

УДК 582.323:615.32+543.544

## МХИ РОДА SPHAGNUM (S. ANGUSTIFOLIUM, S. MAGELLANICUM): ВЭЖХ-АНАЛИЗ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ИХ КОМПОНЕНТОВ

**АНДРЕЙЧЕНКО Елизавета Анатольевна**

лаборант первой квалификационной категории кафедры биохимии биологического факультета;  
студентка четвертого курса кафедры ботаники биологического факультета  
Белорусский государственный университет

**ПОПОВ Евгений Германович**

кандидат биологических наук  
ведущий научный сотрудник лаборатории биоразнообразия растительных ресурсов  
Центральный ботанический сад НАН Беларуси  
г. Минск, Беларусь

*Методом обращённо-фазовой ВЭЖХ проведен анализ компонентного состава этанольно-водных экстрактов мхов рода Sphagnum – S. angustifolium (C.E.O. Jensen ex Russow) C.E.O. Jensen и S. magellanicum Brid. Выявлено более пятидесяти субстанций, ~80% из которых идентифицировано и оценено на предмет их биоактивности. Сделан вывод о существенном фармакологическом потенциале сфагновых мхов и возможности использования их как продуцентов (в том числе в культурах биореакторов) натуральных веществ, востребованных в медицинской промышленности для разработки рецептур новых лекарственных препаратов.*

**Ключевые слова:** мхи *Sphagnum angustifolium* и *S. magellanicum*, ВЭЖХ, биологически активные вещества, фармакологический потенциал.

**Введение.** Род *Sphagnum* является своеобразным родом семейства Сфагновые (*Sphagnaceae* Dumort., 1829), в виду того, что ему «удалось освоить» все части света, однако наиболее широко он распространён в умеренной зоне Северного полушария и представлен, например в Беларуси, 34 видами. Подробное изучение компонентного биохимического состава стало возможным лишь сравнительно недавно с внедрением высокоточных методов тонкослойной, газовой и жидкостной хроматографии особенно с масс-спектроскопической регистрацией разделяемых веществ. Многие из этих биологически активных веществ (БАВ) весьма интересны с фармакологической и терапевтической точек зрения (см. далее). Следовательно, весьма актуально изучение местных для нашей республики видов сфагновых мхов на предмет их биохими-

ческого состава, что позволит провести оценку пригодности лекарственного растительного сырья (ЛРС) их аборигенных представителей для фармако-индустрии, чтоб в будущем избежать зависимости от импортирования производимых из *Sphagnum* препаратов. В этой связи нами была поставлена цель исследования – методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) провести качественный анализ состава этанольно-водных экстрактов из биомассы сфагновых мхов и кратко оценить (по имеющимся в литературе данным) их фармакологические активности. В качестве объектов исследования выбраны мхи *Sphagnum angustifolium* (C.E.O. Jensen ex Russow) C.E.O. Jensen и *S. Magellanicum* Brid., выросшие и собранные на территории Республики Беларусь в Березинском биосферном заповеднике.

### Материалы и методика исследований.

Приготовление проб для анализа осуществляли согласно общепринятому подходу [23] в нашей модификации: собранную в 2019 г. и высушенную биомассу мхов ( $n = 12$ ) взвешивали в трёх повторностях по 0,5 г, измельчали, перемалывали (6 мин при 25000 об/мин на лабораторной мельнице IKA Tube Mill [IKA Werke, ФРГ]), помещали в стеклянные пробирки со шлифом и в герметичных условиях при 18°C в течение 48 ч с периодическим встряхиванием подвергали экстракции 30 мл раствором 70%-ного этанола в воде. Далее образцы экстрактов центрифугировали (20000 g, 10 мин, 4°C) и пропускали через PTFE-фильтры (0,2 мкм), затем вносили в виалы, герметично закрывали крышками, помещали в штатив хроматографа, откуда отбор проб проводил автосэмплер. Одноименные экстракты объединяли и проводили их ВЭЖХ-анализ методом обращённо-фазовой ВЭЖХ в градиентном режиме по стандартной методике обращённо-фазовой хроматографии в оптимизации [4], кратко: инъекционный объем проб = 10 мкл, температура колонки 25°C, скорость 0,5 мл/мин, элюенты с муравьиной кислотой (5 мл/л) – вода: ацетонитрил от 90: 10 в начале цикла (0') → до 5: 95 к окончанию цикла (30') в системе «Аджилент-1260» (Agilent Technologies, Inc., Санта Клара, Калифорния, США), имеющий стандартные автосэмплер G1329B, четырёх-канальный насос G1311B, термостат G1316A, предколонку ZGC (4.6×12.5 мм, 5 мкм, 4/μk), колонку Zorbax Eclipse Plus C18 (4.6 мм×150 мм, 5 мкм), UV/Vis-детектор DAD G4212B, флуоресцентный детектор G1321C и рефрактометрический детектор G1362A. В качестве идентификационных маркеров использовали реактивы марки «ч.д.а.» (ООО «Кампилаб», Минск, Беларусь). Обработка данных проводилась с помощью программного обеспечения Agilent OpenLAB CDS ChemStation.

**Результаты и их обсуждение.** Методом обращённой ВЭЖХ в водно-этанольных экстрактах *S. angustifolium* и *S. magellanicum* выявляются более полусотни компаундов, из них идентифицировано 41, которые относятся к следующим группам веществ: *органические*

*кислоты* (в т. ч. фенольные [сфагновая, 4-гидро- и 2-гидрокси- бензойные, дегидроабиетовая, 3-метокси-4-гидроксибензойная, кумаровая, феруловая]); *лактоны*, в том числе кумарины (γ-гидроксибутенолид, эскулетин, умбеллиферон, 7,8-дигидрокси-5-метоксикумарин-7β-софорозид; *кетоны* (*p*-гидроксиацетофенон); *дитерпены* (дегидроабиетовая к-та, фитол [входящий в состав хлорофилла ациклический дитерпеновый спирт]); *тритерпены*, в т. ч. Фитостероиды (α-амирин, 2α-гидрокси-урсоловая к-та, кампестерин, β-ситостерин, сфагнорубин А, уваол, циклоартенол, эргостерин); *флавоноиды* (кверцетин, апигенин, 6-метилапигенин, 6-метилальпинон, нарингенин [у *S. magellanicum* идентифицирован впервые]), нефитадиен (ациклический непредельный углеводород) и сквален (каротиноподобный углеводород тритерпенового ряда).

Сравнительный анализ хроматограмм *S. angustifolium* и *S. magellanicum* показал их принципиальное сходство, однако концентрации некоторых компонентов отличались. Например, эскулетин, *p*-гидроксиацетофенон и γ-гидроксибутенолид в заметном количестве зафиксированы только у *S. magellanicum*, то время как нарингенин в большей концентрации наличествовал у *S. angustifolium*. Видовые различия обнаружились и по содержанию аминокислот, а также высших жирных кислот. В то же время общие количества компаундов в экстрактах обоих сфагнумов были примерно равны. Доли идентифицированных компонентов в экстрактах *S. angustifolium* составили ~76 %, а *S. magellanicum* ~70 %. Масс-спектрометрические работы [21; 22] выявили более широкую «палитру» компаундов, синтезируемых разными видами сфагновых мхов. В отношении циклических тритерпеноидов это: амирины (α, β); бетулин; бетулиновая, олеаноловая и урсоловые кислоты; сфагнорубины (А, В, С); диплоптен; кампе-, сито-, стигма-, эрго- стерины; уваол; циклоартенол. Из бензо-α-пиронов (кумаринов), кроме умбеллиферона и эскулетина сфагнумы продуцируют также герниарин, дикумарин, скополетин, и их производные [1]). Набор флавоноидов, синтезируемых сфагновыми мхами

можно дополнить такими как альпинон-3-ацетат, хризозериол, 6-метилтектохризин и др. [1; 10; 19]. Из фенольных кислот для сфагновых мхов, помимо упомянутых выше, в «гамме» характерны ванильная, изохлорогеновая, кофейная, сиреневая, пирокатехиновая, протокатеховая, *p*-метоксикоричная, хлорогеновая, а также такие как дегидроабиетовая, пимаровая и глюкуроновая кислота (её полимеры входят в состав оболочек клеточных стенок) и другие [1; 26; 21; 22]. Выход экстрактивных веществ из сфагнума (% от массы абсолютно сухого ЛРС)  $\sim 6,06 \pm 0,30$ ; при этом для флавоноидов  $\sim 0,04 \pm 0,01$ ; для кумаринов  $\sim 0,02 \pm 0,01$ ; для фенолкарбоновых к-т  $\sim 0,16 \pm 0,01$  [1].

Рассмотрим биологические активности продуктов сфагнумов, которые, с нашей точки зрения, имеют практическое значение для фармацевтики.

Бензойные фенольные к-ты – 4-гидро- и 2-оксибензойная (салициловая) – обладают антисептическими и противовоспалительными свойствами; ванильная (4-гидрокси-3-метоксибензойная) – проявляет антибактериальную, противогрибковую, противопаразитарную и противовоспалительную активность, а её производное (ванилин) может быть использован в лечении псориаза [12]. Дитерпеноиды [16]: абиетовая кислота и её производные (дегидро-абиетовая, пимаровая) – обладают антимикробным действием, селективно ингибируют пролиферацию раковых клеток. Кетоны [20]: *p*-гидрокси-ацетофенон – антиоксидант и антиконвульсант (пероральная для самцов мышей LD<sub>50</sub>  $\sim 1780$  мг/кг). Лактоны (в т. ч. кумарины) [34]:  $\gamma$ -гидрокси-бутенолид – антисептик; кумарины умбеллиферон и эскулетин (лактоны *cis*-*o*-кумаровой к-ты) оказывают эффекты – антигипергликемический, антикоагулянтный, противовоспалительный, противоопухолевый, фотосенсибилизирующий, спазмолитический и др.); метоксикумарин селективно ингибирует цитохром P450.

Пентациклические тритерпеноиды (в т. ч. фитостерины) [7; 13; 19; 29; 30; 33; 35]:  $\alpha$ -амирин – проявляет антиканцерогенную, антиаритмическую (кардиопротекторную), антидиабетическую, противовоспалительную активно-

сти; бетулин – обладает противовоспалительными, противовирусными и антибактериальными свойствами, способность снижать уровень холестерина; имеет потенциал в области косметики и для лечения кожных заболеваний; бетулиновая к-та – обладает противоопухолевой активностью, повышает (при  $50 \div 125$  мкМ) нефротоксическую устойчивость почек; 2 $\alpha$ -гидроксиурсоловая и урсоловая к-ты проявляют антимикробную кардиостимулирующую, антисклеротическую и др. активности; диплоптен проявляет антифунгальную (противогрибковую) активность; циклоартенол и ситостерин могут оказывать противовоспалительный, в т. ч. жаропонижающий, антимикробный и антипротозойный эффекты; стигмастерин может снижать в крови уровень трийодтиронина, тироксина и глюкозы, а также снижать активность глюкозо-6-фосфатазы в печени, при этом повышать концентрацию в крови инсулина; сфагнорубины являются пигментами из клеточных стенок, биологическое воздействие которых на животных не изучались; эргостерол, как известно, является провитамином вит. D<sub>2</sub>.

Сесквитерпеноиды (сесквитерпены) сфагнумов, в частности, неофитадиен проявляет следующие виды активностей – антиоксидантная, антимикробная, жаропонижающая, обезболивающая, противовоспалительная [33].

Сфагнол – напоминающая дёготь выделяемая из мха смесь полифенолов и их гликозидов с преобладанием сфагновой (*p*-гидрокси- $\beta$ -карбоксиметил-коричной) к-ты, а поскольку технологическая и фармакологическая стандартизация сфагнола отсутствует, то он в медицине обычно не используется [14].

Флавоноиды, такие как альпинон, апигенин, кверцетин, хризин, нарингенин, хризозериол и их производные, в т. ч. гликозиды – проявляют антиоксидантную, противовоспалительную, антиканцерогенную, противовирусную активности, оказывают позитивный иммуномодуляторный эффект [5; 31], они перспективны в разработке препаратов для профилактики развития ревматоидных заболеваний [4].

Циннамовые (коричные) фенольные кислоты [2; 6; 11; 15; 25; 27; 28]:

– изохлорогеновая и хлорогеновая – «мягко» снижают кровяное давление, оказывают гипогликемическое, гипохолестеринемическое, гепатопротекторное, противоопухолевое действия, улучшают перистальтику кишечника;

– кофейная (3,4-диоксикоричная) – как антиоксидант, способна защищать клетки от повреждения свободными радикалами и рассматривается как важный «антифактор» клеточного старения, нарушений метаболизма, сердечнососудистых и нейродегенеративных заболеваний, злокачественных опухолей;

– *trans-p*-кумаровая (4-гидроксикоричная) – применяется в препаратах, смягчающих проявления диабета, гипергликемии и подагры; является седативным жаропонижающим анальгетиком, препятствует образованию тромбов;

– *trans-p*-метоксикоричная – является антиоксидантом и противоопухолевым агентом, проявляет гепатопротекторную и антигипергликемическую активности.

– сфагновая (*p*-гидрокси- $\beta$ -карбоксиметилкоричная) – антисептик;

– *trans*-феруловая (гидроксикоричная) обладает спектром фармакологических свойств: антибактериальное, антиаллергическое, противовирусное, антитоксическое, гепато- и кардиопротекторное, противовоспалительное, противоопухолевое.

### Выводы

1. Мхи рода *Sphagnum* – *S. angustifolium* (С.Е.О. Jensen ex Russow) С.Е.О. Jensen и *S. magellanicum* Brid. обладают существенным фармакологическим потенциалом, т. к. синтезируют богатый набор веществ, оказывающих лекарственные эффекты.

2. Актуальна мобилизация ресурсов *S. angustifolium* и *S. magellanicum* в т. ч. с использованием их культур в биореакторах для производства медицинской промышленностью новых импортзамещающих лекарственных препаратов.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дмитрук В.Н. Сравнительное фармакогностическое исследование растений рода *Sphagnum* и перспективы их использования: автореферат дис. ... кандидата фармацевтических наук: 15.00.02. – Пермь, 2008. – 21 с.
2. Дьяков А.А. Противоаритмическое действие феруловой кислоты / А.А. Дьяков, В.Н. Перфилова, И.Н. Тюренков // Вестн. аритмол. – 2005. – Т. 27, № 39. – С. 49-52.
3. Подтероб А.П. История применения растений рода *Sphagnum* в медицине / А.П. Подтероб, Е.В. Зубец // Хим.-Фарм. Ж.-л. – 2002. – Т. 36, № 4. – С. 27-29.
4. Попов Е.Г. Фармакологический потенциал растения железница иссополистная (*Sideritis hysopifolia* L.) из коллекции Центрального ботанического сада НАН Беларуси / Е.Г. Попов [и др.] // Вестник ФФИ. – 2019. – № 4. – С. 76-81.
5. Тараховский Ю.С. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина / Ю.С. Тараховский [и др.]. – Пушкино: Synchrobook, 2013. – 310 с.
6. Adisakwattana S. Mechanisms of *p*-methoxycinnamic acid-induced increase in insulin secretion / S. Adisakwattana, W.H. Hsu, S. Yibchokanun // Horm. Metab. Res. – 2011. – Vol. 43, № 11. – P. 766-773.
7. Adnan M. Investigation of the biological activities and characterization of bioactive constituents of *Ophiorrhiza rugosa* var. *prostrata* leaves through *in vivo*, *in vitro*, and *in silico* approaches / M. Adnan [et al.] // Molecules. – 2019. – Vol. 24, № 7. – P. 1367-1394.
8. Beike A.K. Clonal *in vitro* propagation of peat mosses (*Sphagnum* L.) as novel green resources for basic and applied research / A.K. Beike [et al.] // Plant Cell Tissue Organ Cult. – 2015. – Vol. 120, № 3. – P. 1037-1349.
9. Bin Sayeed M.S. Critical analysis on characterization, systemic effect, and therapeutic potential of beta-sitosterol: a plant-derived orphan phytosterol / M.S. Bin Sayeed, [et al.] // Medicines (Basel). – 2016. – Vol. 3, № 4. – P. 29-53.

10. Bragina A. Similar diversity of *Alphaproteobacteria* and nitrogenase gene amplicons on two related *Sphagnum* mosses / A. Bragina [et al.] // Front. Microbiol. – 2012. – Vol. 2, № 1. – P. 275–284.
11. Clifford M.N. Chlorogenic acids and other cinnamates – nature, occurrence and dietary burden / M.N. Clifford // J. Sci. Food Agr. – 1999. – Vol. 79, № 3 – P. 362-372.
12. Cheng H.M. Oral administration of vanillin improves imiquimod-induced psoriatic skin inflammation in mice / H.M. Cheng [et al.] // J. Agr. Food Chem. – 2017. – Vol. 65, № 47. – P. 10233-10242.
13. Dehelean C.A. Study of the betulin enriched birch bark extracts effects on human carcinoma cells and ear inflammation / C.A. Dehelean [et al.] // Chem. Centr. J. – 2012. – Vol. 6, № 11 (137). – P. 1-9.
14. Drobnik J. Tangled history of the European uses of *Sphagnum* moss and sphagnol / J. Drobnik, A. Stebel // J. Ethnopharmacol. – 2017. – Vol. 209, № 9. – P. 41-49.
15. Hahlbrock K. Physiology and molecular biology of phenylpropanoid metabolism / K. Hahlbrock, D. Scheel // Plant Physiol. – 1989. – Vol. 40, № 1. – P. 347-369.
16. Helfenstein A. Antibacterial profiling of abietane-type diterpenoids / A. Helfenstein [et al.] // Bioorg. Med. Chem. – 2017. – Vol. 25, № 1. – P. 132–137.
17. Hwang K.H. Abietic acid has an anti-obesity effect in mice fed a high-fat diet / K.H. Hwang [et al.] // J. Med. Food. – 2011. – Vol. 14, № 9. – P. 1052-1056.
18. Islam M.T. Phytol: a review of biomedical activities / M.T. Islam [et al.] // Food Chem. Toxicol. – 2018. – Vol. 121, № 1. – P. 82-94.
19. Kang H.R. Identification and mechanism of action of renoprotective constituents from peat moss *Sphagnum palustre* in cisplatin-induced nephrotoxicity / H.R. Kang [et al.] // J. Funct. Foods. – 2016. – Vol. 20, № 1. – P. 358-368.
20. Keshari A.K. Novel Mannich-bases as potential anticonvulsants: syntheses, characterization and biological evaluation / A.K. Keshari [et al.] // Cent. Nerv. Syst. Agents. Med. Chem. – 2017. – Vol. 17, № 3. – P. 219-228.
21. Klavina L. Chemical composition analysis, antimicrobial activity and cytotoxicity screening of moss extracts (moss phytochemistry) / L. Klavina [et al.] // Molecules. – 2015. – Vol. 20, № 9. – P. 17221-17243.
22. Klavina L. Seasonal changes of chemical composition in boreonemoral moss species / L. Klavina [et al.] // Environ. Exp. Biol. – 2018. – № 16. – P. 9-19.
23. Matei A.O. Analysis of phenolic compounds in some medicinal herbs by LC-MS / A.O. Matei [et al.] // J. Chromatograph. Sci. – 2015. – Vol. 53, № 7. – P. 1147-1154.
24. Mazimba O. Umbelliferone: sources, chemistry and bioactivities review / O. Mazimba // Bull. Fac. Pharm. (Cairo Univ.) – 2017. – Vol. 55, № 2. – P. 223-232.
25. Mellegard H. Antibacterial activity of sphagnum acid and other phenolic compounds found in *Sphagnum papillosum* against food-borne bacteria / H. Mellegard [et al.] // Lett. Appl. Microbiol. – 2009. – Vol. 49, № 1. – P. 85-90.
26. Montenegro G. Biological properties of Chilean native moss *Sphagnum magellanicum* / G. Montenegro, M.C. Portaluppi, F.A. Salas, M.F. Diaz // Biol. Res. – 2009. – Vol. 42, № 2. – P. 233-237.
27. Pei K. *p*-Coumaric acid and its conjugates: dietary sources, pharmacokinetic properties and biological activities / K. Pei, J. Ou, J. Huang, S. Ou // J. Sci. Food Agric. – 2016. – Vol. 96, № 9. – P. 2952-2962.
28. Rajendra N. Inhibitory effect of caffeic acid on cancer cell proliferation by oxidative mechanism in human HT-1080 fibrosarcoma cell line / N. Rajendra [et al.] // Mol. Cell. Biochem. – 2011. – Vol. 349, № 1-2. – P. 11-19.
29. Ramos A.L. The importance of the bioactive compounds of *Persea americana* Mill on human health / A.L. Ramos [et al.] // Biotechnia. – 2019. – Vol. 21, № 3. – P. 154-162.
30. Saeidnia S. The story of beta-sitosterol: a review / S. Saeidnia, A. Manayi, A.R. Gohari, M. Abdollahi // Eur. J. Med. Plants. – 2014. – Vol. 4, № 5. – P. 590-609.

31. *Salimi A.* Role of natural compounds in prevention and treatment of chronic lymphocytic leukemia / A. Salimi, J. Pourahmad; In 'Polyphenols: prevention and treatment of human disease' (2nd Edition) / Editors: R. Watson, V. Preedy, Sh. Zibadi. – London: Academic Press, 2018. – 484 p. (P. 195-203).
32. *Subramaniam S.R.* Neuroprotective effects of umbelliferone and esculetin in a mouse model of Parkinson's disease / S.R. Subramaniam, E.M. Ellis // J. Neurosci. Res. – 2013. – Vol. 91, № 3. – P. 453-461.
33. *Venkata R.B.* Antibacterial, antioxidant activity and GC-MS analysis of *Eupatorium odoratum* / R.B. Venkata [et al.] // Asian J. Pharm. Clin. Res. – 2012. – Vol. 5, Suppl 2. – P. 99-106.
34. *Yamaguchi Y.* Synthetic models related to methoxalen and menthofuran-cytochrome P450 interactions: benzofuran and coumarin derivatives as potent and selective inhibitors of CYP2A6 / Y. Yamaguchi [et al.] // Chem. Pharm. Bull. (Tokyo). – 2013. – Vol. 61, № 10. – P. 997-1001.
35. *Zuco V.* Selective cytotoxicity of betulinic acid on tumor cell lines, but not on normal cells / V. Zuco [et al.] // Cancer Letters. – 2002. – Vol. 175, № 1. – P. 17-25.

## MHES OF THE SPHAGNUM GENUS (*S. ANGUSTIFOLIUM*, *S. MAGELLANICUM*): HPLC ANALYSIS AND PHARMACOLOGICAL ACTIVITY OF THEIR COMPONENTS

**ANDREYCHENKO Elizaveta Anatolevna**

Laboratory assistant of the first qualification category, Department of Biochemistry, Faculty of Biology;  
fourth-year student of the Department of Botany, Faculty of Biology

Belarusian State University

**POPOV Evgeny Germanovich**

candidate of biological sciences

Leading Researcher, Plant Biodiversity Laboratory

Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus

Minsk, Belarus

---

*The reverse-phase HPLC method was used to analyze the component composition of ethanol-water extracts of mosses of the genus Sphagnum - S. angustifolium (C.E.O. Jensen ex Russow) C.E.O. Jensen and S. magellanicum Brid. Over fifty substances have been identified, ~ 80% of which have been identified and evaluated for their bioactivity. The conclusion is made about the significant pharmacological potential of sphagnum mosses and the possibility of using them as producers (including in bioreactor cultures) of natural substances that are in demand in the medical industry for the development of new drug formulations.*

**Key words:** mosses *Sphagnum angustifolium* and *S. magellanicum*, HPLC, biologically active substances, pharmacological potential.

---