Продуценты, биология, селекция, генетическая инженерия

УДК 57.085

Исследование содержания физиологически активных флавонов в культурах *in vitro* шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis* Georgi)

©2017 г. А.В. ОЛИНА[1,2], А.И. СОЛОВЬЕВА[1], А.Е. СОЛОВЧЕНКО[2], А.В. ОРЛОВА[1], А.Ю.СТЕПАНОВА[1,*]

[1]*ФГБУН «Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева», Москва, 127276*

[2]*ФГБУ ВПО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва, 119991*

e-mail: step_ann@mail.ru*

Поступила 14.07.2016 г.
Принята в печать 17.10.2016 г.

Проведена сравнительная оценка содержания четырех основных флавонов (вогонозида, вогонина, байкалина и байкалеина) в различных культурах *in vitro* шлемника байкальского: генетически трансформированных корнях (*hairy roots*) каллусах и суспензиях. Показано, что в *hairy roots* доминирующим флавоном являлся глюкуронид вогонозид (40% от общего содержания флавонов), в то время как в каллусах и суспензиях, а также в корнях интактных растений превалировал байкалин (54–98%). Тем не менее, *hairy roots* и полученная от них суспензионная культура характеризовались и высоким содержанием агликона вогонина, которое было существенно б*о*льшим, чем в корнях интактных растений. Значительное содержание вогонина в изученных штаммах шлемника байкальского открывает возможность для их использования в качестве продуцентов данного флавона.

Ключевые слова: генетически трансформированные корни *hairy roots*, каллусная ткань, суспензионная культура, флавоны, *Scutellaria baicalensis.*

doi: 10.21519/0234-2758-2017-33-3-29-37

В настоящее время одной из актуальных проблем медицины и биологии являются поиск и создание новых лекарственных препаратов на основе растительного сырья [1, 2]. Особое внимание уделяется растениям, содержащим флавоноиды, поскольку они обладают широким спектром фармакологического действия [3]. К таким растениям относится шлемник байкальский (*Scutellaria baicalensis* Georgi), экстракты корней которого обладают противомикробным, антиаллергическим, антиастматическим, антиоксидантным и противоопухолевым действием [4–6]. Высокая физиологическая активность экстрактов шлемника объясняется содержанием в них более 125 соединений фенольной природы, среди которых выделяют четыре доминирующих флавона: вогонин, вогонозид, байкалин и байкалеин [7]. До недавнего времени исследования были сконцентрированы на байкалине и байкалеине, поскольку они являются основными флавонами корней интактных растений шлемника. Однако появившееся в 2007 г. сообщение японских исследователей о способности вогонина избирательно индуцировать апоптоз онкогенных клеток, не затрагивая при этом обычные диплоидные клетки [8], привело к интенсивному изучению механизмов указанного действия данного флавона [9–11]. В настоящее время вогонин считается перспективным противораковым агентом, поскольку обладает широким спектром действия на разные типы онкогенных клеточных линий [12–14].

Для научных исследований и в дальнейшем для практических целей вогонин необходим в значительных количествах. Однако его содержание в биомассе сухих корней шлемника байкальского составляет ≤ 0,3%. Ситуация осложняется и тем, что природные популяции шлемника сокращаются в результате антропогенного воздействия [15].

Список сокращений: 2,4-Д – 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота; КТ(пр) – каллусная ткань, полученная из корней проростков; КТ(hrc) – каллусная ткань, полученная из *hairy roots*; СК(пр) – суспензионная культура, полученная из корней проростков; СК(hrc) – суспензионная культура, полученная из *hairy roots;* B – байкалеин; BG – байкалин; hrc – генетически модифицированные корни, *hairy roots*; W – вогонин; WG – вогонозид.

Поэтому для получения достаточного количества данного флавона весьма перспективно использование биотехнологических подходов, в том числе культивирование растительного материала в условиях *in vitro*. Из литературных источников известно, что содержание флавонов сильно варьирует в зависимости от типа клеточных культур и степени их дифференцировки. В связи с этим целью нашей работы было сравнительное изучение накопления флавонов в культурах *in vitro* шлемника байкальского и выявление штамма с наибольшим содержанием вогонина.

УСЛОВИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

Исследуемые культуры клеток были выделены из растений шлемника байкальского – коллекционного штамма КГТКР ИФР РАН (Sc.baic.), полученного в 1996 г. И.Н. Кузовкиной и А.В. Гусевой, который культивируется и стабильно растет до настоящего времени. Использовали пять культур этого растения: hrc – генетически трансформированные корни *hairy roots*, КТ(hrc) – каллус из *hairy roots*, СК(hrc) – суспензия из *hairy roots,* полученные нами в 2013 г., а также каллус КТ(пр) и суспензия СК(пр), инициированные нами в том же году из корней стерильно растущих проростков того же штамма.

Генетически трансформированные корни выращивали в жидкой среде B_5 без гормонов [16]. Пересадку корней проводили через 5 нед, перенося инокулят массой 300 мг в колбу объемом 100 мл, содержащую 40 мл питательной среды, а затем, через 14 дней, в колбу объемом 300 мл со 100 мл среды. Дальнейшее культивирование проводили в течение 21 сут.

Суспензионную культуру выращивали в жидкой питательной среде B_5 с добавлением кинетина (1 мг/л) (Sigma, USA) и 2,4-Д (1 мг/л) (Merck, Германия), используя колбы объемом 300 мл, содержащие 100 мл среды, в которые вносили 4 мл инокулюма 21-дневной культуры, находящейся в стационарной фазе.

Каллусы культивировали на среде того же состава, дополненной 0,8% агара (Merck). Пересадку каллусов проводили через 4 нед (в стационарной фазе), перенося инокуляты массой 300–400 мг в чашки Петри диаметром 9 см; на каждую чашку при этом приходилось не более семи каллусов.

Культивирование всех видов растительного материала проводили в темноте при температуре 24°С. Для выращивания *hairy roots* и суспензионных культур использовали качалку с частотой вращения 90 об/мин.

Индекс роста культур рассчитывали по формуле:

$$I = (m_{max} - m_0)/m_0,$$

где m_0 и m_{max} – масса культуры *in vitro* в начале и в конце цикла выращивания. На графиках и в таблице представлены средние арифметические значения ростовых параметров из трех-четырех биологических повторностей для каждого варианта.

Экстракция и ВЭЖХ-анализ флавонов

Отбор проб биомассы из суспензий и каллусов для определения флавонов осуществляли в стационарной фазе на 3-й и 4-й неделе культивирования, соответственно. Генетически трансформированные корни *hairy roots* использовали после 5-недельного выращивания [17]. Лиофильно высушенную биомассу экстрагировали метанолом (Merck) (в соотношении биомасса–экстрагент = 1:100) в ультразвуковой бане FS14H (Fisher Scientific, США) в течение 180 мин, после чего 1 мл экстракта отбирали и центрифугировали в течение 10 мин при 5724 g. Супернатант объемом 0,85 мл отбирали, разводили в 3,0–4,8 раза 96%-ным этанолом (Merck) и использовали для ВЭЖХ.

Разделение флавонов проводили на хроматографе Waters e2695 (Waters, США) с диодноматричным детектором Waters 2998 и колонкой Waters Sunfire (150 × 4,6 мм, размер частиц 3,5 мкм). В качестве компонентов подвижной фазы использовали смесь растворителей: А – ацетонитрил (Merck) и В – 0,1%-ная трифторуксусная кислота (Panreac). При разделении использовали режим с градиентной и изократической составляющей: 0 мин – 20% А, 4 мин – 55% А, 14 мин – 55% А, 16 мин – 20% А. Скорость потока составляла 1 мл/мин, температура колонки 30°С; объем пробы при вводе 2–5 мкл. Пики флавоноидов идентифицировали путем детекции УФ-спектров и сравнения времени удерживания со стандартами (см. ниже); хроматограммы обрабатывали в программе «Empower 3.0». Спектры снимали в диапазоне длин волн 230–430 нм; в дальнейшем при анализе смеси флавоноидов методом ВЭЖХ детекцию проводили при λ = 276 нм; идентификацию флавоноидов, содержащихся в культурах клеток и hrc, осуществляли с использованием в качестве стандартов хроматографически чистых байкалина, вогонозида, байкалеина и вогонина производства фирмы AppliChem (Германия) (рис. 1).

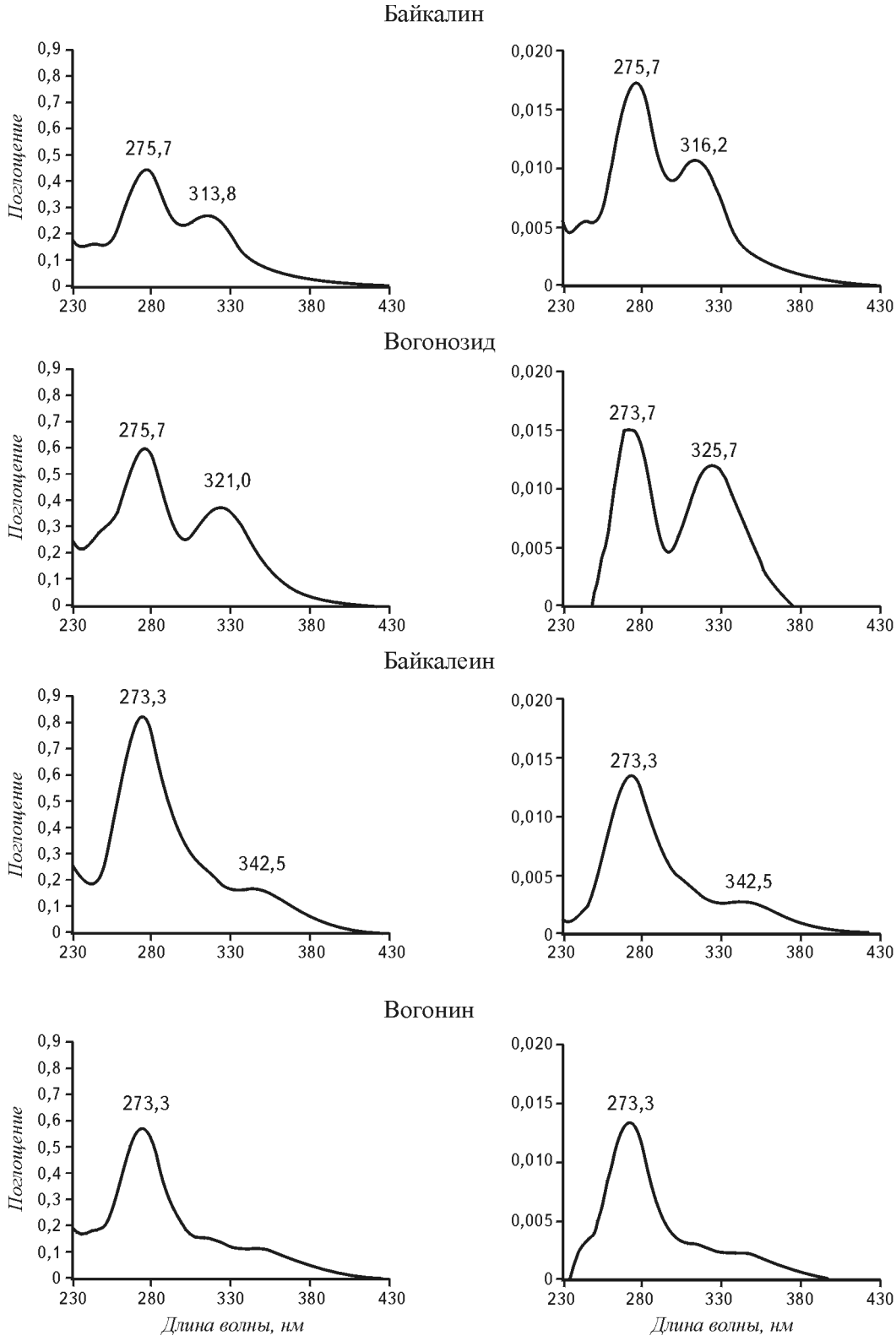

Рис. 1. УФ-спектры флавоноидов (слева – стандартов, справа – компонентов исследуемых экстрактов). Над пиками указана длина волны, при которой отмечен максимум поглощения

Fig.1. UV spectra of flavonoids (left, reference solutions; right, components of studied extracts). Wavelengths of maximum absorption are inscribed over peaks

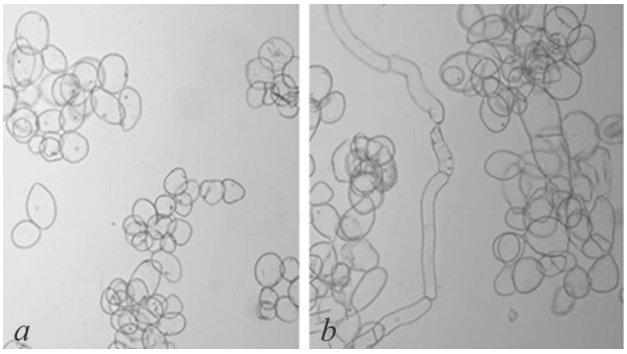

Рис. 2. Суспензионные культуры клеток шлемника байкальского, полученные из *hairy roots* (*a*) и корней проростков (*b*). Увеличение × 10

Fig. 2. Suspension cultures of *S. baicalensis* cells obtained from hairy roots (*a*) or sprout roots (*b*). Enlargement of × 10

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе была проведена морфологическая и цитологическая характеристика культур *in vitro*. Было показано, что каллусные и суспензионные культуры, полученные из разных эксплантов, значительно отличались по окраске и морфологии клеток. Так, СК(hrc) обладала более темной окраской (рис. 2) по сравнению с СК(пр) и содержала небольшие агрегаты, состоящие из меристемоподобных и паренхимоподобных клеток преимущественно округлой формы (рис. 2, *a*). СК(пр) характеризовалась наличием клеток разного размера и большим количеством клеток аномально вытянутой формы (рис. 2, *b*).

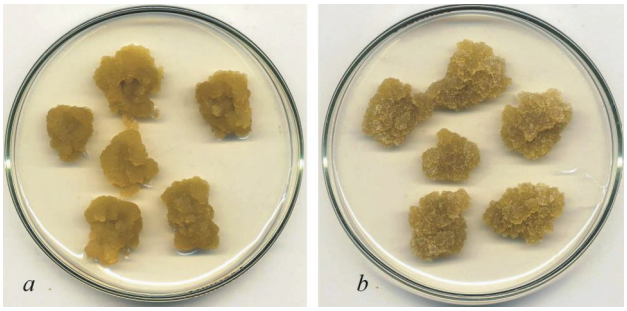

Рис. 3. Каллусные культуры шлемника байкальского, полученные из *hairy roots* (*a*) и корней проростков (*b*)

Fig. 3. Callus cultures of *S. baicalensis* cells obtained from *hairy roots* (*a*) or sprout roots (*b*)

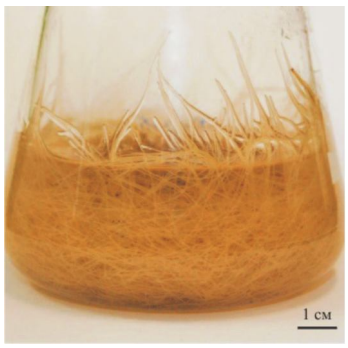

Рис. 4. Культура *hairy roots* шлемника байкальского

Fig. 4. Culture of *S. baicalensis hairy roots*

Каллусные ткани, полученные из разных источников, также отличались по цвету и консистенции (рис. 3). КТ(hrc) имели более светлую окраску и б*о*льшую оводненность. Визуально *hairy roots* представляли собой плотно переплетенные корни желтовато-зеленого цвета (рис. 4).

За три года наблюдений каллусных и суспензионных культур индекс роста сухой биомассы первого типа культур увеличился с 2–2,5 до 5,2; а второго – с 21–27 до 33,6. Такое ускорение роста характерно для длительно выращиваемых культур, поскольку в условиях *in vitro* может происходить селекция быстро делящихся клеток [18].

Ростовые кривые каллусной и суспензионной культур имели стандартную S-образную форму (рис. 5). Анализ показал, что после непродолжительной лаг-фазы (2–3 сут) суспензионная культура вступала в фазу экспоненциального роста, продолжающуюся 10–11 дней. Стационарная фаза роста клеток начиналась на 15–17-е сутки (рис. 5, *a*).

Каллусные культуры имели более протяженную экспоненциальную фазу и выраженную фазу замедления роста, чем суспензионная культура. В стационарную фазу клетки вступали на 20-е сутки (рис. 5, *b*).

Содержание флавонов оценивали с помощью ВЭЖХ спиртовых экстрактов из каллусных, суспензионных культур и *hairy roots*, для чего были подобраны условия разделения основных флавонов (вогонозида, байкалина, вогонина и байкалеина). Профиль элюции смеси стандартов в разработанном режиме ВЭЖХ представлен на рис. 6, *a*.

ВЭЖХ-анализ показал, что все изученные культуры содержали вещества, которые по времени

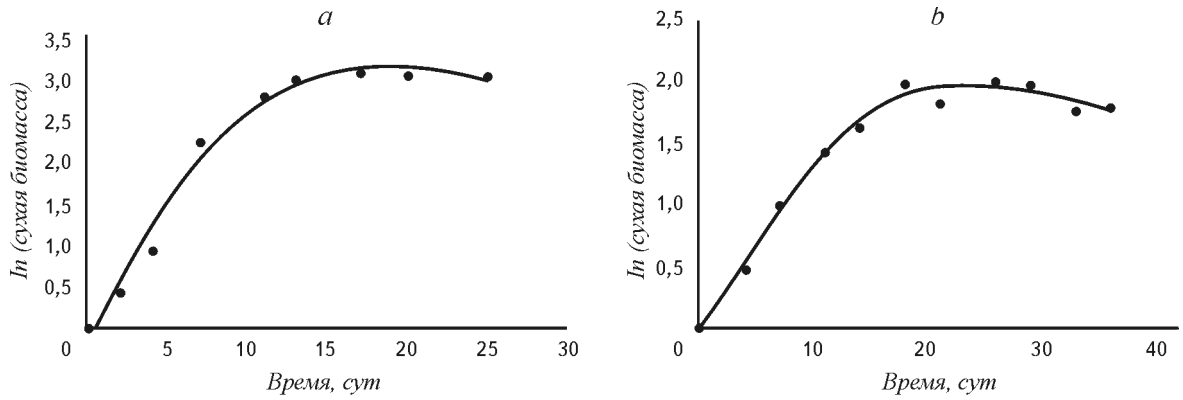

Рис. 5. Динамика роста (по сухой биомассе) суспензионной (*a*) и каллусной (*b*) культур, полученных из hrc

Fig. 5. Growth dynamics (by dry biomass) of suspension (*a*) and callus (*b*) cultures obtained from hrc

удерживания соответствовали стандартам флавоноидов (см. рис. 6). Во всех видах растительного материала преобладали глюкурониды – байкалин (BG) и вогонозид (WG). При этом накопление глюкуронидов наблюдалось в стационарной фазе роста, что согласуется с данными других исследователей [19]. Основным глюкуронидом во всех культурах *in vitro*, кроме *hairy roots*, был байкалин; в генетически трансформированных корнях, как было показано ранее [17] и подтверждено в настоящей работе, преобладал вогонозид (WG) (см. рис. 6, *b*). Эта отличительная особенность делает коллекционный штамм *hairy roots* уникальным не только среди исследованных культур, но и среди культур *in vitro*, полученных другими авторами [19, 20].

Интересной особенностью СК(hrc) можно считать наличие второго доминирующего пика X (см. рис. 6, *b*), определение которого является одной из задач нашей дальнейшей работы.

Результаты количественного анализа показали, что суммарное содержание четырех основных флавонов колеблется в пределах от 10 до 30 мг/г сухой массы (1–3% сухой массы) (таблица). Содержание доминирующих флавонов глюкуронидов (байкалина и вогонозида) варьировало от 88,9% (для СК(hrc)) до 92%–98,3% (для корней интактных растений и каллусов) от суммы всех флавонов. При этом для каллусных культур, особенно полученных из корней проростков, характерна «монофлавоноволость» вследствие практически полного доминирования байкалина (до 98%). Таким образом, каллусную ткань можно рассматривать в качестве продуцента чистого байкалина. При этом интересно, что независимо от индекса роста каллусных культур в стационарной фазе содержание и процентное соотношение в них флавонов было одинаковым (неопубликованные данные). Необходимо отметить, что такое высокое процентное содержание указанного глюкуронида в каллусных культурах другие авторы наблюдали на 8–10-й неделе выращивания культур с выраженной стационарной фазой, которую они регистрировали на 3–10-й неделе [19, 20]. В нашем исследовании высокое содержание байкалина было зарегистрировано уже на 3–4-й неделе культивирования.

Как уже было отмечено выше, в генетически трансформированных корнях в отличие от остальных исследованных *in vitro* культур доминирующим глюкуронидом был вогонозид. Вероятно, преобладание вогонозида и привело к значительному увеличению содержания его агликона – вогонина по сравнению с другими культурами и корнями интактных растений (см. таблицу). Следует отметить, что высокое содержание вогонина сохраняется и в суспензионной культуре, полученной из *hairy roots*. Различие между корнями интактных растений и культурами *in vitro* также наблюдалось и в соотношении глюкурониды/агликоны (см. таблицу, рис. 7), которое было ниже у культур *in vitro* по сравнению с корнями интактных проростков.

Общая тенденция, заключающаяся в увеличении содержания флавонов-агликонов в культурах *in vitro* по сравнению с корнями проростков интактных растений, возможно, связана с активностью β-глюкуронидазы, гидролизующей глюкурониды с образованием свободных агликонов. Наличие эндогенной β-глюкуронидазы (β-GUS, байкалиназы) – фермента, редко встречающегося у растений, но широко распространенного у

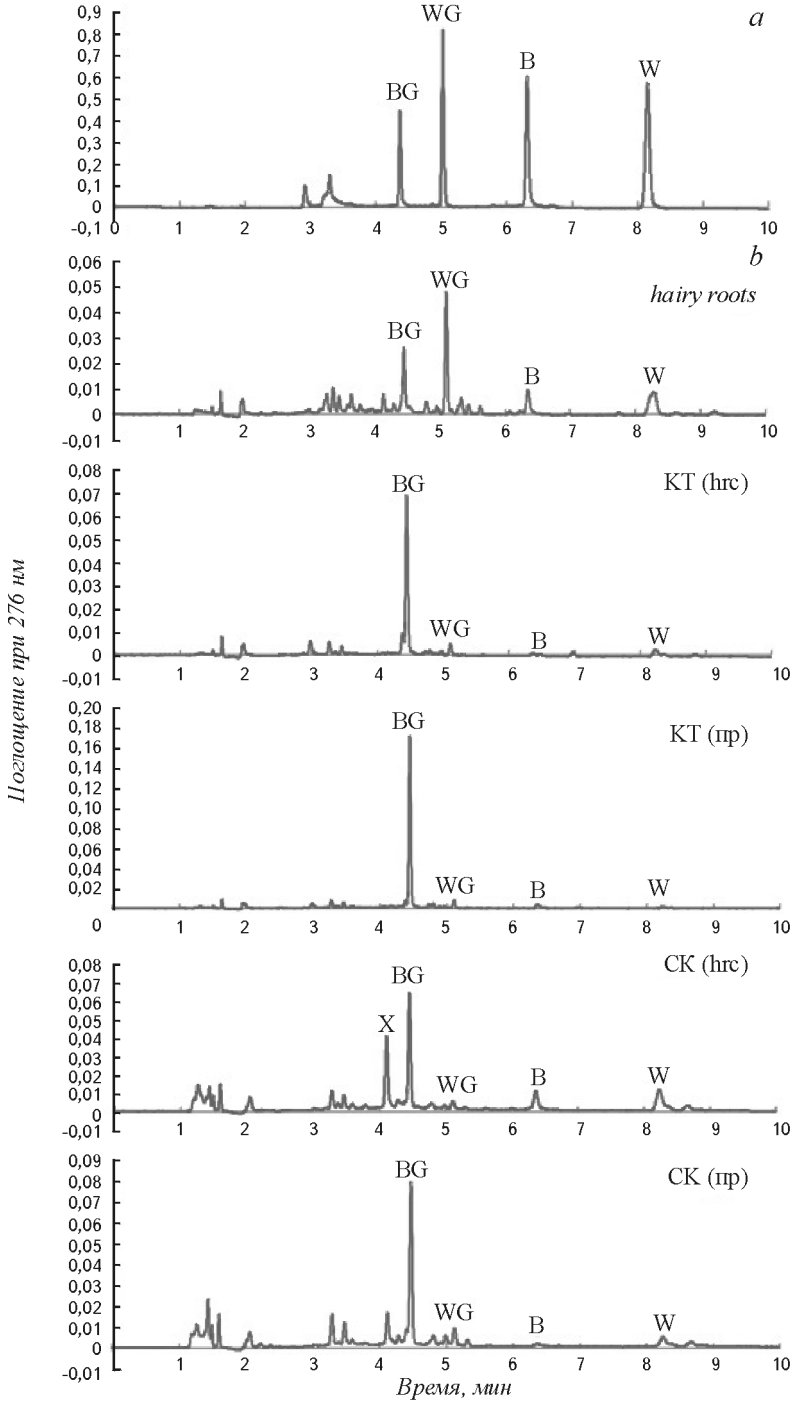

Рис. 6. Профиль элюции при ВЭЖХ. *a* – разделение основных флавонов: хроматографически чистых байкалина (BG), вогонозида (WG), байкалеина (B) и вогонина (W)); *b* – содержание флавонов в спиртовых экстрактах из *hairy roots,* каллусных и суспензионных культур шлемника байкальского

Fig. 6. HPLC elution profiles of flavon-containing samples: (*a*), mixture of reference chromatographically pure flavonoid solutions; (*b*), methanol extracts of five *S. baicalensis in vitro* cultures

представителей кишечной флоры, является особенностью шлемника байкальского. Высокое процентное содержание агликонов в генетически трансформированных корнях и суспензионных культурах (см. рис.7) может объясняться их интенсивным ростом, поскольку, по литературным данным, активность байкалиназы связана с ростовой активностью [21]. Вогонин, один из

Содержание флавонов в корнях и культурах шлемника байкальского (мг/г сухой массы)

Content of flavons in *S. baicalensis* roots and cultures (mg/g dry mass)

Флавоны и их соотношения	Корни интактных растений	*Hairy roots*	КТ(hcr)	КТ(пр)	СК(hrc)	СК(пр)
Глюкурониды						
байкалин	238,4	5,46	12,57	26,28	7,37	8,24
вогонозид	60,4	8,56	0,86	1,15	0,62	0,98
Агликоны						
байкалеин	3,2	2,49	0,27	0,97	2,17	0,17
вогонин	1,8	4,98	1,08	0,54	3,44	1,06
Сумма флавонов	303,8	21,5	14,78	28,94	13,59	10,4
Соотношения:						
глюкурониды/агликоны	60,0:1	1,8:1	10:1,00	18:1	1,4:1,0	7,4:1,00
вогонозид/вогонин	33,5:1	1,7:1	1:1,25	2:1	1,0:5,5	1,0:1,08
байкалин/байкалеин	74,5:1	2,2:1	47:1,00	27:1	3,3:1,0	48:1,00

Примечание: ошибка среднего значения не превышает 10%.
Footnote: average error value is inferior to 10%.

флавонов-агликонов, образующихся под действием байкалиназы, обладает уникальной цитотоксической активностью. В этом отношении интерес представляют две культуры – генетически трансформированные корни и полученная от них суспензионная культура СК(hrc). Они обладают наименьшим соотношением глюкурониды/агликоны и, предположительно, более высокой активностью глюкуронидазы, чем значительно отличаются от остальных видов исследованного растительного материала. Особенностью СК(hrc) является также существенное преобладание агликона в соотношении вогонозид/вогонин (1:5,5). Детальное изучение функциональной роли флавонов и ключевого фермента их метаболизма β-GUS в культурах шлемника байкальского составит основу нашей дальнейшей работы.

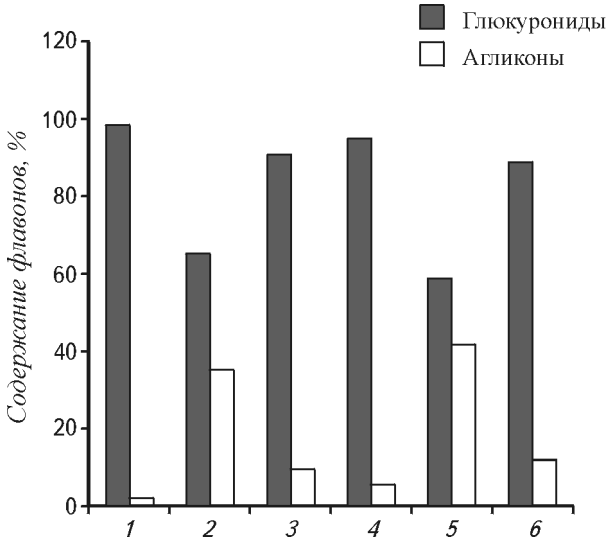

Рис. 7. Процентное содержание флавонов в корнях и культурах клеток шлемника байкальского: *1* — корни интактных растений; *2* — *hairy roots*; *3* — каллус, полученный из *hairy roots*; *4* — каллус, полученный из корней проростков; *5* — суспензионная культура клеток, полученная из *hairy roots*; *6* — суспензионная культура клеток, полученная из корней проростков

Fig. 7. Percentage of flavons in roots and cell cultures of *S. baicalensis*: (*1*) roots of intact plants; (*2*), *hairy roots*; (*3*), callus obtained from *hairy roots*; (*4*), callus from sprout roots; (*5*) suspension culture from *hairy roots*; (*6*) suspension culture from sprout roots

Таким образом, в данном исследовании было проведено сравнительное изучение содержания флавонов в недифференцированных и дифференцированных *in vitro* культурах шлемника байкальского и выделены две культуры, которые можно использовать в качестве продуцентов биологически активных флавонов – каллусная культура из различных органов растения для получения байкалина и культура *hairy roots* для производства вогонина.

Авторы выражают благодарность ведущему научному сотруднику ИФР РАН И.Н. Кузовкиной за ценные рекомендации в процессе работе. Работа по ВЭЖХ-анализу поддержана грантом РНФ 14-50-00029.

ЛИТЕРАТУРА

1. Saeidnia, S., and Abdollahi M. Perspectives studies on novel anticancer drugs from natural origin: a comprehensive review. *Int. J. Pharm*., 2014, 10(2), 90–108. doi: 10.3923/ijp.2014.90.108
2. Newman, D.J., Cragg G.M., and Snader K.M. Natural products as sources of new drugs over the period 1981–2002. *Nat. Prod. Rep*., 2003, 66(7), 1022–1237. doi: 10.1021/np0300961
3. Bharati A.J., and Bansal Y.K. *In vitro* production of flavonoids: a review. *World J. Pharm. Pharmaceutical Sci.*, 2014, 3(6), 508–533.
4. Shin H.S., Bae M.-J., Choi D.W., Shon D.-H. Skullcap (*Scutellaria baicalensis*) extract and its active compound, wogonin, inhibit ovalbumin-induced Th2-mediated response // *Molecules*. 2014. V. 19. 2536–2545. doi:10.3390/molecules19022536
5. Li C. Lin G., and Zuo Z. Pharmacological effects and pharmacokinetics properties of radix Scutellariae and its bioactive flavones. *Biopharm. Drug. Dispos.,* 2011. 32(8), 427–445. doi: 10.1002/bdd.771
6. Gong W.Y. Wu J.F., Liu B.J., et al. Flavonoid components in *Scutellaria baicalensis* inhibit nicotine-induced proliferation, metastasis and lung cancer-associated inflammation *in vitro*. Int. J. Oncol., 2014, 44(5), 1561–1570. doi: 10.3892/ijo.2014.2320
7. Olennikov D.N., Chirikova N.K., Tankhaeva L.M. Phenolic compounds of *Scutellaria baicalensis* Georgi. *Russ. J. Bioorg. Chem.,* 2010, 36(3), 816–824. doi:10.1134/S1068162010070046
8. Himeji M., Ohtsuki T., Fukazawa H., et al. Difference of growth-inhibitory effect of *Scutellaria baicalensis*-producing flavonoid wogonin among human cancer cells and normal diploid cell. *Cancer Lett.*, 2007, 245(1-2), 269–274. doi: 10.1016/j.canlet.2006.01.011
9. Talbi A. Zhao D., Liu Q., et al. Pharmacokinetics, tissue distribution, excretion and plasma protein binding studies of wogonin in rats. *Molecules*, 2014, 19(5), 5538–5549. doi: 10.3390/molecules1905553
10. Li-Weber M. New therapeutic aspects of flavones: The anticancer properties of Scutellaria and its main active constituents wogonin, baicalein and baicalin. *Cancer Treatments Rev*., 2009, 35(1), 57–68. doi: 10.1016/j.ctrv.2008.09.005
11. Yu J.S., Kim A.K. Wogonin induces apoptosis by activation of ERK and p38 MAPKs signaling pathways and generation of reactive oxygen species in human breast cancer cells. *Mol. Cells*., 2011, 31(4), 327–335. doi: 10.1007/s10059-011-0041-7
12. Lu H., Gao F., Shu G., et al. Wogonin inhibits the proliferation of myelodysplastic syndrome cells through the induction of cell cycle arrest and apoptosis. *Mol. Med. Rep.*, 2015, 12(5), 7285–7292. doi: 10.3892/mmr.2015.435
13. Chung H.Y., Jung Y.M., Shin D.H., et al. Anticancer effects of wogonin in both estrogen receptor-positive and –negative human breast cancer cell lines in vitro and in nude mice xenografts. *Int. J. Canc*., 2008, 122(4). 816–822. doi: 10.1002/ijc.23182
14. Lin C.C., Kuo C.L., and Lee M.H. Wogonin triggers apoptosis in human osteosarcoma U-2 OS cells through the endoplasmic reticulum stress, mitochondrial dysfunction and caspase-3-dependent signaling pathways *Int. J. Oncol.,* 2011, 39(1), 217–224. doi: 10.3892/ijo.2011.1027
15. Чудновская Г.В. Изучение биологических особенностей *Scutellaria baicalensis* Georgi. в Восточном Забайкалье с целью интродукции. *Достиж. Науки Тех. АПК*, 2013, (9), 43–46.
16. Gamborg O.L., Miller R.A., and Ojima O. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Ex. Cell Res*., 1968, 50(1), 151–158.
17. Кузовкина И.Н., Гусева А.В., Ковач Д. и др. Флавоны генетически трансформированных корней шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis Georgi*) и индукция их образования при элиситации метилжасмонатом. *Физиология растений.* 2005, 52(5), 90–96. doi: 10.1007/s11183-005-0012-y
18. Филиппова В.Н., Смоленская И.Н., Зоринянц С.Э. Экдистероиды в культурах клеток *Serrtula coronata* и *Ajuga reptans.* Химия растительного сырья, 2002, (1), 57–62.
19. Ohtsuki T., Himeji M., Fukazawa H., et al. High-yield production of *Scutellaria radix* flavonoids (baicalein, baicalin and wogonin) by liquid culture of *Scutellaria baicalensis* root-derived cells. *Braz. Arch. Biol. Technol*., 2009, 52(2), 291–298.
20. Wilczanska-barska A., Krauze-baranowska M., Majdan M., et al. Flavonoid production in transformed root cultures of *Scutellaria baicalensis*. J. Plant Physiol., 2000. 156(1). 121–125. doi: 10.1016/S0176-1617(00)80282-5
21. Sudan C., Prakash S., Bhomkar P., et al. Ubiquitous presence of в-glucuronidase (GUS) in plants and its regulation in some model plants. *Planta*, 2006, 224(2), 853–864. doi: 10.1007/s00425-006-0276-2

Physiologically Active Flavones Content in *Scutellaria baicalensis* Georgi *in vitro* Cultures

A.V. OLINA[1,2], A.I. SOLOVYOVA[1], A.E. SOLOVCHENKO[2], A.V. ORLOVA[1], A.Yu. STEPANOVA[1,*]

[1] *Timiryazev Institute of Plant Physiology, Moscow 127276, Russia*

[2] *Lomonosov Moscow State University, Moscow 119991, Russia*

e-mail: step_ann@mail.ru*

Received July 14, 2016
Accepted October 17, 2016

Abstract – A comparative assessment of the contents of four main flavonoids (wogonoside, wogonin, baicalin and baicalein) has been performed in *Scutellaria baicalensis in vitro* cultures: genetically transformed roots (hairy roots), calli and suspensions. A glucuronide of wogonoside was shown to predominate in hairy roots (40% of the total flavones content), whereas in calli and suspensions, as well as in the intact plant roots, baicalin prevailed (54–98%). Nevertheless, the wogonin content in the hairy roots and suspension culture induced from them was significantly higher than that in the intact plant roots. The high amount of wogonin in the studied strains of *Scutellaria baicalensis* makes them promising as producers of the flavone.

Key words: callus, flavones, hairy roots, *Scutellaria baicalensis*, suspension.

Acknowledgements – The authors are acknowledged to I.N. Kuzovkina, Leading Researcher of the Timiryazev IPP RAS for valuable recommendations. The HPLC analysis was supported by a Grant no. 14-50-00029 of the Russian Scientific Fund.

doi: 10.21519/0234-2758-2017-33-3-29-37