

УДК 577.1: 615.32

## ФЕНОЛЬНЫЙ СЕГМЕНТ МЕТАБОЛОМА КОРНЯ *SCUTELLARIA LATERIFLORA*<sup>1</sup>

© 2025 г. Ю. Н. Елькин\*, А. Ю. Маняхин\*\*, \*\*\*, \*\*\*, @

\*Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН,  
пр. 100-летия Владивостока, 159, Владивосток, 690022 Россия

\*\*Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН,  
пр. 100-летия Владивостока, 159/1, Владивосток, 690022 Россия

\*\*\*Владивостокский государственный университет, ул. Гоголя, 41, Владивосток, 690014 Россия

\*\*\*Ningbo Excure Pharm Inc., Xizishan Rd, 172, Chunxiao, Beilun, Ningbo, 315830 China  
@E-mail: mau84@mail.ru

Поступила в редакцию 22.02.2024 г.

После доработки 25.04.2024 г.

Принята к публикации 25.04.2024 г.

В статье представлены результаты изучения метаболитов корней и корневых волосков *S. lateriflora* методом жидкостной хромато-масс-спектрометрии. Установлено, что основная доля полифенольных метаболитов корней и корневых волосков приходится на фенолэтаноиды и флавоноиды, содержащие до двух и до четырех метоксильных групп соответственно. Среди флавоноидов вогонин, 6-ОМ вогонин и их гликозиды наиболее обильны в корнях растения. Фенолэтаноиды представлены серией кофеил-рутинозидов дигидротирозола, с паритетным флавоноидом содержанием. Кроме полифенолов, в корневой системе обнаружено значительное содержание сахарозы.

**Ключевые слова:** *Scutellaria lateriflora*, корни, корневые волоски, углеводы, флавоноиды, метилирование, гликозилирование, ЖХ-МС/МС

**DOI:** 10.31857/S1026347025010033

Растения рода *Scutellaria* известны благодаря своим флавоноидам, использующимся для лечения различных заболеваний. *S. lateriflora* многолетнее травянистое растение этого рода, широко распространено на водно-болотных угодьях Северной Америки и Канады (Sherman, Nirmal, 2022). Генетический и филогенетический анализ 28 видов широко применяемых лекарственных растений подтвердил близкое родство *S. lateriflora* и *S. baicalensis* (Chen, 2019). Лечебные свойства корней *S. baicalensis*, включенного на территории России во многие региональные Красные книги, приписывают уникальным 4'-дезоксифлавонам, у молекул которых отсутствует гидроксильная группа при С4' атоме В-кольца: байкалеин (3), вогонин (4), ороксилан А (5) (Zhao et al., 2016). Эти флавоны обладают противовоспалительным свойством, а также *in vivo* ингибируют в различных моделях опухоли у мышей.

Надземная часть *S. lateriflora*, содержащая все три вышеупомянутые флавоны (Islam et al., 2011; Li et al., 2012; Costine et al., 2022), применялась

американскими индейцами для лечения различных нервных расстройств, в качестве седативного и анксиолитического средства. В настоящее время трава *S. lateriflora* также пользуется спросом на рынке лекарственных растений североамериканского континента. Среди нервных нарушений, выявляемых в современном обществе, тревожность – наиболее распространенное и потенциально серьезное расстройство, поскольку она может привести к соматической и социальной дисфункции. По этой причине расширение спектра применяемых препаратов на основе растительного сырья представляется актуальной задачей, что, в свою очередь, требует изучения его фитохимического состава, закономерностей синтеза, взаимопревращений веществ и факторов, их определяющих (метаболомика).

Биосинтез флавонов имеет специфические пути. Основной биосинтез, начинающийся от пиноцембрина (0), осуществляется ферментом FNSII с превращением его в хризин (1) (5,7-ди-ОН-флавоны) и последующим окислением гидроксилазами колец А и В молекулы (Zhao et al., 2016, 2018 Cui

<sup>1</sup>Дополнительные материалы размещены в электронном виде по DOI статьи: DOI: 10.31857/S1026347025010033

et al., 2021). В случае отсутствия фермента пиноцембрин (0) дает начало пути биосинтеза флавононов (Pei et al., 2022). Биосинтез 4'-гидроксифлавонов, продуктов последующего гидроксилирования в кольце В, таких как скутеллареин (5,6,7,4'-тетра-ОН флавоон) и апигенин (5,7,4'-три-ОН флавоон) в корнях (Costine et al., 2022) и в надземных органах *S. lateriflora* (Zhang et al., 2009; Islam et al., 2011; Li et al., 2012), оказался менее продуктивен, чем целевых флавонов. Таким образом, надземная часть *Scutellaria lateriflora* и корни *Scutellaria baicalensis* продуцируют одни и те же 4'-дезоксифлавоны (байкалеин и вогонин), обладающие выраженной биологической активностью и широко применяющиеся в медицинской практике. Вместе с тем препараты из указанных частей растений имеют несколько различающиеся терапевтические эффекты, что указывает на наличие других метаболитов или большее содержание известных флавонов.

Следует отметить, что лечебные свойства корней *S. baicalensis* в значительной степени связывают с метилированными 4'-дезоксифлавонами (Tsai et al., 2016; Zhao et al., 2016; Pei et al., 2022), синтезируемыми и культурой корневых волосков (Elkin et al., 2018), в то время как ни в надземной части *S. lateriflora*, ни в культуре его корневых волосков значимых количеств метилированных флавонов, за исключением вогонина, не обнаружено (Wilczańska–Barska et al., 2012; Kim et al., 2014; Stepanova et al., 2021). Состав метаболитов *S. baicalensis* к настоящему времени изучен достаточно подробно, в то время сведения

о *S. lateriflora* освещены весьма скудно. Из этого проистекает цель исследования: определить фенольный сегмент метаболома корней *S. lateriflora*, чей профиль в значительной мере может проявляться в метаболоме надземной части растения.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Растения *S. lateriflora* были получены и успешно интродуцированы из семян (Prairie moon, США) в условиях южного Приморья, урочище Тигровое, Надеждинский район (43.390844, 132.006575). Vegetация растения проходила в естественных климатических условиях, без внесения дополнительных питательных веществ. Корни извлекали в конце октября, очищали от остатков почвы и сушили воздушно-теньевым методом. Для дальнейшей экстракции отбирались светлые корни и корневые волоски (рис. 1). Около 100 мг измельченного материала экстрагировали дважды 2 мл 96% этанола в течение 2 ч при 50°C. Объединенный экстракт центрифугировали 3 мин при 15000 об/м, фильтровали через шприцевые PTFE фильтры (Phenomenex, размер пор 0.45 мкм, диаметр 13 мм) и анализировали методом ЖХ-МС.

ЖХ-МС-анализы экстрактов корней и корневых волосков *S. lateriflora* были проведены в центре коллективного пользования "Биотехнология и генетическая инженерия" Федерального научного центра биоразнообразия наземной биоты



Рис. 1. Корни *S. Lateriflora*: 1 — белые корни; 2 — корневые волоски; 3 — темные корни. Фото — Елькин Ю.Н.

Восточной Азии ДВО РАН. Идентификацию всех компонентов проводили с использованием аналитической ВЭЖХ системы Infinity 1260 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA), 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, Bremen, Germany), оснащенным электроспрейионизирующим источником (ESI). МС-анализы проводились в режиме регистрации отрицательных ионов. Использовались следующие параметры прибора: диапазон детектирования  $m/z$  составлял 100–1200, расход осушающего газа ( $N_2$ ) – 10.0 л/мин, давление распыляемого газа ( $N_2$ ) – 241 кПа, потенциал источника ионов – 4.0 кВ, температура осушающего газа – 365°C. Tandemные 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 mm, i.d 2.1 mm, 3.5  $\mu$ m part size, Agilent Technologies, USA). 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, длина волны 275 нм. Все растворители были взяты для высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Состав фенольных соединений экстракта корней в первом приближении характеризует сопоставление ВЭЖХ-УФ-профилей и полного ионного тока (рис. 2а, б). Профиль полного ионного тока (ПИТ) демонстрирует более многочисленный состав веществ, чем УФ-профиль.

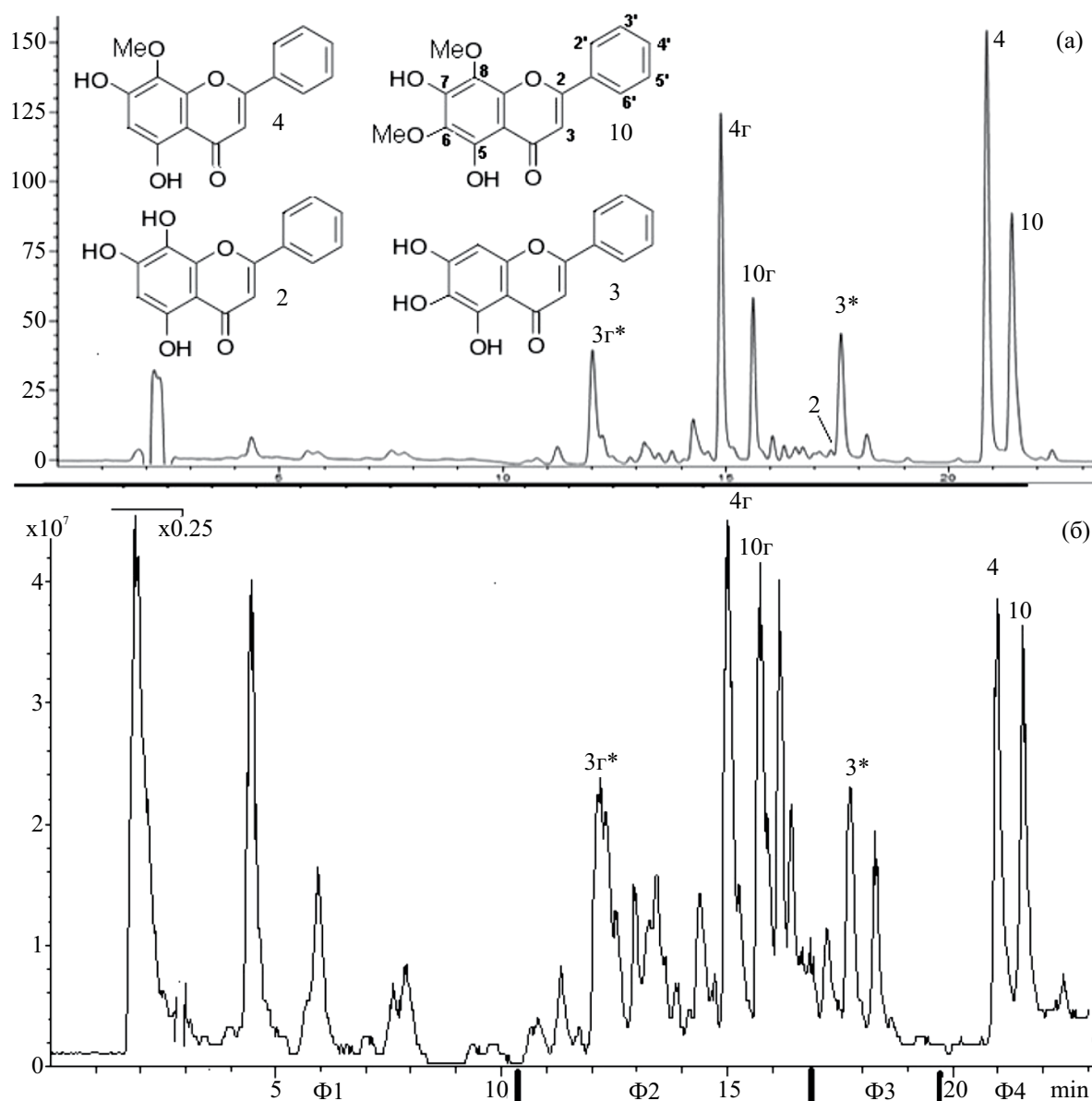
Результаты указывают на обилие углеводов и значимую долю гликозидов метилированных флавонов (МФ) в экстракте корня растения. Действительно, в корнях родственного *S. baicalensis* на долю метилированных флавонов приходится примерно половина от выявленных метаболитов (Qiao et al., 2016). МС-мониторинг в режиме отрицательных ионов позволил зарегистрировать

одновременно несколько соединений, отличающихся полярностью: углеводы, свободные и метилированные флавоны с их гликозидами. Профиль ПИТ условно разделен на 4 фракции в соответствии с последовательностью элюирования, отражающей полярность веществ. Для определения их природы использованы селективный ионный мониторинг (СИМ) и диссоциация ионов, вызванная столкновением (МС2). На каждом цикле сканирования программа отбирает два наиболее обильных иона для сбора МС2-спектра (Qiao et al., 2016). Этот подход побудил представить результаты измерений в форме дерева, где спектры МС2 подобны “листьям” на фракциях-“ветках” ионных хроматограмм (Приложение С1–С4). Такая визуализация позволяет оценить содержание метаболитов, поскольку связь интенсивности сигнала фенолят-ионов  $[M-H]^-$  с числом фенольных ОН групп не найдена (Modelli, Pshenichnyuk, 2013; Xia, Attygalle, 2016). Обнаруженные метаболиты также представлены в более классической форме в табл. 1.

Биосинтез флавонов в корнях *S. baicalensis*, близкородственного *S. lateriflora*, завершается значительным накоплением О-метилированных производных, а также их разнообразием вследствие последующего гликозилирования (Qiao et al., 2016). Гликозилирование МФ модифицирует их, предположительно, для доставки и использования в надземных органах в период вегетации. Таким образом, метилирование – конечный результат пути биосинтеза флавонов *S. baicalensis* (Elkin et al., 2022). По этой причине анализ состава метаболитов корней *S. lateriflora* был начат с неполярной фракции Ф4. Исходя из опыта исследований корней *S. baicalensis*, МФ (от моно- до пента-метилированных) в основном элюируются в промежутке 20–22 мин (Elkin et al., 2018, 2022).

### Метилированные флавоны

Анализ ЖХ-МС-данных веществ, экстрагированных из корней *S. Lateriflora*, выявил десять мажорных МФ, дающих характерную картину фрагментации с отщеплением метильной группы и формированием нечетного электронного иона. Ионные хроматограммы (ИХ) МФ отображены в порядке, обратном увеличению числа метильных групп на углеродном остоле молекул флавонов и значений величин  $m/z$  их анионов  $[M-H]^-$  (рис. 3а). Среди десяти МФ превалирует содержание пяти: вогонин (4,  $m/z$  283  $[M-H]^-$ ), 6-ОМевогонин (10,  $m/z$  313  $[M-H]^-$ ), предположительно 6-ОН-вогонин (6,  $m/z$  299  $[M-H]^-$ ), предшественник флавона (10). Пик 1М фенолят-иона  $[M-H]^-$   $m/z$  267 при 16.9 мин обусловлен 7-метоксихризидом, известным как тектохризид (Wang et al., 2018). Аддукт гликозида с Na  $m/z$  475 при 7.7 мин также остается заметным в ПИТ продуктов биосинтеза флавонов



**Рис. 2.** УФ-хроматограмма (а) и полный ионный ток (б) экстракта корней *S. lateriflora*. Аннотация фракций: Ф1 – углеводы и фенолэтаноиды; Ф2 – гликозиды флавонов; Ф3 – флавоны; Ф4 – метилированные флавоны. 3\* – байкалеин; 4 – вогонин, 10 – 6-ОМе вогонин и их глюкурониды 3g\*, 4g, 10g, соответственно.

(Приложение С4). Ион (сс)  $m/z$  301 мог бы представлять 5,7,4'-три-гидрокси-6-метоксифлавонон (Takagi et al., 1980), но в корнях *S. lateriflora* найдены только признаки флавононов. Этот путь реализован в корнях плантационного *S. baicalensis* и проявляется семью ионами  $m/z$  477, глюкуронидов изомеров три-ОН-флавононов (Wang et al., 2018). Однако время удерживания (18.3 мин) для соединения (сс) показывает, что это вещество, с молекулярной массой 302, ближе к неполярным МФ 4 и 10. Его ЖХ-УФ-пик в разы меньше соседнего пика байкалеина (3), тогда как в профиле ПИТ они сопоставимы (рис. 2),

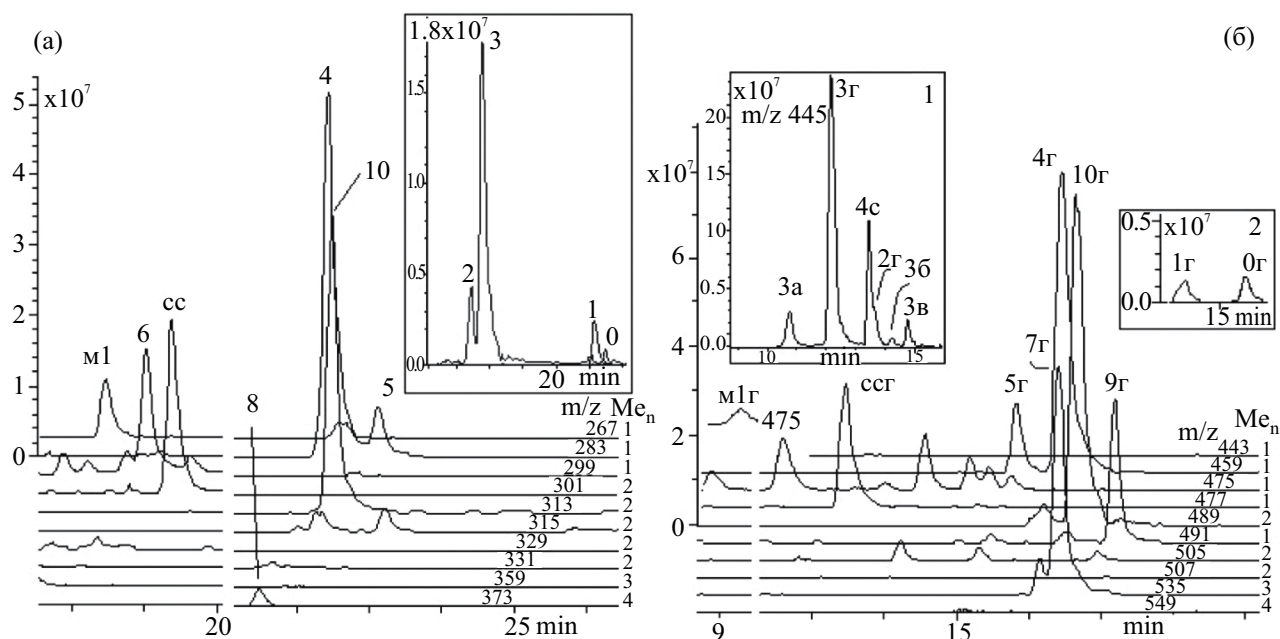
что указывает на его неароматическую природу. Результат фрагментации иона  $m/z$  301 также указывает на соединение иной природы, низкая интенсивность деметилированного фрагмент-иона и высокие значения  $m/z$  154 (Приложение С3). Можно предположить, что это C15 сесквитерпен с ОМе- и ОН-группами, поскольку в корне есть его глюкуронид  $m/z$  477 при 12.4 мин, а C15-терпены были найдены также и в корнях *S. baicalensis* (Wang et al., 2018).

Преобладание в корнях *S. lateriflora* 6-ОМе вогонина (10) среди МФ можно считать видоспецифическим признаком. Этот флавонон также

**Таблица 1.** ЖХ-МС-характеристика обнаруженных метаболитов корня *Scutellaria lateriflora*

Метаболит	Молекулярный вес (г/моль)	Время удерживания (мин)	[M-H] <sup>-</sup>	(-) ESI-MS/MS (m/z)
Метилированные флавоны				
7-метоксихризин (тектохризин) (1М)	268	16.9	267	252 224 168
Вогонин (4)	284	21	283	268 239 138
Ороксиллин А (5)	284	21.5	283	268 239 151 137
6-ОН-вогонин (6)*	300	17.8	299	284 240 165 137
C15 сесквитерпен с ОМе (сс)*	302	18.3	301	286 155 140
6-ОМе вогонин (10)	314	21.6	313	298 281 240 138
предшественники флавонов 4 и 10	316	22.5	315	300 272 241 179
5.7.2'(6')-три-ОН-6.8.6'(2')-три-ОМе-флавоны*	360	17.3	359	344 329 267 183
5-ОН-6.7.8.6'-тетра-ОМе (8)	374	21.5	373	358 343 314 267 195
Гликозиды метилированных флавонов				
Гликозид вогонина (4г)	460	14.5	459	283 268 175
Гликозид ороксиллина А (5г)	460	15.1	459	283 268 175
Глюкуронид сесквитерпена (ссг)	478	12.4	477	367 331 301 286 175 155 140
Гликозид 6-ОМе вогонина (10г)	490	15.8	489	313 298 175
Гликозид три-ОН-моно-ОМе-флавоны (9г)	492	16.5	491	315 300 175
Гликозид диметилфлавоны	506	13.7	505	329 314 175
		14.8	505	329 314 290 175
Глюкуронид три-ОН-три-ОМе-флавоны (7г)	536	16.3	535	359 344 329 175
Свободные флавоны и их гликозиды				
Хризин (1)	254	21.2	253	225 210 194 183 165
Байкалеин (3)	270	17.8	269	251 241 223 195 169
Нор-вогонин (2)	270	17.4	269	241 223
Байкалин (3г)	446	12.2	445	269 175
Гликозиды три-ОН-флавонов (3а, 3б, 3в)	446	10.8	445	399 285 269 175
		14.2	445	283 269
		14.8	445	269 175
С-глюкуронид вогонина (4с)	446	13.5	445	430 326 283 268
Глюкуронид нор-вогонина (2г)	446	13.7	445	430 379 283 269
Углеводы и фенолэтаноиды				
Сахароза	342	1.9	341	179
Исходные фенолэтаноиды	624	4.5	623	461 315
		6.1	623	461 415 315
Монометилированные фенолэтаноиды	638	8.0	637	593 491 461
		9.9	637	622 491 461 315
Диметилированные фенолэтаноиды	652	13.0	651	608 505 475 458 329 284 265 193
		13.5	651	529 505 475 457 443 421 193
Гликозилированные фенолэтаноиды	784	12.3	783	651 607 505 475
		12.7	783	651 607 589 505 475

Примечание. \* – вещество определено предположительно. Определение веществ проводилось в соответствии с работой Qiao et al., 2016.



**Рис. 3.** Ионные хроматограммы 10 мажорных метилированных флавонов (а) и их глюкуронидов (б) в корнях *S. lateriflora*: (а) 1М – 7-ОМe хризин (тектохризин), 4 – вогонин, 5 – ороксиллин А, 6 – 6-ОН вогонин, cc – терпен, 10 – 6-ОМe вогонин, 8 – 5-ОН-6,7,8,6'-тетра-ОМe флаво. Свободные флавоны: 0 – пиноцембрин, 1 – хризин, 2 – нор-вогонин, 3 – байкалеин; (б) 7г – три-ОН-три-ОМe флаво, 9г – три-ОН-моно-ОМe флаво. Вставка 1: глюкурониды свободных флавонов: 2г – нор-вогонина, 3г – байкалеина, 3а, 3б, 3в – три-ОН флавонов, 4с – С-глюкуронид вогонина. Вставка 2: глюкурониды: 0г – пиноцебрина, 1г – хризина.

присутствует и в корнях *S. baicalensis*, при паритетном содержании с изомером 7-ОМe ороксиллина А (5), но со значительно меньшим содержанием обоих по сравнению с вогонином (4) (Qiao et al., 2016; Elkin et al., 2018). Интересен факт наличия заметной доли тетра-ОМe-флавона (8), что подчеркивает потребность растения в синтезе гидрофобного флавона. Например, в коре корней *S. baicalensis* флаво 8 очень обилен и сопоставим в этом с вогонином (4) (Elkin et al., 2022). МФ 4 и 10, по сути, определяют ионный ток фракции 4, в которой присутствуют также хризин (1) и пиноцембрин (0), дающие начало пути биосинтеза флавонов (Приложение С1). Вместе с ними во фракции обнаружены следовые содержания соединений, ионы которых ( $m/z$  315) можно отнести к флавононам, предшественникам флавонов 4 и 10, допуская опережающую активность О-метилтрансфераз (ОМТ). Скорость дегидрирования ферментом FNSII видимо уступает в скорости 6- и 8-ОМТ. Еще менее обилен тетра-ОН-ди-ОМe-флавонон ( $m/z$  331) с дополнительной ОН-группой на кольце В. Феномен потребности растения в 6-ОМe-вогонине (10), по всей видимости, имеет глубокие корни в эволюции биохимии растения. Флаво 6 ( $m/z$  299) входит в число мажорных МФ и принадлежит к группе продуктов второго эшелона гидроксирования флавоноксидазы, для которых имеется выбор из четырех С-атомов кольца В, исключая С-4'. Принимая

во внимание высокую интенсивность сигнала 6-ОМe-вогонина (10), пик 6 селективной ионной хроматограммы иона  $m/z$  299 может быть его предшественником, 5,6,7-три-ОН-8-ОМe-флавоном. К тому же 6-ОМe хризин, известный как ороксиллин А (5), также входит в число наиболее мажорных МФ корней изучаемого растения, носителей 6-ОМe-группы.

### Гликозиды метилированных флавонов

Продукты биосинтеза флавонов, от хризина до финальных метиловых эфиров флавонов, гликозилируются (Zhao et al., 2016) и, приобретая гидрофильность, могут далее поступать в надземные органы растения. Биосинтез гликозидов МФ в корнях демонстрирует интересную закономерность. Гликозиды вогонина (4г) и 6-ОМe вогонина (10г) также остаются наиболее обильными, как и исходные МФ, ионы  $m/z$  459 и  $m/z$  489 (рис. 3б). Примечательно, что гликозид 10г оказался немного более обилен, чем гликозид 4г, тогда как отношение исходных агликонов 4 и 10 было обратным. Отношение долей гликозидов ороксиллина А (5г) и вогонина (4г) увеличилось при сравнении с отношением их агликонов 5 и 4. Проявляется ли константа специфичности глюкурозилтрансферазы выше к флавонам с высокой степенью метилирования, еще предстоит выяснять, но предпочтение



6-ОМе-флавонам можно подметить. Тенденция гликозилирования более липофильных МФ привела к обилию глюкуронида три-ОН-три-ОМе-флавона (7г)  $m/z$  535 (рис. 3б), тогда как доли любого из двух его предшественников  $m/z$  359 ничтожны (рис. 3а). Предположительно, это один из двух возможных 5,7,2'-(6')-три-ОН-6,8,6'-(2')-три-ОМе-флавонов со свободной С7 ОН-группой между двух ОМе-групп для гликозилирования. Этот феномен касается и метилированного флавонона  $m/z$  315, чей гликозид  $m/z$  491 оказался среди пяти наиболее обильных. Гликозид 8г  $m/z$  549 найден в минорном количестве по сравнению с агликоном 8  $m/z$  373, у которого С7-ОН-группа метилирована (рис. 3а). В ряду обильных гликозидов остается и глюкуронид сесквитерпена (сст) ион  $m/z$  477. Среди гликозидов МФ второго эшелона гидроксирования, ионов  $m/z$  475, со свободной С7 ОН-группой оказалось только 3 (Приложение С5). Два первых из них наиболее обильны и происходят, возможно, от 6-ОМе-флавонов с дополнительными ОН-группами в кольце В при разных атомах углерода. Пик третьего, в смеси с С-гликозидом ди-ОН-ди-ОМе флавонона, проявляется в отношении 4 : 1. Еще одним заметным ионом является ион с  $m/z$  475 (m1г), гликозид метилированного хризина, как кластер с Na при 7.7 мин, также остается заметным в ПИТ продуктов биосинтеза флавонов (Приложение С5). Оценка полного ионного тока фракций методом селективного ионного мониторинга и фрагментов МС2 выявила многочисленные МФ и их гликозиды с низкой интенсивностью сигнала: кластеры Na и формиата, пента- и гексозидов, ацетил гексозидов, сульфатов и С-гликозидов (Приложение С1–С4). Все вместе эти фракции практически представлены метилированными флавонами.

#### *Свободные флавоны и их гликозиды*

Содержание нор-вогонина (2) (5,7,8-три-ОН-флавор) и байкалеина (3) в корнях *S. lateriflora* ниже, чем их метилированных производных, а предшественники пиноцембрин (0) и хризин (1) представлены лишь в следовых количествах (вставка, рис. 3а). Соотношение флавонов 2 и 3, продуктов первого эшелона гидроксирования хризина, в корнях *S. lateriflora* такое же, как в корнях *S. baicalensis* (Elkin et al., 2018), что указывает на единое начало пути биосинтеза флавоноидов обоих видов растений. Гликозилирование свободных флавонов 2 и 3 так же предпочтительно, как и их метилирование, однако происходит менее селективно, о чем свидетельствует наличие 5 пиков на ионном профиле  $m/z$  445 (вставка 1 рис. 3б). Кроме байкалеина и нор-вогонина случайные продукты фенолоксидаз, три-ОН-флавоны 3а, 3б, 3в, видимо, незамедлительно гликозилируются

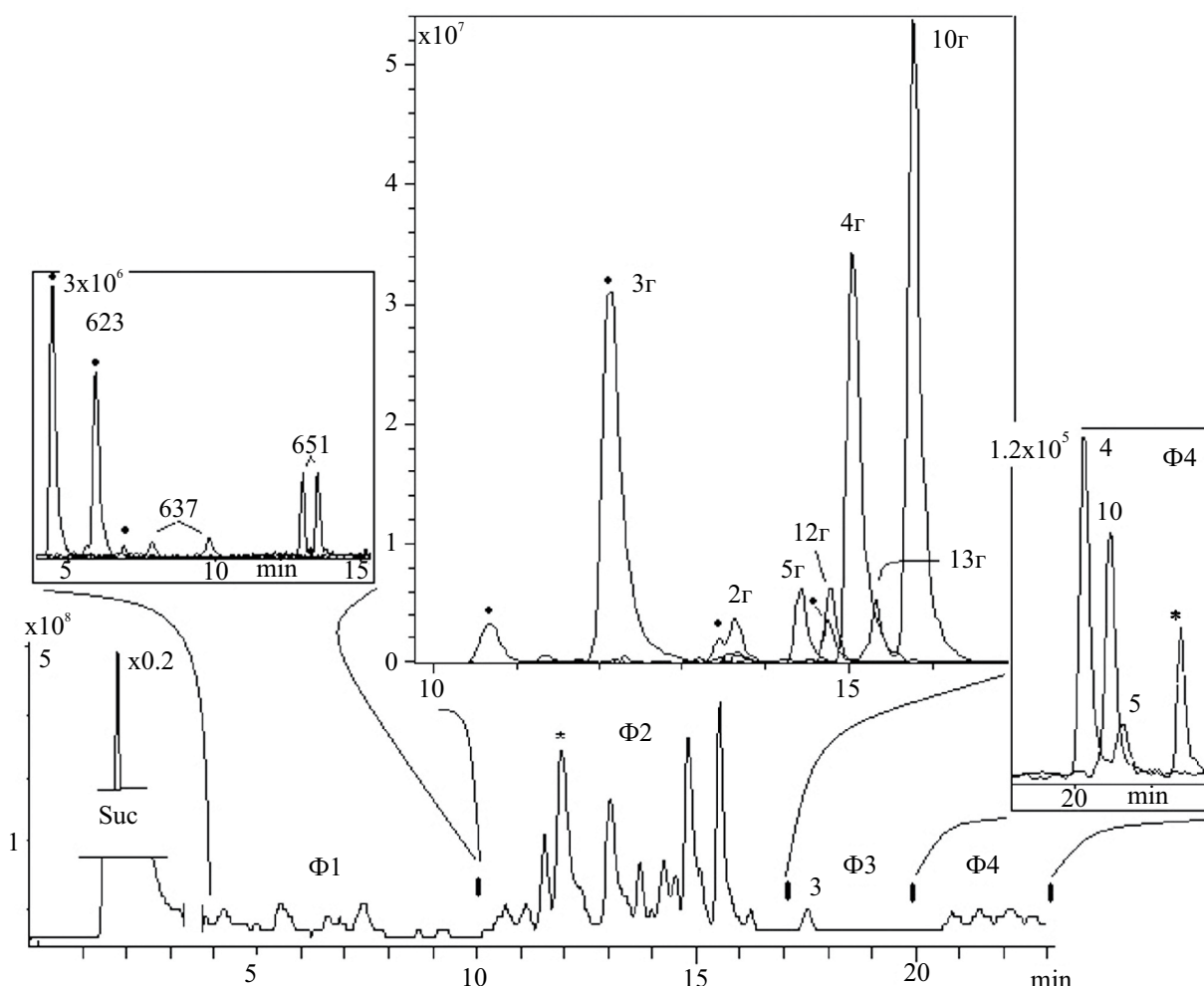
и затем выносятся в наземные органы растения. Наиболее обильный из них ион 3а может быть глюкуронидом 2'-гидроксихризина, найденного в корнях *S. baicalensis* (Wang et al., 2018), поскольку ОН-группы в кольце В повышают полярность флавонов, обуславливая более раннее элюирование, чем глюкуронидов 2г и 3г. Продукт 4г представлен ионом  $[M-CH_4]^-$  С-гликозида вогонина, что следует из его профиля МС2 (Приложение С6).

#### *Углеводы и фенолэтаноиды*

Фракция углеводов Ф1, элюируемая водным ацетонитрилом, состоит из сахарозы и производных фенолэтаноида (ФЭ), кофеил рутинозида дигидротирозола (Приложение С4). Среди них есть метилированные и дополнительно гликозилированные пентозой (Приложение С7). Каждый из 9 ФЭ имеет два катехол-мотива в структуре молекулы, которые обеспечивают равную по эффективности ионизацию с флавоноидами фракций 2–4. Таким образом, их доли в экстрактах можно сравнивать по току фенолят-аниона. Обилие ФЭ, сопоставимое с таковым флавоноидов, видимо, связано с их защитной функцией как носителей катехолов (Pshenichnyuk et al., 2015; Elkin et al., 2023). Пик алкоколят-аниона  $[M-H]^-$   $m/z$  341 сахарозы имеет более низкую эффективность ионизации, но при этом демонстрирует наибольшую площадь тока иона, что свидетельствует о большем ее содержании, нежели отображается на профиле ПИТ, что указывает на накопление растением огромного запаса сахарозы в корнях.

#### *Корневые волоски*

Почва, как одна из сред обитания растения, определяет его морфологию и физиологию, в том числе посредством развития корневых волосков. Последние, будучи эндосимбионтным консорциумом клеток корней и почвенного микробиома, нуждаются в углеводном питании. Действительно, ПИТ экстракта корневых волосков обусловлен практически полностью ионом сахарозы  $m/z$  341 (рис. 4). Профиль ИХ-производных ФЭ (Ф1) существенно отличается от профиля корней (Приложение С7), в котором обильность ионов  $m/z$  623, 637, 783 и 651 сопоставима с гликозидами МФ. Однако среди ФЭ доминируют метилированные производные. Продукция волосками метилированных (Ф4) и свободных флавонов (Ф3) на три порядка меньше, за исключением байкалеина (3), а относительное количество гликозидов флавонов — на порядок выше. Примечательно, что в число мажорных гликозидов МФ входит байкалин (3г). В составе гликозидов корневых волосков, в противоположность корням, нет гликозидов диметилфлавонона  $m/z$  491



**Рис. 4.** Профиль полного ионного тока экстракта корневых волосков *S. lateriflora* и ионные хроматограммы по фракциям, Suc – сахароза. Вставка Φ1: • –  $m/z$  623 производные рутинозы, моно- и диметилированные  $m/z$  637 и  $m/z$  651 соответственно. Вставка Φ2: гликозиды (г) флавонов и метилированных флавонов. • – ионы  $m/z$  445. 3г – байкалейна, 2г – нор-вогонина, 5г – ороксилена А, 12г – 3ОН-2ОМе флавона, 4г – вогонина, 13г – 5,8-ди-ОН-6,7-ди-ОМе флавона, 10г – 6-ОМе вогонина. Φ3: 3 – байкалейн. Вставка Φ4: 4 – вогонин, 10 – 6-ОМе вогонин, 5 – ороксиллин А. \* – соединения не определены.

и триметил флавона  $m/z$  535 (рис. 36). Однако волоски продуцируют с заметным выходом гликозиддиметилфлавонов  $m/z$  505. В целом же корневые волоски также продуцируют гидрофобные флавоны и обеспечивают их мобильность гликозилированием (Приложение С8).

Окисление флавоноидов в растениях в основном катализируется полифенолоксидазами и пероксидазами, которое происходит в период развития растений, а также вследствие биотического и абиотического стресса. Пагубное воздействие стресса на растения проявляется как действие “беглых электронов” (Li et al., 2021), активных форм кислорода (АФК), в первую очередь супероксид аниона ( $O_2^-$ ). МФ с катехол- и пирогаллолмотивами под защитой метильных групп взаимодействуют

с  $O_2^-$  посредством о-хинон-аниона (редуктанта) с отщеплением молекулы  $CH_4$  (Pshenichnyuk et al., 2015; Elkin et al., 2023). Этот процесс наглядно демонстрирует устойчивость соответствующих редуктантов  $R_4^-$  и  $R_{10}^-$  при активации флавонов 4 и 10 в источнике ионов (рис. 5). Описываемые анион-радикалы подавляют АФК в клетках растений, что и объясняет значительное содержание МФ в корнях *S. lateriflora*. Примечательно, что обилие гликозидов МФ в наземных органах растения ранее уже описывалось (Li et al., 2012). Таким образом, можно предположить, что корневая система *S. lateriflora* формирует спектр МФ, обеспечивающий защиту всего растения в период вегетации.

Таким образом, синтез полигидроксифлавоноидов эпидермальными клетками камбия корней



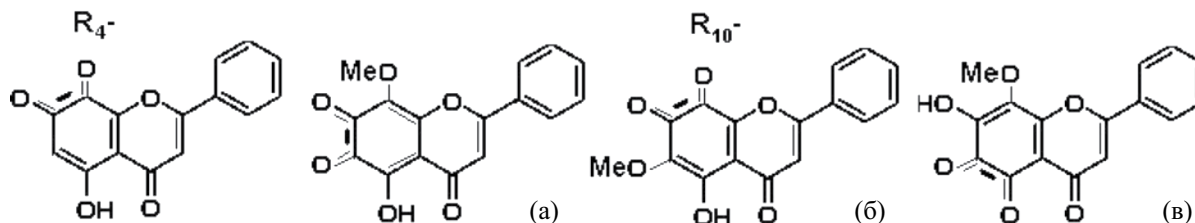


Рис. 5. Схемы редуцантов  $R_4^-$   $m/z$  268 и  $R_{10}^-$   $m/z$  298 при активации столкновением ионов  $[M-H]^-$  флавонов 4 и 10 в источнике ионов. (а, б, в) —предполагаемые структуры 6-ОМe вогонина.

растений осуществляется с целью защиты от ультрафиолетового излучения, травоядных организмов и биоинвазий, представляя собой эволюционно возникший биохимический механизм адаптации. Именно в коре корней *S. baicalensis* найдены флавоны носители катехол (вогонин) и пирогаллол (ороксилин А) мотива (Elkin et al., 2022), являющиеся средством химической защиты (Xia et al., 2016; Elkin et al., 2023). Однако во многом именно они, в метилированной форме, как и флавоны специй (куркумин, гиргинин, капцин), определяют терапевтический эффект растений (Bolton et al., 2018).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обнаружение доминирующего синтеза метилированных флавонов, большого содержания сахарозы и гликозидов дигидротирозола в корнях *S. lateriflora* имеет физиологическую основу жизнестойкости растения. Метоксильные группы молекул флавонов корней растения, располагаясь на кольце А, после гликозилирования придают им амфифильность, обеспечивая гидрофобную защиту корня и возможность доставки в надземные органы растения. Необходимость накопления сахарозы корневой системой очевидна, в то время как роль модифицированных фенилэтаноидов еще предстоит выяснить. Предположительно, два катехольных участка молекулы служат специфической защитой от биоинвазии. Повышенное содержание МФ и их гликозидов по отношению к свободным флавонам (2) и (3) обусловлено опасностью для растения катехол- и пирогаллолучастков в их молекулах соответственно из-за их высокой химической активности. По этой причине флавоны корневой системы растения накапливаются в защищенной метилированной форме. Такой взгляд на метилирование подтверждается и в случае корневых волосков, в ФЭ которых более половины катехолгрупп метилированы. Используя такой подход, растение защищает собственные клетки от угрозы аутофагии, вызываемой ди- и три-ОН-группами свободных флавонов, особенно нор-вогонина.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 124012200183-8).

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Bolton J.L., Dunlap T.L., Dietz B.M. Formation and biological targets of botanical o-quinones // Food Chem. Tox. 2018. V. 120. P. 700–707.  
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.07.050>
- Chen S. Genetic and phylogenetic analysis of the complete genome for the herbal medicine plant of *Scutellaria baicalensis* from China // Mit. DNA B. 2019. V. 4. P. 1683–1685.  
<https://doi.org/10.1080/23802359.2019.1605859>
- Costine B., Zhang M.Z., Chhajed S., Pearson B., Chen S.X., Nadakuduti S.S. Exploring native *Scutellaria* species provides insight into differential accumulation of flavones with medicinal properties // Sci. Rep. 2022. V. 12. P. 13201.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-022-17586-367-1>
- Cui M.Y., Lu A.R., Li J.X., Liu J., Fang Y.M., Pei T.L., Zhong X., Wei Y.K., Kong Y., Qiu W.Q., Hu Y.H., Yang J., Chen X.Y., Martin C., Zhao Q. Two types of O-methyltransferases are involved in biosynthesis of anticancer methoxylated 4'-deoxyflavones in *Scutellaria baicalensis* Georgi // Plant Biotech. J. 2021. V. 20. P. 1–14.  
<https://doi.org/10.1111/pbi.13700>
- Elkin Y.N., Kulesh N.I., Shishmarev V.M., Kargin V.M., Manyakhin A.Y. *Scutellaria baicalensis*: the end of the

- flavone biosynthesis pathway // *Acta Biol. Crac. bot.* 2022. V. 64. P. 39–43.  
<https://doi.org/10.24425/abcsb.2021.136704>
- 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 Phys.* 2018. V. 231. P. 277–280.  
<https://doi.org/10.1016/j.jplph.2018.10.009>
- Elkin Y.N., Stepanova A.Y., Pshenichnyuk S.A., Manyakhin A.Y. Root specific methylated flavones protect of *Scutellaria baicalensis* // *Khim. Rast. Syr'ja*. 2023. № 4. P. 241–248.  
<https://doi.org/10.14258/jcprm.20230411877>
- Islam M.N., Downey F., Ng C.K.Y. Comparative analysis of bioactive phytochemicals from *Scutellaria baicalensis*, *Scutellaria lateriflora*, *Scutellaria racemosa*, *Scutellaria tomentosa* and *Scutellaria wrightii* by LC-DAD-MS // *Metabolomics*. 2011. V. 7. P. 446–453.  
<https://doi.org/10.1007/s11306-010-0269-9>
- Kim J.K., Kim Y.S., Kim Y., Uddin M.R., Kim Y.B., Kim H.H., Park S.U. Comparative analysis of flavonoids and polar metabolites from hairy roots of *Scutellaria baicalensis* and *Scutellaria lateriflora* // *World J. Microbiol. Biotech.* 2014. V. 30. P. 887–892.  
<https://doi.org/10.1007/s11274-013-1498-7>
- Li J., Wang Y.H., Smillie T.J., Khan I.A. Identification of phenolic compounds from *Scutellaria lateriflora* by liquid chromatography with ultraviolet photodiode array and electrospray ionization tandem mass spectrometry // *J. Biomed. Anal.* 2012. V. 63. P. 120–127.  
<https://doi.org/10.1016/j.jpba.2012.01.027>
- Li L., Kitazawa H., Zhang X., Zhang L., Sun Y., Wang X., Liu Y., Guo S., Yu S. Melatonin retards senescence via regulation of the electron leakage of postharvest white mushroom (*Agaricus bisporus*) // *Food Chem.* 2021. V. 340. P. 127833.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127833>
- Modelli A., Pshenichnyuk S.A. Gas-phase dissociative electron attachment to flavonoids and possible similarities to their metabolic pathways // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2013. V. 15. P. 1588–1600.  
<https://doi.org/10.1039/C2CP43379F>
- Pei T., Yan M., Huang Y., Wei Y., Martin C., Zhao Q. Specific flavonoids and their biosynthetic pathway in *Scutellaria baicalensis* // *Front. Plant Sci.* 2022. V. 13. P. 866282.  
<https://doi.org/10.3389/fpls.2022.866282>
- Pshenichnyuk S.A., Elkin Y.N., Kulesh N.I., Lazneva E.F., Komolov A.S. Low-energy electron interaction with retusin extracted from *Maackia amurensis*: towards a molecular mechanism of the biological activity of flavonoids // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2015. V. 17. P. 16805–16812.  
<https://doi.org/10.1039/C5CP02890F>
- 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. Chrom. A*. 2016. V. 1441. P. 83–95.  
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.02.079>
- Sherman S.H., Nirmal J. Current status of research on medicinal plant *Scutellaria lateriflora*: A review // *J. Med. Act. Plants*. 2022. V. 11. P. 22–38.  
<https://doi.org/10.7275/shxv-wb39>
- Stepanova A.Y., Solov'eva A. I., Malunova M.V., Salamai-kina S.A., Panov Y.M., Lelishentsev A.A. Hairy roots *Scutellaria* spp. (Lamiaceae) as promising producers of antiviral flavones // *Molecules*. 2021. V. 26. P. 3927.  
<https://doi.org/10.3390/molecules26133927>
- Takagi S., Yamaki M., Inoue K. Studies on the water-soluble constituents of the roots of *Scutellaria baicalensis* Georgi (Wogon) // *Yakugaku Zasshi*. 1980. V. 100. Iss. 12. P. 1220–1224.  
[https://doi.org/10.1248/yakushi1947.100.12\\_1220](https://doi.org/10.1248/yakushi1947.100.12_1220)
- Tsai P.J., Huang W.C., Hsieh M.C., Sung P.J., Kuo Y.H., Wu W.H. Flavones isolated from *Scutellariae* radix suppress propionibacterium acnes-induced cytokine production *in vitro* and *in vivo* // *Molecules*. 2016. V. 21. P. 15.  
<https://doi.org/10.3390/molecules21010015>
- Wang Z.L., Wang S., Kuang Y., Hu Z.M., Qiao X., Ye M. A comprehensive review on phytochemistry, pharmacology, and flavonoid biosynthesis of *Scutellaria baicalensis* // *Pharm. Biol.* 2018. V. 56. P. 465–484.  
<https://doi.org/10.1080/13880209.2018.1492620>
- Wilczńska-Barska A., Królicka A., Głód D., Majdan M., Kawiak A., Krauze-Baranowska M. Enhanced accumulation of secondary metabolites in hairy root cultures of *Scutellaria lateriflora* following elicitation // *Biotech. Lett.* 2012. V. 34. P. 1757–1763.  
<https://doi.org/10.1007/s10529-012-0963-y>
- Xia H., Attygalle A.B. Effect of electrospray ionization source conditions on the tautomer distribution of deprotonated *p*-hydroxybenzoic acid in the gas phase // *Anal. Chem.* 2016. V. 88. P. 6035–6043.  
<https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b01230>
- Zhao Q., Cui M.Y., Levsh O., Yang D., Liu J., Li J., Hill L., Yang L., Hu Y., Weng J.K., Chen X.Y., Martin C. Two CYP82D enzymes function as flavone hydroxylases in the biosynthesis of root-specific 4'-deoxyflavones in *Scutellaria baicalensis* // *Mol. Plant*. 2018. V. 11. P. 135–148.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.molp.2017.08.009>
- 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. P. e1501780.  
<https://doi.org/10.1126/sciadv.1501780>
- Zhang Z., Lian X.Y., Li S., Stringer J.L. Characterization of chemical ingredients and anticonvulsant activity of American skullcap (*Scutellaria lateriflora*) // *Phytomed.* 2009. V. 16. P. 485–493.  
<https://doi.org/10.1016/j.phymed.2008.07.011>

***Scutellaria lateriflora* root's phenolic segment of metabolome****Yu. N. Elkin<sup>1</sup>, A. Yu. Manyakhin<sup>2, 3, 4, #</sup>**

<sup>1</sup>*Pacific Institute of Bioorganic Chemistry named after G. B. Elyakov,  
Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, prospekt Stoletiya Vladivostoka, 159, Vladivostok, 690022 Russia*

<sup>2</sup>*Federal Research Center for Biodiversity of Terrestrial Biota of East Asia,  
Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences,  
prospekt Stoletiya Vladivostoka, 159/1, Vladivostok, 690022 Russia*

<sup>3</sup>*Vladivostok State University, ul. Gogolya, 41, Vladivostok, 690014 Russia*

<sup>4</sup>*Ningbo Excure Pharm Inc., Xizishan Rd, 172, Chunxiao, Beilun, Ningbo, 315830 China*

<sup>#</sup>*e-mail: mau84@mail.ru*

The article presents the results of studying the metabolites of roots and hairy roots of *S. lateriflora* using liquid chromatography—mass spectrometry. It has been established that the main share of polyphenolic metabolites in roots and hairy roots is phenylethanoids and flavonoids containing up to two and up to four methoxyl groups, respectively. Among flavonoids, wogonin, 6-OMe wogonin and their glycosides are most abundant in the roots of the plant. Phenylethanoids are represented by a series of caffeoyl rutinosides, hydroxytyrosol, with a content parity with flavonoids. In addition to polyphenols, a significant content of sucrose was found in the root system.

**Keywords:** *Scutellaria lateriflora*, roots, hairy roots, carbohydrates, flavonoids, methylation, glycosylation, LC-MS/MS