

УДК 581.1

НАКОПЛЕНИЕ ПОЛИФЕНОЛОВ И НАФТОХИНОНОВ В МОРФОГЕННЫХ КУЛЬТУРАХ ДВУХ ВИДОВ РОДА *Drosera*

© 2023 г. А. В. Моршнева^{а, б, *}, М. Т. Ханды^{а, б}, В. П. Григорчук^а,
Г. К. Чернодед^а, Т. Ю. Горпенченко^а

^аФедеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Владивосток, Россия

^бДальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия

*e-mail: morshneva.av@students.dvfu.ru

Поступила в редакцию 05.09.2023 г.

После доработки 07.11.2023 г.

Принята к публикации 11.11.2023 г.

Получена ризогенная культура *Drosera capensis* L. Методом ВЭЖХ-УФ-МС проведен сравнительный анализ влияния разных методов сушки на показатель выхода индивидуальных полифенолов и 1,4-нафтохинонов ризогенной культуры *D. capensis* L. с ранее полученной морфогенной длительно-растущей (более 15 лет) культурой *D. rotundifolia* L. В ризогенной культуре *D. capensis* L. впервые идентифицировано 6 соединений (мирицетин-3-*O*-β-глюкопиранозид, россоллизид, 3,3'-ди-*O*-метилэллаговой кислоты 4-*O*-β-D-глюкопиранозид, мирицетин, 3,3'-ди-*O*-метилэллаговая кислота, плюмбагин).

Ключевые слова: *Drosera capensis*, *Drosera rotundifolia*, галлат эпикатехина, морфогенные культуры, нафтохиноны, полифенолы, пробоподготовка, флавоноиды, эллаговая кислота

DOI: 10.31857/S0015330323600717, EDN: ZFGIDI

ВВЕДЕНИЕ

РосЯнка (*Drosera* L.) является одним из крупнейших родов плотоядных растений из семейства росянковых (*Droseraceae*). Эти растения широко применяются в народной медицине, а их экстракты обладают антимикробными, противогрибковыми и противоопухолевыми свойствами [1, 2]. Считается, что биологическая активность *Drosera* обусловлена 1,4-нафтохинонами и флавоноидами [3].

Разные виды *Drosera* накапливают два основных нафтохинона — плюмбагин и 7-метилглюгон [4], и в небольших количествах — гидроксиплюмбагин-4-*O*-гликозида, дрозерон, гидроксидрозерон, дрозерон-5-гликозид, гидроксидрозерон-8-гликозид, россоллизид [3, 5–7]. Основными флавоноидами, обнаруженными в роде *Drosera*, являются кверцетин, гиперозид, кемпферол, мирицетин [8–10]. Еще одной группой вторичных метаболитов *Drosera* являются эллаготанины, в частности, продукт их разложения — эллаговая кислота [11]. Таким образом, род *Drosera* — богатый источник экономически ценных вторичных метаболитов. Однако, естественный ареал росянки под действием антропогенных факторов стремительно сокращается [12]. Получение хорошо растущей культуры клеток *Drosera* с высокими показателями синтеза биологически активных

веществ востребовано на рынке фармакологических субстанций [13].

Исследование вторичного метаболизма в целом растении весьма трудоемкий процесс, обусловленный долгим жизненным циклом растений, привязанностью к месту обитания, климату, зависимостью от погодных и других условий окружающей среды. Одним из эффективных способов в исследовании биохимических процессов и самих веществ является использование модельных систем. Для растений, одним из вариантов модельных систем является культура клеток, тканей и органов *in vitro*. Поэтому культура клеток росянки является не только источником ценных вторичных метаболитов, но и важным объектом в исследовании и в понимании вторичного метаболизма полифенолов и нафтохинонов. Различные природные модификации структур молекул определяют специфические свойства веществ. Способ извлечения этих веществ, применяемый растворитель и метод сушки растительной ткани в итоге могут негативно сказываться на составе вторичных метаболитов растительных тканей.

Цель данной работы — исследовать состав полифенолов и нафтохинонов в морфогенных культурах двух видов *D. rotundifolia* и *D. capensis* при различном способе высушивания исходного материала.

Таблица 1. Гормональный состав сред, использованных при получении и выращивании культуры клеток *D. capensis*

№ среды	1	2	3	4	5	6	7
Гормон и его концентрация в среде, мг/л	НУК 2/кин 1	НУК 2/кин 0.5	НУК 1/кин 0.5	НУК 2	НУК 2/БАП 1	НУК 2/БАП 0.5	НУК 1/БАП 0.5

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект исследования. В качестве объектов исследования использовали две линии морфогенной культуры *D. rotundifolia* под обозначением “DR Green Dark”, “DR Green Light”, полученные в 2005 г. в лаборатории биотехнологии Биолого-почвенного института [14], и полученную в рамках настоящего исследования ризогенную культуру *in vitro* *D. capensis* под обозначением “DC Dark”.

Получение культур клеток *D. capensis*. В качестве эксплантов использовали листья растения *Drosera capensis* L. Листья промывали детергентом, затем теплой водой и стерилизовали 0.1% диоцидом в течение 5 мин. После стерилизации материал трехкратно отмывали в стерильной дистиллированной воде. Стерильные листья просушивали на стерильной фильтровальной бумаге и использовали в качестве эксплантов, помещая их на агаризованную питательную среду. Чашки Петри с первичным эксплантом культивировали в темноте при температуре $25 \pm 1^\circ\text{C}$ и влажности $70 \pm 5\%$.

Для индукции каллусогенеза использовали МС-среду, приготовленную по стандартной прописи [15] с семью разными сочетаниями фитогормонов: α -нафтилуксусную кислоту (НУК), кинетин (кин) и 6-бензиламинопурин (БАП). Сочетания и концентрации гормонов в среде представлены в табл. 1.

Инициация образования каллуса произошла при замене регулятора роста на 2,4-дихлорфеноксиуксусную кислоту (2,4-Д) в концентрации 1 мг/л.

После начала каллусогенеза объекты были перенесены на стандартную коллекционную среду W_0 (МС-среда со сниженным содержанием нитрата аммония NH_4NO_3 до 400 мг/л среды), используемую в институте (ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН), с регуляторами роста НУК (2 мг/л) и БАП (0.5 мг/л).

Исследование ростовых характеристик полученной линии *D. capensis* и двух других исследуемых линий *D. rotundifolia* производили на основании данных сухого веса биомассы. Индекс роста определяли по формуле:

$$I = \frac{W_t - W_0}{W_0},$$

где W_0 — начальная масса культуры, г; W_t — масса культуры в конце цикла выращивания, г.

Условия культивирования. Культивирование проводили на среде W_0 с добавлением тиамина (В1) — 0.2 мг/л, пиридоксина (В6) — 0.5 мг/л, никотиновой кислоты (РР) — 0.5 мг/л, мезоинозитола — 100 мг/л, пептона — 100 мг/л, сахарозы — 25000 мг/л, агара — 6000 мг/л и гормонов НУК — 2.0 мг/л, БАП — 0.5 мг/л. Каллусы выращивали в колбах объемом 100 мл (33 мл питательной среды) в темноте (линии *D. capensis* “DC Dark”, *D. rotundifolia* “DR Green Dark”) при $25 \pm 1^\circ\text{C}$ и на свету (линия *D. rotundifolia* “DR Green Light”) при $25 \pm 1^\circ\text{C}$, влажности $70 \pm 5\%$ и интенсивности освещения люминесцентными лампами (белый свет) 49 мкмоль/(с м²) в режиме 16/8 ч день/ночь, соответственно. Цикл выращивания составлял 30 сут. Для пересева использовали фрагменты каллуса с размером 0.8 см³.

Подготовка проб для фитохимического анализа. Для анализа биомассу подготовили двумя разными способами: высушивали в потоке теплого воздуха (+40°C) и измельчили с использованием жидкого азота (1 способ), высушивали в аппарате лиофильной сушки (2 способ). 50 мг измельченной биомассы экстрагировали 1 мл 80% метанола в течение 30 мин с использованием ультразвуковой бани. Экстракт выдерживали 12 ч без доступа света, супернатант фильтровали (0.45 мкм, Millipore, “Бедфорд”, США) и использовали для фитохимического анализа.

Фитохимический анализ. Для анализа вторичных метаболитов в биомассе морфогенных культур *D. rotundifolia* и *D. capensis* была использована аналитическая высокоэффективная жидкостная хроматография с ультрафиолетовым и масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-УФ-МС). Экстракты анализировали с использованием хроматографа 1260 Infinity (“Agilent”, США) совмещенного с тандемным масс-спектрометром Bruker HCT ultra PTM Discovery System (“Bruker Daltonik”, GmbH, Германия). Разделение проводили на аналитической колонке Zorbax C18 (150 × 2.1 мм, 3.5 мкм, “Agilent”, США) термостатированной при 40°C. В качестве подвижной фазы использовали раствор муравьиной кислоты (0.1%) в деионизированной воде (раствор А) и ацетонитрил (раствор Б). Градиентное элюирование проводили со скоростью потока 0.2 мл/мин по следующей схеме: от 10% до 35% раствора Б за 40 мин, затем до 95% раствора Б до 50 мин и 95% раствора Б до 60 мин. УФ-спектры записывали в диапазоне λ 200–800 нм с использованием детектора на ди-

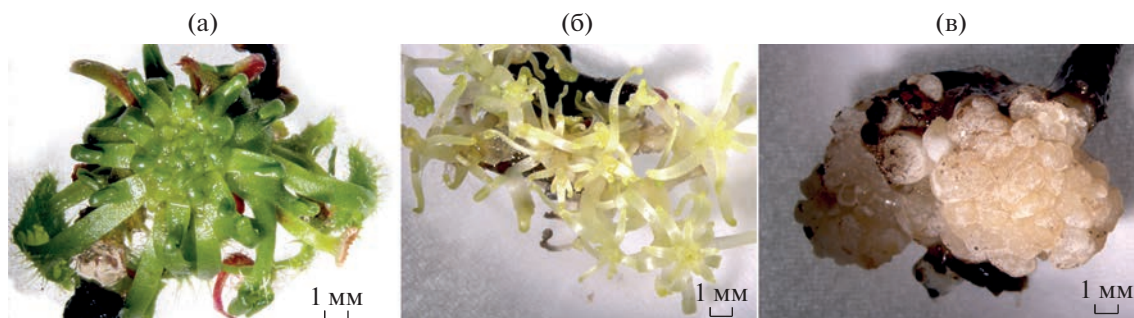


Рис. 1. Внешний вид линий морфогенных культур *D. rotundifolia* и *D. capensis*: (а) — линия “DR Green Light”; (б) — “DR Green Dark”; (в) — “DC Dark”. Масштаб 1:5.

одной матрице. Масс-спектрометрические данные для подтверждения идентификации определяемых компонентов получали в условиях ионизации электрораспыления и регистрации отрицательных ионов с диапазоном регистрируемых значений m/z 100–1000. Количественный анализ полифенолов производили при длине волны 265 нм, нафтохинонов — при 330 нм.

Статистический анализ данных. Для статистической обработки данных использовали программу GraphPad Prism 8. Достоверность результатов была рассчитана с помощью t -теста, критерия Уилкоксона и U -критерия Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Получение культур клеток *D. capensis*. На первых этапах работы с *D. capensis*, основываясь на литературных данных, для индукции каллусогенеза использовали агаризованную МС-среду с НУК и цитокининами [16, 17]. Культивирование экплантов на этих средах в течение двух месяцев существенных результатов не дало. При повторных экспериментах, для индукции каллусогенеза регулятор роста поменяли на 2,4-Д. В результате проведенных экспериментов по влиянию различных регуляторов роста на каллусогенез было установлено, что первичная культура *D. capensis* формируется на среде, содержащей гормон 2,4-Д в концентрации 1 мг/мл. Первичный каллусогенез начинался непосредственно из листьев спустя пятнадцать дней культивирования с образованием побегов. Полученные каллусные культуры характеризовались светло-желтым цветом и твердой структурой. После переноса культур на среду W_0 НУК 2 мг/л, БАП 0.5 мг/л, на двадцатые сутки был сформирован твердый ризогенный каллус *in vitro* с плотной структурой (рис. 1в). На некоторых участках образовывались плотные перьевидные отростки белого цвета. На остальных вариантах используемых сред ростовые процессы не были выявлены. Полученная культура выращивается в течение 2 лет, за это время ее морфологическая

структура не менялась. Индекс роста полученной культуры *D. capensis* составляет 3.7. Индекс роста линий *D. rotundifolia* “DR Green Dark” “DR Green Light” равен 2.2 и 5.0, соответственно.

Фитохимическая характеристика морфогенных культур *Drosera*. В результате ВЭЖХ-УФ-МС анализа в исследуемых линиях идентифицировано двенадцать биологически-активных соединений — флавоноиды и их гликозиды (мирицетин-3- O - β -глюкопиранозид (два изомера), гиперозид, изокверцетин, мирицетин и кверцетин), производные эллаговой кислоты (гликопиранозид 3- O -метилэллаговой кислоты, 3,3'-ди- O -метилэллаговой кислоты 4- O - β -D-гликопиранозид, 3,3'-ди- O -метилэллаговой кислоты), галлат эпигаллокатехина и 1,4-нафтохиноны (россолизид и плюмбагин) (рис. 2). Идентификация соединений была произведена ранее и опубликована в нашей предыдущей работе [14].

В ризогенном каллусе *in vitro* *D. capensis* идентифицировано 6 основных соединений: мирицетин-3- O - β -глюкопиранозид, россолизид, 3,3'-ди- O -метилэллаговая кислота и ее 4- O - β -D-гликопиранозид, мирицетин, плюмбагин (рис. 2).

Сопоставление разных способов сушки и использования свежесобранной биомассы для количественного анализа полифенолов и 1,4-нафтохинонов выявило несколько различий (табл. 2). Первое, при разных методах сушки качественный состав полифенолов существенно не различался (за исключением галлата эпикатехина, который не был обнаружен при воздушной сушке в двух линиях), однако, количественное содержание при лиофильной сушке было выше (от 0.01 до 0.2 мкг/г сухого веса). Второе, 1,4-нафтохиноны лучше идентифицировались после воздушной сушки. Поскольку 1,4-нафтохиноны являются, наравне с флавоноидами, одними из важных целевых соединений *Drosera* определяющих биологическую активность экстрактов, для дальнейших расчетов и оценки продуктивности линий использовали результаты анализа экстрактов образцов после воздушной сушки.

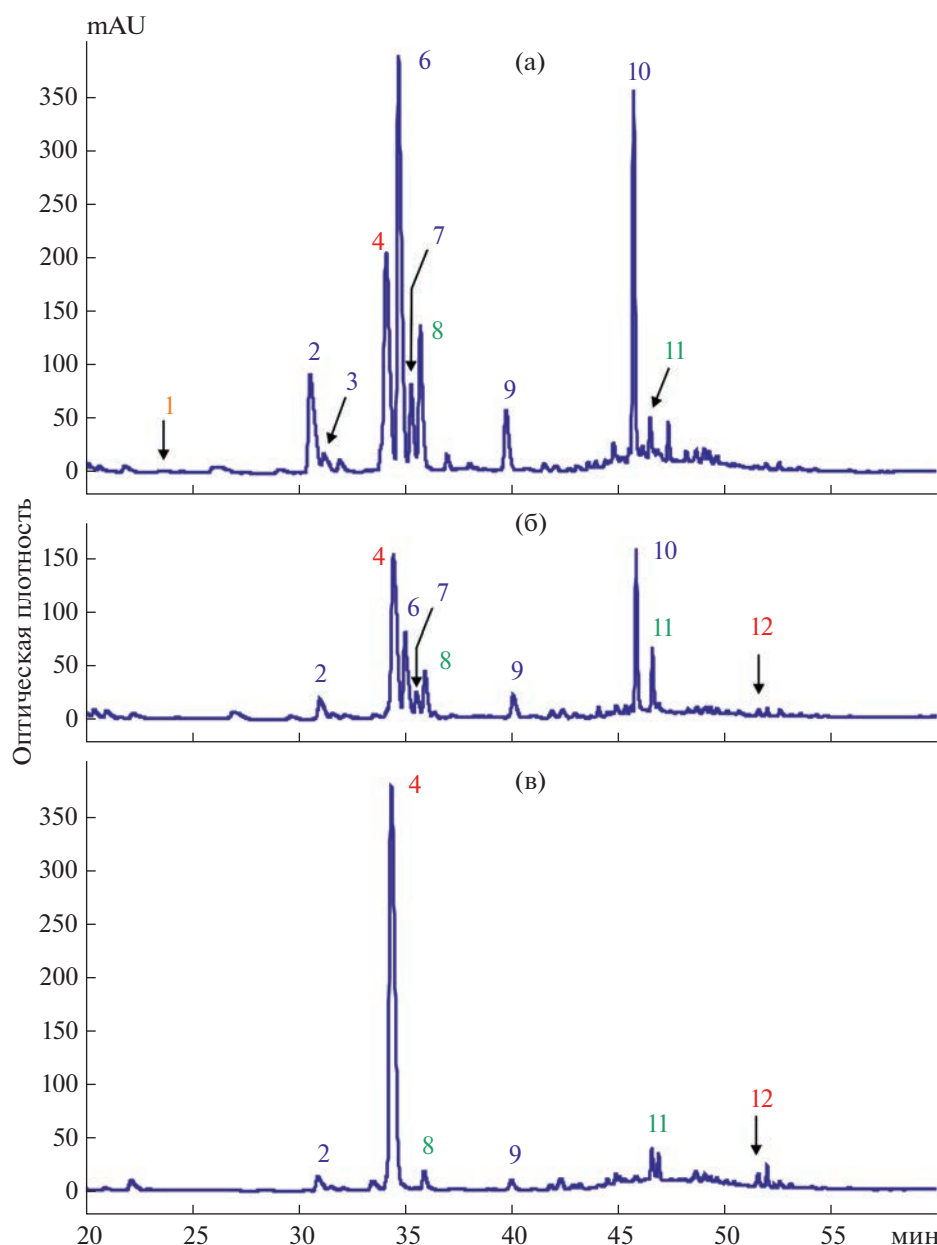


Рис. 2. Хроматографический профиль (ВЭЖХ, 330 нм) экстрактов из морфогенных каллусов *D. rotundifolia* и *D. capensis* после сушки теплым воздухом (+40°C): (а) – линия “DR Green Light”; (б) – “DR Green Dark”; (в) – “DC Dark”. Нумерация на хроматограмме соответствует номерам пиков из таблицы 2.

Количественный анализ полифенолов и нафтохинонов, содержащихся в культурах клеток двух видов растения рода *Drosera* – *D. rotundifolia* и *D. capensis* выявил существенные различия между линиями (табл. 2). Высокие показатели производительности полифенолов установлены для линии “DR Green Light”, в частности, по накоплению флавоноидов, они превышают в три раза аналогичные показатели в линии “DR Green Dark”, и в 20 раз – линии “DC Dark”. По показателям производных эллаговой кислоты в 1.5 раз – линии “DR Green Dark” и в 3 раза “DC

Dark”. По показателям накопления 1,4-нафтохинонов положительно отличилась полученная линия ризогенного каллуса *D. capensis* “DC Dark”. В этом случае, показатель плюмбагина в два раза превышает все линии “DR Green Dark”.

ОБСУЖДЕНИЕ

Получение новых культур клеток является неотъемлемым этапом большинства направлений исследований растительной биологии и биотехнологии. Особый интерес при этом представляют культуры клеток плотоядных растений, как ис-

Таблица 2. Количественное содержание вторичных метаболитов в экстрактах морфогенных культур *Drosera*, высушенных на воздухе, с помощью лиофильной сушки и из свежей ткани

Вид сушки		Воздушная сушка (+40°C)				Лиофильная сушка			
линия		“DR Green Light”	“DR Green Dark”	“DC Dark”		“DR Green Light”	“DR Green Dark”	“DC Dark”	
номер пика	соединение	мкг/г сухого веса	мкг/г сухого веса	мкг/г сухого веса		мкг/г сухого веса	мкг/г сухого веса	мкг/г сухого веса	
		+	0	0		+	+	+	
1	Галлат эпигаллокатехина								+
Флавоноиды									
2	Мирицетин-3- <i>O</i> -β-глюкопиранозид I	2.184	0.495	0.227		2.058	0.464	0.395	
3	Мирицетин-3- <i>O</i> -β-глюкопиранозид II	0.46	0	0		0.203	0	0	
6	Гиперозид	6.659	1.547	0		6.739	1.757	0	
7	Изокверцетин	1.182	0.225	0		1.391	0.457	0	
9	Мирицетин	1.037	0.505	0.256		1.198	0.496	0	
10	Кверцетин	3.589	1.694	0		4.065	1.729	0	
Производные эллаговой кислоты									
5	Гликопиранозид 3- <i>O</i> - метилэллаговой кислоты	0.567	0.156	0		0.771	0	0	
8	3,3'-ди- <i>O</i> - метилэллаговой кислоты 4- <i>O</i> -β-D- гликопиранозид	1.51	0.645	0.281		1.712	0.601	0.54	
11	3,3'-ди- <i>O</i> -метилэллаговая кислота	0.551	0.847	0.549		0.82	0.944	0.347	
Нафтохиноны									
4	Россолизид	+	+	+		+	+	0	
12	Плюмбагин	0	0.06	0.111		0	0.125	0	

Примечание. По U-критерию Манна–Уитни не обнаружено достоверной разницы в содержании индивидуальных соединений в образцах, высушенных лиофильно и в потоке теплого воздуха.

точники ценных вторичных метаболитов. Получение микроклонов и культивирование растений *Drosera* хорошо разработанная технология [17]. Однако, плантационное культивирование *D. rotundifolia* и *D. capensis* практически невозможно. Во-первых, растения сами по себе маленького размера 10–15 см в высоту, во-вторых, специфичная среда обитания — торфяные болота, площадей которых с каждым годом все меньше [12], а воссоздание среды обитания — затратное мероприятие. Полученная ранее нами стабильная длительно-растущая морфогенная культура *D. rotundifolia* дала основу для поиска новых систем для исследования вторичного метаболизма плотоядных растений. *D. capensis*, как близкородственного вида *D. rotundifolia* со схожим фитохимическим составом, могла бы стать новой сравнительной моделью.

Получить каллусную культуру *D. capensis* удалось с использованием гормона 2,4-Д из листьев интактного растения классическими методами. Индукция каллусогенеза является известным свойством 2,4-Д [18, 19]. Длительное выращивание на 2,4-Д оказалось невозможным из-за ингибирования ростовых процессов на втором пассаже. В результате произвели смену среды на стандартную коллекционную среду с фитогормонами НУК и БАП, которая привела к получению ризогенной культуры с высокими показателями роста (индекс роста не менее 5 в течение года). Полученный результат интересен тем, что при микроклональном размножении растений рода *Drosera* весьма проблематичным является индукция корнеобразования и, именно, укоренение растения [17, 20–22], а в нашем случае сразу происходит формирование ризогенной клеточной культуры. Использование данного соотношения гормонов может быть перспективным и для укоренения микроклонированных растений. В аналогичных условиях ранее была получена морфогенная клеточная культура *D. rotundifolia*, культивируемая длительное время (с 2005 г.) в темноте, однако, ткань развивалась преимущественно побегами [14]. При выращивании морфогенной клеточной культуры *D. rotundifolia* на свету повышались показатели накопления вторичных метаболитов — флавоноидов и 1,4-нафтохинонов, при этом показатели роста были выше, чем у тканей, выращиваемых в темноте. Свет является одним из наиболее важных факторов, влияющих на рост и выработку вторичных метаболитов растениями [23]. В исследовании о влиянии светодиодных источников света на *D. bermannii* было показано, что при белом светодиодном освещении увеличивалось количество плюмбагина в побегах относительно корней, но спустя две недели эффект прошел [24]. Напротив, в работе Wojciech с соавт. [25] о влиянии сине-красного света на фенольные соединения в семействе *Droseraceae* полагают, что

этот фактор не изменяет общего содержания фенолов, но влияет на накопление специфических фенолов и снижает содержание плюмбагина. На основании имеющихся данных можно заключить, что вопрос влияния света на жизнедеятельность росянки, в частности на накопление вторичных метаболитов, остается дискуссионным.

Исследование особенностей накопления и извлечения биологически активных вторичных метаболитов из культур клеток является важной прикладной и фундаментальной задачей современной биологии растений. В растениях *in vitro* *Drosera*, обнаружены флавоноиды: кверцетин, кверцетрин, изокверцетин, мирицетрин и др. в небольшом количестве в видах *D. rotundifolia*, *D. capensis*, а также *D. intermedia*, *D. spatulata* [21]. Кроме самих флавоноидов, в растениях находят их гликозилированные формы, наиболее распространенными из которых являются формы 3-*O*-глюкозида или 3-*O*-галактозида. Эти вещества распространены во многих видах растений. Например, у *D. madagascariensis* и *D. rotundifolia* было обнаружено, что кверцетин составляет около 2 и 0.49% сухого веса исследованных растений соответственно, тогда как количество флавонолгликозида — гиперозида (кверцетин 3-*O*-галактозид) составляло 3.75 и 6.36%, соответственно [26, 27]. Другое исследование *D. rotundifolia* также подтвердило эту тенденцию, выявив 0.17 и 2.89% сухого веса для кверцетина и гиперозида, соответственно [9]. В нашей работе наблюдается такая же закономерность (табл. 2). Количественное содержание флавоноидных гликозидов варьирует относительно литературных данных. Так, общее содержание веществ в среднем составляет от 5 до 10%, при этом среди флавоноидов обнаружены чаще всего: гиперозид, мирицетин-3-*O*-галактозид, изокверцитрин, кверцетин. В исследовании Paul A. Egan [3] показано, что в *D. rotundifolia*, кверцетин может быть обнаружен на уровне 6.40%, а кверцетин-3-*O*-галактозид — на уровнях, достигающих 6.36%. Большее количество флавоноидов и их гликозидов находится в листьях, стеблях и цветках растений, чем в корнях [17]. В нашей работе флавоноиды также преобладали в морфогенной культуре, состоящей из надземных побегов.

В литературных данных сообщается, что интактное растение *D. rotundifolia* богато флавоноидами, 1,4-нафтохинонами, эллаговой кислотой и ее производными [28]. Большинство из этих веществ были идентифицированы в исследуемых образцах. Их структурное разнообразие схоже описанному в литературе для интактных растений *D. rotundifolia* и количественно больше в образцах линии “DR Green Light” [28, 29]. В исследовании R. Caniato с соавт. [30] сообщается об отсутствии вариации соединений между корнями и надземными органами у диких популяций *D. ro-*

tundifolia, у видов *D. capensis* наблюдается заметная разница между содержанием нафтохинонов в корнях и побегах растений – в корнях большее содержание 7-метилглюкона, чем в побегах данного вида. Однако был проведен отдельный анализ подборки частей растений *D. capensis*, который показал, что самая большая концентрация 7-метилглюкона была обнаружена в цветках.

Выделение и биосинтез галлат эпигаллокатехина мало рассмотрен и обобщен в литературных данных о хищных растениях. Однако, это соединение является основным компонентом различных видов чая, содержащимся преимущественно в листьях и проявляющем значительную биоактивность, включая потенциальную противораковую и противовоспалительную [31]. Малая изученность биосинтеза и физиологических функций этого соединения у хищных растений может открыть новое направление для исследований.

В нашем исследовании содержание флавоноидных гликозидов, производных эллаговой кислоты и 1,4-нафтохинонов значительно не отличается, однако измельчение высушенного теплым воздухом материала в ступке более трудоемко, чем высушенного лиофилизацией.

Таким образом, исследуемые морфогенные культуры *D. rotundifolia* и *D. capensis* являются перспективными источниками возобновляемого сырья с высоким содержанием полифенолов и 1,4-нафтохинонов. При этом способ высушивания материала лишь незначительно влияет на выход исследуемых веществ.

В работе использовали оборудование Центра коллективного пользования “Биотехнология и генетическая инженерия” ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (№ 121031000144-5) и при частичной поддержке Российской федеральной программы академического лидерства “Приоритет 2030” (№ 23-01-3.04.0001).

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов исследования. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Didry N., Dubreuil L., Troin F., Pinkas M. Antimicrobial activity of aerial parts of *Drosera peltata* Smith on oral bacteria // J. Ethnopharm. 1998. V. 60. P. 91. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(97\)00129-3](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(97)00129-3)
2. Crowder A.A., Pearson M.C., Grubb P.J., Langlois P.H. *Drosera* L. // J. Ecol. 1990. V. 78. P. 233. <https://doi.org/10.2307/2261048>
3. Egan P.A., Kooy F. Phytochemistry of the carnivorous sundew genus *Drosera* (*Droseraceae*) – future perspectives and ethnopharmacological relevance // Chem. Biodiversity. 2013. V. 10. P. 1774. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201200359>
4. Kämäräinen T., Uusitalo J., Jalonen J., Laine K., Hohtola A. Regional and habitat differences in 7-methylglucose content of Finnish *Drosera rotundifolia* // Phytochem. 2003. V. 63. P. 309. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(03\)00115-8](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(03)00115-8)
5. Marczak L., Kawiak A., Lojewska E., Stobieck M. Secondary metabolites in *in vitro* cultured plants of the genus *Drosera* // Phytochem. Anal. 2005. V. 16. P. 143. <https://doi.org/10.1002/pca.833>
6. Budzianowski J., Skrzypczak L., Kukulczanka K. Phenolic compounds of *Drosera intermedia* and *D. spatulata* from *in vitro* cultures // Acta Hort. 1993. V. 330. P. 277. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1993.330.36>
7. Gu J.Q., Graf T.N., Lee D., Chai H.B., Mi Q., Kardono L.B.S., Setyowati F.M., Ismail R., Riswan S., Farnsworth N.R., Cordell G.A., Pezzuto J.M., Swanson S.M., Kroll D.J., Falkinham J.O., et al. Cytotoxic and antimicrobial constituents of the bark of *Diospyros maritima* collected in two geographical locations in Indonesia // J. Nat. Prod. 2004. V. 67. P. 1156. <https://doi.org/10.1021/np040027m>
8. Zehl M., Braunberger C., Conrad J., Crnogorac M., Krasteva S., Vogler B., Beifuss U., Krenn L. Identification and quantification of flavonoids and ellagic acid derivatives in therapeutically important *Drosera* species by LC-DAD, LC-NMR, NMR, and LC-MS // Anal. Bioanal. Chem. 2011. V. 400. P. 2565. <https://doi.org/10.1007/s00216-011-4690-3>
9. Fukushima K., Nagai K., Hoshi Y., Masumoto S., Mikami I., Takahashi Y., Oike H., Kobori M. *Drosera rotundifolia* and *Drosera tokaiensis* suppress the activation of HMC-1 human mast cells // J. Ethnopharm. 2009. V. 125. P. 90. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.06.009>
10. Sprague-Piercy M.A., Bierma J.C., Crosby M.G. The droserasin 1 PSI: a membrane-interacting antimicrobial peptide from the carnivorous plant *Drosera capensis* // Biomolec. 2020. V. 10. P. 1069. <https://doi.org/10.3390/biom10071069>
11. Sharifi-Rad J., Quispe C., Castillo C.M.S., Caroca R., Lazo-Vélez M.A., Antonyak H., Polishchuk A., Lysiuk R., Oliinyk P., Masi L.D., Bontempo P., Martorell M., Daştan S.D., Rigano D., Wink M. et al. Ellagic acid: a review on its natural sources, chemical stability, and therapeutic potential // Oxid. Med. Cell. Longevity. 2022. V. 2022. P. 24. <https://doi.org/10.1155/2022/3848084>
12. Barthlott W., Hostert A., Kier G., Küper W., Kreft H., Mutke J., Rafiqpoor M.D., Sommer J.H. Geographic patterns of vascular plant diversity at continental to global scales // Sitzungsber. Akad. Wiss. Wien, Math.-Naturwiss. Kl., Abt. I. 2007. V. 61. P. 305. <https://doi.org/10.3112/erdkunde.2007.04.01>
13. Baranyai B., Joosten H. Biology, ecology, use, conservation and cultivation of round-leaved sundew (*Drosera rotundifolia* L.): a review // Mires Peat. 2016. V. 18. P. 1. <https://doi.org/10.19189/MaP.2015.OMB.212>
14. Khandy M.T., Chernoded G.K., Grigorovich V.P., Vereshchagina Yu.V., Morshneva A.V., Gorpenchenko T.Yu.

- Histological structure and composition of secondary metabolites in cell culture of *Drosera rotundifolia* L. // Russ. J. Plant Physiol. 2022. V. 69. P. 451.
<https://doi.org/10.1134/S1021443722050090>
15. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with Tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. 1962. V. 15. P. 473.
<https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
16. Crouch I.J., Staden J. *In vitro* propagation of *Drosera natalensis* // J. S.-Afr. Tydskr. Plantk. 1988. V. 54. P. 94.
[https://doi.org/10.1016/s0254-6299\(16\)31368-0](https://doi.org/10.1016/s0254-6299(16)31368-0)
17. Šamaj J., Blehová A., Repčák M., Ovečka M., Bobák M. *Drosera* species (Sundew): *in vitro* culture and the production of plumbagin and other secondary metabolites // Biotechnol. Agric. For. 1999. V. 43. P. 105.
https://doi.org/10.1007/978-3-662-08614-8_7
18. Iantcheva A., Vlahova M., Atanassov A. Investigation of the potential of two wild medicago species – *Medicago orbicularis* and *Medicago arabica* for *in vitro* callusogenesis and direct organogenesis // Biotechnol. Biotechnol. Equip. 2005. V. 19. P. 27.
<https://doi.org/10.1080/13102818.2005.10817223>
19. Tomilova S.V., Globa E.B., Demidova E.V., Nosov A.M. Secondary metabolism in *Taxus* spp. plant cell culture *in vitro* // Russ. J. Plant. Physiol. 2023. V. 70. P. 227.
<https://doi.org/10.1134/S102144372270008X>
20. Budzianowski J. Naphthoquinones of *Drosera spathulata* from *in vitro* cultures // Phytochem. 1995. V. 40. P. 1145.
[https://doi.org/10.1016/0031-9422\(95\)00313-V](https://doi.org/10.1016/0031-9422(95)00313-V)
21. Kawiak A., Krollicka A., Lojkowska E. Direct regeneration of *Drosera* from leaf explants and shoot tips, plant cell // Plant Cell Tissue Organ Cult. 2003. V. 75. P. 175.
<https://doi.org/10.1023/A:1025023800304>
22. Miclea I., Zăhan M. Propagation of *Drosera rotundifolia* and *Drosera capensis* in an *in vitro* culture system // Bull. Univ. Agric. Sci. Vet. Med. Cluj-Napoca, Anim. Sci. Biotechnol. 2017. V. 74. P. 144.
<https://doi.org/10.15835/buasvmcn-asb:0018>
23. Batista D.S., Felipe S.H.S., Silva T.D., Castro K.M., Rodrigues T.C.M., Miranda N.A., Ríos-Ríos A.M., Faria D.V., Fortini E.A., Chagas K., Silva G.T., Xavier A., Arencibia A.D., Otoni W.C. Light quality in plant tissue culture: does it matter? // In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant. 2018. V. 54. P. 195.
<https://doi.org/10.1007/s11627-018-9902-5>
24. Boonsongcheep P., Sae-foo W., Banpakoat K., Channarong S., Chitsaithan S., Uafua P., Putha W., Kerd Siri K., Putalun W. Artificial color light sources and precursor feeding enhance plumbagin production of the carnivorous plants *Drosera burmannii* and *Drosera indica* // J. Photochem. Photobiol. B. 2019. V. 199. P. 111628.
<https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2019.111628>
25. Makowski W., Tokarz B., Banasiuk R., Królicka A., Dziurka M., Wojciechowska R., Tokarz K.M. Is a blue – red light a good elicitor of phenolic compounds in the family *Droseraceae*? A comparative study // J. Photochem. Photobiol. B. 2019. V. 201. P. 111679.
<https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2019.111679>
26. Melzig M.F., Pertz H.H., Krenn L. Anti-inflammatory and spasmolytic activity of extracts from *Droserae herba* // Phytomedicine. 2001. V. 8. P. 225.
<https://doi.org/10.1078/0944-7113-00031>
27. Paper D.H., Karall E., Kremser M., Krenn L. Comparison of the antiinflammatory effects of *Drosera rotundifolia* and *Drosera madagascariensis* in the HET-CAM assay // Phytother. Res. 2005. V. 19. P. 323.
<https://doi.org/10.1002/ptr.1666>
28. Tienaho J., Reshamwala D., Karonen M., Silvan N., Korpela L., Marjomäki V., Sarjala T. Field-grown and *in vitro* propagated round-leaved sundew (*Drosera rotundifolia* L.) show differences in metabolic profiles and biological activities // Molecules. 2021. V. 26. P. 3581.
<https://doi.org/10.3390/molecules26123581>
29. Vatter D.A., Shetty K. Biological functionality of ellagic acid: a review // J. Food Biochem. 2005. V. 29. P. 234.
<https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2005.00031.x>
30. Caniato R., Filippini R., Cappelletti E. M. Naphthoquinone contents of cultivated *Drosera* species *Drosera binata*, *D. binata* var. *dichotoma*, and *D. capensis* // Int. J. Crude Drug Res. 1989. V. 27. P. 129.
<https://doi.org/10.3109/13880208909053952>
31. Jin J.Q., Qu F.R., Huang H., Liu Q.S., Wei M.Y., Zhou Y., Huang K.L., Cui Z., Chen J.D., Dai W.D., Zhu L., Yao M.Z., Zhang Z.M., Chen L. Characterization of two O-methyltransferases involved in the biosynthesis of O-methylated catechins in tea plant // Nat. Commun. 2023. V. 14. P. 5075.
<https://doi.org/10.1038/s41467-023-40868-9>