических химических маркеров для большинства родов. Было установлено, что одними из наиболее характерных химических компонентов печёночников являются производные бис-бибензила [11]. Химические данные были успешно применены для классификации печёночников на различных таксономических рангах от видового уровня до уровня порядка. На видовом уровне для идентификации растений можно использовать биосинтез различных типов липофильных терпеноидов и ароматических соединений у видов одного и того же рода [4], которые содержатся в масляных телах клеток подавляющего числа видов печёночников (до 90%). Эти соединения легко экстрагируются органическими растворителями. Поэтому определенный интерес представляют липиды, относящиеся к липофильным компонентам растения, соотношение жирных кислот в которых можно также использовать в качестве химических маркеров [12]. Интересную информацию можно получить и при изучении минерального состава растений.

Исследования химического состава представителей печёночников из флоры Республики Коми до сих пор не проводились.

В нашем распоряжении в настоящее время имелись три вида печёночников из местной флоры: *Tetralophozia setiformis* (Ehrh.) Schljakov, *Ptilidium pulcherrimum* (Weber) Vain. и *Radula complanata* (L.) Dumort.

*Tetralophozia setiformis* (Тетралофозия щетинковидная) – представитель рода *Tetralophozia* (R.M. Schust.) Schljakov (Тетралофозия), принадлежащего семейству *Anastrophyllaceae* L.Söderstr., De Roo et Hedd. (Анастрофилловые). Род тетралофозия включает в себя четыре вида в мировой флоре и два вида во флоре России [1–3]. В Республике Коми род представлен только указанным выше видом. *T. setiformis* – арктомон-танный циркумполярный вид, ацидофильный мезофит [13]. Будучи эпилитом, этот печёночник тяготеет в своем распространении к горным и предгорным областям.

*Ptilidium pulcherrimum* (Птилидиум красивейший) – представитель рода *Ptilidium* Nees (Птилидиум),

Уфимцев Кирилл Геннадьевич – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории биохимии и биотехнологии, e-mail: ufimtsev@ib.komisc.ru

Дулин Михаил Владимирович – кандидат биологических наук, научный сотрудник, e-mail: dulin@ib.komisc.ru

Володин Владимир Витальевич – доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией биохимии и биотехнологии, e-mail: volodin@ib.komisc.ru

принадлежащего семейству *Ptilidiaceae* H. Klinggr. (Птилидиевые). Род птилидиум включает в себя три вида, как в мировой флоре, так и во флоре России [1–3]. В Республике Коми род представлен двумя видами – *Ptilidium ciliare* (L.) Hampe и *P. pulcherrimum*. Первый преимущественно приурочен к горным об-

ластям и тундровой зоне, второй, будучи эпиксильным видом и факультативным эпифитом, встречается более широко, следуя за распространением древесных пород растений. *P. pulcherrimum* – бореальный циркумполярный вид, ацидофильный мезофит [13].

*Radula complanata* (Радула сплюснутая) – представитель рода *Radula* Dumort. (Радула), принадлежащего монотипному семейству *Radulaceae* Müll. Frib. (Радуловые). Род радула включает в себя 200 видов в мировой флоре и 10 видов во флоре России [1, 2]. В Республике Коми род представлен двумя видами – *R. complanata* и *R. lindenberghiana* Gottsche ex S.Hartm. Последний приурочен к горным областям и встречен лишь один раз на Северном Урале [13]. *R. complanata* – бореальный циркумполярный вид, ацидофильный мезофит, характеризующийся широким распространением и высокой частотой встречаемости в таежной зоне [13, 14]. Это облигатный эпифит, произрастающий на коре стволов лиственных пород деревьев, обычно старовозрастных осин. Вместе с тем на севере ареала он может переходить на каменистый субстрат и становиться эпилитом [15].

Цель настоящей работы – изучение химического состава и содержания биологически активных соединений (нейтральных липидов и их жирнокислотного состава, протеиногенных аминокислот), макро- и микроэлементов в тканях побегов трех видов печёночников из флоры Республики Коми, а также тестирование их на содержание алкалоидов.

### Материал и методы

Изучению химического состава и биологически активных веществ были подвергнуты побеги трех видов печёночников из флоры Республики Коми: *T. setiformis*, *P. pulcherrimum* и *R. complanata*. Образцы *T. setiformis* были собраны в июне, *R. complanata* и *P. pulcherrimum* – в октябре 2019 года (табл. 1). Сбор образцов проводился согласно принятым в бриологии методикам [16].

Отобранные куртинки помещали в пакеты из крафт-бумаги и сушили при комнатной температуре. Из образцов отбирали отдельные растения, освобождаясь от лишней примесей, полученный материал измельчали и просеивали через сито с диаметром ячейки 1 мм. Названия видов печёночников в работе приводятся согласно «World check list of hornworts and liverworts» [2].

Дублеты проанализированных образцов хранятся в гербарии мохообразных УНУ «Научный гербарий Института биологии Коми НЦ УрО РАН (SYKO)».

Анализ содержания жирных и аминокислот, макро- и микроэлементов проводили в Центре коллективного пользования «Хроматография» Института биологии КНЦ УрО РАН.

Липидные фракции извлекали трехкратной экстракцией гексаном при комнатной температуре и постоянном перемешивании. Гексановые экстракты объединяли, фильтровали через складчатый фильтр с безводным сульфатом натрия и упаривали в вакууме при температуре не выше 40 °С до полного удаления растворителя. Определяли массу полученных маслообразных остатков гравиметрическим методом.

Тонкослойную хроматографию гексановых экстрактов (ТСХ-анализ) осуществляли на хроматографических пластинах «Sorbfil» (Россия) в системе растворителей гексан – диэтиловый эфир – ледяная уксусная кислота в объемных соотношениях 73 : 25 : 5. Высушенные на воздухе пластины обрабатывали 10%-ным раствором фосфорно-молибденовой кислоты в этаноле с последующим выдерживанием при  $t=100$  °С до появления темно-синих пятен. В качестве стандартов для идентификации НЛ использовали Lipid Standard, Sigma (Швейцария), содержащие: холестерин, олеиновую кислоту (C18:1, cis-9), метиловый эфир олеиновой кислоты, триолеин, олеат холестерина.

Жирнокислотный состав липидов устанавливали методом газожидкостной хроматографии метиловых эфиров жирных кислот (МЭЖК), входящих в их состав. Метилирование проводили в запаянных ампулах по модифицированному методу [17], для чего 10 мг анализируемого образца выдерживали в запаянной ампуле в 5 мл 1.5%-ного метанольного раствора концентрированной серной кислоты в течение 1 ч при 105 °С. Содержимое вскрытых после охлаждения ампул выливали в пробирки с притертыми пробками, добавляли 3–6 мл дистиллированной воды и проводили трехкратную экстракцию 3 мл гексана. После расслоения смеси осторожно отбирали гексановую фракцию, сушили фильтрацией через слой безводного сульфата натрия и упаривали на ротаторном испарителе до полного удаления растворителя.

Количественное определение компонентов проводили на газовом хроматографе «Кристалл-5000.2» (Хроматэк, Россия) с пламенно-ионизационным детектором (ПИД) и использованием смеси BAME Mix (Supelco, США), содержащей 26 метиловых эфиров жирных кислот. Правильность идентификации MEFA подтверждали хромато-масс-спектрометрически (Trace DSQ, Thermo) в режиме полного ионного тока (энергия электронов 70 эВ) с применением программного обеспечения Xcalibur Data System и библиотеки масс-спектров NIST05.

Таблица 1. Эколого-географическая характеристика пунктов сбора исследуемых видов печёночников

Номер образца	Вид, название	Место сбора, координаты	Дата сбора
1	<i>Tetralophosia setiformis</i> (Ehrh) Schljakov. Тетралофозия щетинковидная	Вуктыльский р-н, Приполярный Урал, верхнее течение р. Вангыр, западный склон хр. Лапанай, в гольцовом поясе, на камнях. 64°58'20.0" с.ш.; 59°13'02.9" в.д. 483 м н. ур. м	27.06.2019
2	<i>Ptilidium pulcherrimum</i> (Weber) Vain. Птилидиум красивейший	Бассейн р. Сысола, в 9 км на юго-восток от г. Сыктывкара. Лес березово-еловый травяно-кустарничково-зеленомошный, на гниющей древесине. 61°33'55.9" с.ш.; 50°55'09.3" в.д. 105 м н. ур. м	9.10.2019
3	<i>Radula complanata</i> (L.) Dumort. Радула сплюснутая	В 18 км на юго-запад от г. Сыктывкара. Березово-осиново-пихтовый травяно-кустарничково-зеленомошный лес, на стволах старых осин. 61°34'08.1" с.ш.; 50°35'47.8" в.д. 165 м н. ур. м	9.10.2019

Разделение компонентов анализируемых смесей проводили на кварцевой капиллярной колонке HP-FFAP (Agilent, США) 30 м × 0.32 мм × 0.25 мкм; газ-носитель – гелий (ос.ч.), давление 65 кПа, скорость потока через колонку – 0.6 см<sup>3</sup>/мин; программирование температуры колонки 110 °С – 5 °С/мин – 260 °С, скорость потока водорода – 20 см<sup>3</sup>/мин, скорость потока воздуха – 200 см<sup>3</sup>/мин, деление потока – 1 : 30. Температура детектора 250 °С, испарителя 280 °С.

Содержание общего азота определяли на элементном анализаторе EA 1110, модель CHNS-O (CE Instruments, Италия), с использованием газовой хроматографии по методике, разработанной в лаборатории «Экоаналит» [18].

Содержание протеиногенных аминокислот устанавливали методом количественного химического анализа гидролизатов белков. Хроматографическое разделение аминокислот осуществляли на аминокислотном анализаторе марки AAA 339 (Microtecha, Чехия).

Содержание металлов определяли на атомно-эмиссионном спектрометре с индуктивно-связанной плазмой «Spectro» (ПНД Ф 16.1:2.3.3.11-98) [19]. Содержание макро- и микроэлементов выражали в мг/кг сухого сырья.

Алкалоиды обнаруживали при помощи общих (осадочных) реакций с использованием реактивов Вогнера, Драгендорфа, Зонненштейна, Шейблера, растворов танина, пикриновой кислоты и концентрированной серной кислоты. УФ-детектирование экстрактов проводили на спектрометре УФ-254 [20].

### Обсуждение результатов

В тканях побегов трех видов печёночников содержание нейтральных липидов лежит в пределах, характерных для общего содержания липидов в растениях [21]: в *T. setiformis* 0.3, в *P. pulcherrimum* 0.9, в *R. complanata* 0.5% массы сухого сырья.

Согласно результатам ТСХ-анализа, гексановые фракции, состоящие в основном из нейтральных липидов, содержат обычный набор компонентов – моно-, ди- и триглицериды, стеринны, эфиры стериннов, однако отличаются по их количественному содержанию.

Сведения о жирнокислотном составе липидов печёночников в литературе весьма скудные. Авторами работы [22] в простых липидах (три- и диацилглицеридах) культуры клеток *Marchantia polymorpha* было обнаружено восемь кислот, среди которых доминировали насыщенные пальмитиновая и стеариновая. Из ненасыщенных кислот идентифицированы олеиновая, линолевая, линоленовая, а также несвойственные растениям полиненасыщенные высшие жирные кислоты арахидоновая и эйкозапентаеновая, которые также были обнаружены в липидах спорофитов *Lophocolea heterophylla* [23]. Липидные фракции всех исследуемых образцов печёночников содержат 12 основных высших жирных кислот (табл. 2) – от лауриновой (C12) до арахидоновой (C20).

Основную долю составляют предельные жирные кислоты, содержание которых в липидах *P. pulcherrimum* достигает 85%. Из них доминирующими являются пальмитиновая (C16), стеариновая (C18) и арахидоновая (C20), причем липиды *P. pulcherrimum* отличаются значительно более высоким содержанием пальмитиновой кислоты, которое достигает 64%. Непредельные кислоты представлены олеиновой и линолевой кислотами. Липиды *P. pulcherrimum* отличаются довольно высоким содержанием непредельной вакценовой кислоты (3.0% общего содержания кислот), доминирующей в трансизомерах жирных кислот (ТЖК),

обнаруженных в молочном жире. Эта кислота отнесена к функциональным факторам питания, препятствующим риску развития различных заболеваний [24]. Установлено, что вакценовая кислота оказывает эффект против нескольких типов онкологических заболеваний [25, 26]. В исследуемых нами образцах печёночников непредельные арахионовая и эйкозапентаеновая кислоты не были обнаружены.

Массовая доля азота в сухом сырье трех видов печёночников возрастает в ряду *T. setiformis* < *P. pulcherrimum* < *R. complanata*. Соответственно, в таком же порядке наблюдается и возрастание массовой доли аминокислот (АК) и азота АК в сухом сырье (табл. 3).

Из 17 протеиногенных кислот наибольшими по содержанию во всех образцах печёночников являются аспарагиновая и глутаминовая кислоты, входящие в состав белков всех известных живых организмов и играющих важную роль в обмене азотистых веществ, а также аланин, лейцин и лизин (табл. 4).

Таблица 2. Содержание основных высших жирных кислот в нейтральных липидах печёночников (% общей суммы)

Название кислоты	Образец		
	<i>Tetralophosia setiformis</i>	<i>Ptilidium pulcherrimum</i>	<i>Radula complanata</i>
Лауриновая (C12:0)	1.4	0.6	3.3
Миристиновая (C14:0)	6.2	1.9	5.1
Пентадециловая (пентадекановая) C15:0	2.6	0.97	1.4
Пальмитиновая (C16:0)	39.3	64.0	30.0
Пальмитолеиновая (C16:1Δ9)	0.6	0.2	0.5
Маргариновая (гептадекановая) C17:0	1.1	0.7	0.8
Стеариновая (C18:0)	13.1	9.6	11.4
Олеиновая (C18:1Δ9)	10.0	5.7	10.8
Вакценовая (C18:1Δ11)	1.2	3.0	0.5
Линолевая (C18:2 Δ9,12)(cis-cis)	9.0	4.3	17.4
Линоленовая (C18:3Δ9,12,15)	3.4	1.3	2.7
Арахиновая (C20:0)	12.1	8.0	16.0
Суммарное содержание предельных кислот	75.8	85.8	68.0
Суммарное содержание непредельных кислот	24.2	14.2	32.0

Таблица 3. Содержание общего азота и азота протеиногенных аминокислот (АК) в трех видах печёночников

Показатель	Вид		
	<i>Tetralophosia setiformis</i>	<i>Ptilidium pulcherrimum</i>	<i>Radula complanata</i>
Массовая доля азота в сухом веществе, %	0.83±0.09	1.00±0.11	1.27±0.14
Массовая доля АК в сухом веществе, %	3.4	4.8	5.1
Массовая доля азота АК от общего азота, %	57.1	65.7	52.4

Таблица 4. Содержание протеиногенных аминокислот в трех видах печёночников, % массы сухого сырья

Аминокислоты (АК)	Вид		
	<i>Tetralophosia setiformis</i>	<i>Ptilidium pulcherrimum</i>	<i>Radula complanata</i>
Аспарагиновая кислота	0.39±0.06	0.56±0.09	0.64±0.10
Треонин	0.22±0.04	0.27±0.04	0.34±0.05
Серин	0.20±0.03	0.24±0.03	0.30±0.04
Глутаминовая кислота	0.50±0.07	0.69±0.09	0.72±0.09
Пролин	0.13±0.04	0.23±0.07	0.34±0.11
Глицин	0.21±0.03	0.28±0.04	0.32±0.05
Аланин	0.27±0.05	0.36±0.07	0.40±0.08
Цистин	0.01	0.02	0.03
Валин	0.18±0.03	0.25±0.04	0.30±0.04
Метионин	0	0	0
Изолейцин	0.14±0.02	0.20±0.02	0.21±0.03
Лейцин	0.36±0.05	0.52±0.07	0.55±0.07
Тирозин	0.13±0.03	0.19±0.04	0.15±0.03
Фенилаланин	0.14±0.02	0.20±0.03	0.20±0.03
Гистидин	0.06±0.01	0.08±0.02	0.06±0.01
Лизин	0.20±0.03	0.32±0.05	0.28±0.04
Аргинин	0.25±0.05	0.34±0.06	0.20±0.04

Кроме того, обнаружено довольно высокое содержание частично заменимой аминокислоты аргинин, являющейся субстратом NO-синтаз в синтезе оксида азота NO, и не обнаружена такая важная аминокислота, как метионин.

Наблюдаются довольно значительные различия в содержании макро- и микроэлементов, что, возможно, связано с видовыми особенностями и природой субстратов, на которых произрастали изучаемые объекты.

Тетралофозия щетинковидная, произраставшая на камнях, отличается от двух других видов значительно более высоким содержанием микроэлементов железа, алюминия, свинца (табл. 5) и макроэлемента натрия (табл. 6). Птилидиум красивейший, собранный на гниющей древесине в зеленомошном березово-еловом травяно-кустарничковом лесу, отличается более высоким содержанием марганца и значительно более высоким содержанием калия и фосфора (табл. 5, 6). Радула сплюснутая, произраставшая на стволах старых осин, отличается от двух других видов значительно более высоким содержанием таких микроэлементов, как цинк, медь, барий и стронций. Из макроэлементов в радуле обнаружено многократно более высокое содержание кальция и значительно более высокое содержание магния.

Ранее не было сведений о содержании в печёночниках алкалоидов. В ссылках на литературу в Интернете приводится ошибочное отнесение ТГК, выделенного из печёночников, к классу алкалоидов [27, 28]. Однако недавно в эндофитном грибе *Chaetomium fusiforme*, произрастающем на печёночном мхе *Scapania verrucosa* Неег., обнаружили два новых димера азафилоновых алкалоидов [29]. Нами была проведена рекогносцировочная работа по обнаружению алкалоидов в трех видах печёночников. Для этого были использованы осадочные реакции и УФ-детектирование экстрактов. Экстракты *T. setiformis* и *R. complanata* при тестировании на алкалоиды не дали положительной реакции. При взаимодействии экстракта *P. pulcherrimum* с раствором пикриновой кислоты выпал обильный осадок в виде желтых игольчатых кристаллов, а с раствором танина наблюдалось выпадение обильного осадка. При детектировании в УФ-свете наблюдалось слабое сиреневато-розовое свечение экстрактов *T. setiformis* и *R. complanata* и интенсивное свечение экстракта *P. pulcherrimum*. Результаты предварительных тестов позволяют предположить наличие алкалоидов в экстракте *P. pulcherrimum*, что, несомненно, требует дополнительных исследований.

Таблица 5. Содержание микроэлементов в трех видах печёночников, мг/кг сухой массы растения

Микроэлемент	<i>Tetralophozia setiformis</i>	<i>Ptilidium pulcherrimum</i>	<i>Radula complanata</i>
Fe	1400±400	640±180	300±80
Al	1800±500	660±170	290±80
Zn	30±6	53±11	120±24
Cu	4.2±0.8	4.7±0.9	8.5±1.7
Mn	150±50	440±130	240±70
Pb	35±9	5.3±1.3	3.7±0.9
Ba	16±5	47±14	190±60
Cd	0.32±0.16	0.23±0.11	1.2±0.6
Ni	3.8±1.3	2.2±0.8	2.1±0.7
Co	0.68±0.27	0.37±0.15	0.50±0.20
V	3.9±1.0	2.4±0.6	2.1±0.5
Sr	7.1±2.1	10±3	69±21
Se	0.28±0.14	0.11±0.06	<10 (0.054*)

Таблица 6. Содержание макроэлементов в трех видах печёночников, мг/кг сухой массы растения

Макроэлементы	<i>Tetralophozia setiformis</i>	<i>Ptilidium pulcherrimum</i>	<i>Radula complanata</i>
K	1300±500	10000±4000	3300±1300
Na	310±120	39±16	15±6
Ca	2500±700	3500±1000	14000±4000
Mg	670±200	900±270	1200±400
P	470±140	1400±400	630±190
S	780±230	1100±300	970±290

### Выводы

Таким образом, впервые проведено исследование химического состава и содержания некоторых классов биологически активных веществ (нейтральных липидов и их жирнокислотного состава, протиеногенных аминокислот, алкалоидов), макро- и микроэлементов в трех видах печёночников из флоры Республики Коми – *Tetralophozia setiformis*, *Ptilidium pulcherrimum* и *Radula complanata*. Показано, что содержание нейтральных липидов в образцах лежит в нижних пределах, характерных для растений (0.3; 0.9 и 0.5% массы сухого сырья). Жирнокислотный состав нейтральных липидов представлен молекулами с цепями от C12 до C20. Установлено, что основную долю составляют предельные жирные кислоты, среди которых доминируют пальмитиновая (C16:0), стеариновая (C18:0) и арахидоновая (C20:0) кислоты. Из непредельных кислот в липидах *T. setiformis* и *R. complanata* преобладают олеиновая и линолевая кислота. Липиды *P. pulcherrimum* отличаются довольно высоким содержанием непредельной вакценовой кислоты (3.0% общего содержания кислот).

Показано, что массовая доля азота в сухом сырье трех видов печёночников находится в пределах от 0.83 до 1.27%. Установлено, что из 17 протеиногенных кислот во всех образцах печёночников доминируют аспарагиновая и глутаминовая кислоты, а также довольно высокое содержание аланина, лейцина и лизина.

Во всех видах обнаружен одинаковый набор микро- (13) и макроэлементов (6). При этом *T. setiformis* характеризуется более высоким содержанием микроэлементов железа, алюминия, свинца и макроэлемента натрия, *P. pulcherrimum* – марганца, калия и фосфора, *R. complanata* – микроэлементов цинка, меди, бария и стронция, макроэлементов кальция и магния, что может быть связано не только с видовыми особенностями, но и с различиями в составе субстратов, на которых произрастали растения.

Предварительное тестирование образцов на присутствие алкалоидов с использованием общих реакций и УФ-тестирования для двух видов печёночников не дало положительных результатов, но экстракты *P. pulcherrimum*, отличающиеся от них более интенсивным свечением в УФ и положительной реакцией с двумя реагентами, требуют более углубленного исследования.

### Список литературы

1. Потёмкин А.Д., Софронова Е.В. Печёночники и антоцеротовые России. СПб.; Якутск, 2009. Т. 1. 368 с.
2. Söderström L., Hagborg A., von Konrat M. et al. World checklist of hornworts and liverworts // *PhytoKeys*. 2016. Vol. 59. Pp. 1–828. DOI: 10.3897/phytokeys.59.6261
3. Константинова Н.А., Бакалин В.А., Андреева Е.Н., Безгодов А.Г., Боровичев Е.А., Дулин М.В., Мамонтов Ю.С. Список печеночников (Marchantiophyta) России // *Arctoa*. 2009. №18. С. 1–64.
4. Asakawa Y. Chemosystematics of the Hepaticae // *Phytochemistry*. 2004. Vol. 65. Pp. 623–669.
5. Toyota M., Kinugawa T., Asakawa Y. Bibenzyl cannabinoid and bisbibenzyl derivative from the liverwort *Radula perrottetii* // *Phytochemistry*. 1994. Vol. 37. N3. P. 859. DOI: 10.1016/S0031-9422(00)90371-6.
6. Tesso H., König W.A., Asakawa Y. Composition of the essential oil of the liverwort *Radula perrottetii* of Japanese origin // *Phytochemistry*. 2005. Vol. 66. N8. Pp. 941–949. DOI: 10.1016/j.phytochem.2005.03.003.
7. Song Y., Hwang S., Gong P., Kim D., Kim S. Stereoselective total synthesis of (-)-perrottetinene and assignment of its absolute configuration // *Organic Letters*. 2008. Vol. 10. N2. Pp. 269–271. DOI: 10.1021/ol702692q
8. Toyota M., Shimamura T., Ishii H., Renner M., Braggins J., Asakawa Y. New Bibenzyl Cannabinoid from the New Zealand Liverwort *Radula marginata* // *Chem. Pharm. Bull.* 2002. Vol. 50. N10. Pp. 1390–1392. DOI: 10.1248/cpb.50.1390.
9. Hussain T., Plunkett B., Ejaz M., Richard V., Espley R.V., Kayser O. Identification of Putative Precursor Genes for the Biosynthesis of Cannabinoid-Like Compound in *Radula marginata* // *Frontiers in Plant Science*. 2018. Vol. 9. P. 537. DOI: 10.3389/fpls.2018.00537.
10. Chicca A., Schafroth M.A., Reynoso-Moreno I., Erni R., Petrucci V., Carreira E.M., Gertsch J. Uncovering the psychoactivity of a cannabinoid from liverworts associated with a legal high // *Science Advances*. 2018. Vol. 4. N10. P. 2166. DOI: 10.1126/sciadv.aat2166.
11. Oiso Y., Toyota M., Asakawa Y. Occurrence of a Bisbibenzyl Derivative in the Japanese Fern *Hymenophyllum barbatum*: First Isolation and Identification of Perrittetin H from the Pteridophytes // *Chem. Pharm. Bull.* 1999. Vol. 47. P. 297. DOI: 10.1002/chin.199936267.
12. Розенцвиг О.А., Козлов В.Г., Дембицкий В.М. Сравнительное изучение липидов четырех доминирующих видов растений и водорослей реки Шульган // *Биохимия*. 1999. Т. 64, вып. 64. С. 1527–1535.
13. Константинова Н.А. Анализ ареалов печёночников севера Голарктики // *Arctoa*. 2000. №9. С. 29–94.
14. Бакалин В.А., Константинова Н.А., Железнова Г.В. К флоре печеночников Северного Урала (Республика Коми) // *Ботанические исследования на охраняемых природных территориях европейского Северо-Востока: труды Коми научного центра УрО РАН. Сыктывкар, 2001. №165. С. 208–216.*
15. Рыковский Г.Ф. К экологии мохообразных Березинского заповедника // *Флора, систематика и филогения растений*. Киев, 1975. С. 182–188.

16. Гербарное дело. Справочное руководство / под ред. Д. Бридсона, Л. Формана. Кью, 1995. 341 с.
17. А.с. 542932 (СССР). Способ приготовления проб липидов / К.М. Синяк, И.И. Даниленко, З.П. Васюренко, В.И. Крук. – 1977.
18. МКХА №88-17641-94-2009. Методика выполнения измерений массовой доли углерода и азота в твердых объектах методом газовой хроматографии на элементном анализаторе EA 1110 (CHNS-O). Екатеринбург, 2009.
19. ПНД Ф 16.1:2.3:3.11-98. Методика выполнения измерений содержания металлов в твердых объектах методом спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой. 2005.
20. Химический анализ лекарственных растений: учеб. пособие для фармацевтических вузов / под ред. Н.И. Гринкевич, Л.Н. Сафронич. М., 1983. 176 с.
21. Химический состав пищевых продуктов. М., 1987. Т. 2. 360 с.
22. Saguwataru M., Takio S., Ono K. Low temperature-induced accumulation of eicosapentaenoic acids in *Marchantia polymorpha* cells // *Phytochemistry*. 1999. Vol. 52. N3. С. 367–372. DOI: 10.1016/S0031-9422(99)00232-0.
23. Thomas R.J. Lipid composition of maturing and elongate liverwort sporophytes // *Phytochemistry*. 1975. Vol. 14. N3. Pp. 623–626. DOI: 10.1016/0031-9422(75)83005-6.
24. Бессонов В.В., Зайцева Л.В. Трансизомеры жирных кислот: риски для здоровья и пути снижения потребления // *Вопр. питания*. 2016. №3. С. 6–18.
25. Kuhnt K., Moeckel P., Jahreis G. Trans-11 18:1 is effectively  $\Delta^9$ -desaturated compared with trans-12 18:1 in human // *Br. J. Nutr.* 2006. Vol. 95. Pp. 752–761.
26. Turpeinen A.M., Mutanen M., Aro A., Salminen I., Basu S., Palmquist D.L., Griinariet J.M. Bioconversion of vaccenic acids to conjugated linoleic acid in humans // *Am. J. Clin. Nutr.* 2002. Vol. 76. Pp. 504–510. DOI: 10.1093/ajcn/76.3.504.
27. Перепечаева М. Печеночные мхи могут стать безопасной альтернативой медицинской марихуане // *Наука из первых рук*. 2018. URL: <https://yandex.ru/turbo/scfh.ru/s/news/pechenochnye-mkhi-mogut-stat-bezopasnoy-alternativoy-meditsinskoj-marikhuane/>.
28. Печеночные мхи могут стать безопасной альтернативой медицинской марихуане [Электронный ресурс]. URL: [https://pikabu.ru/story/pechenochnyie\\_mkhi\\_mogut\\_stat\\_bezopasnoy\\_alternativoy\\_meditsinskoj\\_marikhuane\\_6251524](https://pikabu.ru/story/pechenochnyie_mkhi_mogut_stat_bezopasnoy_alternativoy_meditsinskoj_marikhuane_6251524).
29. Peng W., Guo L., Zheng C.-J., Zhang Q.-Y., Jia M., Jiang Y.-P., Han T., Qin L.-P. Two new azaphilone alkaloids dimers from endophyte *Chaetomium fusiforme* of the liverwort *Scapania verrucosa* Heeg. // *Biochemical Systematics and Ecology*. 2012. Vol. 45. Pp. 124–126. DOI: 10.1016/j.bse.2012.07.003.

Поступила в редакцию 28 июля 2020 г.

После переработки 11 ноября 2020 г.

Принята к публикации 15 января 2021 г.

**Для цитирования:** Ширшова Т.И., Бешлей И.В., Уфимцев К.Г., Дулин М.В., Володин В.В. Содержание минеральных веществ и некоторых биологически активных соединений в тканях побегов *Tetralophozia setiformis* (Ehrh.) Schljakov, *Ptilidium pulcherrimum* (Weber) Vain. и *Radula complanata* (L.) Dumort из флоры Республики Коми // *Химия растительного сырья*. 2021. №1. С. 203–212. DOI: 10.14258/jcrpm.2021018266.



Shirshova T.I.\*, Beshley I.V., Ufimtsev K.G., Dulin M.V., Volodin V.V. CONTENT OF MINERAL SUBSTANCES AND SOME BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS IN THE TISSUE OF THE SHOOTS *TETRALOPHOZIA SETIFORMIS* (EHRH.) SCHLJAKOV, *PTILIDIUM PULCHERRIMUM* (WEBER) VAIN. AND *RADULA COMPLANATA* (L.) DUMORT FROM THE FLORA OF THE REPUBLIC OF KOMI

*Institute of Biology, Komi Science Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Kommunisticheskaya st., 28, Syktyvkar, 167982 (Russia), e-mail: shirshova@ib.komisc.ru*

The study of the chemical composition of biologically active substances (neutral lipids and their fatty acid composition, prothrogenic amino acids, alkaloids) and the content of macro- and microelements in the shoots of three types of liverworts from the flora of the Komi Republic – *Tetralophosia setiformis* (Ehrh.) Schljakov, *Ptilidium pulcherrimum* (Weber) Vain. and *Radula complanata* (L.) Dumort, was carried out. It is shown that the content of neutral lipids in the studied representatives lies in the lower limits typical for plants (0.3; 0.9; 0.5% of dry weight). The fatty acid composition of neutral lipids is represented by molecules with chains from C12 to C20. It was found that the main share is made up of saturated fatty acids, among which palmitic (C16:0), stearic (C18:0) and arachinic (C20:0) dominate. Unsaturated acids are mainly represented by oleic and linoleic acids. Lipids of *P. pulcherrimum* are characterized by a fairly high content of extremely rare unsaturated vaccenic acid in plants (3.0% of the total acid content), which is classified as an unusual fatty acid. The mass fraction of nitrogen in the dry matter of three types of liverworts ranges from 0.83 to 1.27%. Of the 17 proteinogenic acids in all liver samples, the dominant ones are aspartic and glutamic acids, which are part of the proteins of all known living organisms, as well as alanine, leucine and lysine. In addition, a fairly high content of the partially interchangeable amino acid arginine was found. In the three studied species, 13 micro- and six macronutrients were found. At the same time, *T. setiformis* is characterized by a higher content of trace elements of iron, aluminum and lead and the macronutrient sodium, *P. pulcherrimum* – manganese, potassium and phosphorus, *R. complanata* – trace elements of zinc, copper, barium and strontium, macronutrients of calcium and magnesium. Testing the samples for the presence of alkaloids using sedimentary reactions and UV detection of extracts gave a negative result for two species, but a positive reaction with two reagents and an intense glow during UV detection of *P. pulcherrimum* extracts, which requires additional more detailed study.

*Keywords:* liverworts, neutral lipids, higher fatty acids, proteinogenic amino acids, macro- and microelements, alkaloids, cannabinoids.

## References

- Potomkin A.D., Sofronova Ye.V. *Pechonochniki i antotserotovyje Rossii*. [Liverworts and anthocerotof Russia]. St.-Petersburg; Yakutsk, 2009, vol. 1, 368 p. (in Russ.).
- Söderström L., Hagborg A., von Konrat M. et al. *PhytoKeys*, 2016, vol. 59, pp. 1–828. DOI: 10.3897/phytokeys.59.6261.
- Konstantinova N.A., Bakalin V.A., Andreyeva Ye.N., Bezgodov A.G., Borovichev Ye.A., Dulin M.V., Mamontov Yu.S. *Arctoa*, 2009, no. 18, pp. 1–64. (in Russ.).
- Asakawa Y. *Phytochemistry*, 2004, vol. 65, pp. 623–669.
- Toyota M., Kinugawa T., Asakawa Y. *Phytochemistry*, 1994, vol. 37, no. 3, p. 859. DOI: 10.1016/S0031-9422(00)90371-6.
- Tesso H., König W.A., Asakawa Y. *Phytochemistry*, 2005, vol. 66, no. 8, pp. 941–949. DOI: 10.1016/j.phytochem.2005.03.003.
- Song Y., Hwang S., Gong P., Kim D., Kim S. *Organic Letters*, 2008, vol. 10, no. 2, pp. 269–271. DOI: 10.1021/ol702692q.
- Toyota M., Shimamura T., Ishii H., Renner M., Braggins J., Asakawa Y. *Chem. Pharm. Bull.*, 2002, vol. 50, no. 10, pp. 1390–1392. DOI: 10.1248/cpb.50.1390.
- Hussain T., Plunkett B., Ejaz M., Richard V., Espley R.V., Kayser O. *Frontiers in Plant Science*, 2018, vol. 9, p. 537. DOI: 10.3389/fpls.2018.00537.
- Chicca A., Schafroth M.A., Reynoso-Moreno I., Erni R., Petrucci V., Carreira E.M., Gertsch J. *Science Advances*, 2018, vol. 4, no. 10, p. 2166. DOI: 10.1126/sciadv.aat2166.
- Oiso Y., Toyota M., Asakawa Y. *Chem. Pharm. Bull.*, 1999, vol. 47, p. 297. DOI: 10.1002/chin.199936267.
- Rozentsvet O.A., Kozlov V.G., Dembitskiy V.M. *Biokhimiya*, 1999, vol. 64, no. 64, pp. 1527–1535. (in Russ.).
- Konstantinova N.A. *Arctoa*, 2000, no. 9, pp. 29–94. (in Russ.).
- Bakalin V.A., Konstantinova N.A., Zheleznova G.V. *Botanicheskiye issledovaniya na okhranyayemykh prirodnykh territoriyakh yevropeyskogo Severo-Vostoka: trudy Komi nauchnogo tsentra UrO RAN*. [Botanical research in protected natural areas of the European North-East: works of the Komi Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences]. Syktyvkar, 2001, no. 165. pp. 208–216. (in Russ.).
- Rykovskiy G.F. *Flora, sistematika i filogeniya rasteniy*. [Flora, taxonomy and phylogeny of plants]. Kiev, 1975, pp. 182–188. (in Russ.).
- Gerbarnoye delo. Spravochnoye rukovodstvo* [Herbarium business. Reference Guide], ed. D. Bridson, L. Forman. K'yu, 1995, 341 p. (in Russ.).
- Patent 542932 (USSR). 1977. (in Russ.).
- MKKhA №88-17641-94-2009. *Metodika vypolneniya izmereniy massovoy doli ugleroda i azota v tverdykh ob"-yektakh metodom gazovoy khromatografii na elementnom analizatore YeA 1110 (SNNS-O)*. [MKHA No. 88-17641-94-2009.

\* Corresponding author.

- Technique for measuring the mass fraction of carbon and nitrogen in solid objects by gas chromatography on an EA 1110 (CHNS-O) elemental analyzer]. Yekaterinburg, 2009. (in Russ.).
19. PND F 16.1:2.3:3.11-98. *Metodika vypolneniya izmereniy sodержaniya metallov v tverdykh ob'yektakh metodom spektroskopii s induktivno-svyazannoy plazmoy*. [PND F 16.1:2.3:3.11-98. A technique for measuring the content of metals in solid objects by inductively coupled plasma spectroscopy]. 2005. (in Russ.).
  20. *Khimicheskiy analiz lekarstvennykh rasteniy: ucheb. posobiye dlya farmatsevticheskikh vuzov* [Chemical analysis of medicinal plants: textbook. manual for pharmaceutical universities], ed. N.I. Grinkevich, L.N. Safronich. Moscow, 1983, 176 p. (in Russ.).
  21. *Khimicheskiy sostav pishchevykh produktov*. [The chemical composition of food]. Moscow, 1987, vol. 2, 360 p. (in Russ.).
  22. Saruwatari M., Takio S., Ono K. *Phytochemistry*, 1999, vol. 52, no. 3, pp. 367–372. DOI: 10.1016/S0031-9422(99)00232-0.
  23. Thomas R.J. *Phytochemistry*, 1975, vol. 14, no. 3, pp. 623–626. DOI: 10.1016/0031-9422(75)83005-6.
  24. Bessonov V.V., Zaytseva L.V. *Vopr. Pitaniya*, 2016, no. 3, pp. 6–18. (in Russ.).
  25. Kuhnt K., Moeckel P., Jahreis G. *Br. J. Nutr.*, 2006, vol. 95, pp. 752–761.
  26. Turpeinen A.M., Mutanen M., Aro A., Salminen I., Basu S., Palmquist D.L., Griinariet J.M. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2002, vol. 76, pp. 504–510. DOI: 10.1093/ajcn/76.3.504.
  27. Perepechayeva M. *Nauka iz pervykh ruk*, 2018. URL: <https://yandex.ru/turbo/scfh.ru/s/news/pechenochnye-mkhi-mogut-stat-bezopasnoy-alternativoy-meditsinskoy-marikhuane/>. (in Russ.).
  28. *Pechenochnyye mkhi mogut stat' bezopasnoy al'ternativoy meditsinskoy marikhuane* [Liver mosses could be a safe alternative to medical marijuana]. URL: [https://pikabu.ru/story/pechenochnyye-mkhi-mogut-stat-bezopasnoy-alternativoy-me-ditsinskoy-marikhuane\\_6251524](https://pikabu.ru/story/pechenochnyye-mkhi-mogut-stat-bezopasnoy-alternativoy-me-ditsinskoy-marikhuane_6251524). (in Russ.).
  29. Peng W., Guo L., Zheng C.-J., Zhang Q.-Y., Jia M., Jiang Y.-P., Han T., Qin L.-P. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2012, vol. 45, pp. 124–126. DOI: 10.1016/j.bse.2012.07.003.

Received July 28, 2020

Revised November 11, 2020

Accepted January 15, 2021.

**For citing:** Shirshova T.I., Beshley I.V., Ufimtsev K.G., Dulin M.V., Volodin V.V. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2021, no. 1, pp. 203–212. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2021018266.