

ПРОБЛЕМЫ ЭКОЛОГИИ И РАЦИОНАЛЬНОГО ПРИРОДОПОЛЬЗОВАНИЯ. БИОТЕХНОЛОГИИ

УДК 577.13+576.535.2

Д. В. Кочкин, Е. С. Суханова, Р. В. Сергеев, А. М. Носов

ТРИТЕРПЕНОВЫЕ ГЛИКОЗИДЫ КУЛЬТУР КЛЕТОК *POLYSCIAS* SPP.

Впервые показано накопление тритерпеновых гликозидов олеаноловой кислоты в суспензионных культурах клеток двух видов полисциаса – *Polyscias filicifolia* и *P. fruticosa*. Один из обнаруженных гликозидов идентифицирован как полисциозид E.

Ключевые слова: культура клеток *in vitro*; ВЭЖХ; ЯМР; олеаноловая кислота; полисциозид E.

Введение. Своеобразие вторичного метаболизма растений семейства Аралиевых заключается в образовании значительных количеств тритерпеновых гликозидов различной структуры [1]. В настоящее время эти соединения обнаружены у представителей 24 родов *Araliaceae* [2], что составляет около трети от общего числа родов в семействе. В качестве агликонов гликозидов аралиевых выступают тритерпеноиды более десяти различных структурных типов [3], однако наибольший интерес представляют две основные группы соединений – производные пентациклического тритерпеноида β -амирина и тетрациклического тритерпеноида П-даммарендиола. Важно, что гликозиды с агликонами этих типов неравномерно распределены среди растений семейства

[4]: производные β -амирина обнаружены у всех исследованных аралиевых, тогда как гликозиды с агликонами даммаранового ряда встречаются, за редкими исключениями, только в различных видах женьшеня (род *Panax* L.).

Систематическое исследование химического состава представителей *Araliaceae* было начато более полувека назад. За прошедшее время показано, что в каждом изученном объекте тритерпеновые гликозиды представлены в виде сложных смесей, структурное многообразие компонентов которых поражает воображение исследователей. Ярким примером этого являются результаты изучения рода *Panax* spp., из различных видов которого в настоящее время выделено более 300 индивидуальных гликозидов [5,6].

© Кочкин Д. В., Суханова Е. С., Сергеев Р. В., Носов А. М., 2014.

Ссылка на статью: Кочкин Д. В., Суханова Е. С., Сергеев Р. В., Носов А. М. Тритерпеновые гликозиды культур клеток *Polyscias* spp. // Вестник Поволжского государственного технологического университета. Сер.: Лес. Экология. Природопользование. – 2014. – № 1(21). – С. 69-76.

Работы по получению и исследованию культур клеток растений *Araliaceae* стартовали одновременно с первыми успехами выяснения полной структуры тритерпеновых гликозидов аралиевых. Первые каллусные и суспензионные культуры клеток ряда видов *Panax* spp. и *Polyscias* spp. были получены в середине прошлого столетия [7, 8]. К настоящему времени получены десятки культур клеток видов семейства. В то же время исследования тритерпеновых гликозидов в полученных культурах, как правило, носят схематичный характер и сводятся к качественному и количественному анализу только тех компонентов, для которых доступны коммерческие стандартные образцы. Например, для культур клеток и тканей различных видов женьшеня обычно определяют содержание семи нейтральных гинзенозидов (Rg₁, Re, Rf, Rb₁, Rc, Rb₂, Rd) – основных тритерпеновых гликозидов корня настоящего женьшеня [9]. Очевидно, что результаты подобных исследований не дают представления о возможности образования в клетках *in vitro* сложного паттерна тритерпеновых гликозидов, характерного для растений семейства *Araliaceae in vivo*.

Цель настоящей работы заключалась в изучении возможности образования тритерпеновых гликозидов в суспензионных культурах клеток двух видов полисциаса – *Polyscias filicifolia* и *P. fruticosa*.

Условия эксперимента. Объектами исследования служили: суспензионная культура клеток *Polyscias filicifolia* Bailey. листового происхождения, получена в 1992 году, штамм БФТ-01-95 («коллекционный» штамм). Зарегистрирована во Всероссийской коллекции культур клеток высших растений (ВКККВР) под № 58. Суспензионная культура клеток *Polyscias filicifolia* Bailey. листового происхождения («новый» штамм), получена в 2006 году [10]. Суспензионная культура клеток *Polyscias fruticosa* (L.) Harms. листового происхождения, получена в 2006 году

[10]. Условия выращивания культур описаны ранее [10]. Для хроматографического анализа использовали воздушно-сухую биомассу культуры на 14 сутки роста.

Условия тонкослойной хроматографии (ТСХ) и высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ-детектированием (ВЭЖХ-УФ) опубликованы ранее [11].

Выделение индивидуальных тритерпеновых гликозидов осуществляли с помощью колоночной хроматографии низкого давления и препаративной ВЭЖХ [12].

Масс-спектры высокого разрешения с ионизацией электрораспылением получены на приборе Bruker micrOTOF II (Bruker Daltonics, Германия). Спектры ¹H- и ¹³C-ЯМР растворов выделенных соединений в смеси пиридин-d₅/D₂O регистрировали на приборе Bruker Avance AV600 (Германия), внутренний стандарт тетраметилсилан, температура 303 К. Сигналы в спектрах ¹H- и ¹³C-ЯМР были отнесены [2] с помощью двумерных экспериментов ЯМР (¹H-¹H COSY, TOCSY, ROESY, ¹H-¹³C edHSQC и HMBSC).

Подготовка проб для анализа. 30 мг воздушно-сухой биомассы культуры клеток экстрагировали смесью метанол: вода (95:5 по объёму) в течение 30 мин. под действием ультразвука (УЗВ УХ 3560, GXET LTD, КНР) при комнатной температуре. Затем полученный экстракт центрифугировали 6 мин. при 3900 g (Микроцентрифуга МЦФ, Россия). Супернатант фильтровали через нейлоновой фильтр с порами 0,2 мкм (Acrodisc, Германия). Полученную пробу использовали для ВЭЖХ.

Результаты и обсуждение. Фитохимический анализ показал отсутствие в биомассе «коллекционного» штамма культуры клеток *Polyscias filicifolia* заметных количеств тритерпеновых гликозидов (рис. 1). На ТСХ экстрактов из биомассы «нового» штамма *P. filicifolia* были обнаружены четыре, а из биомассы *P. fruticosa* – два пятна, имевших типичную для тритерпеноидов синюю окраску. Полный кислотный гидролиз очищенных «глико-

зидных фракций» из биомассы *P. filicifolia* («новый» штамм) и *P. fruticosa* приводил к образованию в качестве основного продукта соединения, идентичного (по данным ТСХ) стандарту олеаноловой кислоты (рис. 2).

Совместная ТСХ экстрактов из культур клеток двух видов полисциаса и полученных листьев интактного растения *P. filicifolia* (из Вьетнама, любезно предоставлены канд. биол. наук. А.М. Котиним, ЗАО НПФ «Биофармтокс», Санкт-Петербург) показала, что хроматографические характеристики основных тритерпеновых гликозидов клеточных культур и листьев совпадали, поэтому для выяснения полной структуры обнаруженных соединений было осуществлено препаративное выделение сапонинов из листьев *P. filicifolia*. По данным ВЭЖХ, в листьях *P. filicifolia* присутствовало не менее семи тритерпеновых гликозидов, однако основными были четыре, которые были обозначены как **Pol 1**, **Pol 3**, **Pol 5** и **Pol 7**

(обозначения гликозидов даны в порядке уменьшения их полярности). В индивидуальном виде удалось получить самый полярный из обнаруженных гликозидов – **Pol 1** (0,8 %). В скобках указан выход гликозида от веса воздушно-сухого сырья.

Масс-спектр высокого разрешения отрицательных ионов **Pol 1** показал наличие основного иона $[M-H]^-$ с m/z 1117,5410, который соответствовал соединению $C_{54}H_{86}O_{24}$ (расчётное значение m/z 1117,5436).

Спектр 1H -ЯМР **Pol 1** содержал сигналы четырёх аномерных протонов H1 моносахаридов при 4,95 (1H, дублет, $J_{1,2}$ 6,8 Гц, 3-GlcA H-1), 5,18 (1H, дублет, $J_{1,2}$ 7,8 Гц, 4-Glc H-1), 5,42 (1H, дублет, $J_{1,2}$ 7,8 Гц, 2-Glc H-1) и 6,33 (1H, дублет, $J_{1,2}$ 7,8 Гц, 28-Glc H-1) м. д., семи третичных метильных групп агликона (все синглеты) при 0,81 (H25), 0,89 (H30), 0,91 (H29), 1,05 (H24), 1,08 (H26), 1,22 (H23) и 1,26 (H27) м. д. и одного третичного олефинового протона агликона при 5,41 (H12) м. д.

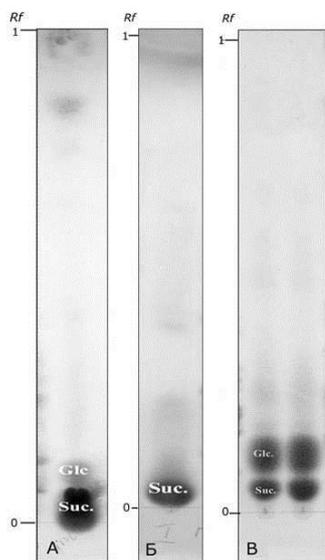


Рис. 1. ТСХ «гликозидных фракций» из биомассы культуры клеток *Polyscias filicifolia*, «коллекционный» штамм. Обозначения: А – каллусная культура; Б – суспензионная культура клеток, выращенная в колбах; В – суспензионная культура клеток, выращенная в биореакторе; Glc – глюкоза; Suc. – сахароза

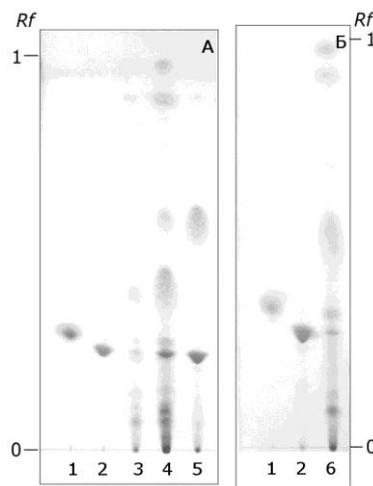


Рис. 2. ТСХ продуктов полного кислотного гидролиза «гликозидной фракции» из биомассы культур клеток *Polyscias filicifolia*, «новый штамм» (А) и *P. fruticosa* (Б). Обозначения: 1 – стандарт β -ситостерина; 2 – стандарт олеаноловой кислоты; 3, 4 – *P. filicifolia*, 5 и 10 мкл, соответственно; 5 – гидролизат «Сапарала[®]» – суммы тритерпеновых гликозидов из корней *Aralia elata* (Miq.) Seem; 6 – *P. fruticosa*, 5 мкл

Спектр ^{13}C -ЯМР **Pol 1** показал наличие сигналов шести насыщенных четвертичных атомов углерода агликона (данные ^1H - ^{13}C НМВС) при 30,96 (C30), 39,47 (C4), 39,73 (C8), 36,91 (C10), 41,99 (C14) и 47,97 (C17) м. д., двух олефиновых атомов углерода при 122,88 (C12), 144,14 (C13) м. д. (рис. 3 и 4), и двух карбоксильных групп – замещённой у агли-

кона (176,44 м. д., C28) и незамещённой у глюкуроновой кислоты (172,01 м. д., C6, 3-GlcA). Кроме того, с помощью двумерных экспериментов ЯМР (^1H - ^{13}C edHSQC) было показано наличие в спектре ^{13}C -ЯМР **Pol 1** сигналов трёх незамещённых первичных гидроксильных групп гексоз при 62,22 (C6, 28-Glc), 62,42 (C6, 4-Glc) и 62,78 (C6, 2-Glc).

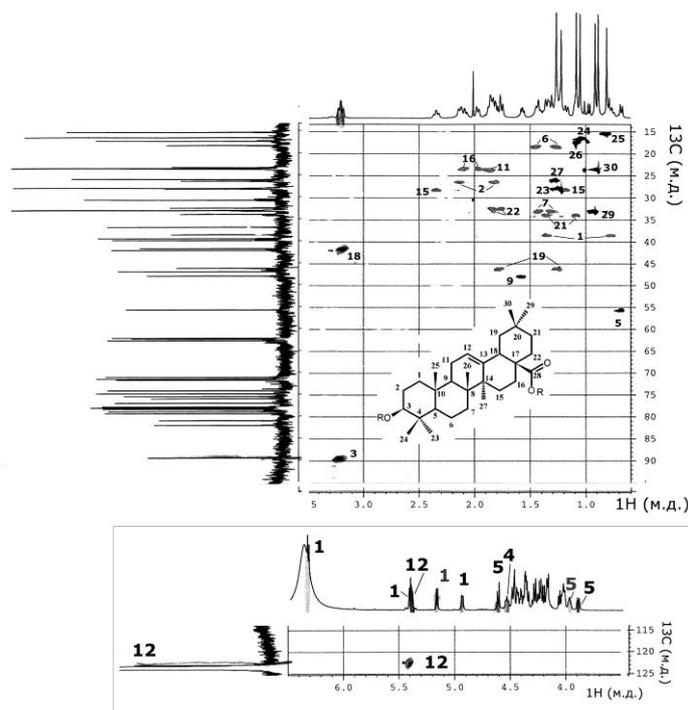


Рис. 3. Фрагменты спектра ^1H - ^{13}C edHSQC компонента **Pol 1**. Показаны отнесённые с помощью ^1H - ^1H COSY, TOCSY и ROESY сигналы агликона

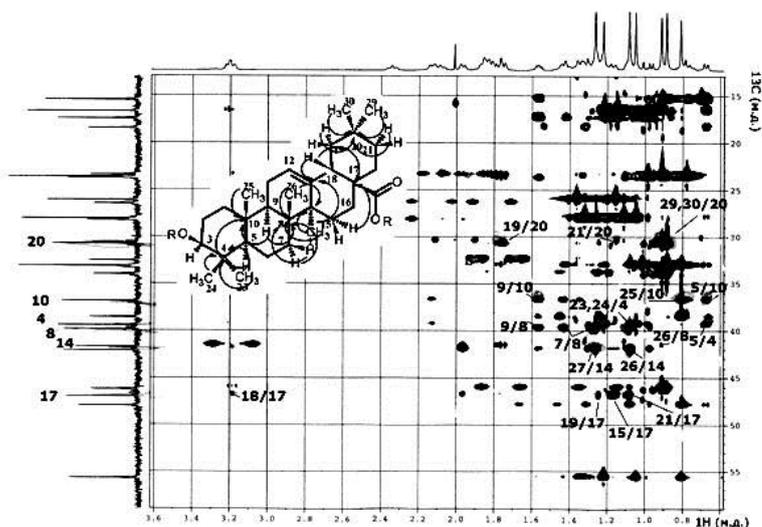


Рис. 4. Фрагмент спектра ^1H - ^{13}C НМВС компонента **Pol 1**. Показано отнесение сигналов четвертичных атомов углерода агликона. Отнесение C13 не представлено

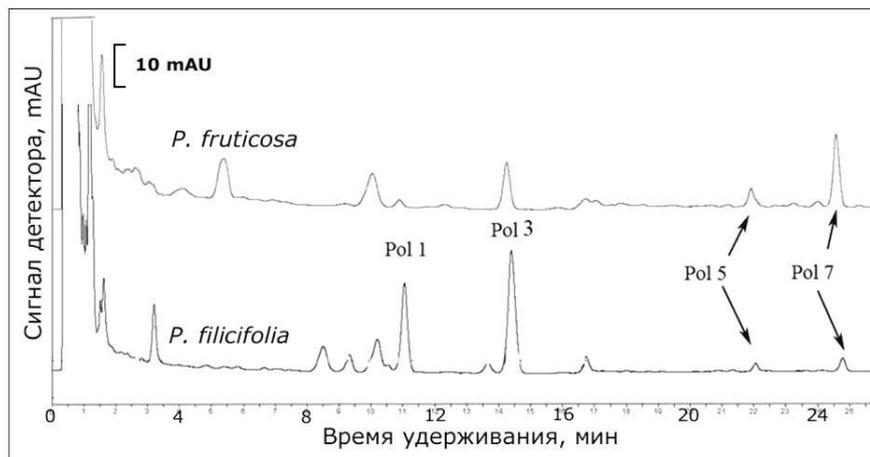


Рис. 5. Профили ВЭЖХ-экстрактов биомассы *Polyscias filicifolia*, «новый» штамм и *P. fruticosa*. Обозначения: Pol 1, 3, 5, 7 – пики соединений, времена удерживания которых совпали с таковыми у образцов гликозидов, выделенных из листьев *P. filicifolia*

Полученные результаты свидетельствуют, что **Pol 1** являлся бисдесмозидом олеаноловой кислоты, содержащим три остатка β -D-глюкопиранозы и один остаток β -D-глюкуронопиранозы. При этом β -конфигурация аномерных центров моносахаридов была установлена в соответствии с высокими значениями константы спин-спинового взаимодействия (КССВ) $J_{1,2}$ (6,8–7,8 Гц) и наличием при ROESY эксперименте типичных для β -сахаров корреляционных пиков H1/H3, H5. Места присоединения углеводных фрагментов к агликону, а также последовательность соединения моносахаридов друг с другом, определены с помощью экспериментов ROESY и HMBC.

Таким образом, на основании полученных результатов сделан вывод, что **Pol 1** имеет строение 28-O- β -D-глюкопиранозилового эфира 3-O- β -D-глюкопиранозил-(1 \rightarrow 4)-O-[β -D-глюкопиранозил-(1 \rightarrow 2)]-O- β -D-глюкуронопиранозиды олеаноловой кислоты и является идентичным полисциозиду E, найденному ранее в корнях *Polyscias fruticosa* [13], листьях *P. scutellaria* [14] и *P. guilfoylei* [15].

С помощью ВЭЖХ (рис. 5) было установлено, что полисциозид E присутствовал в биомассе как культуры *P. filicifolia* («новый» штамм), так и *P. fruticosa*. При этом наибольшее содержание данного гликозида (на 14 сутки роста) было от-

мечено у культуры клеток *P. filicifolia* («новый» штамм).

По данным ТСХ и ВЭЖХ, другие гликозиды, обнаруженные в биомассе культур клеток объектов исследования, были идентичны гликозидам **Pol 3**, **Pol 5** и **Pol 7** из листьев *P. filicifolia*, однако их структура требует дальнейшего изучения. В культуре клеток *P. filicifolia* («новый» штамм) основным был (наряду с полисциозидом E) **Pol 3**, а в культуре клеток *P. fruticosa* – **Pol 3** и **Pol 7** (рис. 5).

Стоит отметить, что полисциозид E ранее уже был найден в корнях и листьях различных видов полисциаса [13–15], однако в культуре клеток *in vitro* данный гликозид описан впервые.

Вывод. Можно заключить, что исследованные виды полисциаса сохраняют способность к образованию определённого набора гликозидов олеаноловой кислоты в условиях культуры клеток. Факт отсутствия тритерпеновых гликозидов в биомассе «коллекционного» штамма *P. filicifolia*, который к моменту исследования поддерживался в растущем состоянии около 20 лет, позволяет, опираясь на данные литературы [16], высказать предположение о том, что длительное выращивание культуры клеток может приводить к существенному снижению содержания олеанановых гликозидов. Однако для доказательства этого утверждения требуются дополнительные исследования.

Список литературы

1. Еляков, Г. Б. Гликозиды аралиевых / Г.Б. Еляков, Ю.С. Оводов // Химия природных соединений. – 1972. – Т. 6. – С. 697-709.
2. Гришковой, В. И. Тритерпеновые гликозиды аралиевых: выделение, установление строения, биологическая активность и хемотаксономическое значение: дис. докт. хим. наук / Гришковой Владимир Иванович // URL: <http://www.ukrreferat.com/index.php?referat=70466&pg=0>, – 2004. – 460 с.
3. Christensen, L. P. Ginsenosides chemistry, biosynthesis, analysis, and potential health effects // *Advances in Food Nutrition Research*. – 2008. – Vol. 55. – P. 1–99.
4. Dinda, B. Naturally occurring triterpenoid saponins / B. Dinda, S. Debnath, B.C. Mohanta, Y. Harigaya // *Chemistry & Biodiversity*. – 2010. – Vol. 7. – P. 2327–2580.
5. Qi, L.-W. Isolation and analysis of ginseng: advances and challenges / L.-W. Qi, C.-Z. Wang, C.-S. Yuan // *Natural Product Reports*. – 2011. – Vol. 28. – P. 467–495.
6. Суханова, Е. С. Ростовые и биосинтетические характеристики разных штаммов культур клеток растений рода *Polyscias* / Е. С. Суханова, Д. В. Кочкин, М. В. Титова, А. М. Носов // Вестник Поволжского государственного технологического университета. Сер.: Лес. Экология. Природопользование. – 2012. – № 2(16). – С. 57-66.
7. Бутенко, Р. Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений / Р. Г. Бутенко. – М.: Наука, 1964. – 272 с.
8. Слепян, Л. И. Культура тканей некоторых видов рода *Polyscias* J.R. et G. Forst. (Araliaceae) / Л.И. Слепян, Н.Н. Арнаутов, И.В. Грушвицкий // Растительные ресурсы. – 1975. – Т. 11. – С. 198-204.
9. Wu, J. Production of ginseng and its bioactive components in plant cell culture: Current technological and applied aspects / J. Wu, J.J. Zhong // *Journal of Biotechnology*. – 1999. – Vol. 68. – P. 89–99.
10. Суханова, Е. С. Получение и характеристика каллусных и суспензионных культур клеток *Polyscias filicifolia* и *Polyscias fruticosa* / Е.С. Суханова, Н.Д. Черняк, А.М. Носов // Биотехнология. – 2010. – № 4. – С. 44-50.
11. Суханова, Е. С. Влияние предшественника синтеза изопреноидов на ростовые и биосинтетические характеристики культуры клеток *Polyscias fruticosa* (L.) Harms. / Е.С. Суханова, Д.В. Кочкин, Э.И. Гафиятова, А.М. Носов // Вестник СВФУ им. А.К. Амосова. – 2011. – Т. 8. – С. 40-44.
12. Court, W. E. The principal active chemicals in *Panax* species // *Ginseng: The Genus Panax*. [ed. Court W.E.]. – New York : Harwood Academic Publishers, 2000. – P. 551–16.
13. Huan, V. D. Oleanane saponins from *Polyscias fruticosa* / V.D. Huan, S. Yamamura, K. Ohtani, R. Kasai, K. Yamasaki, N.T. Nham, H.M. Chau // *Phytochemistry*. – 1998. – Vol. 47. – P. 451-457.
14. Paphassarang, S. Triterpenoid saponins from *Polyscias scutellaria* / S. Paphassarang, J. Raynaud, M. Lussignol // *Journal of Natural Products*. – 1989. – Vol. 52. – P. 239-242.
15. Thi, N. A. T. Oleanane saponins from *Polyscias guilfoylei* Bail. (Araliaceae) / N.A.T. Thi, N.A.T. Thuy, N.T.H. Thi, N.S. Ngoc, N.P.P. Kim // *Science & Technology Development*. – 2009. – Vol. 12. – P. 21-28.
16. Verpoorte, R. Biotechnology for the production of plant secondary metabolites / R. Verpoorte, A. Contin, J. Memelink // *Phytochemistry Reviews*. – 2002. – Vol. 1. – P. 13–25.

Статья поступила в редакцию 21.11.13.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках реализации ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007-2013 годы» (государственный контракт № 16.552.11.7089 от 12 июля 2012 г.) с использованием оборудования ЦКП «ЭБЭЭ» ФГБОУ ВПО «ПГТУ» и Межгосударственной целевой программы ЕвразЭС «Инновационные биотехнологии» (государственный контракт № 16.M04.12.0003).

КОЧКИН Дмитрий Владимирович – кандидат биологических наук, научный сотрудник кафедры физиологии растений биологического факультета, Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова (Российская Федерация, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1). Область научных интересов – физиология растений. Автор 10 публикаций.

E-mail: info@mail.bio.msu.ru

СУХАНОВА Елена Сергеевна – кандидат биологических наук, научный сотрудник кафедры физиологии растений биологического факультета, Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова (Российская Федерация, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1). Область научных интересов – культура клеток, вторичный метаболизм высших растений. Автор 17 публикаций.

E-mail: mushilda@mail.ru

SERGEEV Роман Владимирович – кандидат сельскохозяйственных наук, старший преподаватель кафедры лесной селекции, недревесных ресурсов и биотехнологии, Поволжский государственный технологический университет (Российская Федерация, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, д. 3). Область научных интересов – биотехнология. Автор более 20 публикаций.

E-mail: sergeyevrv@volgatech.net

НОСОВ Александр Михайлович – доктор биологических наук, профессор кафедры физиологии растений, Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, зав. отделом биологии клетки и биотехнологии, Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН (Российская Федерация, 127276, Москва, ул. Ботаническая, д. 35). Область научных интересов – биотехнология. Автор более 100 публикаций.

E-mail: amn@ippras.ru

KOCHKIN Dmitry Vladimirovich – Candidate of Biological Sciences, Research officer at the Chair of Plant Physiology, Biological Faculty, Moscow State University named after M. V. Lomonosov (1, Leninskie gory, Moscow, 119991, Russian Federation). Research interests – plant physiology. The author of 10 publications.

E-mail: info@mail.bio.msu.ru

SUKHANOVA Elena Sergeevna – Candidate of Biological Sciences, Research officer at the Chair of Plant Physiology, Biological Faculty, Moscow State University named after M. V. Lomonosov (1, Leninskie gory, Moscow, 119991, Russian Federation). Research interests – cell culture, secondary metabolism of higher plants. The author of 17 publications.

E-mail: mushilda@mail.ru

SERGEEV Roman Vladimirovich – Candidate of Agricultural Sciences, Senior Lecturer at the Chair of Wood Selection, Non-Woody Resources and Biotechnology, Volga State University of Technology (3, Pl.Lenina, Yoshkar-Ola, 424000, Russian Federation). Research interests – biotechnology. The author of more than 20 publications.

E-mail: sergeyevrv@volgatech.net

NOSOV Alexander Mikhailovich – Doctor of Biological Sciences, Professor at the Chair of Plant Physiology, Moscow State University named after M. V. Lomonosov, Head of the Department of Cytobiology and Biotechnology, Institute of Plant Physiology named after K.A. Timiryazev, RAS (35, Ul.Botanicheskaya, Moscow, 127276, Russian Federation). Research interests – biotechnology. The author of more than 100 publications.

E-mail: amn@ippras.ru

D. V. Kochkin, E. S. Sukhanova, R. V. Sergeev, A. M. Nosov

TRITERPENE GLYCOSIDES OF POLYSCIAS SPP. CELL CULTURES

Key words : cell culture in vitro; HPLC; NMR; oleanolic acid; polyscioside E.

ABSTRACT

*Pol 1 was a bidesmoside of oleanolic acid containing three residues of β -D-glucopyranose and one residue of β -D-glucuronopyranose. β -configuration of anomeric centers of monosaccharides was determined in accordance with high values of spin-spin coupling constants (KCCB) J1,2 (6.8-7.8 Hz) and presence in ROESY experiment of typical for β -sugar of correlation peaks H1/H3, H5. Connection places of carbohydrate elements to aglycon as well as consequence of monosaccharides combination with each other were determined by means of ROESY and HMBC experiments. Pol 1 has a structure of 28-O- β -D-glucopyranosyl ether 3-O- β -D-glucopyranosyl - (1 \rightarrow 4)-O-[β -D-glucopyranosyl -(1 \rightarrow 2)]-O- β -D-glucuronopyranoside of oleanolic acid and is identical to polyscioside E, earlier discovered in the roots of *Polyscias fruticosa*, leaves of *P. scutellaria* and *P. guilfoylei*. It was revealed there was polyscioside E both in the biomass of *P. filicifolia* («new strain») and in *P. fruticosa*. At that, the biggest contain of this glycoside (14th day of growth) was found in *P. filicifolia* («new strain»). According to TLC and HPLC, other glycosides, found in the biomass of the studied cells, were identical to glycosides of Pol 3, Pol 5 and Pol 7 from the leaves of *P. filicifolia*. Nevertheless, their structure needs to be studied yet. In *P. filicifolia* («new strain») the main glycoside was Pol 3 (together with polyscioside E) and in *P. fruticosa* — Pol 3 and Pol 7.*

References

1. Elyakov G. B., Ovodov Yu.S. Glikozidy araliyevykh [Araliaceae Glycosides]. *Khimiya prirodnykh soedineniy* [Chemistry of Natural Products]. 1972. Vol. 6. P. 697-709.
2. Grishkovets V.I. Triterpenovye glikozidy araliyevykh: vydelenie, ustanovlenie stroeniya, biologicheskaya aktivnost i khemotaksonomicheskoe znachenie: dis.dokt.khim.nauk [Oxyisine Araliaceae Glycosides: Extraction, Characterization, Biological Activity and Chemotaxonomic Significance : Diss. Doc.Chem.Sci.]. URL: <http://www.ukrreferat.com/index.php?referat=70466&pg=0>, 2004. 460 p.
3. Christensen L. P. Ginsenosides Chemistry, Biosynthesis, Analysis, and Potential Health Effects. *Advances in Food Nutrition Research*. 2008. Vol. 55. P. 1–99.
4. Dinda B., Debnath S., Mohanta B.C., Harigaya Y. Naturally Occurring Triterpenoid Saponins. *Chemistry & Biodiversity*. 2010. Vol. 7. P. 2327–2580.
5. Qi L.-W., Wang C.-Z., Yuan C.-S. Isolation and Analysis of Ginseng: Advances and Challenges. *Natural Product Reports*. 2011. Vol. 28. P. 467–495.
6. Sukhanova E. S., Kochkin D.V., Titova M.V., Nosov A.M. Rostovye i biosinteticheskie kharakteristiki raznykh shtammov kultur kletok rasteniy roda *Polyscias* [Growth and Biosynthetic Characteristics of Different Strains of Cell Culture of *Polyscias* Plants]. *Vestnik Povolzhskogo gosudarstvennogo tekhnologicheskogo universiteta. Ser. Les. Ecologiya. Prirodopolzovanie* [Vestnik of Volga State University of Technology. Ser.: Forest. Ecology. Nature Management]. 2012. No 2(16). P. 57-66.
7. Butenko R. G. Kultura izolirovannykh tkaney i fiziologiya morfogeneza rasteniy [Culture of Isolates Tissues and Physiology of Plants Morphogenesis]. Moscow: Nauka, 1964. 272 p.
8. Slepyan L. I., Arnautov N.N., Grushvitskiy I.V. Kultura tkaney nekotorykh vidov roda *Polyscias* J.R. et G. Forst. (Araliaceae) [Culture of Tissues of Some Types of *Polyscias* J.R. et G. Forst. (Araliaceae)]. *Rastitelnye resursy* [Plant Resources]. 1975. Vol. 11. P. 198-204.
9. Wu J., Zhong J.J. Production of Ginseng and Its Bioactive Components in Plant Cell Culture: Current Technological and Applied Aspects. *Journal of Biotechnology*. 1999. Vol. 68. P. 89-99.
10. Sukhanova E. S., Chernyak N.D., Nosov A.M. Poluchenie i kharakteristika kallusnykh i suspenzionnykh kultur kletok *Polyscias filicifolia* i *Polyscias fruticosa* [Obtaining and Characteristics of Callus and Suspension Cultures of *Polyscias filicifolia* and *Polyscias fruticosa* Cells]. *Biotehnologiya* [Biotechnology]. 2010. No 4. P. 44-50.
11. Sukhanova E. S., Kochkin D.V., Gafiyatova E.I., Nosov A.M. Vliyanie predshestvennika sinteza izoprenoidov na rostovye i biosinteticheskie kharakteristiki kultury kletok *Polyscias fruticosa* (L.) Harms. [Influence of Precursor of Synthesis of Isoprenoids on Growth and Biosynthetic Characteristics of *Polyscias fruticosa* (L.) Harms Cell Culture]. *Vestnik SVFU im. A.K. Amosova* [Vestnik of North-Eastern Federal University named after A. K. Amosov]. 2011. Vol. 8. P. 40-44.
12. Court W. E. The Principal Active Chemicals in *Panax* Species. Ginseng: The Genus *Panax*. New York : Harwood Academic Publishers, 2000. P. 551–16.
13. Huan V. D., Yamamura S., Ohtani K., Kasai R., Yamasaki K., Nham N.T., Chau H.M. Oleanane Saponins from *Polyscias fruticosa*. *Phytochemistry*. 1998. Vol. 47. P. 451-457.
14. Paphassarang S., Raynaud J., Lussignol M. Triterpenoid Saponins from *Polyscias scutellaria*. *Journal of Natural Products*. 1989. Vol. 52. P. 239-242.
15. Thi N. A. T., Thuy N.A.T., Thi N.T.H., Ngoc N.S., Kim N.P.P. Oleanane Saponins from *Polyscias guilfoylei* Bail. (Araliaceae). *Science & Technology Development*. 2009. Vol. 12. P. 21-28.
16. Verpoorte R., Contin A., Memelink J. Biotechnology for the Production of Plant Secondary Metabolites . *Phytochemistry Reviews*. 2002. Vol. 1. P. 13–25.