УДК 574.577
© Коллектив авторов, 2019
https://doi.org/10.29296/25877313-2019-05-09

ЛОКАЛИЗАЦИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В КЛЕТКАХ И ТКАНЯХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ (*DIOSCOREA CAUCASIA LYPSKY*, *EUONYMUS NANA* BIEB., *ARISTOLOCHIA MANSHURIENSIS* KOM.), КУЛЬТИВИРУЕМЫХ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

Е.А. Калашникова
д.б.н. профессор кафедры генетики, селекции и биотехнологии,
Российский государственный аграрный университет МСХА имени К.А. Тимирязева (Москва)
E-mail: Kalash0407@mail.ru

С.М. Зайцева
к.б.н. доцент кафедры кормления и кормопроизводства,
Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии МВА имени К.И. Скрябина
E-mail: Smzaytseva@yandex.ru

Доан Тху Тхуи
к.б.н. доцент агрономического факультета,
Вьетнамский национальный аграрный университет (г. Ханой, Вьетнам)
E-mail: doanthuycgct@gmail.com

Р.Н. Киракосян
к.б.н., доцент кафедры генетики, селекции и биотехнологии,
Российский государственный аграрный университет МСХА имени К.А. Тимирязева (Москва)
E-mail: Mia4129@mail.ru

Изучена локализация растворимых фенольных соединений в лекарственных растениях диоскореи кавказской, кирказона маньчжурского и бересклета карликового в условиях *in vitro*, клеточные культуры которых обладают высокой способностью к биосинтезу разнообразных фенольных соединений. Показано, что полифенолы в растениях локализовались в микро- и макровакуолях, в межклетниках и клеточных стенках, изредка встречались эпиблаты, имеющие центральную вакуоль содержащую большое количество полифенолов в виде аморфного вещества, а также мелко- и крупногранулированных включений. Полученные результаты свидетельствуют о том, что в условиях *in vitro* сохраняется видоспецифичная способность к синтезу фенольных соединений, что подтверждается данными не только количественного определения фенольных соединений, но также гистохимическими исследованиями.

Ключевые слова: *локализация, фенольные соединения, флаваны, флаванолы, диоскорея кавказская, кирказон, бересклет.*

Для цитирования: Калашникова Е.А., Зайцева С.М., Доан Тху Тхуи, Киракосян Р.Н. Локализация фенольных соединений в клетках и тканях лекарственных растений (*Dioscorea caucasia* Lypsky, *Euonymus nana* Bieb., *Aristolochia manshuriensis* Kom.), культивируемых в условиях *in vitro*. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2019;22(5):48–54. **https://doi.org/10.29296/25877313-2019-05-09**

В настоящее время изучению растительного сырья как источнику вторичных метаболитов, применяемых в научной медицине, уделяется большое внимание исследователей. Спектр вторичных веществ чрезвычайно разнообразен и насчитывает несколько десятков тысяч индивидуальных соединений [1], среди которых наиболее распространёнными являются фенольные соединения (биофлаваноиды). Успешное использование полифенолов в фармакологии в качестве биологически активных веществ основано на их способности к окислению с образованием хинных форм, что обусловливает гепатопротекторные, нейрорегуляторные, капилляроукрепляющие, желчегонные, противоопухолевые и другие свойства [2].

В медицинской практике препараты на основе диоскореи (полиспонин и диоспонин) применяются для терапии и профилактики атеросклероза сосудов головного мозга и сердечно-сосудистой системы в сочетании с гипертонической болезнью. Кирказон используется при заболеваниях желудочно-кишечного тракта как средство, стимули-

рующее аппетит и секрецию пищеварительных желез, а также как иммуномодулятор. Бересклет обладает противомикробным, иммуномодулирующим, противовоспалительным, спазмолитическим и желчегонным действием.

Несмотря на значительные отличия морфофизиологических характеристик этих ценных растений, их объединяет высокая биосинтетическая способность к образованию фенольных соединений – биофлавоноидов. Однако всем растениям присуще образование полифенолов, биосинтез и накопление отличается пластичностью и зависит не только от видовой принадлежности растений, органа и стадии онтогенеза, но и от условий произрастания [3, 4]. Экспериментально установлено, что каллусные культуры сохраняют способность к синтезу вторичных соединений, которые характерны для интактных растений [5]. Данное физиолого-биохимическое свойство является базовой основой для использования клеточных культур *in vitro* при проведении исследований в качестве модельных объектов.

Кроме того, введение растительных ресурсов в банк *in virto* дает возможность изучать и использовать их в качестве источников ценных вторичных метаболитов для фармацевтической промышленности, а также способствовать сохранению биоразнообразия малочисленных лекарственных растений, находящихся на грани полного исчезновения.

К одному из перспективных направлений исследования вторичных метаболитов относится изучение их образования и локализации (в том числе внутриклеточной) в растениях, обладающих лекарственными свойствами, к которым относятся *Dioscorea, Aristolochieae* и *Euonymus*.

Цель работы – изучение локализации фенольных соединений в каллусных культурах вышеуказанных растений, как потенциальных источников лекарственных препаратов, применяемых и для ветеринарной медицины.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служили каллусные культуры, полученные из интактных растений и растений-регенерантов диоскореи кавказской (*Dioscorea caucasia* Lypsky), бересклета карликового (*Euonymus nana* Bieb.) и кирказона маньчжурского (*Aristolochia manshuriensis* Kom.).

Каллусную ткань получали из изолированных зародышей (*Dioscorea caucasia* Lypsky) и различных частей растений-регенерантов изучаемых видов и культивировали на питательной среде, содержащей минеральные соли по прописи Мурасига и Скуга, а также регуляторы роста. На процессе каллусогенеза изучали влияние фитогормонов из группы ауксинов 2,4-Д и НУК в концентрациях 0,5 и 1 мг/л, из группы цитокининов – кинетин (0,1–1 мг/л), а также БАП (0,1–1 мг/л) и препарат Дропп (0,01–1 мг/л).

Растительный материал культивировали в условиях световой комнаты, где поддерживали температурный режим 25 °С, 16-часовой фотопериод, освещение белыми люминесцентными лампами с интенсивностью 3000 лк.

Для извлечения фенольных соединений растительный материал измельчали, а затем подвергали экстракции горячим 96%-ным этанолом. В экстрактах спектрофотометрическим методом определяли содержание суммы растворимых фенольных соединений (с реактивом Фолина–Дениса), флаванов (с ванилиновым реактивом) и флавонолов (с хлористым алюминием). Калибровочные кривые для определения суммарного содержания растворимых фенольных соединений и флаванов строили по (-)-эпикатехину, для определения флавонолов – по рутину [6]. Были рассчитаны средние арифметические значения из трех биологических параллельных и их стандартные отклонения.

Локализацию фенольных соединений определяли гистохимическими методами: на сумму фенольных соединений материал окрашивали 0,08%-ным растром реактива Fast Blue, для изучения локализации флаванов (катехины и проантоцианидины) использовали реакцию с ванилиновым реактивом в парах соляной кислоты. С целью сохранения внутриклеточного распределения фенольных соединений все реакции проводили в неполярных растворителях. Препараты просматривали с помощью светового микроскопа [7].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Поскольку растения диоскореи, кирказона, а также бересклета относятся к ценным исчезающим лекарственным видам и имеют ограниченный ареал распространения в природе, большое практическое значение приобретает их исследование в условиях *in vitro* как возможных источников биологически активных веществ и лекарственных препаратов. Известно, что не только биосинтез, но и локализация вторичных соединений находится

под контролем ряда факторов, которые оказывают существенное влияние на изучаемые процессы. К таким факторам можно отнести, например, условия культивирования (температура, освещение, спектральный состав света и др.), состав питательной среды (минеральный и гормональный комплекс), а также тип и возраст первичного экспланта. Таким образом, первостепенной задачей являлось получение длительно пассируемых, хорошо пролиферирующих продуктивных каллусных культур.

Из стерильных изолированных зародышей семян диоскореи была получена каллусная культура клеток, которая характеризовалась плотной консистенцией, имела белый или светло-желтый цвет и обладала высокой пролиферативной активностью. Последующий перенос культуры на питательные среды, содержащие низкие концентрации гормонов (кинетин 0,1 мг/л и 2,4-Д 1 мг/л) приводил к формированию микроклубней, из которых в дальнейшем развивались растения-регенеранты (рис. 1,*а*). При использовании в качестве первичного экспланта изолированных сегментов клубней формирование каллусной ткани происходило в местах поражения экспланта. Каллусная ткань была средней консистенции и состояла из глобулярных структур, которые имели светло-зеленую окраску.

В работе с бересклетом в качестве первичного экспланта использовали молодые побеги длинной 1 см, содержащие одну или две пазушные почки. Экспланты культивировали на модифицированной питательной среде, содержащей минеральные соли по прописи Мурасига и Скуга, витамины по Гамборгу. Уже на 14-е сутки с начала культивирования было отмечено интенсивное формирование каллусной ткани не только в основании экспланта, но и по всей поверхности сегментов стебля, клетки которого из дифференцированного состояния переходили в дедифференцированное. Причем сформировавшаяся каллусная ткань, выращенная на свету, отличалась плотной консистентностью и имела светло-зеленый цвет. Наблюдалось массовое образование адвентивных почек, среднее число которых составило 12–19 шт. на один эксплант (рис. 1,*в*,*г*).

При использовании в качестве экспланта стерильных сегментов побегов кирказона, в базальной части микрочеренков наблюдали формирование рыхлой каллусной ткани желтого цвета. Кроме того, во всех вариантах отмечалось побурение среды, вероятно, из-за выделения фенольных соединений, несмотря на присутствие в ее составе в качестве сорбента активированного угля. Через 2-3 пассажа было отмечено, что сформировавшиеся на каллусной ткани микропобеги обладали низкой жизнеспособностью и в некоторых случаях погибали (рис. 1,*д*). Все это свидетельствовало о том, что в отличие от растений бересклета и диоскореи, растения кирказона оказались наиболее трудным объектом, для которого необходимо проводить более детальные поэтапные исследования фенольного метаболизма при дедифференциации клеток в условиях *in vitro*. О том, что высокий уровень биоситеза полифенолов приводил к сложностям инициации и последующей гибели клеточных культур неоднократно сообщалось рядом авторов в научных статьях [8].

Отечественные исследования показали, что не только клетки и ткани интактных растений исследуемых видов, но и полученные из них каллусные культуры характеризуются высокой способ-

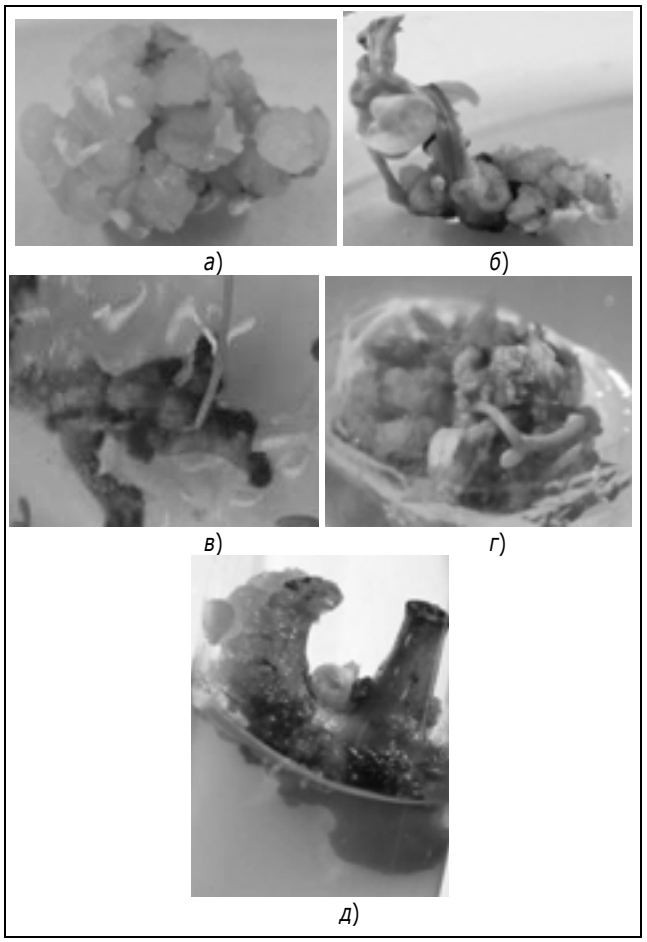


Рис 1. Культуры *in vitro* растений: *а*, *б* – диоскореи кавказской; *в*, *г* – бересклета карликового; *д* – кирказона маньчжурского

ностью к образованию полифенолов (рис. 2). Однако биосинтез растворимых фенольных соединений, в том числе флаванов и флаванолов изучаемых видов растений, был в каллусной культуре ниже, чем у интактных растений. Это согласуется с многочисленными данными, свидетельствующими, что в условиях *in vitro* сохраняется идентичная тенденция к синтезу вторичных соединений, характерных для интактных тканей, но в менее выраженной степени [4, 5].

Экспериментально установлено, что так же, как и в случае с интактными тканями растений, более высоким образованием растворимых фенольных соединений характеризуются каллусные культуры диоскореи. Так как флаваны в свою очередь являются наиболее реакционно способными веществами фенольной природы и играют роль низкомолекулярных антиоксидантов, защищающих клетки от последствий стрессового воздействия [9], выяснение особенностей образования в условиях *in vitro* именно этого класса полифенолов было особенно актуально. Как видно из данных, приведенных на рис. 2, доля флаванов в условиях *in vitro* несколько снижалась, однако оставалась на достаточно высоком уровне и составляла до 25% от суммарного содержания растворимых фенольных соединений. Что касается флаванолов, также являющихся мажорными компонентами фенольного комплекса растений, то их содержание в каллусных культурах тоже снижалось по сравнению с интактными тканями растений. При этом доля флаванолов от фенольного комплекса оставалась на высоком уровне и в некоторых случаях достигала почти 50%.

Такой высокий биосинтетический потенциал в отношении флавонолов отмечался для различных исследуемых таксономических групп, и скорее всего обуславливается тем фактом, что флаванолы относятся к наиболее распространенной группе фенольных соединений, биосинтез которых присущ только зеленым частям растений при участии хлоропластов [10].

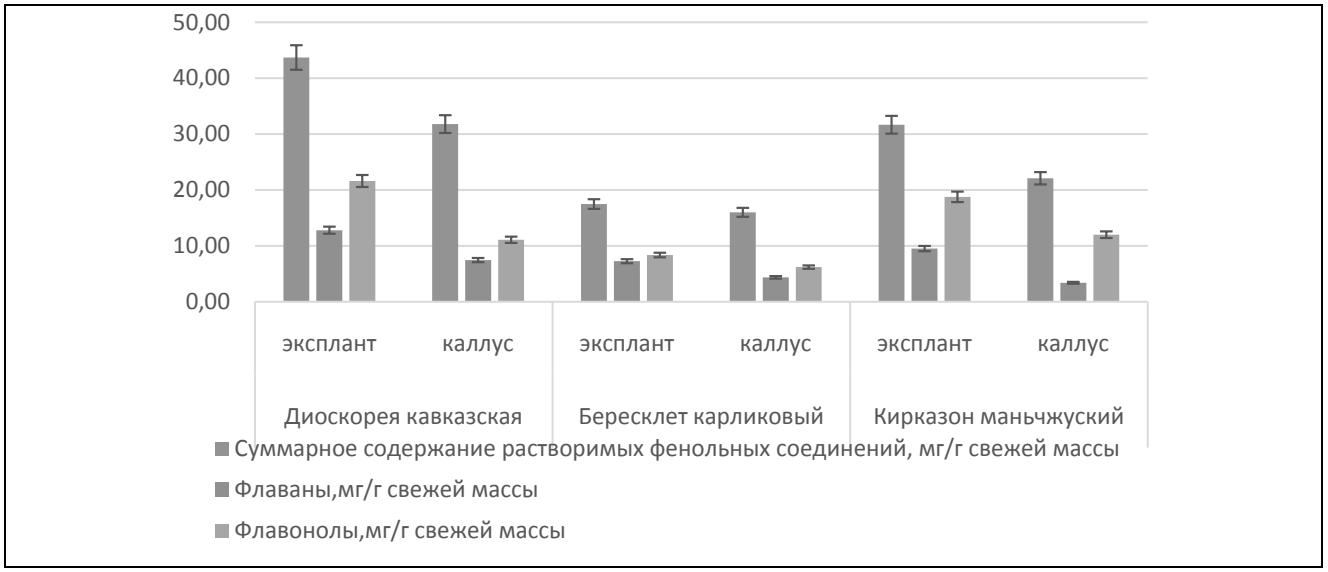
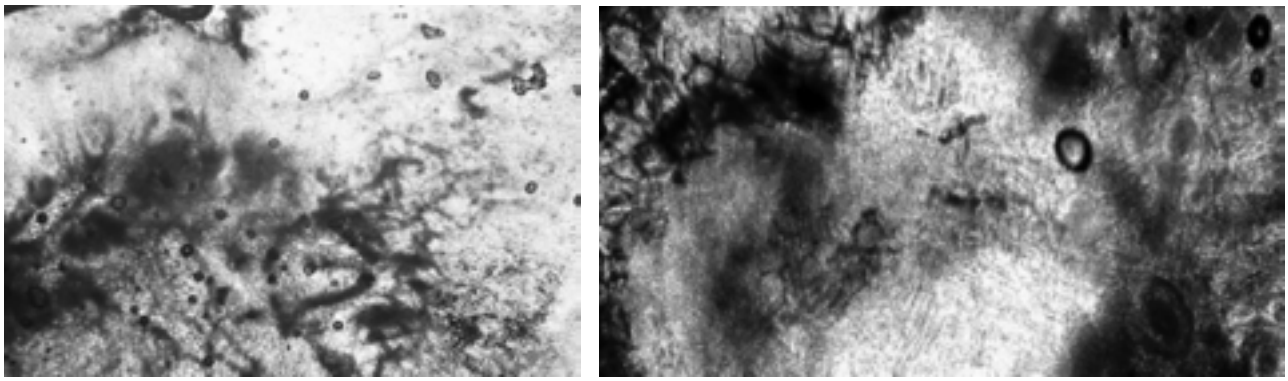


Рис 2. Содержание растворимых фенольных соединений, флаванов и флаванолов в эксплантах и полученных из них каллусных тканях растений диоскореи кавказской, бересклета карликового, кирказона маньчжурского

Несмотря на то, что полифенолы присутствуют во всех органах и тканях растений, они могут иметь различную локализацию, обусловленную их функциональными особенностями. Поэтому одной из основных задач исследований было выяснение особенностей локализации полифенолов в культурах *in vitro D. caucasia* Lypsky, *E. nana* Bieb*., A. manshuriensis* Kom.

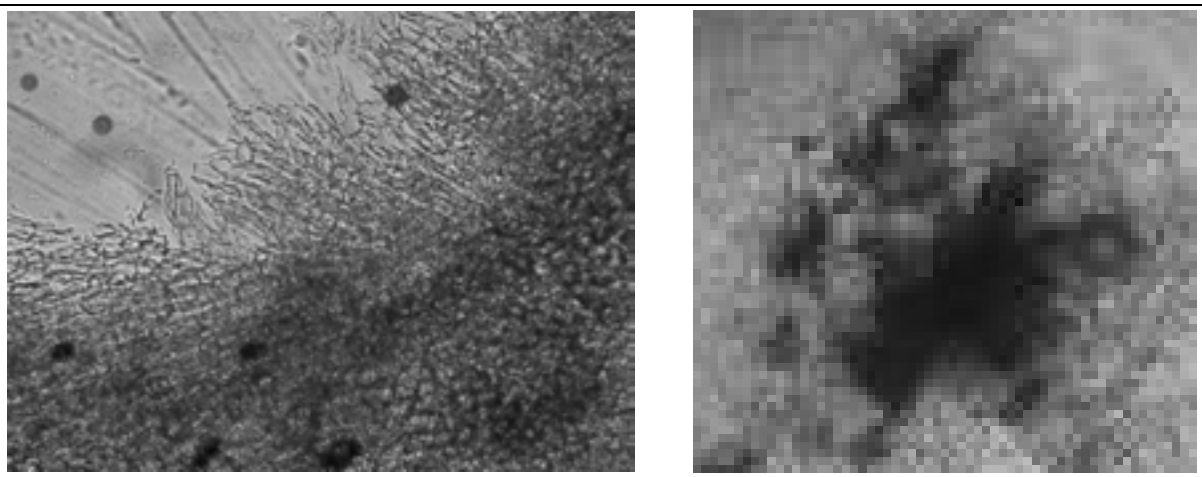
Как показано выше, каллусные культуры бересклета, диоскореи и кирказона обладают различной способностью к накоплению полифенолов, что отражается и на их внутритканевой локализации. Так, каллусные ткани диоскореи уже на начальных этапах культивирования отличались наибольшей биосинтетической активностью, что подтверждается и гистохимическими исследованиями. С первых пассажей отмечается массовое образование специализированных фенолзапасающих клеток (эпибластов) с фенольными соединениями в содержимом клеток в виде мелко- и крупногранулированных включений.

Огромные скопления эпибластов наблюдаются как в центральной, так и в переферической части куллусной ткани (рис. 3). Локализация флаванов (реакция с ванилиновым реактивом) в данной культуре, согласовалась с реакцией на суммарное содержание фенольных соединений. Помимо этого, наблюдалось выделение растворимых фенольных соединений в питательную среду.



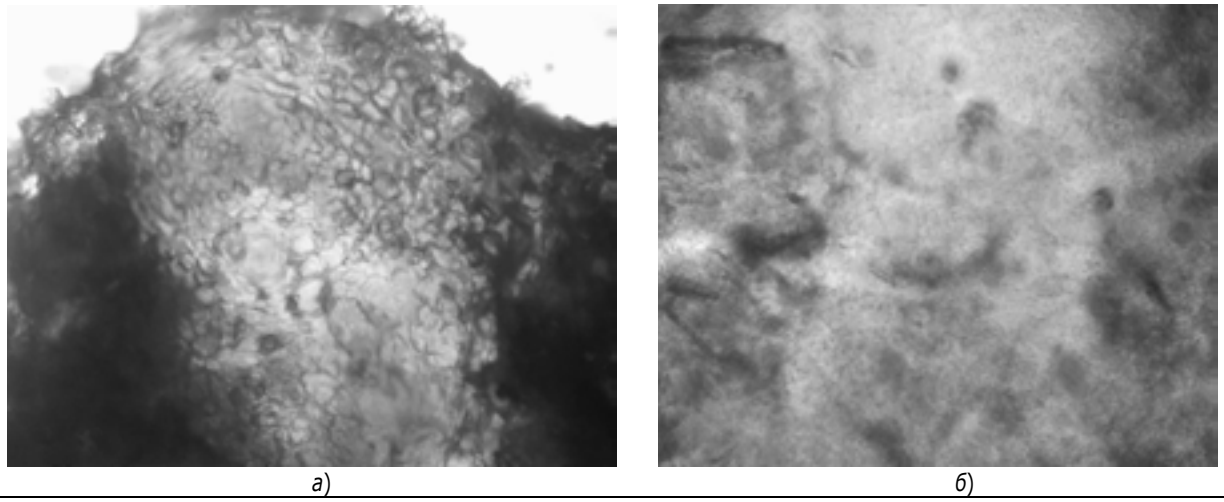
а) *б*)

Рис. 3. Локализация фенольных соединений (реакция с Fast Blue) в каллусных культурах диоскореи кавказской



а) *б*)

Рис. 4. Локализация фенольных соединений (реакция с Fast Blue) в каллусных культурах бересклета карликового



а) *б*)

Рис. 5. Локализация фенольных соединений (реакция с Fast Blue) (*а*) и флаванов (реакция с ванилиновым реактивом) (*б*) в каллусных культурах кирказона маньчжурского

У бересклета карликового клетки с фенольными соединениями в виде небольших очагов встречались на периферии каллусной ткани. При этом реакция на суммарное содержание фенольных соединений наблюдалась в клеточных стенках, цитоплазме и в вакуолях клеток-вместилищ, где они находились в виде мелкогранулированного материала, а реакция с ванилиновым реактивом (на флаваны) – только в цитоплазме некоторых клеток. В морфогенных каллусных структурах реакция на полифенолы была более выражена, чем в паренхимных клетках (рис. 4).

В каллусных культурах кирказона содержание клеток с фенольными соединениями было выше, чем у бересклета. В эпибластах полифенолы были в виде мелко и крупногранулированных включений. Реакция на флаваны обнаруживалась в цитоплазме дедифференцированных клеток, а также в вакуолях эпибластов, где они накапливались в виде аморфного и гранулированного материала. Клетки-вместилища располагались среди дедифференцированных клеток каллусов не только единично, но и в виде групп, превышая их по своим размерам в 2-3 раза. Следует отметить, что в меристематических очагах реакция на фенольные соединения была единична. Она обнаруживалась в цитоплазме и в вакуолях, где полифенолы представляли собой аморфные, мелкогранулированные включения (рис. 5).

ВЫВОДЫ

1. В условиях *in vitro* сохраняется присущая интактным растениям диоскореи кавказской, бересклета карликового и кирказона маньчжурского биосинтетическая способность к образованию различных классов полифенолов, но в менее выраженной степени. Следовательно, можно судить об определенной конститутативности фенольного метаболизма исследуемых растений. Возможно, это связано с тем, что синтез многих вторичных соединений приурочен к специализированным дифференцированным тканям, в то время как каллусные и суспензионные культуры – неорганизованные, дедифференцированные клетки. Такое изменение внутренней организации тканей в условиях *in vitro* и влияет на образование вторичных соединений.

2. Каллусные культуры растений являются удобной системой для изучения вторичного метаболизма, его регуляции и выяснения роли данных веществ в жизни растений. Сохранение высокой биосинтетической способности тканями исследуемых растений в условиях *in vitro* позволяет судить о том, что каллусные культуры могут служить источником ценных биологически активных веществ для фарминдустрии [11].

ЛИТЕРАТУРА

1. *Алексеева Г.М., Белодубровская Г.А*., Блинова К.Ф., Гончаров М.Ю., Жохова Е.В. Фармакогнозия. Лекарственное сырье растительного и животного происхождения / Под ред. *Г.П. Яковлева* Санкт-Петербург. СпецЛит. 2013.
2. *Куркин В.А., Поройков В.В.* Фенилпропаноиды лекарственных растений: прогноз антиоксидантной и иммуномодулирующей активности // Современные проблемы науки и образования. 2015. № 2-2.
3. *Юртаева Е.А., Ремезова И.П., Тырков А.Г., Лужнова С.А., Попова О.И.* Сухой экстракт листьев лофанта анисового: получение и анализ фенольных соединений // Фармация. 2019. 68 (2): 28–32; https://doi.org/10.29296/25419218-2019-02-05.
4. *Запрометов М.Н.* Фенольные соединения и их роль в жизни растения. LVI Тимирязевские чтения. М.: Наука. 1996. 45 с.
5. *Носов А.М.* Регуляция синтеза вторичных соединений в культуре клеток растений. Биология культивируемых клеток и биотехнология растений / Под ред. *Р.Г. Бутенко*. М. Наука. 1991.
6. *Запрометов М.Н.* Фенольные соединения и методы их исследования // Биохимические методы в физиологии растений. М.: Наука. 1971. С. 185–197.
7. *Soukupova J., Cvikrova M., Albrechtova J.* Histochemical and Biochemical Approaches to the Study of Phenolic Compounds and Peroxidases in Needles of Norway Spruce (*Picea abies*) // New Phytol. 2000. V. 146. P.403–414.
8. *Дубравина Г.А., Зайцева С.М., Загоскина Н.В*. Изменения в образовании и локализации фенольных соединений при дедифференциации тканей тисса ягодного и тисса канадского в условиях *in vitro* // Физиология растений. 2005.
9. *Тюкавкина Н.А.* Биофлавоноиды. М.: Издательский дом «Русский врач». 2002. 56 с.
10. *Запрометов М. Н. Николаева Т.Н.* Способность изолированных хлоропластов из листьев фасоли осуществлять биосинтез фенольных соединений // Физиология растений. 2003. Т. 50. № 5. С. 699–702.
11. *Danielle Lugato, Mariela J. Simão, Renata Garcia, Elisabeth Mansur, Georgia Pacheco*. Determination of antioxidant activity and phenolic content of extracts from *in vivo* plants and *in vitro* materials of *Passiflora alata* Curtis // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 2014. V. 118. Issue 2. P. 339–346.

Поступила после доработки 15 апреля 2019 г.

LOCALIZATION OF PHENOLIC COMPOUNDS IN CELLS AND TISSUES OF MEDICINAL PLANTS (*DIOSCOREA CAUCASIA* LYPSKY, *EUONYMUS NANA* BIEB., *ARISTOLOCHIA MANSHURIENSIS* KOM.), CULTIVATED UNDER *IN VITRO* CONDITIONS

© Authors, 2019

E.A. Kalashnikova
Dr.Sc. (Biol.), Professor, Department of Genetics, Breeding and Biotechnology,
Moscow State Agricultural University MTAA named after K.A. Timiryazev
E-mail: Kalash0407@mail.ru
S.M. Zaytseva
Ph.D. (Biol.), Associate Professor, Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after K.I. Skryabin
Smzaytseva@yandex.ru
Doan Thu Thuy
Ph.D. (Biol.), Associate Professor, Vietnam National University of Agriculture (Hanoi, Republic of Vietnam)
E-mail: doanthuycgct@gmail.com
R.N. Kirakosyan
Ph.D. (Biol.), Associate Professor, Department of Genetics, Breeding and Biotechnology,
Moscow State Agricultural University MTAA named after K.A. Timiryazev
E-mail: Mia4129@mail.ru

The aim of the work is to study the localization of phenolic compounds in callus cultures of medicinal plants (*Dioscorea caucasia* Lypsky, *Euonymus nana* Bieb., *Aristolochia manshuriensis* Kom), used as raw material sources in pharmacology.

Methods and materials. The object of the study was callus cultures obtained from intact plants and regenerative plants (*Dioscorea caucasia* Lypsky., *Euonymus nana* Bieb and *Aristolochia manshuriensis* Kom.). Callus tissue was cultured on a nutrient medium containing Murasiga and Skuga mineral salts and growth regulators at a temperature of 250 C and a 16-hour photoperiod, In alcohol extracts of callus cultures by spectrophotometric method, the content of the sum of soluble phenolic compounds (with Folin-Denis reagent), flavans (with vanillin reagent) and flavonols (with aluminum chloride) was determined. The localization of polyphenols was determined by histochemical methods (0.08% raster of Fast Blue reagent, reaction with vanillin reagent in hydrochloric acid vapor).

Results. The resulting long-passable, well-proliferating callus cultures are characterized by a high ability to form polyphenols (flavans and flavanols). Flavanols were major components of the phenolic complex. In the process of culturing callus cultures, the level of accumulation of all studied classes of polyphenols is reduced in comparison with intact plant tissues.

Summary. Under *in vitro* conditions, the species-specific ability to synthesize phenolic compounds is preserved, which is confirmed not only by quantitative determination of phenolic compounds, but also by histochemical studies. The polyphenols in cells of the calli were localized in micro- and macrovascular, in the intercellular spaces and cell walls. Among callus cells, epiblates with a central vacuole containing a large number of polyphenols in the form of an amorphous substance, as well as small and large-faceted inclusions, were occasionally encountered.

***Key words**: localization, phenolic compounds, flavanes, Dioscorea caucasia Lypsky, Euonymus nana Bieb., Aristolochia manshuriensis Kom.*

For citation: Kalashnikova E.A., Zaytseva S.M., Doan Thu Thuy, Kirakosyan R.N. Localization of phenolic compounds in cells and tissues of medicinal plants (*Dioscorea caucasia* Lypsky, *Euonymus nana* Bieb., *Aristolochia manshuriensis* Kom). cultivated under in vitro conditions. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2019;22(5):48–54. **https://doi.org/10.29296/25877313-2019-05-09**

REFERENCES

1. Alekseeva G.M., Belodubrovskaya G.A., Blinova K.F., Goncharov M.YU., Zhohova E.V. Farmakognoziya. Lekarstvennoe syr'e rastitel'nogo i zhivotnogo proiskhozhdeniya / Pod red. G.P. Yakovleva Sankt-Peterburg. SpecLit. 2013.
2. Kurkin V.A., Porojkov V.V. Fenilpropanoidy lekarstvennyh rastenij: prognoz antioksidantnoj i immunomoduliruyushchej aktivnosti // Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya. 2015. № 2-2.
3. Yurtaeva E.A., Remezova I.P., Tyrkov A.G., Luzhnova S.A., Popova O.I. Suhoj ekstrakt list'ev lofanta anisovogo: poluchenie i analiz fenol'nyh soedinenij // Farmaciya. 2019. 68 (2): 28–32; https://doi.org/10.29296/25419218-2019-02-05.
4. Zaprometov M.N. Fenol'nye soedineniya i ih rol' v zhizni rasteniya. LVI Timiryazevskie chteniya. M.: Nauka. 1996. 45 s.
5. Nosov A.M. Regulyaciya sinteza vtorichnyh soedinenij v kul'ture kletok rastenij. Biologiya kul'tiviruemyh kletok i biotekhnologiya rastenij / Pod redakciej R.G. Butenko. M. Nauka. 1991.
6. Zaprometov M.N. Fenol'nye soedineniya i metody ih issledovaniya // Biohimicheskie metody v fiziologii rastenij. M.: Nauka. 1971. S. 185–197.
7. Soukupova J., Cvikrova M., Albrechtova J. Histochemical and Biochemical Approaches to the Study of Phenolic Compounds and Peroxidases in Needles of Norway Spruce (Picea abies) // New Phytol. 2000. V. 146. P.403–414.
8. Dubravina G.A., Zajceva S.M., Zagoskina N.V. Izmeneniya v obrazovanii i lokalizacii fenol'nyh soedinenij pri dedifferenciacii tkanej tissa yagodnogo i tissa kanadskogo v usloviyah in vitro // Fiziologiya rastenij. 2005.
9. Tyukavkina N.A. Bioflavonoidy. M.: Izdatel'skij dom «Russkij vrach». 2002. 56 s.
10. Zaprometov M. N. Nikolaeva T.N. Sposobnost' izolirovannyh hloroplastov iz list'ev fasoli osushchestvlyat' biosintez fenol'nyh soedinenij // Fiziologiya rastenij. 2003. T. 50. № 5. S. 699–702.
11. Danielle Lugato, Mariela J. Simão, Renata Garcia, Elisabeth Mansur, Georgia Pacheco. Determination of antioxidant activity and phenolic content of extracts from in vivo plants and in vitro materials of Passiflora alata Curtis // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 2014. V. 118. Issue 2. P. 339–346.