

ДОСЛІДЖЕННЯ АМІНОКИСЛОТ СТЕБЕЛ, ЛИСТЯ ТА КВІТОК ЛІЗІАНТУСУ РАССЕЛА

Анна Олєфіренко, Вікторія Кисличенко

Національний фармацевтичний університет, м.
Харків, Україна

Вступ. Наукові дослідження останніх років показали, що забезпечення нормальної діяльності організму людини можливе тільки при дотриманні певних співвідношень між есенціальними факторами харчування, до яких відносяться вітаміни, деякі жирні кислоти, мінеральні речовини та незамінні амінокислоти [11].

Тому використання амінокислот у харчуванні стає все більш значущим. Дослідження, які проводяться у цьому напрямку, виявляють нові функції амінокислот, їх специфічний вплив на певні системи та органи організму людини, оскільки потреба у протеїні зводиться до потреби у амінокислотах. Ці сполуки складають так званий амінокислотний фонд організму, який забезпечує надходження та використання будь якої амінокислоти. Амінокислоти, рівень яких перевищує потреби синтезу протеїнів, зазнають біологічного окислення при використанні як джерела енергії або відкладаються про запас у вигляді жиру. Це слід враховувати при розробці нових дієтичних добавок, оскільки довільне, необґрунтоване введення амінокислот може призвести до зміни балансу амінокислотного фонду певного організму [6, 7, 11, 15].

Амінокислоти мають імуномодульовальну, антидепресанту дію (глутамінова кислота та тирозин), є компонентами колагену (пролін), знижують рівень тригліцеридів у крові (лізин), беруть активну участь у синтезі та засвоєнні вітамінів (валін, лізин, триптофан, глутамінова кислота) тощо [4, 6, 7, 11, 15].

Встановлено, що нестача деяких амінокислот, які не є незамінними для дорослих, може негативно впливати на дитячий організм (аспарагінова, глутамінова кислоти, аргінін, гістидин та цистин) [4, 11, 15]. Отже, дефіцит деяких замісних амінокислот зумовлює виникнення ліміту незамінних, які витрачаються на їх утворення. Це свідчить про необхідність балансування не тільки незамінних амінокислот, а й замісних.

У рослинах накопичуються майже всі амінокислоти, здатність до синтезу яких втратили тварини, зокрема людина (незамінні амінокислоти). Природні амінокислоти мають більш високу фізіологічну активність у порівнянні з синтетичними аналогами, тому що в рослинній сировині вони знаходяться в комплексах, що легко засвоюються людським організмом, і в біологічно доступних концентраціях [3, 5, 10, 18].

Тому актуальним є пошук нових джерел біологічно активних сполук рослинного походження для отримання фармакологічно активних субстанцій, які містять велику кількість амінокислот. У зв'язку з цим перспективним є поглиблене вивчення амінокислотного складу неофіційної рослини –

лізіантусу Рассела (*Lisianthus russellianus* Hook.) родини тирличеві (*Gentianaceae* Juss.), яку широко культивують світом як декоративну рослину. Це дворічний у природі або однорічний у культурі кущ 30-150 см заввишки. Походить з Центральної Америки і островів Карибського басейну, звідки у середині 19 сторіччя потрапив у Європу. Стебла прямостоячі, тонкі, гладкі, темно-зеленого кольору, прості або розгалужені, густо вкриті листям. Листя супротивні, стеблеобгортні, гладкі, цілокраї, еліптичні або лінійно-ланцетоподібні, основа листкової пластинки округла, верхівка загострена. Листкова пластинка блискуча, темно-зеленого або сизувато-зеленого кольору, з тонким шаром глянцевого, воскового нальоту, з нижнього боку матова, зеленого або світло-зеленого кольору. Квітки великі, 5-15 см у діаметрі, поодинокі або зібрані у верхівковій суцвітті. Чашечка з 5-6 чашолистків, глибоко розсічених та зрощених біля основи. Пелюстки віночка скручені в бутони таким чином, що сусідні трохі перекривають одна одну, немов по спіралі. Їх забарвлення варіює в різних відтінках синього, однак у сортів спектр кольорів практично не обмежений, можуть мати як однотонне, так і двоколірне забарвлення. Пелюстки великі, яйцеподібні, загострені, відігнуті на верхівці, зростають біля основи, розташовані однорядно (прості) або в кілька рядів (махрова форма). Плоди еліпсоподібні, багатонасінні, сухі, голі коробочки, що відкриваються двома ступками. Насіння дрібне, кулясте [12].

Хімічний склад рослини досліджений недостатньо. Відомо, що трава лізіантусу Рассела, як і інші рослини родини Тирличеві, містить іридоїди та фенольні сполуки (ксантони та флавоноїди) [1, 2, 16, 19]. У традиційній медицині лізіантус використовують як послаблювальний, протизапальний, заспокійливий засіб, а також для підсилення апетиту. Ефірна олія квіток виявляє антимікробну активність [9].

Попередньо нами за допомогою хімічної реакції з нінгідрином було встановлено наявність у стеблах, листя та квітках лізіантусу Рассела амінокислот [14]. Хроматографічними методами аналізу у досліджуваній сировині було ідентифіковано по 12 вільних амінокислот. Методом абсорбційної спектрофотометрії встановлено кількісний вміст суми вільних амінокислот у перерахунку на лейцин [13].

Метою дослідження було вивчення методом іонообмінної рідинно-колонкової хроматографії якісного складу та кількісного вмісту амінокислот стебел, листя та квіток лізіантусу Рассела сорту *Borealis Apricot*.

Матеріали та методи

Для дослідження використовували траву лізіантусу Рассела сорту *Borealis Apricot*, заготовлену у серпні 2023 року в Харківській області (Україна).

Ідентифікацію та кількісне визначення амінокислот у досліджуваних зразках рослинної сировини проводили методом іонообмінної рідинно-колонкової хроматографії на амінокислотному аналізаторі ААА Т-339М виробництва «Мікротехн» (Чехія), обладнаному реєструючим фотоелементом. Даний метод заснований на постколонковій

дериватизації амінокислот з нінгідрином. При цьому утворюються продукти взаємодії з характерним фіолетовим (амінокислоти, довжина хвилі - 570 нм) чи жовтим (імінокислоти, довжина хвилі - 440 нм) забарвленням [8].

У досліджуваній рослинній сировині амінокислоти були представлені у зв'язаному пептидними зв'язками вигляді. Для кількісного визначення вільних амінокислот попередньо проводили їх гідроліз: 0,1 г подрібненої сировини (точна наважка) поміщали у ампули з вогнетривкого скла, додавали 0,5 мл води очищеної і 0,5 мл концентрованої хлористоводневої кислоти. Ампули охолоджували в суміші сухого льоду з диметилкетонем. Після охолодження з ампул відкачували повітря за допомогою вакуумного насоса для запобігання окиснення амінокислот. Ампули запаювали і поміщали в термостат із постійною температурою +106°C на 24 години. Після гідролізу ампули охолоджували до кімнатної температури та розкривали. Вміст ампули кількісно переносили у скляний бюкс, який поміщали у вакуумний ексікатор над гранульованим натрію гідроксидом та видаляли повітря вакуумним насосом. Зразки висушували, у бюкси додавали 3-4 мл деіонізованої води і повторювали процедуру висушування ще двічі. Підготовлені зразки розчиняли в 50 мл 0,3N літій-цитратного буфера (pH 2,2) і наносили на іонообмінну колонку аналізатора амінокислот, заповнену катіонітом. Перед введенням в іонообмінну колонку зразки фільтрували через паперовий фільтр. Задані кількості стандартного та випробуваного зразків вводили в колонку аналізатора через дозатор (100 мкл). Аналіз якісного складу проводили в стандартних умовах: ступінчастий градієнт, швидкість буферних потоків розчинів 0,3 мл/хв, швидкість потоку нінгідринового реактиву 0,2 мл/хв.

Амінокислоти в елюатах реєстрували методом детекції нінгідрином. На виході з колонки до елюату мікронасосом безперервно подавався нінгідриновий реактив у визначеному співвідношенні з елюатом. Дана суміш по капілярній трубці направлялася у нагрітий до температури +95-98°C реактор, а далі – у кювету. При взаємодії нінгідрину із амінокислотою по аміногрупі утворювалася сполука із максимум поглинання в області 570 нм (окрім сполук з проліном і оксипроліном, які мають максимум поглинання при 440 нм). Інтенсивність утвореного забарвлення вимірювали на фотоколориметрі. Сигнали фотоелемента підсилювалися і реєструвалися самописним потенціометром у вигляді хроматограми.

Ідентифікацію амінокислот, що розділялися, здійснювали шляхом зіставлення часу утримування компонентів стандартної та досліджуваної сумішей.

Кількісна оцінка проводилася автоматично з вимірюванням площі піків ідентифікованих амінокислот. Кількість мікромолей амінокислоти у досліджуваному зразку знаходили за відношенням площі піку амінокислоти в досліджуваному зразку до площі піку цієї ж самої амінокислоти в розчині

стандартної суміші амінокислот, яке відповідає одному мікромолю кількості кожної амінокислоти. Кількісний вміст амінокислоти у мг% розраховували, помноживши кількість мікромолей на молекулярну масу амінокислоти [8].

Статистичну обробку результатів дослідження здійснювали відповідно до вимог ДФУ 2.0, т. 1 (загальні статті 5.3 «Статистичний аналіз результатів біологічних випробувань та кількісних визначень» та 5.3.N.1 «Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту^N») [17] за допомогою пакета статистичних функцій програми Microsoft Excel.

Результати та обговорення

Методом іонообмінної рідинно-колонкової хроматографії у стеблах, листях та квітках лізіантусу Рассела було ідентифіковано 18 амінокислот. Їх профіль є однорідним за складом: 7 незамінних амінокислот (лізін, треонін, валін, метіонін, фенілаланін, ізолейцин і лейцин), 3 напівзамінних (аргінін, тирозин, гістидин) та 8 замінних (аспарагінова, глутамінова кислоти та γ -аміномасляна кислота (ГАМК), серин, гліцин, аланін, пролін і цистин) [15]. Ідентифіковані амінокислоти можна розділити на 3 функціональні групи: ароматичні (тирозин, фенілаланін), аліфатичні (гідроксимоноамінокарбоніві – треонін, серин; моноаміномонокарбоніві – гліцин, аланін, валін, лейцин, ізолейцин; моноамінодикарбоніві – аспарагінова, глутамінова та γ -аміномасляна кислоти; діаміномонокарбоніві – лізін, аргінін; сульфурвмісні – цистин, метіонін), гетероциклічні (гістидин та пролін) [4, 5, 15].

Результати визначення якісного складу та кількісного вмісту амінокислот у досліджуваній сировині наведено в таблиці 1.

Найбільший вміст суми амінокислот було визначено у листях лізіантусу Рассела (81,9 мг%), дещо менше – у квітках (66,69 мг%), а найменший вміст спостерігався у стеблах (36,27 мг%).

Амінокислоти можна розташувати у наступній послідовності за зменшенням їхнього вмісту в досліджуваній сировині:

- стебла – глутамінова кислота > аланін > аспарагінова кислота > пролін > треонін > фенілаланін > гліцин > серин > лізін > лейцин > гістидин > валін > аргінін > тирозин > ізолейцин > ГАМК > метіонін > цистин,

- листя – глутамінова кислота > аспарагінова кислота > пролін > лейцин > гліцин > аланін > фенілаланін > серин > треонін > аргінін > лізін > валін > тирозин > гістидин > ізолейцин > метіонін > цистин > ГАМК,

- квітки – глутамінова кислота > аспарагінова кислота > аланін > пролін > лейцин > аргінін > гліцин > валін > лізін > фенілаланін > серин > треонін > тирозин > гістидин > ізолейцин > метіонін > цистин > ГАМК.

Таблиця 1. Вміст амінокислот у стеблах, листях та квітках лізіантусу Рассела

Назва амінокислоти	Вміст амінокислот у досліджуваній сировині у перерахунку на абсолютно суху сировину (m=5, P<0,05)					
	стебла		листя		квітки	
	мг%	% від загальної суми	мг%	% від загальної суми	мг%	% від загальної суми
Гідроксимоноамінокарбонові кислоти						
Серин	1,54±0,07	4,25	4,81±0,24	5,87	2,57±0,12	3,85
Треонін*	2,41±0,12	6,64	4,58±0,22	5,59	2,40±0,12	3,60
Моноаміномонокарбонові кислоти						
Гліцин	1,57±0,07	4,33	5,94±0,27	7,25	3,55±0,16	5,32
Аланін	5,67±0,25	15,63	5,28±0,26	6,45	5,82±0,29	8,73
Валін*	0,63±0,03	1,74	2,63±0,12	3,21	3,48±0,17	5,22
Лейцин*	0,82±0,04	2,26	6,22±0,30	7,59	4,89±0,23	7,33
Ізолейцин*	0,51±0,02	1,41	1,72±0,08	2,10	0,90±0,04	1,35
Моноамінодикарбонові кислоти						
Аспарагінова кислота	3,27±0,16	9,02	8,87±0,44	10,83	8,27±0,41	12,40
Глутамінова кислота	12,25±0,61	33,77	15,20±0,76	18,56	14,41±0,72	21,61
γ-Аміномасляна кислота (ГАМК)	0,29±0,01	0,80	0,82±0,04	1,00	0,53±0,01	0,79
Діаміномонокарбонові кислоти						
Аргінін	0,61±0,03	1,68	3,87±0,18	4,73	3,65±0,17	5,47
Лізін*	0,92±0,04	2,54	3,12±0,15	3,81	2,75±0,11	4,12
Сулфурвмісні кислоти						
Цистин	0,09±0,01	0,25	1,15±0,05	1,40	0,77±0,03	1,15
Метіонін*	0,13±0,01	0,36	1,28±0,06	1,56	0,81±0,04	1,21
Ароматичні кислоти						
Тирозин	0,54±0,02	1,49	2,48±0,12	3,03	2,36±0,11	3,54
Фенілаланін*	1,66±0,07	4,58	4,82±0,23	5,89	2,66±0,12	3,99
Гетероциклічні кислоти						
Гістидин	0,81±0,04	2,23	2,31±0,11	2,82	1,26±0,06	1,89
Пролін	2,55±0,12	7,03	6,80±0,33	8,30	5,61±0,28	8,41
Сума незамінних амінокислот	7,08	19,52	24,37	29,76	17,89	26,83
Сума замінних амінокислот	29,19	80,48	57,53	70,24	48,8	73,17
Сума амінокислот	36,27	100,00	81,9	100,00	66,69	100,00

Примітка: * – незамінні амінокислоти.

Таким чином, в усіх досліджуваних об'єктах послідовність амінокислот, які мали найбільший вміст, незначно, але відрізнялася. Встановлено, що домінуючими були глутамінова та аспарагінова кислоти, аланін, пролін, лейцин; у мінорній кількості містилися ГАМК, метіонін та цистин.

Слід відмітити, що в усій досліджуваній сировині за вмістом переважали замінні амінокислоти, але найбільше значення для організму людини представляють незамінні амінокислоти. Їх вміст у стеблах лізіантусу Рассела становив 19,52 %, у листях

- 24,37 % та у квітках - 26,83 % від загальної суми амінокислот. Серед незамінних амінокислот у переважній кількості містилися лейцин, фенілаланін, лізін та валін, у незначній кількості – валін, ізолейцин та метіонін. Співвідношення суми незамінних до суми замінних амінокислот у листі та квітках лізіантусу Рассела становило 1/2,36 та 1/2,73 відповідно, для стебел воно було значно меншим – 1/4,12 (рисунок 1). Це свідчило про те, що листя та квітки лізіантусу можуть бути додатковим джерелом незамінних амінокислот, які представляють інтерес для організму людини.

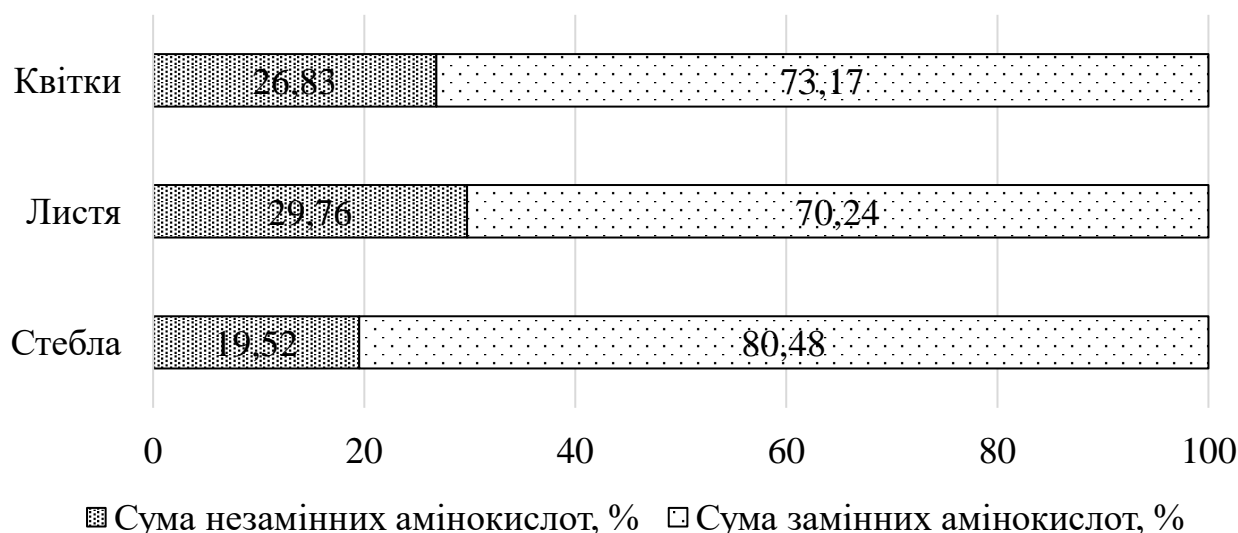


Рисунок 1. Розподіл незамінних та замінних амінокислот (% від суми) у стеблах, листях та квітках лізіантусу Рассела

Висновки

В результаті проведеного аналізу в стеблах, листях та квітках лізіантусу Рассела було ідентифіковано 18 амінокислот, з яких 7 – незамінні, 3 напівзамінні та 8 замінних. Ідентифіковані амінокислоти у досліджуваній сировині мали однаковий склад, але різнилися за кількісним вмістом. Загальна сума виявлених амінокислот була вища у листях та квітках (81,9 мг% та 66,69 мг% відповідно), у стеблах вона була мінімальна (36,27 мг%). За вмістом у досліджуваній сировині домінували глютамінова та аспарагінова кислоти, аланін, пролін, лейцин; у меншій кількості містилися ГАМК, метіонін та цистин.

Таким чином, отримані результати вказують на біологічну цінність трави лізіантусу Рассела та наявність широкого спектра фармакологічної активності, пов'язаної з досить високим вмістом амінокислот. Ця обставина вказує на можливість використання досліджуваної сировини як джерела природних біологічно активних речовин із широким спектром фармакологічної активності, а також може бути використана в перспективі для створення нових фармацевтичних субстанцій.

Фінансування. Проведене дослідження є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету № 0114U000946 «Фармакогностичне дослідження лікарської рослинної сировини та розробка фітотерапевтичних засобів на її основі».

Конфлікт інтересів: відсутній.

Study of the amino acids of Russell's lisianthus stems, leaves and flowers

Anna Olefirenko, Viktoriia Kyslychenko

Introduction. Amino acids have an immunomodulatory, antidepressant effect, they are components of collagen, reduce the level of triglycerides in the blood, take an

active part in the synthesis and assimilation of vitamins, etc. Natural amino acids have a higher physiological activity compared to synthetic analogues, because in plant raw material they are found in complexes that are easily assimilated by the human body and in biologically available concentrations. Therefore, the search for new sources of biologically active compounds of plant origin to obtain pharmacologically active substances that contain a large number of amino acids is of great interest and importance. In this regard, an in-depth study of the amino acid composition of a non-official plant - Russell's lisianthus (*Lisianthus russellianus* Hook.) of the Gentianaceae family (*Gentianaceae* Juss.), which is widely cultivated around the world as an ornamental plant, is promising. **The aim** of the research was to study the qualitative composition and quantitative content of amino acids in Russell's lisianthus stems, leaves and flowers. **Materials and methods.** Russell's lisianthus herb of the Borealis Apricot species harvested in August 2023 in the Kharkiv region (Ukraine) was used for the study. Identification and quantification of amino acids in the studied samples of plant raw material was carried out by ion-exchange liquid column chromatography on an amino acid analyzer AAA T-339M manufactured by "Mikrotech" (Czech Republic), equipped with a recording photocell. This technique is based on post-column derivatization of amino acids with ninhydrin. At the same time, interaction products with a characteristic violet (amino acids, wavelength - 570 nm) or yellow (imino acids, wavelength - 440 nm) color are formed. **Results and discussion.** 18 amino acids were identified in Russell's lisianthus stems, leaves and flowers by ion-exchange liquid column chromatography. Their profile is uniform in composition: 7 essential amino acids (lysine, threonine, valine, methionine, phenylalanine, isoleucine, and leucine), 3 semi-essential (arginine, tyrosine, histidine) and 8 non-essential (aspartic, glutamic acids and γ -aminobutyric acid, serine, glycine, alanine, proline and cystine). The highest content of the sum of amino acids was determined in Russell's lisianthus leaves (81.9 mg%), somewhat less in the flowers (66.69 mg%), and

the lowest content was observed in the stems (36.27 mg%). In terms of content, glutamic and aspartic acids, alanine, proline, leucine dominate in the studied raw materials; GABA, methionine and cystine are contained in minor amounts. Non-essential amino acids predominated in all studied raw materials, but essential amino acids are of the greatest interest to the human body. Their content in Russell's lisianthus stems is 19.52%, in the leaves - 24.37%, and in the flowers - 26.83% of the total amount of amino acids. Among the essential amino acids, leucine, phenylalanine, lysine, and valine are present in the majority, and valine, isoleucine, and methionine are present in small amounts. **Conclusions.** As a result of the analysis, 18 amino acids were identified in Russell's lisianthus stems, leaves and flowers, of which 7 are essential, 3 are semi-replaceable, and 8 are replaceable. The identified amino acids in the studied raw materials have the same composition but differ in quantitative content. The total amount of detected amino acids is higher in leaves and flowers, and it is minimal in stems. In terms of content, glutamic and aspartic acids, alanine, proline, leucine dominate in the studied raw materials; GABA, methionine and cystine are contained in minor amounts. Thus, the obtained results indicate the biological value of Russell's lisianthus herb and the presence of a wide spectrum of pharmacological activity associated with a fairly high amino acids content.

Keywords: Russell's lisianthus (*Lisianthus russellianus* Hook.), stems, leaves, flowers, amino acids, qualitative composition, quantitative content.

References

1. Abe N, Nakano Y, Shimogomi A, Tanaka T, Oyama M. A new flavonol triglycoside from *Eustoma grandiflorum*. *Natural Product Communications*. 2016. 11(7). P. 963-964. <https://doi.org/10.1177/1934578X1601100723>.
2. Asen S, Griesbach RJ, Norris KH, Leonhardt BA. Flavonoids from *Eustoma grandiflorum* flower petals. *Phytochemistry*. 1986. 25 (11). P. 2509-2513. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)84498-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)84498-2).
3. Baqir HA, Zeboon NH, Al-behadili AAJ. The role and importance of amino acids within plants: a review. *Plant Archives*. 2019. 19(2). P. 1402-1410. [http://plantarchives.org/SPL%20ISSUE%20SUPP%202,2019/244%20\(1402-1410\).pdf](http://plantarchives.org/SPL%20ISSUE%20SUPP%202,2019/244%20(1402-1410).pdf)
4. Davidova I, Ruban O, Herbina N. Pharmacological activity of amino acids and prospects for the creation of drugs based on them. *Annals of Mechnikov's Institute*, 2022. 4. P. 11–31. <https://doi.org/10.5281/zenodo.7436701>
5. D'Mello JPF. *Amino Acids in Higher Plants*. 2015. 544 p.
6. Hou Y, Wu G. Nutritionally Essential Amino Acids. *Adv Nutr*. 2018. 9(6). P. 849-851. <https://doi.org/10.1093/advances/nmy054>
7. Hou Y, Yin Y, Wu G. Dietary essentiality of "nutritionally non-essential amino acids" for animals and humans. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2015. 240(8). P. 997-1007. <https://doi.org/10.1177/1535370215587913>
8. Iosypenko OO, Kyslychenko VS, Omelchenko ZI. Study of the amino acid composition of zucchini leaves. *Medical and clinical chemistry*. 2020. 2. P. 72-80. <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2020.v.i2.11363>
9. Ji K, Kim DK., Kim YT. Antimicrobial and antifungal activities of lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) essential oil. *Journal of Life Science*. 2017. 27 (4). P. 430-434. <https://doi.org/10.5352/JLS.2017.27.4.430>
10. Kumar V, Sharma A, Kaur R, Thukral AK, Bhardwaj R, Ahmad P. Differential distribution of amino acids in plants. *Amino acids*. 2017. 49(5). P. 821–869. <https://doi.org/10.1007/s00726-017-2401-x>
11. Nisreen H, Trak TH, Lata M. Amino acids as Medical food and their Therapeutic uses. *International Journal of Scientific Research and Reviews*. 2019. 8(2). P. 579-585. https://www.ijssr.org/down_2664.php
12. Ohkawa K, Sasaki E. *Eustoma* (lisianthus) – its past, present, and future. *Acta Hort*. 1999. 482 (61). P. 423-428. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1999.482.61>
13. Olefirenko AO, Kyslychenko VS. A study of the amino acids of Russell's lisianthus herb. Continuing professional development of pharmaceutical specialists: current state, problems and prospects: a collection Scientific and practical conference with international participation, dedicated to the 30th anniversary of foundation of the Institute for Advanced Training of Pharmacy Specialists of the National University of Pharmacy (November 1-2, 2023, Kharkiv). 2023. P. 355-356. (Ukr).
14. Olefirenko AO, Kyslychenko VS. Phytochemical study of Russell's lisianthus herb. Fundamental and applied research in the field of pharmaceutical technology: a collection of scientific materials of the 3rd International scientific and practical conference dedicated to the 100th anniversary of the birthday of D. P. Sala (Kharkov, November 24, 2023). 2023. P. 393-394. (Ukr).
15. Riaz NN, Fazal-ur-Rehman M, Ahmad MM. Amino Acids: Role in Human Biology and Medicinal Chemistry - A Review. *Medicinal Chemistry*. 2017. 7(10). P. 302-307. <http://dx.doi.org/10.4172/2161-0444.1000472>
16. Sullivan G, Stiles FD, Rosler K-HA. Phytochemical investigation of xanthenes of *Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinnars. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1977. 66 (6). P. 828-831. <https://doi.org/10.1002/jps.2600660623>
17. The State Pharmacopoeia of Ukraine (2015). Vol. 1.. Kharkiv: Ukrainian Scientific Pharmacopoeia Center of Quality of Medicinal Products. 2nd ed.; 2015. 1128 p. (Ukr).
18. Trovato M, Funck D, Forlani G, Okumoto S, Amir R. Editorial: Amino Acids in Plants: Regulation and Functions in Development and Stress Defense. *Front. Plant Sci*. 2021. 12. P. 772810. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.772810>
19. Uesato S, Hashimoto T, Inouye H. Three new secoiridoid glucosides from *Eustoma russellianum*. *Phytochemistry*. 1979. 18 (12). P. 1981-1986. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)82716-8](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)82716-8)