

Antrinių metabolitų kitimo įvertinimas vaistiniuose augaluose ir vaistinio šalavijo (*Salvia officinalis* L.) auginimo *in vitro* optimizavimas

A. Ramanauskas, I. Jonuškienė

Kauno technologijos universitetas,
Radvilėnų pl. 19, LT-50254 Kaunas, Lietuva
El. paštas rip13@gmail.com

crossref <http://dx.doi.org/10.5755/j01.ct.64.2.6021>

Gauta 2013 m. lapkričio 6 d.; priimta spaudai 2013 m. gruodžio 16 d.

Darbo tikslas buvo nustatyti vaistingųjų augalų (paprastojo čiobrelio, vaistinės medetkos, didžiosios dilgėlės, dygliuotojo šaltalankio, vaistinio šalavijo, vaistinės taukės, paprastosios kraujažolės, karčiojo kiekio, paprastosios pakalnutės), augusių *in vivo*, antrinius metabolitus (vitaminą C, raugines medžiagas, flavonoidus, bendruosius fenolinius junginius) ir ištirti jų antioksidacinį aktyvumą. Nustatyta, kad iš 9 tirtų augalų didžiausius vaistingųjų medžiagų kiekius kaupia šie augalai: vitaminą C (297,19 mg/100g) – dygliuotas šaltalankis (*Hippophae rhamnoides* L.), raugus (10,2 %) – paprastasis čiobrelis (*Thymus serpyllum* L.), flavonoidus (4,39 mg/g) – vaistinė medetka (*Calendula officinalis* L.), bendruosius fenolinius junginius (49,91 mg/g) – vaistinis šalavijas (*Salvia officinalis* L.). Nustatyta, kad vaistinis šalavijas *in vitro* sukaupe 1,7 karto daugiau rauginių medžiagų, 3,8 karto vitamino C ir 3 kartus flavonoidų, palyginti su vaistiniu šalavijumi, augusiu *in vivo*.

Raktažodžiai: vaistiniai augalai, vaistinis šalavijas, antriniai metabolitai.

Įvadas

Augalų metabolitai (pirminiai ir antriniai) – tai organiniai junginiai, kurie susidaro augalų ląstelėse, audiniuose ir organuose vykstant medžiagų apykaitai. Pirminiai metabolitai augalų ląstelėms yra gyvybiškai būtini. Tai – riebalai, baltymai, aminorūgštys, nukleorūgštys, sacharidai, chlorofilas *a* ir *b*. Antriniai metabolitai – tai tarpiniai ir galutiniai medžiagų apykaitos produktai. Augalai kaupia šiuos antrinius metabolitus: flavonoidus, eterinius aliejus, alkaloidus, glikozidus, gliukozinolatus, terpenus, steroidus, saponinus, kumarinus, lignanus. Skirtingų augalų rūšių metaboliniai keliai turi skirtingas biochemines reakcijas [1].

Yra žinoma, kad paprastojo čiobrelio (*Thymus serpyllum* L.) vaistinė medžiaga pasižymi dezinfekuojamosiomis ir raminamosiomis savybėmis. Vaistinės medetkos (*Calendula officinalis* L.) preparatai slopina uždegimus, spartina audinių granuliacijos procesus. Didžiosios dilgėlės (*Urtica dioica* L.) preparatai vartojami kaip polivitamininė žaliava. Taip pat jie pasižymi kraujavimą stabdančiu poveikiu, didina hemoglobino kiekį, skatina šlapimo išsiskyrimą. Dygliuotojo šaltalankio (*Hippophae rhamnoides* L.) vaisiai – polivitamininė žaliava, o jų aliejus turi uždegiminį slopinamąjį, nuskausminamąjį, antimikrobinį poveikį, spartina žaizdų gijimą. Vaistinių šalavijų (*Salvia officinalis* L.) preparatai vartojami kaip baktericidinė, sutraukiamoji priemonė, taip pat priemonė nuo uždegimo. Vaistinė taukė (*Symphitum officinale* L.) liaudies medicinoje vertinama dėl uždegimo slopinamojo, antimikrobinio, kraujavimą stabdančio poveikio. Paprastosios kraujažolės (*Achillea millefolium* L.) žolė ir žiedai yra kraujavimą stabdantis, žaizdas gydantis vaistas.

Karčiojo kiekio (*Artemisia absinthium* L.) preparatai naudojami virškinimui pagerinti, taip pat skatina tulžies išsiskyrimą, slopina uždegimus. Paprastosios pakalnutės (*Convallaria majalis* L.) preparatai skiriami širdies nepakankamumui, neurozėms, kardiosklerozei gydyti. Jie retina širdies susitraukimų ritmą, stiprina širdies susitraukimus [2].

Vaistinių augalų biotechnologijos tikslas yra išskirti bioaktyvius antrinius metabolitus iš vaistinių augalų *in vitro*. Augalų biotechnologijoje galima išskirti antrinius metabolitus pigiau ir su didesne išeiga nei naudojant augalus, išaugintus natūraliomis sąlygomis. Iš vaistinių augalų kultūrų išskirti antriniai metabolitai yra tikslios cheminės sudėties, grynų ir natūralūs. Antriniai metabolitai, išskirti iš augalų, yra naudojami farmacijoje, kosmetikoje, taip pat kaip maisto priedai, insekticidai. Dauguma antrinių metabolitų pasižymi specifiniu biologiniu aktyvumu, pvz., fitoaleksinai dėl antimikrobinio aktyvumo augalus apsaugo nuo grybų ir pažeidimų [1].

Sintetinių antrinių metabolitų kaupimąsi augalų audinių kultūrose lemia daug veiksnių. Pirmiausia jų kiekis, kaupimosi kiekybiniai ir kokybiniai dėsningumai priklauso nuo augalo rūšies, genotipo, genetinės prigimties, amžiaus, augimo ir vystymosi fazės.

Antriniam metabolitams gauti naudojamos skirtingos kultūros *in vitro*:

- kaliaus kultūros;
- ląstelių suspensinės kultūros,
- organų (daigų ir šaknų) kultūros.

Antrinių metabolitų išeigai padidinti taikomi įvairūs metodai:

1) optimizuojamos augalinių ląstelių ir audinių kultūrų auginimo sąlygos:

- a) keičiami maitinamosios terpės komponentai, augimo regulatoriai,
 - b) nustatomas palankiausias pH,
 - c) reguliuojama šviesa, aeracija, maišymas;
- 2) atliekama augalinių ląstelių selekcija;
 - 3) automatizuojamas augalinių ląstelių auginimas bioreaktoriuose.

Antrinių metabolitų sintezės efektyvumą lemia maitinamosios terpės sudėtis, kuri reikalinga tiek augalams auginti, tiek antriniams metabolitams susidaryti. Norint pagerinti maitinamosios terpės sudėtį, būtina maitinamojoje terpėje optimizuoti hormoninius ir mineralinius priedus [1].

Iš literatūros yra žinoma, kad vaistinis šalavijas (*Salvia officinalis* L.) ląstelių kultūrose *in vitro* kaupia rozmarino rūgštį (36,0 %), fenolinius junginius, pasižyminčius antioksidaciniu aktyvumu, kavos rūgšties darinius [3].

Šio darbo tikslas – nustatyti vaistingųjų augalų (paprastojo čiobrelio, vaistinės medetkos, didžiosios dilgėlės, dygliuotojo šaltalankio, vaistinio šalavijo, vaistinės taukės, paprastosios kraujažolės, karčiojo kiekio, paprastosios pakalnūtės), augusių *in vivo*, antrinius metabolitus (vitaminą C, rauginės medžiagos, flavonoidus, bendruosius fenolinius junginius) ir antioksidacinį aktyvumą.

Siekiant darbo tikslo buvo iškelti šie darbo uždaviniai:

- atrinkti vaistinius augalus *in vivo*, kaupiančius didžiausius antrinius metabolitus;
- ištirti, kokiomis sąlygomis esant vaistinio šalavijo auginimo intensyvumas ir kaupiamų metabolitų kiekiai yra didžiausi.

Medžiagos ir tyrimų metodikos

Tyrimai atlikti Kauno technologijos universiteto Cheminės technologijos fakulteto Biotechnologijos ir Lietuvos agrarinių ir miškų mokslų centro filialo Sodininkystės ir daržininkystės instituto Biochemijos ir technologijos laboratorijose. Tiriamoji medžiaga – vaistiniai augalai surinkti 2012 metais Kalvarijos rajone birželio–rugpjūčio mėnesiais, apdoroti skystu azotu ir susmulkinti. Augalų ekstraktų radikalų sujungimo aktyvumas stabilus DPPH radikalo reakcijos sistemoje buvo nustatytas spektrofotometru, taikant Brand ir Williams ir kt. metodą [4]. Vitaminui C nustatyti buvo pasirinktas metodas, kurio metu askorbo rūgštis reaguoja su 2,6-dichlorofenolindofenolio natrio druskos hidratu [5]. Flavonoidai buvo nustatyti taikant $AlCl_3$ metodą, rauginės medžiagos nustatytos taikant titravimo metodą [6]. Chlorofilo *a* ir *b* bei karotinoidų nustatymas augalų audiniuose buvo paremtas optinio tankio matavimu spektrofotometru [6]. Bendras fenolinių junginių kiekis vaistinių augalų ekstraktuose buvo nustatytas Folin ir Ciocalteu reagentu, taikant Slinkard ir Singleton metodą [7]. Iš visų tirtų vaistinių augalų biotechnologiniams tyrimams buvo pasirinktas vaistinis šalavijas, kuris pasižymėjo didžiausiu kaupiamų antrinių metabolitų kiekiu. Atliekant tyrimą vaistinio šalavijo (*Salvia officinalis* L.) sėklos sterilintos 1 % NaClO tirpalu 15 min

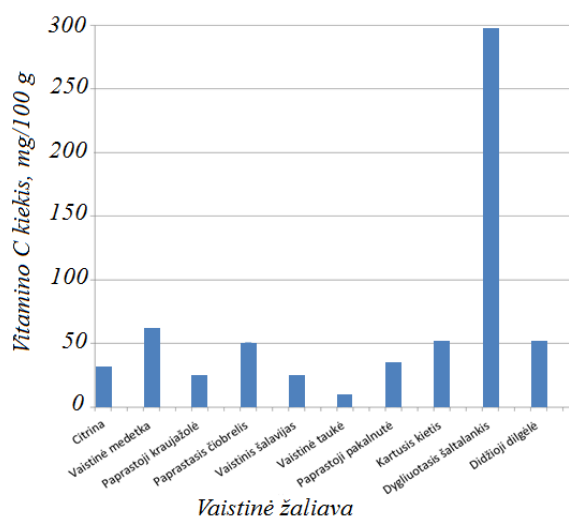
ir 3 kartus plaunamos steriliu distiliuotu vandeniu. Sėklų sodinimas į Petri lėkštes vykdomas laminare [7].

Tyrimas vykdomas naudojant tris skirtingas MS (Murashige & Skoog), G1 (terpės sudėtyje buvo dvigubas KH_2PO_4 kiekis negu įprastai) ir G2 (terpės sudėtyje buvo keturgubas KH_2PO_4 kiekis nei įprastai). Paruoštos skirtingos sudėties mitybinės terpės pH matuokliu Meter Winlab® Data-Line ir 0,1 N HCl, 0,1 N NaOH tirpalais kiekvienoje terpėje buvo nustatytos pH reikšmės 4,7; 5,2; 5,7; 6,2; 6,7. Iš viso buvo padaryta penkiolika skirtingų mitybinių terpių, kurios skiriasi sudėtimi ir pH verte.

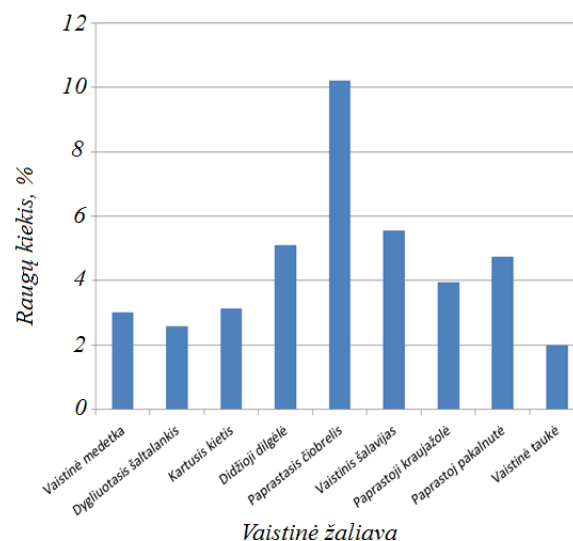
Statistinis rezultatų įvertinimas. Gauti tyrimų rezultatai buvo statistiškai apdoroti ir įvertinti, skaičiuojant standartinę vidurkio paklaidą [8].

Rezultatai ir jų aptarimas

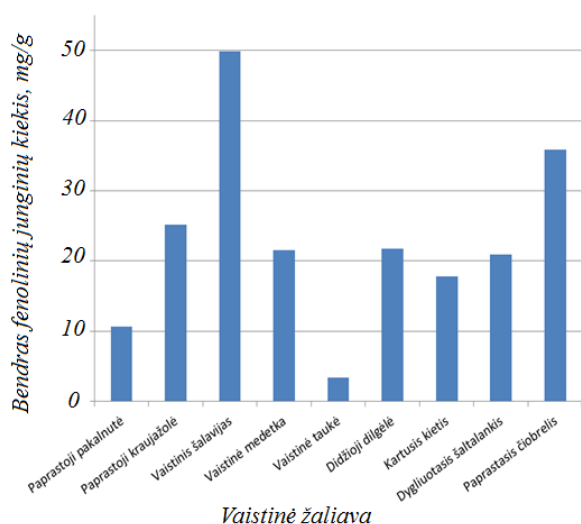
Nustatyti vitamino C, flavonoidų, bendrųjų fenolinių junginių, raugų kiekiai ir antiradikalinis aktyvumas skirtingose vaistinėse augalinėse žaliavose (1; 2; 3; 4; 5 pav.).



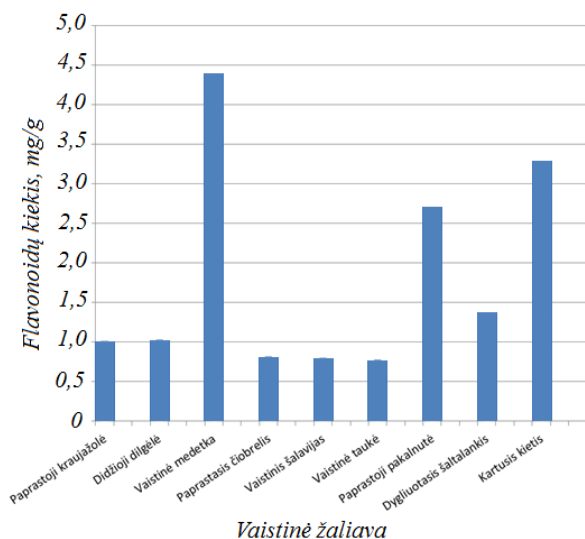
1 pav. Askorbo rūgšties kiekis skirtingose žaliavose



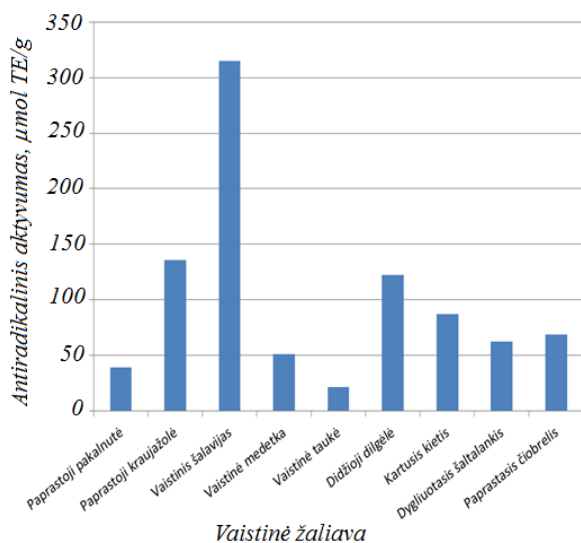
2 pav. Rauginių medžiagų kiekis vaistiniuose augaluose



3 pav. Bendras fenolinių junginių kiekis skirtingose žaliavose



4 pav. Flavonoidų kiekis skirtingoje žaliavoje



5 pav. Antioksidantinis aktyvumas vaistinėse žaliavose

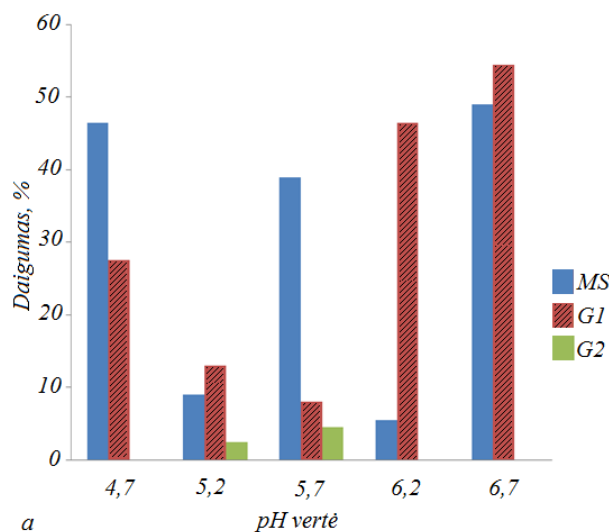
Iš gautų rezultatų (1–5 pav.) matyti, kad didžiausias vitamino C kiekis buvo dygliuotame šaltalankyje (297,19 mg/100 g), t. y. 9,46 karto daugiau negu buvo citrinoje, raugų kiekis – paprastajame čobrelyje (10,2 %), flavonoidų kiekis – vaistinėje medetkoje (4,39 mg/g), bendras fenolinių junginių kiekis – vaistiniame šalavijuje (49,91 mg/g), o didžiausias antioksidantinis slopinimas – vaistiniame šalavijuje (314,90 μmol TE/g sausos masės). Iš literatūros yra žinoma, kad vaistinis šalavijas *in vivo* kaupė flavonoidus nuo 0,034 mg/g iki 0,22 mg/g [9], vaistinė medetka – nuo 2,1 mg/g iki 6,8 mg/g [10]. Vitamino C kiekis dygliuotame šaltalankyje *in vivo* kito nuo 28 mg/100 g iki 201 mg/100 g [11]. Mūsų tyrimuose flavonoidų kiekis vaistiniame šalavijuje *in vivo* buvo 0,75 mg/g, vaistinėje medetkoje – 4,39 mg/g, o vitamino C kiekis dygliuotame šaltalankyje – 297,19 mg/100 g. Mažiausius kiekius metabolitų kaupė vaistinė taukė.

Vaistinio šalavijo (*Salvia officinalis* L.) auginimo *in vitro* optimizavimas

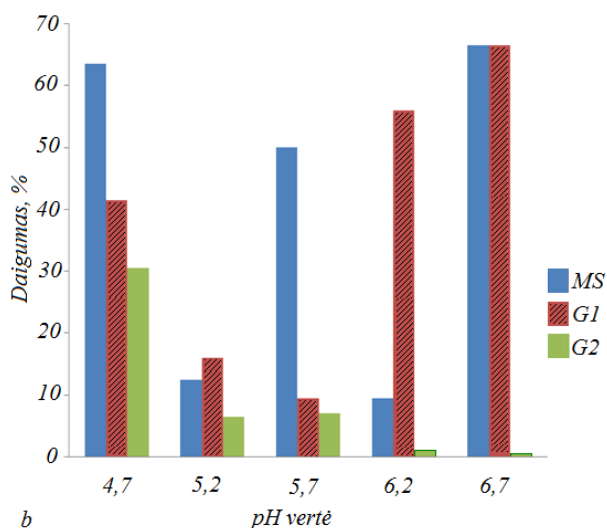
Iš ankstesnių tyrimų nustatyta, kad daugiausiai veikliųjų medžiagų turi vaistinis šalavijas ir paprastasis čobrelis, kuriems dar būdingas didžiausias antioksidacinis aktyvumas. Toliau tyrimams pasirinktas vaistinis šalavijas (*Salvia officinalis* L.). Vaistinė žaliava vertinama ne tik dėl kaupiamų metabolitų kiekio, bet ir dėl vaistinės žaliavos biomasės. Todėl šis tyrimas atliekamas, norint nustatyti, kokiomis sąlygomis vaistinio šalavijo auginimo intensyvumas ir kaupiamų metabolitų kiekiai yra didžiausi.

Vaistinio šalavijo sėklų daigumo šviesoje ir tamsoje, augusio skirtingose terpėse, palyginimas

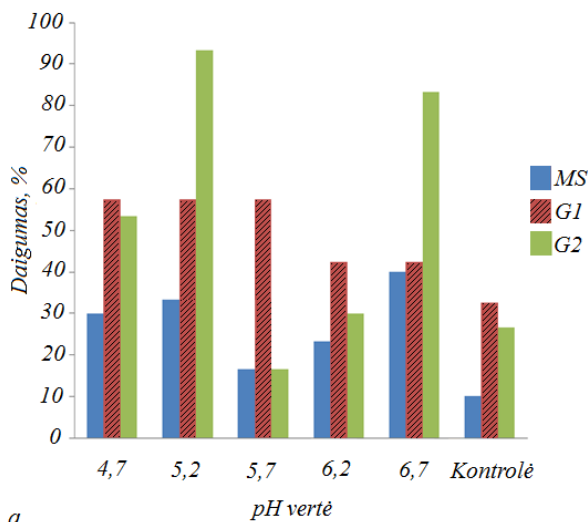
Iš rezultatų matyti (6 pav.), kad vaistinio šalavijų sėklų daigumas buvo geriausias šviesoje MS (po 8 dienų – 49 % ir po 13 dienų – 66 %) ir G1 (po 8 dienų – 54 % ir po 13 dienų – 66 %), maitinamosiose terpėse, kurių pH buvo 6,7. Vaistinio šalavijo sėklos maitinamojoje terpėje, kurios pH buvo 4,7; 6,2 ir 6,7 nesudygo.



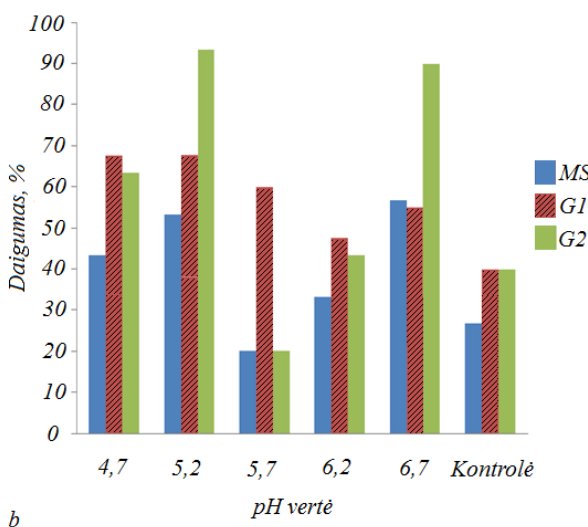
6 pav., a. Vaistinio šalavijo sėklų daigumas po 8 dienų šviesoje skirtingose mitybinėse terpėse esant skirtingoms pH reikšmėms



7 pav., b. Vaistinio šalavijo sėklų daigumas po 13 dienų šviesoje skirtingose mitybinėse terpėse esant skirtingoms pH reikšmėms



8 pav. Vaistinio šalavijo sėklų daigumas po 8 dienų tamsoje skirtingose mitybinėse terpėse esant skirtingoms pH reikšmėms

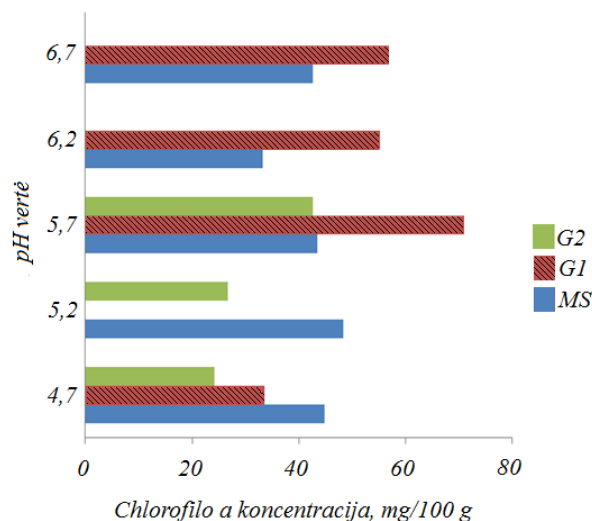


9 pav. Vaistinio šalavijo sėklų daigumas po 13 dienų tamsoje skirtingose mitybinėse terpėse esant skirtingoms pH reikšmėms

Iš gautų rezultatų matyti (7 ir 8 pav.), kad vaistinio šalavijo sėklų daigumas buvo geriausias tamsoje G2 maitinamojoje terpėje, kurios pH 5,2 (po 8 dienų – 93 % ir po 13 dienų – 93 %) ir 6,7 (po 8 dienų – 83 % ir po 13 dienų – 90 %). Kontroliniame variante buvo distiliuotas vanduo.

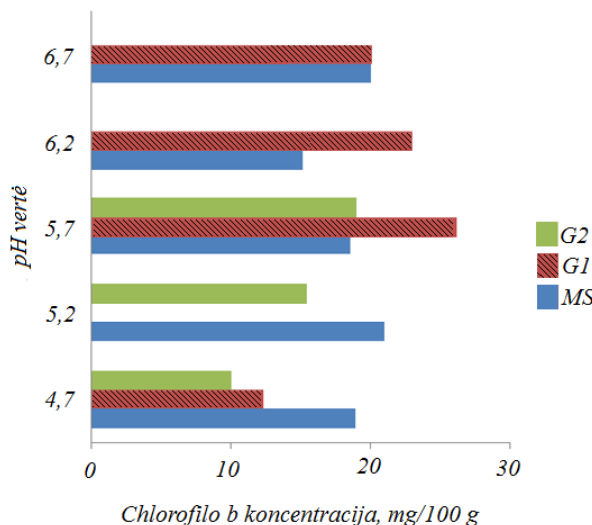
Chlorofilo *a* ir *b* bei karotinoidų kiekio įvertinimas vaistiniame šalavijuje *in vitro*

Chlorofilo *a* ir *b* bei karotinoidų kiekiai buvo nustatyti vaistiniame šalavijuje, auginame skirtingą pH vertę turinčiose maitinamosiose terpėse po 15 dienų. Vaistinio šalavijo chlorofilo *a* ir *b* bei karotinoidų kiekio tyrimas nebuvo atliktas G2 maitinamojoje terpėje, kurios pH 6,2 ir 6,7, ir G1 maitinamojoje terpėje (pH 5,2) dėl augalinės žaliavos stygiaus.



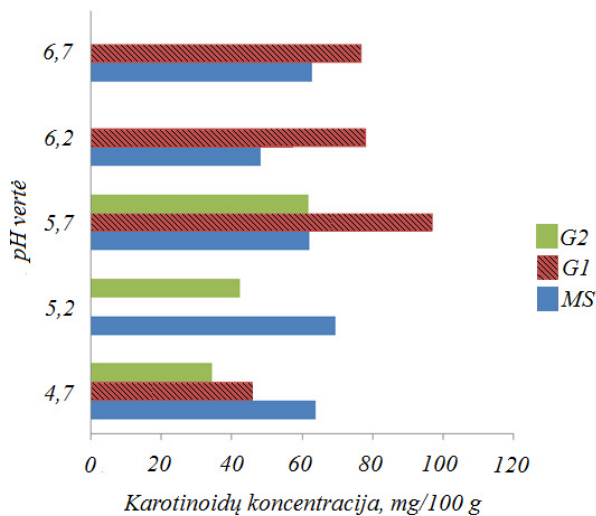
10 pav. Chlorofilo *a* kiekio vaistiniame šalavijuje palyginimas esant skirtingoms pH reikšmėms ir skirtingoms terpėms

Iš rezultatų matyti (9 pav.), kad didžiausias chlorofilo *a* kiekis vaistiniame šalavijuje buvo auginame G1 maitinamojoje terpėje, kurios pH 5,7 (70,94 mg/100 g) ir 6,7 (56,92 mg/100 g) po 15 dienų.



11 pav. Chlorofilo *b* kiekio vaistiniame šalavijuje palyginimas esant skirtingoms pH reikšmėms ir skirtingoms terpėms

Iš gautų duomenų matyti (10 pav.), kad didžiausias chlorofilo *b* kiekis buvo vaistiniame šalavijuje, augintame G1 maitinamojoje terpėje, kurios pH 5,7 (26,22 mg/100 g) ir 6,2 (22,99 mg/100 g) po 15 dienų.



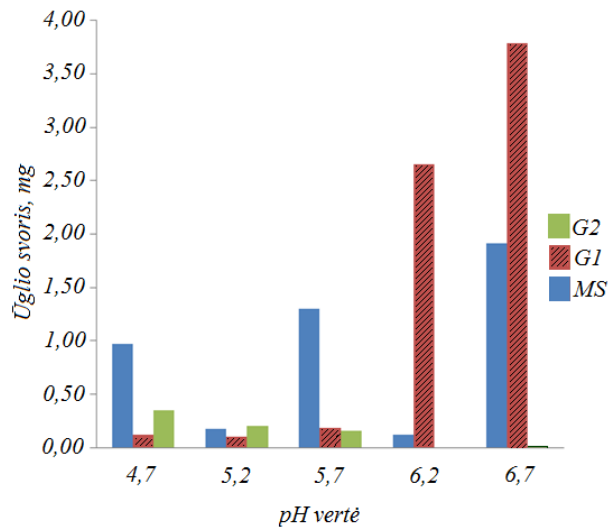
12 pav. Karotinoidų kiekio vaistiniame šalavijuje palyginimas esant skirtingoms pH reikšmėms ir skirtingoms terpėms

Iš rezultatų (11 pav.) matyti, kad didžiausias karotinoidų kiekis vaistiniame šalavijuje augintame G1 maitinamojoje terpėje, kurios pH 5,7 (97,16 mg/100 g) ir 6,2 (78,24 mg/100 g) po 15 dienų.

Vaistinio šalavijo, augusio skirtingose terpėse, biomasės kiekio palyginimas

Vaistinio šalavijo biomasei įvertinti buvo naudota vaistinė žaliava, kuri auginta MS, G1, G2 maitinamosiose terpėse esant skirtingoms pH reikšmėms. Po 30 dienų

auginimo ūgliukai atskirti nuo terpių ir išdžiovinti. Rezultatai pateikti 12 pav.

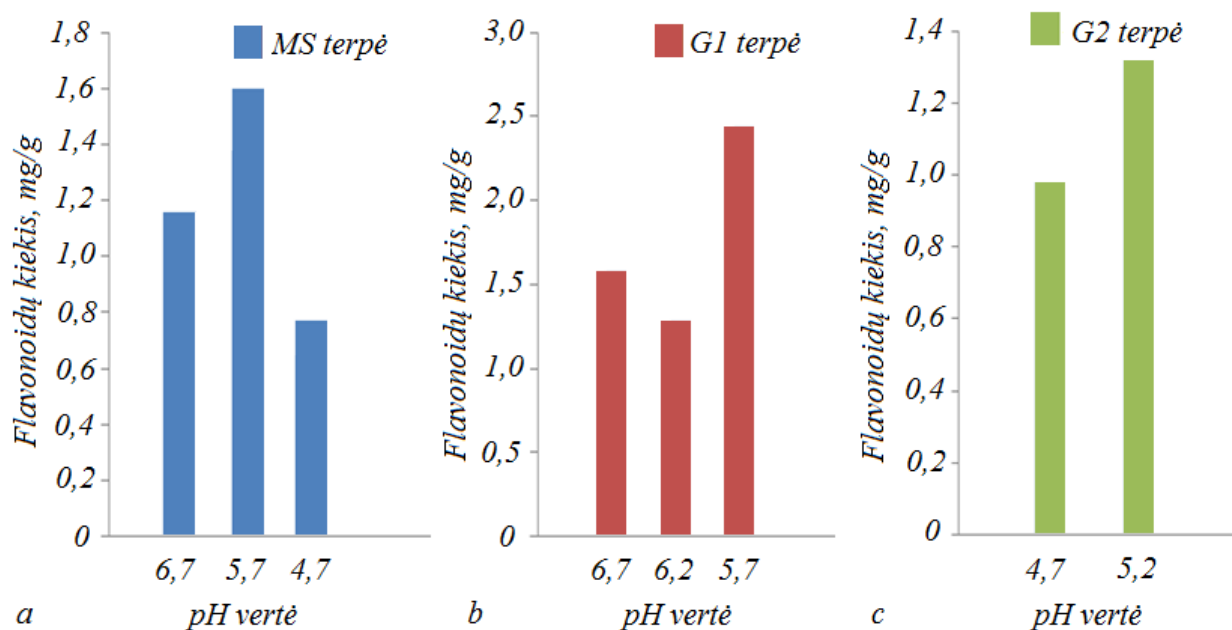


13 pav. Vidutinis vaistinio šalavijaus, augusio maitinamosiose terpėse esant skirtingoms pH reikšmėms, vieno ūglio svoris

Tyrimo rezultatai (12 pav.) parodė, kad didžiausias vidutinis vaistinio šalavijo vieno ūglio svoris buvo augintame G1 maitinamojoje terpėje, kurios pH 6,7 (3,78 mg) ir 6,2 (2,65 mg). Vaistinis šalavijas nesukaupe biomasės G2 maitinamojoje terpėje (pH 6,2 ir 6,7).

Flavonoidų kiekio palyginimas vaistiniame šalavijuje

Flavonoidams kiekybiškai (pagal hiperozidą) įvertinti naudoti išdžiovinti augalai, išauginti naudojant maitinamąsias terpes esant skirtingoms pH reikšmėms (13 pav.).

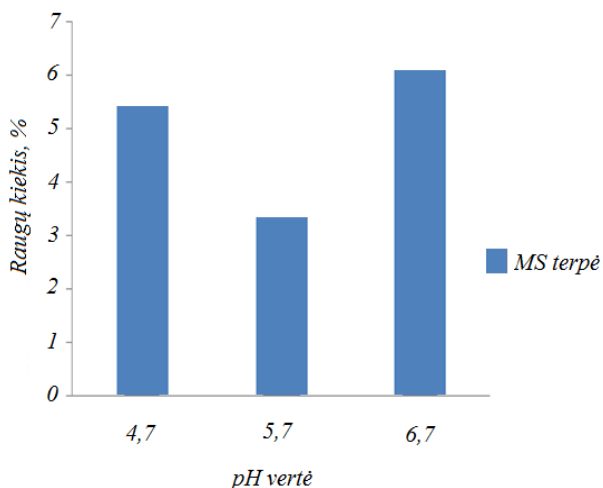


14 pav. Flavonoidų kiekis vaistiniame šalavijuje, augusio MS (a), G1 (b) ir G2 (c) maitinamosiose terpėse esant skirtingoms pH reikšmėms

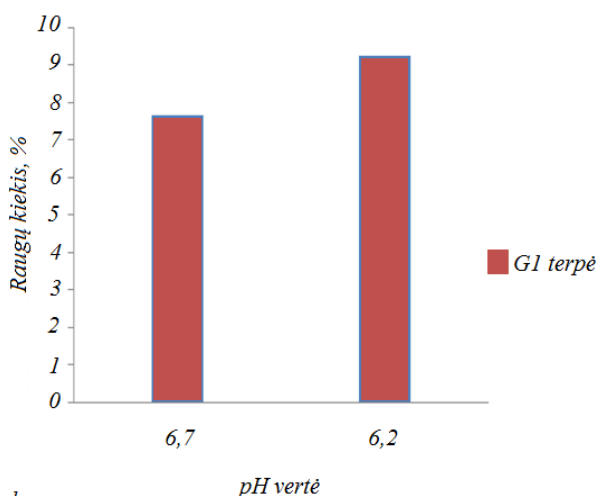
Iš rezultatų (13 pav.) matyti, kad didžiausi flavonoidų kiekiai buvo vaistiniame šalavijuje, augusiame MS ir G1 terpėse, kai pH 5,7 (1,60 ir 2,43 mg/g), G2 terpėje, kai pH 5,2 (1,32 mg/g).

Rauginių medžiagų kiekio palyginimas vaistiniame šalavijuje

Rauginėms medžiagoms kiekybiškai nustatyti buvo naudota vaistinio šalavijo sausa žaliava.



a



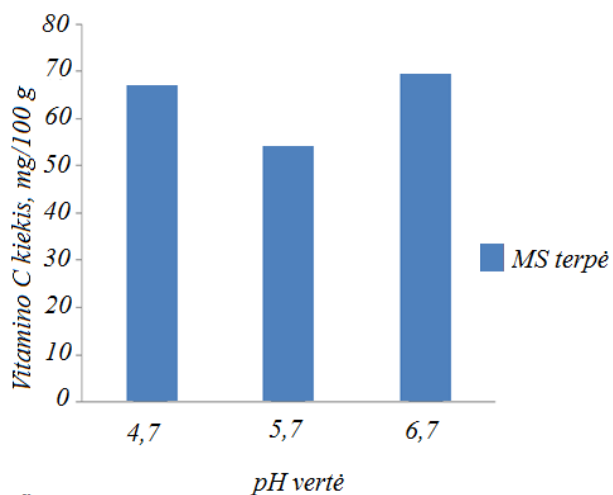
b

15 pav. Rauginių medžiagų kiekis vaistiniame šalavijuje, augusiame MS (a) ir G1 (b) maitinamosiose terpėse

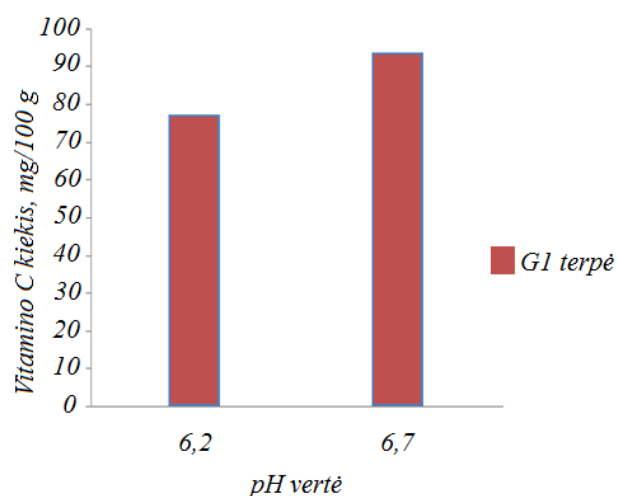
Iš gautų rezultatų (14 pav.) matyti, kad didžiausias rauginių medžiagų kiekis buvo vaistiniame šalavijuje, augusiame MS terpėje, kai pH 6,7 (6,08 %), G1 terpėje, kai pH 6,2 (9,23 %).

Vitamino C kiekio palyginimas vaistiniame šalavijuje

Nustatytas askorbo rūgšties kiekis vaistinio šalavijo žaliavoje, kuri buvo auginta maitinamosiose terpėse esant skirtingoms pH reikšmėms. Rezultatai pateikti 15 pav.



a



b

16 pav. Vitamino C kiekis vaistiniame šalavijuje, augusiame MS (a) ir G1 (b) maitinamosiose terpėse

Iš gautų tyrimo duomenų (15 pav.) matyti, kad didžiausias vitamino C kiekis buvo vaistiniame šalavijuje, augusiame MS (69,23 mg/100 g) ir G1 (93,87 mg/100 g) terpėse, kai pH 6,7.

Išvados

1. Nustatyta, kad iš 9 tirtų augalų didžiausius vaistingųjų medžiagų kiekius kaupia šie augalai: vitaminą C (297,19 mg/100 g) – dygliuotas šaltalankis (*Hippophae rhamnoides* L.), raugines medžiagas (10,22 %) – paprastasis čiobrelis (*Thymus serpyllum* L.), flavonoidus (4,39 mg/g) – vaistinė medetka (*Calendula officinalis* L.), bendruosius fenolinius junginius (49,91 mg/g) – vaistinis šalavijas (*Salvia officinalis* L.).
2. Nustatyta, kad didžiausiu antioksidantiniu aktyvumu pasižymi vaistinis šalavijas (314,9 μ mol TE/g sausos masės), o mažiausiu – vaistinė taukė (21,5 μ mol TE/g sausos masės).
3. Nustatyta, kad intensyviausias (po 8 dienų – 54 % ir po 13 dienų – 66 %) vaistinio šalavijo sėklų

daigumas *in vitro* buvo šviesoje G1 (Murashige ir Skoog terpėje, kurioje buvo dvigubas KH_2PO_4 kiekis) maitinamojoje terpėje, kurios pH 6,7.

4. Rasta, kad didžiausias chlorofilo *a* kiekis buvo vaistiniame šalavijuje, augusiame G1 maitinamojoje terpėje, kurios pH 5,7 (70,94 mg/100g) po 15 dienų. Didžiausias flavonoidų (2,43 mg/g) kiekis buvo vaistiniame šalavijuje, augusiame G1 terpėje, kai pH 5,7; raugų (9,2 %) – G1 terpėje, kai pH 6,2; vitamino C (93,87 mg/100 g) – G1 terpėje, kai pH 6,7.
5. Nustatyta, kad vaistinis šalavijas *in vitro* sukaupė 1,7 karto daugiau rauginių medžiagų, 3,8 karto vitamino C ir 3 kartus flavonoidų, palyginti su vaistiniu šalavijumi, augusiu *in vivo*. Didžiausius metabolitų kiekius ir didžiausią biomasę vaistinis šalavijas *in vitro* kaupia G1 maitinamojoje terpėje, kurios pH 5,7–6,7.

Literatūra

1. **Kayser O., Quax W.** Medicinal plant biotechnology. From basic research to industrial applications. Vol. 1. Wiley-VCH Verlag, 2007. 265 p.
2. **Jaskonis J.** Aromatiniai augalai. Vilnius, 1989. 174 p.
3. **Grzegorzczak I., Bilichowski I., Mikiciuk-Olasik E., Wysokińska H.** *In vitro* cultures of *Salvia officinalis* L. as a source of antioxidant compounds // Acta Societatis Botanicorum Poloniae. 2004. Vol. 74. N 1. P 17–21. <http://dx.doi.org/10.5586/asbp.2005.003>
4. **Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C.** Use of free radical method to evaluate antioxidant activity // LWT - Food Science and Technology. 1995. Vol. 28. N 1. P. 25–30. [http://dx.doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
5. **Nicolaev O. Dupouy E. Mija N.** The content of the vitamin C and β -carotene in nettle and ramsons and its modifications at culinary treatment and drying // The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati. Fascicle IV. Food Technology. 2007. P. 23–26.
6. **Daunoras G.** Farmakopėjos straipsnių rinkinys. Kaunas, 2001. 203 p.
7. **Slinkard K., Singleton V. L. Slinkard K.** Automation and comparison with manual methods // American Journal of Enology and Viticulture. 1997. Vol. 28. P.49–55.
8. **Slapšytė G., Paulauskas A., Morkūnas V.** Genetikos praktikumas. Vilnius, 2000. 82 p.
9. **Hamrouni-Sellami I., Rahali F. Z., Rebey I. B., Bourgou S., Limam F., Marzouk B.** Total phenolics, flavonoids, and antioxidant activity of sage (*Salvia officinalis* L.) plants as affected by different drying

methods // Food Bioprocess Technology. 2013. Vol. 6. N 3. P. 806–817.

<http://dx.doi.org/10.1007/s11947-012-0877-7>

10. **Raal A., Kirsipuu K.** Total flavonoid content in varieties of *Calendula officinalis* L. originating from different countries and cultivated in Estonia // Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters. 2011. Vol. 25. N 6. P. 658–662. <http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2010.528417>
11. **Yao Y., Tigerstedt P. M. A., Joy P.** Variation of vitamin C concentration and character correlation between and within natural sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) // Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Soil & Plant Science. 1992. Vol. 42. N 1. P. 12–17. <http://dx.doi.org/10.1080/09064719209410194>

A. Ramanauskas, I. Jonuškienė

EVALUATION OF SECONDARY METABOLITES VARIATION IN MEDICINAL PLANTS AND OPTIMIZATION OF SAGE (*SALVIA OFFICINALIS* L.) GROWTH *IN VITRO*

S u m m a r y

Plants produce a wide variety of secondary metabolites that have been selected during evolution as defense substances against herbivores, predators or infective microbes and viruses, or as signal compounds. These secondary compounds have attracted great interest for drug development as they may represent lead structures for new or already existing drug targets.

The goals of the research:

- 1) to explore metabolites (total phenolic compounds, flavonoids, vitamin C) and the antioxidant activity of medicinal plants *in vivo*;
- 2) to select medicinal plants which have accumulated the highest content of secondary metabolites;
- 3) to prepare the culture media with different pH values for the sage *in vitro*;
- 4) to prepare the culture media with different KH_2PO_4 quantities for the sage (*Salvia officinalis* L.) *in vitro*;
- 5) to explore secondary metabolites (total phenolic compounds, vitamin C, tannins) of the sage *in vitro*;
- 6) to compare the content of metabolites of sage plants *in vivo* and *in vitro*;

In conclusion, in order to grow sage (*Salvia officinalis* L.) which would give a large biomass and produce large quantities of metabolites, it is useful to increase the amount of KH_2PO_4 two times in the Murashige–Skoog (MS) nutrient medium and to maintain pH within 5.7–6.7. Sage (*Salvia officinalis* L.) was found to accumulate the larger amount of metabolites *in vitro*, i.e. 1.7 times of tannins, 3.8 times of the vitamin C, and 3 times of flavonoids in comparison with the sage *in vivo*.