

Влияние биологически активных веществ тимьяна обыкновенного (*Thymus vulgaris L.*) на рост дрожжевых клеток

Анастасия М. Федорова	¹	anastasija.fedorova-af2014@ya.ru	 0000-0002-8071-4411
Маргарита Ю. Дроздова	¹	drozdowa.margarita.00@ya.ru	 0000-0002-9499-9470
Ирина С. Милентьева	¹	irazumnikova@mail.ru	 0000-0002-3536-562X
Варвара И. Минина	¹	vminina@mail.ru	 0000-0003-3485-9123

¹ Кемеровский государственный университет, ул. Красная, 6, г. Кемерово, 650000, Россия

Аннотация. Продление продолжительности жизни и улучшение фенотипов, непосредственно связанных с процессом старения, были объектами многих исследований. Некоторые из известных методов увеличения продолжительности жизни, включая ограничения рациона питания и генетические манипуляции, трудно применить ко всем людям, также их побочные эффекты трудно предсказать. Именно по данной причине становится важно найти те биологически активные соединения, которые могут выступать как антивозрастные средства или могут индуцировать продление жизни за счет различных процессов метаболизма внутри клетки. Лекарственное растение СФО тимьян обыкновенный (*Thymus vulgaris L.*) является источником многих активных соединений, которые могут повлиять на биомассу дрожжей. Настоящее исследование проведено для оценки влияния биологически активных соединений экстракта каллусной культуры *Thymus vulgaris L.*, высушенного с помощью распылительного высушивания при разных температурных режимах (60 °C, 90 °C, 120 °C), на рост экспериментальной модели *Saccharomyces cerevisiae Y-564*. Антивозрастной эффект сухого экстракта каллусной культуры *Thymus vulgaris L.* с концентрацией 0,25 мг/мл, 0,50 мг/мл и 1,00 мг/мл на модельном организме дрожжей оценивали с помощью увеличения биомассы дрожжевых клеток. Результаты исследований показали, что наилучший вариант влияния ростовых свойств биомассы дрожжевой суспензии *S. cerevisiae Y-564* показал экстракт каллусной культуры *Thymus vulgaris L.*, высушенный при температуре 90 °C, с концентрацией 0,50 мг/мл. Именно при таких условиях наблюдался стимулирующий прирост биомассы тест-культуры. Данные результаты настоящего исследования дают новые представления о механизмах, с помощью которых биологически активные соединения, извлеченные из каллусной культуры *Thymus vulgaris L.*, могут замедлять процесс старения.

Ключевые слова: *Thymus vulgaris L.*, каллусные культуры, *Saccharomyces cerevisiae*, антивозрастное средство, биологически активные вещества.

The effect of biologically active substances of thyme (*Thymus vulgaris L.*) on the growth of yeast cells

Anastasia M. Fedorova	¹	anastasija.fedorova-af2014@ya.ru	 0000-0002-8071-4411
Margarita Yu. Drozdova	¹	drozdowa.margarita.00@ya.ru	 0000-0002-9499-9470
Irina S. Milentyeva	¹	irazumnikova@mail.ru	 0000-0002-3536-562X
Varvara I. Minina	¹	vminina@mail.ru	 0000-0003-3485-9123

¹ Kemerovo State University, Krasnaya str., 6, Kemerovo, 650000, Russia

Abstract. Prolongation of life expectancy and improvement of phenotypes directly related to the aging process have been the objects of many studies. Some of the known methods of increasing life expectancy, including dietary restrictions and genetic manipulation, are difficult to apply to all people, and their side effects are difficult to predict. It is for this reason that it becomes important to find those biologically active compounds that can act as anti-aging agents or can induce prolongation of life due to various metabolic processes inside the cell. The medicinal plant SFO thyme (*Thymus vulgaris L.*) is a source of many active compounds that can affect life expectancy. The present study was conducted to evaluate the effect of biologically active compounds of the extract of the callus culture of *Thymus vulgaris L.*, dried by spray drying at different temperature conditions (60 °C, 90 °C, 120 °C), on the growth of the experimental model *Saccharomyces cerevisiae Y-564*. Anti-aging effect of dry extract of callus culture *Thymus vulgaris L.* with concentrations of 0.25 mg/ml, 0.50 mg/ml and 1.00 mg/ml on a model yeast organism, the yeast cells were evaluated by increasing the biomass of yeast cells. The results of the studies showed that the best variant of the effect of the growth properties of the biomass of the yeast suspension *S. cerevisiae Y-564* showed an extract of the callus culture *Thymus vulgaris L.*, dried at a temperature of 90 °C, with a concentration of 0.50 mg / ml. It was under such conditions that a stimulating increase in the biomass of the test culture was observed. These results of this study provide new insights into the mechanisms by which biologically active compounds extracted from the callus culture of *Thymus vulgaris L.* can slow down the aging process.

Keywords: *Thymus vulgaris L.*, callus cultures, *Saccharomyces cerevisiae*, anti-aging agent, biologically active substances..

Для цитирования

Федорова А.М., Дроздова М.Ю., Милентьева И.С., Минина В.И. Влияние биологически активных веществ тимьяна обыкновенного (*Thymus vulgaris L.*) на рост дрожжевых клеток // Вестник ВГУИТ. 2022. Т. 84. № 2. С. 101–109. doi:10.20914/2310-1202-2022-2-101-109

For citation

Fedorova A.M., Drozdova M.Yu., Milentyeva I.S., Minina V.I. The effect of biologically active substances of thyme (*Thymus vulgaris L.*) on the growth of yeast cells. *Vestnik VGUIT* [Proceedings of VSUET]. 2022. vol. 84. no. 2. pp. 101–109. (in Russian). doi:10.20914/2310-1202-2022-2-101-109

Введение

В настоящее время население пожилого возраста увеличивается во всем мире. Прогнозируют, что людей с возрастом старше 60 лет станет около двух миллиардов к 2050 году. Несмотря на то, что количество людей в пожилом возрасте растет, сам процесс старения описывают как постепенную утрату физиологического контроля, при котором происходят различные нарушения в организме: появление мутаций в геноме, дисфункции теломер, повреждение белковых молекул, митохондриальная дисфункция, клеточное старение. В результате этого возникает риск различных заболеваний, среди которых сердечно-сосудистые и нейродегенеративные, а также рак [1].

Изменять клеточные процессы, а также повреждать ДНК способны активные формы кислорода (АФК), которые накапливаются в процессе старения. К таким формам кислорода относят супероксид (O_2^-), пероксид водорода (H_2O_2), пероксильный радикал (OH^\cdot), перекиси липидов. Небольшое их количество способствует регулированию клеточной передаче сигналов. При различных сбоях в организме происходит их увеличение, которые негативно влияют на функции белка, изменяя цепи аминокислот [2]. Данный процесс, при котором антиоксидантная система организма не может подавить рост свободных избыточных радикалов, назвали окислительным стрессом.

Снижение окислительного стресса можно осуществлять с помощью антиоксидантов синтетического и природного происхождения, при этом использование синтетических антиоксидантов нежелательно, в связи с побочными эффектами. Среди экзогенных антиоксидантов самыми известными являются витамин С (аскорбиновая кислота), витамин Е, полифенолы, а также каротиноиды. Данные вещества содержатся в различных фруктах и овощах, крупах и других продуктах [3]. В последние годы традиционные лекарственные растения становятся популярными источниками биологически активных веществ (БАВ) с антиоксидантными свойствами. При этом из растений извлекают как индивидуальные вещества, так и комплексы (экстракты) [4].

Растительное сырье Сибирского федерального округа (СФО) является потенциальным источником антиоксидантных БАВ, которые могут помочь в борьбе с АФК. Так, лекарственное растение тимьян обыкновенный (*Thymus vulgaris* L.) содержит в себе ряд вторичных

метаболитов, обладающих антиоксидантными свойствами. Тимьян обыкновенный (*Thymus vulgaris* L.) имеет широкое применение в пищевой, косметической и фармацевтической промышленности. Лекарственное растение тимьян обыкновенный (*Thymus vulgaris* L.) содержит в себе: эфирное масло (примерно 0,6%), в состав которого входит тимол (до 42%), карвакрол, п-цимол, α -терпинеол, борнеол, гераниол [5]; дубильные вещества; горечи; камедь; тритерпеновые соединения – урсоловая и олеаноловая кислоты; флавоноиды – апигенин (2,770 мг/г), нарингенин (0,121 мг/г), цинарозид, космосин, скутеллярин; минеральные соли; пигменты – зеаксантин, лютеин, лютеолин (0,84 мг/г) [6]; сахара – глюкозу, галактозу, арабинозу, рамнозу, ксилозу, глюкуроновая кислота, галактуриновая кислота [7]; аминокислоты – цистин, аланин, лейцин; жирные кислоты – пальмитиновая, линолевая, линоленовая кислоты; органические кислоты – лимонная, яблочная, малоновая, щавелевая кислоты [8, 9]. Также экстракты на основе тимьяна обыкновенного (*Thymus vulgaris* L.) имеют галловую, гидроксibenзойную, хлорогеновую, сиринговую, кумаровую, бензойную, коричную и розмариновую кислоту. Благодаря наличию данных веществ тимьян обыкновенный (*Thymus vulgaris* L.) обладает противовоспалительной, антимикробной, болеутоляющей и антиоксидантной активностью.

На сегодняшний день существуют экспериментальные модели, такие как нематоды (*Caenorhabditis elegans*), плодовые мухи (*Drosophila melanogaster*), дрожжи (*Saccharomyces cerevisiae*), короткоживущие рыбы (*Nothobranchius furzeri*) или грызуны (мыши и крысы), которые позволяют изучить влияние биологически активных веществ растительного происхождения на процесс старения [10]. Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* являются часто изучаемыми, при этом легко анализируемыми простейшими эукариотами, обеспечивающие понимание молекулярных путей, которые лежат в основе некоторых нейродегенеративных расстройств человеческого организма, а также одной из наиболее широко используемых модельных систем для изучения процесса старения [11]. Из-за достаточно продолжительной человеческой жизни человека и неизвестных побочных эффектов потенциальных омолаживающих соединений, почкование дрожжей является полезной отправной точкой для исследования долголетия. Кроме того, *S. cerevisiae* имеет относительно короткую и легко измеримую продолжительность жизни [12].

Поскольку антивозрастные химические вещества воспринимаются как кратчайший путь к долгой и здоровой жизни, на протяжении десятилетий было выявлено и изучено бесчисленное множество соединений на предмет их потенциальных свойств. Главной целью настоящего исследования является изучение непосредственного влияния биологически активных соединений, полученных из биомассы каллусной культуры тимьяна обыкновенного (*Thymus vulgaris L.*), на рост дрожжевых клеток *S. cerevisiae*.

Материалы и методы

Объектом исследования служил высушенный экстракт каллусной культуры тимьяна обыкновенного (*Thymus vulgaris L.*). Биомассу каллусной культуры тимьяна обыкновенного выращивали в условиях *in vitro* на плотных питательных средах следующего минерального и гормонального состава: макросоли В5 × 20–50,00 мл; микросоли В5 – 10,00 мл; Fe-ЭДТА – 5,00 мл; тиамин – 10,00 мг; пиридоксин – 1,00 мг; никотиновая кислота – 1,00 мг; сахароза – 30,00 г.; инозит – 100,00 мг; кинетин – 2,00 мг; 6-бензиламинопурин – 0,10 мг; р-индолилуксусная кислота – 2,00 мг; 2,4 – дихлорфеноксиксусная кислота – 2,00 мг; агар – 20,00 г.; дистиллированная вода – 1000 мл. Цикл выращивания каллусной культуры *Thymus vulgaris L.* составлял 4–5 недель.

Экстракт получали методом водно-спиртовой экстракции при обработке измельчённой биомассы каллусной культуры *Thymus vulgaris L.* до 1 мм 70% этиловым спиртом в течение 4 ч при температуре 70 °С, для экстракции использовали водяную баню (Elmasonic S60H, Германия) с восходящим холодильником в соотношении растительное сырьё / экстрагент: 1:86. Высушивание экстракта осуществлялось на распылительной сушилке Mini 51 Spray Dryer В-290 (Buchi, Швейцария) при температурных режимах 60 °С, 90 °С и 120 °С, скорости потока воздуха (аспирации) 100 м³/ч и скорости подачи раствора в распылительную установку 7 мл/мин.

Рассматривали количественное содержание биологически активных соединений сухого водно-спиртового экстракта каллусной культуры тимьяна обыкновенного (*Thymus vulgaris L.*). Для этого применяли высоко-эффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ). Анализ проводили

на жидкостном хроматографе (LC-20 Shimadzu Prominence, Япония). Использовалась хроматографическая колонка Kromasil 5 мкм С18, 250 • 4,6 мм; предколонка Security Guard Gartridge (С18) Phenomenex (США), объём инъекции 20 мкл. Температура колонки составляла 30 °С. Режим элюирования изократический, ПФ состоит – АсСN: ИПС : Н₂ О – Н₃ РO₄ (20:5:75 рН 3,5). Пробу готовили путем проведения гидролиза сухого экстракта в соляной кислоте (1,5 М). Для гидролиза сухого экстракта, высушенного при 60 °С брали 1,0 г, для 90 и 120 °С – 0,1 г. Гидролиз сухих экстрактов проводили на водяной бане в течение 1 ч, используя обратный холодильник. После рН гидролизатов доводили до нейтральной среды раствором гидроксида натрия.

Для оценки влияния биологически активных веществ сухого экстракта каллусной культуры тимьяна обыкновенного (*Thymus vulgaris L.*) на рост дрожжевых клеток применяли метод оценки прироста биомассы модельного организма *Saccharomyces cerevisiae*, используя показатели оптической плотности суспензионных культур [13]. В качестве модельного организма применяли штамм *Saccharomyces cerevisiae* Y-564. Штамм получен из ВКПМ ФГУП ГосНИИГенетика, Россия и предварительно выращен на питательной среде YEPD при температурном режиме 30 °С в течение 24 ч. Рост биомассы *Saccharomyces cerevisiae* Y-564 контролировали в кварцевых кюветах спектрофотометра UV 1800 (Shimadzu, Япония). Культивирование штамма дрожжей осуществлялось при температуре 30 °С, оптической плотности 600 нм, в аэробных условиях с интервалом 1 ч, продолжительностью 72 ч и различной вариации концентрации экстракта каллусной культуры тимьяна обыкновенного (*Thymus vulgaris L.*) – 0,25 мг/мл, 0,50 мг/мл и 1,00 мг/мл. Доза внесения экстрактов каллусной культуры тимьяна обыкновенного (*Thymus vulgaris*) в суспензионную культуру дрожжей составляла 1%.

Результаты и обсуждения

Результаты изучения количественного и качественного состава биологически активных веществ в сухом экстракте каллусной культуры *Thymus vulgaris L.* при различной вариации температурного режима высушивания экстракта (60; 90 и 120 °С), представлены на рисунках 1–3 и таблицах 1–3.

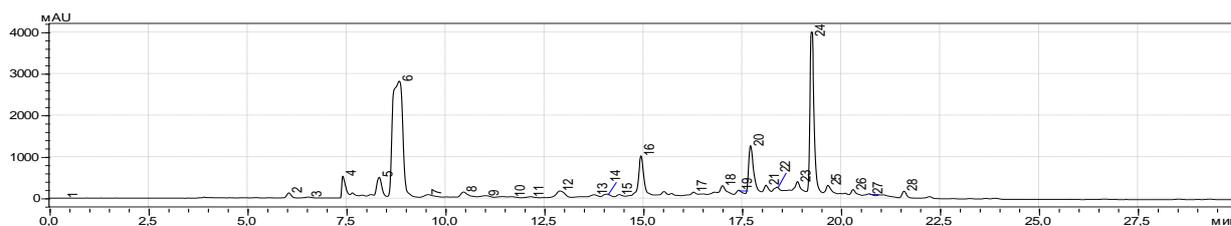


Рисунок 1. ВЭЖХ хроматограмма экстракта каллусной культуры *Thymus vulgaris* L., высушенного при 60 °C: 4 – галловая кислота, 6 – апигенин-7-глюкозид, 8 – 3,4-диметоксибензойная кислота, 16 – кофейная кислота, 17 – хлорогеновая кислота, 24 – апигенин, 26 – тимол, 27 – карвакрол, 28 – кемпферол-d-глюкозид

Figure 1. HPLC chromatogram of *Thymus vulgaris* L. callus culture extract dried at 60 °C: 4 – gallic acid, 6 – apigenin-7-glucoside, 8 – 3,4-dimethoxybenzoic acid, 16 – caffeic acid, 17 – chlorogenic acid, 24 – apigenin, 26 – thymol, 27 – carvacrol, 28 – kaempferol-d-glucoside

Таблица 1.

Компонентный состав экстракта каллусной культуры *Thymus vulgaris* L. по данным ВЭЖХ (60 °C)

Table 1.

Component composition of *Thymus vulgaris* L. callus culture extract according to HPLC data (60 °C)

№ пика Peak number	Время удерживания, мин Holding time, min	Наименование компонента Name of the component	Количественное содержание, мг/г Quantitative content, mg/g
4	7,46	Галловая кислота Gallic acid	0,546 ± 0,56
6	8,84	Апигенин-7-глюкозид Apigenin 7 glucoside	4,064 ± 0,28
8	10,46	3,4-диметоксибензойная кислота 3,4-dimethoxybenzoic acid	0,303 ± 0,12
16	14,96	Кофейная кислота Caffeic acid	1,269 ± 0,89
17	16,27	Хлорогеновая кислота Chlorogenic acid	0,222 ± 0,11
24	19,26	Апигенин Apigenin	2,490 ± 0,39
26	20,31	Тимол Thymol	0,221 ± 0,27
27	21,20	Карвакрол Carvacrol	0,163 ± 0,23
28	21,59	Кемпферол-d-глюкозид Kaempferol-d glucoside	0,146 ± 0,87

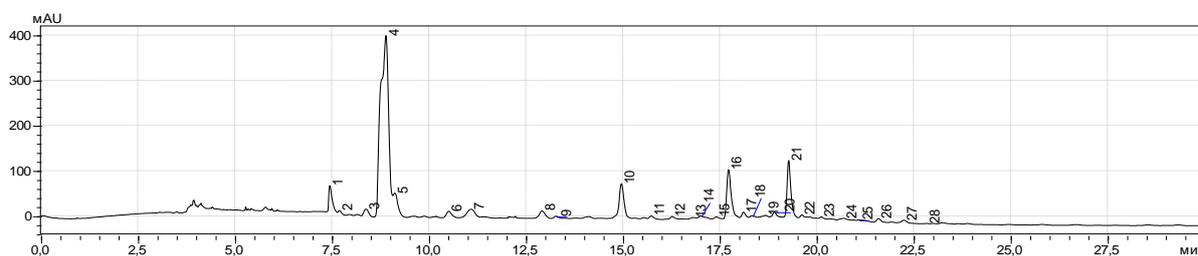


Рисунок 2. ВЭЖХ хроматограмма экстракта каллусной культуры *Thymus vulgaris* L., высушенного при 90 °C: 1 – галловая кислота, 4 – апигенин-7-глюкозид, 6 – 3,4-диметоксибензойная кислота, 10 – кофейная кислота, 12 – хлорогеновая кислота, 21 – апигенин, 23 – тимол, 24 – карвакрол, 26 – кемпферол-d-глюкозид

Figure 2. HPLC chromatogram of *Thymus vulgaris* L. callus culture extract dried at 90 °C: 1 – gallic acid, 4 – apigenin-7-glucoside, 6 – 3,4-dimethoxybenzoic acid, 10 – caffeic acid, 12 – chlorogenic acid, 21 – apigenin, 23 – thymol, 24 – carvacrol, 26 – kaempferol-d-glucoside

Таблица 2.

Компонентный состав экстракта каллусной культуры *Thymus vulgaris* L. по данным ВЭЖХ (90 °C)

Table 2.

Component composition of *Thymus vulgaris* L. callus culture extract according to HPLC data (90 °C)

№ пика Peak number	Время удерживания, мин Holding time, min	Компонент Component	Содержание, мг/г Content, mg/g
1	7,48	Галловая кислота Gallic acid	0,759 ± 0,81
4	8,90	Апигенин-7-глюкозид Apigenin 7 glucoside	9,058 ± 0,14
6	10,51	3,4-диметоксибензойная кислота 3,4-dimethoxybenzoic acid	0,215 ± 0,29
10	14,97	Кофейная кислота Caffeic acid	1,358 ± 0,58
12	16,28	Хлорогеновая кислота Chlorogenic acid	0,278 ± 0,27
21	18,91	Апигенин Apigenin	2,176 ± 0,02
23	19,62	Тимол Thymol	0,043 ± 0,78
24	20,12	Карвакрол Carvacrol	0,230 ± 0,93
26	21,10	Кемпферол-d-глюкозид Kaempferol-d glucoside	0,450 ± 0,22

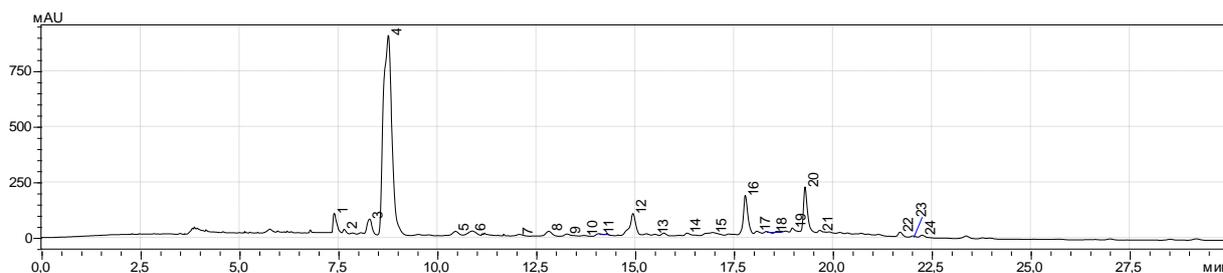


Рисунок 3. ВЭЖХ хроматограмма экстракта каллусной культуры *Thymus vulgaris* L., высушенного при 120 °C: 1 – галловая кислота, 4 – апигенин-7-глюкозид, 5 – 3,4-диметоксибензойная кислота, 12 – кофейная кислота, 14 – хлорогеновая кислота, 20 – апигенин, 22 – кемпферол-d-глюкозид

Figure 3. HPLC chromatogram of *Thymus vulgaris* L. callus culture extract dried at 120 °C: 1 – gallic acid, 4 – apigenin-7-glucoside, 5 – 3,4-dimethoxybenzoic acid, 12 – caffeic acid, 14 – chlorogenic acid, 20 – apigenin, 22 – kaempferol-d-glucoside

Таблица 3.

Компонентный состав экстракта каллусной культуры *Thymus vulgaris* L. по данным ВЭЖХ (120 °C)

Table 3.

Component composition of *Thymus vulgaris* L. callus culture extract according to HPLC data (120 °C)

№ пика Peak number	Время удерживания, мин Holding time, min	Компонент Component	Содержание, мг/г Content, mg/g
1	7,35	Галловая кислота Gallic acid	0,125 ± 0,10
4	8,77	Апигенин-7-глюкозид Apigenin 7 glucoside	11,505 ± 0,65
5	10,46	3,4-диметоксибензойная кислота 3,4-dimethoxybenzoic acid	0,161 ± 0,07
12	14,95	Кофейная кислота Caffeic acid	0,806 ± 0,27
14	16,32	Хлорогеновая кислота Chlorogenic acid	0,053 ± 0,55
20	19,30	Апигенин Apigenin	1,183 ± 0,27
22	21,70	Кемпферол-d-глюкозид Kaempferol-d glucoside	0,107 ± 0,13

Исходя из проведенного хроматографического анализа видно, что максимальное количество биологически активных веществ сосредоточено в экстракте *Thymus vulgaris* L., высушенного при 60 и 90 °C. Также хроматографический анализ показал наличие широкого содержания биологически активных веществ, которые могут способствовать росту биомассы дрожжей:

галловая, хлорогеновая и кофейная кислота и флавоноид – апегенин и его производные.

Результаты анализа влияния БАВ сухого экстракта каллусной культуры *Thymus vulgaris* L. на рост дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae* Y-564 при различных температурных параметрах распылительного высушивания (60; 90; 120 °C) представлены на рисунках 4–6.

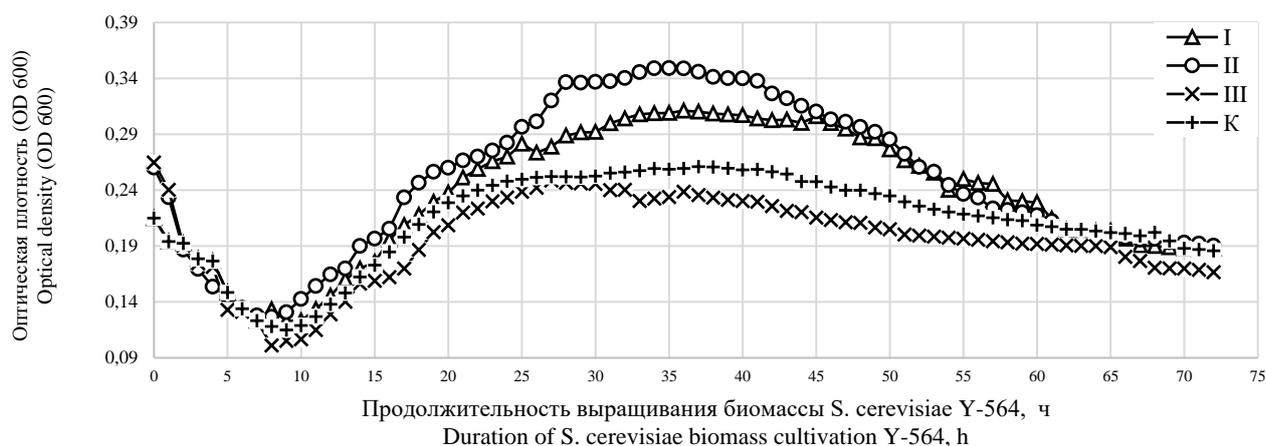


Рисунок 4. Изменение значения оптической плотности (OD) дрожжевой суспензии *S. cerevisiae* Y-564 во времени при разных значениях концентрации сухого экстракта каллусной культуры тимьяна обыкновенного (*Thymus vulgaris* L.), высушенного при 60 °C: I – 0,25 мг/мл; II – 0,50 мг/мл; III – 1,00 мг/мл; K – контроль – 0,00 мг/мл

Figure 4. Change in the optical density (OD) of *S. cerevisiae* Y-564 yeast suspension over time at different concentrations of dry extract of callus culture of thyme (*Thymus vulgaris* L.) dried at 60 °C: I – 0.25 mg/ml; II – 0.50 mg/ml; III – 1.00 mg/ml; K – control – 0.00 mg/ml

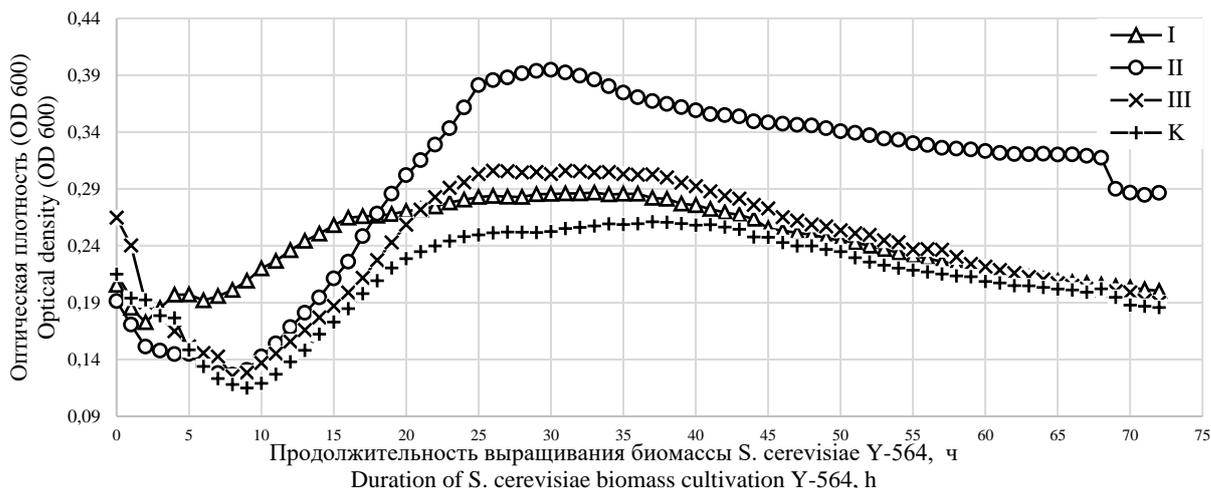


Рисунок 5. Изменение значения оптической плотности (OD) дрожжевой суспензии *S. cerevisiae* Y-564 во времени при разных значениях концентрации сухого экстракта каллусной культуры тимьяна обыкновенного (*Thymus vulgaris* L.), высушенного при 90 °С: I – 0,25 мг/мл; II – 0,50 мг/мл; III – 1,00 мг/мл; K – контроль – 0,00 мг/мл

Figure 5. Change in the optical density (OD) of *S. cerevisiae* Y-564 yeast suspension over time at different concentrations of dry extract of callus culture of thyme (*Thymus vulgaris* L.) dried at 90 °C: I – 0.25 mg/ml; II – 0.50 mg/ml; III – 1.00 mg/ml; K – control – 0.00 mg/ml

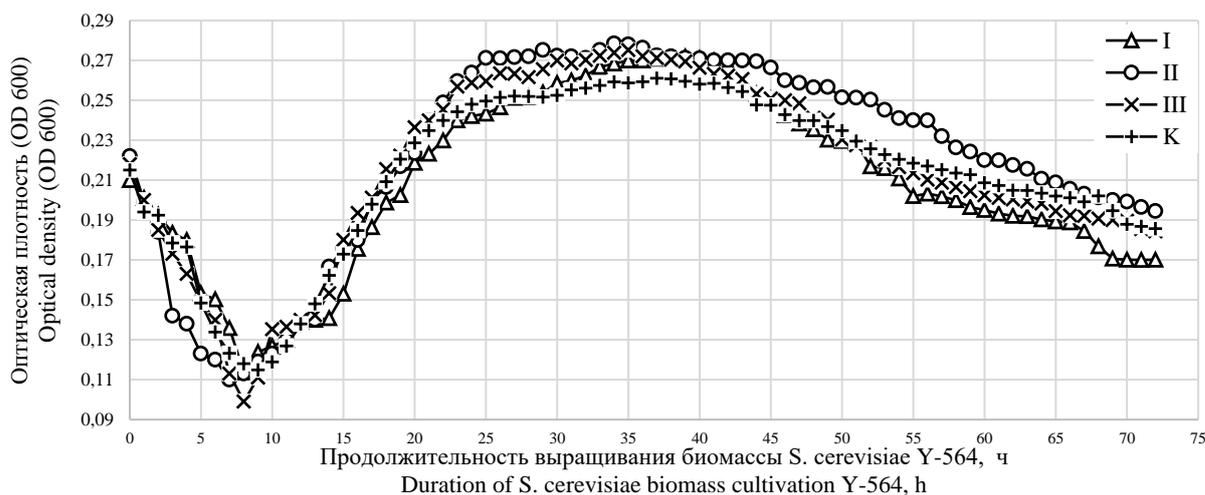


Рисунок 6. Изменение значения оптической плотности (OD) дрожжевой суспензии *S. cerevisiae* Y-564 во времени при разных значениях концентрации сухого экстракта каллусной культуры тимьяна обыкновенного (*Thymus vulgaris* L.), высушенного при 120 °С: I – 0,25 мг/мл; II – 0,50 мг/мл; III – 1,00 мг/мл; K – контроль – 0,00 мг/мл

Figure 6. Change in the optical density (OD) of *S. cerevisiae* Y-564 yeast suspension over time at different concentrations of dry extract of callus culture of thyme (*Thymus vulgaris* L.) dried at 120 °C: I – 0.25 mg/ml; II – 0.50 mg/ml; III – 1.00 mg/ml; K – control – 0.00 mg/ml

Результаты исследования, представленные на рисунке 4, говорят о том, что экстракт каллусной культуры *Thymus vulgaris* L. высушенный при температуре 60 °С с концентрацией 0,50 мг/мл имеет наивысшую активность, при такой концентрации биомасса дрожжевых клеток *S. cerevisiae* Y-564 имеет максимальную фазу роста в сравнении с контрольным образцом дрожжей. Концентрация 0,25 мг/мл экстракта каллусной культуры *Thymus vulgaris* L. также стимулирует рост дрожжей, но в меньшей степени в сравнении с концентрацией 0,50 мг/мл. При концентрации в 1,00 мг/мл экстракта каллусной культуры

Thymus vulgaris L. происходило угнетение фазы роста дрожжей.

В результате проведенного анализа, представленного на рисунке 5, видно, что при различной вариации концентрации (0,25 мг/мл, 0,50 мг/мл и 1,00 мг/мл) экстракта каллусной культуры *Thymus vulgaris* L., высушенного при температуре 90 °С, происходило стимулирование роста биомассы *S. cerevisiae* Y-564. Максимальное стимулирование роста биомассы *S. cerevisiae* Y-564 наблюдалось при концентрации 0,50 мг/мл экстракта каллусной культуры *Thymus vulgaris* L.

Исходя из результатов исследования (рисунок 6) фактического стимулирования роста биомассы дрожжевой суспензии *S. cerevisiae* Y-564 экстрактом каллусной культуры *Thymus vulgaris* L., высушенного при температуре 120 °С, нет. Ни одна концентрация (0,25 мг/мл, 0,50 мг/мл и 1,00 мг/мл) экстракта не оказывала значительного влияния на рост модельного организма дрожжей. Но при некоторых режимах концентрирования (0,50 мг/мл и 1,00 мг/мл) на ограниченном временном промежутке (23–45 ч) наблюдалось значимое отличие роста дрожжевой суспензии *S. cerevisiae* Y-564.

Заключение

Для применения сухого экстракта каллусной культуры *Thymus vulgaris* L. в качестве антивозрастной биологически активной добавки необходимо получить концентрат, который подвергнется распылительному высушиванию при разных температурных параметрах (60; 90; 120 °С). Каждый высушенный экстракт исследован на качественный и количественный состав биологически активных веществ. Так, в сухих экстрактах каллусной культуры *Thymus vulgaris* L., присутствуют такие БАВ, как: галловая кислота, апигенин-7-глюкозид, 3,4-диметоксибензойная кислота, кофейная кислота, хлорогеновая кислота, апигенин, тимол, карвакрол, и кемпферол-d-глюкозид. В экстракте, высушенном при температуре 60 °С наблюдалось максимальное присутствие таких соединений как: апигенин-7-глюкозид (4,064 мг/г), апигенин (2,490 мг/г), кофейная кислота (1,269 мг/г), галловая кислота (0,546 мг/г), 3,4-диметоксибензойная кислота (0,303 мг/г) хлорогеновая кислота (0,222 мг/г). В экстракте, который высушен при 90 °С установлено следующее количественное содержание активных соединений: апигенин-7-глюкозид (9,058 мг/г), апигенин (2,176 мг/г), кофейная кислота (1,358 мг/г), галловая кислота (0,759 мг/г), хлорогеновая кислота (0,278 мг/г). При температурном режиме высушивания 120 °С экстракт отличался наименьшим содержанием биологически

активных соединений. В результате оптимальными температурными режимами распылительного высушивания экстракта каллусной культуры *Thymus vulgaris* L. являются 60 и 90 °С.

Также настоящее исследование подтвердило непосредственное влияние БАВ сухого экстракта каллусной культуры *Thymus vulgaris* L. на рост биомассы модельного штамма *S. cerevisiae* Y-564. Наилучший результат влияния ростовых свойств биомассы дрожжевой суспензии *S. cerevisiae* Y-564 показал экстракт каллусной культуры *Thymus vulgaris* L., высушенный при температуре 90 °С, с концентрацией 0,50 мг/мл. Именно при таких условиях наблюдался высокий прирост тест-культуры. Основываясь на данных результатах, биологическую активную добавку, содержащую 0,5 мг/мл экстракта каллусной культуры *Thymus vulgaris* L., можно использовать как ценный ресурс для выделения антивозрастного соединения (соединений).

Основываясь на полученных данных возможно предположить, что на рост дрожжевых клеток влияют такие БАВ, как галловая кислота, хлорогеновая кислота, кофейная кислота и флавоноид – апигенин и его производные.

Однако необходимы дальнейшие исследования на мышинных моделях с подробными исследованиями токсичности, для того чтобы в конечном итоге определить потенциал данного лекарственного растения в качестве антивозрастного средства, которое способно замедлять процессы старения и продлевать продолжительность жизни.

Благодарности

Работа выполнена в рамках государственного задания по теме «Скрининг биологически активных веществ растительного происхождения, обладающих геропротекторными свойствами, и разработка технологии получения нутрицевтиков, замедляющих старение» (проект FZSR-2020-0006).

Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Инструментальные методы анализа в области прикладной биотехнологии» на базе КемГУ.

Литература

1. Khan A.H, Zou Z., Xiang Y., Chen S. et al. Conserved signaling pathways genetically associated with longevity across the species // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Basis of Disease. 2019. V. 1865. №. 7. P. 1745–1755.
2. Harris I.S., DeNicola G.M. The complex interplay between antioxidants and ROS in cancer // Trends in cell biology. 2020. V. 30. №. 6. P. 440–451.
3. Lourenço S.C., Moldão-Martins M., Alves V.D. Antioxidants of natural plant origins: From sources to food industry applications // Molecules. 2019. V. 24. №. 22. P. 4132.
4. Dyshlyuk S., Vesnina A.D., Dmitrieva A.I., Kozlova O.V., Prosekov A.Y. Optimization of parameters for obtaining callus, suspension, and root cultures of meadowsweet (*Filipendula ulmaria*) to isolate the largest number of biologically active substances with geroprotective properties // Brazilian journal of biology. 2022. V. 84. P. e257074. doi: 10.1590/1519-6984.257074
5. Gedikolu A., Sökmen M., Çivit A. Evaluation of *Thymus vulgaris* and *Thymbra spicata* essential oils and plant extracts for chemical composition, antioxidant, and antimicrobial properties // Food Sci Nutr. 2019. P. 1704–1714. doi: 10.1002/fsn3.1007.

6. Масленников П.В., Чупахина Г.Н., Скрыпник Л.Н., Федуреви П.В., Селедцов В.И. Экологический анализ активности накопления биофлавоноидов в лекарственных растениях // Вестник Балтийского федерального университета им. И. Канта. 2014. № 7. С. 110–120.
7. Dauqan E.M.A., Abdullah A. Medicinal and functional values of thyme (*Thymus vulgaris* L.) herb // Journal of Applied Biology & Biotechnology. 2017. № 2 (5). P. 17–22. doi: 10.7324/JABB.2017.50203.
8. Базарнова Ю.Г., Иванченко О.Б. Исследование состава биологически активных веществ экстрактов дикорастущих растений // Вопросы питания. 2016. № 5 (85). С. 100–107.
9. Свириденко В.Г., Пырх О.В. Лекарственные растения флоры гомельской области как источник антиоксидантов // Агропромышленные технологии Центральной России. 2016. № 1. С. 81–86.
10. Folch J., Busquets O., Etcheto M., Sanchez-Lopez E. et al. Experimental Models for Aging and their Potential for Novel Drug Discovery // Current Neuropharmacology. 2018. № 16. P. 1466–1483. doi: 10.2174/1570159X15666170707155345
11. Alujoju P., Subramanian S., Periyasamy L., Dyavaiah M. et al. Quercetin Protects Yeast *Saccharomyces cerevisiae* pep4 Mutant from Oxidative and Apoptotic Stress and Extends Chronological Lifespan // Current Microbiology. 2018. № 5. P. 519–530. doi: 10.1007/s00284-017-1412-x
12. Lutchman V., Madkour Y., Samson E., Arlia-Common A. et al. Discovery of plant extracts that greatly delay yeast chronological aging and have different effects on longevity-defining cellular processes // Oncotarget. 2016. № 13. P. 16542–16566. doi: 10.18632/oncotarget.7665
13. Tabasco R., Sanchez-Patan F., Monagas M., Bartolome B. et al. Effect of grape polyphenols on lactic acid bacteria and bifidobacteria growth: resistance and metabolism // Food microbiology. 2011. V. 28. № 7. P. 1345–1352. doi: 10.1016/j.fm.2011.06.005
14. Assiri A.M.A., Elbanna K., Abulreesh H.H., Ramadan M.F. Bioactive compounds of cold-pressed thyme (*Thymus vulgaris*) oil with antioxidant and antimicrobial properties // Journal of oleo science. 2016. V. 65. № 8. P. 629–640. doi: 10.5650/jos.ess16042
15. Scalas D., Mandras N., Roana J., Tardugno R. et al. Use of *Pinus sylvestris* L.(Pinaceae), *Origanum vulgare* L.(Lamiaceae), and *Thymus vulgaris* L.(Lamiaceae) essential oils and their main components to enhance itraconazole activity against azole susceptible/not-susceptible *Cryptococcus neoformans* strains // BMC complementary and alternative medicine. 2018. V. 18. № 1. P. 1–13. doi: 10.1186/s12906-018-2219-4
16. Baj T., Biernasiuk A., Wróbel R., Malm A. Chemical composition and in vitro activity of *Origanum vulgare* L., *Satureja hortensis* L., *Thymus serpyllum* L. and *Thymus vulgaris* L. essential oils towards oral isolates of *Candida albicans* and *Candida glabrata* // Open Chemistry. 2020. V. 18. № 1. P. 108–118. doi: 10.1515/chem-2020-0011
17. Pinto L., Bonifacio M.A., De Giglio E., Cometa S. et al. Unravelling the antifungal effect of red thyme oil (*Thymus vulgaris* L.) compounds in vapor phase // Molecules. 2020. V. 25. № 20. P. 4761. doi: 10.3390/molecules25204761
18. Yalcin S., Handan E.S.E.R., Onbaşilar İ., Yalcin S. Effects of dried thyme (*Thymus vulgaris* L.) leaves on performance, some egg quality traits and immunity in laying hens // Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2020. V. 67. № 3. P. 303–311. doi: 10.33988/auvfd.677150
19. Jafri H., Ahmad I. *Thymus vulgaris* essential oil and thymol inhibit biofilms and interact synergistically with antifungal drugs against drug resistant strains of *Candida albicans* and *Candida tropicalis* // Journal de mycologie Medicale. 2020. V. 30. № 1. P. 100911. doi: 10.1016/j.mycmed.2019.100911
20. Alexa E., Sumalan R.M., Danciu C., Obistioiu D. et al. Synergistic antifungal, allelopathic and anti-proliferative potential of *Salvia officinalis* L., and *Thymus vulgaris* L. essential oils // Molecules. 2018. V. 23. № 1. P. 185. doi: 10.3390/molecules23010185

References

1. Khan A.H, Zou Z., Xiang Y., Chen S. et al. Conserved signaling pathways genetically associated with longevity across the species. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Basis of Disease*. 2019. vol. 1865. no. 7. pp. 1745–1755.
2. Harris I.S., DeNicola G.M. The complex interplay between antioxidants and ROS in cancer. *Trends in cell biology*. 2020. vol. 30. no. 6. pp. 440–451.
3. Lourenço S.C., Moldão-Martins M., Alves V.D. Antioxidants of natural plant origins: From sources to food industry applications. *Molecules*. 2019. vol. 24. no. 22. pp. 4132.
4. Dyshlyuk S., Vesnina A.D., Dmitrieva A.I., Kozlova O.V. et al. Optimization of parameters for obtaining callus, suspension, and root cultures of meadowsweet (*Filipendula ulmaria*) to isolate the largest number of biologically active substances with geroprotective properties. *Brazilian journal of biology*. 2022. vol. 84. pp. e257074. doi: 10.1590/1519-6984.257074
5. Gedikolu A., Sökmen M., Çivit A. Evaluation of *Thymus vulgaris* and *Thymbra spicata* essential oils and plant extracts for chemical composition, antioxidant, and antimicrobial properties. *Food Sci Nutr*. 2019. pp. 1704–1714. doi: 10.1002/fsn3.1007
6. Maslennikov P.V., Chupakhina G.N., Skrypnik L.N., Feduraev P.V. et al. Ecological analysis of bioflavonoid accumulation activity in medicinal plants. *Bulletin of the Baltic Federal University named after I. Kant*. 2014. no. 7. pp. 110–120. (in Russian).
7. Dauqan E.M.A., Abdullah A. Medicinal and functional values of thyme (*Thymus vulgaris* L.) herb. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*. 2017. no. 2 (5). pp. 17–22. doi: 10.7324/JABB.2017.50203
8. Bazarnova Yu. G., Ivanchenko O.B. Investigation of the composition of biologically active substances of extracts of wild plants. *Nutrition issues*. 2016. no. 5 (85). pp. 100–107. (in Russian).
9. Sviridenko V.G., Pырkh O.V. Medicinal plants of the flora of the Gomel region as a source of antioxidants. *Agro-industrial technologies of Central Russia*. 2016. no. 1. pp. 81–86. (in Russian).
10. Folch J., Busquets O., Etcheto M., Sánchez-Lopez E. et al. Experimental Models for Aging and their Potential for Novel Drug Discovery. *Current Neuropharmacology*. 2018. no. 16. pp. 1466–1483. doi: 10.2174/1570159X15666170707155345
11. Alujoju P., Subramanian S., Periyasamy L., Dyavaiah M. et al. Quercetin Protects Yeast *Saccharomyces cerevisiae* pep4 Mutant from Oxidative and Apoptotic Stress and Extends Chronological Lifespan. *Current Microbiology*. 2018. no. 5. pp. 519–530. doi: 10.1007/s00284-017-1412-x

12. Lutchman V., Madkour Y., Samson E., Arlia-Common A. et al. Discovery of plant extracts that greatly delay yeast chronological aging and have different effects on longevity-defining cellular processes. *Oncotarget*. 2016. no. 13. pp. 16542–16566. doi: 10.18632/oncotarget.7665
13. Tabasco R., Sanchez-Patan F., Monagas M., Bartolome B. et al. Effect of grape polyphenols on lactic acid bacteria and bifidobacteria growth: resistance and metabolism. *Food microbiology*. 2011. vol. 28. no. 7. pp. 1345–1352. doi: 10.1016/j.fm.2011.06.005
14. Assiri A.M.A., Elbanna K., Abulreesh H.H., Ramadan M.F. Bioactive compounds of cold-pressed thyme (*Thymus vulgaris*) oil with antioxidant and antimicrobial properties. *Journal of oleo science*. 2016. vol. 65. no. 8. pp. 629-640. doi: 10.5650/jos.ess16042
15. Scalas D., Mandras N., Roana J., Tardugno R. et al. Use of *Pinus sylvestris* L.(Pinaceae), *Origanum vulgare* L.(Lamiaceae), and *Thymus vulgaris* L.(Lamiaceae) essential oils and their main components to enhance itraconazole activity against azole susceptible/not-susceptible *Cryptococcus neoformans* strains. *BMC complementary and alternative medicine*. 2018. vol. 18. no. 1. pp. 1-13. doi: 10.1186/s12906-018-2219-4
16. Baj T., Biernasiuk A., Wróbel R., Malm A. Chemical composition and in vitro activity of *Origanum vulgare* L., *Satureja hortensis* L., *Thymus serpyllum* L. and *Thymus vulgaris* L. essential oils towards oral isolates of *Candida albicans* and *Candida glabrata*. *Open Chemistry*. 2020. vol. 18. no. 1. pp. 108-118. doi: 10.1515/chem-2020-0011
17. Pinto L., Bonifacio M.A., De Giglio E., Cometa S. et al. Unravelling the antifungal effect of red thyme oil (*Thymus vulgaris* L.) compounds in vapor phase. *Molecules*. 2020. vol. 25. no. 20. pp. 4761. doi: 10.3390/molecules25204761
18. Yalcin S., Handan E.S.E.R., Onbaşlar İ., Yalcin S. Effects of dried thyme (*Thymus vulgaris* L.) leaves on performance, some egg quality traits and immunity in laying hens. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 2020. vol. 67. no. 3. pp. 303-311. doi: 10.33988/auvfd.677150
19. Jafri H., Ahmad I. *Thymus vulgaris* essential oil and thymol inhibit biofilms and interact synergistically with antifungal drugs against drug resistant strains of *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. *Journal de mycologie Medicale*. 2020. vol. 30. no. 1. pp. 100911. doi: 10.1016/j.mycmed.2019.100911
20. Alexa E., Sumalan R.M., Danciu C., Obistioiu D. et al. Synergistic antifungal, allelopathic and anti-proliferative potential of *Salvia officinalis* L., and *Thymus vulgaris* L. essential oils. *Molecules*. 2018. vol. 23. no. 1. pp. 185. doi: 10.3390/molecules23010185

Сведения об авторах

Анастасия М. Федорова младший научный сотрудник, кафедра бионанотехнология, Кемеровский государственный университет, Б-р Строителей, 47, г. Кемерово, 650000, Россия, anastasija.fedorova-af2014@ya.ru

 <https://orcid.org/0000-0002-8071-4411>

Мargarita Ю. Дроздова младший научный сотрудник, кафедра бионанотехнология, Кемеровский государственный университет, Б-р Строителей, 47, г. Кемерово, 650000, Россия, drozdowa.margarita.00@ya.ru

 <https://orcid.org/0000-0002-9499-9470>

Ирина С. Милентьева д.т.н, доцент, кафедра бионанотехнология, Кемеровский государственный университет, ул. Красная, 6, г. Кемерово, 650000, Россия, irazumnikova@mail.ru

 <https://orcid.org/0000-0002-3536-562X>

Варвара И. Минина д.б.н, доцент, кафедра генетики и фундаментальной медицины, Кемеровский государственный университет, пр-т Советский, д.73, г. Кемерово, 650000, Россия, vminina@mail.ru

 <https://orcid.org/0000-0003-3485-9123>

Вклад авторов

Анастасия М. Федорова обзор литературных источников по исследуемой проблеме, провела эксперимент

Мargarita Ю. Дроздова провела обработку эксперимента

Ирина С. Милентьева консультация в ходе исследования

Варвара И. Минина написала рукопись, корректировала её до подачи в редакцию и несёт ответственность за плагиат

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Information about authors

Anastasia M. Fedorova junior researcher, bionanotechnology department, Kemerovo State University, B-r Stroiteley, 47, Kemerovo, 650000, Russia, anastasija.fedorova-af2014@ya.ru

 <https://orcid.org/0000-0002-8071-4411>

Margarita Yu. Drozdova junior researcher, bionanotechnology department, Kemerovo State University, B-r Stroiteley, 47, Kemerovo, 650000, Russia, drozdowa.margarita.00@ya.ru

 <https://orcid.org/0000-0002-9499-9470>

Irina S. Milentyeva Dr. Sci. (Engin.), associate professor, bionanotechnology department, Kemerovo State University, Krasnaya str., 6, Kemerovo, 650000, Russia, irazumnikova@mail.ru

 <https://orcid.org/0000-0002-3536-562X>

Varvara I. Minina Dr. Sci. (Biol.), associate professor, genetics and fundamental medicine department, Kemerovo State University, 73 Sovetsky Ave., Kemerovo, 650000, Russia, vminina@mail.ru

 <https://orcid.org/0000-0003-3485-9123>

Contribution

Anastasia M. Fedorova review of literature sources on the problem under study, conducted an experiment

Margarita Yu. Drozdova conducted the processing of the experiment

Irina S. Milentyeva consultation during the study

Varvara I. Minina wrote the manuscript, correct it before filing in editing and is responsible for plagiarism

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Поступила 01/04/2022

После редакции 29/04/2022

Принята в печать 27/05/2022

Received 01/04/2022

Accepted in revised 29/04/2022

Accepted 27/05/2022