

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4-1581>
УДК 615.322



Оригинальная статья / Research article

Каллусная культура аралии сердцевидной (*Aralia cordata* Thunb.): получение, подбор условий культивирования, индукция соматического эмбриогенеза

Д. А. Некрасова✉, М. Н. Повыдыш, Н. С. Пивоварова, К. О. Сидоров

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПбХФУ Минздрава России). 197022, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 14, лит. А

✉ Контактное лицо: Некрасова Дарья Алексеевна. E-mail: nekrasova.darya@pharminnotech.com

ORCID: Д. А. Некрасова – <https://orcid.org/0000-0002-0028-9727>; М. Н. Повыдыш – <https://orcid.org/0000-0002-7768-9059>;
Н. С. Пивоварова – <https://orcid.org/0000-0003-3020-8526>; К. О. Сидоров – <https://orcid.org/0000-0002-7573-1719>.

Статья поступила: 27.06.2023

Статья принята в печать: 21.09.2023

Статья опубликована: 24.11.2023

Резюме

Введение. Клеточные технологии широко распространены в различных областях биологии, биотехнологии и сельского хозяйства. Аралия сердцевидная (*Aralia cordata* Thunb.) – многолетнее травянистое растение, внесенное в Красную книгу Российской Федерации. Препараты на основе сырья аралии обладают ценными видами фармакологической активности и широко используются в восточной медицине. Серьезным препятствием для возобновления естественных популяций является наличие у семян растения периода морфофизиологического покоя. Ограниченность природного ареала и выраженная биологическая активность делает аралию сердцевидную перспективным объектом для введения в культуру *in vitro*.

Цель. Целью работы являлось получение жизнеспособной каллусной культуры аралии сердцевидной, изучение условий индукции соматического эмбриогенеза.

Материалы и методы. В качестве первичного экспланта были использованы части листа растения, культивируемого в Ботаническом институте им. В.Л. Комарова РАН. Части листа стерилизовали в 2%-м растворе бензалкония хлорида в течение 5 минут, индукцию каллусогенеза осуществляли на среде Мурасиге – Скуга. С целью длительного пассивирования были изучены среды различного состава. Индукцию соматического эмбриогенеза проводили на средах с высоким содержанием ауксинов. Спиртовые извлечения из интактного растения и каллусных культур анализировали методом ВЭТСХ с использованием системы HPTLC PRO SYSTEM (CAMAG AG, Швейцария).

Результаты и обсуждение. Спустя две недели культивирования на поверхности эксплантов наблюдали образования первичного каллуса. Наиболее подходящей средой для длительного поддержания культур была признана среда Линсмайера – Скуга с уменьшенным количеством сахарозы (20 г/л). Были получены эмбриоидные структуры аралии сердцевидной. Качественный анализ извлечений показал, что каллусные культуры накапливают тритерпеновые гликозиды, их состав приближен к таковому у интактного растения.

Заключение. Был получен жизнеспособный штамм каллусной культуры аралии сердцевидной, установлена питательная среда для длительного культивирования культур. Были получены соматические эмбриоиды. Предварительное фитохимическое исследование показало, что состав химических компонентов каллусов приближен к составу интактного растения.

Ключевые слова: аралиевые, аралия сердцевидная, каллус, культуры *in vitro*, соматический эмбриогенез

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Д. А. Некрасова, М. Н. Повыдыш, Н. С. Пивоварова, К. О. Сидоров осуществили постановку цели исследования, выполнили экспериментальную часть, провели обсуждение результатов и написание статьи.

Финансирование. Результаты работы получены с использованием оборудования ЦКП «Аналитический центр ФГБОУ ВО СПбХФУ Минздрава России» в рамках соглашения № 075-15-2021-685 от 26 июля 2021 года при финансовой поддержке Минобрнауки России.

Для цитирования: Некрасова Д. А., Повыдыш М. Н., Пивоварова Н. С., Сидоров К. О. Каллусная культура аралии сердцевидной (*Aralia cordata* Thunb.): получение, подбор условий культивирования, индукция соматического эмбриогенеза. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(4):40–45. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4-1581>

Callus Culture of *Aralia cordata* Thunb.: Obtaining, Selection of Cultivating Conditions, Somatic Embryogenesis Induction

Daria A. Nekrasova✉, Maria N. Povydysh, Nadezhda S. Pivovarova, Kirill O. Sidorov

Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University. 14A, Prof. Popova str., Saint-Petersburg, 197022, Russia

✉ Corresponding author: Daria A. Nekrasova. E-mail: nekrasova.darya@pharminnotech.com

ORCID: Daria A. Nekrasova – <https://orcid.org/0000-0002-0028-9727>; Maria N. Povydysh – <https://orcid.org/0000-0002-7768-9059>;
Nadezhda S. Pivovarova – <https://orcid.org/0000-0003-3020-8526>; Kirill O. Sidorov – <https://orcid.org/0000-0002-7573-1719>.

Received: 27.06.2023

Revised: 21.09.2023

Published: 24.11.2023

© Некрасова Д. А., Повыдыш М. Н., Пивоварова Н. С., Сидоров К. О., 2023

© Nekrasova D. A., Povydysh M. N., Pivovarova N. S., Sidorov K. O., 2023

Abstract

Introduction. Cell cultures spreads widely in different areas of biology, biotechnology and agriculture. *Aralia cordata* is a perennial herbaceous plant, which has been listed in Red book of the Russian Federation. Pharmaceuticals which are based on raw materials of *Aralia* ssp. have valuable types of pharmacological activity and are widely used in oriental medicine. A serious obstacle for resumption of the natural populations is the presence of the period of morphophysiological dormancy in the seeds of the plants, which requires a long-time stratification process. Limitation of the natural geographic range and the combination of biological activities useful for humans make *Aralia cordata* Thunb. prospective object for *in vitro* introduction.

Aim. The aim of the study is obtaining of the viable cell culture of *Aralia cordata* Thunb., investigation of the somatic embryogenesis conditions.

Materials and methods. Pieces of the leaves of *Aralia cordata* intact plant from Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences were used as a primary explants. Pieces of leaves were sterilized in a 2 % benzalkonium chloride solution for 5 minutes, induction of primary callogenesis was carried out on Murasige – Skoog medium. Nutrient media with different constituents were discovered for choosing one for long-time cultivation of calli. Induction of somatic embryogenesis was carried out on the nutrient media with high auxins content. Ethanol extracts from the intact plant and calli cultures were assayed with HPTLC PRO SYSTEM (CAMAG AG, Switzerland).

Results and discussion. After two weeks of cultivation, the formation of primary callus was observed on the surface of the explants. The Linsmaier – Skoog medium with a reduced amount of sucrose (20 g/l) was recognized as the most suitable medium for long-term maintenance of cultures. Embryoid structures of *Aralia cordata* have been obtained, now we are continuing to collect analytics data about this process. Qualitative analysis of the extracts showed that callus cultures accumulate triterpene glycosides, their composition is close to that of the intact plant.

Conclusion. A viable strain of callus culture of *Aralia cordata* Thunb. was obtained, a nutrient medium for long-term cultivation of calli was established. Somatic embryoids have been obtained, and their further development is currently being monitored. A preliminary phytochemical study showed that the composition of the chemical components of calli is close to that of an intact plant.

Keywords: ginseng family, *Aralia cordata*, callus, *in vitro* culture, somatic embryogenesis

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Daria A. Nekrasova, Maria N. Povydysh, Nadezhda S. Pivovarova, Kirill O. Sidorov carried out the statement of the problem, implementation of the experiment, processing of obtained data, discussion of the results, and writing the text of the article.

Funding. The results of the work were obtained using the equipment of the Center for Collective Use "Analytical Center of Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University within the framework of agreement No. 075-15-2021-685 dated July 26, 2021 with the financial support of the Ministry of Education and Science of Russia.

For citation: Nekrasova D. A., Povydysh M. N., Pivovarova N. S., Sidorov K. O. Callus culture of *Aralia cordata* Thunb.: obtaining, selection of cultivating conditions, somatic embryogenesis induction. *Drug development & registration*. 2023;12(4):40–45. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4-1581>

ВВЕДЕНИЕ

Культуры растительных клеток находят большое применение в различных областях биологии, биотехнологии и сельского хозяйства: с их помощью получают новые устойчивые сорта культурных растений, изучаются особенности пролиферации и дифференцировки растительных организмов, условия их адаптации к окружающей среде, а также закономерности накопления вторичных метаболитов [1].

Перспективным объектом для введения в культуру *in vitro* является аралия сердцевидная (*Aralia cordata* Thunb.) – растение, внесенное в Красную книгу России [2]. Вторичные метаболиты, входящие в состав сырья аралии, оказывают антибактериальное [3], гиполипидемическое [4], обезболивающее [5], противовоспалительное [6], адаптогенное [7] и др. [8] действие.

Возобновление природных популяций аралии сердцевидной затруднено в связи с наличием у растений периода морфофизиологического покоя, однако применение клеточных технологий [9], в частности соматического эмбриогенеза, позволяет решить эту проблему [10]. Сущность соматического эмбриогенеза заключается в образовании биполярных телец, способных давать начало как корню, так и побегу будущего растения. В связи с ограниченным ареалом, трудоемкостью культивирования и наличием ценных видов биологической активности получение сырья аралии сердцевидной с использованием фитобиотехнологических методов является актуальной задачей [11].

Целью исследования являлось получение жизнеспособной каллусной культуры аралии сердцевидной (*Aralia cordata* Thunb.) и последующее изучение условий индукции соматического эмбриогенеза.

МАТЕРИАЛЫ

Первичными эксплантами для введения аралии сердцевидной в культуру *in vitro* служили части листа интактного растения, произрастающего на территории Ботанического института имени В. Л. Комарова Российской академии наук (БИН РАН).

Бензалкония хлорид (CAS № 63449-41-2, ООО «ВитаРеактив», Россия), твин-80 (CAS № 9005-65-6, АО «ЛенРеактив», Россия), этанол медицинский 95%-й (ООО «РОСБИО», Россия), калий азотнокислый (CAS № 7757-79-1, АО «ВЕКТОН», Россия), аммоний азотнокислый (CAS № 6484-52-2, АО «ВЕКТОН», Россия), аммоний сернокислый (CAS № 7783-20-2, АО «ЛенРеактив», Россия), калий фосфорнокислый 1-замещенный (CAS № 7778-77-0, АО «ВЕКТОН», Россия), магний сернокислый, 7-водный (CAS № 10034-99-8, АО «ВЕКТОН», Россия), кальций хлористый, 2-водный (CAS № 10035-04-8, АО «ВЕКТОН», Россия), натрий молибденовокислый, 2-водный (CAS № 10102-40-6, АО «ВЕКТОН», Россия), медь сернокислая(II), 5-водная (CAS № 7758-99-8, АО «ВЕКТОН», Россия), борная кислота (CAS № 10043-35-3, АО «ВЕКТОН», Россия), марганец сернокислый(II), 5-водный (CAS № 15244-36-7, АО «ВЕКТОН», Россия), цинк сернокислый, 7-водный (CAS № 7446-20-0, АО «ВЕКТОН», Россия), калий сернокислый (CAS № 7778-80-5, АО «ВЕКТОН», Россия), калий йодистый (CAS № 7681-11-0, АО «ВЕКТОН», Россия), кобальт хлористый без никеля(II), 6-водный (АО «ВЕКТОН», Россия), железо сернокислое(II), безводное (АО «ВЕКТОН», Россия), трилон Б (CAS № 6381-92-6, АО «ВЕКТОН», Россия), тиамин гидрохлорид (CAS № 67-03-8, Merck KGaA, Германия), пиридоксин (CAS № 65-23-6, Merck KGaA, Германия), никотиновая кислота (CAS № 59-67-6, АО «ВЕКТОН», Россия), аминокислота (CAS № 56-40-6, АО «ВЕКТОН», Россия), мезоинозит (CAS № 87-89-8, Merck KGaA, Германия), сахароза (CAS № 57-50-1, АО «ВЕКТОН», Россия), агар-агар (ГОСТ 17206-96, ООО «Научно-исследовательский центр фармакотерапии», Россия), 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4-Д) (CAS № 94-75-7, Merck KGaA, Германия), индолил-3-масляная кислота (ИМК) (CAS № 133-32-4, Duchefa Biochemie, Нидерланды), кинетин (CAS № 525-79-1, Merck KGaA, Германия), этилацетат (CAS № 141-78-6, АО «ВЕКТОН», Россия), хлороформ (CAS № 67-66-3, АО «ВЕКТОН», Россия), карбинол (CAS № 67-56-1, АО «ВЕКТОН», Россия), α-нафтилуксусная кислота (НУК) (CAS № 86-87-3, Shijiazhuang Lemandou Chemicals Co., Ltd., Китай), 6-бензиламинопурин (6-БАП) (CAS № 1214-39-7, Duchefa Biochemie, Нидерланды), кислота серная концентрированная (CAS № 7664-93-9, АО «ВЕКТОН», Россия).

МЕТОДЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

Подготовка экспланта

Сбор растительного материала проводился с соблюдением принципов биологической этики. Предварительную стерилизацию эксплантов осуществля-

ли 2%-м раствором бензалкония хлорида в твин-80. Части листа помещали в раствор на 5 минут, затем трехкратно промывали в воде очищенной, выдерживая по 15 минут.

Получение первичного каллуса

Первичный каллус получали на среде Мурасиге – Скуга (MS) с добавлением 0,5 мг/л 2,4-Д и 0,5 мг/л кинетина.

Питательную среду готовили из маточных растворов макро (калий азотнокислый, аммоний азотнокислый, калий фосфорнокислый 1-замещенный, магний сернокислый, 7-водный, кальций хлористый, 2-водный) и микросолей (натрий молибденовокислый, 2-водный, медь сернокислая(II), 5-водная, борная кислота, марганец сернокислый(II), 5-водный, цинк сернокислый, 7-водный, калий йодистый, кобальт хлористый без никеля(II), 6-водный), а также хелата железа (железо сернокислое(II), безводное, трилон Б) [12]. Порошкообразные компоненты среды (сахароза, мезоинозит, агар-агар) отвешивали на весах лабораторных электронных CE224C (ООО «Сартогосм»). Контроль pH среды осуществляли с помощью pH-метра лабораторного PB-11-P11 (ООО «Сартогосм»).

В условиях ламинарного шкафа ЛШ-Биоком-1 (ООО «Компания «БИОКОМ», Россия) листовые пластинки рассекали стерильным скальпелем (эксплант длиной 0,5–1 см, шириной 1 см) и помещали на питательную среду. Культивирование осуществляли на протяжении 2 пассажей в темноте при температуре 27–28 °C и поддержании влажности на уровне 60–70 %.

Подбор питательной среды для длительного культивирования каллусных культур

Следующим этапом исследования являлось установление оптимального состава питательной среды для длительного пассивирования каллусных культур аралии сердцевидной. Для этих целей нами были рассмотрены среды разных составов (таблица 1).

Индукция соматического эмбриогенеза

Для получения эмбриогенного каллуса части каллусной культуры аралии переносили на питательные среды, содержащие высокие концентрации ауксинов (таблица 2), и культивировали в течение двух недель [13, 14], а затем пересаживали на питательную среду WPM без добавления фитогормонов и переносили в световую комнату.

Эмбриогенные каллусы культивировали при температуре 23–26 °C и относительной влажности воздуха 65–70 % в течение тридцати дней при 16-часовом освещении фитолампами.

Таблица 1. Питательные среды для поддержания культур аралии сердцевидной**Table 1.** Nutrient media for maintaining *Aralia cordata* culture

Название Name	Концентрация фитогормонов Concentration of phytohormones
MS	2 мг/л 2,4-Д + 1 мг/л кинетин 2 mg/l 2,4-D + 1 mg/l kinetin
	1 мг/л 2,4-Д + 0,5 мг/л НУК 1 mg/l 2,4-D + 0.5 mg/l NAA
	6 мг/л НУК + 1 мг/л кинетин 6 mg/l NAA + 1 mg/l kinetin
BT	0,5 мг/л кин + 0,5 мг/л 6-БАП 0.5 mg/l kin + 0.5 mg/l 6-BAP
WPM	2 мг/л 2,4-Д + 1 мг/л кинетин 2 mg/l 2,4-D + 1 mg/l kinetin
LS	1 мг/л 2,4-Д + 0,25 мг/л кинетин 1 mg/l 2,4-D + 0.25 mg/l kinetin

Примечание. * MS – Мурасиге – Скуга; BT – broad leaf tree medium; WPM – woody plant media; LS – Линсмайера – Скуга; 2,4-Д – 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота; 6-БАП – 6-бензиламинопурин; НУК – α -нафтилуксусная кислота.

Note. * MS – Murasige – Skoog medium; BT – broad leaf medium; WPM – woody plant medium; LS – Linsmaier – Skoog medium; 2,4-D – 2,4-dichlorophenoxyacetic acid; 6-BAP – 6-benzylaminopurine; NAA – α -naphthaleneacetic acid.

Таблица 2. Питательные среды для индукции соматического эмбриогенеза**Table 2.** Nutrient media for somatic embryogenesis induction

Название Name	Концентрация фитогормонов Concentration of phytohormones
SH	3 мг/л ИМК
MS	1 мг/л 2,4-Д

Примечание. * SH – среда Шенка – Хильдебрандта; MS – Мурасиге – Скуга; ИМК – индолил-3-масляная кислота; 2,4-Д – 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота.

Note. * SH – Schenk – Hildebrand medium; MS – Murasige – Skoog medium; IBA – Indole-3-butyric acid; 2,4-D – 2,4-dichlorophenoxyacetic acid.

Высокоэффективная тонкослойная хроматография (ВЭТСХ)

ВЭТСХ проводили с использованием оборудования HPTLC PRO SYSTEM (CAMAG AG, Швейцария) в системе растворителей этилацетат:метанол:вода:хлороформ (15:40:22:9). Образцами для исследования являлись спиртовые вытяжки из каллусных культур (10:1), полученные мацерацией в течение 24 часов.

Изображение хроматограмм получали с помощью CAMAG® TLC Visualize 2 (CAMAG AG, Швейцария). Детекцию пятен осуществляли в видимом свете после обработки пластины раствором серной кислоты в метаноле (1:10).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

После двух недель культивирования на поверхности эксплантов наблюдалось образование первичного каллуса. Визуально каллус представлял собой слой

желтовато-белых дедифференцированных клеток, находящихся в непрерывном делении.

Первичный каллус культивировали на среде MS с добавлением 0,5 мг/л 2,4-Д и 0,5 мг/л кинетина в течение двух пассажей, затем части каллуса пересаживали на питательные среды различного состава (см. таблицу 1). Было установлено, что оптимальной средой для длительного пассивирования культур аралии сердцевидной является среда Линсмайера – Скуга (LS) со сниженной концентрацией сахарозы (20 г/л) и добавлением 1 мг/л 2,4-Д и 0,25 мг/л кинетина. Она обеспечивала наилучший рост культуры без участков некротизации и гипергидрации (таблица 3).

Таблица 3. Аналитические параметры роста каллусной культуры аралии сердцевидной на среде Линсмайера – Скуга (LS) (приведены среднеарифметические значения результатов пяти определений, имеющих отклонение не более 5 %)**Table 3.** Analytical parameters of growth of *Aralia cordata* callus culture on LS medium (the arithmetic mean values of the results of three determinations with a deviation of no more than 5 % are given)

Фаза роста Growth phase	Сутки роста Days of growth	Удельная скорость роста (сут ⁻¹) Specific growth rate (day ⁻¹)	Время удвоения биомассы (сут) Biomass doubling time (day)	Индекс роста Growth index
Латентная Latent	0	0	–	0
Ускорения роста Accelerating growth	2	0,47	1,93	11,10
	4	0,31	3,03	18,48
Экспоненциального роста Exponential growth	9	0,18	4,28	22,82
	11	0,14	5,39	25,27
	13	0,12	6,46	26,02
Замедленного роста Slow growth	19	0,10	7,58	26,86
	22	0,07	10,17	24,89
Стационарная Stationary	30	0,03	23,10	22,03

Результаты показывают, что наибольшая удельная скорость роста была отмечена на фазе ускорения роста (0,47 сут⁻¹), а затем она начала закономерно уменьшаться. За один цикл культивирования количество биомассы увеличилось в 22,03 раза.

В процессе культивирования каллус становился менее плотным, приобретал выраженный желтый оттенок. Процесс визуально представлен на рисунке 1.

Каллусы, культивируемые на питательных средах с высоким содержанием ауксинов, после пересадки на WPM видоизменялись, формировали бесцветные выросты, которые затем зеленели – образовывались эмбриониды (рисунок 2).

В настоящее время проводятся дополнительные наблюдения за ростом и развитием полученных структур.



Рисунок 1. Визуализация введения аралии сердцевидной в культуру *in vitro*

Figure 1. Visualisation of the introduction of *Aralia cordata* into culture

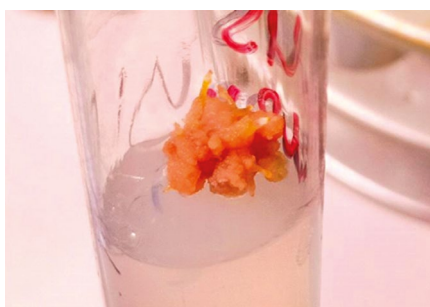


Рисунок 2. Образование эмбриоидов из каллуса аралии

Figure 2. Somatic embryos formation from aralia calli

Анализ извлечений из каллусных культур методом ВЭТСХ позволил обнаружить как минимум 5 соединений ($R_f = 0,15; 0,22; 0,38; 0,43; 0,64$), характерных для всех исследуемых объектов, 2 вещества ($R_f = 0,57; 0,89$), свойственных как листьям аралии, так и каллусным культурам (рисунок 3). Также было показано, что химический состав каллусов с течением времени сохраняет свое постоянство.

Данные стандартных протоколов используемого хроматографа позволяют предположить, что все обнаруженные соединения относятся к классу тритерпеновых гликозидов¹.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволило получить жизнеспособные культуры аралии сердцевидной (*Aralia cordata* Thunb.). Было установлено, что индук-

цию каллусогенеза целесообразно проводить с использованием среды MS + 0,5 мг/л 2,4 Д + 0,5 мг/л кинетина. Для длительного пассивирования культур наиболее оптимальной является среда Линсмайера – Скуга (LS) с добавлением 1 мг/л 2,4-Д и 0,25 мг/л кинетина и пониженной концентрацией сахара (20 г/л).

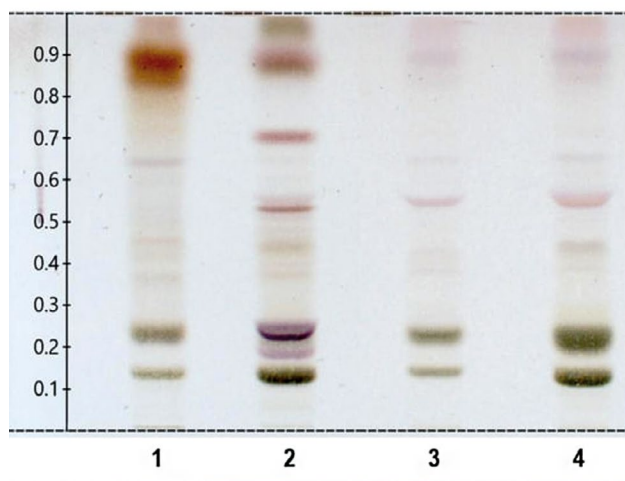
Кроме того, в ходе исследования успешно проведена индукция соматического эмбриогенеза, последующее наблюдение и установление аналитических характеристик полученных эмбриоидов является актуальной задачей.

Предварительное фитохимическое исследование методом ВЭТСХ позволило установить, что химический состав каллуса сохраняет свое постоянство, а также в целом приближен к таковому у интактного растения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Решетников В. Н., Спиридович Е. В., Носов А. М. Биотехнология растений и перспективы ее развития. *Физиология растений и генетика*. 2014;46(1):3–18.
2. Шустов М. В., Швецов А. Н., Ершова А. А., Джанаева В. В. Растения, занесенные в Красную книгу России, в экспозиции флоры Дальнего Востока ГБС РАН. *Биологическое разнообразие и интродукция растений*. 2021;1:242–246. DOI: 10.24412/cl-36598-2021-1-242-246.
3. Jeong S.-I., Yun Y.-H., Kim S.-M., Yoon K.-H., Kim K.-J. Antimicrobial activity of continentalic acid from *Aralia cordata* against *Enterococcus* strains. *International Journal of Oral Biology*. 2008;33(4):213–216.
4. Kim M. O., Lee S. H., Seo J. H., Kim I. S., Han A. R., Moon D. O., Cho S., Cui L., Kim J., Lee H. S. *Aralia cordata* Inhibits Triacylglycerol Biosynthesis in HepG2 Cells. *Journal of Medicinal Food*. 2013;16(12):1108–1114. DOI: 10.1089/jmf.2012.2636.
5. Okuyama E., Nishimura S., Yamazaki M. Analgesic principles from *Aralia cordata* Thunb. *Chemical and pharmaceutical bulletin*. 1991;39(2):405–407.
6. Kim T. D., Lee J. Y., Cho B. J., Park T. W., Kim C. J. The analgesic and anti-inflammatory effects of 7-oxosandaracopimaric acid isolated from the roots of *Aralia cordata*. *Archives of Pharmacol Research*. 2010;33(4):509–514. DOI: 10.1007/s12272-010-0403-2.

¹ Methods for identification of herbals. Available at: https://www.hptlc-association.org/methods/methods_for_identification_of_herbals.cfm. Accessed: 13.01.2023.



1. Корень аралии сердцевидной.
1. *Aralia cordata* root.
2. Лист аралии сердцевидной.
2. *Aralia cordata* leaf.
3. Каллус аралии сердцевидной,
сентябрь 2022 г.
3. *Aralia cordata* callus, September 2022
4. Каллус аралии сердцевидной,
ноябрь 2022 г.
4. *Aralia cordata* callus, November 2022

Система: этилацетат – метанол –
вода – хлороформ в соотношении
(15 : 40 : 22 : 9)
System: ethyl acetate – methanol –
water – chloroform in the ratio
(15:40:22:9)

Рисунок 3. Хроматограмма ВЭТСХ-анализа спиртовых извлечений (96 %)

Figure 3. HPTLC profile of ethanol extracts (96 %)

7. Clement J. A., Clement E. The medicinal chemistry of genus *Aralia*. *Current topics in medicinal chemistry*. 2014;14(24):2783–2801. DOI: 10.2174/1568026615666141208110021.
8. Xu Y., Liu J., Zeng Y., Jin S., Liu W., Li Z., Qin X., Bai Y. Traditional uses, phytochemistry, pharmacology, toxicity and quality control of medicinal genus *Aralia*: A review. *Journal of Ethnopharmacology*. 2022;284:114671. DOI: 10.1016/j.jep.2021.114671.
9. Шмарова А. А., Пивоварова Н. С., Абросимова О. Н. Риск-ориентированный подход при получении и анализе свойств суспензионных культур клеток шлемника байкальского. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11(3):47–56. DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-3-47-56.
10. Ветчинкина Е. М., Ширнина И. В., Ширнин С. Ю., Молканова О. И. Сохранение редких видов растений в генетических коллекциях *in vitro*. *Вестник Балтийского федерального университета им. И. Канта. Серия: Естественные и медицинские науки*. 2012;7:109–118.
11. Некрасова Д. А., Повидыш М. Н., Пивоварова Н. С., Гончаров М. Ю. Перспективы получения и исследования клеточных культур видов рода аралия (*Aralia* spp.). *Вопросы обеспечения качества лекарственных средств*. 2022;4(38):55–72. DOI: 10.34907/JPQAI.2022.94.43.008.
12. Пивоварова Н. С., Шибитченко Т. С., Абросимова О. Н. Получение каллусной культуры шалфея лекарственного (*Salvia officinalis* L.) и ее характеристика. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11(4): 40–46. DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-4-40-46.
13. Lee K.-S., Lee J.-C., Soh W.-Y. High frequency plant regeneration from *Aralia cordata* somatic embryos. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2002;68:241–246. DOI: 10.1023/A:1013989707725.
14. Dai J.-L., Tan X., Zhan Y.-G., Zhang Y.-Q., Xiao S., Gao Y., Xu D.-W., Wang T., Wang X.-C., You X.-L. Rapid and repetitive plant regeneration of *Aralia elata* Seem. via somatic embryogenesis. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*. 2011;104(1):125–130. DOI: 10.1007/s11240-010-9801-x.
3. Jeong S.-I., Yun Y.-H., Kim, S.-M., Yoon K.-H., Kim K.-J. Antimicrobial activity of continentalic acid from *Aralia cordata* against *Enterococcus* strains. *International Journal of Oral Biology*. 2008;33(4):213–216.
4. Kim M. O., Lee S. H., Seo J. H., Kim I. S., Han A. R., Moon D. O., Cho S., Cui L., Kim J., Lee H. S. *Aralia cordata* Inhibits Triacylglycerol Biosynthesis in HepG2 Cells. *Journal of Medicinal Food*. 2013;16(12):1108–1114. DOI: 10.1089/jmf.2012.2636.
5. Okuyama E., Nishimura S., Yamazaki M. Analgesic principles from *Aralia cordata* Thunb. *Chemical and pharmaceutical bulletin*. 1991;39(2):405–407.
6. Kim T. D., Lee J. Y., Cho B. J., Park T. W., Kim C. J. The analgesic and anti-inflammatory effects of 7-oxosandaracopimaric acid isolated from the roots of *Aralia cordata*. *Archives of Pharmacological Research*. 2010;33(4):509–514. DOI: 10.1007/s12272-010-0403-2.
7. Clement J. A., Clement E. The medicinal chemistry of genus *Aralia*. *Current topics in medicinal chemistry*. 2014;14(24):2783–2801. DOI: 10.2174/1568026615666141208110021.
8. Xu Y., Liu J., Zeng Y., Jin S., Liu W., Li Z., Qin X., Bai Y. Traditional uses, phytochemistry, pharmacology, toxicity and quality control of medicinal genus *Aralia*: A review. *Journal of Ethnopharmacology*. 2022;284:114671. DOI: 10.1016/j.jep.2021.114671.
9. Shmarova A. A., Pivovarov N. S., Abrosimova O. N. Risk-based Approach in Obtaining and Analysing the Characteristics of Baikal Skullcap Suspension Cultures. *Drug development & registration*. 2022;11(3):47–56. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-3-47-56
10. Vetchinkina E. M., Shirnina I. V., Shirnin S. Yu., Molkanova O. I. Conservation of rare plant species in genetic collections *in vitro*. *Vestnik Baltijskogo federal'nogo universiteta im. I. Kanta. Seriya: Estestvennye i meditsinskie nauki*. 2012;7:109–118. (In Russ.).
11. Nekrasova D. A., Povydysh M. N., Pivovarov N. S., Goncharov M. Yu. Prospects of obtaining and investigation of cell culture of *Aralia* spp. *Journal of Pharmaceuticals Quality Assurance Issues*. 2022;4(38):55–72. (In Russ.) DOI: 10.34907/JPQAI.2022.94.43.008.
12. Pivovarov N. S., Shebitchenko T. S., Abrosimova O. N. Obtaining Callus Culture of Sage Medicinal (*Salvia officinalis* L.) and its Characteristics. *Drug development & registration*. 2022;11(4):40–46. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-4-40-46.
13. Lee K.-S., Lee J.-C., Soh W.-Y. High frequency plant regeneration from *Aralia cordata* somatic embryos. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2002;68:241–246. DOI: 10.1023/A:1013989707725.
14. Dai J.-L., Tan X., Zhan Y.-G., Zhang Y.-Q., Xiao S., Gao Y., Xu D.-W., Wang T., Wang X.-C., You X.-L. Rapid and repetitive plant regeneration of *Aralia elata* Seem. via somatic embryogenesis. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*. 2011;104(1):125–130. DOI: 10.1007/s11240-010-9801-x.

REFERENCES