



## Культура клеток *Scorzonera hispanica* L., штамм СФР-SH1. Основные вторичные метаболиты

А.А. Семёнов, А.Г. Еникеев✉

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, г. Иркутск, Российская Федерация

**Аннотация.** Культуры клеток растений широко используются в мировой фармацевтической промышленности в качестве сырья для получения биологически активных соединений. Развитию этого направления биотехнологии способствуют определенные преимущества, включая независимость от сезонных условий, болезней и их переносчиков, возможность получить необходимое количество требуемого продукта, обладающего стандартными качественными характеристиками. Еще одним преимуществом метода является возможность получения в силу особенностей биологии культур клеток новых соединений, биосинтез которых в интактном растении не происходит. Представлен обзор результатов исследований вторичных метаболитов, выделенных из культуры клеток *Scorzonera hispanica* L., штамм СФР-SH1 – источника биомассы, обладающей биологической активностью. Кратко представлена история изучаемого штамма. Описаны схемы выделения и очистки вторичных метаболитов. Обнаруженные в клетках основные вторичные метаболиты условно разделены на три группы. В первую включены соединения, характерные для большинства растений:  $\beta$ -ситостерин и его глюкозид, метиловый эфир кофейной кислоты, олеановая кислота. Ко второй группе отнесены соединения, сравнительно редко встречаемые в растительных объектах: моноглюкозид сирингарезинола. В третью группу включены два соединения, впервые выделенные из природных объектов: сесквитерпеновый глюкозид, скорзозид и неолигнан скорзозид. Проведен сравнительный анализ полученных результатов с имеющимися в настоящее время в научной литературе данными по химическому составу нативных растений *S. hispanica* и некоторых других представителей рода *Scorzonera*. Из обнаруженных в культивируемых клетках химических соединений наибольший практический интерес представляет моноглюкозид сирингарезинола – вещество, обладающее высокой биологической активностью. Описаны изменения по неустановленной причине физико-химических характеристик этого соединения в процессе длительного культивирования.

**Ключевые слова:** *Scorzonera hispanica* L., культура клеток, вторичные метаболиты

**Для цитирования:** Семёнов А.А., Еникеев А.Г. Культура клеток *Scorzonera hispanica* L., штамм СФР-SH1. Основные вторичные метаболиты // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2023. Т. 13. N 3. С. 409–415. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-3-409-415>. EDN: DAARPC.

### PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Review article

## Cell culture of *Scorzonera hispanica* L., strain SFR-SH1. Major secondary metabolites

Arkadiy A. Semenov, Andrey G. Enikeev✉

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, Irkutsk, Russian Federation

**Abstract.** Plant cell cultures are widely used in the world pharmaceutical industry as a raw material for the production of biologically active compounds. Their certain advantages, such as independence from seasonal conditions, diseases and their transmitter, contribute to the development of this area of biotechnology. In addition, it is possible to obtain the required quantity of the desired product with standard quality characteristics. Since the biosynthesis of new compounds does not occur in the intact plant, another advantage of this method arises. It consists in obtaining new substances due to the peculiarities of cell culture biology. The conducted review represents secondary metabolites isolated from the cell culture of *Scorzonera hispanica* L., strain SFR-SH1, possessing biological activity. In addition, the history of developing the selected strain and schemes for isolation and purification of secondary metabolites are demonstrated. For a clearer discussion, the main secondary metabolites found in cells are broadly divided into three groups. The first group includes compounds typical of most plants:  $\beta$ -sitosterol and its glucoside, caffeic acid methyl ester and oleanic acid. The second group contains syringaresinol monoglucoside, which is relatively rare in plant objects. The third group includes two compounds isolated from natural objects for the first time: sesquiterpene

© Семёнов А.А., Еникеев А.Г., 2023

glucoside, scorzoside and neolignan scorzonoside. The results obtained were compared with the available literature data on the chemical composition of native plants of *S. hispanica* and other *Scorzonera* genera species. Due to its high biological activity, Syringaresinol monoglycoside attracts more attention than other compounds detected in cultured cells. Long-term cultivation of Monoglycoside leads to an alteration in the physicochemical characteristics of this compound for an unknown reason.

**Keywords:** *Scorzonera hispanica* L., cell culture, secondary metabolites

**For citation:** Semenov A.A., Enikeev A.G. Cell culture of *Scorzonera hispanica* L., strain SFR-SH1. Major secondary metabolites. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2023;13(3):409-415. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-3-409-415>. EDN: DAARPC.

## ВВЕДЕНИЕ

Общая тенденция развития фарминдустрии состоит в дальнейшем внедрении в лечебную практику лекарственных средств, получаемых на основе природных соединений, преимущественно растительного происхождения, или их модификаций [1–3]. Лимитирующим звеном использования лекарственных растений в фармацевтическом производстве часто является ограниченная сырьевая база, исключающая возможность сбора растений в дикой природе. Задача может быть успешно решена с помощью методов культур тканей и изолированных органов. В настоящее время биотехнологические методы получения субстанций для производства лекарств широко применяются в мировой фармацевтической промышленности [4, 5]. Дополнительные возможности для создания новых лекарств открываются вследствие наличия у отдельных штаммов биосинтеза биологически активных соединений, отсутствующих в интактном растении [6].

Цель настоящего обзора – обобщение результатов исследований культуры клеток *Scorzonera hispanica* L., штамм СФР-SH1 (продуцент биологически активных соединений), проводившихся в течение более четырех десятилетий в институтах СО РАН.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

**Культура клеток козелеца испанского.** Растение *Scorzonera hispanica* L. (козелец испанский) семейства Asteraceae (Сложноцветные) широко распространено в умеренной зоне Евразии. Во многих странах Европы его корень используется как овощная культура, богатая инулином и другими несхарными полисахаридами. Растение также считается лекарственным [7]. Исходная культура клеток *S. hispanica* была получена из корнчато-галловой опухоли листа в середине 50-х годов прошлого века во Франции. В 1968 году предоставлена в Институт экспериментальной ботаники АН ЧССР (Прага), откуда в 1972 году передана в лабораторию биохимии фитогормонов Сибирского института физиологии и биохимии растений СО АН СССР (г. Иркутск). В 1973 году Л.М. Ошаровой и К.З. Гамбургером впервые была получена суспензионная культура и выделен новый штамм – СФР-SH1 (ВСКК-ВР №35). В 1991 году штамм депонирован во Всесоюзной коллекции культур клеток высших растений (ИФР РАН, г. Москва). Установлено, что клеточная масса обладает биологической активностью [8]. Изучение состава вторичных метаболитов в культивируемых клетках проведено

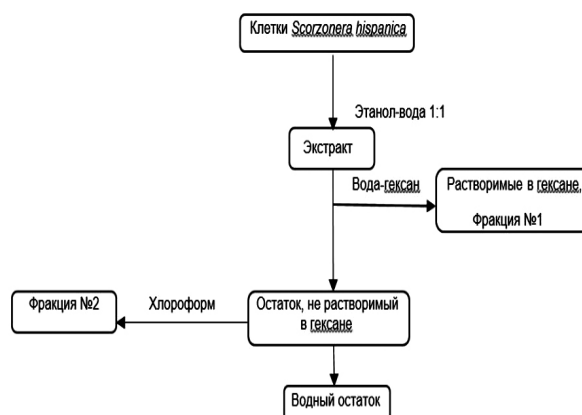


Рис. 1. Выделение фракций вторичных метаболитов культуры клеток *S. hispanica*

Fig. 1. Isolation of fractions of secondary metabolites of *S. hispanica* cell culture

в лаборатории природных соединений Иркутского института химии СО РАН.

**Выделение и идентификация вторичных метаболитов из культивируемых клеток.** В связи с наличием биологической активности биомассы штамма и перспективами его биотехнологического использования встал вопрос об идентификации обуславливающих эту активность соединений. Для выделения вторичных метаболитов клеточную массу освобождали от культуральной среды фильтрованием и исчерпывающе экстрагировали смесью этанол-вода (1:1). Полученный экстракт концентрировали до небольшого объема на роторном испарителе и фракционировали растворителями с возрастающей полярностью по схеме, представленной на рис. 1. Однако применение этой схемы показало, что значительное число вторичных метаболитов, в том числе биологически активных, имеет гидрофильный характер и остается в водном остатке. Поэтому использована дополнительная процедура с применением экстрактора непрерывного действия и жидкость-жидкостной хроматографии (рис. 2). Для выделения индивидуальных веществ послужили фракции №1 и 2 (см. рис. 1) и фракции №3–5 (см. рис. 2). Эти фракции подвергали дальнейшему фракционированию методами колоночной хроматографии (КХ), препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии высокого давления (ВЭЖХ) и жидкость-жидкостной хроматографии (ЖЖХ). В результате этого основные вторичные метаболиты клеток *S. hispanica* были выделены в чистом виде. Химическая структура исследуемых соединений установлена методами ядерного магнитного резонанса (ЯМР), ИК-спектроскопии (ИК), хромато-масс-спектрографии (МС), УФ-спектроскопии (УФ).

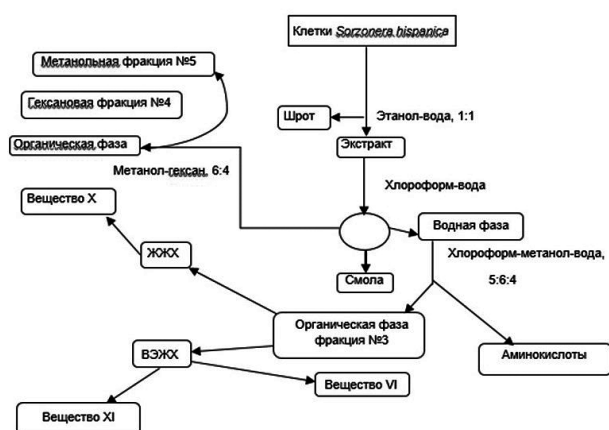


Рис. 2. Разделение гидрофильных вторичных метаболитов клеток *S. hispanica*

Fig. 2. Separation of hydrophilic secondary metabolites of *S. hispanica* cells

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Основные вторичные метаболиты культуры клеток *Scorzonera hispanica*. Основные вторичные метаболиты, обнаруженные в культивируемых клетках, представлены на рис. 3. Из фракции №1 (см. рис. 1) с помощью КХ на силикагеле гексаном и смесями гексан-бензол выделили сумму стерinov, которую анализировали методом МС. Использован масс-спектрометр LKB-2091 (LKB, Швеция), снабженный капиллярной колонкой с фазой SE-30 в изотермическом режиме. Отдельные компоненты смеси идентифицировались по их молекулярным ионам и пикам с  $m/z$   $[M-85]^+$  и  $[M-111]^+$ , характеристичным для  $\Delta^5$  стерinov. При этом установлено, что основным компонентом смеси является  $\beta$ -ситостерин (I) (см. рис. 3). Кроме того, в ней содержатся кампестерин ( $M^+$  400) и стигмастерин ( $M^+$  412).

Колонной хроматографией на силикагеле из фракции №2 (см. рис. 1) путем элюирования смесями бензола и ацетона выделено кристаллическое вещество с т.пл. 266–268° (из метанола-хлороформа). С помощью ЯМР-спектроскопии  $^{13}C$  и сравнением с аутентичной пробой оно идентифицировано как  $\beta$ -D-глюкопиранозид  $\beta$ -ситостерина (II) (см. рис. 3) [9].

Фракция «водный остаток» (см. рис. 1) подвергнута КХ на колонке с полиамидом в системе вода-метанол с увеличивающимся содержанием метанола. Фракцию, обогащенную индивидуальными компонентами по данным тонкослойной хроматографии, рехроматографировали на колонках с силикагелем. При этом выделили вещества III и IV (см. рис. 3). По данным ЯМР, ИК и МС первое соединение идентифицировано как кофейная кислота (III) [10]. Вещество IV,  $C_{10}H_{10}O_4$ , т.пл. 159–160°,  $M^+$  194 идентифицировано как метиловый эфир кофейной кислоты (см. рис. 3). Ранее сложный эфир IV был найден во многих растениях, например, в хвоще полевом [10].

Из фракций №1 и 2 (см. рис. 1) хроматографией на силикагеле в системе растворителей бензол-ацетон выделено белое кристаллическое вещество состава  $C_{30}H_{48}O_3$  с молекулярной массой 456. По данным ИК-спектроскопии оно содержало карбоксильную

группу. С помощью эфирного раствора диазометана оно было превращено в метиловый эфир, который по всем физическим свойствам и спектральным данным идентичен метиловому эфиру олеаноловой кислоты (V) (см. рис. 3) [11].

По дополнительной схеме (см. рис. 2) также выделено ранее неизвестное белое кристаллическое вещество, названное скорзонозидом [12]. Его структура и стереохимия как глюкозида сесквитерпенового лактона VI установлена комбинацией физико-химических методов (см. рис. 3). Несколько аналогичных гваяновых сесквитерпеноидов обнаружено в клетках близкородственного вида *S. divaricata* [13].

Из фракций №3 и 5 (см. рис. 2) методом противоточной капельной хроматографии в системе растворителей хлороформ-метанол-вода (5:6:4) выделено бесцветное кристаллическое вещество состава  $C_{28}H_{36}O_{13}$  с т. пл. 177–179°,  $[\alpha]_D^{25} -7^\circ$  и молекулярной массой 580 (FAB-масс-спектрометрия). Совокупность физико-химических методов (ИК, УФ, МС, ЯМР) позволила установить структуру моноглюкозида сингарезинола (МГСР) (VII) (см. рис. 3) [14] – соединения, обуславливающего основной спектр биологической активности клеточной массы [15].

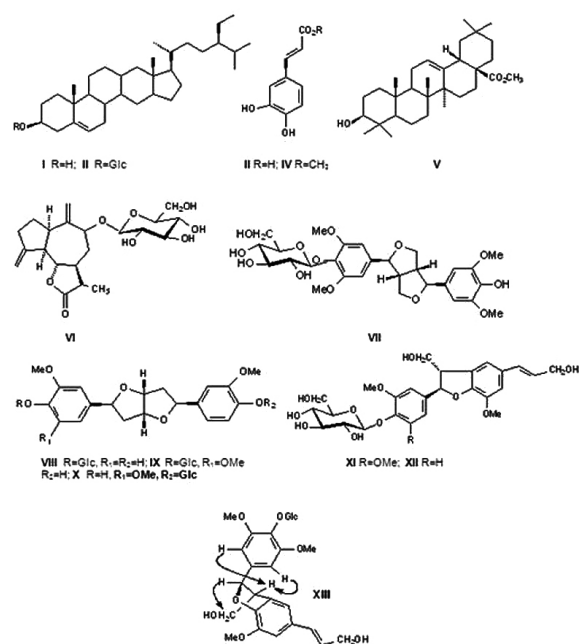


Рис. 3. Вторичные метаболиты культуры клеток *S. hispanica*

Fig. 3. Secondary metabolites of *S. hispanica* cell culture

Моноглюкозид сингарезинола является основным лигнаном, продуцируемым клетками *S. hispanica*. Его содержание в сырой биомассе составляет в среднем  $4 \times 10^{-2}\%$ . Кроме МГСР, в культуре клеток отмечен биосинтез его минорных аналогов. Их содержание в биомассе не превышает  $10^{-4}\%$ . Тем не менее удалось получить фракцию минорных фурановых лигнанов и разделить ее на три индивидуальных вещества с помощью препаративной ВЭЖХ. Установление строения их проведено на основании данных УФ-, ИК- и ЯМР-спектроскопии [16].

Соединения VIII и IX представляют собой ранее описанные 4"- $\beta$ -D-глюкопиранозиды пинорезинола и медиорезинола, а соединением X является



4"-β-D-глюкопиранозидом медиорезинола (см. рис. 3) [17, 18].

Кроме производных диарилбензофурана, среди минорных метаболитов найдены неолигнаны бензофуранового ряда [19, 20]. Они отделены от сопутствующего моноглюкозида сиригарезинола и разделены на два индивидуальных вещества комбинацией методов хроматографии. Их структура и стереохимия установлены с помощью методов двумерной ЯМР-спектроскопии как 4-β-D-глюкопиранозидов 5-метокси-дегидродикониферилового спирта (скорозид, XI, ранее неизвестное соединение) и дегидродикониферилового спирта XII (см. рис. 3). На формуле XIII (см. рис. 3) стрелками показаны чрезпространственные взаимодействия, выявленные при анализе спектра ROESY. Этим устранены разночтения относительно стереохимии арилфурановых неолигнанов, имеющиеся в литературе [21]. Интересно отметить, что выявленный из клеток лигнанный комплекс по компонентному составу близок к набору лигнанов широко известного в восточной медицине тонизирующего растения *Eucommia ulmoides* [22] и адаптогенного экстракта элеутерококка [23].

**Моноглюкозид сиригарезинола и его аналоги.** Сиригарезинол и его производные в природе существуют в виде нескольких стереоизомеров и их смесей. Культура клеток *S. hispanica* продуцирует только один стереоизомер МГСР, что следует из особенностей спектров ЯМР. Расшифровка спектров показала полную симметричность молекулы агликона, что возможно только при цис-сочленении тетрагидрофурановых колец и дипсевдоекваториальном расположении ароматических заместителей [24]. При кислотном гидролизе глюкозида образуется смесь стереоизомерных агликонов. В аморфном виде это вещество находили и в других растениях [25].

Клетки *S. hispanica* культивируются в течение многих десятков лет, и эта культура считается весьма стабильной. Еще в 1992 году авторы выделили из нее МГСР [14]. С тех пор это вещество неоднократно выделялось из этих клеток и использовалось в экспериментах по исследованию его биологической активности. Оно было достаточно хорошо охарактеризовано химически:  $C_{28}H_{36}O_{13}$ , т.пл. 177–179°,  $[\alpha]_{546}^{25} -7^\circ$ , молекулярная масса 580 (FAB-масс-спектрометрия), ЯМР-спектроскопия и др. Однако в 2014 году при попытке выделить МГСР вместо кристаллического вещества был получен аморфный продукт, по многим свойствам напоминающий желаемый лигнан. Он имел то же время удерживания и спектральные соотношения на ВЭЖХ, те же спектры ЯМР. Это исключало вещества других относительных конфигураций, биосинтез которых возможен в ряду фуранофурановых лигнанов. Продукция этого аморфного вещества клетками *S. hispanica* продолжается до сих пор. Важно, что другие авторы, выделявшие лигнан МГСР из растений, описывали его как аморфное вещество [26, 27], что контрастирует с приведенными выше характеристиками как кристаллического продукта. Так как все спектральные данные обеих форм идентичны, то можно предположить, что аморфная форма является псевдорацематом или конгломератом диастереомеров. Подтверждение этого имеет значение, помимо прочего, и для выяснения

противоречивых данных о биологических свойствах МГСР, т.к. энантиомеры и диастереомеры могут сильно отличаться друг от друга по этим свойствам. Причины изменения свойств указанного соединения не установлены и могут стать предметом самостоятельного исследования.

**Сравнение состава вторичных метаболитов культуры клеток и нативных растений *Scorzonera hispanica*.** Химический состав *S. hispanica* изучался преимущественно с позиций пищевой ценности этого растения как источника инулина в корнях [28, 29]. Авторам известно лишь несколько фитохимических исследований, посвященных изучению вторичных метаболитов надземной части растения. В листьях растения найдены многие обычные для растительного метаболизма вещества. Речь идет о таких соединениях, как β-ситостерин, тритерпеноиды амиринового ряда, например, α-амирин и его О-ацильные производные, хлорогеновая кислота и ацилированная хинная кислота, флавоноиды и фенолокислоты [7, 30, 31]. Эти общие для многих растений вещества присутствуют как в нативном растении, так и в культуре клеток (рис. 4).

Функции вторичных метаболитов в культурах клеток отличаются от таковых в растении. Клетки в изолированной культуре могут утрачивать способность к биосинтезу отдельных метаболитов, в то же время активируется биосинтез соединений, отсутствующих в нативном растении [32]. Поэтому в исследованном штамме не найдено тритерпенов и флавоноидов, а в надземной части растения не обнаружены лигнаны и неолигнаны.

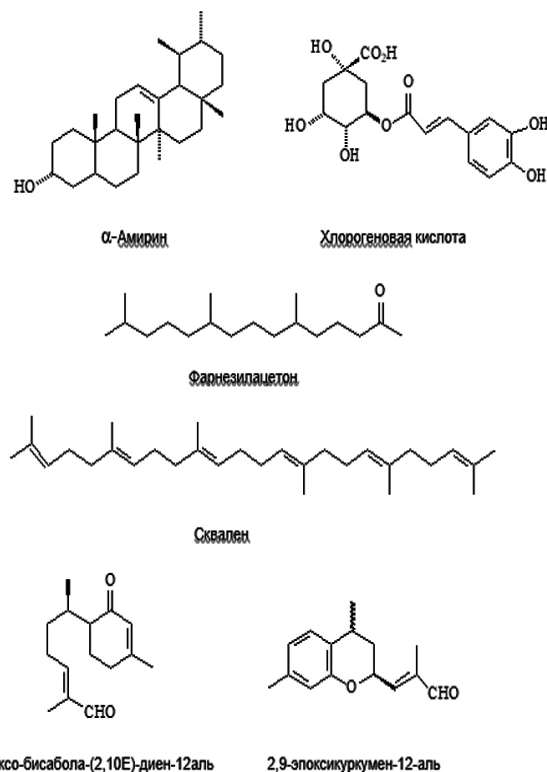


Рис. 4. Вторичные метаболиты надземной части растения *S. hispanica*

Fig. 4. Secondary metabolites of the aboveground part of the *S. hispanica* plant

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты анализа состава вторичных метаболитов в культуре клеток *S. hispanica* выявили отличия с таковым от нативного растения. Описан ряд редких и новых, ранее неизвестных соединений, обладающих

биологической активностью. Полученные данные позволяют рассматривать биомассу исследованного штамма в качестве источника биологически активных соединений, перспективных для создания новых лекарственных препаратов.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Shakya A.K. Medicinal plants: future source of new drugs // International Journal of Herbal Medicine. 2016. Vol. 4, no. 4. P. 59–64. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.1395.6085>.
2. Seca A.M.L., Pinto D.C.G.A. Plant secondary metabolites as anticancer agents: successes in clinical trials and therapeutic application // International Journal Molecular Science. 2018. Vol. 19, no. 1. P. 263. <https://doi.org/10.3390/ijms19010263>.
3. Majolo F., Delwing L.K.O.B., Marmitt D.J., Bustamante-Fiho I.C., Goettert M. Medicinal plants and bioactive natural compounds for cancer treatment: important advances for drug discovery // Phytochemistry Letters. 2019. Vol. 31. P. 196–207. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2019.04.003>.
4. Dias M.I., Sousa J.S., Alves R.C., Ferreira C.F.R. Exploring plant tissue culture to improve the production of phenolic compounds: a review // Industrial Crops and Products. 2016. Vol. 82. P. 9–22. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.12.016>.
5. Efferth T. Biotechnology applications of plant callus cultures // Engineering. 2019. Vol. 5, no. 1. P. 50–59. <https://doi.org/10.1016/j.eng.2018.11.006>.
6. Bhojwani S.S., Razdan M.K. Plant tissue culture: theory and practice, a revised edition. Amsterdam: Elsevier, 1996. 767 p.
7. Сампиев А.М., Хочава М.Р., Онбыш Т.Е., Шевченко А.И., Быкова О.А., Хазиева Ф.М. Современное состояние и перспективы дальнейшего исследования скорцонеры испанской (обзор) // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2020. Т. 23. N 1. С. 3–8. EDN: SWKBKW. <https://doi.org/10.29296/25877313-2020-01-01>.
8. Пат. N 2059718, Российская Федерация, C12N 5/00, A01H 4/00. Штамм *Scorzonera hispanica* ВСКК-ВРН35 – источник растительной биомассы, обладающей биологической активностью / К.З. Гамбург, Л.М. Ошарова, Е.Ф. Высокая, А.Г. Еникеев; заявитель и патентообладатель АО «Промет». Заявл. 05.06.1992; опубл. 05.10.1996.
9. Громова А.С., Тукало Е.А., Ганенко Т.В., Луцкий В.И., Витковский В.Ю. Гликозид (5)-ситостерина из *Aconitum czekanovskyi* Steinb., *Thalictrum foetidum* L., *Th. squarrosum* Stefti., *Th. minus* // Известия Сибирского отделения Академии наук СССР. Серия химических наук. 1986. N 3. С. 83–85.
10. Сырчина А.И., Семенов А.А., Тюкавкина Н.А., Витковский В.Ю., Воронков М.Г. Метилловые эфиры фенолокислот из *Equisetum arvense* // Химия природных соединений. 1981. N 5. С. 658.
11. Ogunkoy L. Application of mass spectrometry in structural problems in triterpenes // Phytochemistry. 1981. Vol. 20, no. 1. P. 121–126. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(81\)85230-2](https://doi.org/10.1016/0031-9422(81)85230-2).
12. Брянский О.В., Толстихина В.В., Семенов А.А. Сесквитерпеновый гликозид из культивируемых клеток *Scorzonera hispanica* // Химия природных соединений. 1992. N 6. С. 640–645.
13. Yang Y.-J., Yao J., Jin X.-J., Shi Z.-N., Shen T.-F., Fang J.-G., et al. Sesquiterpenoids and tirucallane triterpenoids from roots of *Scorzonera divaricate* // Phytochemistry. 2016. Vol. 124. P. 86–98. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2016.01.015>.
14. Брянский О.В., Толстихина В.В., Семенов А.А. Глюкозид сирингорезинола из культуры клеток *Scorzonera hispanica* // Химия природных соединений. 1992. N 5. С. 591–592.
15. Semenov A.A., Enikeev A.G., Khobrakova V.B., Razuvayeva Y.G., Nikolayev S.M. Study on the healing effect of syringaresinol  $\beta$ -D-mono-glucoside // International Journal of Biomedicine. 2013. Vol. 3, no. 4. P. 287–290. EDN: RPWEZV.
16. Agrawal P.K., Rastogi R.O., Osterdahl B.G.  $^{13}\text{C}$  NMR spectral analysis of dihydrobenzofuran lignans // Organic Magnetic Resonance. 1983. Vol. 21, no. 2. P. 119–121. <https://doi.org/10.1002/omr.1270210208>.
17. Agrawal P.K., Thakur R.S.  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopy of lignans and neolignans // Magnetic Resonance in Chemistry. 1985. Vol. 23, no. 6. P. 389–418. <http://doi.org/10.1992/mrc.1260230602>.
18. Salama O., Chandhuri R.K., Sticher O.A. A lignan glucoside from *Euphrasia rostkoviana* // Phytochemistry. 1981. Vol. 20, no. 11. P. 2603–2604. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(81\)83110-X](https://doi.org/10.1016/0031-9422(81)83110-X).
19. Толстихина В.В., Семенов А.А. Минорные метаболиты культуры клеток *Scorzonera hispanica* // Растительные ресурсы. 1998. Т. 34. N 2. С. 77–80.
20. Толстихина В.В., Семенов А.А. Минорные лигнаны из культивируемых клеток *Scorzonera hispanica* // Растительные ресурсы. 1999. Т. 35. N 1. С. 87–89.
21. Lundgren L.N., Popoff T., Theander O. Dilignol glycosides from needles of *Picea abies* // Phytochemistry. 1981. Vol. 20, no. 8. P. 1967–1969. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(81\)84046-0](https://doi.org/10.1016/0031-9422(81)84046-0).
22. Oshima Y., Takuta S., Hikino H., Deyama T., Rinoshita G. Anticomplementary activity of the constituents of *Eucommia ulmoides* bark // Journal of Ethnopharmacology. 1988. Vol. 23, no. 2-3. P. 159–164. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(88\)90003-7](https://doi.org/10.1016/0378-8741(88)90003-7).
23. Оводов Ю.С., Фролова Г.М., Нефедова М.Ю., Еляков Г.Б. Гликозиды *Eleutherococcus senticosus*. II. Строение элеутерозидов А, В, С, D // Химия природных соединений. 1967. N 1. С. 63–64.
24. Pelter A., Ward R.S., Watson D.J., Jack I.R. Synthesis and N.M.R. spectra of 2,6- and 2,4-diaryl-3,7-dioxabicyclo-(3.3.0) octanes // Journal of the Chemical Society. Perkin Transaction 1. 1982. Vol. 1. P. 183–190. <https://doi.org/10.1039/P19820000183>.
25. Priyashree S., Jha S., Pattanayak S.P. A review on *Cressa cretica* Linn.: a halophytic plant // Pharmacognosy Review. 2010. Vol. 4, no. 8. P. 161–166. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.70910>.
26. Lami N., Kadota Sh., Kikuchi T., Momose Y. Constituents of the roots of *Boerhaavia diffusa* L. III. Identification of  $\text{Ca}^{2+}$  channel antagonistic compound from the methanol extract // Chemical Pharmaceutical Bulletin.

1991. Vol. 39, no. 6. P. 1551–1555.  
<https://doi.org/10.1248/cpb.39.1551>.

27. Nakamura S., Zhang Y., Matsuda H., Ninomiya K., Muraoka O., Yoshikawa M. Chemical structure and hepatoprotective effects of constituents from leaves of *Salacia chinensis* // *Chemical Pharmaceutical Bulletin*. 2011. Vol. 59, no. 8. P. 1020–1028.  
<https://doi.org/10.1248/cpb.59.1020>.

28. Головкин Б.Н., Руденская Р.Н., Трофимова И.А., Шретер А.И. Биологически активные вещества растительного происхождения: монография. М.: Наука, 2001. 764 с.

29. Маршалкин М.Ф., Оробинская В.Н. Пищевые волокна скорцонера и овсяного корня и их лечебно-профилактическое использование // *Успехи современного естествознания*. 2002. N 2. С. 77–84. EDN: TFYDQH.

30. Сампиев А.М., Шевченко А.И., Хочава М.Р., Никифорова Е.Б., Быкова О.А. Исследование флавоноидов, фенолкарбоновых и органических кислот скорцонеры испанской (*Scorzonera hispanica* L.) // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2018. Т. 21. N 1. С. 25–29.  
<https://doi.org/10.29296/25877313-2018-01-05>. EDN: YPUTYY.

31. Granica S., Lohwasser U., Jöhrer K., Zidorn C. Qualitative and quantitative analyses of secondary metabolites in aerial and subaerial of *Scorzonera hispanica* L. (black salsify) // *Food Chemistry*. 2015. Vol. 173. P. 321–331.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.006>.

32. Носов А.М. Функции вторичных метаболитов растений in vivo и in vitro // *Физиология растений*. 1994. Т. 41. N 6. С. 873–878.

## REFERENCES

1. Shakya A.K. Medicinal plants: future source of new drugs. *International Journal of Herbal Medicine*. 2016;4(4):59-64.  
<https://doi.org/10.13140/RG.2.1.1395.6085>.

2. Seca A.M.L., Pinto D.C.G.A. Plant secondary metabolites as anticancer agents: successes in clinical trials and therapeutic application. *International Journal Molecular Science*. 2018;19(1):263.  
<https://doi.org/10.3390/ijms19010263>.

3. Majolo F., Delwing L.K.O.B., Marmitt D.J., Bustamante-Fiho I.C., Goettert M. Medicinal plants and bioactive natural compounds for cancer treatment: important advances for drug discovery. *Phytochemistry Letters*. 2019;31:196-207.  
<https://doi.org/10.1016/j.phytol.2019.04.003>.

4. Dias M.I., Sousa J.S., Alves R.C., Ferreira C.F.R. Exploring plant tissue culture to improve the production of phenolic compounds: a review. *Industrial Crops and Products*. 2016;82:9-22.  
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.12.016>.

5. Efferth T. Biotechnology applications of plant callus cultures. *Engineering*. 2019;5(1):50-59.  
<https://doi.org/10.1016/j.eng.2018.11.006>.

6. Bhojwani S.S., Razdan M.K. *Plant tissue culture: theory and practice, a revised edition*. Amsterdam: Elsevier; 1996. 767 p.

7. Sampiev A.M., Khochava M.R., Onbysh T.E., Shevchenko A.I., Bykova O.A., Khazieva F.M. Current status and the perspectives of follow-up study of Spanish salsify (survey). *Voprosy biologicheskoy, medicinskoj i farmacevticheskoy himii = Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry*. 2020;23(1):3-8. (In Russian). EDN: SWKBKW.  
<https://doi.org/10.29296/25877313-2020-01-01>.

8. Gamburg K.Z., Osharova L.M., Vysotskaja E.F., Enikeev A.G. Strain of *Scorzonera hispanica* – a source of vegetable biomass showing biological activity. Patent RF, no. 2059718; 1996. (In Russian).

9. Gromova A.S., Tukalo E.A., Ganenko T.V., Luckij V.I., Vitkovskij V.Ju. Glycoside (5)-sitosterol from *Aconitum czekanovskiy* Steinb., *Thalictrum foetidum* L., *Th. squarrosum* Stefti., *Th. Minus*. *Izvestija Sibirskogo otdelenija Akademii nauk SSSR. Serija himicheskikh nauk*. 1986;(3):83-85. (In Russian).

10. Syrchina A.I., Semenov A.A., Tjukavkina N.A., Vitkovskij V.Ju., Voronkov M.G. Methyl esters of phenolic acids from *Equisetum arvense*. *Himija prirodnyh soedi-*

*nenij = Chemistry of Natural Compounds*. 1981;(5):658. (In Russian).

11. Ogunkoy L. Application of mass spectrometry in structural problems in triterpenes. *Phytochemistry*. 1981;20(1):121-126.  
[https://doi.org/10.1016/0031-9422\(81\)85230-2](https://doi.org/10.1016/0031-9422(81)85230-2).

12. Brjanskij O.V., Tolstihina V.V., Semenov A.A. Sesquiterpene glucoside from cultured cells of *Scorzonera hispanica*. *Himija prirodnyh soedinenij = Chemistry of Natural Compounds*. 1992;(6):640-645. (In Russian).

13. Yang Y.-J., Yao J., Jin X.-J., Shi Z.-N., Shen T.-F., Fang J.-G., et al. Sesquiterpenoids and tirucallane triterpenoids from roots of *Scorzonera divaricate*. *Phytochemistry*. 2016;124:86-98.  
<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2016.01.015>.

14. Brjanskij O.V., Tolstihina V.V., Semenov A.A. Syringaresinol glucoside from *Scorzonera hispanica* cell culture. *Himija prirodnyh soedinenij = Chemistry of Natural Compounds*. 1992;(5):591-592. (In Russian).

15. Semenov A.A., Enikeev A.G., Khobrakova V.B., Razuvayeva Y.G., Nikolayev S.M. Study on the healing effect of syringaresinol β-D-monoglucoside. *International Journal of Biomedicine*. 2013;3(4):287-290. EDN: RPWEZV.

16. Agrawal P.K., Rastogi R.O., Osterdahl B.G. <sup>13</sup>C NMR spectral analysis of dihydrobenzofuran lignans. *Organic Magnetic Resonance*. 1983;21(2):119-121.  
<https://doi.org/10.1002/omr.1270210208>.

17. Agrawal P.K., Thakur R.S. <sup>13</sup>C NMR spectroscopy of lignans and neolignans. *Magnetic Resonance in Chemistry*. 1985;23(6):389-418.  
<http://doi.org/10.1992/mrc.1260230602>.

18. Salama O., Chandhuri R.K., Sticher O.A. A lignan glucoside from *Euphrasia rostkoviana*. *Phytochemistry*. 1981;20(11):2603-2604.  
[https://doi.org/10.1016/0031-9422\(81\)83110-X](https://doi.org/10.1016/0031-9422(81)83110-X).

19. Tolstihina V.V., Semenov A.A. Minor metabolites of *Scorzonera hispanica* cell culture. *Rastitel'nye resursy*. 1998;34(2):77-80. (In Russian).

20. Tolstihina V.V., Semenov A.A. Minor lignans from cultured *Scorzonera hispanica* cells. *Rastitel'nye resursy*. 1999;35(1):87-89. (In Russian).

21. Lundgren L.N., Popoff T., Theander O. Dilignol glycosides from needles of *Picea abies*. *Phytochemistry*. 1981;20(8):1967-1969.  
[https://doi.org/10.1016/0031-9422\(81\)84046-0](https://doi.org/10.1016/0031-9422(81)84046-0).



22. Oshima Y., Takuta S., Hikino H., Deyama T., Rinnoshita G. Anticomplementary activity of the constituents of *Eucommia ulmoides* bark. *Journal of Ethnopharmacology*. 1988;23(2-3):159-164. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(88\)90003-7](https://doi.org/10.1016/0378-8741(88)90003-7).

23. Ovodov Ju.S., Frolova G.M., Nefedova M.Ju., Eljakov G.B. Glycosides of *Eleutherococcus senticosus*. II. Structure of eleutherosides A, B, C, D. *Himija prirodnih soedinenij = Chemistry of Natural Compounds*. 1967;(1):63-64. (In Russian).

24. Pelter A., Ward R.S., Watson D.J., Jack I.R. Synthesis and N.M.R. spectra of 2,6- and 2,4-diaryl-3,7-dioxabicyclo-(3.3.0) octanes. *Journal of the Chemical Society. Perkin Transaction 1*. 1982;1:183-190. <https://doi.org/10.1039/P19820000183>.

25. Priyashree S., Jha S., Pattanayak S.P. A review on *Cressa cretica* Linn.: a halophytic plant. *Pharmacognosy Review*. 2010;4(8):161-166. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.70910>.

26. Lami N., Kadota Sh., Kikuchi T., Momose Y. Constituents of the roots of *Boerhaavia diffusa* L. III. Identification of Ca<sup>2+</sup> channel antagonistic compound from the methanol extract. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*. 1991;39(6):1551-1555. <https://doi.org/10.1248/cpb.39.1551>.

27. Nakamura S., Zhang Y., Matsuda H., Ninomiya K., Muraoka O., Yoshikawa M. Chemical structure and

hepatoprotective effects of constituents from leaves of *Salacia chinensis*. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*. 2011;59(8):1020-1028. <https://doi.org/10.1248/cpb.59.1020>.

28. Golovkin B.N., Rudenskaja R.N., Trofimova I.A., Shreter A.I. *Biologically active substances of plant origin: monograph*. Moscow: Nauka; 2001. 764 p. (In Russian).

29. Marshalkin M.F., Orobinskaja V.N. Dietary fibers of scorzonera and oat root and their therapeutic and preventive use. *Uspehi sovremennogo estestvoznaniya*. 2002;(2):77-84. (In Russian). EDN: TFYDQH.

30. Sampiev A.M., Shevchenko A.I., Hotjava M.R., Nikiforova E.B., Bykova O.A. The researching of flavonoids, phenol carbonic and organic acids in *Scorzonera hispanica* L. *Voprosy biologicheskoy, medicinskoj i farmacevticheskoy himii = Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry*. 2018;21(1):25-29. (In Russian). <https://doi.org/10.29296/25877313-2018-01-05>. EDN: YPUTYY.

31. Granica S., Lohwasser U., Jöhrer K., Zidorn C. Qualitative and quantitative analyses of secondary metabolites in aerial and subaerial of *Scorzonera hispanica* L. (black salsify). *Food Chemistry*. 2015;173:321-331. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.006>.

32. Nosov A.M. Functions of secondary plant metabolites *in vivo* and *in vitro*. *Fiziologija rastenij*. 1994;41(6):873-878. (In Russian).

#### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Семёнов Аркадий Алексеевич,  
д.х.н., старший научный сотрудник,  
Сибирский институт физиологии  
и биохимии растений СО РАН,  
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,  
Российская Федерация,  
laps1936@mail.ru  
<https://orcid.org/0000-0001-7158-884X>

Еникеев Андрей Густавович,  
к.б.н., ведущий научный сотрудник,  
Сибирский институт физиологии  
и биохимии растений СО РАН,  
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,  
Российская Федерация,  
✉enikeev@sifibr.irk.ru  
<https://orcid.org/0000-0002-4111-0412>

#### Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад  
в подготовку публикации.

#### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта  
интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный  
вариант рукописи.

#### Информация о статье

Поступила в редакцию 20.04.2023.  
Одобрена после рецензирования 10.06.2023.  
Принята к публикации 31.08.2023.

#### INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Arkadiy A. Semenov,  
Dr. Sci. (Chemistry), Senior Researcher,  
Siberian Institute of Plant Physiology  
and Biochemistry SB RAS,  
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,  
Russian Federation,  
laps1936@mail.ru  
<https://orcid.org/0000-0001-7158-884X>

Andrey G. Enikeev,  
Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher,  
Siberian Institute of Plant Physiology  
and Biochemistry SB RAS,  
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,  
Russian Federation,  
✉enikeev@sifibr.irk.ru  
<https://orcid.org/0000-0002-4111-0412>

#### Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

#### Conflict interests

The authors declare no conflict of interests regarding  
the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved by  
all the co-authors.

#### Information about the article

The article was submitted 20.04.2023.  
Approved after reviewing 10.06.2023.  
Accepted for publication 31.08.2023.