

УДК 581.1

Инне Николаевне Кузовкиной посвящается

Scutellaria baicalensis GEORGI: ПРОЕКЦИЯ МЕТАБОЛОМА КОРНЯ В КУЛЬТУРЕ КОРНЕВЫХ ВОЛОСКОВ¹

© 2023 г. Ю. Н. Елькин^a, А. Ю. Маняхин^b, А. Ю. Степанова^c *

^aТихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток, Россия

^bФедеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Владивосток, Россия

^cИнститут физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия

*e-mail: step_ann@mail.ru

Поступила в редакцию 05.10.2023 г.

После доработки 15.10.2023 г.

Принята к публикации 15.10.2023 г.

Исследование посвящено сравнительной характеристике флавоноидов и фенилэтаноидов корня дикого растения шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis*) и культуры корневых волосков. Культура корневых волосков, полученная из семян дикого растения, демонстрирует практически идентичный с корнем набор метаболитов, при этом показывая различия в обильности метилированных и гликозилированных производных обоих классов соединений. Отмечено существенное накопление сахарозы корнями интактного растения. Метилированные флавоны, ответственные за защиту растения от биотических и абиотических стресс-факторов, более обильны в культуре корневых волосков. В обоих образцах впервые идентифицирован 7-сульфат 6-ОМе вогонин. Визуализация масс-спектрометрических данных метаболома посредством селективного ионного мониторинга показала себя как удобный инструмент обнаружения изменения метаболизма, вызванного факторами внешней среды или повреждением растения.

Ключевые слова: *Scutellaria baicalensis* Georgi, культура корневых волосков, метилированные флавоны, сравнительный метаболом, фенилэтаноиды

DOI: 10.31857/S0015330323601061, **EDN:** BDXCOI

ВВЕДЕНИЕ

Метаболиты растений являются инструментом коммуникации с окружающей средой и ее стресс-факторами. Одной из важнейших их функций вторичных метаболитов является взаимодействие с почвенным микробиомом, который прямо или косвенно, оказывает влияние на метаболизм растений, а также на сохранение корневых почек. Гены, участвующие в путях биосинтеза этих специализированных метаболитов, занимают значительное место в большом массиве генома *Scutellaria baicalensis* [1, 2]. Корни *Scutellaria baicalensis* известны тем, что они обогащены определенными 4'-дезоксифлавонами. Различные мо-

дификации, в основном, метилирование и гликозилирование молекул обоих классов полифенолов доводят число метаболитов до 130 [3]. Среди всех культур *in vitro*, а именно суспензий и каллусов, культура корневых волосков устойчиво синтезирует фенилэтаноиды (ФЭ), каффеоил рутинозид гидрокситиразола и ряд его производных. Культура корневых волосков продуцирует метаболиты в сопоставимых с корнем растения весовых отношениях [4]. Среди них флавоны с высоким терапевтическим потенциалом (вогонин 4, ороксилан А 5 и байкалеин 3), благодаря которым сохраняется интерес к корневым волоскам, как к промышленному биотехнологическому продукту этих трех флавонов.

Культура корневых волосков, полученная из семян дикого растения Забайкальского края России [5], продуцирует идентичную палитру из восьми метилированных флавонов (МФ), в которых кроме моно-метилированных флавонов 4 и 5, в сопоставимой доле синтезируются тетра- и пента-метилированные 8 и 9 [6]. Стоит отметить, что

¹ Дополнительная информация для этой статьи доступна по doi 10.31857/S0015330323601061 для авторизованных пользователей.

Сокращения: В₅ – среда по Гамборгу, ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография, ЖХ-МС анализ – жидкостная хроматография с тандемной масс-спектрометрией, МФ – метилированные флавоны, ФЭ – фенилэтаноиды.

в составе метаболома корня растения, культивируемого в Китае, из 132 веществ половина метилированы [3].

Масс-спектрометрический анализ сечения корня с применением лазерной абляции и ЖХ-МС экстрактов обнаружил локализацию МФ в коре [7, 8]. Этот факт стал толчком к изучению роли трех целевых флавонов 3, 4, 5 в физиологии самого растения [8]. Сходство состава МФ в корнях и волосках определяется единой природой происхождения в результате инфицирования проростков семян растения почвенным биомом и бактериальной культурой, соответственно [9]. Биосинтез и регуляция метаболитов корня частично расшифрованы [1, 10–13], однако, многие пробелы в знаниях еще предстоит заполнить. Образование специфических метаболитов в ответ на биоинвазию возникает вследствие вмешательства в важные клеточные механизмы и структуры растения. Безусловно, не может быть универсального набора веществ, учитывающего все типы вредителей и патогенов, эволюционируя, растение вырабатывает несколько типов метаболитов для борьбы с ними. Эти же вещества могут синтезироваться и культурой волосков, роль которых для противодействия биоинвазии еще предстоит установить [14]. Настоящее сообщение предлагает сравнительный анализ метаболитов дикого корня и его культуры корневых волосков в надежде, что новые знания приведут к большему пониманию механизмов защиты растения и его физиологии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Растительный материал и условия роста. В качестве объекта исследования использовали корневые волоски *S. baicalensis* из коллекции ИФР РАН [5]. Корневые волоски культивировали в жидкой питательной среде В₅ по Гамборгу [15] без гормонов по схеме, описанной ранее [16]. Такая схема подразумевает выращивание культуры в течение двух недель в колбах, объемом 100 мл с добавлением жидкой питательной среды – 40 мл, затем перенос их в колбы, объемом 300 мл с содержанием среды – 80 мл. Перекись водорода добавляли на 7 день культивирования, так как в течение этого времени происходила адаптация корней после перенесения на новую питательную среду. Корни дикорастущего растения *S. baicalensis* заготовлены в окрестностях пгт. Орловский Забайкальского края. Корни были высушены в тени.

Экстракция и подготовка проб к ЖХ-анализу. Отбор проб и экстракцию флавоноидов этанолом проводили по методу, описанному ранее [8]. Около 100 мг культуры корневых волосков и корней экстрагировали дважды этанолом 2 ч при 50°C. Объединенный экстракт центрифугировали 3 мин при 15 тыс. об/мин., супернатант отбирали для дальнейшего анализа методом ЖХ-МС (жидкост-

ная хроматография с тандемной масс-спектрометрией). Фильтрацию проб проводили через шприцевые PTFE фильтр-насадки (“Phenomenex”, США) размер пор 0.45 мкм, диаметр – 13 мм.

ЖХ-МС анализ был проведен в центре коллективного пользования “Биотехнология и генетическая инженерия” Федерального научного центра наземного биоразнообразия Восточной Азии ДВО РАН. Идентификацию и количественное определение всех компонентов проводили с использованием аналитической ВЭЖХ-МС/МС системы Infinity 1260 (Agilent Technologies, “Santa Clara”, CA, США), оснащенной фотодиодным матричным детектором G1315D, насосом G1311C, термостатом колонки G1316A и автосамплером G1329B. Хроматографическая система была сопряжена с масс-спектрометром с ионной ловушкой (Bruker HCT ultra PTM Discovery System, “Bruker Daltonik GmbH”, Бремен, Германия), оснащенным электроспреем ионизирующим источником (ESI). МС-анализы проводились в режиме регистрации отрицательных ионов. Использовались следующие параметры прибора: диапазон детектирования m/z составлял 100–760, расход осушающего газа (N₂) 10.0 л/мин, давление распыляемого газа (N₂) 241 кПа, потенциал источника ионов составлял 4.0 кВ, температура осушающего газа 365°C. Тандемные масс-спектры были получены в режиме Auto-MS2 (интеллектуальная фрагментация) с использованием увеличения энергии столкновения. Амплитуда фрагментации была установлена равной 1 В. Данные собирались с помощью программного обеспечения Bruker Daltonics Compass 1.3 esquire control (версия 6.2.581.3) и обрабатывались с помощью программного обеспечения для анализа данных Bruker Daltonics Compass 1.3 (версия 4.0.234.0).

Для разделения использовали аналитическую колонку (Zorbax C18, 150 мм, i.d 2.1 мм, 3.5 мкм part size, “Agilent Technologies”, США). Разделение проводили при следующих условиях: температура колонки составляла 40°C, подвижная фаза состояла из 0.1% водного раствора муравьиной кислоты (А) и ацетонитрила (В). Использовали следующий градиент элюирования со скоростью потока 0.2 мл/мин: 0 мин 20% В; 3 мин 20% В; 25 мин 80% В, 30 мин 100% В, а затем элюент В до 40 мин.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Представление ЖХ-МС данных

Методы тандемной масс-спектрометрии для изучения метаболома растений являются наиболее подходящими среди других методов, применяемых для анализа экстрактов, содержащих большое количество компонентов [17]. Такой подход не предусматривает обязательного опре-

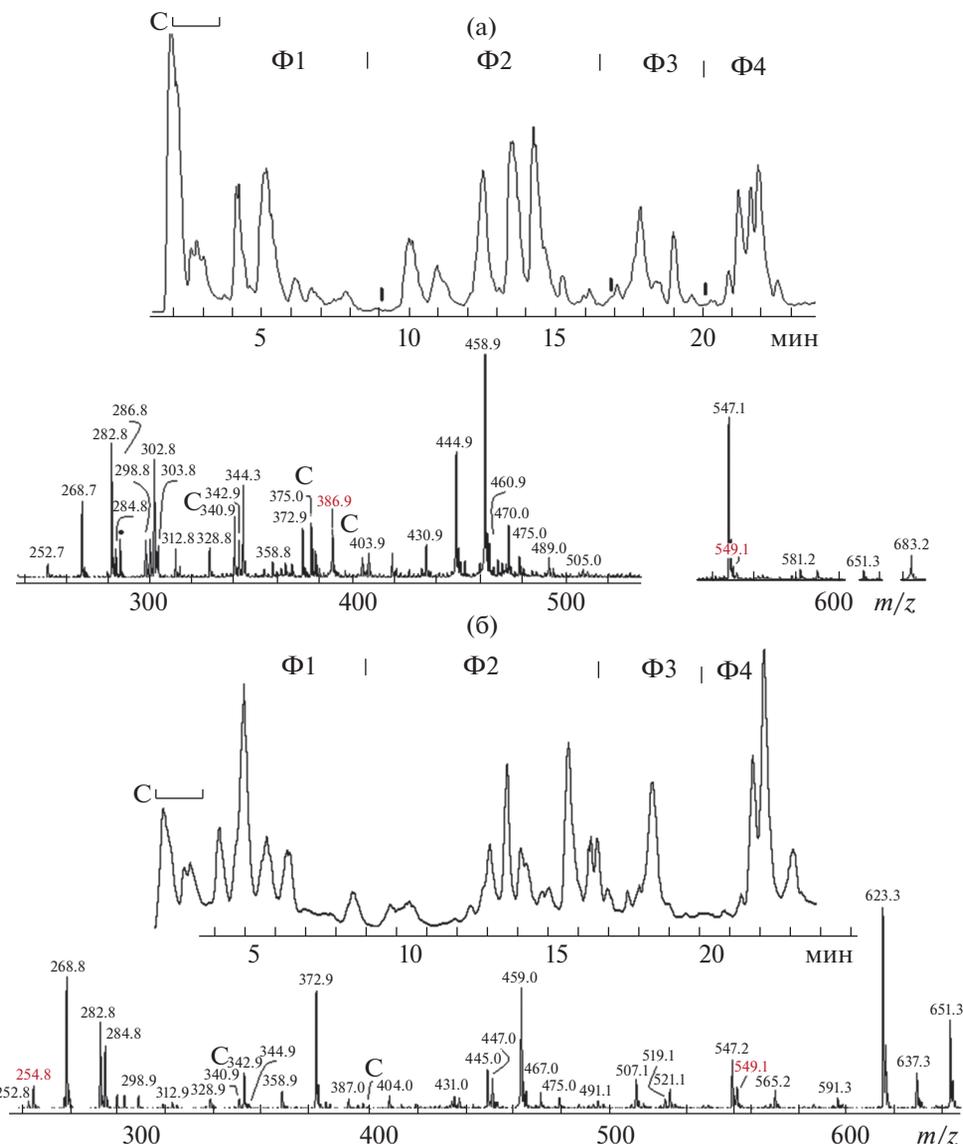


Рис. 1. Профиль хроматограммы полного ионного тока и полного масс-спектра экстрактов *S. baicalensis*. (а) – корень, (б) – культура корневых волосков. Ф1–Ф4 – условные фракции, отнесенные к углеводам, гликозидам фенолэтаноидов и флавоноидам, свободным флавоном и метилированным флавоном соответственно. С – сахара.

деления строения молекул веществ, извлеченных из растения. Получаемый методом ЖХ-МС набор данных (время удерживания, спектрофотометрические данные, масс-спектр ионов и продуктов их фрагментации) позволяют идентифицировать и определить вещества и их принадлежность в составе метаболома.

Тщательно установленный биохимический состав корней, культивируемого в Китае растения *Scutellaria baicalensis* [3], дал возможность определить и сравнить по ЖХ-МС данным состав веществ, принадлежащих к классам углеводов, фенолэтаноидов (ФЭ), флавоноидов, корневых волосков и корней дикого растения. В источнике ионов масс-спектрометра вещества этих классов трансформируются в алкоголят-, фенолят-, а

глюкуроны флавонов еще и в карбоксилат-анионы $[M-H]^-$. Таким образом, применение ЖХ-МС с электроспреей ионизацией в режиме регистрации отрицательных ионов позволяет оценить так же относительные содержания веществ, исключая углеводы, позволяя сопоставить соотношение флавонов и их гликозидов в волосках и корнях для понимания физиологии растения.

Вследствие различной полярности, метаболиты хроматографически разделяются на 4 условные фракции, представленные в виде полного ионного тока (ПИТ): углеводы (Ф1), гликозиды фенолэтаноидов и флавонов (Ф2), флавоны (Ф3) и метилированные флавоны (Ф4), представленные в виде полного ионного тока (ПИТ) (рис. 1). Класс и тип соединений был определен исходя из

интегральных масс-спектров (иМС) фракций, продуктов фрагментации анализируемых ионов и времени удерживания. Детальные данные представлены в оригинальной форме [8].

Полный масс-спектр (ПМС) элюированных метаболитов показывает относительное содержание флавоноидов и фенилэтаноидов. Сахароза, представляющая основное вещество первой фракции, отражается в ПИТ пиками алкоголят-аниона m/z 341, аддукт-ионами с хлором m/z 377/379, с муравьиной m/z 387 (корневые волоски) или искусственной кислотой 401 (корни) (рис. 1). Обилие сахарозы (ф1) и метилированных флавонов (ф4) сравнивать не совсем корректно из-за различия сечений ионизации этих классов веществ.

Профиль метилированных флавонов

Палитра метилированных флавонов – финальных компонентов пути биосинтеза в корневых волосках и корне *Scutellaria baicalensis*, идентична по качественному составу, но отличается количественным соотношением веществ [6] (рис. 2а, 2б). Заметное многообразие МФ корней связано с формированием коры. Примечательна обильность моно- и тетра-метилированных флавонов 4 и 8 в корне и культуре корневых волосков партии 1. Профили их ионных хроматограмм (ИХ) показывают высокую чувствительность культуры корневых волосков к изменениям условий среды. Так, отмечено, что соотношение МФ при пересевах культуры волосков меняется. Если насыщенность МФ корневых волосков партии 1 напоминает палитру корня, то МФ партии 2 сохраняются заметными только три-ОМе флавона 6 и 7 (m/z 343), в то время как превалируют флавоны 4 и 8 (рис. 2б, слева).

Оксидативный стресс, вызванный добавлением в среду 20 мкл 3% перекиси водорода, демонстрирует завидную устойчивость 8-О-метилтрансферазы и ее продукт – вогонина 4, партии 3 (рис. 2б, справа). Интересным представляется факт неперменной потребности культуры волосков в МФ флавонов 4 и 8. Насыщенная палитра МФ корня и обилие в нем финального пента-ОМе флавона 9 характеризует защитную функцию коры корня [8] (рис. 2б).

Свободные или гидроксильные флавоны

Биосинтез корнеспецифичных флавонов, начинающийся дегидрированием пиноцембрина 0 с превращением его в хризин 1, из которого в дальнейшем с помощью 6- и 8-гидроксилаз образуется байкалеин 3 и нор-вогонин 2, соответственно [1]. Однако все больше появляется данных, что данный путь не является исключительным. В корнях растений присутствуют и другие три-ОН-флавоны [3]. Так в корне интактного дикого

растения нами было обнаружено вещество н, отнесенное к флавону № 97, ранее найденного в корнях шлемника, выращенного на плантации в Китае [3]. Состав и обилие гидрокси-флавонов корней и культуры корневых волосков от монодо тетра- существенно отличаются (рис. 3). В корнях обнаружен известный набор свободных флавонов (1, 2, 3, к, н). Скутеляреин к, доля которого существенна в корне, ничтожна в корневых волосках 1, в которых обилие неизвестный тетра-ОН флавоны л. Примечательно, что корневые волоски содержат предшественник синтеза флавонов, пиноцембрин 0 и флавоны л, которые не найдены в корнях в сопоставимом количестве с байкалеином 3. Кроме того, культура корневых волосков не продуцирует скутеляреин к.

Гликозиды метилированных флавонов

Монометилированные флавоны 4 и 5 обильно гликозилируются глюкуронозилтрансферазой и накапливаются в сердцевине корня как гликозиды 4г и 5г [8] (рис. 4а). На порядок менее обильны в корне гликозид 6-ОМе вогонина 10 г. Еще менее обильны гликозиды (m/z 475) многочисленных монометилированных флавонов (m/z 299) продуктов последующего гликозилирования. Интересен результат гликозилирования в волосках партии 1: доминирующий гликозид вогонина 4г сопровождается заметными гликозидами три- и тетра-метилированных флавонов 6г, 7г и 8г (ионы m/z 519 и m/z 549, соответственно) (рис. 4б). Их относительная доля в волосках партии 2 заметно больше (рис. 4в). Интересно, что их доля еще более возрастает в волосках партии 3 под действием оксидативного стресса (рис. 4г).

Гликозиды свободных флавонов

Синтез флавонов в корне сопровождается их гликозилированием с наиболее обильной продукцией гликозидов байкалеина 3г и нор-вогонина 2г (рис. 4а). Тогда как и следов гликозида скутеляреина кг не обнаружено. В волосках партии 1 снижается синтез байкалеина 3г и особенно нор-вогонина 2г относительно предшественников 0 и 1. Вместе с гликозидом нг заметную долю в волосках составляет С-гликозид вогонина 4г. Поразительный синтез демонстрируют волоски партии 2 с обильным продуцированием гликозидов флавонона 0 и флавонов 1, 2, н, к (рис. 4в). Добавление же H_2O_2 к этим волоскам на стадии воспроизводства стимулировало только синтез гликозида кг (рис. 4г).

Сульфаты флавонов

Замещение гидроксильных групп флавонов на метильные и ацильные широко распространено

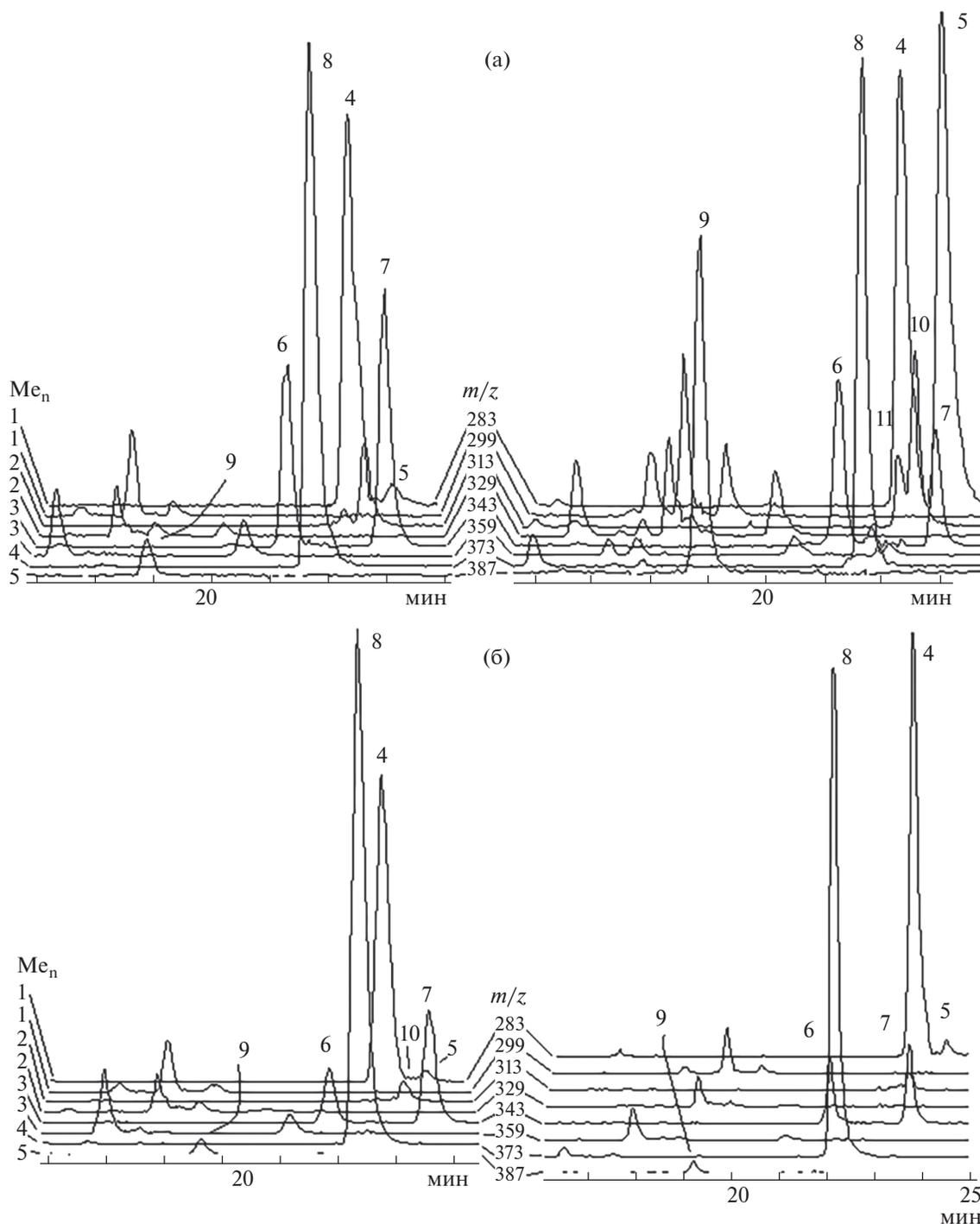


Рис. 2. 3D-ионные хроматограммы 8 наиболее обильных метилированных флавонов *S. baicalensis*: (а) – корень, (б) – культура корневых волосков. 4 – (2,7-ди-ОН-8-ОМе-флаво) вогонин, 5 – 2,7-ди-ОН-6-ОМе-флаво (ороксилин А), 6 – 5-ОН-7,8,6'-три-ОМе флаво, 7 – 5,2'-ди-ОН-6,7,8-три-ОМе флаво, 8 – 5,2'-ди-ОН-6,7,8,6'-тетра-ОМе флаво, 10 – 2,7-ди-ОН-6,8-ди-ОМе флаво (6-ОМе вогонин), 11 – 2,6-ди-ОН-7,8-ди-ОМе флаво.

среди растений, гораздо реже встречаются случаи сульфатирования, как правило по С7 атому [18]. В литературе не описаны случаи обнаружения сульфатов флавонов в *Scutellaria baicalensis*, однако анализ продукт-ионов диссоциации иона m/z 393 при Rt 15 мин в МС корней свидетель-

ствует об отщеплении фрагмент-иона массой 80 Да (рис. 3). В МС волосков партии 1 также обнаружен ион m/z 393. Он не был отобран в автоматическом режиме для МС2, но в режиме селективного мониторинга его продукт-ион m/z 313 был обнаружен. Обильность сульфатированного ди-ме-

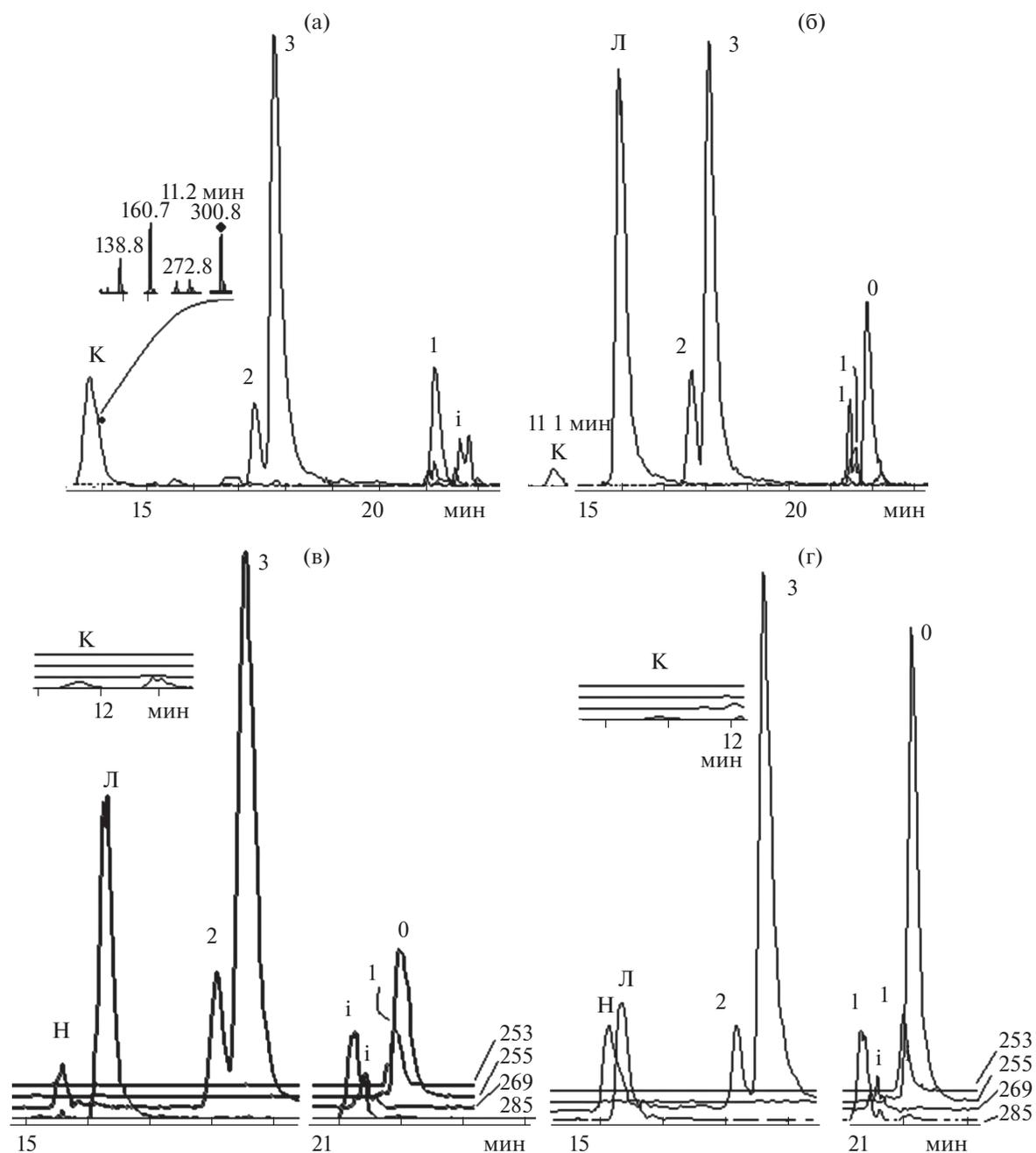


Рис. 3. Ионные хроматограммы свободных флавонов *S. baicalensis*: (а) – корня. Вставка: мс2 спектр предположительно не флавоноидной молекулы, (б) – 2D, (в, г) – 3D культуры корневых волосков партии 1, 2, 3, соответственно. 0 – пиноцембрин, 1 – хризин, 2 – нор-вогонин, 3 – байкалеин, н – три-ОН-флаван, л – тетра-ОН-флаван, к – 5,6,7,4'-тетра-ОН-флаван (скутелареин), I – ¹³C-изотопные ионы обильных флавонов 4 и 5.

токсифлавона 10s даже больше, чем для самого его предшественника 10. Точное измерение иона m/z 393 дает значение для ³²S 393.0258 (расчет 393.0286).

Кофеноил рутинозиды гидрокситиразола

Фенилэтаноиды широко распространены в растениях, особенно используемых в качестве ле-

карственных [19]. В волосках и корнях *Scutellaria baicalensis* ФЭ в разной степени метилированы одной и двумя группами. В результате эти производные обуславливают три серии ионов m/z 623, 637 и 651, соответственно (рис. 5). В корнях, точнее в камбии, доминируют метилированные (рис. 5а, 5г). В культуре корневых волосков сопоставимая часть ФЭ m/z 623 остается не метилиро-

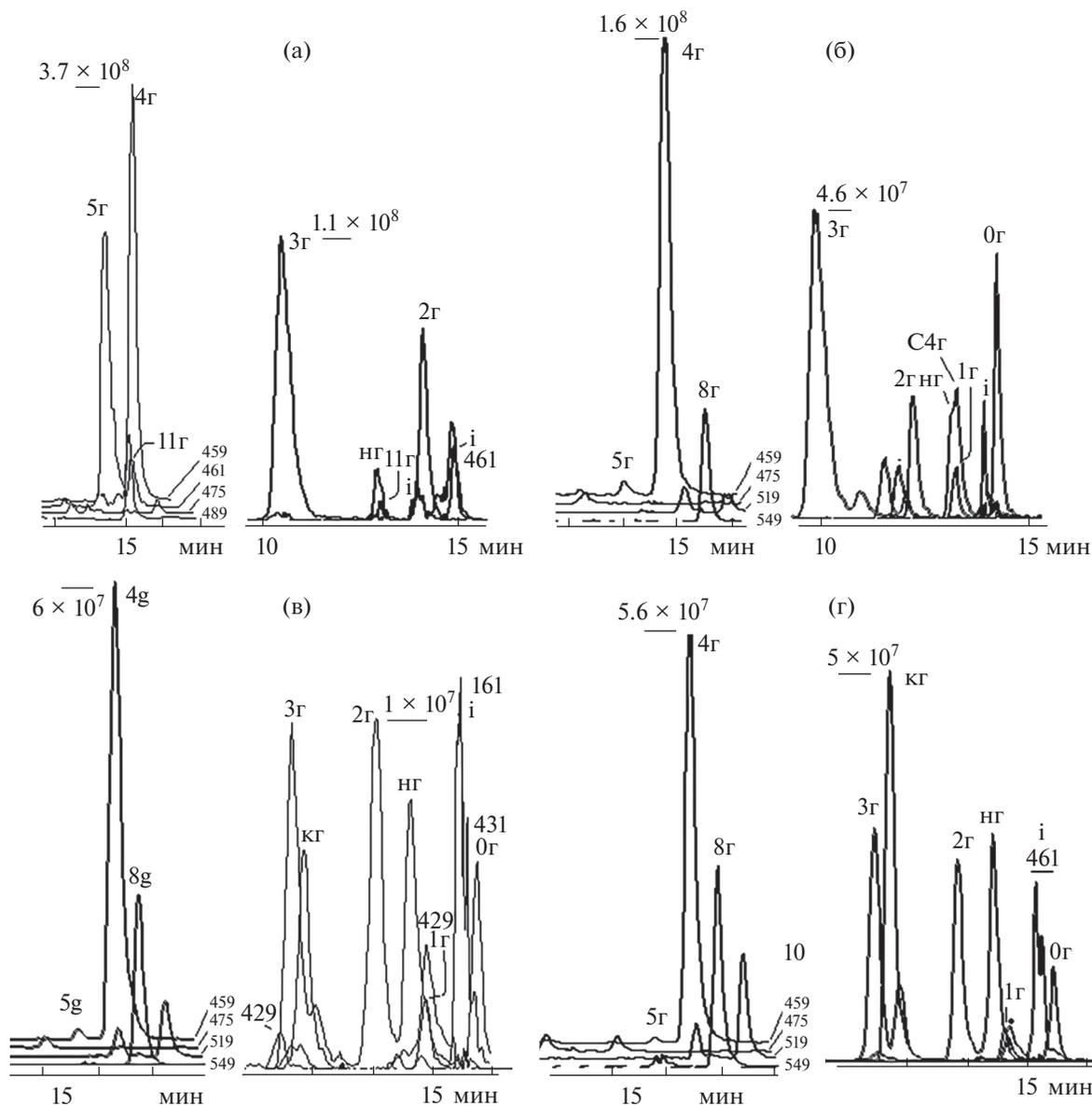


Рис. 4. 3D-ионные хроматограммы гликозидов (индекс г) метилированных и 2D на вставках свободных флавонов *S. baicalensis*: (а) – корня, (б, в, г) – культуры корневых волосков партий 1, 2, 3, соответственно. 0 – пиноцембрин, 1 – хризин, 2 – нор-вогонин, 3 – байкалеин, н – три-ОН-флавоны, л – тетра-ОН-флавоны, к – 5,6,7,4'-тетра-ОН-флавоны (скутеллареин), I – ^{13}C -изотопные ионы обильных флавонов.

ванной (рис. 5б). При окислительном стрессе волоски расходуют значительную часть ФЭ не защищенных метильной группой (рис. 5в).

ОБСУЖДЕНИЕ

Приоритет синтеза и назначение метилированных флавонов в корнях растения ранее продемонстрированы на примере идентичности наиболее обильных компонентов [6]. Однако еще один обильно метилированный 5,7-ди-ОН-ди-6,8-ОМЕ флавоны (m/z 345) не упоминался в роли компонента, участвующего в обеспечении безопасности корня растения (рис 1а). Его содержание в

культуре корневых волосков крайне незначительно, поскольку он не является предшественником синтеза пентаметилированного флавоны 9. В корнях *Scutellaria baicalensis*, выращенного в Китае, он также не был обнаружен. Действительно, в промышленной практике выращивания растения на юге Приморского края, корни культурных растений не имели ярко выраженной одревесневшей коры. Этот МФ является продуктом третьего эшелона гидросилирования, который корневые волоски не синтезируют. Обильные флавоны б и 7, m/z 343, также могут быть предшественниками этого пента-метилированного флавоны 9. Корневые волоски ограничиваются тетра-метилиро-

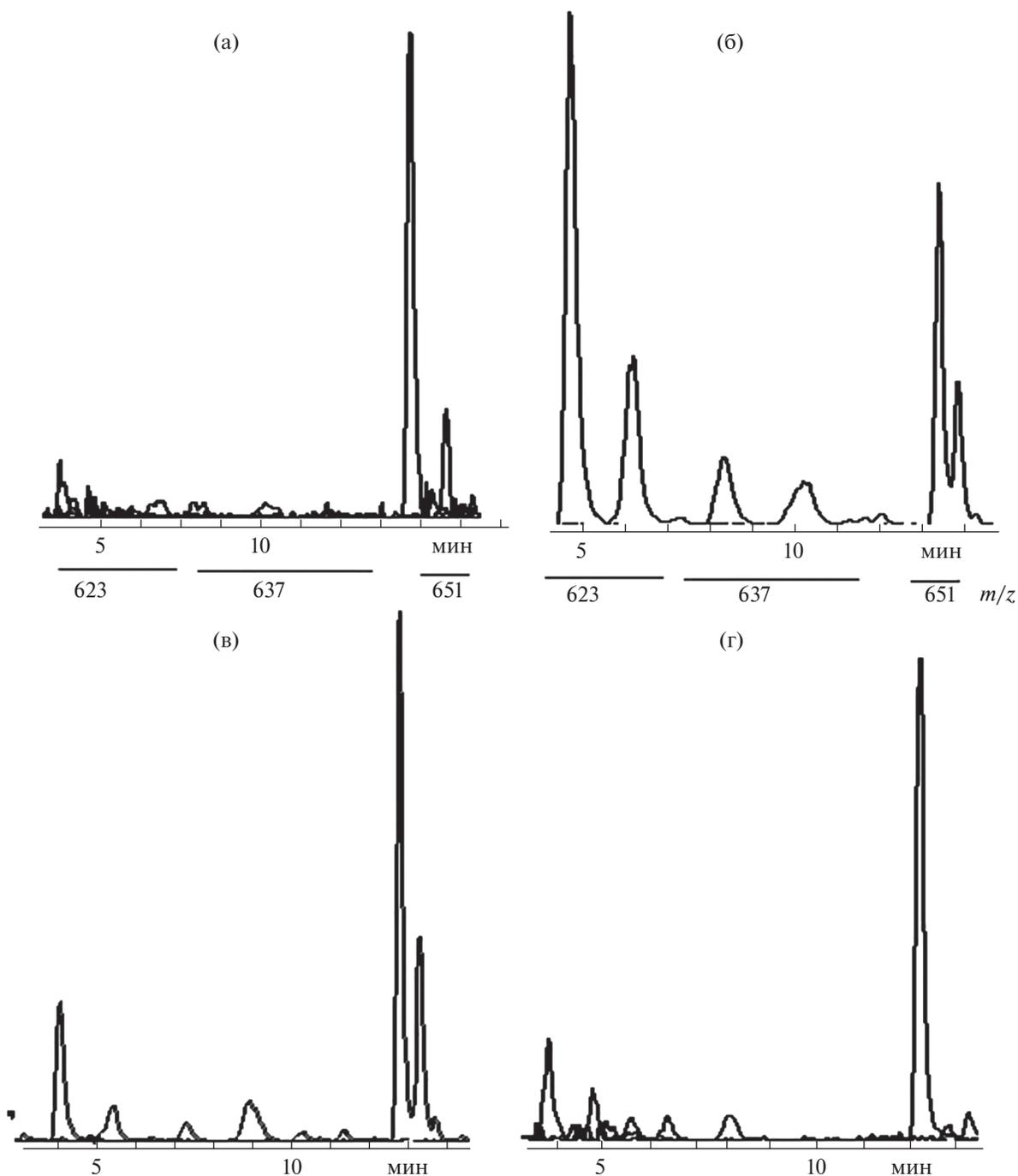


Рис. 5. 2D-ионные хроматограммы фенолэтанойдов (ионы m/z 623, 637, 651) *S. baicalensis*: (а) – корня, (б, в) – культуры корневых волосков партий 1 и 2; (г) – камбий корня.

ванном флавоном 8 (рис. 1б), при этом, в отличие от корней, они продуцируют гликозиды 6г, 7г и 8г (рис. 4а, 4в, 4г). Корни создают принципиальный запас гликозидов вогонина 4г и ороксилена 5г в сердцевине [8]. Следуя необходимости сохранения целостности тела корня, создается так же огромный запас байкалина 3г. Культура корневых волосков более обильно продуцирует фенолэтанойд, ион m/z 623, носителя двух катехол групп, для не-

отложной защиты от биоинвазии. Однако остается непонятным почему в культуре корневых волосков и в корнях они заметно метилированы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные в предложенном формате ЖХ-МС данные о содержании веществ в культуре волосков и корнях растения показали практически

полную идентичность метаболитов. Наиболее наглядной оказалась потребность синтезировать метилированные флавоны двух типов: моно- и полиметилированные. Результат проекции метаболома культуры корневых волосков на метаболом корня показал, что одни и те же молекулы флавоноидов и фенилэтаноидов синтезируются корневыми волосками почти в полном составе, демонстрируя упорный консерватизм генома в синтезе химической защиты независимо от природы аггессора.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Статья не содержит исследований с участием людей и животных в качестве объектов.

Авторы выражают глубокую признательность проф. А. М. Носову за предложение сравнить метаболомные профили культуры волосков и корня растения.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (№ 121031000120-9, № 121050500047-5).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Cui M.Y., Lu A.R., Li J.X., Liu J., Fang Y.M., Pei T.L., Zhong X., Wei Y.-K., Kong Y., Wen-Qing Q., Hu Y.-H., Yang J., Chen X.-Y., Martin C., Zhao Q. Two types of O-methyltransferase are involved in biosynthesis of anticancer methoxylated 4'-deoxyflavones in *Scutellaria baicalensis* Georgi. // Plant Biotech. J. 2022. V. 20. P. 129. <https://doi.org/10.1111/PBI.13700>
- Fang Y., Liu J., Zheng M., Zhu S., Pei T., Cui M., Chang L., Xiao H., Yang J., Martin C., Zhao Q. SbMYB3 transcription factor promotes root-specific flavone biosynthesis in *Scutellaria baicalensis* // Horticulture Res. 2023. V. 10. uhac266. <https://doi.org/10.1093/hr/uhac266>
- Qiao X., Li R., Song W., Miao W.-J., Liu J., Chen H.-B., Guo D.-A., Ye M. A targeted strategy to analyze untargeted mass spectral data: Rapid chemical profiling of *Scutellaria baicalensis* using ultra-high performance liquid chromatography coupled with hybrid quadrupole orbitrap mass spectrometry and key ion filtering // J. Chromatog. A. 2016. V. 1441. P. 83. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.02.079>
- Stojakowska A., Malarz J. Flavonoid production in transformed root cultures of *Scutellaria baicalensis* // J. Plant Physiol. 2000. V. 156. P. 121. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(00\)80282-5](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(00)80282-5)
- Kuzovkina I.N., Guseva A.V., Alterman I.E., Karnachuk R.A. Flavonoid production in transformed *Scutellaria baicalensis* roots and ways of its regulation // Russ. J. Plant Physiol. 2001. V. 48. P. 448. <https://doi.org/10.1023/A:1016739010716>
- Elkin Y.N., Kulesh N.I., Stepanova A.Y., Solovieva A.I., Kargin V.M., Manyakhin A.Y. Methylated flavones of the hairy root culture *Scutellaria baicalensis* // J. Plant Physiol. 2018. V. 231. P. 277. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2018.10.009>
- Sun C., Zhang M., Dong H., Liu W., Guo L., Wang X. A spatially-resolved approach to visualize the distribution and biosynthesis of flavones in *Scutellaria baicalensis* Georgi // J. Pharmac. Biomed. Anal. 2020. V. 179. P. 113014. <https://doi.org/10.1016/J.JPBA.2019.113014>
- Elkin Y.N., Kulesh N.I., Shishmarev V.M., Kargin V.M., Manyakhin A.Y. *Scutellaria baicalensis*: the end of flavone biosynthesis pathway // Acta Biol. Cracoviensia Series Bot. 2022. V. 64. P. 39. <https://doi.org/10.24425/abcsb.2021.136704>
- Gutierrez-Valdes N., Häkkinen S.T., Lemasson C., Guillet M., Oksman-Caldentey K.M., Ritala A., Cardon F. Hairy root cultures – a versatile tool with multiple applications. // Front. Plant Sci. 2020. V. 11. P. 33. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2020.00033/BIBTEX>
- Zhao Q., Zhang Y., Wang G., Hill L., Weng J.K., Chen X.-Y., Xue H., Martin C. A specialized flavone biosynthetic pathway has evolved in the medicinal plant *Scutellaria baicalensis* // Sci. Adv. 2016. V. 2. e1501780. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1501780>
- Zhao Q., Cui M.Y., Levsh O., Yang D., Liu J., Li J., Hill L., Yang L., Hu Y., Weng Y.-K., Cheng X.-Y., Martin C. Two CYP82D enzymes function as flavone hydroxylases in the biosynthesis of root-specific 4'-deoxyflavones in *Scutellaria baicalensis* // Molec. Plant. 2018. V. 11. P. 135. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2017.08.009>
- Zhao Q., Yang J., Cui M.Y., Liu J., Fang Y., Yan M., Qiu W., Shang H., Xu Z., Yidiresi R., Weng J.K., Pluskal T., Vigouroux M., Steuernagel B., Wei Y. et al. The reference genome sequence of *Scutellaria baicalensis* provides insights into the evolution of wogonin biosynthesis // Molec. Plant. 2019. V. 12. P. 935. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2019.04.002>
- Zhao Q., Chen X.Y., Martin C. *Scutellaria baicalensis*, the golden herb from the garden of Chinese medicinal plants // Sci. Bull. 2016. V. 61. P. 1391. <https://doi.org/10.1007/S11434-016-1136-5>
- Ramaroson M.L., Koutouan C., Helesbeux J.J., Le Clerc V., Hamama L., Geoffriau E., Briard M. Role of phenylpropanoids and flavonoids in plant resistance to pests and diseases // Molec. 2022. V. 27. P. 8371. <https://doi.org/10.3390/molecules27238371>
- Gamborg O.L., Miller R.A., Ojima K. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells // Exp. Cell Res. 1968. V. 50. P. 151. [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(68\)90403-5](https://doi.org/10.1016/0014-4827(68)90403-5)
- Solov'eva A.I., Evsyukov S.V., Sidorov R.A., Stepanova A.Y. Correlation of endogenous β -glucuronidase activity with differentiation of in vitro cultures of *Scutellaria baicalensis* // Acta Physiol. Plant. 2020. V. 42. P. 1. <https://doi.org/10.1007/s11738-020-03159-0>
- Hu L., Liu J., Zhang W., Wang T., Zhang N., Lee Y.H., Lu H. Functional metabolomics decipher biochemical functional and associated mechanisms underlie small-molecule metabolism // Mass Spectr. Rev. 2020. V. 39. P. 417. <https://doi.org/10.1002/MAS.21611>
- Teles Y.C.F., Souza M.S.R., De Souza M. de F.V. Sulfated flavonoids: biosynthesis, structures, and biological activities // Molec. 2018. V. 23. P. 480. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES23020480>
- Yang Y., Xi D., Wu Y., Liu T. Complete biosynthesis of the phenylethanoid glycoside verbascoside // Plant Commun. 2023. V. 4. P. 100592. <https://doi.org/10.1016/J.XPLC.2023.100592>