

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ МЕТОДОМ ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ С МАСС-СПЕКТРОСКОПИЕЙ В КАЛЛУСНЫХ ТКАНЯХ *CISTANCHE DESERTICOLA* Y.C. MAМ.Ю. Сутула¹, Н.Н. Губайдуллин¹, А.О. Рахимжанова¹, Ш.А. Манабаева^{1,2*}¹Национальный центр биотехнологии, 010000, Казахстан, г. Астана, Кургальжинское шоссе 13/5²Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, 010008, Казахстан, г. Астана, Сатпаева, 2

*Автор для корреспонденции: manabayeva@biocenter.kz

АБСТРАКТ

Целью данного исследования является анализ типов вторичных метаболитных соединений, содержащихся в растениях цистанхе (*Cistanche deserticola*). Метанольные экстракты каллусных тканей и побегов (столон) цистанхе были получены путем лиофильной сушки и измельчения до порошкообразного состояния с использованием 80% метанола. Вторичные метаболиты в составе каллусов цистанхе впервые были идентифицированы с помощью ГХ-МС (газовая хроматография с масс-спектрометрией). Результаты идентификации метанольных экстрактов выявили различные типы соединений, включая жирные кислоты (гексадекановая кислота, метиловый эфир); фенольные соединения и их производные (фенол, 2,4-бис(1,1-диметилэтил)-, 2-метокси-4-винилфенол, гомованилиловый спирт, фенол, 2,6-диметокси); стеролы (γ -ситостерол); сахара, гликозиды и другие углеводы (этил α -D-глюкопиранозид, сахароза), гликоли и их производные (тетраэтиленгликоль, диэтиленгликоль монододециловый эфир) и др. Некоторые из обнаруженных соединений, могут быть прекурсорами или побочными продуктами биосинтеза фенилэтаноидных гликозидов. Также нами выявлена корреляция между цветом каллуса и его химическим составом вторичных метаболитов. Данные могут быть использованы для дальнейшей оптимизации методов культивирования *C. deserticola* с целью повышения содержания целевых вторичных метаболитов.

Ключевые слова: *C. deserticola*, ГХ-МС, Казахстан, метаболиты

ВВЕДЕНИЕ

Дикie растительные ресурсы имеют неоценимое значение в истории развития человечества. На территории Казахстана, как и во многих других странах, существует множество растений, обладающих лечебными свойствами. Эти растения могут стать основой для дальнейшего развития фармацевтической промышленности в будущем.

По оценкам, в Казахстане более 1000 видов растений обладают лечебными свойствами [1]. Вторичные метаболиты, являющиеся химическими соединениями, содержащимися в растениях, играют ключевую роль в их фармакологической активности [2]. Эти соединения выполняют разнообразные функции, включая антиоксидантные свойства, использование в качестве красителей, усилителей аромата пищи, косметических средств, инсектицидов и лекарственных препаратов [3]. Вторичные метаболиты принимают участие непосредственно в процессе образования углеводов, белков и липидов при фотосинтезе, усвоении питательных веществ, дифференциации, транслокации, синтезе белков, дыхании, транспорте растворенных веществ и росте [4]. Как правило, вторичные метаболиты содержатся только в определенных группах видов растений. Это отличает их от содержания первичных метаболитов, таких как аминокислоты, нуклеотиды, сахара и липиды, которые содержатся почти во всех растительных царствах. Известны некоторые вторичные метаболитные соединения, обнаруженные в натуральных растительных экстрактах, которые действуют как антибактериальные средства – алкалоиды, терпеноиды, сапонины, танины и флавоноиды [5]. Результаты научных исследований показывают, что количество известных вторичных метаболитов значительно превышает 2 140 000 соединений, и каждый год этот показатель увеличивается на примерно 4000

новых веществ [6]. Эти данные свидетельствуют о богатстве и разнообразии химических соединений, содержащихся в растениях, что подчеркивает их потенциальную ценность в фармакологии и медицине.

Цистанхе (*Cistanche deserticola* Y.C. Ma) – это род паразитических пустынных растений, которые вызвали значительный интерес благодаря своим разнообразным химическим компонентам и потенциальным фармакологическим свойствам [7, 8]. На территории Казахстана произрастает семь видов цистанхе (*C. Hoffmanns. & Link*, *C. salsa*, *C. fissa*, *C. flava*, *C. mongolica*, *C. tubulosa*, *C. flava* subsp.) (<https://powo.science.kew.org/results?q=Cistanche>). Первый из них – жёлтый цистанхе (*C. flava*), который развивается на корнях джужгуна. Второй вид – цистанхе сомнительный (*C. ambigua* (Bunge) Beck), паразитирующий на корнях саксаула. Третий вид – цистанхе солончаковый (*C. salsa*), который встречается на корнях анабазисов, солянок и поташника, а также, в редких случаях, на корнях джужгуна. Все эти растения распространены в таких пустынных районах, как Мойынкум, Бетпак-дала и Мангистауская область. Различные виды цистанхе, такие как *C. deserticola* и *C. tubulosa*, были тщательно изучены на предмет их биологически активных метаболитов и лечебных свойств [9]. Эти растения традиционно использовались в китайской медицине и в настоящее время завоевывают признание во всем мире благодаря своей фармакологической значимости [10, 11]. Одним из уникальных свойств цистанхе является накопление в тканях природных фенилэтаноидных гликозидов, которые широко применяются в различных медицинских и фармацевтических целях. Фенилэтаноидные гликозиды, включая различные типы соединений, состоящих из фенэтилового спирта, кофейной кислоты и гликозильных остатков, представляют собой класс фенольных соединений, обладаю-

щих широким спектром биологических свойств, таких как антибактериальные, антиоксидантные, противовоспалительные, противовирусные, антираковые, антидиабетические и нейропротекторные свойства [12, 13]. Эти механизмы обеспечивают разнообразие фенольных гликозидов (ФЭГ) и определяют их функциональную значимость в поддержании физиологических процессов растений и их адаптационных возможностей. Объем содержания ФЭГ в клетках растений обусловлен сложными биохимическими механизмами синтеза, включающими различные пути образования и накопления данных соединений в растительных тканях [14]. Важность этих соединений подчеркивается тем, что их химическая природа и концентрация могут варьироваться в зависимости от различных факторов, таких как тип тканей и условия окружающей среды. Это подчеркивает необходимость разработки новых методов для их идентификации и количественного анализа, особенно в неизученных типах растительных тканей, таких как каллусы.

Газовая хроматография с масс-спектрометрическим детектором (ГХ-МС) является мощным аналитическим инструментом, который широко используется для идентификации и количественного определения химических соединений в различных областях, таких как фармацевтика, экология, пищевые технологии и криминалистика. ФЭГ достаточно хорошо изучены методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в столонах цистанхе [15, 16]. С помощью метода ВЭЖХ было обнаружено, что столоны цистанхе содержат 49 соединений, которые в основном включают эфирные масла, 17 фенольных гликозидов (ФЭГ) и 10 иридоидов [16]. Ни с соавт. использовали метод ГХ-МС для подтверждения того, что летучее масло, выделенное из столонов, цистанхе содержит 24 химических вещества, таких как 3 альдегида, 2 фенола, 3 спирта и 3 кетона, а эвгенол является основным компонентом летучего масла цистанхе [15].

Однако, несмотря на многочисленные исследования ФЭГ в вегетативных органах растений, данных о содержании этих соединений в каллусных тканях на текущий момент не имеется. Это открывает перспективы для дальнейших исследований в этой области. ГХ-МС применяется для анализа как известных, так и неизвестных соединений, что делает его незаменимым инструментом в научных исследованиях [17, 18].

В рамках данного исследования впервые были проан-

ализированы химические составы летучих соединений, присутствующих в каллусных тканях цистанхе методом ГХ-МС для детального анализа вторичных метаболитов и выявления их структурных компонентов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сбор и подготовка растительного материала

В качестве объекта исследований использовали вид *C. deserticola*, собранный в пустыне «Бетпак дала» Южно-Казахстанской области (46°02'00» с.ш., 70°12'00» в.д.). Сроки сбора были привязаны к периоду начала вегетации растений и стадии завершения цветения.

С целью получения асептического растительного материала из собранного вида цистанхе, проводили обеззараживание семян с применением стерилизующих агентов – 70% этанола и 10% раствора гипохлорита натрия. Перед стерилизацией семена промывали под проточной водой около 1-2 часов. Затем последовательно провели двухэтапную стерилизацию семян: 1) семена, обрабатывали в растворе 70% этилового спирта в течение 1 минуты, затем тщательно промывали 3-4 раза стерильной дистиллированной водой. 2) семена помещали в 10% гипохлорит натрия с добавлением Твин-20. Время экспозиции составляло 20 минут при постоянном перемешивании, затем промыли стерильной дистиллированной водой. Стерильные семена цистанхе высаживали в чашки Петри на питательные среды (Рисунок 1).

Культура клеток и тканей *C. deserticola*

Использовались общепринятые приемы по работе с культивируемыми изолированными тканями и органами растений. Все операции, требующие соблюдения условий стерильности, проводились в ламинар боксах. Каллусы культивировали в темноте, при температуре 25-27 °C и влажности 70%. Для стабильной пролиферации состав питательной среды оптимизировали добавлением различных экзогенных гормонов и фитогормонов. Экспланты пассировали на свежую среду в чашки Петри через 28-30 суток. В результате проведенных экспериментов по оптимизации состава питательной среды для индукции каллусогенеза было установлено, что первичный каллусогенез начинается непосредственно из семян цистанхе через месяц культивирования без образования корней и побегов. Полученные каллусные культуры характеризовались от светло-желтого до темно коричневого цвета. Поэтому на

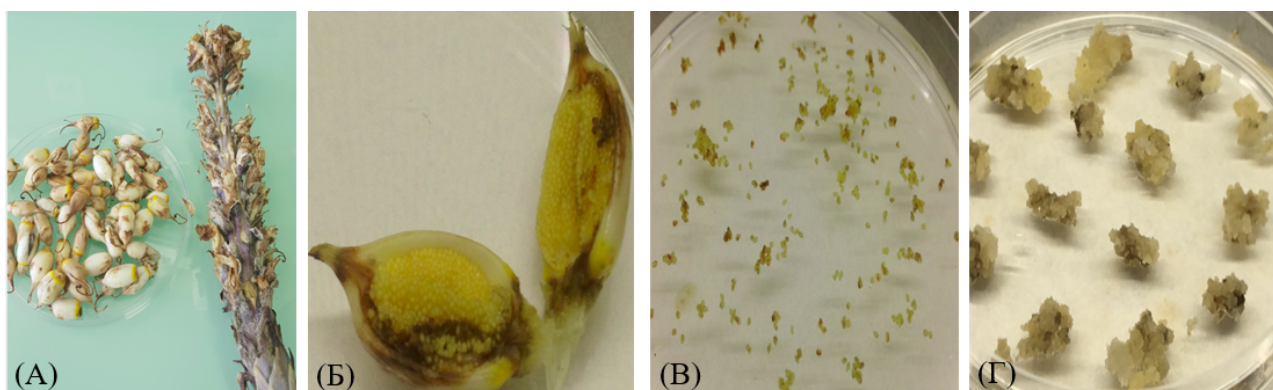


Рисунок 1. Растение *C. deserticola* (А) коробочки с семенами (слева), побег-столон (справа); (Б) коробочка в разрезе; (B) высаженные семена на питательной среде; (Г) пролиферация каллусных тканей из семян цистанхе

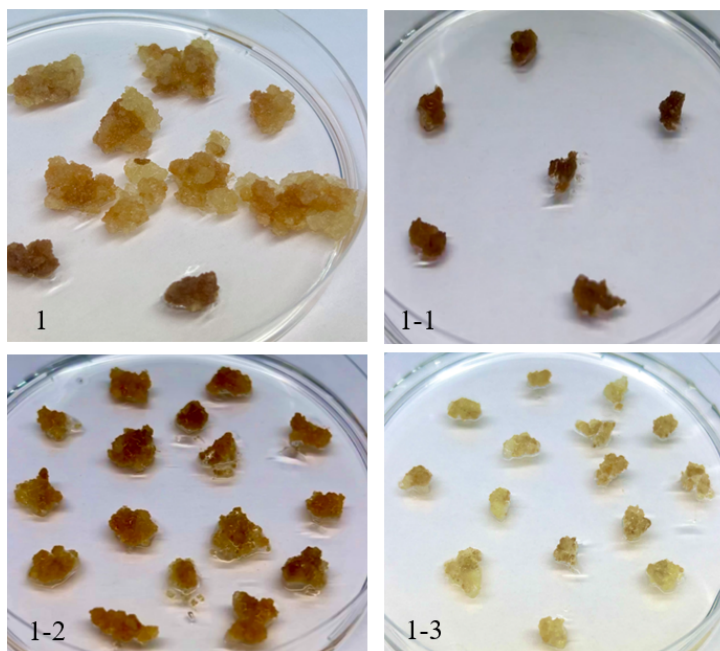


Рисунок 2. Проплиферация каллусных тканей *C. deserticola*, 1-3 линии

данном этапе исследования каллусы условно разделили на 3 линии: I-линия состояла из темно-коричневых каллусов, II-линия из светло-коричневых и III-линия из светло желтых каллусов (Рисунок 2).

Каллусы цистанхе индуцировали на модифицированной питательной среде с минеральной основой по прописи Гамборга В5, в присутствии фитогормонов: 2,4-D в концентрации 1 мг/л, ГКЗ в концентрации 10 мг/л, БАП в концентрациях 0,5 мг/л и в качестве свободного источника азота в среду была внесена органическая добавка в виде гидролизата казеина – 800 мг/л, который по литературным данным обладает стимулирующим действием. Для ингибирования синтеза фенольных соединений вносили аскорбиновую кислоту в концентрации 1 мг/л.

Лиофильная сушка образцов

Приготовление экспериментального материала включало лиофилизацию каллусных материалов стандартным методом. Каллусные материалы сначала замораживали при температуре -20°C , затем при температуре -80°C в течение 2 дней, и, наконец, лиофилизировали в приборе LyoQuest (Telstar, Испания) в течение 48 часов. Высушенный материал гомогенизировали до порошкообразного состояния.

Экстракция вторичных метаболитов метанолом

Протокол экстракции аналитов из каллусной ткани *Cistanche* включал экстракцию 20-50 мг в 1000 мкл 80%-ным MeOH с металлическими шариками в аппарате Tissue Lyzer (QIAGEN, Германия) в течение 15 минут, что обеспечивало хорошее извлечение аналитов. Затем центрифугировали в течение 5 минут при 6000 об/мин. Супернатант отбирали, а осадок ресуспендировали в 500 мкл 80%-ного MeOH. После этого снова центрифугировали в течение 5 минут при 6000 об/мин. Супернатанты объединяли и фильтровали через пористый фильтр с размером пор 0,45 мкм.

Анализ ГХ-МС

Образцы анализировали методом газовой хромато-

графии с масс-спектрометрическим детектированием (7890A/5975C). Объем образца 1,0 мкл, температура ввода пробы 250°C , без деления потока. Разделение проводили с помощью хроматографической капиллярной колонки DB-WaxExt длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм и толщиной пленки 0,25 мкм при постоянной скорости газа-носителя (гелий) 1 мл/мин. Температуру хроматографирования программировали от 40°C со скоростью нагрева $10^{\circ}\text{C}/\text{мин}$ до 260°C (выдержка 10 мин). Время анализа 32 минуты. Детектирование проводили в режиме SCAN m/z 34-750. Для управления системой газовой хроматографии, регистрации и обработки полученных результатов и данных использовали программное обеспечение Agilent MSD ChemStation (версия 1701EA). Обработка данных включала в себя определение времени удерживания, площадей пиков, а также обработку спектральной информации полученной с помощью масс-спектрометрического детектора. Для расшифровки полученных масс-спектров использовали библиотеки Wiley 7th edition и NIST'11 (общее количество спектров в библиотеках – более 550 тыс.). Хроматограммы, полученные в результате анализа газовой хроматографии с масс-спектрометрией показаны на Рисунке 3. На оси абсцисс хроматограммы указано время удерживания (Retention time), выраженное в минутах, которое отражает время, необходимое для выхода каждого соединения из колонки. На оси ординат показана относительная интенсивность (Abundance), которая указывает количество детектируемого соединения в каждый момент времени.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для исследования были использованы каллусные ткани *C. deserticola*, полученные в лабораторных условиях. Питательные среды для каллусных тканей различались по составу:

- Образец №36: среда Гамборга В5 с добавлением 0,1% NaCl.
- Образец №40: среда В5, 50 дней культивирования,

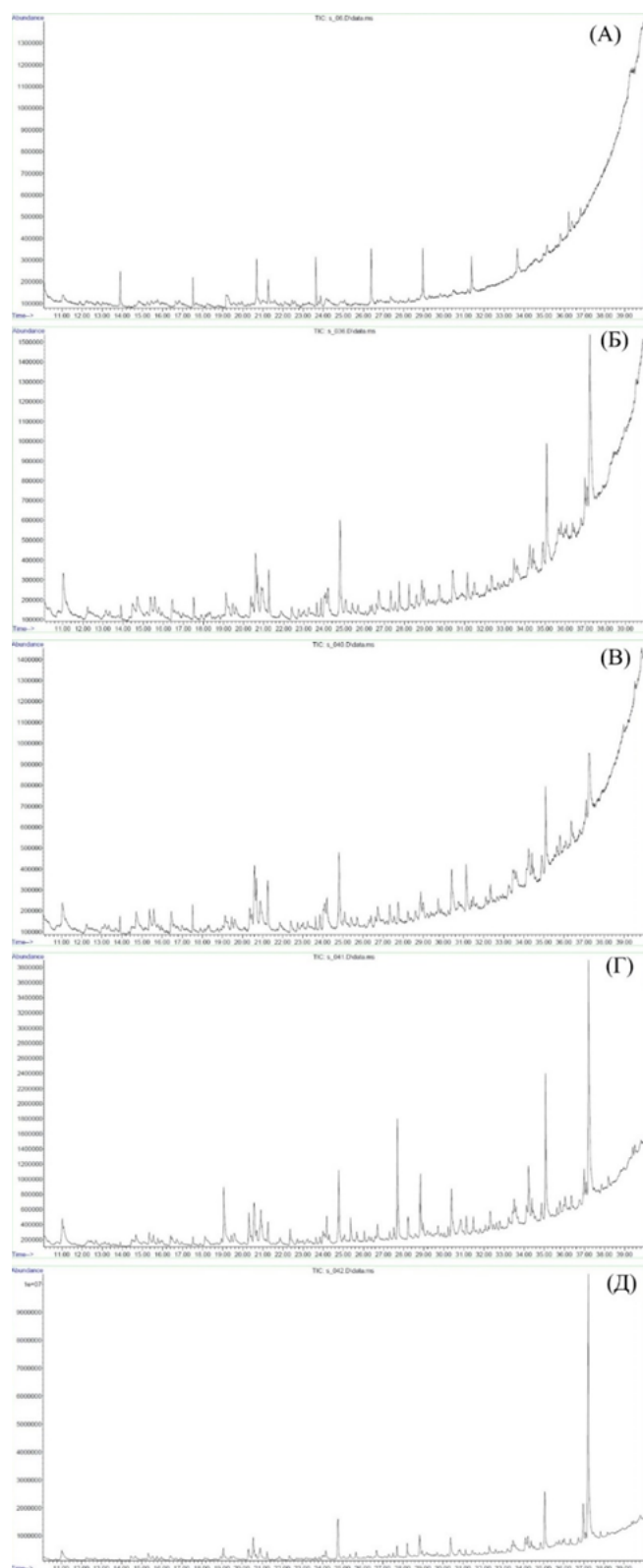


Рисунок 3. ГХ-МС хроматограммы образцов № 6 (А) столон, 36 (Б), 40 (В) темный каллус, 41(Г) оранжевый каллус, 42 (Д) светлый каллус.

темный цвет каллуса.

- Образец №41: среда В5, 50 дней культивирования, оранжевый цвет каллуса.

- Образец №42: среда В5, 50 дней культивирования, белый цвет каллуса.

В этом исследовании впервые проведен анализ летучих соединений каллусов *C. deserticola*, с использованием

ГХ-МС для получения качественных характеристик. Обнаруженные вещества относятся к различным типам соединений, среди которых жирные кислоты (гексадекановая кислота, метиловый эфир); фенольные соединения и их производные (фенол, 2,4-бис(1,1-диметилэтил)-, 2-метокси-4-винилфенол, гомованиллиловый спирт, фенол, 2,6-диметокси); стерины (γ -ситостерол); сахара, гликозиды и другие углеводы (этил α -D-глюкопиранозид, сахароза), гликоли и их производные (тетраэтиленгликоль, монододециловый эфир диэтиленгликоля) и другие соединения [19]. Обнаруженные в образцах в результате анализа ГХ-МС вещества представлены в ПРИЛОЖЕНИЯХ А-Д. Хроматограммы выхода фракций исследуемых образцов показаны на Рисунке 3. Некоторые из идентифицированных веществ представляют промышленный интерес и потенциально могут быть применимы в медицине, фармацевтической промышленности и косметологии.

Анализ ГХ-МС состава образцов

На основании данных, приведенных в ПРИЛОЖЕНИЯХ А-Д, можно провести сравнительный анализ органического состава летучих соединений столона (видоизмененный побег, образец № 6) и каллусных тканей *C. deserticola*, полученных на питательной среде в условиях среднего засоления, как фактора абиотического стресса (образец № 36), а также выращенных в стандартных условиях (образец № 40, 41, 42).

Анализ ГХ-МС показывает разнообразие соединений с различными процентными содержаниями и вероятностями идентификации. Основные компоненты некоторых образцов перекрываются, однако их концентрации значительно отличаются. В большинстве образцов присутствуют такие вещества, как метиловые эфиры жирных кислот, фенольные соединения и гликоли. Образец №6 (столон) содержит значительное диэтиленгликоль монододециловый эфир (13,2%), тетраэтиленгликоль (11,5%), метил пальмитат (11,8%) и этанон, 1-(2-гидрокси-5-метилфенил)- (9,4%). Присутствие этих соединений связаны с липидным обменом в растении и указывают на высокий уровень жирных кислот и их производных в столонах. Также присутствуют фенольные соединения, такие как фенол, 2,4-бис(1,1-диметилэтил)- (8,3%) и бензол, 4-этил-1,2-диметокси- (6,7%), что может свидетельствовать о возможной антиоксидантной активности [20-22] (ПРИЛОЖЕНИЕ А).

Образцы каллусных тканей (№36-42) характеризуются высоким содержанием этил α -D-глюкопиранозида (44,3%), который значительно выделяется на фоне других соединений. Это сахароподобное соединение может указывать на активные процессы углеводного обмена в каллусных тканях, возможно, связанном с активным делением клеток и ростом каллуса. В образцах также обнаружены различные фенольные соединения, такие как фенол, 2,4-бис(1,1-диметилэтил)- (2,27%) и фенол, 2,6-диметокси-4-(2-пропенил)- (1,51%), а также эфиры жирных кислот, включая метиловый эфир гексадекановой кислоты (4,26%) и метиловый эфир 9,12-октадекатриеновой кислоты (4,12%). В частности, образец №36 (ПРИЛОЖЕНИЕ Б) характеризовался высоким содержанием этил α -D-глюкопиранозид (44,3%), а также метил пальмитат (4,26%), тетраэтиленгликоль (3,79%) и диэтиленгликоль монододе-

циловый эфир (0,88%). В образце №40 (ПРИЛОЖЕНИЕ В) были обнаружены этил α -D-глюкопиранозид (24,94%), γ -ситостерол (19,01%) и 1,4-бензендикарбоновая кислота, бис(2-этилгексилловый) эфир (9,37%). В образце №41 (ПРИЛОЖЕНИЕ Г) преобладали этил α -D-глюкопиранозид (23,71%), β -D-глюкопираноза, 1,6-ангидро- (8,15%) и гомованилиловый спирт (3,91%). Наконец, образец №42 (ПРИЛОЖЕНИЕ Д) был отмечен высоким содержанием этил α -D-глюкопиранозида (41,78%), β -D-глюкопиранозы, 1,6-ангидро- (8,23%) и гомованилилового спирта (2,80%), с небольшими количествами различных эфиров и кислот, типичных для этого типа образцов [15].

Во всех образцах присутствуют производные жирных кислот и фенольные соединения, которые могут играть роль в защите клеток от окислительного стресса. Однако их разнообразие и концентрация больше в столонах. Если сравнивать образцы, гексадекановая кислота, метиловый эфир присутствует во всех образцах с процентным содержанием от 4,26% до 11,8%. тетраэтиленгликоль встречается в образцах №6, №36, №40 и №42. Диэтиленгликоль моно-додецилловый эфир также встречается в большинстве образцов. Образец №36 и №40 демонстрируют высокое содержание этил α -D-глюкопиранозида. В образцах №40 и №42 наблюдается значительное количество γ -ситостерола и β -D-глюкопиранозида.

Идентификация вторичных метаболитов в каллусных тканях *C. deserticola* методом ГХ-МС

Большинство обнаруженных нами в каллусных тканях и столонах веществ являются вторичными метаболитами в растениях. Вторичные метаболиты – это химические соединения, которые не участвуют непосредственно в основных метаболических процессах организма (например, в росте или размножении), но могут играть важную роль в защите от патогенов и во многих других специализированных функциях.

Проанализировав список соединений, приведенных в образцах, следующие вещества можно классифицировать как вторичные метаболиты.

Фенол, 2,4-бис(1,1-диметилэтил)- ($C_{14}H_{22}O$, MW: 206.3239); Фенол, 2,6-диметокси- и его производные, такие как фенол, 2,6-диметокси-4-(2-пропенил) ($C_{11}H_{14}O_3$, MW: 194.2271) – соединения относятся к классу фенолов, производные которых обладают антиоксидантными и антимикробными свойствами, могут участвовать в защите от ультрафиолетового излучения или от стресса [20, 23, 24]. Структура фенольных соединений показана на Рисунке 4.

β -D-глюкопираноза, 1,6-ангидро ($C_6H_{10}O_5$, MW: 162.1406, субстанция) – производное сахаров является циклическим эфиром, который может играть роль во вторичном метаболизме растений, в частности в метаболизме углеводов.

Ниацинамид ($C_6H_6N_2O$, MW: 122.1246, соединение) – витамин В3, также известный как ниацинамид, участвует

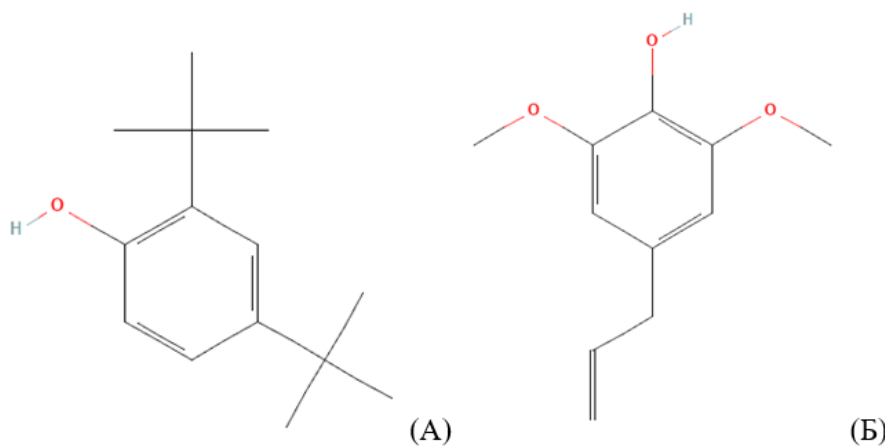


Рисунок 4. Химическая структура (А) фенол, 2,4-бис(1,1-диметилэтил)-, (Б) фенол, 2,6-диметокси-4-(2-пропенил)

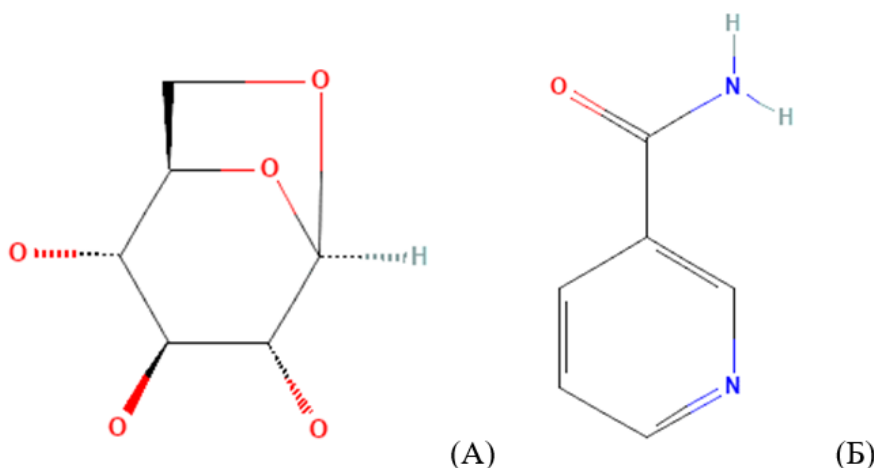


Рисунок 5. Химическая структура субстанций (А) β -D-глюкопираноза, 1,6-ангидро (Б) ниацинамид

в метаболизме в качестве коэнзима, но также может выполнять дополнительные защитные и регуляторные функции. Химическая структура этих соединений показана на Рисунке 5.

Бензофуран, 2,3-дигидро (C_8H_8O , MW: 120.1485, син.: кумаран, соединение) – бензофураны являются группой соединений, которые часто встречаются в растительных экстрактах и могут обладать антимикробными свойствами. Было показано, что ингибирование ацетилхолинэстеразы (АХЭ) кумараном, активным ингредиентом, извлеченным из растений открывает широкое применение кумаран в качестве биофумиганта, который может быть альтернативой химическим фумигантам против насекомых-вредителей [25].

Дезаспидиол ($C_{11}H_{14}O_4$, MW: 210.2265, син.: 1-(2,6-дигидрокси-4-метоксифенил) бутан-1-он, соединение) – является фенольным соединением с кетонной группой. Это органическое соединение включает в себя две гидроксильные группы (-OH) и одну метокси-группу (-OCH₃), что делает его химическую структуру достаточно реакционноспособной и активной. Вещество имеет структуру, сходную с алкалоидами или флавоноидами, которые являются вторичными метаболитами в растениях, защищая их от хищников и болезней [21, 22]. Химическая структура этих соединений показана на Рисунке 6.

Пирроло[1,2-а]пиазин-1,4-дион, гексагидро-3-(2-метилпропил) ($C_{11}H_{18}N_2O_2$, MW: 210.2728, Син.: Цикло(лейцилопролил), соединение) – сложное гетероциклическое соединение, относится к классу пиазинов, в частности, циклический дипептид, участвует в межклеточной сигнализации и защите от стресса. Дикетопиперазины изу-

чаются на предмет их потенциального использования в качестве строительных блоков в органическом синтезе из-за их стабильности и структурных особенностей [26]. Имеются ранние сообщения о способности цикло(л-лейцил-л-пролил) подавлять выработку норсолориновой кислоты, предшественника афлатоксина [27] (Рисунок 7 (А)).

Все перечисленные вещества могут играть разные важные роли в метаболизме растений и часто выполняют функции, связанные с защитой, взаимодействием с окружающей средой или адаптацией к стрессовым условиям. Более того, некоторые обнаруженные соединения, в том числе вторичные метаболиты, потенциально могут представлять интерес для фармацевтической и косметической промышленности.

Вещества, представляющие интерес для фармацевтического и косметического производства

Гексадекановая кислота, метиловый эфир ($C_{17}H_{34}O_2$, MW: 270.4507, метил пальмитат, соединение) выделенный из растений обладает антибактериальными свойствами [28], в том числе против бактерий с множественной лекарственной устойчивостью [29]. Кроме того, вещество широко используется в косметической промышленности в качестве смягчающего и кондиционирующего агента для кожи и волос, применяется в производстве мазей и кремов, обладая смягчающими свойствами. Наиболее высокое содержание в столонах (11,8%), в каллусных тканях содержится в концентрации от 4,26% до 4,86%. Химическая структура соединения показана на Рисунке 7 (Б).

Фенол, 2,4-бис(1,1-диметилэтил)- используется как антиоксидант в косметике и фармацевтике, защищая про-

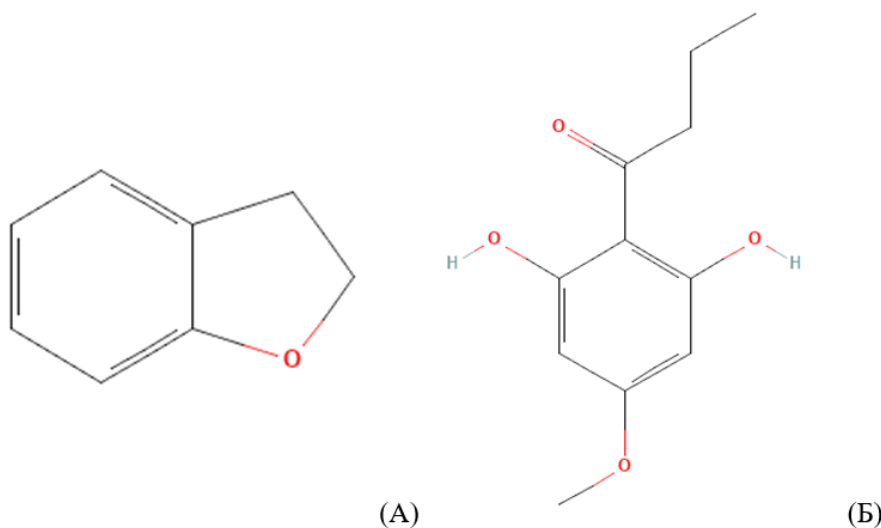


Рисунок 6. Химическая структура (А) бензофуран, 2,3-дигидро, (Б) дезаспидиол

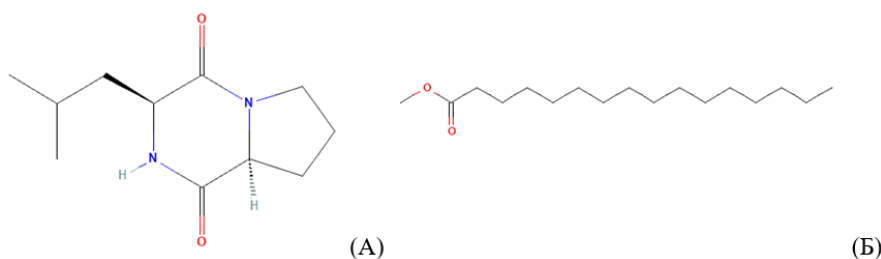


Рисунок 7. Химическая структура (А) пирроло[1,2-а]пиазин-1,4-дион, гексагидро-3-(2-метилпропил), (Б) гексадекановая кислота, метиловый эфир

дукты от окисления и продлевая срок их годности [30]. Наиболее высокое содержание в столонах (8,3%), в каллусных тканях содержится в концентрации от 1,44% до 2,27% (Рисунок 4 (А)).

Примечательно то, что диэтиленгликоль монододециловый эфир ($C_{16}H_{34}O_3$, MW: 274.4394, соединение) и тетраэтиленгликоль ($C_8H_{18}O_5$, MW: 194.2255, соединение) не являются природными соединениями. Вещества синтезируются искусственно и используются в различных промышленных и коммерческих приложениях, например, как поверхностно-активные вещества и эмульгаторы в косметических и фармацевтических продуктах [31]. В природе аналоги этиленгликоля вероятно могут встречаться в виде продуктов разложения природных полиэтиленгликолей, однако их концентрация крайне мала. Тем не менее, нам удалось идентифицировать диэтиленгликоль монододециловый эфир как в столонах, где его концентрация достигает 13,2%, так и в каллусах образца №36 содержание 6,73%. В остальных образцах выявлено незначительное содержание данного эфира (Рисунок 8 (А)). Наиболее высокое содержание Тетраэтиленгликоль в столонах (образец №6) 11,5%, в каллусах концентрация в пределах от 1,69% (№42) до 3,79% (№36) (Рисунок 8 (Б)).

Гомованилиловый спирт ($C_9H_{12}O_3$, MW: 168.1898, соединение) является производным фенолэтанола, обнаруживается в различных растительных источниках, является метаболитом катехоламинов, таких как дофамин, и участвует в их биодegradации. В природе это вещество может встречаться как в свободной форме, так и в составе сложных молекул, например, гликозидов. Благодаря своим антиоксидантным и противовоспалительным свойствам, это соединение изучается для применения в составе препаратов для лечения воспалительных заболеваний и защиты тканей от окислительного стресса. В организме гомовани-

лиловый спирт является промежуточным продуктом метаболизма дофамина, а также других катехоламинов. В медицине гомованилиловый спирт изучается как биомаркер, связанный с метаболизмом катехоламинов, что может быть полезным в диагностике различных заболеваний, связанных с нарушением обмена веществ, включая неврологические расстройства [32]. В косметической промышленности гомованилиловый спирт используется как компонент антивозрастных и восстанавливающих средств. Благодаря своим антиоксидантным свойствам, помогает нейтрализовать свободные радикалы, предотвращая преждевременное старение кожи и повреждение клеток [31]. В столонах присутствует в концентрации 3,9%, наибольшая концентрация также выявлена каллусах желтого (3,91%) и белого (2,80%) цвета (Рисунок 9 (А)).

Этил α -D-глюкопиранозид является одним из многих растительных гликозидов, где глюкоза соединена с этильной группой. В растениях может участвовать в процессе хранения энергии и структурного образования клеток, как и другие гликозиды, а также вовлечен в синтез фенолэтанонидных гликозидов. В пищевой и фармацевтической промышленности как подсластитель и стабилизатор, включая продукты для пациентов с диабетом или тех, кто требует контроля уровня сахара в крови. В косметической промышленности этил α -D-глюкопиранозид может использоваться в качестве увлажняющего агента или стабилизатора, помогает поддерживать текстуру и устойчивость косметических средств, а также может улучшать проникновение активных компонентов в кожу [33]. Обнаружен в каллусных тканях в высокой концентрации от 23,71% до 44,30% (Рисунок 10 (А)). Сахароза ($C_{12}H_{22}O_{11}$, MW: 342.2965, Син.: α -D-глюкопиранозид, соединение) органическое соединение, представляющее собой дисахарид, состоящий из молекул глюкозы и фруктозы, соединенных гликозидной связью, является одним из наи-

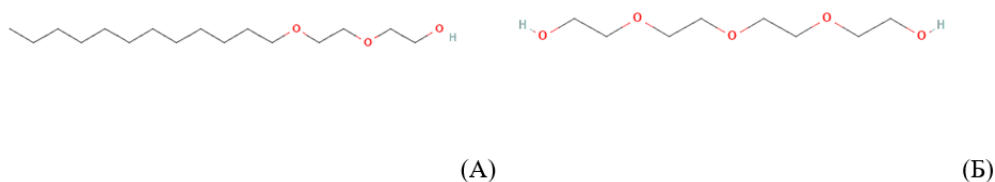


Рисунок 8. Химическая структура (А) Диэтиленгликоль монододециловый эфир, (Б) Тетраэтиленгликоль

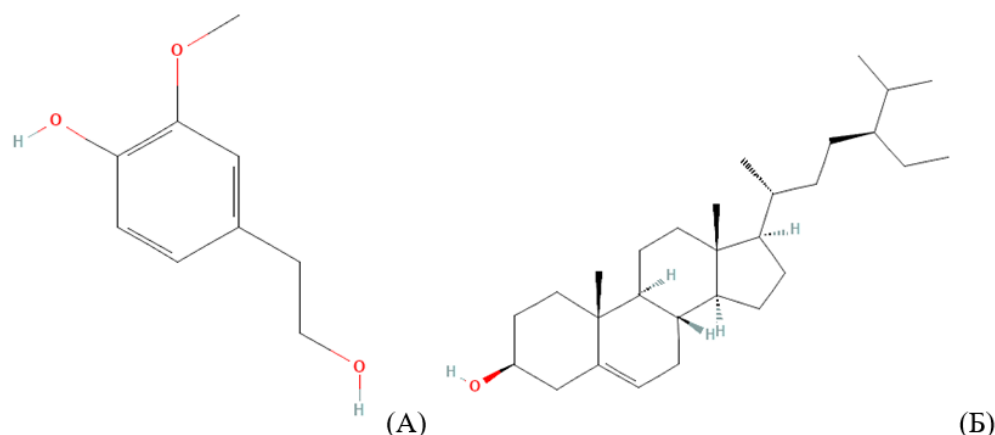


Рисунок 9. Химическая структура (А) гомованилиловый спирт, (Б) γ -ситостерол

более распространенных углеводов в природе. Наиболее высокое содержание в образце №41 (1,82%), в других образцах отсутствует (Рисунок 10 (Б)).

γ -ситостерол ($C_{29}H_{50}O$, MW: 414.7067, син.: клинастерол, соединение) органическое соединение, принадлежащее к классу фитостеролов, по структуре схож с холестерином. γ -ситостерол широко распространен в природе и содержится в клеточных мембранах растений, играет важную роль в регулировании проницаемости и стабильности клеточных мембран растений, аналогично холестерину в мембранах животных клеток. Он также участвует в метаболизме липидов и может оказывать влияние на рост и развитие растений. В медицине γ -ситостерол известен своими гиполипидемическими свойствами. Способен снижать уровень холестерина в крови, блокируя его всасывание в кишечнике, и часто используется для профилактики и лечения гиперхолестеринемии и сердечно-сосудистых заболеваний [34]. Также используется в косметологии благодаря увлажняющим и противовоспалительным свойствам [35]. Наиболее высокое содержание 19,01% в образце темного каллуса (№40). В других образцах отсутствует (Рисунок 9 (Б)).

Результаты исследования показывают значительные расхождения в составе вторичных метаболитов между столонами (видоизмененный побег) и каллусными тканями. Так, в образцах каллусных тканей были обнаружены более высокие концентрации специфических соединений, что может быть связано с адаптацией к условиям культивирования *in vitro*. Также было выявлено различие в составе между различными каллусами, что может быть обусловлено влиянием условий культивирования, таких как состав среды и продолжительность выращивания.

Каллусные ткани, выращенные на среде с добавлением NaCl (образец №36), показали специфические изменения в метаболическом профиле по сравнению с каллусами, культивированными в стандартных условиях. Темный каллус (образец №40) также продемонстрировал уникальный профиль, что может быть связано с его морфологическими характеристиками и продолжительным культивированием.

Зависимость цвета каллуса от накопления вторичных метаболитов в тканях *C. deserticola*

Разный цвет каллусов может быть связан с присут-

ствием фенольных соединений и других веществ, обладающих интенсивной окраской. Мы выделили некоторые соединения, которые могут оказывать влияние на цвет каллусных тканей.

Фенолы, в том числе хлорированные и метоксилированные (фенол, 2,4-бис(1,1-диметилэтил)-; фенол, 2,6-диметокси-; 2-метокси-4-винилфенол) могут участвовать в окислительных процессах, которые приводят к образованию окрашенных соединений. Фенол является предшественником различных полимерных фенольных соединений, таких как флавоноиды и меланины, которые могут придавать растительным тканям темный цвет. Этанол, 1-(2-гидрокси-5-метилфенил)- содержит фенольную группу, также может способствовать образованию окрашенных продуктов при окислении. Бензолэтанол, 4-гидрокси- (также известен как парагидроксибензиловый спирт) может окисляться с образованием продуктов темного цвета. Его химическая структура также может участвовать в образовании сложных соединений, таких как хиноны или меланины. Гомованилиловый спирт сам по себе не имеет цвета, однако может участвовать в биохимических реакциях, приводящих к изменению цвета. Деза-спидиол может оказывать влияние на цвет за счет своей сложной структуры, свойственной пигментным веществам. Образец №40 и №41 наиболее богаты соединениями, которые могут влиять на цвет каллуса, такими как различные фенолы и производные глюкозы. В этой связи можно предположить, что изменению цвета каллуса свидетельствует накоплению вторичных метаболитов в растительных тканях, в частности, фенольных соединений и их производных.

Каллусная культура *C. deserticola* потенциальный источник быстрой наработки биологически активных вторичных метаболитов, в том числе ФЭГ

Химический состав идентифицированных методом ГХ-МС веществ может косвенно указывать на присутствие в тканях *C. deserticola* весьма ценных для медицины и фармацевтики соединений, таких как фенилэтанонидные гликозиды (ФЭГ).

Фенилэтанонидные гликозиды – представляют собой класс природных гликозидов, содержащих гидроксиметоксизамещенные фенилэтильные и гидроксиметоксизамещенные циннамоильные группы, обычно с централь-

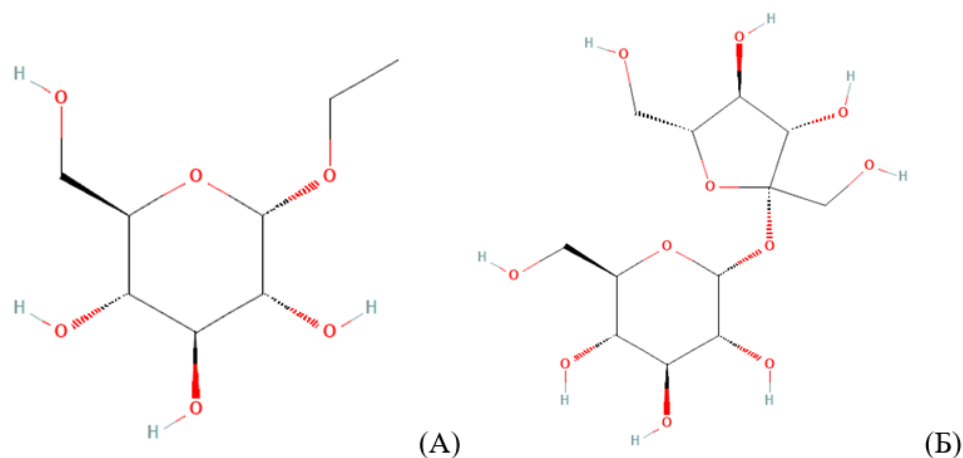


Рисунок 10. Химическая структура (А) этил α -D-глюкопиранозид, (Б) сахароза

ной глюкозой в качестве родительского ядра, а также сложноэфирную связь и кислородную гликозидную связь. ФЭГ включают такие вещества, как салидрозид, эхинакозид, тубулозид и другие. Эти соединения обычно не являются ни летучими ни полунлетучими, что затрудняет их обнаружение методом ГХ-МС. Однако, несмотря на это, ряд косвенных признаков позволяет проследить связь между составом обнаруженных в образцах веществ и присутствием ФЭГ.

Так, некоторые из соединений, обнаруженных в анализе ГХ-МС, могут быть прекурсорами или побочными продуктами биосинтеза фенолэфирных гликозидов. Например, соединения, содержащие фенольные группы или связанные с ними метаболиты, могут участвовать в биосинтетических путях, ведущих к образованию ФЭГ. Фенилпропаноиды, такие как коричная кислота и её производные, играют ключевую роль в синтезе ФЭГ. В образцах были обнаружены соединения, связанные с метаболизмом фенилаланина или тирозина (бензоаты, фенолы), что может указывать на активность путей, участвующих в синтезе ФЭГ.

В некоторых образцах были обнаружены жирные кислоты (омега-гидроксикислоты) или спирты, которые также могут участвовать в биосинтезе сложных эфиров и гликозидов. Эти соединения могут модифицироваться и комбинироваться с фенольными группами для образования сложных структур, типичных для ФЭГ.

Некоторые гликозиды и сахара, такие как этил α -D-глюкопиранозид, вовлечены в углеводный обмен, который также важен для биосинтеза ФЭГ. Глюкозные единицы, входящие в состав ФЭГ, могут быть образованы из тех же промежуточных продуктов, что и гликозиды, обнаруженные в образцах.

Как известно ФЭГ и некоторые другие биологически активные вторичные метаболиты растений, идентифицированные нами в этом исследовании, обладают выраженными антиоксидантными свойствами. В образцах были обнаружены повышенные концентрации антиоксидантных веществ (терпены, некоторые фенольные соединения), что может указывать на усиление защитных механизмов растения в ответ на стресс [36]. Поскольку ФЭГ также участвуют в этих защитных процессах, можно предположить, что их синтез и накопление в клетках может быть связан с общими адаптивными реакциями, отраженными в составе выявленных вторичных метаболитов. Концентрация биологически активных метаболитов в каллусных тканях сопоставима с концентрацией в диких побегах (столонах) *C. deserticola*, а в ряде случаев даже превышает накопление, как в случае с каллусом коричневого цвета. Однако, для изучения и специфической идентификации ФЭГ в каллусных тканях необходимо проведение дополнительных анализов, таких как ВЭЖХ-МС (высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрией). Технология культивирования каллусных тканей *C. deserticola* с целью накопления биологически активных вторичных метаболитов в перспективе может быть полезной в фармацевтическом производстве лекарств и биологически активных добавок, основанных на растительных компонентах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данное исследование представляет собой первичный анализ вторичных метаболитов в каллусных тканях *C. deserticola* в сравнении с контрольными образцами столонов. В ходе работы были успешно введены в культуру каллусные ткани, что позволило провести детальное сравнение их химического состава со столонами. На сегодняшний день мы продолжаем экспериментальные исследования, направленные на изучение влияния стрессовых факторов, таких как элиситоры, на увеличение содержания вторичных метаболитов в каллусных тканях. Первичные данные показывают перспективность таких экспериментов, а более детальные результаты будут опубликованы в нашем следующем исследовании.

Состав каллусных тканей и столонов *C. deserticola* значительно различается, что указывает на различия в метаболической активности и физиологических функциях этих растительных тканей. Столоны демонстрируют высокое содержание липидов и фенольных соединений, тогда как каллусные ткани характеризуются высоким уровнем углеводного метаболизма, что в свою очередь может быть связано с повышенным содержанием фенолэфирных гликозидов, представляющих особый интерес в фармацевтической промышленности. Эти данные могут быть использованы для дальнейшего исследования физиологии *C. deserticola* и разработки стратегий культивирования с целью получения целевых вторичных метаболитов.

Полученные результаты подтверждают гипотезу о том, что состав вторичных метаболитов в каллусных тканях *C. deserticola* значительно варьирует в зависимости от условий культивирования. Эти данные могут быть использованы для дальнейшей оптимизации методов культивирования *C. deserticola* с целью повышения содержания целевых вторичных метаболитов, например, таких как ФЭГ.

Изменение цвета каллусов в течение культивирования свидетельствует об изменении состава химических соединений в каллусных тканях. Фенольные соединения могут подвергаться ферментативному или неферментативному окислению, что приводит к образованию окрашенных продуктов, таких как хиноны и полимерные пигменты. Эти пигменты, накапливаясь в тканях, могут придавать каллусу темный или коричневый цвет.

Хотя ФЭГ непосредственно не были идентифицированы с помощью ГХ-МС, обнаруженные вещества могут быть частью более сложных метаболических сетей, включающих ФЭГ. Наличие прекурсоров, антиоксидантов и других соединений, связанных с фенольным и углеводным обменом, может указывать на активность путей, связанных с синтезом фенолэфирных гликозидов. Для более точного выявления ФЭГ могут потребоваться дополнительные методы анализа, такие как ВЭЖХ-МС, которые хорошо подходят для анализа этого класса соединений, а также позволят проанализировать все водорастворимые соединения в каллусных тканях *C. deserticola*.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Комитета науки Министерства науки и высшего образо-

вания Республики Казахстан (ИРН: BR21882180).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sarsenbayev K. N. Medicinally Important Plants of Kazakhstan // *Vegetation of Central Asia and Environs / Egamberdieva D., Öztürk M.* – Cham: Springer International Publishing, 2018. – С. 263-289.
2. Elshafie H. S., Camele I., Mohamed A. A. A Comprehensive Review on the Biological, Agricultural and Pharmaceutical Properties of Secondary Metabolites Based-Plant Origin // *International Journal of Molecular Sciences.* – 2023. – Т. 24, № 4. – С. 3266.
3. Ofoedum A. F., Uyanwa N. C., Chikelu E. C., Iroagba L. N., Ugwoezuonu J. N., Anaeke E. J., Odeyemi T. A., Okezie F. P., Nwuka M. U. Primary and Secondary Metabolites as Products of Microbial Metabolism: Uses and Application in Foods, Pharmaceutical and Allied Industries. A Review // *European Journal of Applied Science, Engineering and Technology.* – 2024. – Т. 2, № 2. – С. 4-16. [https://doi.org/10.59324/ejaset.2024.2\(2\).01](https://doi.org/10.59324/ejaset.2024.2(2).01)
4. Bhatla S. C., Lal M. A. Secondary Metabolites // *Plant Physiology, Development and Metabolism / Bhatla S. C., Lal M. A.* – Singapore: Springer Nature Singapore, 2023. – С. 765-808.
5. Maran S., Yeo W. W. Y., Lim S.-H. E., Lai K.-S. Plant Secondary Metabolites for Tackling Antimicrobial Resistance: A Pharmacological Perspective // *Antimicrobial Resistance: Underlying Mechanisms and Therapeutic Approaches / Kumar V. и др.* – Singapore: Springer Nature Singapore, 2022. – С. 153-173.
6. Durairaj T., Alagappan C., Suresh S. S. R., Ramasamy V. An Introductory Chapter: Secondary Metabolites // *Secondary Metabolites / Ramasamy V., Suresh S. S. R.* – Rijeka: IntechOpen, 2018. – С. Ch. 1.
7. Song Y., Zeng K., Jiang Y., Tu P. Cistanches Herba, from an endangered species to a big brand of Chinese medicine // *Medicinal Research Reviews.* – 2021. – Т. 41, № 3. – С. 1539-1577. <https://doi.org/10.1002/med.21768>
8. Li Z., Lin H., Gu L., Gao J., Tzeng C.-M. Herba Cistanche (Rou Cong-Rong): One of the Best Pharmaceutical Gifts of Traditional Chinese Medicine // *Frontiers in Pharmacology.* – 2016. – Т. 7. <https://doi.org/10.3389/fphar.2016.00041>
9. Lv H.-N., Zeng K.-W., Song Y.-L., Jiang Y., Tu P.-F. Phytochemical and Pharmacological Overview of Cistanche Species // *Recent Advances in Polyphenol Research,* 2017. – С. 313-341.
10. Fu Z., Fan X., Wang X., Gao X. Cistanches Herba: An overview of its chemistry, pharmacology, and pharmacokinetics property // *Journal of Ethnopharmacology.* – 2018. – Т. 219. – С. 233-247. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.10.015>
11. Jiang L., Zhou B., Wang X., Bi Y., Guo W., Wang J., Yao R., Li M. The Quality Monitoring of Cistanches Herba (Cistanche deserticola Ma): A Value Chain Perspective // *Frontiers in Pharmacology.* – 2021. – Т. 12. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.782962>
12. Huang J., Zhao D., Cui C., Hao J., Zhang Z., Guo L. Research Progress and Trends of Phenylethanoid Glycoside Delivery Systems // *Foods.* – 2022. – Т. 11, № 5. – С. 769.
13. Xue Z., Yang B. Phenylethanoid Glycosides: Research Advances in Their Phytochemistry, Pharmacological Activity and Pharmacokinetics // *Molecules.* – 2016. – Т. 21, № 8. – С. 991.
14. Tian X.-Y., Li M.-X., Lin T., Qiu Y., Zhu Y.-T., Li X.-L., Tao W.-D., Wang P., Ren X.-X., Chen L.-P. A review on the structure and pharmacological activity of phenylethanoid glycosides // *European Journal of Medicinal Chemistry.* – 2021. – Т. 209. – С. 112563. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112563>
15. Hui R., Hou D., Li T., Guan C. Analysis of volatile components in Herba Cistanches // *Fenxi Huaxue.* – 2003. – Т. 31, № 5. – С. 601-603.
16. Xu R., Sun S., Zhu W., Xu C., Liu Y., Shen L., Shi Y., Chen J. Multi-step infrared macro-fingerprint features of ethanol extracts from different Cistanche species in China combined with HPLC fingerprint // *Journal of Molecular Structure.* – 2014. – Т. 1069. – С. 236-244. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2014.03.061>
17. Piechocka J., Wiczorek M., Głowacki R. Gas Chromatography–Mass Spectrometry Based Approach for the Determination of Methionine-Related Sulfur-Containing Compounds in Human Saliva // *International Journal of Molecular Sciences.* – 2020. – Т. 21, № 23. – С. 9252.
18. Krone N., Hughes B. A., Lavery G. G., Stewart P. M., Arlt W., Shackleton C. H. Gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) remains a pre-eminent discovery tool in clinical steroid investigations even in the era of fast liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC/MS/MS) // *J Steroid Biochem Mol Biol.* – 2010. – Т. 121, № 3-5. – С. 496-504. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2010.04.010>
19. Zhou S.-q., Feng D., Zhou Y.-x., Zhao J., Zhao J.-y., Guo Y., Yan W.-j. HS-GC-IMS detection of volatile organic compounds in cistanche powders under different treatment methods // *LWT.* – 2022. – Т. 165. – С. 113730. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113730>
20. Musa A., El-Massry K. F., El-Ghorab A. H., Farouk A., Ali H. M., Abdelgawad M. A., Naguib I. A., Mostafa E. M. Volatile Constituents of Cistanche tubulosa and Their Antioxidant and Antimicrobial Potentials // *Records of Natural Products.* – 2021. – Т. 15, № 4. <https://doi.org/10.25135/rnp.220.20.11.1859>
21. Balasundram N., Sundram K., Samman S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses // *Food Chemistry.* – 2006. – Т. 99, № 1. – С. 191-203. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.042>
22. Cheynier V. Phenolic compounds: from plants to foods // *Phytochemistry Reviews.* – 2012. – Т. 11, № 2. – С. 153-177. <https://doi.org/10.1007/s11101-012-9242-8>
23. de Lima Cherubim D. J., Buzanello Martins C. V., Oliveira Fariña L., da Silva de Lucca R. A. Polyphenols as natural antioxidants in cosmetics applications // *J Cosmet Dermatol.* – 2020. – Т. 19, № 1. – С. 33-37. <https://doi.org/10.1111/jocd.13093>

24. Dai J., Mumper R. J. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties // *Molecules*. – 2010. – T. 15, № 10. – C. 7313-7352. <https://doi.org/10.3390/molecules15107313>

25. Rajashekar Y., Raghavendra A., Bakthavatsalam N. Acetylcholinesterase Inhibition by Biofumigant (Coumaran) from Leaves of *Lantana camara* in Stored Grain and Household Insect Pests // *BioMed Research International*. – 2014. – T. 2014, № 1. – C. 187019. <https://doi.org/10.1155/2014/187019>

26. Borthwick A. D. 2,5-Diketopiperazines: Синthesis, Reactions, Medicinal Chemistry, and Bioactive Natural Products // *Chemical Reviews*. – 2012. – T. 112, № 7. – C. 3641-3716. <https://doi.org/10.1021/cr200398y>

27. Yan P. S., Song Y., Sakuno E., Nakajima H., Nakagawa H., Yabe K. Cyclo(L-leucyl-L-prolyl) produced by *Achromobacter xylosoxidans* inhibits aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* // *Appl Environ Microbiol*. – 2004. – T. 70, № 12. – C. 7466-73. <https://doi.org/10.1128/aem.70.12.7466-7473.2004>

28. Gideon V. A. GC-MS analysis of phytochemical components of *Pseudoglochidion anamalayanum* Gamble: An endangered medicinal tree // *Asian Journal of Plant Science & Research*. – 2015. – T. 5.

29. Shaaban M. T., Ghaly M. F., Fahmi S. M. Antibacterial activities of hexadecanoic acid methyl ester and green-synthesized silver nanoparticles against multidrug-resistant bacteria // *Journal of basic microbiology*. – 2021. – T. 61, № 6. – C. 557-568. <https://doi.org/10.1002/jobm.202100061>

30. Wang X., Wang J., Guan H., Xu R., Luo X., Su M., Chang X., Tan W., Chen J., Shi Y. Comparison of the Chemical Profiles and Antioxidant Activities of Different Parts of Cultivated *Cistanche deserticola* Using Ultra Performance Liquid Chromatography-Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry and a 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl-Based Assay // *Molecules*. – 2017. – T. 22, № 11. – C. 2011. <https://doi.org/10.3390/molecules22112011>

31. Handbook of cosmetic science and technology. / Barel A. O., Paye M., Maibach H. I.: CRC press, 2014.

32. Wightman R. M., Amatore C., Engstrom R. C., Hale P. D., Kristensen E. W., Kuhr W. G., May L. J. Real-time characterization of dopamine overflow and uptake in the rat striatum // *Neuroscience*. – 1988. – T. 25, № 2. – C. 513-23. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(88\)90255-2](https://doi.org/10.1016/0306-4522(88)90255-2)

33. Kirimura K., Cao W., Onda Y., Yoshioka I., Ishii Y. Selective and high-yield production of ethyl α -D-glucopyranoside by the α -glucosyl transfer enzyme of *Xanthomonas campestris* WU-9701 and glucose isomerase // *J Biosci Bioeng*. – 2022. – T. 134, № 3. – C. 220-225. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2022.06.012>

34. Jones P. J., AbuMweis S. S. Phytosterols as functional food ingredients: linkages to cardiovascular disease and cancer // *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. – 2009. – T. 12, № 2. – C. 147-51. <https://doi.org/10.1097/mco.0b013e328326770f>

35. Jäger S., Trojan H., Kopp T., Laszczyk M. N., Scheffler A. Pentacyclic triterpene distribution in various plants - rich sources for a new group of multi-potent plant extracts // *Molecules*. – 2009. – T. 14, № 6. – C. 2016-31. <https://doi.org/10.3390/molecules14062016>

36. Zhang W., Huang J., Wang W., Li Q., Chen Y., Feng W., Zheng D., Zhao T., Mao G., Yang L. Extraction, purification, characterization and antioxidant activities of polysaccharides from *Cistanche tubulosa* // *International journal of biological macromolecules*. – 2016. – T. 93. – C. 448-458. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.08.079>

REFERENCES

1. Sarsenbayev K. N. Medicinally Important Plants of Kazakhstan // *Vegetation of Central Asia and Environs / Egamberdieva D., Öztürk M.* – Cham: Springer International Publishing, 2018. – C. 263-289.

2. Elshafie H. S., Camele I., Mohamed A. A. A Comprehensive Review on the Biological, Agricultural and Pharmaceutical Properties of Secondary Metabolites Based-Plant Origin // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – T. 24, № 4. – C. 3266.

3. Ofoedum A. F., Uyanwa N. C., Chikelu E. C., Iroagba L. N., Ugwoezuonu J. N., Anaekwe E. J., Odeyemi T. A., Okezie F. P., Nwuka M. U. Primary and Secondary Metabolites as Products of Microbial Metabolism: Uses and Application in Foods, Pharmaceutical and Allied Industries. A Review // *European Journal of Applied Science, Engineering and Technology*. – 2024. – T. 2, № 2. – C. 4-16. [https://doi.org/10.59324/ejaset.2024.2\(2\).01](https://doi.org/10.59324/ejaset.2024.2(2).01)

4. Bhatla S. C., Lal M. A. Secondary Metabolites // *Plant Physiology, Development and Metabolism / Bhatla S. C., Lal M. A.* – Singapore: Springer Nature Singapore, 2023. – C. 765-808.

5. Maran S., Yeo W. W. Y., Lim S.-H. E., Lai K.-S. Plant Secondary Metabolites for Tackling Antimicrobial Resistance: A Pharmacological Perspective // *Antimicrobial Resistance: Underlying Mechanisms and Therapeutic Approaches / Kumar V. и др.* – Singapore: Springer Nature Singapore, 2022. – C. 153-173.

6. Durairaj T., Alagappan C., Suresh S. S. R., Ramasamy V. An Introductory Chapter: Secondary Metabolites // *Secondary Metabolites / Ramasamy V., Suresh S. S. R.* – Rijeka: IntechOpen, 2018. – C. Ch. 1.

7. Song Y., Zeng K., Jiang Y., Tu P. *Cistanche Herba*, from an endangered species to a big brand of Chinese medicine // *Medicinal Research Reviews*. – 2021. – T. 41, № 3. – C. 1539-1577. <https://doi.org/10.1002/med.21768>

8. Li Z., Lin H., Gu L., Gao J., Tzeng C.-M. Herba *Cistanche* (Rou Cong-Rong): One of the Best Pharmaceutical Gifts of Traditional Chinese Medicine // *Frontiers in Pharmacology*. – 2016. – T. 7. <https://doi.org/10.3389/fphar.2016.00041>

9. Lv H.-N., Zeng K.-W., Song Y.-L., Jiang Y., Tu P.-F. Phytochemical and Pharmacological Overview of *Cistanche* Species // *Recent Advances in Polyphenol Research*, 2017. – C. 313-341.

10. Fu Z., Fan X., Wang X., Gao X. *Cistanche Herba*: An overview of its chemistry, pharmacology, and pharmacokinetics property // *Journal of Ethnopharmacology*. – 2018. – T. 219. – C. 233-247. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.08.012>

org/10.1016/j.jep.2017.10.015

11. Jiang L., Zhou B., Wang X., Bi Y., Guo W., Wang J., Yao R., Li M. The Quality Monitoring of Cistanche Herba (Cistanche deserticola Ma): A Value Chain Perspective // *Frontiers in Pharmacology*. – 2021. – T. 12. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.782962>

12. Huang J., Zhao D., Cui C., Hao J., Zhang Z., Guo L. Research Progress and Trends of Phenylethanoid Glycoside Delivery Systems // *Foods*. – 2022. – T. 11, № 5. – C. 769.

13. Xue Z., Yang B. Phenylethanoid Glycosides: Research Advances in Their Phytochemistry, Pharmacological Activity and Pharmacokinetics // *Molecules*. – 2016. – T. 21, № 8. – C. 991.

14. Tian X.-Y., Li M.-X., Lin T., Qiu Y., Zhu Y.-T., Li X.-L., Tao W.-D., Wang P., Ren X.-X., Chen L.-P. A review on the structure and pharmacological activity of phenylethanoid glycosides // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2021. – T. 209. – C. 112563. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112563>

15. Hui R., Hou D., Li T., Guan C. Analysis of volatile components in Herba Cistanche // *Fenxi Huaxue*. – 2003. – T. 31, № 5. – C. 601-603.

16. Xu R., Sun S., Zhu W., Xu C., Liu Y., Shen L., Shi Y., Chen J. Multi-step infrared macro-fingerprint features of ethanol extracts from different Cistanche species in China combined with HPLC fingerprint // *Journal of Molecular Structure*. – 2014. – T. 1069. – C. 236-244. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2014.03.061>

17. Piechocka J., Wiczorek M., Głowacki R. Gas Chromatography–Mass Spectrometry Based Approach for the Determination of Methionine-Related Sulfur-Containing Compounds in Human Saliva // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2020. – T. 21, № 23. – C. 9252.

18. Krone N., Hughes B. A., Lavery G. G., Stewart P. M., Arlt W., Shackleton C. H. Gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) remains a pre-eminent discovery tool in clinical steroid investigations even in the era of fast liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC/MS/MS) // *J Steroid Biochem Mol Biol*. – 2010. – T. 121, № 3-5. – C. 496-504. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2010.04.010>

19. Zhou S.-q., Feng D., Zhou Y.-x., Zhao J., Zhao J.-y., Guo Y., Yan W.-j. HS-GC-IMS detection of volatile organic compounds in cistanche powders under different treatment methods // *LWT*. – 2022. – T. 165. – C. 113730. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113730>

20. Musa A., El-Massry K. F., El-Ghorab A. H., Farouk A., Ali H. M., Abdelgawad M. A., Naguib I. A., Mostafa E. M. Volatile Constituents of Cistanche tubulosa and Their Antioxidant and Antimicrobial Potentials // *Records of Natural Products*. – 2021. – T. 15, № 4. <https://doi.org/10.25135/rnp.220.20.11.1859>

21. Balasundram N., Sundram K., Samman S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses // *Food Chemistry*. – 2006. – T. 99, № 1. – C. 191-203. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.042>

22. Cheynier V. Phenolic compounds: from plants to foods // *Phytochemistry Reviews*. – 2012. – T. 11, № 2. – C. 153-

177. <https://doi.org/10.1007/s11101-012-9242-8>

23. de Lima Cherubim D. J., Buzanello Martins C. V., Oliveira Fariña L., da Silva de Lucca R. A. Polyphenols as natural antioxidants in cosmetics applications // *J Cosmet Dermatol*. – 2020. – T. 19, № 1. – C. 33-37. <https://doi.org/10.1111/jocd.13093>

24. Dai J., Mumper R. J. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties // *Molecules*. – 2010. – T. 15, № 10. – C. 7313-7352. <https://doi.org/10.3390/molecules15107313>

25. Rajashekar Y., Raghavendra A., Bakthavatsalam N. Acetylcholinesterase Inhibition by Biofumigant (Coumaran) from Leaves of Lantana camara in Stored Grain and Household Insect Pests // *BioMed Research International*. – 2014. – T. 2014, № 1. – C. 187019. <https://doi.org/10.1155/2014/187019>

26. Borthwick A. D. 2,5-Diketopiperazines: Synthesis, Reactions, Medicinal Chemistry, and Bioactive Natural Products // *Chemical Reviews*. – 2012. – T. 112, № 7. – C. 3641-3716. <https://doi.org/10.1021/cr200398y>

27. Yan P. S., Song Y., Sakuno E., Nakajima H., Nakagawa H., Yabe K. Cyclo(L-leucyl-L-prolyl) produced by *Achromobacter xylosoxidans* inhibits aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* // *Appl Environ Microbiol*. – 2004. – T. 70, № 12. – C. 7466-73. <https://doi.org/10.1128/aem.70.12.7466-7473.2004>

28. Gideon V. A. GC-MS analysis of phytochemical components of *Pseudoglochidion anomalayanum* Gamble: An endangered medicinal tree // *Asian Journal of Plant Science & Research*. – 2015. – T. 5.

29. Shaaban M. T., Ghaly M. F., Fahmi S. M. Antibacterial activities of hexadecanoic acid methyl ester and green-synthesized silver nanoparticles against multidrug-resistant bacteria // *Journal of basic microbiology*. – 2021. – T. 61, № 6. – C. 557-568. <https://doi.org/10.1002/jobm.202100061>

30. Wang X., Wang J., Guan H., Xu R., Luo X., Su M., Chang X., Tan W., Chen J., Shi Y. Comparison of the Chemical Profiles and Antioxidant Activities of Different Parts of Cultivated Cistanche deserticola Using Ultra Performance Liquid Chromatography-Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry and a 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl-Based Assay // *Molecules*. – 2017. – T. 22, № 11. – C. 2011. <https://doi.org/10.3390/molecules22112011>

31. Handbook of cosmetic science and technology. / Barel A. O., Paye M., Maibach H. I.: CRC press, 2014.

32. Wightman R. M., Amatore C., Engstrom R. C., Hale P. D., Kristensen E. W., Kuhr W. G., May L. J. Real-time characterization of dopamine overflow and uptake in the rat striatum // *Neuroscience*. – 1988. – T. 25, № 2. – C. 513-23. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(88\)90255-2](https://doi.org/10.1016/0306-4522(88)90255-2)

33. Kirimura K., Cao W., Onda Y., Yoshioka I., Ishii Y. Selective and high-yield production of ethyl α -D-glucopyranoside by the α -glucosyl transfer enzyme of *Xanthomonas campestris* WU-9701 and glucose isomerase // *J Biosci Bioeng*. – 2022. – T. 134, № 3. – C. 220-225. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2022.06.012>

34. Jones P. J., AbuMweis S. S. Phytosterols as functional food ingredients: linkages to cardiovascular disease and cancer

// Curr Opin Clin Nutr Metab Care. – 2009. – T. 12, № 2. – C. 147-51. <https://doi.org/10.1097/mco.0b013e328326770f>

35. Jäger S., Trojan H., Kopp T., Laszczyk M. N., Scheffler A. Pentacyclic triterpene distribution in various plants - rich sources for a new group of multi-potent plant extracts // Molecules. – 2009. – T. 14, № 6. – C. 2016-31. <https://doi.org/10.3390/molecules14062016>

36. Zhang W., Huang J., Wang W., Li Q., Chen Y., Feng W., Zheng D., Zhao T., Mao G., Yang L. Extraction, purification, characterization and antioxidant activities of polysaccharides from *Cistanche tubulosa* // International journal of biological macromolecules. – 2016. – T. 93. – C. 448-458. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.08.079>

ПРИЛОЖЕНИЯ
ПРИЛОЖЕНИЕ А

Результаты хроматографического анализа образца № 6

№	Время удерживания, мин	Наименование соединения	Вероятность идентификации, %	Процентное содержание, %
1	11,32	Октадеканаль, 2-бром-	67	4,8
2	12,12	Бензол, 4-этинил-1,2-диметокси-	79	6,7
3	13,06	Глутаровая кислота, бутиловый ундециловый эфир	65	2,9
4	13,36	Этанон, 1-(2-гидрокси-5-метилфенил)-	81	9,4
5	14,04	Гексадекановая кислота, метиловый эфир	77	11,8
6	14,26	Триэтиленгликоль	64	3,3
7	14,34	Фенол, 2,4-бис(1,1-диметилэтил)-	86	8,3
8	14,43	Гексадекановая кислота, этиловый эфир	71	8,5
9	14,99	Бензофуран, 2,3-дигидро-	68	5,4
10	15,81	Гептадекановая кислота, 16-метил, метиловый эфир	65	10,5
11	17,28	Тетраэтиленгликоль	80	11,5
12	18,33	Гомованилиловый спирт	69	3,9
13	18,70	Монододециловый эфир диэтиленгликоля	70	13,2

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Результаты хроматографического анализа образца №36

№	Время удерживания, мин	Наименование соединения	Вероятность идентификации, %	Процентное содержание, %
1	11,10	Этанол, 2,2'-оксибис-	66	0,86
2	11,43	Фенол	75	0,77
3	11,48	1-ундеканол	70	1,37
4	11,69	Пантолактон	73	0,54
5	11,95	Додецил акрилат	76	0,60
6	13,34	Этанон, 1-(2-гидрокси-5-метилфенил)-	83	1,65
7	13,43	1-Гексадеканол	73	0,90
8	13,96	Фенол, 2,6-диметокси-	74	0,99
9	14,03	Гексадекановая кислота, метиловый эфир	75	4,26
10	14,34	Фенол, 2,4-бис(1,1-диметилэтил)-	86	2,27
11	14,98	Бензофуран, 2,3-дигидро-	75	0,82
12	15,45	Три(пропиленгликоль) пропиловый эфир	68	0,62
13	15,79	Гептадекановая кислота, 16-метил, метиловый эфир	70	2,34
14	15,88	13-Октадеценная кислота, метиловый эфир	81	2,11
15	16,19	9,12-Октадекадиеновая кислота (Z,Z)-, метиловый эфир	92	4,12
16	16,36	Пропаноиновая кислота, 3-меркапто-, додециловый эфир	66	0,58
17	16,51	Этанон, 1-(3,4-диметоксифенил)-	68	0,92
18	16,66	9,12,15-октадекатриеновая кислота, метиловый эфир, (Z,Z,Z)-	75	0,86
19	16,90	Уксусная кислота n-октадециловый эфир	73	0,64
20	17,10	Монододециловый эфир диэтиленгликоля	79	0,88
21	17,26	Тетраэтиленгликоль	92	3,79
22	17,52	Дибутилфталат	83	0,53
23	17,67	3-Метил-4-фенил-1Н-пиррол	77	0,57
24	17,71	Фенол, 2,6-диметокси-4-(2-пропенил)-	86	1,51
25	17,91	3,7,11,14,18-Пентаокса-2,19-дисилайкозан, 2,2,19,19-тетраметил-	69	1,49
26	18,32	Гомованилиловый спирт	81	1,23
27	18,91	Гексадекановая кислота	87	0,44
28	19,44	Бензолэтанол, 4-гидрокси-	80	1,03
29	19,58	Бензолэтанол, 4-гидрокси-	65	0,56
30	19,90	Монододециловый эфир триэтиленгликоля	73	2,77
31	20,25	Гексаэтиленгликоль	77	3,46
32	20,90	9,12-октадекадиеновая кислота (Z,Z)-	67	3,50
33	21,31	Монододециловый эфир триэтиленгликоля	66	6,73
34	22,63	Этил α -D-глюкопиранозид	85	44,30

ПРИЛОЖЕНИЕ В

Результаты хроматографического анализа образца №40

№	Время удерживания, мин	Наименование соединения	Вероятность идентификации, %	Процентное содержание, %
1	11,10	Этанол, 2,2'-оксибис-	64	0,66
2	11,44	Фенол	76	0,69
3	11,95	Додецил акрилат	75	0,66
4	13,27	Фенол, 2,4-дихлор-	69	0,48
5	13,35	Этанон, 1-(2-гидрокси-5-метилфенил)-	79	0,80
6	13,43	1-гексадеканол	72	0,65
7	13,97	Фенол, 2,6-диметокси-	67	0,59
8	14,03	Гексадекановая кислота, метиловый эфир	75	4,37
9	14,25	Триэтиленгликоль	83	1,81
10	14,34	Фенол, 2,4-бис(1,1-диметилэтил)-	88	1,70
11	14,99	Бензофуран, 2,3-дигидро-	72	0,50
12	15,79	Гептадекановая кислота, 16-метил, метиловый эфир	70	1,86
13	15,88	13-Октадеценная кислота, метиловый эфир	83	1,79
14	16,11	9,12-октадекадиеновая кислота (Z,Z)-, метиловый эфир	90	0,24
15	16,36	Пропаноиновая кислота, 3-меркапто-, додециловый эфир	66	0,59
16	16,52	2-(3,4-Диметоксифенил)-6-метил-3,4-хромандиол	72	0,63
17	16,66	9,12,15-октадекатриеновая кислота, метиловый эфир, (Z,Z,Z)-	70	0,59
18	16,90	1-Гексадеканол	72	0,59
19	17,10	Монододециловый эфир диэтиленгликоля	76	0,62
20	17,26	Тетраэтиленгликоль	88	2,10
21	17,44	Эйкозаноиновая кислота, метиловый эфир	64	0,62
22	17,52	Фталевая кислота, бутиловый гепт-4-ил эфир	83	0,45
23	17,71	Фенол, 2,6-диметокси-4-(2-пропенил)-	84	1,02
24	18,32	Гомованилиловый спирт	82	0,90
25	18,69	Монододециловый эфир диэтиленгликоля	71	1,30
26	18,98	Гексадекановая кислота	85	3,48
27	19,44	Бензолэтанол, 4-гидрокси-	85	1,44
28	20,25	Гептаэтиленгликоль	77	2,42
29	20,98	Ди-н-октилфталат	66	2,14
30	21,11	Пирроло[1,2-а]пиазин-1,4-дион, гексагидро-3-(2-метилпропил)-	77	1,88
31	21,31	Монододециловый эфир триэтиленгликоля	69	3,88
32	21,54	β -D-глюкопираноза, 1,6-ангидро-	86	5,25
33	22,09	1,4-Бензендикарбоновая кислота, бис(2-этилгексил) эфир	71	9,37
34	22,64	Этиловый α -D-глюкопиранозид	87	24,94
35	22,96	γ -Ситостерол	75	19,01

ПРИЛОЖЕНИЕ Г

Результаты хроматографического анализа образца №41

№	Время удерживания, мин	Наименование соединения	Вероятность идентификации, %	Процентное содержание, %
1	11,42	Фенол	77	0,82
2	11,47	1-ундеканол	76	1,16
3	11,69	Пантолактон	72	0,85
4	11,77	Фенол, 4-этил-2-метокси-	71	0,36
5	11,94	Додецил акрилат	73	0,42
6	12,10	п-Крезол	66	1,46
7	13,24	Фенол, 2,4-дихлор-	73	0,55
8	13,32	2-метокси-4-винилфенол	89	4,55
9	13,93	Фенол, 2,6-диметокси-	93	2,70
10	14,02	Гексадекановая кислота, метиловый эфир	77	4,42
11	14,27	5-Тиазолэтанол, 4-метил	87	3,38
12	14,34	Фенол, 2,4-бис(1,1-диметилэтил)-	83	1,88
13	14,78	1,4:3,6-диангидро- α -D-глюкопираноза	75	0,58
14	14,97	Бензофуран, 2,3-дигидро-	82	1,20
15	15,23	1-Гексадеканол	70	0,60
16	15,80	Гептадекановая кислота, 16-метил, метиловый эфир	72	1,41
17	15,87	13-Октадеценная кислота, метиловый эфир	82	1,52
18	15,93	12-Октадеценная кислота, метиловый эфир	75	0,55
19	16,19	Метил 9-цис, 11-транс-октадекадиеноат	90	3,60
20	16,50	3',5'-Диметоксиацетофенон	80	1,88
21	16,65	9,12,15-октадекатриеновая кислота, метиловый эфир, (Z,Z,Z)-	76	0,83
22	17,10	Монододециловый эфир диэтиленгликоля	67	0,36
23	17,25	Тетраэтиленгликоль	88	2,19
24	17,69	Фенол, 2,6-диметокси-4-(2-пропенил)-	88	7,33
25	18,31	Гомованилиловый спирт	94	3,91
26	18,43	1H-пиррол, 2-фенил	70	1,15
27	18,98	Гексадекановая кислота	89	4,55
28	19,36	Ниацинамид	68	1,47
29	19,43	Бензолэтанол, 4-гидрокси-	78	1,04
30	19,64	Дезаспидинол	72	0,54
31	20,24	Пентаэтиленгликоль	88	2,04
32	20,41	Монододециловый эфир гептаэтиленгликоля	73	1,95
33	20,89	9,12-октадекадиеновая кислота (Z,Z)-	80	2,15
34	21,04	Сахароза	69	1,82
35	21,11	Пирроло[1,2-а]пиазин-1,4-дион, гексагидро-3-(2-метилпропил)-	75	1,17
36	21,31	Монододециловый эфир триэтиленгликоля	70	1,72
37	21,53	β -D-глюкопираноза, 1,6-ангидро-	88	8,15
38	22,63	Этил α -D-глюкопиранозид	85	23,71

ПРИЛОЖЕНИЕ Д

Результаты хроматографического анализа образца №42

№	Время удерживания, мин	Наименование соединения	Вероятность идентификации, %	Процентное содержание, %
1	11,42	Фенол	90	0,97
2	11,68	Пантолактон	82	0,75
3	11,77	Фенол, 4-этил-2-метокси-	81	0,59
4	11,94	Додецил акрилат	75	0,38
5	12,22	п-Крезол	76	0,63
6	13,24	Фенол, 2,4-дихлор-	78	0,53
7	13,33	2-метокси-4-винилфенол	90	2,14
8	13,94	Фенол, 2,6-диметокси-	87	1,08
9	14,02	Гексадекановая кислота, метиловый эфир	73	4,86
10	14,27	5-Тиазолэтанол, 4-метил	86	2,16
11	14,34	Фенол, 2,4-бис(1,1-диметилэтил)-	83	1,44
12	14,78	1,4:3,6-диангидро- α -D-глюкопираноза	77	0,59
13	14,97	Бензофуран, 2,3-дигидро-	79	0,74
14	15,44	Сукцинимид	68	0,45
15	15,78	Гептадекановая кислота, 16-метил, метиловый эфир	70	1,15
16	15,87	11-Октадеценная кислота, метиловый эфир, (Z)-	84	1,45
17	16,19	9,12-октадекадиеновая кислота (Z,Z)-, метиловый эфир	93	4,29
18	16,50	3',5'-Диметоксиацетофенон	77	0,71
19	16,65	9,12,15-октадекатриеновая кислота, метиловый эфир, (Z,Z,Z)-	81	0,83
20	17,25	Тетраэтиленгликоль	90	1,69
21	17,66	3-Метил-4-фенил-1Н-пиррол	76	0,59
22	17,70	Фенол, 2,6-диметокси-4-(2-пропенил)-	87	1,43
23	18,31	Гомованилиловый спирт	93	2,80
24	18,43	1Н-пиррол, 2-фенил	71	0,97
25	18,97	Гексадекановая кислота	89	3,34
26	19,36	Ниацинамид	70	1,05
27	19,43	Бензолэтанол, 4-гидрокси-	81	0,71
28	19,58	Гидрохинон	68	0,42
29	19,64	Дезаспидиол	64	0,27
30	20,15	Пирроло[1,2-а]пирозин-1,4-дион, гексагидро-3-(2-метилпропил)-	67	1,61
31	20,24	Пентаэтиленгликоль	86	1,80
32	20,88	9,12-Октадекадиеновая кислота (Z,Z)-	86	2,98
33	21,53	β -D-глюкопираноза, 1,6-ангидро-	88	8,23
34	22,04	2-Пиперидинон, 1-(3,4,5,6-тетрагидро-2-пиридинил)-	67	4,58
35	22,64	Этил α -D-глюкопиранозид	83	41,78

UDC: 58.085

IDENTIFICATION OF SECONDARY METABOLITES BY GAS CHROMATOGRAPHY WITH MASS SPECTROSCOPY IN CALLUS TISSUES OF *CISTANCHE DESERTICOLA* Y.C. MAM.Y. Sutula¹, N.N. Gubaidullin¹, A.O. Rakhimzhanova¹, S.A. Manabayeva^{1,2*}¹National Center for Biotechnology, 010000, Kazakhstan, Astana, Korgalzhyn hwy., 13/5²L.N. Gumilyov Eurasian National University, 010008, Kazakhstan, Astana, Satpayev str., 2

*Corresponding author: manabayeva@biocenter.kz

ABSTRACT

The aim of this study is to analyze the types of secondary metabolite compounds found in cistanche (*Cistanche deserticola*) plants. Methanolic extracts of callus tissues and shoots (stolon) of cistanche were obtained by lyophilic drying and grinding to powdered state using 80% methanol. Secondary metabolites within cistanche callus were first identified by GC-MS (gas chromatography-mass spectroscopy). The identification results of the methanolic extracts revealed various types of compounds including fatty acids (hexadecanoic acid, methyl ester); phenolic compounds and their derivatives (phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-, 2-methoxy-4-vinylphenol, homovanillyl alcohol, phenol, 2,6-dimethoxy); sterols (γ -sitosterol); sugars, glycosides and other carbohydrates (ethyl α -D-glucopyranoside, sucrose), glycols and their derivatives (tetraethylene glycol, diethylene glycol monododecyl ether), etc. Some of the detected compounds may be precursors or by-products of phenylethanoid glycosides biosynthesis. We also found a correlation between callus color and its chemical composition of secondary metabolites. The data can be used for further optimization of *C. deserticola* cultivation methods to increase the content of target secondary metabolites.

Keywords: *C. deserticola*, GC-MS, Kazakhstan, metabolites.

ӘОЖ: 58.085

CISTANCHE DESERTICOLA КАЛЛУС ҰЛПАЛАРЫНДАҒЫ МАСС-СПЕКТРОСКОПИЯСЫ БАР ГАЗ ХРОМАТОГРАФИЯСЫ АРҚЫЛЫ ЕКІНШІ РЕТТІК МЕТАБОЛИТТЕРДІ АНЫҚТАУМА

М.Ю. Сутула¹, Н.Н. Гүбайдуллин¹, А.О. Рахимжанова¹, Ш.А. Манабаева^{1,2*}¹Ұлттық биотехнология орталығы, 010000, Қазақстан, Астана қ., Қорғалжын тас жолы, 13/5²Л.Н.Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, 010008, Қазақстан, Астана қ., Сәтпаев көш., 2

*Корреспондент автор: manabayeva@biocenter.kz

ТҮЙІН

Бұл зерттеудің мақсаты цистанхе (*Cistanche deserticola*) өсімдіктерінде кездесетін екінші реттік метаболиттік қосылыстардың түрлерін талдау болып табылады. цистанхе каллус ұлпалары мен өскіндерінің (столон) метанол сығындылары 80% метанолды қолдана отырып, лиофильді кептіру және ұнтақ күйіне дейін ұнтақтау арқылы алынды. Цистанхе каллусының құрамындағы екінші реттік метаболиттер алғаш рет МС-ГХ (масс-спектроскопиямен газ хроматографиясы) көмегімен анықталды. Метанол сығындыларын сәйкестендіру нәтижелері қосылыстардың әртүрлі түрлерін, соның ішінде май қышқылдарын (гексадекан қышқылы, метил эфирі); фенол қосылыстары және олардың туындылары (фенол, 2,4-бис(1,1-диметилэтил)-, 2-метокси-4-винилфенол, гомованилил спирті, фенол, 2,6-диметокси); стеролдар (γ -ситостерол); қант, гликозидтер және басқа көмірсулар (этил α -D-глюкопиранозид, сахароза), гликольдер және олардың туындылары (тетраэтиленгликоль, диэтиленгликоль монододецил эфирі) және т. б. Табылған кейбір қосылыстар фенилетаноидты гликозидтер биосинтезінің прекурсорлары немесе жанама өнімдері болуы мүмкін. Сондай-ақ, біз каллустың түсі мен оның екінші реттік метаболиттердің химиялық құрамы арасындағы корреляцияны анықтадық. Алынған мәліметтер мақсатты екінші реттік метаболиттердің құрамын арттыру мақсатында *C. deserticola* өсіру әдістерін одан әрі оңтайландыру үшін пайдалануға болады.

Кілт сөздер: *C. deserticola*, Қазақстан, МС-ГХ, метаболиттер.