

УДК 615.322:57.085.23+547.9

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ РОДИОЛЫ РОЗОВОЙ (*RHODIOLA ROSEA* L.) (ОБЗОР)

© Д.А. Жданов, Т.К. Рязанова, В.А. Куркин*, А.В. Куркина, В.Б. Браславский

Самарский государственный медицинский университет, ул. Чапаевская, 89, Самара 443099 (Россия), e-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

Благодаря богатому химическому составу, включающему уникальные биологически активные соединения, родиола розовая (*Rhodiola rosea* L.) по-прежнему вызывает интерес у исследователей по всему миру. Однако недостаток сырьевой базы и изменчивость метаболома определяют развитие современных способов получения фармакологически активных веществ *in vitro*. В статье обобщены и систематизированы сведения о биотехнологических способах получения биологически активных соединений родиолы розовой, которые чаще всего получают из каллусных тканей. При этом каллусную ткань, как правило, получают из листовых эксплантов, а для ее индукции наибольшее распространение получила питательная среда Мурасиге-Скуга с регуляторами роста в различных комбинациях и концентрациях. В то же время эффективность роста ткани и накопления целевых соединений зависит от генотипа интактного растения, наличия в среде прекурсоров этих соединений, элиситоров, а также факторов внешнего воздействия. В последнее время многообещающим направлением является культивирование трансгенных бородачатых (волосовидных) корней, которое раскрывает новые аспекты синтеза, накопления и регуляции производства вторичных метаболитов. Также перспективным направлением является генетическая регуляция биосинтеза значимых вторичных метаболитов. В результате многочисленных исследований продемонстрировано, что биосинтез салидрозида зависит от экспрессии гена TuDC, кодирующего тирозиндекарбоксилазу. Следовательно, понимание молекулярно-генетических механизмов открывает возможности для его регуляции и метаболического инжиниринга. В связи с этим биотехнологические методы могут быть приоритетными для получения салидрозида, розина и их производных на более высоких или, по крайней мере, сравнимых уровнях с дикорастущими или культивируемыми растениями. Среди различных биотехнологических стратегий, применяемых для увеличения накопления салидрозида и гликозидов коричневого спирта в клетках и культурах органов родиолы, подход с добавлением в питательную среду предшественников оказался наиболее эффективным. В культурах *in vitro* наблюдалось значительное увеличение продукции розина и его производных при добавлении в среду предшественников (коричный спирт, коричная кислота и коричный альдегид).

Ключевые слова: родиола розовая, *Rhodiola rosea* L., каллус, фитобиотехнология, фенилпропаноиды, коричный спирт, розин, розавин, *n*-кумаровый спирт, триандрин, простые фенолы, салидрозид, тирозол.

Введение

Среди современных направлений биотехнологии, наряду с техническим, пищевым, сельскохозяйственным и экологическим, особое место занимает медицинское. Биотехнологические исследования в области медицины и фармации, или так называемая «красная биотехнология», играют ведущую роль в принципиально новой системе разработки и получения современных лекарственных средств (ЛС) для медицинского применения.

Жданов Дмитрий Александрович – кандидат фармацевтических наук, главный специалист научно-образовательного центра «Фармация», ассистент кафедры химии Института фармации, e-mail: d.a.zhdanov@samsmu.ru

Рязанова Татьяна Константиновна – кандидат фармацевтических наук, директор научно-образовательного центра «Фармация», доцент кафедры управления и экономики фармации, e-mail: t.k.ryazanova@samsmu.ru

Окончание на С. 6.

Междисциплинарная связь фундаментальных и прикладных наук позволяет более подробно изучать, а также совершенствовать методы клеточной и молекулярной биотехнологии. В этой связи появляются новые возможности управления различными процессами жизнедеятельности микроорганизмов, растительных и животных клеток с целью получения конкретных свойств и продуктов (веществ) с известной биологической активностью [1].

* Автор, с которым следует вести переписку.

Наряду с синтетическими и биологическими ЛС значительную долю на фармацевтическом рынке занимают изготовленные на основе лекарственных растений (ЛР) – фитосубстанции и фитопрепараты. Ключевые преимущества и популярность ЛС растительного происхождения неоднократно обсуждались в работах исследователей во многих странах мира [2–5]. При этом недостаточность сырьевой базы и/или невозможность культивирования ЛР ввиду климатических, финансовых и других причин является ограничивающим фактором их применения и обуславливает необходимость получения продуцентов ценных фармакологически активных веществ методами биотехнологии [6–10]. В этом контексте, на наш взгляд, целесообразно говорить о составной части биотехнологии – фитобиотехнологии, объектами которой являются растительные клетки, ткани, а также биологически активные соединения (БАС) вторичного метаболизма (фенольные соединения, сапонины, сердечные гликозиды, экдистероиды, алкалоиды и т.д.).

Современная фитобиотехнология преимущественно связана с культивированием клеток и тканей, изолированных от донора, в стерильных условиях *in vitro* с целью создания алгоритмов совершенствования растения в нужных исследователю направлениях [1]. При этом фитобиотехнологию обычно рассматривают в нескольких направлениях: а) производство культур клеток, тканей и органов; б) микрклональное размножение; в) генная инженерия; г) криоконсервация и фонд *in vitro* [11].

Одним из растительных объектов – источником ряда ценных БАС, представляющим интерес в плане фитобиотехнологии, является родиола розовая (*Rhodiola rosea* L.) из семейства Толстянковые (*Crassulaceae*) [12]. Широкий спектр фармакологических эффектов (стимулирующий, тонизирующий, адаптогенный, гипогликемический, иммуномодулирующий, антиоксидантный, бактерицидный, вяжущий) лекарственного растительного сырья (ЛРС) родиолы розовой обусловлен содержанием нескольких групп БАС: фенилпропаноиды – ведущая группа, представленная гликозидами коричневого спирта или циннамилгликозидами (розавин, розарин, розин); простые фенолы (салидрозид и тирозол) – вторая группа; к сопутствующим группам относят: монотерпены (розидол, розиридин), флавоноиды (производные трицина, гербацетина, кемпферола) и дубильные вещества гидролизуемой группы [13–15]. Родиола розовая (*Rhodiola rosea* L.) введена в научную медицину в 1975 г. отечественными учеными Сибирского государственного медицинского университета (Саратиков А.С., Краснов Е.А.), которые положили начало всестороннему исследованию этого растения и рода в целом. Начиная с 1980 г. проведены детальные исследования химического состава корневищ родиолы розовой учеными ВИЛАР (Запесочная Г.Г.) и Самарского государственного медицинского университета (Куркин В.А.), которые затем также исследовали химический состав биомассы [13, 16].

В последнее время резко возрос спрос на продукты на основе родиолы во всем мире, что обуславливает необходимость стабильного снабжения сырьем и в то же время экстенсивного сбора из природных источников. *Rhodiola rosea* L. является наиболее эксплуатируемым видом в коммерческих целях. В связи с интенсивными промышленными заготовками природные популяции родиолы розовой находятся под угрозой исчезновения и включены в список исчезающих видов растений во многих странах (Россия, Великобритания, Чехия, Босния и Герцеговина, уязвимый статус в Словакии; в Болгарии сбор строго запрещен; в Польше встречается только в национальных парках) [17]. Другим подходом к обеспечению стабильного поступления целевого соединения является его химический синтез. В работе [18] проведен химический синтез розавина – признанного маркера генетически чистой родиолы розовой и ее экстрактов. В случае салидрозиде разработана процедура его синтеза в многокилограммовом масштабе с общим выходом 72% и чистотой 98% [19]. Тем не менее химический синтез, по-видимому, не является решением в случае препаратов родиолы, поскольку результаты фармакологических исследований демонстрируют, что салидрозид и розавин являются не единственными БАС, ответственными за эффективность и пользу для здоровья [20–23]. В этом отношении биотехнологические методы дают возможность получать полезные соединения в контролируемых условиях, не зависящих от изменений окружающей среды, а разработка процедур масштабирования позволит снизить трудозатраты и повысить продуктивность вторичных метаболитов. Более того, клетки и органы, непосредственно участвующие в биосинтезе интересующих соединений, можно культивировать и манипулировать ими для увеличения их производства [12, 24].

Куркин Владимир Александрович – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, e-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

Куркина Анна Владимировна – доктор фармацевтических наук, доцент, заведующая кафедрой фармацевтической технологии с курсом биотехнологий, e-mail: a.v.kurkina@samsmu.ru

Браславский Валерий Борисович – доктор фармацевтических наук, доцент, доцент кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, e-mail: v.b.braslavskii@samsmu.ru

тоды дают возможность получать полезные соединения в контролируемых условиях, не зависящих от изменений окружающей среды, а разработка процедур масштабирования позволит снизить трудозатраты и повысить продуктивность вторичных метаболитов. Более того, клетки и органы, непосредственно участвующие в биосинтезе интересующих соединений, можно культивировать и манипулировать ими для увеличения их производства [12, 24].

В связи с этим целью настоящей работы является обобщение и систематизация сведений о биотехнологических способах получения биологически активных соединений родиолы розовой (*Rhodiola rosea* L.).

Исследования по культивированию корней родиолы розовой в условиях *in vitro* проводят с 80-х гг. XX в. Наиболее часто используемые экспланты, питательные среды и фитогормоны для культивирования представлены в таблице 1.

Выбор экспланта является критически важным этапом, так как он должен обеспечить эффективный рост культуры выделенных клеток и тканей. При выборе важно учесть тканевую специфичность и физиологическое состояние экспланта, возраст донорного растения, что объясняет использование большого количества эксплантов в экспериментах по выявлению факторов, стимулирующих пролиферацию клеток *in vitro* [25–27]. Наиболее распространенными эксплантами по количеству публикаций, посвященных культивированию родиолы розовой, являются верхушечные ложа и стеблевые узлы из проростков *in vitro*, гипокотиль и пазушные почки.

Другим важным фактором, оказывающим влияние на процессы каллусогенеза, органогенеза и др., является питательная среда. Наибольшее распространение для индуцирования каллуса и культивирования *in vitro* родиолы розовой получила среда МС и близкие к ней по составу. В большинстве случаев к питательной среде добавляют регуляторы роста в различных комбинациях и концентрациях, из которых наиболее распространенными были НУК, 2,4-Д, БАП, ИМК и ИУК.

В таблице 2 суммированы данные об эксплантах и условиях культивирования, в отношении которых продемонстрировано наилучшее влияние на индукцию каллусо- и органогенеза в условиях культивирования родиолы розовой *in vitro*.

На основании анализа литературных данных можно сделать вывод, что реакция различных типов эксплантов родиолы розовой зависела от типа и концентрации используемых фиторегуляторов. Формирование каллусной ткани, как правило, наблюдали только при использовании листовых эксплантов, а в качестве фиторегуляторов использовали НУК, 2,4-Д, БАП, ИУК и др. Листья и апексы стеблей обладают высокой тотипотентностью, усиливаемой зеатином, благодаря чему также используются для получения каллусных культур.

Для микрклонального размножения наиболее оптимальными эксплантами являются апексы стеблей и проростков. В то же время путем сочетания различных регуляторов роста можно подобрать технологию клонирования определенных типов эксплантов. В исследованиях зафиксировано максимальное количество адвентивных побегов при использовании среды, содержащей 2 мг/л зеатина, 0.1 мг/л ИУК и 0.5 мг/л гибберелловой кислоты [25, 33]. На органогенез корней положительное влияние оказывало добавление кинетина [29, 42]. Отмечается, что концентрация сахарозы 20 г/л является оптимальной для индукции и поддержания каллусных культур из листовых эксплантов [38].

Противоречивость результатов по определению оптимальных параметров для индукции культур родиолы розовой может быть обусловлена влиянием на процессы эффективного каллусо- и органогенеза *in vitro* генотипа и экотипа растения, комбинации регуляторов роста. Так, для родиолы розовой, произрастающей на Алтае, оптимальная концентрация БАП для индукции культур в 10–15 раз больше, чем для эксплантов из листьев родиолы розовой, растущей в Тибете. Показано, что наилучшие результаты в отношении влияния на морфогенный потенциал достигаются при наличии баланса между выбранным эксплантом, питательной средой, включая фиторегуляторы, и генотипом.

Таблица 1. Наиболее часто используемые экспланты, питательные среды и регуляторы роста для инициации культур родиолы розовой (*Rhodiola rosea* L.)

Эксплант	Питательная среда	Регулятор роста
Верхушечные ложа и стеблевые узлы из проростков <i>in vitro</i>	Гамборга (B5)	1-нафтилуксусная кислота (НУК, англ. NAA)
Верхушки побегов и почки	Линсмайера и Скуга (ЛС, англ. LS)	2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4-Д, англ. 2,4-D)
Гипокотиль	Литвея (англ. Litvay)	6-бензиламинопурин (БАП, англ. BAP)
Листья	Мурасиге и Скуга (МС, англ. MS)	6-фурфуриламинопурин (Кинетин, англ. Kin)
Пазушные почки	Нича и Нич (англ. Nitsch and Nitsch)	N6-(2-изопентил) аденин (ИПА, англ. 2-iP)
Стебли	Уайта (англ. White)	Индолил-3-масляная кислота (ИМК, англ. IBA)
Узлы и почки корневища		Индолил-3-уксусная кислота (ИУК, англ. IAA)
		Тидиазурон (ТДЗ, англ. TDZ)

Таблица 2. Условия инициации культур родиолы розовой (*Rhodiola rosea* L.) *in vitro*

Эксплант	Питательная среда	Фиторегулятор и его концентрация	Результат	Источник
1	2	3	4	5
Сегменты листа, верхушечные почки проростков	МС	5 μ М БАП + 5 μ М ИУК БАП > 0.5 μ М НУК	Индукция каллусогенеза и корнеобразования Индукция органогенеза побегов	[28]
Сегменты листа	МС	2 мг/л БАП + 2 мг/л НУК (или БАП + ИМК) 1 г/л казаминовых кислот, 6% сахарозы	Индукция каллусогенеза	[29]
Верхушки побегов	Среда Нича и Нич	0.1 мг/л ИУК + 0.1 мг/л или 1 мг/л кинетина	Индукция формирования побегов и корней	
Верхушечные ложа и стеблевые узлы из проростков <i>in vitro</i>	МС	2 мг/л БАП + 1.7 мг/л ИУК	Индукция прямого органогенеза	[30]
Сегменты стебля	МС	0.2 мг/л БАП + 0.1 мг/л ИУК	Индукция органогенеза Зависимость эффективных концентраций фиторегуляторов от экотипа	[31]
Сегменты листа и стебля	МС	2 мг/л БАП + 0.2 мг/л НУК 3 мг/л БАП + 0.25 мг/л НУК (в темноте) 2 мг/л БАП + 0.25 мг/л НУК 0.5 мг/л БАП + 1 мг/л ИУК	Индукция каллусогенеза Формирование множественных побегов Укоренение	[32]
Листовые узлы и верхушечные почки проростков	МС	Среда для прорастания семян и формирования проростков: МС с добавлением 10–100 мг/л гиббереллиновой кислоты, 30 г/л сахарозы и 6 г/л агар-агара Среда для микроклонального размножения: МС с добавлением 2 мг/л зеатина и 0.2 мг/л ИУК Для ризогенеза использовали среды, содержащие НУК, ИМК, ИУК и гиббереллиновую кислоту	Процент прорастания семян был выше на среде с высоким содержанием гиббереллиновой кислоты (50–100 мг/л) 78% эксплантов из фрагментов стебля с листовыми узлами и 75% эксплантов из верхушечных почек образовывали новые побеги. Количество побегов на эксплант: 2.19 \pm 0.16 и 2.00 \pm 0.12 соответственно Для ризогенеза наиболее эффективны среды, содержащие 0.2 мг/л ИУК, 2.0 мг/л ИМК и гиббереллиновую кислоту (0.4 или 1.0 мг/л) – процент формирования корней более 85%	[33]
Листовые узлы и верхушечные почки проростков	МС	До 2 мг/л ИМК + 0.2 мг/л ИУК	Индукция органогенеза корней	[34]
Узлы и апексы стеблей, фрагменты междоузлий, листьев, корней	МС	Без добавления регуляторов, 0.2–1.0 мг/л БАП, 1 мг/л кинетина, 0.5 мг/л НУК, 2 мг/л зеатина, 1 мг/л ИМК, 0.2–2.0 мг/л ИУК, 0.5–2.0 мг/л 2,4-Д	Оптимальные экспланты: узлы и апексы стеблей Условия: 1) 2.0 мг/л НУК (1–2 базальных отростка, интенсивный органогенез побегов и корней); 2) МС без добавления регуляторов (1–2 базальных отростка, интенсивный ризогенез); 3) 1 мг/л кинетина + 0.5 мг/л НУК (3–7 побегов/узел, интенсивный ризогенез); 4) 0.2 мг/л ИУК + 2 мг/л зеатина (1–4 побега/узел, индукция органогенеза корней и побегов). Каллусогенез наблюдали при использовании 1 мг/л БАП + 0.5 мг/л 2,4-Д (фрагменты междоузлий, листьев, корней), 1 мг/л БАП + 0.5 мг/л ИМК (фрагменты корней)	[35]

Окончание таблицы 2

1	2	3	4	5
Пазушные почки	МС, ½ МС	1.0 мг/л БАП + 1.0 мг/л гиббереллиновой кислоты	В среднем 15 пазушных побегов/эксплант	[36]
Часть проростков (не уточняется)	МС, ½ МС	Для индукции каллуса: 2 мг/л зеатина и 0.2 мг/л ИУК, 1000 мг/л гидролизата казеина, 3% сахарозы, 0.6% агар-агара Для индукции органогенного каллуса: 0.1 мг/л 2,4-Д, 3% сахарозы и 0.6% агар-агара Для индукции образования почек: 1.0 мг/л БАП + 0.1 мг/л ИУК, 3% сахарозы, 0.6% агар-агара Для индукции побегов: 2 мг/л зеатина и 0.2 мг/л ИУК, 400 мг/л гидролизата казеина, 3% сахарозы, 0.6% агар-агара Для ризогенеза: ½ МС, 2 мг/л ИМК, 0.2 мг/л ИУК и 0.4 мг/л гиббереллиновой кислоты	Среда для формирования органогенного каллуса: образование почек через 2 пассажа продолжительностью по 28 дней Используемые для органогенеза среды стимулировали процессы формирования почек, побегов и корней	[37]
Листья проростков	МС	Различные фиторегуляторы: ИУК (0.2, 0.3, 1.0 мг/л), БАП (от 0.5 до 2.0 мг/л), 2,4-Д (от 0.1 до 2.0 мг/л), НУК (0.5, 1.0, 1.5 мг/л), гидролизат казеина (1000 мг/л) и сахарозы (20, 30 или 40 г/л)	Наиболее эффективная среда для каллусогенеза: 1 мг/л БАП + 0.5 или 1.0 мг/л 2,4-Д и 20 г/л сахарозы	[38]
Апексы стеблей и проростков	Модифицированная МС	0.2 мг/л НУК + 2 мг/л БАП	Активация роста, удлинение междоузлий (75–80% случаев)	[25]
		0.2 мг/л ИУК + 2 мг/л БАП	Активация роста, формирование листовой розетки (65–90% случаев)	
Листья, семядольные экспланты		0.5 мг/л 2,4-Д + 2 мг/л БАП	Индукция каллусогенеза (10–30% случаев)	
Корневищные почки		0.2 мг/л НУК + 2 мг/л зеатина	Активация роста почек (25–30% случаев)	
		0.2 мг/л ИУК + 2 мг/л зеатина	Индукция стеблеобразования (30–40% случаев)	
Листья, побеги, корни	½ МС	0.5 мг/л 2,4-Д + 0.5 мг/л ИУК	Выход морфогенных каллусов – 83.7%	[39]
Семена	МС	5 µМ БАП + 2.5 µМ НУК	6.3±1.1 побегов/эксплант (стандартной морфологии)	[40]
	½ МС	5 µМ ИМК	6.5±1.9 корней/эксплант	
Листья	МС	2 мг/л ИУК + 0.2 мг/л кинетина	Индукция каллусогенеза с последующим стеблевым органогенезом	[41]

В то же время существенный интерес для медицинской и фармацевтической промышленности представляет использование биотехнологических методов для увеличения продукции БАС, составляющих маркерный профиль ЛРС и биомассы родиолы розовой (табл. 3). Наиболее ценными веществами являются продукты вторичного метаболизма, большинство из которых имеет сложную структуру, что делает их химический синтез в некоторых случаях затруднительным.

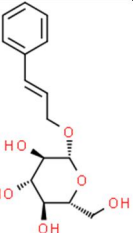
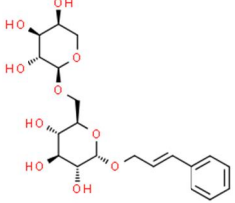
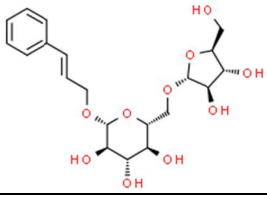
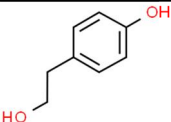
Растительные культуры *in vitro* способны продуцировать и накапливать многие ценные в фармации и медицине вещества. Эффективность роста и накопления БАС зависит от экспланта, питательной среды и ее состава (макро- и микроэлементов, источников углерода, витаминов, регуляторов роста), прекурсоров (предшественников), элиситоров [43] и др., а также физических факторов внешнего воздействия [44]. Кроме того, успех зависит и от генотипа (экотипа) интактного растения [45, 46]. В то же время отмечается недостаточная продуктивность культуры *in vitro*. В этой связи не существует универсального способа и зачастую алгоритм прорабатывается для конкретной цели [19, 47–51]. Поэтому эмпирический опыт является хорошей основой для разработки схем получения тех или иных целевых продуктов, и в этом отношении родиола

розовая не исключение, так как встречаются достаточно противоречивые и ограниченные данные о химическом составе биомассы и оптимальных параметрах продукции целевых БАС *in vitro*. Как правило, *in vitro* БАС родиолы розовой получают из суспензионных культур клеток в жидкой среде и каллусных тканей на агаризованных питательных средах [52–54].

В ранних работах отечественные исследователи (Запесочная Г.Г. и Куркин В.А.) использовали коммерческий штамм биомассы родиолы розовой, культивируемый на Волгоградском биохимическом заводе (в настоящее время не существует) поверхностным способом, а также лабораторные образцы на агаризованной и жидкой средах (культивирование в течение 25 и 15 суток соответственно) [16]. По их данным химический состав этой биомассы был представлен БАС фенилпропаноидной природы, среди которых доминирующим являлся триандрин (гликозид *n*-кумарового спирта), и стеринами (табл. 4) [16, 55].

Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) определено количественное содержание (% от сухого веса) триандрина в лабораторной суспензионной массе возрастом 15 дней (0.19%) и 8 дней (0.15%). При этом сопутствующим веществом в первом случае являлся мелилотозид, а во втором в значительной степени (около 0.1%) присутствовал агликон триандрина (*n*-кумаровый спирт). Содержание триандрина в заводских образцах каллусной культуры достигало 0.15%, в лабораторных образцах каллусов было ниже (0.02–0.06%), но присутствовал лигнанный гликозид – (-)-ларицирезинол-4-О-β-D-глюкопиранозид в количестве соизмеримом с содержанием триандрина в заводском каллусе (до 0.15%). Следовательно, в суспензионной культуре доминировал триандрин, а в каллусной, наряду с ним, преобладали димерные фенилпропаноиды и наблюдался процесс «старения» биомассы. Вместе с тем отмечена возможность управления биосинтезом фенольных соединений [16]. Результаты проведенных исследований показывают отсутствие в образцах биомассы салидрозида, розавина, розина и розарина, тем самым позволяя говорить об ошибочности данных по выделению тирозола и салидрозида [56]. Тем не менее в дальнейшем одним из авторов указанной работы, И.В. Александровой, получен патент на изобретение штамма (ЗК-1) культивируемых клеток растений *Rhodiola rosea* – продуцентов фенольных соединений – адаптогенов [57].

Таблица 3. Важнейшие биологически активные соединения родиолы розовой (*Rhodiola rosea* L.)

№	Графическая формула	Название
1	2	3
<i>Фенилпропаноиды</i>		
1		Розин (C ₁₅ H ₂₀ O ₆)
2		Розавин (C ₂₀ H ₂₈ O ₁₀)
3		Розарин (C ₂₀ H ₂₈ O ₁₀)
<i>Простые фенолы</i>		
4		Тирозол (C ₈ H ₁₀ O ₂)

Окончание таблицы 3

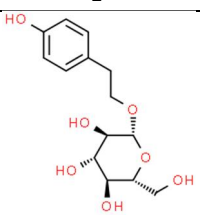
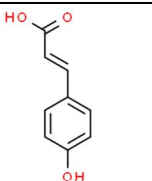
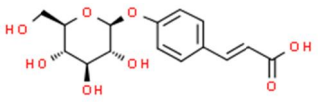
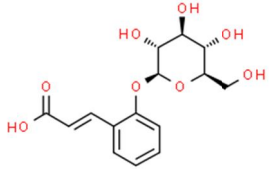
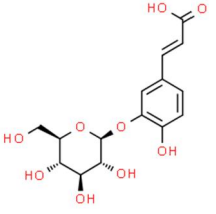
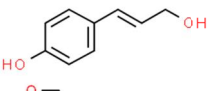
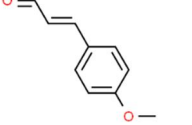
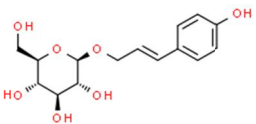
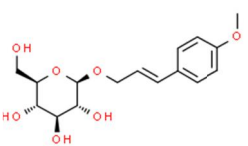
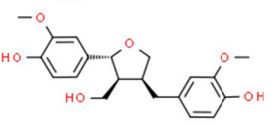
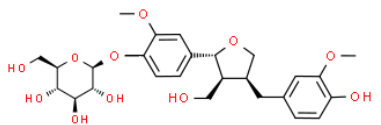
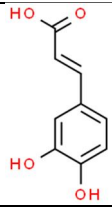
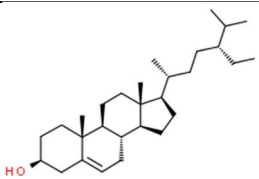
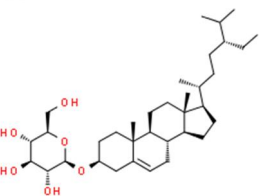
1	2	3
5		Салидрозид (C ₁₄ H ₂₀ O ₇)

Таблица 4. Фенилпропаноиды и стеринны биомассы родиолы розовой (*Rhodiola rosea* L.), выращенной на Волгоградском биохимическом заводе [16]

№	Графическая формула	Название
1	2	3
<i>Фенилпропаноиды</i>		
1		<i>n</i> -Кумаровая кислота (C ₉ H ₈ O ₃)
2		4-О-β-D-глюкопиранозид <i>n</i> -кумаровой кислоты (C ₁₅ H ₁₈ O ₈)
3		Мелилотозид (C ₁₅ H ₁₈ O ₈)
4		3'-О-β-D-глюкопиранозид кофейной кислоты (C ₁₅ H ₁₈ O ₈)
5		<i>n</i> -Кумаровый спирт (C ₉ H ₁₀ O ₂)
6		Метоксикоричный спирт (C ₁₀ H ₁₀ O ₂)
7		Триандрин (C ₁₅ H ₂₀ O ₇ · H ₂ O)
8		Вималин (C ₁₆ H ₂₂ O ₇ · H ₂ O)
9		(-)-Ларицирезинол (C ₂₀ H ₂₄ O ₆)
10		(-)-Ларицирезинол-4-О-β-D-глюкопиранозид (C ₂₆ H ₃₄ O ₁₁)

Окончание таблицы 4

1	2	3
11		Кофейная кислота (C ₉ H ₈ O ₄)
<i>Стерины</i>		
12		β-Ситостерин (C ₂₉ H ₅₀ O)
13		Даукостерин (C ₃₅ H ₆₀ O ₆)

Согласно сведениям авторов, штамм (ЗК-1) депонирован в коллекции культивируемых клеток высших растений Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева АН СССР (ныне Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН). В качестве экспланта использовали междоузлия стерильно растущих проростков семян. По истечении 45 дней отбирали активные и хорошо растущие каллусы, которые выращивали на агаризованной среде (модифицированная питательная среда МС с pH 5.8–6.2) в темноте при 22–24 °С и влажности воздуха 65–70% в течение 25–28 суток. Активно растущая каллусная ткань представляла собой массу светло-серого и бежевого цветов. Содержание суммы фенольных соединений в воздушно-сухой ткани возрастом 25 суток варьировало в пределах от 0.25 до 0.35% в пересчете на салидрозид (спектрофотометрия после реакции с диазореактивом) [57].

В целом результаты исследований по разработке биотехнологических методов повышения продукции БАС родиолы розовой суммированы в таблице 5.

На основании анализа полученных данных выявлено, что наиболее распространенными комбинациями регуляторов роста для индукции каллусогенеза были БАП + НУК и БАП + 2,4-Д. Кроме этого, определено влияние изменения солевого состава питательной среды на показатели роста биомассы и накопления БАС. В частности, существенная корректировка питательной среды МС по содержанию азота (уменьшение с 60.06 до 32.05 мг-атом) и калия (увеличение с 20.06 до 48.07 мг-атом) привела к сокращению продолжительности роста культуры на 5–6 суток по сравнению с контрольным образцом и увеличению содержания суммы фенолпропаноидов на 22% [63]. В работе [67] показано, что более высокие показатели роста каллуса (до 703%) и максимальная концентрация фенольных соединений (75.17 мг/г) достигаются при соотношениях 1 : 3 NH₄⁺ : K⁺ и концентрации NO₃⁻ в питательной среде не более 40 мМ.

В культурах *in vitro* значительное увеличение продукции розина и его производных наблюдали при добавлении в среду предшественников – коричневого спирта, коричневого альдегида или коричной кислоты.

Таблица 5. Условия инициации культур родиолы розовой (*Rhodiola rosea* L.) для получения БАС *in vitro*

Ткань	Питательная среда	Фиторегулятор / предшественник и его концентрация	Результат	Источник
1	2	3	4	5
Каллус из листовых эксплантов	МС	2 мг/л БАП + 2 мг/л НУК, 1 г/л казаминовых кислот <i>Транс</i> -коричный спирт (2.5 мМ)	Примерно за 3 дня более 90% спирта трансформировалось клетками в различные продукты, один из которых, обнаруживаемый во внутриклеточных пространствах, был идентифицирован как 3-фенил-2-пропенил-О-(6'-О-α'-L-ара-	[54]

Продолжение таблицы 5

1	2	3	4	5
			биноранозил)-β-D-глюкопиранозид (потенциально розавин). Все исследуемые штаммы клеточных культур были способны гликозилировать <i>транс</i> -коричный спирт в розавин с выходом от 0.03 до 1.01% сухой массы клеток Салидрозид – 1.2–2.3% (2.5 мМ тирозола)	
Каллус из листовых эксплантов проростков <i>in vitro</i>	МС	Получение каллуса: 1.5 мг/л БАП + 0.5 мг/л НУК Получение суспензионной культуры: 0.5 мг/л БАП + 1 мг/л НУК <i>Транс</i> -коричный спирт, тирозол, сахара-роза	Розин – 1.25%, розавин – 0.083% в пересчете на абсолютно сухое сырье (концентрация коричневого спирта от 2 до 5 мМ) Розин – 0.57%, розавин – 0.015% в пересчете на абсолютно сухое сырье (2 мМ коричневого спирта и 1% глюкозы) Салидрозид – 2.72% в пересчете на абсолютно сухое сырье (2 мМ тирозола) Добавление сахарозы не оказывало положительного влияния на накопление салидрозида, но удваивало продукцию розина	[58, 59]
Каллус из гипокотилей проростков или пазушных почек интактного растения	МС	БАП, аденина хлорид, НУК Дрожжевой экстракт, <i>транс</i> -коричный спирт (2.5–5 мМ)	Добавление дрожжевого экстракта (5 мг/культура) в среду удваивало содержание салидрозида (с 0.8% до 1.5%) и было вдвое выше, чем в пятилетних корнях интактных растений Каллус, индуцированный из пазушных почек или из гипокотилей проростков, трансформировал экзогенный коричный спирт в розин В гипокотильном каллусе: розин – 1.06% на твердой среде и 0.78% в жидкой среде; розарин – 0.005%; розавин – 0.063%; салидрозид – 0.11% (2.5 мМ коричневого спирта). Содержание розавина было в семь раз меньше по сравнению с интактными корнями Каллусная ткань, полученная из пазушных почек: розин – 0.85%; розарин – 0.004%; розавин – 0.093%; салидрозид – 0.058% (2.5 мМ коричневого спирта). Содержание розавина составляло 20% от количества, продуцируемого корнями Салидрозид – 3.1% на твердой среде и 4.3% в жидкой среде (5 мМ и 2.5 мМ соответственно)	[60, 61]
Каллус из листовых эксплантов проростков <i>in vitro</i>	МС	БАП в концентрации от 0.5 мг/л до 2.0 мг/л; ИПА – 0.3 и 3.0 мг/л; 2,4-Д – от 0.1 до 2.0 мг/л; ИУК – 0.2, 0.3 и 1.0 мг/л; НУК – 0.5, 1.0, 1.5 мг/л; глютамин – 150 мг/л и гидролизат казеина 1000 мг/л	Наибольшая реакция на образование каллуса (62.85% и 73.17%) наблюдалась на двух средах, содержащих 1 мг/л БАП и 1 мг/л или 0.5 мг/л 2,4-Д. Оптимальные составы для индукции и поддержания каллусных культур в течение 6 месяцев – 0.5 мг/л БАП + 1 мг/л 2,4-Д или 1 мг/л БАП + 0.5 мг/л 2,4-Д В каллусе определяли общее содержание фенолов и антиоксидантную активность. Не выявлена связь между цветом/структурой/текстурой каллуса и содержанием вторичных метаболитов Содержание салидрозида – 5.3-6.4 мг/г в пересчете на абсолютно сухое сырье	[62]
Суспензионная клеточная культура <i>Rhodiola rosea</i> L. штамма Rr(S)2013ВИЛАР, находящегося в коллекции ФГБНУ ВИЛАР (коллекционный номер 04868244-012-2014)	Модифицированная по макроэлементам МС	...	На модифицированной питательной среде продолжительность роста культуры – 15–20 суток Накопление суммы фенилпропаноидов происходит параллельно нарастанию биомассы	[63]

Окончание таблицы 5

1	2	3	4	5
Семена	½ МС, 25 г/л сахарозы, 6.5 г/л агара	<i>Транс</i> -коричный спирт, <i>транс</i> -коричная кислота или <i>транс</i> -коричный альдегид (2 мМ)	Контроль: розин – 0.00–0.001%; розавин – 0.008–0.013%; розарин – 0.001–0.005% <i>Транс</i> -коричная кислота: розин – 0.000–0.003%; розавин – 0.008–0.018%; розарин – 0.002–0.009% (различия не были статистически значимы по сравнению с контролем) <i>Транс</i> -коричный альдегид: розин – 0.16–0.32%; розавин – 0.009–0.062 %; розарин – 0.001–0.020% <i>Транс</i> -коричный спирт: розин – 0.10–0.11%; розавин – 0.013–0.047%; розарин – 0.007–0.013% (различия не были статистически значимы по сравнению с контролем)	[64]
Семена	½ МС, 30 г/л сахарозы, 4.5 г/л агара Для формирования каллусной культуры: листовые экспланты, МС с добавлением 30 г/л сахарозы и 4.5 г/л агара	Индукция каллусогенеза: 3 мг/л ИПА + 0.3 мг/л ИУК; предшественники: фенилаланин, <i>транс</i> -коричная кислота, <i>транс</i> -коричный спирт, <i>транс</i> -коричный альдегид (2 мМ)	Все исследуемые предшественники, кроме фенилаланина, увеличивали продукцию гликозидов коричневого спирта, причем чем ближе позиция предшественника в пути биосинтеза, тем более эффективна трансформация в фенилпропаноиды <i>Транс</i> -коричная кислота: содержание розина увеличилось с 0.001% до 0.092% через 24 ч культивирования; розавин – достоверно выше по сравнению с контролем; розарин – различия не были статистически значимы по сравнению с контролем <i>Транс</i> -коричный альдегид: содержание розина увеличилось с 0.016% до 0.026% через 96 ч культивирования; розавин – достоверно выше по сравнению с контролем; розарин – достоверно выше по сравнению с контролем через 48 ч культивирования <i>Транс</i> -коричный спирт: различия были статистически значимы по сравнению с контролем	[50]
Семена	МС, модифицированная МС	Кратковременное (15 мин) облучение УФ-светом ($\lambda=315$ нм) и добавление хитозана (1.0 г/л)	Розавин 4.40–4.78 мг/мл, розарин 6.56–6.90 мг/мл, розин 3.78–4.32 мг/мл, салидрозид 33.15–35.60 мг/мл, тирозол 16.45–16.86 мг/мл	[65]
Семена	МС, 30 г/л сахарозы, 7.0 г/л агара Для получения биомассы использовали 1.5-месячные проростки	...	В результате исследования выделены и идентифицированы методом ^1H -ЯМР-спектроскопии 5 веществ флавоноидной природы	[66]
Семена, для каллусогенеза – экспланты из семядолей проростков <i>in vitro</i>	МС с добавлением 30 г/л сахарозы и 6 г/л агара	Для получения проростков регуляторы роста не использовали Для индукции каллуса: 15 μM БАП + 15 μM НУК К некоторым культурам добавляли метилжасмонат (100–200 μM)	Лучший рост каллуса (до 703%) и максимальная концентрация фенольных соединений (75.17 мг/г) достигается при соотношениях 1 : 3 NH_4^+ : K^+ и БАП : НУК, а также концентрациях фиторегуляторов и NO_3^- 30 μM и ≤ 40 мМ соответственно. Методом ВЭЖХ выявлено наличие 27 соединений. В их числе четыре не идентифицированных соединения фенольной природы, обнаруженные после обработки метилжасмонатом (100 μM), что привело к увеличению содержания фенольных соединений на 119% до 47.9 мг/г	[67]

Добавление коричневого спирта в концентрации 2 и 2.5 мМ увеличило содержание розина и розавина до 0.72 и 1.01% в пересчете на абсолютно сухое сырье соответственно по сравнению с нулевым показателем в контрольной группе [53, 54]. В исследовании [64] наблюдаемое содержание розина и розарина в каллусных культурах родиолы розовой, получавших предшественники гликозидов коричневого спирта, было даже выше, чем в интактных растениях. Через семь дней культивирования содержание розина, розавина и розарина было выше в 374, 5 и 9 раз соответственно на среде с добавлением коричневого альдегида и в 200, 4 и 6 раз соответственно при добавлении в среду коричневого спирта по сравнению с контрольными образцами [64]. Добавление 2 мМ *транс*-коричной кислоты привело к 80-кратному увеличению содержания розина через 24 ч культивирования, а добавление 2 мМ *транс*-коричного альдегида – к 130-кратному увеличению его содержания через 96 ч культивирования по сравнению с контрольными группами. *Транс*-коричный альдегид и *транс*-коричный спирт оказывали примерно одинаковое влияние на содержание суммы гликозидов коричневого спирта. В отличие от предыдущих исследований, в которых фенилпропаноиды в основном обнаруживали во внутриклеточном пространстве, в исследовании [50] розин высвобождался в среду из каллусных клеток, получавших коричный спирт. Ни один из предшественников не оказывал влияние на содержание розарина, что, по мнению исследователей, может быть связано с низкой доступностью арабинофуранозы в среде.

Добавление к каллусным культурам родиолы розовой метилжасмонта (элиситора, который участвует в путях защитных реакций растений, запускает биосинтез растительных метаболитов и используется для индукции продуцирования метаболитов в культурах клеток растений) в различных концентрациях приводило к качественным и количественным изменениям профиля фенольных соединений через три дня культивирования. Использование 100 мМ метилжасмоната было оптимальным и привело к увеличению содержания суммы гликозидов коричневого спирта до 47.9 мг/г. При воздействии элиситора на каллусные культуры появляются фенольные соединения, отсутствующие в образце без обработки [67].

В результате поиска зарубежных патентных документов, по ключевым словам, в базах данных патентного ведомства Китая [68], Ведомства по патентам и товарным знакам США [69], Европейского патентного ведомства [70], а также международной базе Google Patents [71] найдены несколько, на наш взгляд, интересных способов культивирования биомассы родиолы розовой (*Rhodiola rosea* L.):

– В одном из способов на этапе культивирования для индукции каллуса или на разных этапах процесса индукции самой культуры каллуса, в питательную среду добавляют абиотические элиситоры – натрия нитропруссид и серебра нитрат в концентрациях 40–60 мМ. В качестве экспланта отбирают ткань от 0.3 до 0.5 см² молодых стеблей и листьев, которую культивируют в каллусе в индукционной среде при следующих параметрах: в течение 10–20 дней на агаризованной среде (4–6 г/л) МС со значением pH 5.5–6.5, содержащей 20–30 г/л сахарозы, НУК и БАП в концентрациях 2.0–3.0 мг/л при температуре 20–25 °С и интенсивности света 50–80 мМ/м²·с. Содержание салидрозида в полученных тканях, определенное методом ВЭЖХ, составило 12.67 мг на грамм сухого веса в отличие от интактного растения с содержанием 1.89 мг. Широкомасштабное (промышленное) культивирование проводят в аналогичных условиях компонентного состава [72].

– Другой способ примечателен тем, что в питательную среду добавляют свежие соки (1 г/л) различных морфологических частей *Bauhinia championi* Benth., *Mimosa pudica* L., *Pennisetum centrasiaticum* Tzvel и др. Базовой питательной средой служит МС, дополненная БАП и ИМК в концентрациях 1 мг/л, НУК 2 мг/л, бензиладенином 3 мг/л, тирозиназой 5–10 мг/л, аскорбиновой кислотой 0.5–1 мМ, фенилаланином и коричной кислотой в концентрациях 10–50 мг/л, пептоном 200–500 мг/л, салициловой кислотой 0.1 мг/л и кислотой из *Salix gracilistyla* Miq 0.1–1 мг/л. Под понятием «кислота из *Salix gracilistyla* Miq.», по всей видимости, авторы подразумевают салициловую кислоту, выделенную непосредственно из сырья. Наибольший выход салидрозида (5.771 мг/г), относительно базовой среды МС (0.949 мг/г), отмечен в седьмом варианте питательной среды с добавлением всех исследованных соков [73].

– Третий способ интересен с точки зрения использования для укоренения каллуса смеси сред МС и В₅ с добавлением метилжасмоната для стимуляции накопления вторичных метаболитов, использования ТДЗ, а также твердой среды N6 [74]. Однако количественные характеристики целевых веществ не приведены [75].

В целом, рассматривая патентные документы, новых подходов, кроме эмпирического, мы не обнаружили.

Еще один перспективный метод выращивания родиолы розовой – выращивание в условиях светокультуры [76]. Благодаря свету можно легко управлять скоростью и направленностью биосинтетических процессов. В данном случае для фотосинтеза используется фотосинтетически активная радиация, а значит, чем выше облученность, тем выше и интенсивность фотосинтеза [24]. Продемонстрировано положительное

влияние в плане продуктивности биомассы и выхода салидрозида для красного света, а при смене спектрального режима облучения синтез этого вещества в корневищах повышается, если переставить растение с белого света на голубой (на 60.5% в сравнении с 21.1% в контроле, где растения продолжали расти на белом свете) [77]. Метод светокультуры может быть усовершенствован с помощью использования гидропоники, внесения подкормки, стимуляторов роста и корнеобразования [78].

Опубликована методика, которая заключается в стимулировании накопления БАС под воздействием УФ-излучения и биогического элиситора (хитозана) [65]. Для получения каллусной культуры используют 14-дневные проростки семян, выращенные на среде МС. Культивирование каллусной культуры, в свою очередь, ведут на модифицированной среде МС на свету (16-часовой световой день) при температуре 26 °С и влажности воздуха 60–70%. При этом авторы отмечают, что предшествующее культивированию кратковременное (15 мин) облучение УФ-светом (315 нм) и добавление хитозана (1.0 г/л) существенно увеличивает содержание БАС относительно контрольных образцов: розавина – на 60.5%, розарина – на 29.4%, розина – на 54.0%, салидрозида – на 20.8% и тирозола – на 21.5% с погрешностью среднего определения, не превышающей 10%. Облучение растений, каллусов, эксплантов культивированных *in vitro* на различных питательных средах малыми дозами УФ-В (280–315 нм) в течение 3, 5, 7 мин и УФ-С (200–280 нм) 1 и 2 мин вызывало изменения в росте, структуре и окраске каллусов, не влияя на жизнеспособность каллусных клеток и растений. Летальный эффект наблюдался только для листовых эксплантов, подвергавшихся воздействию УФ-В в течение 7 мин и УФ-С в течение 2 мин [79].

В последнее время популярным направлением становится метод культивирования трансгенных бородачатых (волосовидных) корней, который лишен основных недостатков, присущих культивированию суспензионных культур (генетическая нестабильность, спонтанные изменения морфологического, физиологического, цитологического и биохимического состояния клеток, нестабильный синтез вторичных метаболитов в условиях долгосрочного культивирования) [80, 81]. Метод культивирования трансгенных бородачатых корней раскрывает новые аспекты технологии культивирования органов для синтеза, накопления и регуляции производства вторичных метаболитов благодаря их способности к быстрому росту в недорогой питательной среде без фиторегуляторов и возможности длительного культивирования. Первое сообщение о генетической трансформации родиолы для получения культуры бородачатых корней относится к *Rodiola sachalinensis* [82]. В этом исследовании использовали штамм A4 *Agrobacterium rhizogenes* и особое внимание уделяли определению их оптимальной концентрации, где обнаружено, что OD₆₀₀=0.5 обеспечивает наивысшую степень инфицирования, составляющую примерно 70%. В исследовании также оценивали влияние различных биологических элиситоров и химических предшественников на производство биомассы бородачатых корней, а также содержание салидрозида. Обнаружено, что оптимальные концентрации элиситоров и прекурсоров составляют 0.05 мг/л и 1 мМ соответственно [82]. В работе [83] определяли оптимальные штаммы *Agrobacterium rhizogenes* для трансформации *Rodiola kirilowii* и оценили три различных штамма (ATCC 15834, LBA 9402 и NCIB 8196). Установлено, что только штамм LBA 9402 в сочетании с ацетосинрингоном, стимулирующим перенос T-ДНК, приводил к образованию бородачатых корней, причем примерно 95% инфицированных эксплантов продуцировали волосовидные корни. Для родиолы розовой провели всесторонний анализ, чтобы выяснить важные для трансформации факторы [84]. Кроме того, сравнивали три подхода к опосредованной трансформации *Agrobacterium rhizogenes*, направленные на: а) применение бактериальных растворов в каплях, б) повреждение эксплантов и погружение в суспензию агробактерий и в) инъекции суспензии агробактерии в апикальные меристемы проростков. Ни один из подходов не оказался успешным, так как бородачатые корни, как правило, не образовывались и часто наблюдался некроз растительной ткани [84]. В предварительном исследовании [85] родиолу розовую аналогичным образом подвергали трансформации *Agrobacterium rhizogenes*. Приблизительно 15% инокулированных листовых эксплантатов и 20% инокулированных стеблевых эксплантов образовали бородачатые корни, а в контроле их не наблюдалось [85]. Группа исследователей выявила различия в ответной реакции листовых, стеблевых и корневищных эксплантов родиолы розовой с позиции их выживаемости и способности формировать бородачатые корни в зависимости от их географического положения и световых условий культивирования [86].

В работе [87] разработали метод трансформации каллуса родиолы розовой. В модельных экспериментах по трансформации каллуса на твердых и жидких культурах использовали устойчивый к антибиотикам штамм ЕНА101 (pTd33) *Agrobacterium tumefaciens*, несущий ген *gusA*. T-ДНК бинарной векторной плазмиды pTd33 содержит ген *npt II*, придающий устойчивость к канамицину, а репортерный ген *gusA* кодирует фермент β-глюкуронидазу. Каллус на твердых средах совместно культивировали с *Agrobacterium*

tumefaciens в течение 48 ч, а на жидких культурах – в течение 20 ч. Субкультивирование проводили на селекционных средах с добавлением канамицина, клафорана (цефотаксима) и карбенициллина для отбора устойчивых к антибиотикам клеток. Зеленые и здоровые каллусы каждые 2 недели переносили на свежую среду того же состава для дальнейшего отбора. Генетическая трансформация каллусов была подтверждена на твердой среде через 2 недели. Оптимизированный метод в этом эксперименте может быть инструментом для встраивания интересующего гена в геном растения для увеличения количества или улучшения потенциального качества этих метаболитов в биоинженерных проектах или даже для биореакторной культуры растения *Rodiola rosea* L. [87].

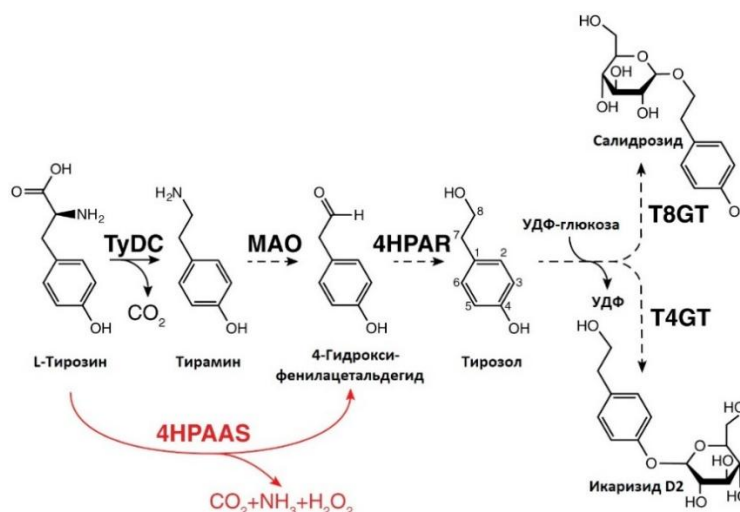
В совокупности необходимы дальнейшие исследования как с точки зрения оптимизации питательной среды *in vitro*, так и с точки зрения выяснения взаимодействий между растениями и бактериями для облегчения размножения культур волосовидных корней *Rodiola rosea* L.

Перспективным направлением является генетическая регуляция биосинтеза значимых вторичных метаболитов. В результате многочисленных исследований продемонстрировано, что биосинтез салидрозид зависит от экспрессии гена *TyDC*, кодирующего тирозиндекарбоксилазу. Трансгенные линии с высокими уровнями экспрессии *Rhodiola crenulata* *TyDC* (*RcTyDC*) продуцировали тирамин, тирозол и салидрозид в 3.21–6.84, 1.50–2.19 и 1.27–3.47 раза соответственно выше, чем в нетрансгенных линиях [52, 88–90]. Кроме этого, сообщается о том, что избыточная экспрессия УДФ-гликозилтрансферазы *UGT73B6*, регулирующей превращение тирозола в салидрозид в *Rodiola sachalinensis*, повышает содержание салидрозид в два раза в трансгенных культурах по сравнению с контрольной группой. Авторы [91] изучали влияние избыточной экспрессии УДФ-гликозилтрансфераз *UGT72B14* и *UGT74R1* в линиях бородатых корней *Rodiola sachalinensis* на биосинтез салидрозид. Содержание салидрозид в трансгенных линиях бородатых корней *UGT72B14* и *UGT74R1* *Rodiola sachalinensis* составляло соответственно на 420% и на 50% выше, чем в контрольной группе. Транскрипты *UGT72B14* в основном обнаружены в корнях, и *UGT72B14* обладал самым высоким уровнем активности в отношении продукции салидрозид *in vitro* и *in vivo* [91]. В работе [92] авторы предполагают, что биосинтез салидрозид отличается от ранее предложенного пути, включающего отдельные ферментативные стадии декарбоксилирования и дезаминирования от тирозина до ключевого промежуточного соединения – 4-Гидроксифенилацетальдегида (4-НРАА). Тирозин непосредственно превращается в 4-НРАА за счет содержания в родиоле пиридоксальфосфат-зависимой 4-Гидроксифенилацетальдегид-синтазы (4-НРААС) (рис. 1) [92].

Биосинтез фенольных гликозидов происходит спонтанно в корнях и корневищах родиолы [93]. Гликозиды коричневого спирта являются продуктами метаболизма фенилпропаноидов, полученными из L-фенилаланина. Фенилаланин-аммоний-лиаза (PAL) превращает L-Фенилаланин в коричневую кислоту. Из коричневой кислоты под действием 4-кумарат-КоА-лигазы (4CL) образуется циннамил-КоА, который восстанавливается до коричневого альдегида с помощью циннамоил-КоА редуктазы (CCR). Коричневый альдегид далее восстанавливается дегидрогеназой коричневого спирта (CAD) до коричневого спирта (рис. 2). Ферменты, участвующие в образовании гликозидов коричневого спирта, еще не описаны [59, 60].

Понимание генов, кодирующих ферменты, вовлеченных в биосинтез ключевых БАС, открывает возможности для их генетической регуляции и метаболического инжиниринга.

Рис. 1. Биосинтез салидрозид: ранее предложенный путь выделен черным, предположительный путь выделен красным; сплошными стрелками указаны ранее охарактеризованные ферменты, пунктирными стрелками указаны предложенные, но ранее не охарактеризованные ферменты [92].



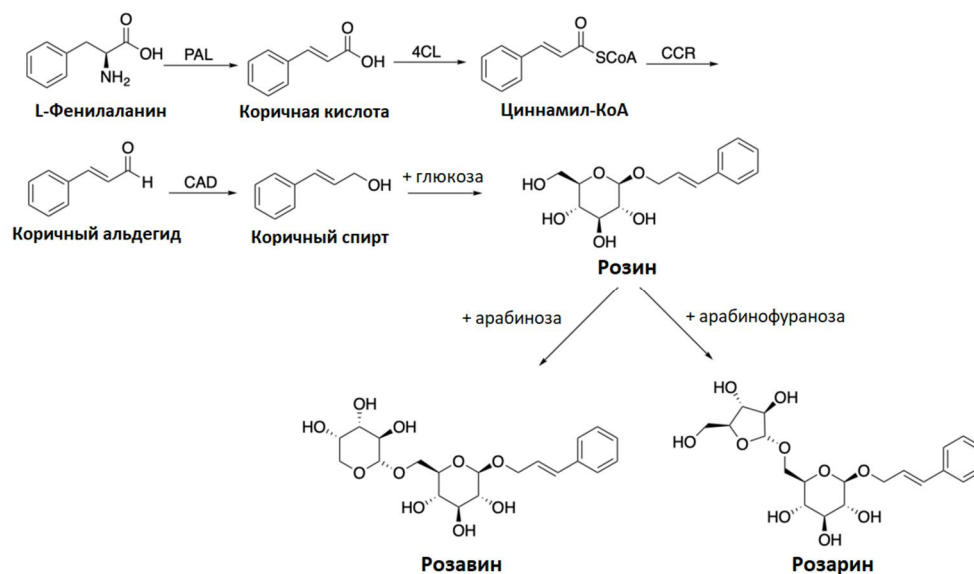


Рис. 2. Биосинтез гликозидов коричного спирта [59, 60]

Заключение

Фитобиотехнология дает возможность получить материал растительного происхождения, содержащий целевые соединения, часто в больших количествах, чем интактное растение. Более того, сбор растений для инициации культур клеток и/или органов *in vitro* может осуществляться с соблюдением действующего законодательства об охране видов, находящихся под угрозой исчезновения. Конкретный орган или ткань, связанные с биосинтезом, могут поддерживаться в культурах *in vitro* для достижения максимальной продукции интересующих соединений. Среди различных биотехнологических стратегий, применяемых для увеличения накопления салидрозида в клетках и культурах органов родиолы, подход с добавлением в среду предшественника оказался наиболее эффективным. В культурах *in vitro* наблюдалось значительное увеличение продукции розина и его производных при добавлении в среду предшественников (корициный спирт, корициная кислота и корициный альдегид). В каллусных культурах *Rodiola rosea* L. наблюдаемое содержание розина и розарина было даже выше, чем у культивируемых растений. В связи с этим биотехнологические методы могут быть приоритетными для получения салидрозида, розина и их производных на более высоких или, по крайней мере, сравнимых уровнях с дикорастущими или культивируемыми растениями.

В то же время следует также отметить, что основой метод, встречающийся в публикациях, для изучения состава БАС культур растения – ВЭЖХ без препаративного выделения компонентов с последующей идентификацией структурными методами. На наш взгляд, проведение параллельного препаративного выделения веществ является актуальным, поскольку в этом случае существует перспектива выделить новые, ранее не описанные соединения. Кроме того, отмечается физиологическая гетерогенность суспензионных культур *Rodiola rosea* L., что может существенно влиять на конечные результаты по накоплению биомассы и ее биосинтетическую активность. С этим явлением может быть связан поиск иных методов повышения продуктивности и стабильности культур родиолы розовой, в частности получение культур трансгенных бородатых корней с повышенной продукцией салидрозида.

Однако для того, чтобы родиола розовая служила платформой для производства БАС в культурах бородатых корней, необходима оптимизация с точки зрения выбора оптимальных линий растений, эксплантов для трансформации и культуры тканей. После определения оптимальных параметров целесообразны дополнительные меры для дальнейшего увеличения содержания БАС, в том числе с использованием редактирования генома.

Список литературы

1. Кулуев Б.Р., Круглова Н.Н., Зарипова А.А., Фархутдинов Р.Г. Основы биотехнологии растений: учебное пособие. Уфа, 2017. 244 с.

2. Корсун В.Ф., Корсун Е.В. Фитотерапия. Традиции российского травничества. М., 2010. 880 с.
3. Карпеев А.А., Киселева Т.Л., Коршикова Ю.И., Лесяевская Е.Е., Саканян Е.И. Фитотерапия: методические рекомендации МЗ РФ № 2000/63. М., 2006. 42 с.
4. Bruneton J. Pharmacognosy Phytochemistry Medicinal Plants. Paris, 1995. 934 p.
5. David B., Wolfender J.L., Dias D.A. The pharmaceutical industry and natural products: historical status and new trends // *Phytochemistry Reviews*. 2015. Vol. 14(2). Pp. 299–315. DOI: 10.1007/s11101-014-9367-z.
6. Tripathi L., Tripathi J.N. Role of biotechnology in medicinal plants // *Tropical journal of pharmaceutical research*. 2003. Vol. 2(2). Pp. 243–253. DOI: 10.4314/tjpr.v2i2.14607.
7. Николаева Л.А. Культура тканей лекарственных растений и ее биотехнологическое использование: текст лекций. СПб., 1992. 60 с.
8. Сассон А. Биотехнология: свершения и надежды: пер. с англ. М., 1987. 410 с.
9. Ellis B.E. Natural products from plant tissue culture // *Natural product reports*. 1988. Vol. 5(6). Pp. 581–612. DOI: 10.1039/np9880500581.
10. McCoy E., O'Connor S.E. Natural products from plant cell cultures // *Progress in drug research. Fortschritte der Arzneimittelforschung. Progres des recherches pharmaceutiques*. 2008. Vol. 65. Pp. 329–370.
11. Широков А.И., Крюков Л.А. Основы биотехнологии растений: электронное учебно-методическое пособие. Нижний Новгород, 2012. 49 с.
12. Степанова Э.Ф., Ширзад Б., Евсеева С.Б. Родиола розовая: состояние исследований и возможности создания космецевтических и дерматологических средств // *Фармация и фармакология*. 2016. Т. 4. №5. С. 36–62. DOI: 10.19163/2307-9266-2016-4-5-36-62.
13. Саратиков А.С., Краснов Е.А. Родиола розовая (золотой корень): 4-е изд., перераб. и доп. Томск, 2004. 292 с.
14. Запесочная Г.Г., Куркин В.А. Гликозиды коричневого спирта из корневищ *Rhodiola rosea* // *Химия природных соединений*. 1982. №6. С. 723–727.
15. Dascaluc A., Calugaru-Spatatu T., Ciocarlan A., Costică M., Costică N., Krajewska-Patan A., Dreger M., Mścisz A., Furmanowa M., Mrozikiewicz P.M. Chemical composition of golden root (*Rhodiola rosea* L.) rhizomes of Carpathian origin // *Herba polonica*. 2008. Vol. 54(4). Pp. 17–27.
16. Куркин В.А. Родиола розовая (золотой корень): стандартизация и создание лекарственных препаратов: 2-е изд., перераб. и доп. Самара, 2020. 240 с.
17. Grech-Baran M., Sykłowska-Baranek K., Pietrosiuk A. Biotechnological approaches to enhance salidroside, rosin and its derivatives production in selected *Rhodiola* spp. *in vitro* cultures // *Phytochemistry reviews*. 2015. Vol. 14(4). Pp. 657–674. DOI: 10.1007/s11101-014-9368-y.
18. Патов С.А. Выделение и встречный синтез гликозидов, обладающих адаптогенными свойствами: дис. ... канд. хим. наук. М., 2006. 132 с.
19. Shi L., Wang C., Zhou X., Yanxia Zhang, Liu Y., Ma C. Production of salidroside and tyrosol in cell suspension cultures of *Rhodiola crenulata* // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2013. Vol. 114(3). Pp. 295–303. DOI: 10.1007/s11240-013-0325-z.
20. Brown R.P., Gerbarg P.L., Ramazanov Z. *Rhodiola rosea*: a phytomedicinal overview // *Herbal Gram Journal*. 2002. Vol. 56. Pp. 40–52.
21. Gupta V., Lahiri S.S., Sultana S., Tulsawani R.K., Kumar R. Anti-oxidative effect of *Rhodiola imbricata* root extract in rats during cold hypoxia and restraint (C-H-R) exposure and post-stress recovery // *Food and chemical toxicology*. 2010. Vol. 48(4). Pp. 1019–1025. DOI: 10.1016/j.fct.2010.01.012.
22. Panossian A., Wikman G., Sarris J. Rosenroot (*Rhodiola rosea*): traditional use, chemical composition, pharmacology and clinical efficacy // *Phytomedicine*. 2010. Vol. 17(7). Pp. 481–493. DOI: 10.1016/j.phymed.2010.02.002.
23. Nan J.X., Jiang Y.Z., Park E.J., Ko G., Kim Y.C., Sohn D.H. Protective effect of *Rhodiola sachalinensis* extract on carbon tetrachloride-induced liver injury in rats // *Journal of ethnopharmacology*. 2003. Vol. 84(2-3). Pp. 143–148. DOI: 10.1016/s0378-8741(02)00293-3.
24. Швыдков А.М., Мрясова К.П., Асминг С.В., Цветов Н.С., Николаев В.Г. Оценка перспектив выращивания *Rhodiola rosea* L. (*Crassulaceae*) для нужд фармакологической и пищевой промышленности Мурманской области // *Вестник уральской медицинской академической науки*. 2019. Т. 16. №2. С. 296–302. DOI: 10.22138/2500-0918-2019-16-2-296-302.
25. Khapilina O.N., Kupeshev Z.S., Danilova A.N., Kalendar R.N. *In vitro* culture of *Rhodiola rosea* L. // *Eurasian Journal of Applied Biotechnology*. 2016. Vol. 4. Pp. 3–11.
26. Самарская В.О., Малаева Е.В. Аспекты клонального микроразмножения и сохранения растений *in vitro* // *Природные системы и ресурсы*. 2019. Т. 9. №3. С. 13–22. DOI: 10.15688/nsr.jvolsu.2019.3.2.
27. Егорова Н.А. Биотехнология эфиромасличных растений: создание новых форм и микроразмножение *in vitro*. Симферополь, 2021. 315 с.
28. Kirichenko E.B., Rudenko S.S., Baglaj B.M., Masikevich U.G. Leaf culture from *in vitro* propagated *Rhodiola rosea* // *Bulletin GBS*. 1994. Vol. 169. Pp. 50–54.
29. Furmanowa M., Oledzka H., Michalska M., Sokolnicka I., Radomska D. *Rhodiola rosea* L. (Roseroot): *in vitro* regeneration and the biological activity of roots // *Biotechnology in Agriculture and Forestry 33 (Medicinal and Aromatic Plants VIII)*. Berlin, 1995. Pp. 412–426. DOI: 10.1007/978-3-662-08612-4_23.
30. Kapchina-Toteva V., Sokolov L. *In vitro* micropropagation of *Rhodiola rosea* L. // *Annuaire de L'Universite de Sofia «St. Kliment Ohridski»*. 1997. Vol. 88(4). Pp. 222–226.

31. Ishmuratova M.M. Clonal micropropagation of *Rhodiola rosea* L. and *R. iremelica* Boriss. *in vitro* // Plant Resources. 1998. Vol. 34(1). Pp. 12–23.
32. Yin W.B., Li W., Du G.S., Huang Q.N. Studies on tissue culture of Tibetan *Rhodiola rosea* // Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica. 2004. Vol. 24. Pp. 1506–1510.
33. Tasheva K., Kosturkova G. *Rhodiola rosea* L. *in vitro* cultures peculiarities // Proceedings of the 3rd International Symposium «New Researches in Biotechnology». Bucharest, 2010. Pp. 103–111.
34. Tasheva K., Kosturkova G. Bulgarian golden root *in vitro* cultures for micropropagation and reintroduction // Central European Journal of Biology. 2010. Vol. 5(6). Pp. 853–863. DOI: 10.2478/s11535-010-0092-3.
35. Ghiorghită G., Hârțan M., Maftai D.-E., Nicuță D. Some considerations regarding the *In Vitro* culture of *Rhodiola rosea* L. // Romanian Biotechnological Letters. 2011. Vol. 16(1). Pp. 5902–5908.
36. Bae K.-H., Ko M.-S., Kim N.-Y., Song J.-M., Song G.-P. *In vitro* propagation and multiple shoot induction of *Rhodiola rosea* L. by axillary bud culture // Journal of Plant Biotechnology. 2012. Vol. 39(2). Pp. 114–120. DOI: 10.5010/JPB.2012.39.2.114.
37. Tasheva K., Kosturkova G. Induction of indirect organogenesis *in vitro* in *Rhodiola rosea* – an important medicinal plant // Scientific Bulletin. 2013. Vol. 17. Pp. 16–23.
38. Tasheva K., Kosturkova G. The effect of sucrose concentration on *in vitro* callogenesis of golden root – endangered medicinal plant // Scientific Bulletin. 2014. Vol. 18. Pp. 77–82.
39. Бабич О.О., Просеков А.Ю., Заушинцева А.В., Брюхачев Е.Н., Куппер А.Е., Ханьжина А.В., Асякина Л.К. Введение в культуру *in vitro* вида *Rhodiola rosea* L. из популяции Кузнецкого Алатау // Sciences of Europe. 2019. Т. 1. №43. С. 3–7.
40. Erst A.A., Erst A.S., Shmakov A.I. *In vitro* propagation of rare species *Rhodiola rosea* from Altai Mountains // Turczaninowia. 2018. Vol. 21(4). Pp. 78–86. DOI: 10.14258/turczaninowia.21.4.9.
41. Зудова О.В., Чередниченко М.Ю. Культивирование *in vitro* родиолы розовой (*Rhodiola rosea* L.) // Труды Кубанского государственного аграрного университета. 2017. №67. С. 60–63. DOI: 10.21515/1999-1703-67-60-63.
42. Романов Г.А., Медведев С.С. Ауксины и цитокинины в развитии растений. Последние достижения в исследовании фитогормонов // Физиология растений. 2006. Т. 53. №2. С. 309–319.
43. Zhao J., Davis L.C., Verpoorte R. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites // Biotechnology Advances. 2005. Vol. 23(4). Pp. 283–333. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2005.01.003.
44. Kapoor S., Raghuvanshi R., Bhardwaj P., Sood H., Saxena S., Chaurasia O.P. Influence of light quality on growth, secondary metabolites production and antioxidant activity in callus culture of *Rhodiola imbricata* Edgew. // Journal of photochemistry and photobiology. 2018. Vol. 183. Pp. 258–265. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2018.04.018.
45. Erst A.A., Petruk A.A., Zibareva L.N., Erst A.S. Morphological, Histochemical and Biochemical Features of Cultivated *Rhodiola rosea* (Altai Mountains Ecotype) // Contemporary Problems of Ecology. 2021. Vol. 14. Pp. 701–710. DOI: 10.1134/S1995425521060135.
46. Захожий И.Г. Физиолого-биохимические основы накопления продуктов вторичного метаболизма – салидрозида и розавина в растениях *Rhodiola rosea* L.: дис. ... канд. биол. наук. СПб, 2006. 139 с.
47. Sheng C.Z., Hu T.Q., Bi H., Yuan Y.J., Jiang Y. Effects of plant growth substances on induction and culture of callus from *Rhodiola quadrifida* // Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. 2005. Vol. 30(16). Pp. 1237–1240.
48. Tasheva K., Kosturkova G. The Role of Biotechnology for Conservation and Biologically Active Substances Production of *Rhodiola rosea*: Endangered Medicinal Species // The Scientific World Journal. 2012. Vol. 2012. 13 p. DOI: 10.1100/2012/274942.
49. Ghiorghită G., Hârțan M., Maftai D.-E., Nicuță D. Some considerations regarding the *In Vitro* culture of *Rhodiola rosea* L. // Romanian Biotechnological Letters. 2011. Vol. 16(1). P. 5903.
50. Mirmazloum I., Kiss A., Ladányi M., György Z. Production of cinnamyl alcohol glycosides by biotransformation in roseroot callus cells // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 2019. Vol. 139(1). Pp. 29–37. DOI: 10.1007/s11240-019-01659-7.
51. Rattan S., Sood A., Kumar P., Kumar A., Kumar D., Warghat A.R. Phenylethanoids, phenylpropanoids, and phenolic acids quantification vis-à-vis gene expression profiling in leaf and root derived callus lines of *Rhodiola imbricata* (Edgew.) // Industrial Crops and Products. 2020. Vol. 154. P. 112708. DOI: 10.1016/j.indcrop.2020.112708.
52. Ma L.-Q., Gao D.-Y., Wang Y.-N., Wang H.-H., Zhang J.-X., Pang X.-B., Hu T.-S., Lü S.-Y., Li G.-F., Ye H.-C., Li Y.-F., Wang H. Effects of overexpression of endogenous phenylalanine ammonia-lyase (PALr1) on accumulation of salidroside in *Rhodiola sachalinensis* // Plant Biology. 2008. Vol. 10. Pp. 323–333. DOI: 10.1111/j.1438-8677.2007.00024.x.
53. György Z., Tolonen A., Pakonen M., Neubauer P., Hohtola A. Enhancement of the production of cinnamyl glycosides in CCA cultures of *Rhodiola rosea* through biotransformation of cinnamyl alcohol // Plant Science. 2004. Vol. 166. Pp. 229–236. DOI: 10.1016/j.plantsci.2003.09.011.
54. Furmanowa M., Hartwich M., Alfermann A.W., Koźmiński W., Olejnik M. Rosavin as a product of glycosylation by *Rhodiola rosea* (roseroot) cell cultures // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 1999. Vol. 56(2). Pp. 105–110. DOI: 10.1023/A:1006232023274.
55. Куркин В.А., Запесочная Г.Г., Дубичев А.Г., Воронцов Е.Д., Александрова И.В. Фенилпропаноиды каллусной культуры *Rhodiola rosea* // Химия природных соединений. 1991. №4. С. 481–490.

56. Полетаева Т.И., Александрова И.В., Краснов Е.А. Продуцирование биологически активных веществ в культуре клеток *Rhodiola rosea* // Актуальные проблемы фармакологии и поиска новых лекарственных препаратов. Томск, 1984. №1. С. 149–152.
57. Патент №1725756 (СССР). Штамм культивируемых клеток растений *Rhodiola rosea* – продуцент фенольных соединений – адаптогенов / И.В. Александрова, А.Н. Данилина. – 1992.
58. György Z., Hohtola A. Production of cinnamyl glycosides in compact callus aggregate cultures of *Rhodiola rosea* through biotransformation of cinnamyl alcohol // *Methods in molecular biology*. 2009. Vol. 547. Pp. 305–312. DOI: 10.1007/978-1-60327-287-2_24.
59. György Z. Glycoside production by *in vitro* *Rhodiola rosea* cultures: Ph.D. thesis. Oulu, 2006. 244 p.
60. Krajewska-Patan A., Mscisz A., Kedzia B., Lutomski J. The influence of elicitation on the tissue cultures of roseroot (*Rhodiola rosea* L.) // *Herba Polonica*. 2002. Vol. 48(2). Pp. 77–81.
61. Krajewska-Patan A., Dreger M., Lowicka A., Górska-Paukszta M., Mścisz A., Mielcarek S., Baraniak M., Buchwald W., Furmanowa M., Mrozikiewicz P.M. Chemical investigation of biotransformed *Rhodiola rosea* callus tissue // *Herba Polonica*. 2007. Vol. 53(4). 11 p.
62. Tasheva K. *In vitro* cultures of *Rhodiola rosea* – investigations of possibilities to propagation and conservation of the species and production of biologically active substances: Ph.D. thesis. Sofia, 2011.
63. Савин П.С., Савина Т.А., Мясникова С.Б. Физиологические характеристики суспензионной культуры *Rhodiola rosea* L. при выращивании на модифицированной питательной среде // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2019. Т. 22. №5. С. 25–29. DOI: 10.29296/25877313-2019-05-05.
64. Javid A., Gampe N., Gelana F., György Z. Enhancing the Accumulation of Rosavins in *Rhodiola rosea* L. Plants Grown *In Vitro* by Precursor Feeding // *Agronomy*. 2021. Vol. 11(12). P. 2531. DOI: 10.3390/agronomy11122531.
65. Патент №2726067 (РФ). Способ получения биологически активных веществ – адаптогенов в клеточной культуре родиолы розовой (*Rhodiola rosea* L.) / А.Ю. Просеков, О.О. Бабич, Л.С. Дышлюк, Л.К. Асякина, И.С. Милентьева, А.В. Заушинцева. – 2020.
66. Asyakina L., Sukhikh S., Ivanova S., Prosekov A., Ulrich E., Chupahin E., Babich O. Determination of the Qualitative Composition of Biologically-Active Substances of Extracts of *In Vitro* Callus, Cell Suspension, and Root Cultures of the Medicinal Plant *Rhodiola rosea* // *Biomolecules*. 2021. Vol. 11(3). P. 365. DOI: 10.3390/biom11030365.
67. Erst A.A., Petruk A.A., Erst A.S., Krivenko D.A., Filinova N.V., Maltseva S.Y., Kulikovskiy M.S., Banaev E.V. Optimization of Biomass Accumulation and Production of Phenolic Compounds in Callus Cultures of *Rhodiola rosea* L. Using Design of Experiments // *Plants*. 2022. Vol. 11. P. 124. DOI: 10.3390/plants11010124.
68. China National Intellectual Property Administration [Электронный ресурс]. URL: <http://english.cnipa.gov.cn/>.
69. The United States Patent and Trademark Office [Электронный ресурс]. URL: <https://www.uspto.gov/>.
70. European Patent Office [Электронный ресурс]. URL: <https://www.epo.org/index.html>.
71. Google Patents: digital library for patents [Электронный ресурс]. URL: <https://patents.google.com/>.
72. Patent 101773070 (CN). *Rhodiola rosea* callus culture method / J. Jingming. – 2010.
73. Patent 106520665 (CN). Culture medium for *Rhodiola rosea* cell / X. Xuecheng, Q. Xianlin, M. Dan. – 2017.
74. Chu C. The N6 medium and its applications to anther culture cereal crops // *Proceedings of Symposium on plant tissue culture*. Peking, 1980. Pp. 43–50.
75. Patent 110050697 (CN). Preparation method of *Rhodiola rosea* drug product active matter / S. Ximing. – 2019.
76. Рыбакова Г.Р. Накопление биомассы и содержание салидрозидов в родиоле розовой (*Rhodiola rosea* L.) при различных спектральных режимах искусственного облучения и возможности ее использования как функциональной добавки: дис. ... канд. биол. наук. Красноярск, 2002. 184 с.
77. Рыбакова Г.Р., Тихомиров А.А., Чепелева Г.Г. Изучение влияния спектрального состава света при выращивании в условиях светокультуры на выход салидрозидов в родиоле розовой // *Химия растительного сырья*. 2002. №3. С. 77–83.
78. Тексье У. Гидропоника для всех. Все о садоводстве на дому: пер. с англ. М., 2013. 296 с.
79. Tasheva K., Katerova Z., Kosturkova G. The effect of UV irradiation on *in vitro* cultures development of Golden root – endangered medicinal plant // *Scientific Bulletin*. 2015. Vol. 19. Pp. 70–75.
80. Deus-Neumann B., Zenk M.H. Instability of Indole Alkaloid Production in *Catharanthus roseus* Cell Suspension Cultures // *Planta medica*. 1984. Vol. 50(5). Pp. 427–431. DOI: 10.1055/s-2007-969755.
81. Roychowdhury D., Halder M., Jha S. *Agrobacterium rhizogenes*-Mediated Transformation in Medicinal Plants: Genetic Stability in Long-Term Culture // *Transgenesis and Secondary Metabolism*. Cham, 2016. Pp. 323–346. DOI: 10.1007/978-3-319-27490-4_8-1.
82. Zhou X., Wu Y., Wang X., Liu B., Xu H. Salidroside production by hairy roots of *Rhodiola sachalinensis* obtained after transformation with *Agrobacterium rhizogenes* // *Biological & Pharmaceutical Bulletin*. 2007. Vol. 30(3). Pp. 439–442. DOI: 10.1248/bpb.30.439.
83. Zych M., Pietrosiuk A., Karasiewicz M., Bogacz A., Kujawski R., Mrozikiewicz P.M., Krajewska-Patan A., Furmanowa M. Establishment of *Rhodiola kirilowii* hairy roots using *Agrobacterium rhizogenes* LBA 9402 // *Herba Polonica*. 2008. Vol. 54(4). Pp. 7–16.
84. Tasheva K., Kosturkova G. Towards *Agrobacterium* – mediated transformation of the endangered medicinal plant golden root // *Agro Life Scientific Journal*. 2012. Vol. 1. Pp. 132–139.

85. Himmelboe M., Lauridsen U.B., Hegelund J., Müller R., Lütken H. *Agrobacterium rhizogenes* mediated transformation of *Rhodiola* sp. – An approach to enhance the level of bioactive compounds // *Acta Horticulturae*. 2015. Vol. 1098. Pp. 143–149. DOI: 10.17660/ActaHortic.2015.1098.15.
86. Martínez M.I., Barba-Espín G., Favero B.T., Lütken H. *Rhizobium rhizogenes*-mediated transformation of *Rhodiola rosea* leaf explants // *Bragantia*. 2020. Vol. 79(2). Pp. 213–223. DOI: 10.1590/1678-4499.20190428.
87. Mirmazloum I., Forgács I., Zok A., Pedryc A., György Z. Transgenic callus culture establishment, a tool for metabolic engineering of *Rhodiola rosea* L. // *Acta scientiarum Polonorum Hortorum cultus = Ogródnictwo*. 2014. Vol. 13. Pp. 95–106.
88. György Z., Jaakola L., Neubauer P., Hohtola A. Isolation and genotype-dependent, organ-specific expression analysis of a *Rhodiola rosea* cDNA encoding tyrosine decarboxylase // *Journal of plant physiology*. 2009. Vol. 166. Pp. 1581–1586.
89. Zhang J.X., Ma L.Q., Yu H.S., Zhang H., Wang H.T., Qin Y.F., Shi G.L., Wang Y.N. A tyrosine decarboxylase catalyzes the initial reaction of the salidroside biosynthesis pathway in *Rhodiola sachalinensis* // *Plant cell reports*. 2011. Vol. 30. Pp. 1443–1453. DOI: 10.1007/s00299-011-1053-7.
90. Lan X., Chang K., Zeng L., Liu X., Qiu F., Zheng W., Quan H., Liao Z., Chen M., Huang W., Liu W., Wang Q. Engineering Salidroside Biosynthetic Pathway in Hairy Root Cultures of *Rhodiola crenulata* Based on Metabolic Characterization of Tyrosine Decarboxylase // *PLoS ONE*. 2013. Vol. 8(10). e75459. DOI: 10.1371/journal.pone.0075459.
91. Yu H.S., Ma L.Q., Zhang J.X., Shi G.L., Hu Y.H., Wang Y.N. Characterization of glycosyltransferases responsible for salidroside biosynthesis in *Rhodiola sachalinensis* // *Phytochemistry*. 2011. Vol. 72(9). Pp. 862–870. DOI: 10.1016/j.phytochem.2011.03.020.
92. Torrens-Spence M.P., Pluskal T., Li F.S., Carballo V., Weng J.K. Complete Pathway Elucidation and Heterologous Reconstitution of *Rhodiola* Salidroside Biosynthesis // *Molecular plant*. 2018. Vol. 11(1). Pp. 205–217. DOI: 10.1016/j.molp.2017.12.007.
93. Krajewska-Patan A., Gryszczyńska A., Mielcarek S., Furmanowa M., Buchwald W., Mikołajczak P.M., Czerny B., Mroziakiewicz P.M. Possible *Rhodiola kirilowii* use in modern phytotherapy // *Postępy Fitoterapii*. 2013. Vol. 1. Pp. 22–27.

Поступила в редакцию 8 февраля 2023 г.

После переработки 7 марта 2023 г.

Принята к публикации 15 марта 2023 г.

Для цитирования: Жданов Д.А., Рязанова Т.К., Куркин В.А., Куркина А.В., Браславский В.Б. Биотехнологические способы получения биологически активных соединений родиолы розовой (*Rhodiola rosea* L.) (обзор) // *Химия растительного сырья*. 2023. №3. С. 5–25. DOI: 10.14258/jcrpm.20230312550.

Zhdanov D.A., Ryazanova T.K., Kurkin V.A.* , Kurkina A.V., Braslavsky V.B. THE OBTAINING *RHODIOLA ROSEA* L. BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS BY BIOTECHNOLOGICAL METHODS (OVERVIEW)

Samara State Medical University, ul. Chapayevskaya, 89, Samara, 443099 (Russia), e-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

Due to its rich chemical composition including unique biologically active compounds the gold root (*Rhodiola rosea* L.) is still of interest to researchers all over the world. However, deficiency of the raw material base and metabolome variability are determination the modern development ways of pharmacologically active substances *in vitro* obtaining. The article summarizes and systematizes the information about of *Rhodiola rosea* biologically active compounds obtaining, which are most often obtaining from callus tissues. Callus tissue is usually obtaining from leaf explants, and Murashige and Skoog medium with plant growth regulators in various combinations and concentrations is most commonly used for its induction. At the same time, the tissue growth efficiency and target compounds accumulation depends on the intact plant genotype, the precursors presence of these compounds in the medium, elicitors, as well as external influence factors. Recently, a promising direction is the transgenic hairy roots cultivation, which reveals new aspects of synthesis, accumulation and secondary metabolites production regulation. Biosynthesis genetic regulation of significant secondary metabolites is also a promising direction. Numerous studies have demonstrated that salidroside biosynthesis depends on the expression of the TyrDC gene encoding tyrosinedecarboxylase. Consequently, understanding the molecular and genetic mechanisms opens up opportunities for its regulation and metabolic engineering. In this regard, biotechnological methods may be a priority to obtaining salidroside, rosin and their derivatives at higher or at least comparable levels with wild type or cultivated plants.

Among the various biotechnological strategies used to increase the accumulation of salidroside and glycosides of cinnamic alcohol in cells and cultures of *Rhodiola* organs, the approach with the addition of the metabolic precursors to the nutrient medium proved to be the most effective. *In vitro* cultures, a significant increase in the production of rosin and its derivatives was observed when precursors (cinnamic alcohol, cinnamic acid and cinnamic aldehyde) were added to the medium.

Keywords: gold root, *Rhodiola rosea* L., callus, phytobiotechnology, phenylpropanoids, cinnamic alcohol, rosin, rosavin, *p*-coumaric alcohol, triandrin, simple phenols, salidroside, tyrosol.

References

1. Kuluyev B.R., Kruglova N.N., Zaripova A.A., Farkhutdinov R.G. *Osnovy biotekhnologii rasteniy: uchebnoye posobiye*. [Fundamentals of plant biotechnology: textbook]. Ufa, 2017, 244 p. (in Russ.).
2. Korsun V.F., Korsun Ye.V. *Fitoterapiya. Traditsii Rossiyskogo travnichestva*. [Phytotherapy. Traditions of Russian herbalism]. Moscow, 2010, 880 p. (in Russ.).
3. Karpeyev A.A., Kiseleva T.L., Korshikova Yu.I., Lesiovskaya Ye.Ye., Sakanyan Ye.I. *Fitoterapiya: metodicheskiye rekomendatsii MZ RF № 2000/63*. [Phytotherapy: guidelines of the Ministry of Health of the Russian Federation No. 2000/63]. Moscow, 2006, 42 p. (in Russ.).
4. Bruneton J. *Pharmacognosy Phytochemistry Medicinal Plants*. Paris, 1995, 934 p.
5. David B., Wolfender J.L., Dias D.A. *Phytochemistry Reviews*, 2015, vol. 14(2), pp. 299–315. DOI: 10.1007/s11101-014-9367-z.
6. Tripathi L., Tripathi J.N. *Tropical journal of pharmaceutical research*, 2003, vol. 2(2), pp. 243–253. DOI: 10.4314/tjpr.v2i2.14607.
7. Nikolayeva L.A. *Kul'tura tkaney lekarstvennykh rasteniy i yeye biotekhnologicheskoye ispol'zovaniye: tekst lektsiy*. [Tissue culture of medicinal plants and its biotechnological use: text of lectures]. St. Petersburg, 1992, 60 p. (in Russ.).
8. Sasson A. *Biotekhnologiya: sversheniya i nadezhdy*. [Biotechnology: accomplishments and hopes]. Moscow, 1987, 410 p. (in Russ.).
9. Ellis B.E. *Natural product reports*, 1988, vol. 5(6), pp. 581–612. DOI: 10.1039/np9880500581.
10. McCoy E., O'Connor S.E. *Progress in drug research. Fortschritte der Arzneimittelforschung. Progres des recherches pharmaceutiques*, 2008, vol. 65, pp. 329–370.
11. Shirokov A.I., Kryukov L.A. *Osnovy biotekhnologii rasteniy: elektronnoye uchebno-metodicheskoye posobiye*. [Fundamentals of plant biotechnology: electronic teaching aid]. Nizhniy Novgorod, 2012, 49 p. (in Russ.).
12. Stepanova E.F., Shirzad B., Yevseyeva S.B. *Farmatsiya i farmakologiya*, 2016, vol. 4, no. 5, pp. 36–62. DOI: 10.19163/2307-9266-2016-4-5-36-62. (in Russ.).
13. Saratikov A.S., Krasnov Ye.A. *Rodiola rozovaya (zolotoy koren'): 4-ye izd., pererab. i dop.* [Rhodiola rosea (golden root): 4th ed., revised. and additional]. Tomsk, 2004, 292 p. (in Russ.).
14. Zapesochnaya G.G., Kurkin V.A. *Khimiya prirodnykh soyedineniy*, 1982, no. 6, pp. 723–727. (in Russ.).
15. Dascalu A., Calugaru-Spatatu T., Ciocarlan A., Costică M., Costică N., Krajewska-Patan A., Dreger M., Mścisz A., Furmanowa M., Mrozikiewicz P.M. *Herba polonica*, 2008, vol. 54(4), pp. 17–27.
16. Kurkin V.A. *Rodiola rozovaya (zolotoy koren'): standartizatsiya i sozdaniye lekarstvennykh preparatov: 2-ye izd., pererab. i dop.* [Rhodiola rosea (golden root): standardization and drug development: 2nd ed., revised. and additional]. Samara, 2020, 240 p. (in Russ.).
17. Grech-Baran M., Sykłowska-Baranek K., Pietrosiuk A. *Phytochemistry reviews*, 2015, vol. 14(4), pp. 657–674. DOI: 10.1007/s11101-014-9368-y.
18. Patov S.A. *Vydeleniye i vstrechnyy sintez glikozidov, obladayushchikh adaptogennymi svoystvami: dis. ... kand. khim. nauk*. [Isolation and counter synthesis of glycosides with adaptogenic properties: dis. ... Cand. Chem. Sciences]. Moscow, 2006, 132 p. (in Russ.).
19. Shi L., Wang C., Zhou X., Yanxia Zhang, Liu Y., Ma C. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2013, vol. 114(3), pp. 295–303. DOI: 10.1007/s11240-013-0325-z.
20. Brown R.P., Gerbarg P.L., Ramazanov Z. *Herbal Gram Journal*, 2002, vol. 56, pp. 40–52.
21. Gupta V., Lahiri S.S., Sultana S., Tulsawani R.K., Kumar R. *Food and chemical toxicology*, 2010, vol. 48(4), pp. 1019–1025. DOI: 10.1016/j.fct.2010.01.012.

* Corresponding author.

22. Panossian A., Wikman G., Sarris J. *Phytomedicine*, 2010, vol. 17(7), pp. 481–493. DOI: 10.1016/j.phymed.2010.02.002.
23. Nan J.X., Jiang Y.Z., Park E.J., Ko G., Kim Y.C., Sohn D.H. *Journal of ethnopharmacology*, 2003, vol. 84(2-3), pp. 143–148. DOI: 10.1016/s0378-8741(02)00293-3.
24. Shvydkov A.M., Mryasova K.P., Asming S.V., Tsvetov N.S., Nikolayev V.G. *Vestnik ural'skoy meditsinskoy akademicheskoy nauki*, 2019, vol. 16, no. 2, pp. 296–302. DOI: 10.22138/2500-0918-2019-16-2-296-302. (in Russ.).
25. Khapilina O.N., Kupeshev Z.S., Danilova A.N., Kalendar R.N. *Eurasian Journal of Applied Biotechnology*, 2016, vol. 4, pp. 3–11.
26. Samarskaya V.O., Malayeva Ye.V. *Prirodnyye sistemy i resursy*, 2019, vol. 9, no. 3, pp. 13–22. DOI: 10.15688/nsr.jvolsu.2019.3.2. (in Russ.).
27. Yegorova N.A. *Biotehnologiya efiroslaslichnykh rasteniy: sozdaniye novykh form i mikrorazmnozheniye in vitro*. [Biotechnology of essential oil plants: creation of new forms and in vitro micropropagation]. Simferopol', 2021, 315 p. (in Russ.).
28. Kirichenko E.B., Rudenko S.S., Baglaj B.M., Masikevich U.G. *Bulletin GBS*, 1994, vol. 169, pp. 50–54.
29. Furmanowa M., Oledzka H., Michalska M., Sokolnicka I., Radomska D. *Biotechnology in Agriculture and Forestry 33 (Medicinal and Aromatic Plants VIII)*. Berlin, 1995, pp. 412–426. DOI: 10.1007/978-3-662-08612-4_23.
30. Kapchina-Toteva V., Sokolov L. *Annuaire de L'Universite de Sofia «St. Kliment Ohridski»*, 1997, vol. 88(4), pp. 222–226.
31. Ishmuratova M.M. *Plant Resources*, 1998, vol. 34(1), pp. 12–23.
32. Yin W.B., Li W., Du G.S., Huang Q.N. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2004, vol. 24, pp. 1506–1510.
33. Tasheva K., Kosturkova G. *Proceedings of the 3rd International Symposium «New Researches in Biotechnology»*, Bucharest, 2010, pp. 103–111.
34. Tasheva K., Kosturkova G. *Central European Journal of Biology*, 2010, vol. 5(6), pp. 853–863. DOI: 10.2478/s11535-010-0092-3.
35. Ghiorghită G., Hârțan M., Maftai D.-E., Nicuță D. *Romanian Biotechnological Letters*, 2011, vol. 16(1), pp. 5902–5908.
36. Bae K.-H., Ko M.-S., Kim N.-Y., Song J.-M., Song G.-P. *Journal of Plant Biotechnology*, 2012, vol. 39(2), pp. 114–120. DOI: 10.5010/JPB.2012.39.2.114.
37. Tasheva K., Kosturkova G. *Scientific Bulletin*, 2013, vol. 17, pp. 16–23.
38. Tasheva K., Kosturkova G. *Scientific Bulletin*, 2014, vol. 18, pp. 77–82.
39. Babich O.O., Prosekov A.Yu., Zaushintseva A.V., Bryukhachev Ye.N., Kupper A.Ye., Khan'zhina A.V., Asyakina L.K. *Sciences of Europe*, 2019, vol. 1, no. 43, pp. 3–7. (in Russ.).
40. Erst A.A., Erst A.S., Shmakov A.I. *Turczaninowia*, 2018, vol. 21(4), pp. 78–86. DOI: 10.14258/turczaninowia.21.4.9.
41. Zudova O.V., Cherednichenko M.Yu. *Trudy Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*, 2017, no. 67, pp. 60–63. DOI: 10.21515/1999-1703-67-60-63. (in Russ.).
42. Romanov G.A., Medvedev S.S. *Fiziologiya rasteniy*, 2006, vol. 53, no. 2, pp. 309–319. (in Russ.).
43. Zhao J., Davis L.C., Verpoorte R. *Biotechnology Advances*, 2005, vol. 23(4), pp. 283–333. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2005.01.003.
44. Kapoor S., Raghuvanshi R., Bhardwaj P., Sood H., Saxena S., Chaurasia O.P. *Journal of photochemistry and photobiology*, 2018, vol. 183, pp. 258–265. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2018.04.018.
45. Erst A.A., Petruk A.A., Zibareva L.N., Erst A.S. *Contemporary Problems of Ecology*, 2021, vol. 14, pp. 701–710. DOI: 10.1134/S1995425521060135.
46. Zakhozhiy I.G. *Fiziologo-biokhimicheskiye osnovy nakopleniya produktov vtorichnogo metabolizma – salidro-zida i rozavina v rasteniyakh Rhodiola rosea L.: dis. ... kand. biol. nauk*. [Physiological and biochemical bases for the accumulation of secondary metabolic products - salidroside and rosavin in *Rhodiola rosea* L. plants: dis. ... Cand. Biol. Sciences]. St. Petersburg, 2006, 139 p. (in Russ.).
47. Sheng C.Z., Hu T.Q., Bi H., Yuan Y.J., Jiang Y. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 2005, vol. 30(16), pp. 1237–1240.
48. Tasheva K., Kosturkova G. *The Scientific World Journal*, 2012, vol. 2012, 13 p. DOI: 10.1100/2012/274942.
49. Ghiorghită G., Hârțan M., Maftai D.-E., Nicuta D. *Romanian Biotechnological Letters*, 2011, vol. 16(1), p. 5903.
50. Mirmazloum I., Kiss A., Ladányi M., György Z. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2019, vol. 139(1), pp. 29–37. DOI: 10.1007/s11240-019-01659-7.
51. Rattan S., Sood A., Kumar P., Kumar A., Kumar D., Warghat A.R. *Industrial Crops and Products*, 2020, vol. 154, p. 112708. DOI: 10.1016/j.indcrop.2020.112708.
52. Ma L.-Q., Gao D.-Y., Wang Y.-N., Wang H.-H., Zhang J.-X., Pang X.-B., Hu T.-S., Lü S.-Y., Li G.-F., Ye H.-C., Li Y.-F., Wang H. *Plant Biology*, 2008, vol. 10, pp. 323–333. DOI: 10.1111/j.1438-8677.2007.00024.x.
53. György Z., Tolonen A., Pakonen M., Neubauer P., Hohtola A. *Plant Science*, 2004, vol. 166, pp. 229–236. DOI: 10.1016/j.plantsci.2003.09.011.
54. Furmanowa M., Hartwich M., Alfermann A.W., Koźmiński W., Olejnik M. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 1999, vol. 56(2), pp. 105–110. DOI: 10.1023/A:1006232023274.
55. Kurkin V.A., Zapesochaynaya G.G., Dubichev A.G., Vorontsov Ye.D., Aleksandrova I.V. *Khimiya prirodnikh soyedineniy*, 1991, no. 4, pp. 481–490. (in Russ.).
56. Poletayeva T.I., Aleksandrova I.V., Krasnov Ye.A. *Aktual'nyye problemy farmakologii i poiska novykh lekarstvennykh preparatov*. [Actual problems of pharmacology and search for new drugs]. Tomsk, 1984, no. 1, pp. 149–152. (in Russ.).
57. Patent 1725756 (USSR). 1992. (in Russ.).
58. György Z., Hohtola A. *Methods in molecular biology*, 2009, vol. 547, pp. 305–312. DOI: 10.1007/978-1-60327-287-2_24.
59. György Z. *Glycoside production by in vitro Rhodiola rosea cultures: Ph.D. thesis*. Oulu, 2006, 244 p.
60. Krajewska-Patan A., Mscisz A., Kedzia B., Lutomski J. *Herba Polonica*, 2002, vol. 48(2), pp. 77–81.
61. Krajewska-Patan A., Dreger M., Lowicka A., Góraska-Paukszta M., Mścisz A., Mielcarek S., Baraniak M., Buchwald W., Furmanowa M., Mrozikiewicz P.M. *Herba Polonica*, 2007, vol. 53(4), 11 p.
62. Tasheva K. *In vitro cultures of Rhodiola rosea – investigations of possibilities to propagation and conservation of the species and production of biologically active substances: Ph.D. thesis*. Sofia, 2011.

63. Savin P.S., Savina T.A., Myasnikova S.B. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii*, 2019, vol. 22, no. 5, pp. 25–29. DOI: 10.29296/25877313-2019-05-05. (in Russ.).
64. Javid A., Gampe N., Gelana F., György Z. *Agronomy*, 2021, vol. 11(12), p. 2531. DOI: 10.3390/agronomy11122531.
65. Patent 2726067 (RU). 2020. (in Russ.).
66. Asyakina L., Sukhikh S., Ivanova S., Prosekov A., Ulrikh E., Chupahin E., Babich O. *Biomolecules*, 2021, vol. 11(3), p. 365. DOI: 10.3390/biom11030365.
67. Erst A.A., Petruk A.A., Erst A.S., Krivenko D.A., Filinova N.V., Maltseva S.Y., Kulikovskiy M.S., Banaev E.V. *Plants*, 2022, vol. 11, p. 124. DOI: 10.3390/plants11010124.
68. *China National Intellectual Property Administration*. URL: <http://english.cnipa.gov.cn/>.
69. *The United States Patent and Trademark Office*. URL: <https://www.uspto.gov/>.
70. *European Patent Office*. URL: <https://www.epo.org/index.html>.
71. *Google Patents: digital library for patents*. URL: <https://patents.google.com/>.
72. Patent 101773070 (CN). 2010.
73. Patent 106520665 (CN). 2017.
74. Chu C. *Proceedings of Symposium on plant tissue culture*. Peking, 1980, pp. 43–50.
75. Patent 110050697 (CN). 2019.
76. Rybakova G.R. *Nakopleniye biomassy i sodержaniye salidrozi v rodiole rozovoy (Rhodiola rosea L.) pri razlichnykh spektral'nykh rezhimakh iskusstvennogo oblucheniya i vozmozhnosti yeye ispol'zovaniya kak funktsional'noy dobavki: dis. ... kand. biol. nauk*. [Accumulation of biomass and content of salidroside in *Rhodiola rosea* L. under different spectral conditions of artificial irradiation and the possibility of its use as a functional additive: dis. ... Cand. Biol. Sciences]. Krasnoyarsk, 2002, 184 p. (in Russ.).
77. Rybakova G.R., Tikhomirov A.A., Chepeleva G.G. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2002, no. 3, pp. 77–83. (in Russ.).
78. Teks'ye U. *Gidropionika dlya vsekh. Vso o sadovodstve na domu*. [Hydroponics for everyone. All about gardening at home]. Moscow, 2013, 296 p. (in Russ.).
79. Tasheva K., Katerova Z., Kosturkova G. *Scientific Bulletin*, 2015, vol. 19, pp. 70–75.
80. Deus-Neumann B., Zenk M.H. *Planta medica*, 1984, vol. 50(5), pp. 427–431. DOI: 10.1055/s-2007-969755.
81. Roychowdhury D., Halder M., Jha S. *Transgenesis and Secondary Metabolism*. Cham, 2016, pp. 323–346. DOI: 10.1007/978-3-319-27490-4_8-1.
82. Zhou X., Wu Y., Wang X., Liu B., Xu H. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 2007, vol. 30(3), pp. 439–442. DOI: 10.1248/bpb.30.439.
83. Zych M., Pietrosiuk A., Karasiewicz M., Bogacz A., Kujawski R., Mrozikiewicz P.M., Krajewska-Patan A., Furmanowa M. *Herba Polonica*, 2008, vol. 54(4), pp. 7–16.
84. Tasheva K., Kosturkova G. *Agro Life Scientific Journal*, 2012, vol. 1, pp. 132–139.
85. Himmelboe M., Lauridsen U.B., Hegelund J., Müller R., Lütken H. *Acta Horticulturae*, 2015, vol. 1098, pp. 143–149. DOI: 10.17660/ActaHortic.2015.1098.15.
86. Martínez M.I., Barba-Espín G., Favero B.T., Lütken H. *Bragantia*, 2020, vol. 79(2), pp. 213–223. DOI: 10.1590/1678-4499.20190428.
87. Mirmazloum I., Forgács I., Zok A., Pedryc A., György Z. *Acta scientiarum Polonorum Hortorum cultus = Ogrodnictwo*, 2014, vol. 13, pp. 95–106.
88. György Z., Jaakola L., Neubauer P., Hohtola A. *Journal of plant physiology*, 2009, vol. 166, pp. 1581–1586.
89. Zhang J.X., Ma L.Q., Yu H.S., Zhang H., Wang H.T., Qin Y.F., Shi G.L., Wang Y.N. *Plant cell reports*, 2011, vol. 30, pp. 1443–1453. DOI: 10.1007/s00299-011-1053-7.
90. Lan X., Chang K., Zeng L., Liu X., Qiu F., Zheng W., Quan H., Liao Z., Chen M., Huang W., Liu W., Wang Q. *PLoS ONE*, 2013, vol. 8(10), e75459. DOI: 10.1371/journal.pone.0075459.
91. Yu H.S., Ma L.Q., Zhang J.X., Shi G.L., Hu Y.H., Wang Y.N. *Phytochemistry*, 2011, vol. 72(9), pp. 862–870. DOI: 10.1016/j.phytochem.2011.03.020.
92. Torrens-Spence M.P., Pluskal T., Li F.S., Carballo V., Weng J.K. *Molecular plant*, 2018, vol. 11(1), pp. 205–217. DOI: 10.1016/j.molp.2017.12.007.
93. Krajewska-Patan A., Gryszczyńska A., Mielcarek S., Furmanowa M., Buchwald W., Mikołajczak P.M., Czerny B., Mrozikiewicz P.M. *Postępy Fitoterapii*, 2013, vol. 1, pp. 22–27.

Received February 8, 2023

Revised March 7, 2023

Accepted March 15, 2023

For citing: Zhdanov D.A., Ryazanova T.K., Kurkin V.A., Kurkina A.V., Braslavsky V.B. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2023, no. 3, pp. 5–25. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.20230312550.

