

# ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ РАСТВОРИМОГО БЕЛКА И СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ В ДВУХ ВИДАХ СФАГНОВЫХ МХОВ

Л.Г. Бабешина,<sup>\*1</sup> доктор биологических наук,  
А.А. Ермошин<sup>2</sup>, кандидат биологических наук,  
Н.В. Дремина<sup>2</sup>, Д.Н. Авдеев<sup>1</sup>, кандидат химических наук

<sup>1</sup>Государственный гуманитарно-технологический университет;  
Российская Федерация, Московская область, 142611, Орехово-Зуево, ул. Зеленая, д. 22

<sup>2</sup>Уральский федеральный университет им. Первого Президента России Б.Н. Ельцина;  
Российская Федерация, 620002, Екатеринбург, ул. Мира, д. 19

**Введение.** Представители бриофлоры до сих пор биохимически изучены недостаточно. В современной медицине сфагновые мхи применяются ограничено – в качестве перевязочного и антисептического материала, хотя есть данные, что спектр их применения может быть расширен.

**Цель работы** – определить содержание растворимого белка, изучить качественный и количественный состав свободных аминокислот в двух видах сфагновых мхов, собранных в разные периоды вегетации.

**Материал и методы.** Растительный материал (сфагнум бурый и сфагнум балтийский) собирался с мая по октябрь 2010 г. на Чагинском болоте Томской области. Растворимый белок определяли спектрофотометрически по методу Бредфорда; количественное содержание свободных аминокислот – по реакции с нингидриновым реактивом после экстракции этиловым спиртом; качественный состав – с помощью хроматографии на бумаге.

**Результаты.** Изучено содержание растворимого белка, качественный и количественный состав свободных аминокислот изучаемых видов сфагнума, собранных в разные месяцы вегетационного сезона. Как оказалось, наибольшее содержание свободных аминокислот и их разнообразие у обоих видов мхов наблюдается в мае, но в течение вегетационного периода оно падает, в то время как содержание растворимого белка флуктуирует вокруг среднего значения, однако максимум отмечается в июле и октябре, а минимум – в сентябре. Определен качественный состав аминокислот в разные месяцы сбора образцов мха. На хроматограммах выявлено от 3 до 10 отдельных пятен аминокислот, в зависимости от месяца сбора материала.

**Заключение.** Определен качественный и количественный состав свободных аминокислот и белка в 2 видах сфагновых мхов – сфагнума бурого и сфагнума балтийского. Обнаружены незаменимые аминокислоты. Полученные результаты могут быть полезны для разработки новых препаратов на основе дерновины сфагнового мха.

**Ключевые слова:** сфагновые мхи, сфагнум бурый, *Sphagnum fuscum* (Schimp.) Klinggr., сфагнум балтийский, *Sphagnum balticum* (Russ.) Russ. ex C.Jens., растворимый белок, аминокислоты, хроматография.

\*E-mail: lbabeshina@yandex.ru

## ВВЕДЕНИЕ

Сфагновые мхи веками применялись в качестве перевязочного и кровоостанавливающего материала, из них также изготавливали противовоспалительные и ранозаживляющие средства. Известно, что экстракты сфагновых мхов оказывают анальгезирующее, фунгицидное и бактерицидное действие, а их дерновина обладает сорбционными свойствами, сопоставимыми с активированным углем [1–5]. Однако информации о химическом составе мхов явно недостаточно; особенно мало ее о первичных метаболитах сфагновых мхов, которые могут усиливать действие основных компонентов. К ним, например, относятся аминокислоты, часть из которых является незаменимыми и поэтому может быть вовлечена в формирование ранозаживляющих свойств экстрактов мха. Белки часто относят к

балластным веществам. Однако, являясь амфолитами и неся множество функциональных групп, белки способны связывать токсичные вещества и ионы металлов, усиливая сорбционные свойства дерновины мха. Кроме того, они могут быть источником незаменимых аминокислот.

Цель работы – определить содержание растворимого белка, изучить качественный и количественный состав свободных аминокислот в 2 видах сфагновых мхов, собранных в разные периоды вегетации.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объект исследования – 2 вида сфагновых мхов: сфагнум бурый – *Sphagnum fuscum* (Schimp.) Klinggr. и сфагнум балтийский – *Sphagnum balticum* (Russ.) Russ.ex C.Jens. Образцы мхов были собраны с мая по октябрь 2010 г. ручным способом на Чагинском болоте Томской области. Данные виды были выбра-

ны потому, что имеют большой эксплуатационный и биологический запас и широко распространены на болотах нашей страны [4, 6]. Однако эти виды отличаются своей экологией – 1-й относится к топяным мхам, а 2-й – к рябовым. По нашему мнению, представители разных экологических групп должны различаться химическим составом.

Количество белка определяли спектрофотометрически по методу Бредфорда, после экстракции суммы белков в боратный буфер по стандартной

методике, адаптированной нами для сфагновых мхов [7, 8]. Количество свободных аминокислот рассчитывали спектрофотометрически с раствором нингидрина, после экстракции спиртом этиловым 70%, а качественный состав – после хроматографии на бумаге. С небольшими изменениями при построении калибровочной кривой применяли апробированную ранее методику [9,10]. Для её построения использовался раствор аланина, так как данная аминокислота была широко представле-

на в исследуемых образцах. Все определения проводились в 3 биологических повторностях, в каждой биологической повторности проведено 2–3 аналитических повторности. На рис. 1 и 2 представлены средние значения и их ошибки.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно результатам проведенных исследований (см. рис.1), содержание растворимого белка достоверно не меняется в течение сезона в образцах обоих исследованных видов сфагновых мхов. Однако количество белка в сфагнуме буром достоверно больше, чем в сфагнуме балтийском за исключением августа, где оно достоверно не отличается, но имеет тенденцию к увеличению, и сентября, когда не было образца сфагнума бурого. Количество растворимого белка колеблется для сфагнума балтийского от  $2,22 \pm 0,37$  (в сентябре) до  $3,85 \pm 0,24$  мг/г сухого веса (в июле) и для сфагнума бурого – от  $3,81 \pm 0,13$  (в августе) до  $4,87 \pm 0,36$  мг/г сухого веса (в июле).

Количество аминокислот имеет обратную зависимость – у вида, в котором больше белка (сфагнум бурый), содержание свободных аминокислот достоверно меньше, чем у вида сравнения. Это может быть объяснено тем, что аминокислоты расходуются на синтез белков. Количество аминокислот во всех образцах сфагнума бурого было достоверно меньше их количества в сфагнуме балтийском и со-

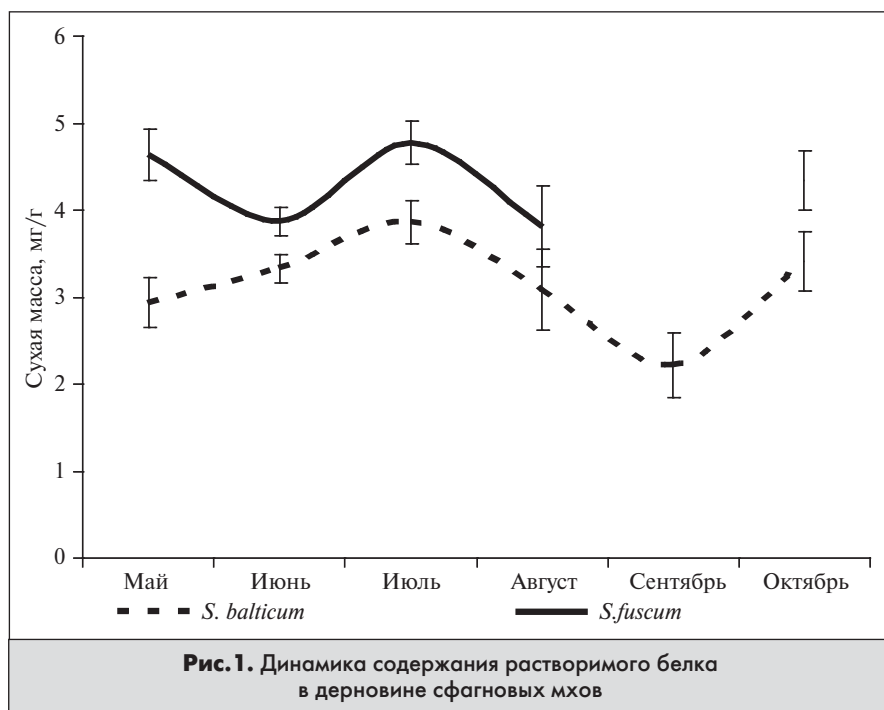


Рис.1. Динамика содержания растворимого белка в дернине сфагновых мхов

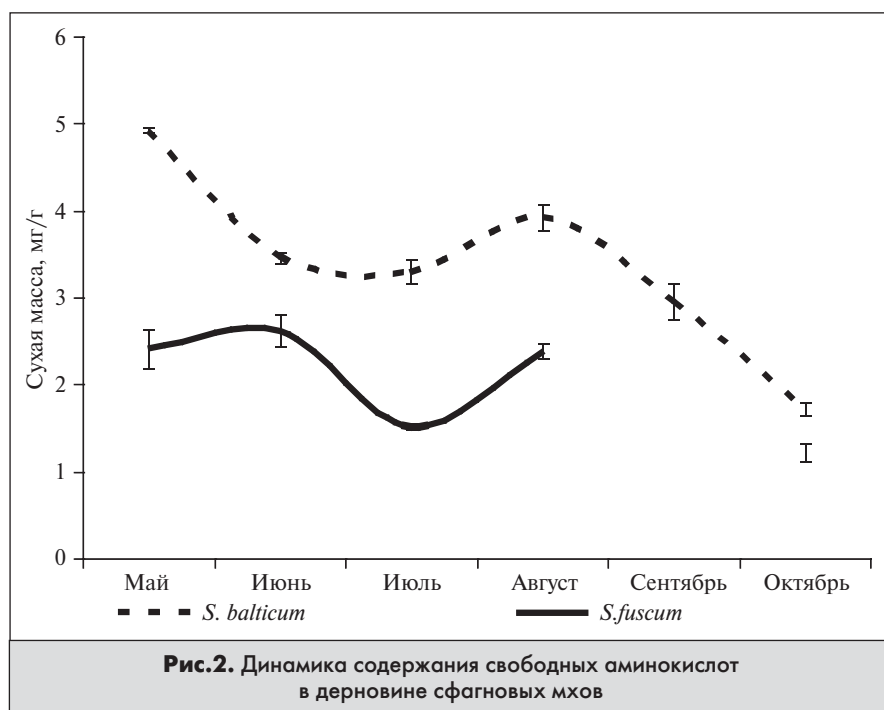


Рис.2. Динамика содержания свободных аминокислот в дернине сфагновых мхов

**КАЧЕСТВЕННЫЙ СОСТАВ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ СФАГНОВЫХ МХОВ**

Вид	Месяц	Число аминокислот	Лейцин	Метионин	Триптофан	Аланин	Глицин	Глутаминовая кислота
Сфагнум балтийский	V	5–10	+	+	±	+	+	+
	VI	4–6	+	+	+	±	+	–
	VII	4–6	+	+	+	+	–	–
	VIII	4–6	+	+	+	±	–	–
	IX	5	+	+	+	+	–	+
	X	2–3	±	–	±	–	–	–
Сфагнум бурый	V	5–8	±	+	+	+	+	±
	VI	4–6	+	+	+	+	–	±
	VII	4–5	±	–	+	+	+	±
	VIII	5	±	–	+	+	–	+
	X	3–4	±	–	–	–	+	+

**Примечание.** (+) – вещество обнаружено во всех независимых повторностях, (–) – аминокислота отсутствует на всех хроматограммах, (±) – пятно встречается только на части хроматограмм.

ставило от  $1,22 \pm 0,10$  до  $2,62 \pm 0,18$  мг/г и от  $1,72 \pm 0,07$  до  $4,92 \pm 0,03$  мг/г сухого веса соответственно. При этом для обоих видов отмечена тенденция к уменьшению содержания аминокислот в течение сезона, причем более слабая в летние месяцы и более заметная к осени (см. рис. 2).

Был изучен качественный состав свободных аминокислот. Всего на хроматограммах обнаружено от 3 до 10 пятен свободных аминокислот. Идентифицировать по свидетелям удалось только 6 аминокислот. Как видно из полученных данных (см. таблицу), в течение вегетационного периода не только падает количество свободных аминокислот, но и происходит обеднение их качественного состава – если в мае в растениях было обнаружено 5–8 (10) аминокислот, то к октябрю – только 2–4 индивидуальные аминокислоты.

Согласно ранее опубликованным данным [9], в сфагнуме буром, собранном на территории Томской области, содержится не менее 10 свободных аминокислот, в том числе 6 идентифицированных, из которых 4 (гистидин, триптофан, аргинин и лизин) являются незаменимыми. Эти данные частично совпадают с полученными в ходе исследования: на хроматограммах обнаружены 10 пятен, идентифицированы аланин, триптофан, глутаминовая кислота и др. Обнаруженный лизин встречается в единичных повторностях и в единичных образцах: например – в сфагнуме балтийском в образцах, собранных в мае, и в сфагнуме буром – в образцах, собранных в мае и июле. Глутаминовая кислота чаще встречается в сфагнуме буром в конце вегетационного сезона, тогда как в сфагнуме балтийском она выявлена лишь в образцах, собранных в мае и сентябре. В дерновине сфагнума бурого была обнаружена еще 1 незаменимая аминокислота –

лейцин, ранее ее присутствие не отмечалось. При этом в сфагнуме балтийском она встречается чаще, чем у вида сравнения. В сфагнуме буром ее присутствие достоверно только в образцах, собранных в июне. Наличие глицина также ранее обнаружено не было.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

В ходе проведенных исследований установлено, что содержание растворимого белка в образцах сфагнума бурого и сфагнума балтийского флуктуирует вокруг среднего значения ( $4,29$  и  $3,14$  мг/г сухой массы соответственно), с тенденцией к максимуму в июле и октябре и к минимуму в сентябре. Наибольшее содержание свободных аминокислот у обоих видов мхов наблюдается в мае, но в течение вегетационного сезона оно падает (до  $1,72$  и  $1,22$  мг/г). В образцах мхов, собранных с мая по октябрь, содержится не менее 10 свободных аминокислот, среди которых идентифицированы аланин, глицин, глутаминовая кислота, лейцин, метионин и триптофан. Разнообразие качественного состава свободных аминокислот максимально в мае и к осени доходит до минимума. В сфагнуме буром больше белка и меньше аминокислот, чем в сфагнуме балтийском.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Савич-Любичская Л. И. Применение сфагнового (торфяного) мха в медицине. Природа, 1943; 4: 41–50.
2. Подтероб А.П., Зубец Е.В. История применения растений рода *Sphagnum* в медицине. Хим.-фарм. журнал, 2002; 36 (4): 27–9.
3. Белоусов М.В., Ахмеджанов Р.Р., Дмитрук В.Н. и др. Фармакологическая активность этанольного экстракта из сфагнума бурого. Химия растительного сырья, 2008; 3: 129–34.
4. Бабешина Л.Г. Сфагновые мхи Западно-Сибирской равнины: морфология, анатомия, экология и применение в медицине. Дис. ... докт. биол. наук. Томск, 2011; 420.

5. Бабешина Л.Г., Киселева В.А., Колоколова А.П., Осичкина С.Н. Перспективы применения сфагновых мхов России в медицине. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии, 2014; 10: 61–2.
6. Бабешина Л.Г., Дмитрук В.Н. Оценка запасов сфагновых мхов Томской области. Вестник Томского государственного университета, 2009; 238: 183–7.
7. Bradford M.M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. Anal. Biochem., 1976; 72: 248–54.
8. Ермошин А.А., Бабешина Л.Г., Колоколова А.П. Содержание

белка в сфагновых мхах. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии, 2015; 4: 50–1.

9. Буркина Н.А., Калинин Г.И., Фоминых Л.В., Курдюкова Л.В. Исследование аминокислотного состава сфагнума бурого. Химия растительного сырья, 2000; 1: 81–3.

10. Губин К.В., Ханина М.А. Анализ аминокислотного и элементного состава надземной части и сухого экстракта *Urtica cannabina* L. Медицина и образование в Сибири, 2011; 5.

Поступила 24 мая 2016 г.

## CHANGES IN THE LEVELS OF SOLUBLE PROTEIN AND FREE AMINO ACIDS IN TWO SPHAGNUM MOSS SPECIES

L.G. Babeshina<sup>1</sup>, PhD; A.A. Ermoshin<sup>2</sup>, PhD; N.V. Dremina<sup>2</sup>; D.N. Avdeev<sup>1</sup>, PhD

<sup>1</sup>State Humanitarian University of Technology; 22, Zelenaya St., Orekhovo-Zuevo, Moscow Region 142611, Russian Federation

<sup>2</sup>Ural Federal University named after the First President of Russia B.N. Yeltsin; 19, Mir St., Yekaterinburg 620002, Russian Federation

### SUMMARY

**Introduction.** The representatives of the bryoflora have been biochemically unstudied so far. In modern medicine, sphagnum mosses are limited in their use as wound dressing and antiseptic materials although there is evidence that the range of their application can be extended.

**Objective:** to determine the content of soluble protein and to study the qualitative and quantitative composition of free amino acids in two species of sphagnum mosses collected in their different growing periods.

**Materials and methods.** The plant material (brown sphagnum (*Sphagnum fuscum*), Baltic sphagnum (*Sphagnum balticum*)) was collected on the Chagino Swamp in the Tomsk Region in May to October 2010. Soluble protein was spectrophotometrically determined by the method described by Bradford. Free amino acids were quantified using the ninhydrin test after extraction with ethyl alcohol. Their qualitative composition was determined by paper chromatography.

**Results.** The content of soluble protein and the qualitative and quantitative composition of free amino acids were studied in the test sphagnum species collected in different months of the growing season. It was demonstrated that the highest content of free amino acids in and their diversity of both moss species were observed in May and fell during the growing period while the level of soluble protein showed fluctuations around the mean value with a tendency to peak in July and October and to minimize in September. The qualitative composition of amino acids was determined in different months of collecting moss samples. The chromatograms displayed 3 to 10 individual spots of amino acids in relation to the month of material collection.

**Conclusion.** The qualitative and quantitative composition of free amino acids and protein was determined in two sphagnum moss species – *Sphagnum fuscum* and *Sphagnum balticum*. Essential amino acids were found. The findings may be useful in designing new preparations based on the sphagnum moss tussock.

**Key words:** sphagnum mosses, brown sphagnum, *Sphagnum fuscum* (Schimp.) Klinggr., Baltic sphagnum, *Sphagnum balticum* (Russ.) Russ. ex C. Jens., soluble protein, amino acids, chromatography.

### REFERENCES

1. Savich-Liubitskaia L. I. Medicinal uses of Sphagnum (peat) moss. Priroda, 1943; 4: 41–50 (in Russian).
2. Podferob A.P., Zubec E.V. Historical survey on the use of Sphagnum genus representatives in medicine. Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal, 2002; 36 (4): 27–9 (in Russian).
3. Belousov M.V., Akhmedzhanov R.R., Dmitruk V.N. et al. Pharmacological activity of ethanolic extracts from *Sphagnum fuscum*. Khimija Rastitel'nogo Syr'ja, 2008; 3: 129–34 (in Russian).
4. Babeshina L.G. Sphagnum mosses of West Siberian Plain: morphology, anatomy, ecology and medicinal use (Doctoral dissertation), Tomsk, 2011: 420 (in Russian).
5. Babeshina L.G., Kiseleva V.A., Kolokolova A.P., Osichkina S.N. Prospects for the medicinal use of Sphagnum mosses of Russia. Voprosy biologicheskoy, medicinskoj i farmacevticheskoy khimii. 2014; 10: 61–2 (in Russian).
6. Babeshina, L.G., Dmitruk, V.N. Evaluation of Sphagnum moss reserves in the Tomsk region. Tomsk State University Journal, 2009, 238, 183–7 (in Russian).
7. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 1976, 72, 248–54.
8. Ermoshin A.A., Babeshina, L.G., Kolokolova, A.P. Protein content of Sphagnum mosses. Voprosy biologicheskoy, medicinskoj i farmacevticheskoy khimii, 2015, 4, 50–1. (in Russian)
9. Burkina N.A., Kalinkina G.I., Fominykh L.V., Kurdjukova L.V. Investigation of amino acid composition of *Sphagnum fuscum*. Khimija Rastitel'nogo Syr'ja, 2000, 1, 81–3 (in Russian).
10. Gubin K.V., Khanina M.A. Amino-acid and elemental structure analysis of *Urtica cannabina* L. above-ground part and its dry extract. Medicina i obrazovanie v Sibiri, 2011, 5 (in Russian).