

УДК 582.29

DOI: 10.15350/2306-2827.2018.4.75

ЛИШАЙНИКИ С ВЫСОКОЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

А. И. Щербакова

Поволжский государственный технологический университет,
Российская Федерация, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 3
E-mail: ScherbakovaAI@volgatech.net

*Лишайники благодаря своей дуалистической природе (симбиозу образующих их микобионта и фикобионта) способны синтезировать уникальные вещества (вторичные метаболиты), обладающие широким спектром биологической активности. В работе представлены результаты исследования антиоксидантной активности лишайников *Cladonia arbuscula* (Waler), *Cladonia rangiferina* (L.), *Evernia prunastri* (L.) и *Usnea barbata* (L.), произрастающих на территории Республики Марий Эл, определено содержание некоторых макро- и микроэлементов в образцах *Cladonia arbuscula* различного географического происхождения.*

Ключевые слова: лишайники; биологически активные вещества; антиоксидантная активность; макро- и микроэлементы.

Введение. Лишайники (лихенезированные грибы) являются эволюционно сформированным симбиотическим организмом между микобионтом (гриб) и фотобионтом (водоросль и/или цианобактерия). Благодаря данному симбиозу лишайники обладают способностью расти в экстремальных условиях, таких как пустыни, арктические пустыни и др. [1] и могут быть обнаружены практически во всех экосистемах (на почве, коре деревьев, камнях, крышах и т. д.) [2]. В настоящее время известно примерно 25 000 видов лишайников [1] и примерно 100 из них найдены только на территории Российской Федерации [3].

Напочвенные лишайники, образуя густой покров, мешают прорастанию семян древесных растений [4, 5]. Кроме того, образуя вторичные метаболиты, они влияют на функции почвенных микроорганизмов [5]. Таким образом, удаление напочвенных лишайников позволяет усилить процесс естественного возобновления леса.

Эпифитные лишайники, в свою очередь, являются отходами вместе с порубочными остатками во время валки деревьев. Как эпифитные, так и напочвенные лишайники обладают широким спектром биологической активности, включая антиоксидантное [6–8], иммуномоделирующее [1, 7], солнцезащитное [8, 9], аллелопатическое [4, 6–8], инсектицидное [6], абиотическое [7–12] и др. Известно также, что лишайники обладают высокой сорбционной способностью и могут накапливать различные микро- и макроэлементы в большом количестве [9]. Таким образом, заготовка лишайников в качестве сырья для получения биологически активных веществ может рассматриваться как дополнительное недревесное использование лесных ресурсов.

Цель исследования – изучение антиоксидантной активности различных экстрактов из лишайников, произрастающих на территории Республики Марий Эл.

Для достижения цели были поставлены следующие **задачи**:

© Щербакова А. И., 2018.

Для цитирования: Щербакова А. И. Лишайники с высокой антиоксидантной активностью // Вестник Поволжского государственного технологического университета. Сер.: Лес. Экология. Природопользование. 2018. № 4 (40). С. 75–84. DOI: 10.15350/2306-2827.2018.4.75

1) определить содержание микро- и макроэлементов в лишайниках, произрастающих на территории Республики Марий Эл;

2) получить экстракты из лишайников методами экстракции в аппарате Сокслета и мацерации;

3) определить общую антиоксидантную активность экстрактов химическим методом;

4) определить общее содержание фенолов в экстрактах химическим методом;

5) определить способность экстрактов защищать клетки от вредного воздействия реактивных форм кислорода на биологической модели.

Объекты и методы. Объектом данного исследования были выбраны лишайники *Cladonia arbuscula*, *Cladonia rangiferina*, *Evernia prunastri* и *Usnea barbata*, произрастающие на территории Республики Марий Эл. Для оценки пригодности использования лишайников в качестве лекарственного сырья был проведён количественный анализ 12 металлов в образцах лишайников *Cladonia arbuscula*.

Материал для определения элементного состава был представлен образцами лишайников *C. arbuscula*, отобранных с четырёх различных участков: болото Илюшкино, гарь (ПП1); Песчаный карьер (ПП2), окрестности оз. Глухое (ПП3) и Старожильское лесничество, культуры (ПП4) (рис. 1).

Определение элементного состава. Образцы лишайников высушивали до абсолютно сухого состояния при температуре 110 °С, измельчали, взвешивали и сжигали в муфельной печи при температуре 450 °С. Содержание элементов в золе определяли на атомно-абсорбционном спектрометре AAnalyst 400 (PerkinElmer, США), а пробоподготовку образцов проводили по типовым методикам^{1,2}.

Содержание элемента в образце оценивали по формуле

$$C_{Э} = C_{р} \times V_{р} \times M_{з} / M_{н} \times M_{с}, \quad (1)$$

где $C_{Э}$ – содержание элемента в сухом образце, мг/кг; $C_{р}$ – концентрация элемента в растворе, мг/л; $V_{р}$ – объём раствора, в котором была растворена зола; $M_{з}$ – масса золы, г; $M_{н}$ – масса навески, г; $M_{с}$ – масса высушенного образца, г.

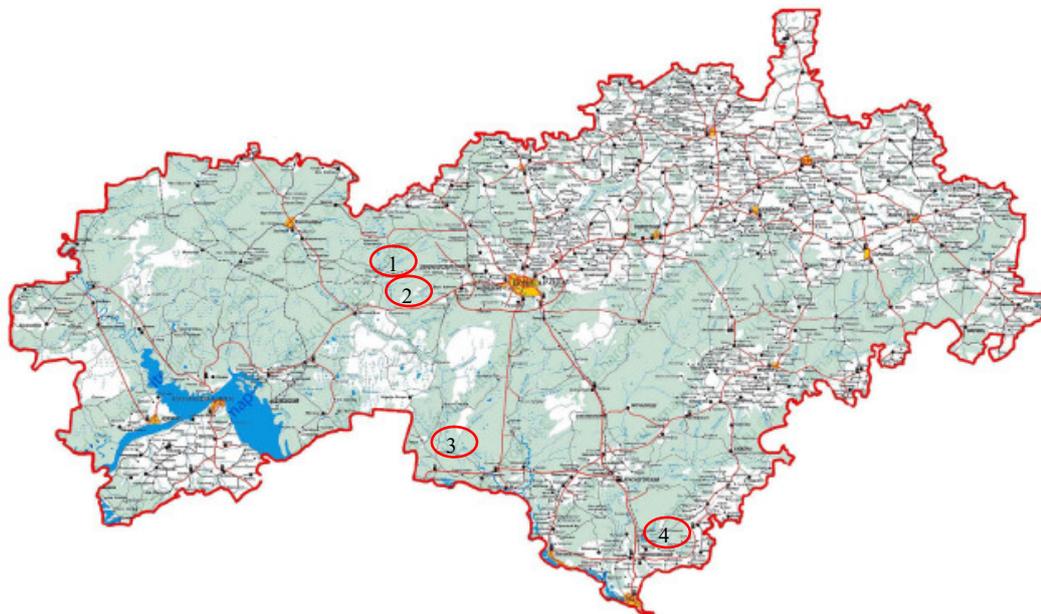


Рис. 1. Места отбора проб лишайника *C. arbuscula* на карте Республики Марий Эл для определения содержания металлов в них: 1 – болото Илюшкино, гарь; 2 – Песчаный карьер; 3 – окрестности оз. Глухое; 4 – Старожильское лесничество, культуры

¹ Методика выполнения измерений валового содержания меди, кадмия, цинка, свинца, никеля, марганца, кобальта, хрома методом атомно-абсорбционной спектроскопии. М.: ФГУ ФЦАО, 2007. 20 с.

² Методы биогеохимического исследования растений / Под ред. А. И. Ермакова. Л.: Агропромиздат, 1987. 450 с.

Экстракция БАВ. Экстракты лишайников были получены несколькими методами:

1) экстракция органическими растворителями в аппарате Сокслета³. В качестве растворителя использовали хлороформ в соотношении 20 мл растворителя на 1 г лишайников. При этом выход экстрактивных веществ (% от воздушно-сухой массы лишайников) из различных видов лишайников составил: *E.prunastri* – 7,13 %; *S.arbuscula* – 4,78 %; *S.rangiferina* – 4,41 %; *U.barbata* – 4,36 %;

2) мацерация⁴. Лишайники смешивали с растворителем (гексан, дихлорметан и 60 % ацетонитрил, последовательно) в соотношении 1:8 (г:мл) и выдерживали 24 ч. Через сутки смесь отфильтровывали через бумажный фильтр и выпаривали. Затем проводили повторную экстракцию. Методом мацерации были получены экстракты из лишайников *E.prunastri* и *S.arbuscula*, выход экстрактивных веществ составил: гексановый экстракт из *E.prunastri* (EprHex) – 2,73 %; дихлорметановый экстракт из *E.prunastri* (EprDCM) – 3,80 %; ацетонитрильный экстракт из *E.prunastri* (EprACN) – 6,22 %; гексановый экстракт из *S.arbuscula* (CarHex) – 1,17 %; дихлорметановый экстракт из *S.arbuscula* (CarDCM) – 2,03 %; ацетонитрильный экстракт из *S.arbuscula* (CarACN) – 2,51 %.

Определение антиоксидантной активности экстрактов. Общую антиоксидантную активность экстрактов определяли фосфомолибденовым способом [8]: 0,2 мг сухого экстракта растворяли в 1 мл раствора, добавляли 3 мл фосфомолибденового раствора и инкубировали при 95 °С в течение 90 мин. Оптическую

плотность измеряли на спектрофотометре при длине волны 695 нм. Антиоксидантную активность экстрактов рассчитывали по отношению к аскорбиновой кислоте (АК) (оптическая плотность 1 мг экстракта к 1 г АА (мг/г АА)).

Общее содержание фенольных соединений определяли с использованием метода Фолина и Чокальтеу (ФЧ) [8]. Экстракт был разбавлен до концентрации 1 мг/мл, аликвоты по 0,5 мл смешивались с 2,5 мл реагента ФЧ (который предварительно разводили в 10 раз дистиллированной водой) и 2 мл NaHCO₃ (7,5 %). После 15 мин инкубирования при температуре 45 °С измеряли оптическую плотность при 765 нм на спектрофотометре. Общее содержание фенолов было определено как эквивалент экстракта (мг) к галловой кислоте (ГК) (мг/г ГА).

Способность экстрактов защищать клетки от реактивных форм кислорода определяли с использованием клеточных культур кожи человека (HSKF). Для этого клетки стимулировали экстрактами (EprDCM, EprACN, CarHex и CarACN) в концентрации от 6,25 до 100 мкг/мл и воздействовали на них 3% раствором перекиси водорода (H₂O₂), в качестве реактивной формы кислорода. Выживаемость клеток была измерена с использованием резазурина через 24 ч. после стимуляции. Процент выживаемости клеток рассчитывают по следующей формуле:

$$\% \text{ выживания} = F_{\text{test}} \times 100 / F_{\text{control}}, \quad (2)$$

где F_{test} – интенсивность флуоресценции простимулированных клеток; F_{control} – интенсивность флуоресценции не простимулированных клеток (контроль).

Расчёт способности экстрактов защищать клетки от воздействия активных форм кислорода рассчитывался по формуле:

$$AO = (\% \text{H}_2\text{O}_2 + \text{экстр}) - (\% \text{H}_2\text{O}_2), \quad (3)$$

где $\% \text{H}_2\text{O}_2 + \text{экстр}$ – выживаемость клеток при их обработке перекисью водорода и экстрактами при различных концентрациях; $\% \text{H}_2\text{O}_2$ – выживаемость клеток при их обработке перекисью водорода.

³ Половинка М.П., Салахутдинов Н.Ф., Панченко М.Ю. Способ получения усниновой кислоты. Пат. РФ 2317076, 2008.

⁴ Лесиовская Е.Е., Саканян Е.И., Сафронова М.Ю., Виноградова Т.И., Витовская М.Л., Иванова Л.А. Препарат ислацет для профилактики и лечения туберкулеза и способ его получения. Пат. РФ 2203081, 203.

Экспериментальные материалы обрабатывались в пакете «Анализ данных», Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение

Микро- и макроэлементный состав лишайников. Лишайники известны своей способностью адсорбировать металлы, в том числе тяжёлые [12–14]. Таким образом, количественное определение содержания металлов (микро- и макроэлементов) в лишайниках, произрастающих на территории Республики Марий Эл, и их соответствие нормам ПДК (предел допустимых концентраций) являются очевидными.

Результаты измерения содержания некоторых тяжёлых металлов в лишайниках представлены на рис. 2 и 3. Содержание микро- и макроэлементов в лишайниках различно. Причём данные показатели динамичны не только в образцах, собранных с разных участков, но и внутри одного участка (см. табл.).

Анализ полученного материала показал, что из макроэлементов в лишайниках преобладает калий (2029,72 мг/кг). Также высоко содержание кальция (551,28 мг/кг),

чуть в меньших количествах содержится железа (250,44 мг/кг) и марганца (95,78 мг/кг).

Среди микроэлементов в наибольших количествах содержится цинк (16,08 мг/кг), также высоко содержание меди (1,55 мг/кг), хрома (0,64 мг/кг) и стронция (0,54 мг/кг).

Наблюдается незначительная вариативность содержания металлов как между образцами, собранными с разных мест, так и совокупности образцов с одного места произрастания. Для всех образцов были рассчитаны основные статистические показатели и коэффициент вариации (см. табл.).

В целом содержание металлов в лишайниках однородно ($V = 11,79 - 20,88 \%$), но имеются исключения, что можно наблюдать на содержании никеля ($V=80,45 \%$), хрома ($V=54,59 \%$), кальция ($V=43,77 \%$) и железа ($V=41,47 \%$) (см. табл.). Вариативность содержания никеля, хрома, кальция и железа в образцах (высокий коэффициент вариации) можно объяснить различными техногенными условиями.

Статистические параметры содержания микро- и макроэлементов в лишайнике *Cladonia arbuscula*

Элемент	X_{cp}	S^2	S	min	max	V, %
K	2029,72	114439,24	338,29	1684,80	2450,37	16,7
Ca	551,28	58223,10	241,29	203,03	759,27	43,8
Fe	250,44	10787,28	103,86	129,33	359,67	41,5
Mn	95,78	365,33	19,11	68,85	114,03	20,0
Pb	0,59	0,01	0,09	0,47	0,68	14,9
Cd	0,11	0,00	0,02	0,09	0,13	15,2
Sr	0,54	0,01	0,08	0,48	0,66	15,4
Co	0,14	0,00	0,03	0,11	0,17	18,6
Cr	0,64	0,12	0,35	0,32	1,10	54,6
Ni	0,16	0,02	0,13	0,04	0,33	80,4
Cu	1,55	0,10	0,32	1,31	2,02	20,9
Zn	16,08	3,59	1,90	13,58	18,10	11,8

Примечание: S^2 – дисперсия; S – среднеквадратичное отклонение; min – минимум; max – максимум; V, % – коэффициент вариации.

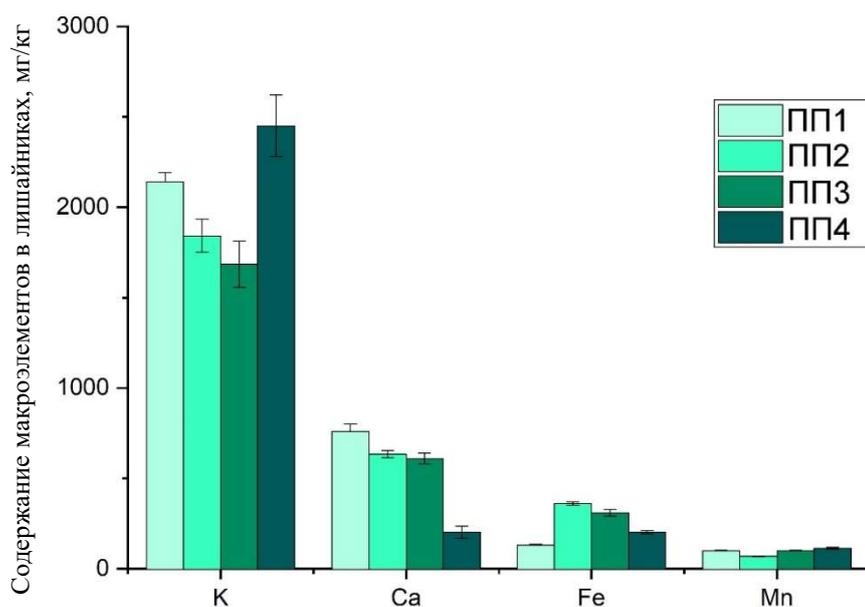


Рис. 2. Содержание макроэлементов в лишайнике *C. arbuscula*, в зависимости от местопроизрастания: ПП1 – болото Илюшкино, гарь; ПП2 – Песчаный карьер; ПП3 – окрестности оз. Глухое; ПП4 – Старожильское лесничество, культуры

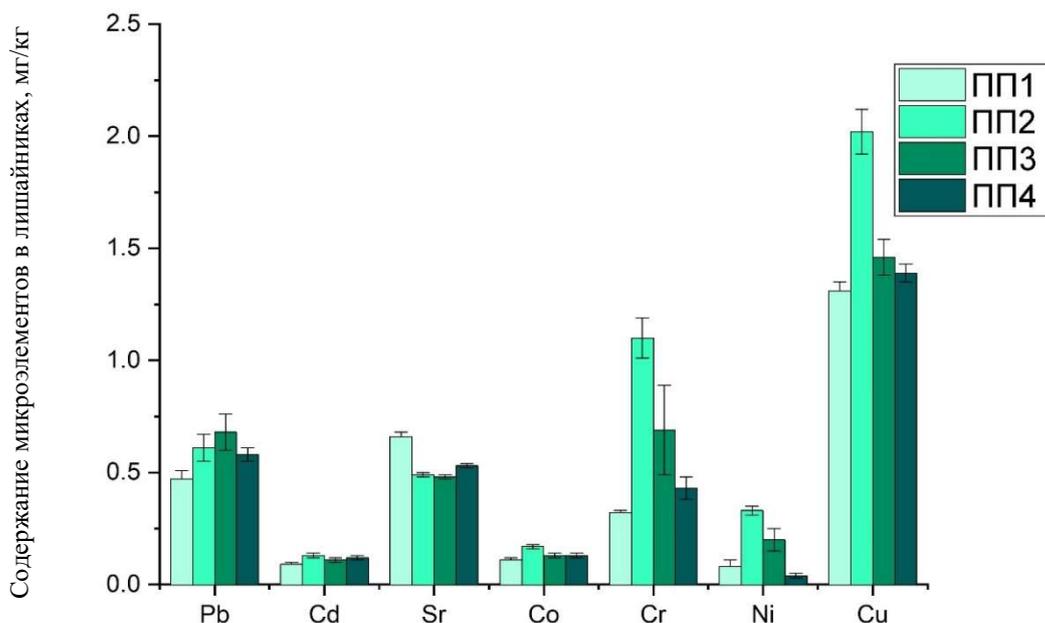


Рис. 3. Содержание микроэлементов в лишайнике *C. arbuscula*, в зависимости от местопроизрастания: ЛБИГ – болото Илюшкино, гарь; ЛП – Песчаный карьер; ЛГ – окрестности оз. Глухое; ЛСК – Старожильское лесничество, культуры

Антиоксидантная активность. Известно, что фенольные соединения обладают антиоксидантными свойствами, в основном за счёт их восстановительной способности, которая играет важную роль в поглощении и нейтрализации свободных радикалов и активного кислорода [15]. Антиоксидантная

активность лишайников была определена методом, основанным на восстановлении VI-валентного Мо до V-валентного в пересчёте на аскорбиновую кислоту (АА), общее содержание фенолов было определено в пересчёте на галловую кислоту (GA), результаты представлены на рис. 4.

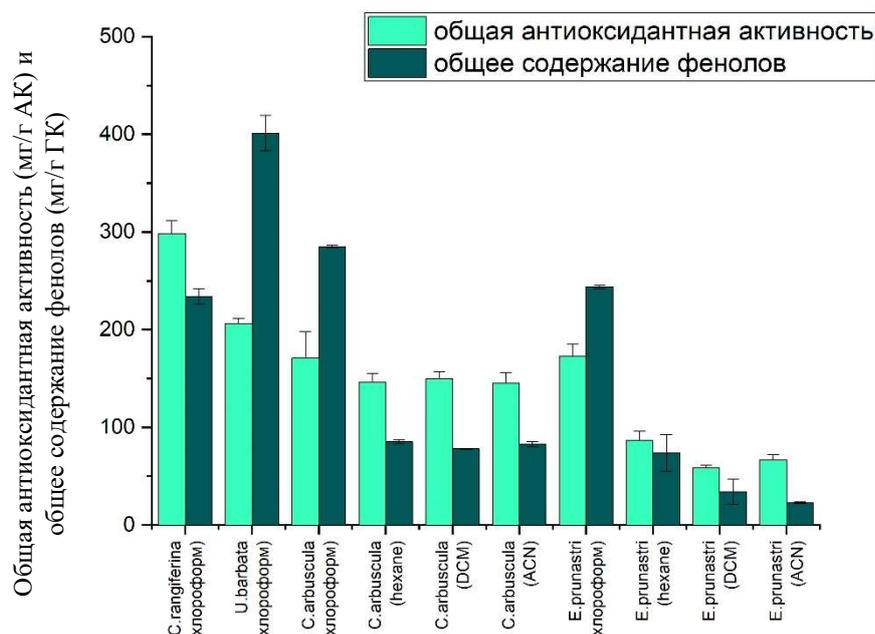


Рис. 4. Общая антиоксидантная активность и содержание фенолов экстрактов лишайников

Наибольшей антиоксидантной активностью обладают экстракты из лишайника *C.rangiferina* (298 мг/г АК) и *U.barbata* (206 мг/г АК). Значительная разница в содержании фенолов в экстрактах наблюдается в зависимости от используемого растворителя: так при экстрагировании хлороформом содержание фенолов в экстрактах из *U.barbata*, *C.arbuscula*, *E.prunastri* и *C.rangiferina* составило 401 мг/г ГК, 285; 244; и 234 мг/г ГК, соответственно. Тем не менее, высокое содержание фенолов в хлороформном экстракте из *C.arbuscula* показало сравнительно незначительную антиоксидантную активность (171 мг/г АК).

В целом показатели как антиоксидантной активности, так и содержания фенолов в хлороформных экстрактах значительно выше, чем показатели экстрактов, полученных мацерацией. Наиболее низкие показатели антиоксидантной активности и содержания фенолов были обнаружены для экстрактов из *E.prunastri*, полученных мацерацией.

Полученные результаты показывают прямую высокую корреляционную зависимость между фенольным содержанием

экстрактов и общими антиоксидантными свойствами ($R=0,71$).

Данные, полученные химическими методами, отображают свойства экстрактов с химической точки зрения, но не показывают их влияние на биологические системы и они не всегда точно могут отобразить поведение вещества в ней.

Несмотря на то, что живые системы способны защищать себя от вредного воздействия реактивных форм кислорода, переизбыток их в клетке/ткани может привести к серьёзным последствиям [16], в том числе к канцерогенезу [17]. Перекись водорода (H_2O_2) – основная реактивная форма кислорода, способная разрушать клетки и ткани [16].

С использованием какой-либо биологической модели (клетки/ткани) в условиях *in vitro* можно добиться более точных результатов. Таким образом, для данного исследования была предложена модель клеток кожи (фибробластов) с обработкой их перекисью водорода (как реактивной формы кислорода) и экстрактов из лишайников (как потенциальных антиоксидантов).

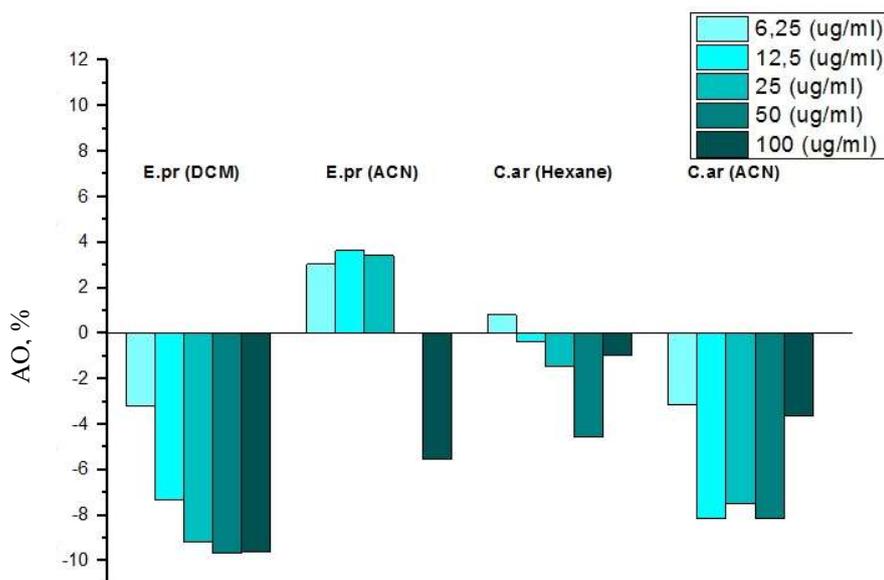


Рис. 5. Гистограмма способности экстрактов лишайников защищать клетки от воздействия активных форм кислорода

Для этого клетки фибробластов культивировались в микротитровальных планшетах с добавлением 3 % перекиси водорода в каждую ячейку. Клетки фибробластов стимулировали отдельно экстрактами, отдельно перекисью водорода и экстрактами в различных концентрациях, ранжированных от 6,25 до 100 µг/мл, с добавлением 3 % перекиси водорода. Положительная разница между выживаемостью при стимулировании клеток экстрактами с H₂O₂ и выживаемостью клеток при их стимулировании H₂O₂ говорит о протекционной активности экстракта к вредному воздействию перекиси водорода. На рис. 5 показаны результаты протекционной способности экстрактов.

Из гистограммы видно, что пролиферация клеток при их одновременной обработке H₂O₂ и EprACN в низких концентрациях выше в сравнении с пролиферацией клеток, подвергшихся только воздействию H₂O₂, т. е. данный экстракт защищает клетки от вредного воздействия перекиси водорода. Остальные экстракты, кроме гексанового экстракта из *C. arbuscula* при концентрации 6,25 µг/мл, не показали никакой протекционной активности.

Данные *in vitro* модели значительно отличаются от показателей антиоксидантной активности, полученных биохимическим путём. Это можно объяснить сложностью биологических систем. Воздействие в клетках происходит не напрямую, как при биохимическом анализе, а через различные пути взаимодействия. По-видимому, только ацетонитрильный экстракт из *E. prunastri* способен активировать сигнальные пути, вовлечённые в процесс клеточной защиты.

Выводы. Определено содержание макро- и микроэлементов в лишайнике *Cladonia arbuscula*. Из макроэлементов в значительном количестве обнаружены калий, кальций, железо и марганец. Концентрация как макро-, так и микроэлементов не превышает ПДК.

Наибольшую антиоксидантную активность среди исследуемых образцов показал хлороформный экстракт из *Cladonia rangiferina*. Также высокой антиоксидантной активностью обладают экстракты лишайников *Usnea barbata* и *Cladonia arbuscula*, полученные в аппарате Сокслета с использованием хлороформа в качестве растворителя. Об-

щее содержание фенольных соединений в экстрактах было установлено в пределах 230 – 400 мг-эквивалент галловой кислоты / г экстракта. При этом максимальное содержание фенолов было обнаружено в экстракте из *U. barbata*.

Несмотря на незначительные результаты антиоксидантной активности экстрактов из *E. prunastri* на биохимических моделях, ацетонитрильный экстракт показал протекционную активность от вредно-

го воздействия реактивных форм кислорода на биологической модели.

Лишайники, произрастающие на территории Республики Марий Эл, показывают высокую антиоксидантную активность, при этом содержание металлов в них не превышает норм ПДК. Таким образом, при дальнейших более детальных исследованиях они могут быть рассмотрены в качестве перспективного растительного объекта для фармацевтической промышленности.

Благодарности: Выражаю огромную благодарность канд. с.-х. наук Коптиной Анне Владимировне за руководство в проведении исследований и канд. с.-х. наук Швецову Сергею Михайловичу за помощь в проведении исследований по элементному составу лишайников.

Список литературы

1. Lichens as source of versatile bioactive compounds / T. Mitrović, S. Stamenković, V. Cvetković et al. // *Biologica Nyssana*. 2011. No 2 (1). Pp. 1-6
2. *Wirth V. and Anderegg D.* The Lichens: Baden-Württemberg. Stuttgart : E. Ulmer, 1995. 992 p.
3. *Урбанвичюс Г.П.* Особенности разнообразия лишенофлоры России // *Известия РАН. Серия географическая*. 2011. № 1. С. 66-78.
4. *Favero-Longo S.E. and Piervittori R.* Lichen-plant interactions // *Journal of Plant Interactions*. 2010. No 5 (3). Pp. 163-177.
5. *Kytöviita M.-M. and Stark S.* No allelopathic effect of the dominant forest-floor lichen *Cladonia stellaris* on pine seedlings // *Functional Ecology*. 2008. Vol. 23. P. 435-441.
6. *Molnar K., Farkas E.* Current Results on Biological Activities of Lichen Secondary Metabolites: a Review // *Z. Naturforsch.* 2010. No 3-4. P. 157-173
7. Antioxidant, antimicrobial and anti-proliferative activities of five lichen species / T. Mitrovic et al. // *International Journal of Molecular Sciences*. 2011. No 12(8). Pp. 5428-5448.
8. Chemical composition of three *Parmelia* lichens and antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of some their major metabolites / N. Manojlovic et al. // *Phytomedicine, international journal of phytotherapy and phytopharmacology*. 2012. No 19 (13). Pp. 1166-1172.
9. Chemical Composition, Antioxidant, and Antimicrobial Activities of Lichen *Umbilicaria cylindrica* (L.) Delise (Umbilicariaceae) / N. T. Manojlovic, P.J. Vasiljevic, P.Z. Maskovic et al // *Evid Based Complement Alternat Med*. 2012. No 10. Pp. 1-8.
10. The isolation, analytical characterization by HPLC-UV and NMR spectroscopy, cytotoxic and antioxidant activities of baecomycesic acid from *Thamnolia vermicularis* var. *subuliformis* / N.T. Manojlović, et al. // *Hemijaska Industrija*. 2011. No 65(5). Pp. 591-598.
11. *Ranković B. and Kosanić M.* Lichens as a Potential Source of Bioactive Secondary Metabolites, in *Lichen Secondary Metabolites: Bioactive Properties and Pharmaceutical Potential*, 2015, Springer International Publishing. Cham. Pp. 1-26.
12. *Вершинина С.Э., Вершинин К.Е., Кравченко О.Ю.* Элементный состав лишайников р. *Cetraria* Ach. Из различных регионов России // *Химия растительного сырья*. 2009. № 1. С. 141-146.
13. *Соловьев М.И., Кудинова З.А., Кузьмина С.С.* Содержание микроэлементов в слоевищах лишайников родов *Cladonia* и *Cetraria* в зависимости от места произрастания // *Наука и образование*. 2007. No 1. С. 118-122.
14. *Вершинина С.Э., Вершинин К.Е., Кравченко О.Ю.* Анализ состава растительного сырья *Cetraria laevigata* Rassad. 1945 и *C. islandica* (L.) Ach/1803 (Parmeliaceae, lichens) // *Вестник Иркутской государственной сельскохозяйственной академии*. 2010. No 41. С. 13-21.
15. Characterisation of phenols and antioxidant and hypolipidaemic activities of *Lethariella cladonioides* / Wei A.H. et al. // *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2012. No 92 (2). Pp. 373-379.
16. *Winterbourn C.C.* Chapter One – The Biological Chemistry of Hydrogen Peroxide, in *Methods in Enzymology*, C. 2013, Academic Press. Pp. 3-25.
17. *Bauer G.* Targeting extracellular ROS signaling of tumor cells // *Anticancer Res*. 2014. No 34 (4). Pp. 1467-1482.

Статья поступила в редакцию 23.10.18.

Принята к публикации 21.11.18.

Информация об авторе

ЩЕРБАКОВА Анастасия Игоревна – старший преподаватель кафедры лесных культур, селекции и биотехнологии, Поволжский государственный технологический университет. Область научных интересов – вторичный метаболизм растений, натуральные лекарственные вещества и их активность. Автор 20 публикаций.

UDC 582.29

DOI: 10.15350/2306-2827.2018.4.75

LICHENS WITH HIGH ANTIOXIDATIVE ACTIVITY

A. I. Shcherbakova

Volga State University of Technology,
3, Lenin Sq., Yoshkar-Ola, 424000, Russian Federation
E-mail: ScherbakovaAI@volgatech.net

Keywords: Lichens; biologically active substances; antioxidant activity; macro- and micro-elements.

ABSTRACT

Introduction. Lichens are an evolutionary formed symbiotic organism between a mycobiont and a photobiont. About 600 unique lichen ingredients have been identified so far. Some of lichen ingredients are reported to possess a broad spectrum of pharmacological activities, related to its antioxidant properties. In the Russian Federation, the lichens possess a high biological activity, but they are the waste while in forestry, unfortunately. So, the **aim** of the study is a screening of different lichens for their ability to absorb metals and lichen extracts for the antioxidant activity. To achieve the purpose, the following **methods** were used. The content of micro- and macro elements was measured by an atomic absorption spectroscopy. For the extraction, two methods were used: extraction by Soxhlet apparatus for 4 hours with chloroform as a solvent and maceration for 24 hours with hexane, dichloromethane and acetonitrile (consequently) as solvents. The antioxidant activity was distinguished with the measuring of the phospho-molybdenum solution color change. Data was expressed as milligrams extract equivalent to grams of gallic acid (mg/g GA) averaged from 3 or more. The total phenols content of the extracts was evaluated by Folin-Ciocalteu method. Data was calculated as milligrams of extract equivalent to grams of ascorbic acid (mg/g AA) averaged from 3 or more. The ability of extracts to protect cells from reactive forms of oxygen was tested using cell line (human skin fibroblasts) stimulated with extracts and H₂O₂. The protection ability was calculated like difference between viability of the cells treated with extract and H₂O₂ and viability of the cells treated with H₂O₂. **Results.** Among macroelements, potassium, calcium and iron are found in significant quantity. Manganese does not exceed the maximum concentration limit (MCL). The content of microelements is insignificant and does not exceed the MCL. All of fractions from *Cladonia arbuscula* showed significantly high antioxidant activity. Antioxidant activity of *E. prunasrti* is quite less. But the acetonitrile extract from *E. prunasrti* comparing to other tested extracts shows ability to protect cells from reactive forms of oxygen (H₂O₂). **Conclusion.** Extracts from lichens of Mari El region show antioxidant activity in vitro. Moreover, micro- and macroelements content of lichens does not exceed the MCL. So, screening of broad biological activity with depth investigations of the different modes of action is required for drug development.

Acknowledgment: I would like to thank PhD Anna Koptina for the supervising of my work and PhD Sergey Shvetsov for his help with the investigation of elements' content in lichens.

REFERENCES

- Mitrović T., Stamenković S., Cvetković V. et al. Lichens as source of versatile bioactive compounds. *Biologica Nyssana*. 2011. No 2 (1). Pp. 1-6.
- Wirth V. and Anderegg D. The Lichens: Baden-Württemberg. Stuttgart: E. Ulmer 1995. 992 p.
- Urbanvichus G.P. Osobennosti raznoobraziya likhenoflory Rossii [Diversity Peculiarities for Russian Lichenoflora]. *Izvestiya RAN. Seriya geograficheskaya* [News of Russian Academy of Sciences. Geography]. 2011. No 1. P. 66-78 (In Russ.).
- Favero-Longo S.E. and Piervittori R. Lichen-plant interactions. *Journal of Plant Interactions*. 2010. No 5 (3). Pp. 163-177.
- Kytöviita M.-M. and Stark S. No allelopathic effect of the dominant forest-floor lichen *Cladonia*

stellaris on pine seedlings. *Functional Ecology*. 2008. Vol. 23. P. 435-441.

6. Molnar K., Farkas E. Current Results on Biological Activities of Lichen Secondary Metabolites: a Review. *Z. Naturforsch.* 2010. No 3-4. Pp. 157-173

7. Mitrovic et al. Antioxidant, antimicrobial and anti-proliferative activities of five lichen species. *International Journal of Molecular Sciences*. 2011. No 12 (8). Pp. 5428-5448.

8. Manojlovic N. et al. Chemical composition of three Parmelia lichens and antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of some their major metabolites. *Phytomedicine, international journal of phytotherapy and phytopharmacology*. 2012. No 19 (13). Pp. 1166-1172.

9. Manojlovic N. T., Vasiljevic P.J., Mas-kovic P.Z. et al. Chemical Composition, Antioxidant, and Antimicrobial Activities of Lichen Umbilicaria cylindrica (L.) Delise (Umbilicariaceae). *Evid Based Complement Alternat Med*. 2012. No 10. Pp. 1-8.

10. Manojlović N.T. et al. The isolation, analytical characterization by HPLC-UV and NMR spectroscopy, cytotoxic and antioxidant activities of baecomycesic acid from *Thamnomia vermicularis* var. *subuliformis*. *Hem-ijska Industrija*. 2011. No 65(5). Pp. 591-598.

11. Ranković B. and Kosanić M. Lichens as a Potential Source of Bioactive Secondary Metabolites, in *Lichen Secondary Metabolites: Bioactive Properties and Pharmaceutical Potential*, 2015, Springer International Publishing, Cham. Pp. 1-26.

12. Vershinina S.E., Vershinin K.E., Kravchenko O.Yu. Elementnyy sostav lishaynikov r. Cetrari-

aAch. Iz razlichnykh regionov Rossii [Elemental Composition of Lichens p. CetrariaAch. (in different regions of Russia)]. *Khimiya rastitelnogo syrya* [Chemistry of Herbal Raw Material]. 2009. No 1. Pp. 141-146. (In Russ.).

13. Solovyev M.I., Kudinova Z.A., Kuzmina S.S. Soderzhanie mikroelementov v sloevishchakh lishaynikov rodov Cladonia i Cetraria v zavisimosti ot mesta proizrastaniya [The Content of Microelements in the Blastema of Cladonia and Cetraria Family Depending on the Habitat]. *Nauka i obrazovanie* [Science and Education]. 2007. No 1. Pp. 118-122. (In Russ.).

14. Vershinina S.E., Vershinin K.E., Kravchenko O.Yu. Analiz sostava rastitelnogo syrya Cetraria laevigata Rassad. 1945 i C. islandica (L.) Ach/1803 (Parmeliaceae, lichens) [The Analysis of Herbal Raw Material Composition of Cetraria laevigata Rassad. 1945 and C. islandica (L.) Ach/1803 (Parmeliaceae, lichens)]. *Vestnik Irkutskoy gosudarstvennoy selskokhozyaystvennoy akademii* [Herald of Irkutsk State Agricultural Academy]. 2010. No 41. Pp. 13-21. (In Russ.).

15. Wei A.H. et al. Characterisation of phenols and antioxidant and hypolipidaemic activities of *Lethariella cladonioides*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2012. No 92 (2). Pp. 373-379.

16. Winterbourn C.C. Chapter One - The Biological Chemistry of Hydrogen Peroxide, in *Methods in Enzymology*, C. 2013, Academic Press. Pp. 3-25.

17. Bauer G. Targeting extracellular ROS signaling of tumor cells. *Anticancer Res*. 2014. No 34 (4). Pp. 1467-1482.

The article was received 23.10.18.

Accepted for publication 21.11.18.

For citation: Shcherbakova A. I. Lichens with High Antioxidative Activity. *Vestnik of Volga State University of Technology. Ser.: Forest. Ecology. Nature Management*. 2018. No 4 (40). Pp. 75–84. DOI: 10.15350/2306-2827.2018.4.75

Information about the author

Anastasia I. Shcherbakova – Senior lecturer at the Chair of Forest Plantations, Selection and Biotechnology, Volga State University of Technology. Research interests – secondary metabolism of lichens, natural medicinal substances and their activity. The author of 20 publications.