

УДК 615.322:582. 579.2:581.192

ФЛАВОНОИДЫ *IRIS SIBIRICA* L., ВЫРАЩЕННОГО В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO**

© *О.Н. Мазко, Л.И. Тихомирова***, Л.В. Щербакова, Н.Г. Базарнова, Д.А. Карпицкий

*Алтайский государственный университет, пр. Ленина, 61, Барнаул, 656049
(Россия), e-mail: L-tichomirova@yandex.ru*

Цель данного исследования – оценка влияния 6-бензиламинопурина (БАП) отдельно и во взаимодействии с ауксинами на изменение качественного и количественного состава флавоноидов в сырье растений-регенерантов *Iris sibirica* L. сорт Cambridge в сравнении с аэропнным и интактным сырьем с использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Сырье *I. sibirica* сорт Cambridge, полученное в культуре *in vitro*, имело более богатый качественный состав флавоноидов, чем интактные растения. Отмечена зависимость накопления флавоноидов от концентрации 6-бензиламинопурина в питательных средах. Наличие 13 соединений наблюдали в извлечениях этиловым спиртом (70%) из растений-регенерантов, выращенных на самой низкой концентрации БАП (1.0 мкМ) в пределах опыта. В количественном отношении флавоноид апигенин максимально определяли на среде с БАП 1 мкМ, а кемпферол – на среде с БАП 5.0 мкМ, дополненной ауксинами. Для среды с 7.5 мкМ БАП отмечали наименьшее разнообразие соединений и самое низкое содержание кемпферола. Ауксины оказывали влияние на синтез флавоноидов. Сумма флавоноидов по всем вариантам опыта в среднем увеличивалась на 13% в присутствии ауксинов.

Этапы технологического процесса получения сырья *I. sibirica* сорт Cambridge на основе клонального микроразмножения и выращивания в условиях аэропоники позволили получить сырье, не содержащее тяжелые и токсичные металлы, не зараженное патогенами и вредителями. С 1 м² полезной площади аэропоники за 1 год возможно собрать в 5 раз больше сырья, чем при полевом выращивании. По качественному составу фенольных соединений аэропнное сырье идентично интактным растениям.

Ключевые слова: *Iris sibirica* L., флавоноиды, высокоэффективная жидкостная хроматография, биотехнологическое растительное сырье.

Введение

Одним из наиболее изученных классов полифенольных соединений являются флавоноиды – вещества, присутствующие во всех тканях растений и представленные огромным разнообразием структурных форм.

Апигенин (5,7,4'-тригидроксифлавоон) – широко встречающийся в природе растительный флавоон, обладающий противовоспалительными, антиоксидантными и противоопухолевыми свойствами (рис. 1). Апи-

Мазко Олеся Николаевна – кандидат биологических наук, директор НИИ Биологической медицины
e-mail: olesia.mazko@yandex.ru

Тихомирова Людмила Ивановна – кандидат биологических наук, заведующая отделом биотехнологии растений, e-mail: l-tichomirova@yandex.ru

Щербакова Людмила Владимировна – кандидат химических наук, доцент кафедры техносферной безопасности и аналитической химии, e-mail: l-tichomirova@yandex.ru

Базарнова Наталья Григорьевна – доктор химических наук, заведующая кафедрой органической химии, e-mail: bazarnova@chem.asu.ru

Карпицкий Дмитрий Алексеевич – студент, e-mail: l-tichomirova@yandex.ru

генин ингибирует рост клеток рака щитовидной железы путем подавления фосфорилирования рецептора фактора роста эпидермиса (EGF-R) и митоген-активируемой протеинкиназы (MAP). Этот флавоон способен усиливать экспрессию супрессора опухолей, белка p53, и белка супрессии ретинобластомы Rb. Кроме того, апигенин, возможно, препятствует развитию воспаления дыхательных путей у больных астмой, как это было показано в экспериментах на животных [1–5].

Кемпферол (3,4',5,7-тетрагидроксифлавоон) – флавоноид класса флавонолов, укрепляет стенки

* Данная статья имеет электронный дополнительный материал (приложение), который доступен читателям на сайте журнала. DOI: 10.14258/jcprm.2021039166s

** Автор, с которым следует вести переписку.

сосудов микроциркуляторного русла и выводит из организма токсины (рис. 2). Это биологически активное вещество обладает ярко выраженным общеукрепляющим, противовоспалительным и тонизирующим действием, оно является также диуретиком. В основе антиоксидантного действия кемпферола лежит способность к образованию хелатных комплексов с солями железа и высокая способность к переносу электронов, что объясняется наличием в молекуле вещества большого количества гидроксильных групп. Противовоспалительное действие кемпферола обусловлено способностью тормозить образование медиаторов воспаления – простагландинов и лейкотриенов. Он участвует также в активизации некоторых типов клеток, в том числе базофилов, нейтрофилов, эозинофилов, Т- и В-лимфоцитов, макрофагов, гепатоцитов и др. [1].

Кемпферол обладает активностью против вируса японского энцефалита (энцефалит В), распространяемого комарами в странах Южной Азии и характеризующегося высоким летальным исходом [6]. Кемпферол способен связываться с определенными сайтами вирусной РНК, останавливая таким образом распространение инфекции [7].

Богатый фитохимический профиль видов *Iris L.* и присутствие уникальных соединений, таких как ксантоновый гликозид мангиферин, фенолкарбоновые кислоты (кофейная, синаповая, п-кумаровая, феруловая), флавоноиды (кверцетин, мирицетин, дельфинидин, цианидин), привлекают ученых во всем мире. Среди видов *Iris germanica L.*, *Iris florentina L.* и *Iris pallida Lam.*, *Iris pseudacorus L.* и *Iris Lactea Pall* являются наиболее изученными и используемыми для производства определенных лекарственных средств и косметических продуктов, в то время как *I. sibirica L.* рассматривается как источник новых биологически активных соединений. Основным направлением биотехнологии ириса является изучение и управление вторичным метаболизмом, а также разработка экологически устойчивых и экономически перспективных систем культивирования, с целью эффективного производства изученных и новых вторичных метаболитов [8–10].

Цель данного исследования – оценка влияния 6-бензиламинопурина (БАП) отдельно и во взаимодействии с ауксинами на изменение качественного и количественного состава флавоноидов в сырье растений-регенерантов *Iris sibirica L.* сорт Cambridge в сравнении с аэропнным и интактным сырьем с использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Экспериментальная часть

Растительный материал. Сорт *I. sibirica Cambridge* был зарегистрирован в 1964 г. автором Marjorie Brummitt. Цветки бирюзово-синие с бело-желтым рисунком в основании. Происхождение: 'White Swirl' × 'Gatineau'. Для введения в культуру ткани растительный материал получен из НИИСС им. М.А. Лисавенко, автор коллекции З.В. Долганова. Сырье интактных растений заготавливали весной 2018 г. в г. Барнауле Алтайского края.

В отделе биотехнологии растений Алтайского государственного университета получено сырье растений-регенерантов и аэропнное сырье. Растения-регенеранты размножали микроклонально, используя агаровые питательные среды на минеральной основе по прописи Мурасиге-Скуга (MS) [11]. В качестве фитогормонов в среды вводили цитокинин 6-бензиламинопурин (БАП 1.0–10.0 мкМ) и ауксины: НУК (α -нафтилуксусную кислоту 1.0 мкМ), ИМК (3-индолилуксусную кислоту 0.1 мкМ). Сырье выращивали в условиях аэропоники на жидкой среде MS (1/4 концентрации) без содержания гормонов [12]. Работу проводили на основе общепринятых в биотехнологии растений методов [13].

Растительный материал расщепляли на листья и корневища с корнями, сушили при комнатной температуре (20 ± 2 °С), хранили в бумажных пакетах. Измельченный механически на лабораторной мельнице растительный материал содержал влагу не более 9%.



Рис. 1. А) Апигенин, 4',5,7-тригидроксифлавоон (название ИЮПАК 5,7-дигидрокси-2-(4-гидроксифенил)-4Н-1-бензопиран-4-он); Б) Кемпферол, 3,4',5,7-тетрагидроксифлавоон (название ИЮПАК 3,5,7-тригидрокси-2-(4-гидроксифенил)-4Н-хромен-4-он) [1]

Приготовление растительных экстрактов. Воздушно-сухую аналитическую пробу растительного сырья измельчали до размеров частиц, проходящих через сито с диаметром отверстий 1 мм. Около 1 г (точная навеска) сырья помещали в круглодонную колбу вместимостью 100 мл, приливали 30 мл 70% этилового спирта, нагревали до кипения и кипятили в течение 30 минут. Затем полученный экстракт фильтровали через беззольный фильтр в мерную колбу вместимостью 100 мл. Отфильтрованное сырье подвергали повторной экстракции. Объединенное извлечение разбавляли до метки этиловым спиртом 70% [9].

Методы исследования. Исследование выполняли с помощью высокоэффективного жидкостного хроматографа LC-20 фирмы «SHIMADZU» (Япония) с диодно-матричным детектором, с последующей компьютерной обработкой результатов исследования с использованием программы «LCsolution version 1.4», хроматографическая колонка 4.6×150 мм Fortis C-18. В качестве элюента А применяли трифторуксусной кислоты раствор 0.01%, в качестве элюента Б – ацетонитрил. Осуществляли градиентное элюирование (Б: 5–55%), скорость подачи элюента – 100 мкл/мин, объем анализируемой пробы – 2 мкл. Детектирование веществ на хроматограммах проводили при длинах волн 254, 360 нм. Соединения идентифицировали по временам удерживания (tR) и УФ-спектрам поглощения, сравнивая с их аналогичными показателями стандартных образцов «Sigma-Aldrich» и литературными данными.

При определении содержания суммы флавоноидов в пересчете на апигенин методом дифференциальной спектрофотометрии снимали спектры поглощения растворов извлечения из сырья с добавлением алюминия хлорида.

На основании анализа экспериментальных данных установлено, что максимумы поглощения растворов извлечения в присутствии алюминия хлорида близки к максимуму поглощения раствора апигенина с той же добавкой. Рекомендуемая аналитическая длина волны для определения суммы флавоноидов 393 нм.

Статистическая обработка. Все измерения проведены не менее чем в трехкратной повторности. Статистическую обработку результатов измерений проводили с помощью программы SigmaPlot 12.5.

Обсуждение результатов

В результате исследования сырья *Iris sibirica* L. сорт Стерх, выращенного в различных условиях, найдены следующие группы БАВ, соответствующие роду *Iris* L.: фенилпропеновые кислоты (кумаровая и феруловая, их производные), флавоноиды (С-гликозид апигенина, апигенин-7-О-гликозид), изофлавоноиды, фенолокислоты (ванилиновая кислота), негидролизуемые флавоноиды-гликозиды (гликозиды кемпферола и апигенина), стильбены. Качественный состав биологически активных соединений *Iris sibirica* сорт Стерх зависел от условий выращивания, при этом наиболее близким к интактным растениям по содержанию БАВ находилось сырье гидропонных растений. Это позволяет считать биотехнологию получения сырья *Iris sibirica* на основе гидропонного выращивания, сопряженного с микроклональным размножением альтернативным способом [14].

Для более детального изучения компонентного состава фенольных соединений *I. sibirica* сорт Cambridge применен метод ВЭЖХ для анализа извлечений из растений-регенерантов, полученных на разных вариантах питательных сред, аэропонного и интактного сырья.

В результате хроматографического разделения фенольных соединений спиртовых извлечений получены данные, представленные в таблице 1 и на рисунке 2. Установлено присутствие 13 соединений фенольной природы, поглощающих при длинах волн 254 и 360 нм. При сравнении со спектроскопическими и хроматографическими характеристиками стандартных образцов, пики со временами удерживания 14.70, 15.30, 15.86 мин идентифицированы как апигенин, изовитексин и кемпферол соответственно.

Виды рода *Iris* в научной литературе признаны богатейшими источниками вторичных метаболитов, преимущественно за счет найденных флавоноидов. За последнее десятилетие было обнаружено и охарактеризовано более 90 флавоноидных компонентов, в том числе 38 новых соединений, у 15 видов ириса [15]. В данной работе количественно определены апигенин и кемпферол в сырье интактных растений и в биотехнологическом сырье.

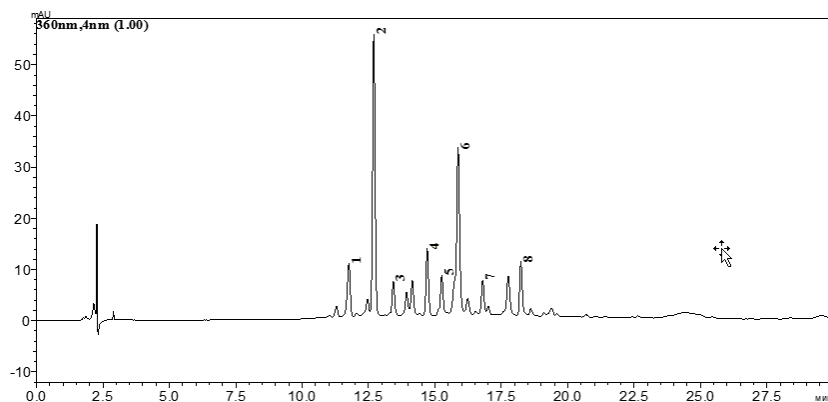
Р.К. Wahome и коллеги показали, что растения растут быстрее в гидропонике (аэропонике), так как они получают все необходимые им питательные вещества в нужных количествах и соотношениях [16]. Наши данные подтверждают такие выводы. Расчет урожайности *I. sibirica* сорт Cambridge с 1 м² показал возможность за 1 год собрать в 5 раз больше сырья, чем при полевом выращивании. По качественному со-

ставу фенольных соединений аэропонное сырье идентично интактным растениям, в количественном отношении по сумме флавоноидов немного уступает, так как растения изучались разных возрастных групп (аэропонные – 6 месяцев, интактные – 5 лет). Тем не менее в биотехнологическом сырье содержалось в 3 раза больше апигенина, чем в сырье интактных растений. Если учитывать большую урожайность аэропонных растений, то получение сырья, содержащего флавоноиды, экономически более выгодно методами биотехнологии (табл. 2).

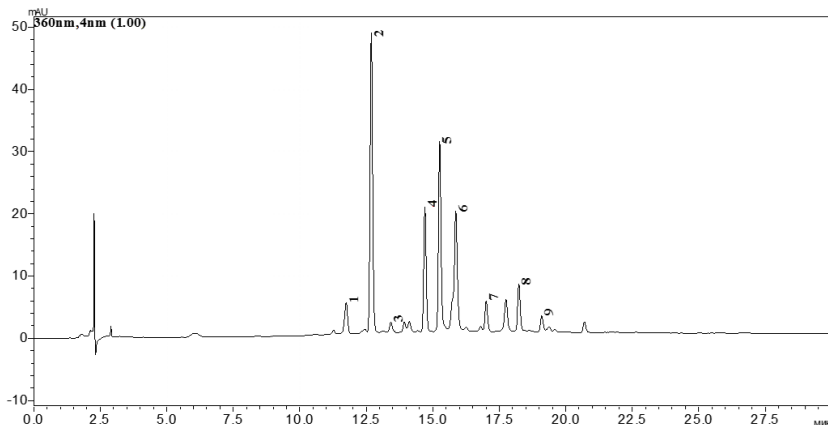
Растения-регенеранты *I. sibirica* сорт Cambridge, выращенные в стерильных условиях, высаживали в аэропонику для дальнейшего культивирования. Этапы технологического процесса позволяли получить сырье, не содержащее тяжелые и токсичные металлы [17], не зараженное патогенами и вредителями. По мнению А. Манукяна [18], беспочвенное производство лекарственных и ароматических растений является перспективной альтернативой получения растений с высокой продуктивностью, свободных от биотических и абиотических загрязнений, с постоянными биохимическими профилями.

Таблица 1. Хроматографические и спектроскопические характеристики фенольных соединений *I. sibirica* сорт Cambridge

№ пика	Время удерживания, мин	Максимумы поглощения (λ_{max}), нм	Заключение
1	11.291	270, 348	не идентифицирован
2	12.671	271, 334	не идентифицирован
3	13.132	271, 340	не идентифицирован
4	14.698	270, 340	апигенин
5	15.257	270, 335	изовитексин
6	15.838	263, 367	кемпферол
7	16.721	270, 329	не идентифицирован
8	17.967	271, 329	не идентифицирован
11	22.430	268, 329	не идентифицирован
12	24.469	273, 329	не идентифицирован
13	26.764	268, 329	не идентифицирован



А



Б

Рис. 2. Хроматограммы *I. sibirica* сорт Cambridge. А) интактное сырье. Б) аэропонное сырье

Таблица 2. Зависимость накопления массы и БАВ (мг/г на а.с.с.) в растительном сырье *I. sibirica* сорт Cambridge от условий культивирования

№ опыта	Урожайность с 1 м ² за 1 год (г а.с.с)	Флавоноиды (сумма)	Апигенин	Кемпферол
Аэропонная трава	981±15	19±1	1.50±0.01	0.24±0.01
Интактные, трава	220±25	25±1	0.50±0.01	0.40±0.01

Накопление флавоноидов *I. sibirica* сорт Cambridge в условиях культуры ткани. Как считают авторитетные ученые: «Не вызывает сомнений тот факт, что культура ткани – альтернативный источник получения биологически активных и экологически чистых веществ, поскольку регенеранты сохраняют присущую интактному растению способность к синтезу различных соединений, в том числе флавоноидов [19], а гидропонная технология может быть применена для получения высококачественного растительного материала круглый год с учетом возможности контролировать условия выращивания и стимулировать вторичный метаболизм путем соответствующего манипулирования минеральным питанием» [20].

Как следует из таблицы 2, трава интактных растений *I. sibirica* сорт Cambridge (5 лет) накапливала флавоноиды больше, чем трава молодых аэропонных растений (6 месяцев). В условиях аэропоники использовали питательный раствор на основе 1/4 MS не содержащий фитогормоны. Для культуры *in vitro* готовили агаровые среды с аналогичным минеральным составом с добавлением цитокинина БАП и ауксинов НУК и ИМК. Под действием 6-бензиламинопурина и ауксинов в культуре *in vitro* мы наблюдали увеличения синтеза флавоноиды. На средах MS с гормонами флавоноидов накапливалось в 2–2.7 раза больше, чем на безгормональной среде. Влияние гормонального состава питательных сред на накопление кемпферола отмечали как отрицательное (табл. 3).

На хроматограммах извлечений из сырья разного способа получения видно, что пики 10, 11, 12 и 13 присутствуют не везде, это, возможно, связано с низкой чувствительностью метода, невысоким содержанием данного соединения в сырье или отсутствием синтеза данного соединения при определенном гормональном составе питательной среды. Менее разнообразно по содержанию флавоноидов интактное сырье, определено всего 8 соединений. У аэропонного сырья отмечали появление пика 9 (рис. 2). Необходимо отметить, что наличие всех 13 соединений отчетливо наблюдали на хроматограмме растений-регенерантов, выращенных на самой низкой концентрации БАП 1.0 мкМ. Только на этой среде выявлен пик 11. Для среды с 7.5 мкМ БАП (4/1) отмечали наименьшее разнообразие соединений, нет пиков 10, 11, 12 и 13 и самое низкое количество кемпферола (рис. электронного приложения).

Флавоноиды относятся к одному из крупнейших классов фенольных соединений растений. Большое количество источников литературы посвящено регуляции накопления флавоноидов в растительном сырье. Доказано, что различные комбинации и концентрации цитокининов и ауксинов значительно стимулировали продукцию флавоноидов в суспензионной культуре клеток *Digitalis lanata* и тканевых культурах, таких как *Nicotiana tabacum*. Было также отмечено, что БАП и НУК усиливают продукцию флавоноидов у *Vaccinium myrtillus*, БАП–у *Thymus vulgaris* [21].

Таблица 3. Накопление флавоноидов в сырье растений-регенерантов *I. sibirica* сорт Cambridge в зависимости от содержания фитогормонов в питательных средах

№ опыта	Гормональный состав питательной среды, мкМ	Флавоноиды (сумма) мг/г на а.с.с.	Апигенин мг/г на а.с.с.	Кемпферол мг/г на а.с.с.
1	БАП 1.0	43±1	4.0±0.1	0.215±0.001
2/1	БАП 2.5	34±3	3.8±0.2	0.13±0.01
2/2	БАП 2.5+A	39±1	3.50±0.01	0.18±0.02
3/1	БАП 5.0	37±2	3.70±0.01	0.19±0.01
3/2	БАП 5.0+A	37±4	3.6±0.01	0.27±0.05
4/1	БАП 7.5	40±1	3.6±0.3	0.11±0.01
4/2	БАП 7.5+A	45±2	3.9±0.2	0.165±0.001
5/1	БАП 10.0	39±1	3.60±0.01	0.24±0.03
5/2	БАП 10.0+A	49±1	3.40±0.01	0.22±0.02

Примечание. А – дополнены ауксинами 1.0 мкМ НУК+0.1 мкМ ИМК.

При длительном выращивании *I. sibirica in vitro* действие 6-бензиламинопурина на накопление биомассы и суммы флавоноидов на разных вариантах сред различается незначительно, так как, по всей видимости, фитогормон накапливается в тканях растений (рис. 3, табл. 3). При культивировании среды чередуют через один пассаж с низкой (1.0 мкМ) и высокой концентрацией БАП (2.5–10.0 мкМ) для сохранения жизнеспособности, при этом растения адаптируют свой обмен веществ, приспосабливаясь к росту на всех концентрациях в пределах опыта. Ауксины оказывали влияние на синтез флавоноидов. Сумма флавоноидов по всем вариантам опыта в среднем увеличивалась на 13% в присутствии ауксинов.

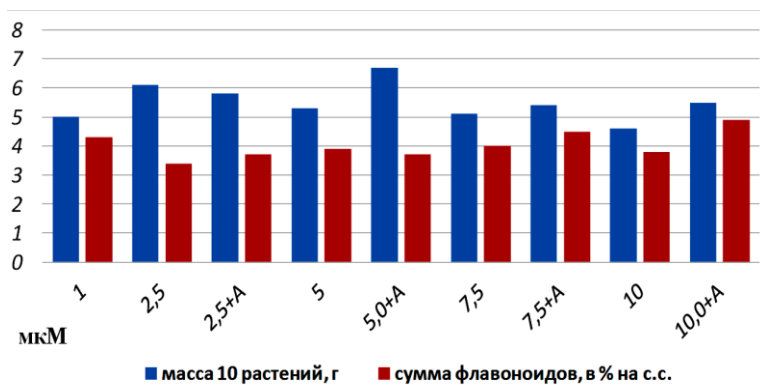


Рис. 3. Накопление массы растений-регенерантов и суммы флавоноидов у *I. sibirica* сорт Cambridge в зависимости от гормонального состава питательных сред

Заключение

Лекарственные растения изменчивы по своей природе в отношении содержания вторичных метаболитов. Использование контролируемых условий и фитогормоны помогают преодолеть трудности культивирования и могут стать средством направленного биосинтеза и наращивания максимальной биомассы.

Сырье *I. sibirica* сорт Cambridge, полученное в культуре *in vitro*, имело более богатый качественный состав флавоноидов, чем интактные растения. Отмечена зависимость накопления флавоноидов от концентрации 6-бензиламинопурина в питательных средах. Наличие 13 соединений наблюдали в извлечениях этиловым спиртом (70%) из растений-регенерантов, выращенных на самой низкой концентрации БАП 1.0 мкМ в пределах опыта. В количественном отношении флавоноид апигенин максимально определяли на среде с БАП 1 мкМ, а кемпферол – на среде с БАП 5.0 мкМ, дополненной ауксинами. Для среды с 7.5 мкМ БАП отмечали наименьшее разнообразие соединений (9 соединений) и самое низкое содержание кемпферола. Ауксины оказывали влияние на синтез флавоноидов. Сумма флавоноидов по всем вариантам опыта в среднем увеличивалась на 13% в присутствии ауксинов.

Список литературы

1. Тараховский Ю.С., Ким Ю.А., Абдрасилов Б.С., Музафаров Е.Н. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина. Пушино, 2013. 310 с.
2. Борисова Г.Г., Ермошин А.А., Малева М.А., Чукина Н.В. Основы биохимии вторичного обмена растений. Екатеринбург, 2014. 128 с.
3. Yin F., Giuliano A.E., Van Herle A.J. Signal pathways involved in apigenin inhibition of growth and induction of apoptosis of human anaplastic thyroid cancer cells (ARO) // *Anticancer Res.* 1999. Vol. 19. Pp. 4297–4303.
4. Yin F., Giuliano A.E., Law R.E., Van Herle A.J. Apigenin inhibits growth and induces G2/M arrest by modulating cyclin-CDK regulators and ERK MAP kinase activation in breast carcinoma cells // *Anticancer Res.* 2001. Vol. 21. Pp. 413–420.
5. Li R.R., Pang L.L., Du Q., Shi Y., Dai W.J., Yin K.S. Apigenin inhibits allergen-induced airway inflammation and switches immune response in a murine model of asthma // *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* 2010. Vol. 32. Pp. 364–370. DOI: 10.3109/08923970903420566.
6. Misra U.K., Kalita J. Overview: Japanese encephalitis // *Prog. Neurobiol.* 2010. Vol. 91. Pp. 108–120. DOI: 10.1016/j.pneurobio.2010.01.008.
7. Zhang T., Wu Z., Du J., Hu Y., Liu L., Yang F., Jin Q. Anti-Japanese-Encephalitis-Viral Effects of kaempferol and daidzin and their RNA binding characteristics // *PLoS One.* 2012. Vol. 7(1). e30259. DOI: 10.1371/journal.pone.0030259
8. Седельникова Л.Л., Кукушкина Т.А. Содержание запасных и биологически активных веществ в вегетативных органах *Iris sibirica* L. (*Iridaceae*) // *Ученые записки ЗабГУ.* 2016. Т. 11. №1. С. 123–128.

9. Щербакова Л.В., Тихомирова Л.И., Карпицкий Д.А., Мартиросян Ю.Ц. Особенности накопления флавоноидов в биотехнологическом сырье *Iris sibirica* L. и разработка методики их количественного определения // Химия растительного сырья. 2019. №4. С. 327–336. DOI: 10.14258/jcrpm.2019046095.
10. Тихомирова Л.И., Базарнова Н.Г., Бондарев А.А., Пономарёва Я.В., Миронова С.О. Выбор оптимальных условий накопления и извлечения фенольных соединений из биотехнологического сырья представителей *Iris* L. // Химия растительного сырья. 2020. №2. С. 249–260. DOI: 10.14258/jcrpm.2020026333.
11. Murashige T., Skoog F. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassaya with Tobacco *Tissue cultures* // *Physiol. Plant.* 1962. Vol. 15. N4. P. 473.
12. Тихомирова Л.И., Базарнова Н.Г., Ильичева Т.Н., Мартиросян Ю.Ц., Сеницына А.А. Получение растительного сырья ириса сибирского (*Iris sibirica* L.) методами биотехнологии // Химия растительного сырья. 2018. №4. С. 235–245. DOI: 10.14258/jcrpm.2018043887.
13. Калинин Ф.Л., Сариацкая В.В., Полищук В.Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. Киев, 1980. 488 с.
14. Антипова Е.А., Кудрикова Л.Е., Тихомирова Л.И., Базарнова Н.Г., Чепрасова М.Ю., Харнутова Е.П. Оценка содержания полифенолов в биотехнологическом сырье *Iris sibirica* L. сорт Стерх в сравнении с интактными растениями // Химия растительного сырья. 2019. №2. С. 239–250. DOI: 10.14258/jcrpm.2019024799.
15. Wang H., Cui Y., Zhao C. Flavonoids of the Genus *Iris* (Iridaceae) // *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry.* 2010. Pp. 643–661. DOI: 10.2174/138955710791384027.
16. Wahome P.K., Oseni T.O., Masariramba M.T., Shongwe V.D. Effects of different hydroponics systems and growing media on the vegetative growth, yield and cut flower quality of *Gypsophila* (*Gypsophila paniculata* L.) // *World Journal of Agricultural Sciences.* 2011. Vol. 7(6). Pp. 692–698.
17. Затонская Л.В., Тихомирова Л.И., Козлова Е.О., Петухов В.А. Накопление химических элементов в тканях лекарственных растений в культуре *in vitro* // Химия растительного сырья. 2020. №2. С. 261–270. DOI: 10.14258/jcrpm.2020025540.
18. Manukyan A. Effect of growing factors on productivity and quality of Lemon Catmint, Lemon Balm and Sage under soilless greenhouse production: I. drought stress // *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology.* 2011. Vol. 5(2). Pp. 119–125.
19. Загоскина Н.В. Биофлавоноиды в культивируемых *in vitro* клетках растений // Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования. 2018. №13. С. 269–273.
20. Maggini C., Kiferle C., Guidi L., Pardossi A., Raffaelli A. Growing medicinal plants in hydroponic culture // *Acta Horticulturae.* 2012. Pp. 697–704. DOI: 10.17660/ActaHortic.2012.952.88.
21. Jamwal K., Bhattacharya S., Puri S. Plant growth regulator mediated consequences of secondary metabolites in medicinal plants // *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants.* 2018. Vol. 9. Pp. 26–38. DOI: 10.1016/j.jarmp.2017.12.003.

Поступила в редакцию 26 января 2021 г.

После переработки 15 марта 2021 г.

Принята к публикации 19 мая 2021 г.

Для цитирования: Мазко О.Н., Тихомирова Л.И., Щербакова Л.В., Базарнова Н.Г., Карпицкий Д.А. Флавоноиды *Iris sibirica* L., выращенного в культуре *in vitro* // Химия растительного сырья. 2021. №3. С. 301–308. DOI: 10.14258/jcrpm.2021039166.

Mazko O.N., Tikhomirova L.I.*, Shcherbakova L.V., Bazarnova N.G., Karpitsky D.A. FLAVONOIDS OF *IRIS SIBIRICA* L. GROWN IN VITRO CULTURE

Altai State University, pr. Lenina, 61, Barnaul, 656049 (Russia), e-mail: L-tikhomirova@yandex.ru

The aim of this study was to evaluate the effect of 6-benzylaminopurine (BAP) separately and in interaction with auxins on the change in the qualitative and quantitative composition of flavonoids in the raw materials of regenerating plants *Iris sibirica* L. Cambridge grade in comparison with aeroponic and intact raw materials using the method of high-performance liquid chromatography.

Raw materials of *I. sibirica* Cambridge variety obtained in vitro culture had a richer qualitative composition of flavonoids than intact plants. The dependence of the accumulation of flavonoids on the concentration of 6-benzylaminopurine in nutrient media was noted. The presence of 13 compounds was observed in extracts of 70% ethyl alcohol from regenerating plants grown at the lowest concentration of BAP (1.0 µM) within the experiment. In quantitative terms, the flavonoid apigenin was maximally determined on a medium with BAP 1 µM, and kaempferol - on media with BAP 5.0 µM, supplemented with auxins. For a medium with 7.5 µM BAP, the lowest variety of compounds was observed (9) and the lowest kaempferol content. Auxins influenced the synthesis of flavonoids. The amount of flavonoids in all variants of the experiment increased by an average of 13% in the presence of auxins.

The stages of the technological process of obtaining raw materials *I. sibirica* Cambridge variety on the basis of clonal micropropagation and cultivation in aeroponics conditions allowed to obtain raw materials that do not contain heavy and toxic metals, are not infected with pathogens and pests. With 1 m² of useful area of aeroponics for 1 year, it is possible to collect 5 times more raw materials than with field cultivation. According to the qualitative composition of phenolic compounds, aeroponic raw materials are identical to intact plants.

Keywords: *Iris sibirica* L., flavonoids, high-performance liquid chromatography, biotechnological plant raw materials.

References

1. Tarakhovskiy Yu.S., Kim Yu.A., Abdrasilov B.S., Muzafarov Ye.N. *Flavonoidy: biokhimiya, biofizika, meditsina*. [Flavonoids: biochemistry, biophysics, medicine]. Pushchino: Synchrobook, 2013, 310 p. (in Russ.).
2. Borisova G.G., Yermoshin A.A., Maleva M.A., Chukina N.V. *Osnovy biokhimii vtorichnogo obmena rasteniy*. [Fundamentals of biochemistry of secondary plant metabolism]. Ekaterinburg, 2014, 128 p. (in Russ.).
3. Yin F., Giuliano A.E., Van Herle A.J. *Anticancer Res.*, 1999, vol. 19, pp. 4297–4303.
4. Yin F., Giuliano A.E., Law R.E., Van Herle A.J. *Anticancer Res.*, 2001, vol. 21, pp. 413–420.
5. Li R.R., Pang L.L., Du Q., Shi Y., Dai W.J., Yin K.S. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.*, 2010, vol. 32, pp. 364–370. DOI: 10.3109/08923970903420566.
6. Misra U.K., Kalita J. *Prog. Neurobiol.*, 2010, vol. 91, pp. 108–120. DOI: 10.1016/j.pneurobio.2010.01.008.
7. Zhang T., Wu Z., Du J., Hu Y., Liu L., Yang F., Jin Q. *PLoS One*, 2012, vol. 7(1), e30259. DOI: 10.1371/journal.pone.0030259.
8. Sedel'nikova L.L., Kukushkina T.A. *Uchonyye zapiski ZabGU*, 2016, vol. 11, no. 1, pp. 123–128. (in Russ.).
9. Shcherbakova L.V., Tikhomirova L.I., Karpitskiy D.A., Martirosyan Yu.Ts. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2019, no. 4, pp. 327–336. DOI: 10.14258/jcprm.2019046095. (in Russ.).
10. Tikhomirova L.I., Bazarnova N.G., Bondarev A.A., Ponomarova Ya.V., Mironova S.O. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2020, no. 2, pp. 249–260. DOI: 10.14258/jcprm.2020026333. (in Russ.).
11. Murashige T., Skoog F. *Physiol. Plant.*, 1962, vol. 15, no. 4, p. 473.
12. Tikhomirova L.I., Bazarnova N.G., Il'icheva T.N., Martirosyan Yu.Ts., Sinitsyna A.A. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2018, no. 4, pp. 235–245. DOI: 10.14258/jcprm.2018043887. (in Russ.).
13. Kalinin F.L., Sarianskaya V.V., Polishchuk V.Ye. *Metody kul'tury tkaney v fiziologii i biokhimii rasteniy*. [Tissue culture methods in plant physiology and biochemistry]. Kiev, 1980, 488 p. (in Russ.).
14. Antipova Ye.A., Kudrikova L.Ye., Tikhomirova L.I., Bazarnova N.G., Cheprasova M.Yu., Kharmutova Ye.P. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2019, no. 2, pp. 239–250. DOI: 10.14258/jcprm.2019024799. (in Russ.).
15. Wang H., Cui Y., Zhao C. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 2010, pp. 643–661. DOI: 10.2174/138955710791384027.
16. Wahome P.K., Oseni T.O., Masariramba M.T., Shongwe V.D. *World Journal of Agricultural Sciences*, 2011, vol. 7(6), pp. 692–698.
17. Zatonskaya L.V., Tikhomirova L.I., Kozlova Ye.O., Petukhov V.A. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2020, no. 2, pp. 261–270. DOI: 10.14258/jcprm.2020025540. (in Russ.).
18. Manukyan A. *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology*, 2011, vol. 5(2), pp. 119–125.
19. Zagorskina N.V. *Novyye i netraditsionnyye rasteniya i perspektivy ikh ispol'zovaniya*, 2018, no. 13, pp. 269–273. (in Russ.).
20. Maggini C., Kiferle C., Guidi L., Pardossi A., Raffaelli A. *Acta Horticulturae*, 2012, pp. 697–704. DOI: 10.17660/ActaHortic.2012.952.88.
21. Jamwal K., Bhattacharya S., Puri S. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 2018, vol. 9, pp. 26–38. DOI: 10.1016/j.jarmap.2017.12.003.

Received January 26, 2021

Revised March 15, 2021

Accepted May 19, 2021

For citing: Mazko O.N., Tikhomirova L.I., Shcherbakova L.V., Bazarnova N.G., Karpitsky D.A. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2021, no. 3, pp. 301–308. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2021039166.

* Corresponding author.