

DOI: <https://doi.org/10.26896/1028-6861-2020-86-8-12-22>

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ, АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ, СТАНДАРТИЗАЦИЯ И КИНЕТИКА ПОЛУЧЕНИЯ ВОДНО-ПРОПИЛЕНГЛИКОЛЕВЫХ ЭКСТРАКТОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

© Владимир Анатольевич Волков^{1*}, Михаил Викторович Воронков¹, Вячеслав Михайлович Мисин¹, Елизавета Сергеевна Федорова^{2,3}, Игорь Александрович Родин², Андрей Николаевич Ставрианиди^{2,3}

¹ Институт биохимической физики им. Н. М. Эмануэля РАН, Россия, 119334, Москва, ул. Косыгина, 4; *e-mail: vl.volkov@mail.ru

² Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Россия, 119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, 1, стр. 3.

³ Институт физической химии и электрохимии им. А. Н. Фрумкина РАН, Россия, 119071, Москва, Ленинский проспект, 31, корп. 4.

*Статья поступила 13 мая 2020 г. Поступила после доработки 13 мая 2020 г.
Принята к публикации 24 июня 2020 г.*

В производстве лечебных и косметических средств для наружного применения в качестве одного из действующих компонентов широко используют водно-пропиленгликолевые экстракты лекарственных растений. Однако в научной литературе практически отсутствуют данные об экстрагирующей эффективности водно-пропиленгликолевых смесей и химическом составе водно-пропиленгликолевых экстрактов растительного сырья, а в документации производителя указаны исключительно характеристики продукта, не связанные с его биологической активностью. В исследовании методом ВЭЖХ/МС/МС на примере цветков ромашки аптечной установлено, что водно-пропиленгликолевые и водно-этанольные извлечения близки по составу фенольных соединений. Доминирующими соединениями водно-пропиленгликолевого экстракта цветков ромашки являются апигенин и его гликозиды (апигенин-7-глюкозид, апигенин-7-О-6-О-малонил-D-глюкозид, апигенин-7-ацетил-глюкозид, ацетил-малонил-апигенин-7-О-глюкозид). Обнаружены 5,4'-диокси-3,6,7,3'-тетраметоксифлавоны, *цис*- и *транс*-формы 2-О-глюкопиранозида 2-гидрокси-4-метокси-коричной кислоты, 7-метоксикумарин. Спектрально-аналитические характеристики водно-пропиленгликолевых экстрактов ряда лекарственных растений, наиболее востребованных в косметической промышленности, исследованы в УФ-видимом диапазоне, выявлены экстракты с наилучшими защитными свойствами в отношении УФ-излучения А и В диапазонов (листья шалфея лекарственного, цветков ромашки аптечной, травы тысячелистника обыкновенного) и свободных радикалов (экстракты листьев зеленого чая, травы зверобоя продырявленного), а также экстракты с наиболее высоким содержанием флавоноидов (травы зверобоя продырявленного, листья шалфея лекарственного). При экстрагировании сырья одной и той же партии оптическая плотность на длине волны 270 нм связана с параметрами извлечения флавоноидов, антиоксидантов и сухого вещества функциональной зависимостью, что очень удобно для экспресс-контроля производственных процессов в целях получения продукта с воспроизводимыми характеристиками. Выведены формулы для расчета содержания антиоксидантов в экстрактах по ДФПГ-методу в сравнении со стандартными образцами рутина и галловой кислоты, проведена интерпретация получаемых для экстрактов различного вида сырья данных в сравнении с показателями иных методов анализа. Продемонстрирована высокая повторяемость формы спектральных кривых экстракта цветков ромашки вне зависимости от источника сырья, что в сочетании с индивидуальностью формы кривых для экстрактов сырья различных видов может быть использовано в качестве одного из критериев подлинности. Предложенным УФ-спектрометрическим методом исследована динамика экстракции цветков ромашки при различных параметрах процесса (температура, соотношение пропиленгликоля и воды в экстрагенте). Установлено, что оптимальной является экстракция сырья 50 %-ным водным пропиленгликолем при температуре 50 °С в течение 4 ч.

Ключевые слова: антиоксиданты; флавоноиды; экстракты растений; ДФПГ; стандартизация; пропиленгликоль; ромашка.

CHEMICAL COMPOSITION, ANTIOXIDANT ACTIVITY, STANDARDIZATION AND KINETICS OF PRODUCTION OF WATER-PROPYLENE GLYCOL EXTRACTS OF MEDICINAL PLANTS

© Vladimir A. Volkov^{1*}, Mikhail V. Voronkov¹, Vyacheslav M. Misin¹, Elizaveta S. Fedorova^{2,3}, Igor A. Rodin², Andrey N. Stavrianidi^{2,3}

¹ Emanuel Institute of biochemical physics RAS, 4 Kosygina ul., Moscow, 119334, Russia; *e-mail: vl.volkov@mail.ru

² Lomonosov Moscow state University, GSP-1, 1/3 Leninskie Gory, Moscow, 119991, Russia.

³ Frumkin Institute of Physical chemistry and Electrochemistry RAS, 31 bld. 4, Leninsky prosp., Moscow, 119071, Russia.

Received May 13, 2020. Revised May 13, 2020. Accepted June 24, 2020.

Water-propylene glycol extracts of medicinal plants are widely used as active components in therapeutic and cosmetic products for external use. However, sparse data on the extracting efficiency of water-propylene glycol mixtures and chemical composition of water-propylene glycol extracts of plant raw materials are available in the scientific literature. Usually the manufacturer documentation also provides information about characteristics of the products that are not related to their biological activity. The results of HPLC/MS/MS study of *Matricaria chamomilla* L. flowers have shown that water-propylene glycol and water-ethanol extracts are similar in the composition of phenolic compounds: the dominant compounds of water-propylene glycol extract of *Matricaria chamomilla* L. flowers are apigenin and its glycosides (apigenin-7-glucoside, apigenin-7-O-6-O-malonyl-D-glycoside, apigenin-7-acetylglucoside, acetyl-malonyl-apigenin-7-O-glycoside), as well as 5,4'-dioxy-3,6,7,3'-tetramethoxyflavone, *cis*- and *trans*-forms of 2-O-glucopyranoside 2-hydroxy-4-methoxycoric acid, 7-methoxycumarin. Spectral and analytical characteristics in the UV-visible range of the spectra of water-propylene glycol extracts of a number of medicinal plants most often used in the cosmetic industry were studied to reveal extracts with the highest protective properties against UV radiation in A and B areas (extracts of *Salvia officinalis* L. leaves, *Matricaria chamomilla* L. flowers, *Achillea millefolium* L. grass), free radicals (extracts of *Camellia sinensis* L. leaves, *Hypericum perforatum* L. herb), and the highest content of flavonoids (extracts of *Hypericum perforatum* L. herb, leaves of *Salvia officinalis* L.) were revealed. When extracting raw materials from the same batch, the optical density at a wavelength of 270 nm is associated with the content of flavonoids, antioxidants and dry matter by a functional relationship, which is very convenient for rapid control of extraction processes in order to obtain a product with reproducible characteristics. Formulas for calculating the content of antioxidants in extracts using the DPPH method in comparison with standard samples of rutin and gallic acid are derived. Interpretation of data on the antioxidant content in different extracts in comparison with other analytical parameters are also presented. Demonstrated high repeatability of the shape of the spectral curves of *Matricaria chamomilla* L. flowers extract, observed regardless of the source of raw materials can be used in combination with the individuality of the curve shape of the extracts of raw materials of different types as one of the authenticity criteria. The proposed UV-spectrometric method was used to study the dynamics of *Matricaria chamomilla* L. flower extraction under different process parameters (temperature, propylene glycol/water ratio in the extractant). It is shown that extraction of raw materials with 50% water-propylene glycol for 4 h at a temperature of 50°C is optimal.

Keywords: antioxidants; flavonoids; plant extracts; DPPH; standardization; propylene glycol; chamomile; *Matricaria chamomilla* L.

Введение

Вторичный метаболизм растений является основной химической стратегией адаптации представителей этого царства живого мира к окружающей среде. По сути растительный мир является природной лабораторией синтеза исключительно разнообразных по своей структуре низкомолекулярных биологически активных соединений. Вследствие длительного сосуществования биологических видов большинство этих соединений (за исключением группы алкалоидов) обладает более низкой токсичностью по сравнению с продуктами искусственного синтеза. Поэтому несмотря на развитие технологий молекулярного дизайна синтетических лекарственных средств, интерес к средствам растительного происхождения растет. Так, по данным Национальной медицинской библиотеки США (<http://ncbi.nlm.nih.gov>) ежегодное число научных публикаций по флавоноидам в мире с 1989 по 2018 г. возросло почти в 20 раз. Экстракты лекарственных растений входят в состав большинства средств по уходу за кожей и полостью рта. В связи с наличием у этанола раздражающего действия при наружном применении, а также способности расслаивать жировые эмульсионные основы этих средств, в качестве экстрагента для извлечения БАВ из растительного сырья применяют в основном 1,2-пропиленгликоль и его смеси с водой. Пропиленгликоль улучшает проникновение компонентов растительных экстрактов в слои кожного покрова [1]. Технология CO₂-экстракции имеет высокую себестоимость и позволяет извлекать лишь гидрофобные соединения; при этом не извлекаются гликозиды и часть

//ncbi.nlm.nih.gov) ежегодное число научных публикаций по флавоноидам в мире с 1989 по 2018 г. возросло почти в 20 раз. Экстракты лекарственных растений входят в состав большинства средств по уходу за кожей и полостью рта. В связи с наличием у этанола раздражающего действия при наружном применении, а также способности расслаивать жировые эмульсионные основы этих средств, в качестве экстрагента для извлечения БАВ из растительного сырья применяют в основном 1,2-пропиленгликоль и его смеси с водой. Пропиленгликоль улучшает проникновение компонентов растительных экстрактов в слои кожного покрова [1]. Технология CO₂-экстракции имеет высокую себестоимость и позволяет извлекать лишь гидрофобные соединения; при этом не извлекаются гликозиды и часть

агликонов таких важных растительных БАВ, как флавоноиды, и другие фенольные соединения.

Несмотря на широкое применение водно-пропиленгликолевых (ВПГ) и пропиленгликолевых (ПГ) экстрактов в косметической промышленности, в научной литературе практически отсутствуют данные об исследованиях их состава и свойств, а также о разработке методов их стандартизации. В связи с этим в спецификациях на экстракты производители, в том числе европейские, как правило, указывают лишь сведения, требуемые действующими регламентирующими актами, но не связанные с биологической активностью экстрактов (плотность, показатель преломления, массовая доля нелетучих веществ). Поэтому разработка методик стандартизации и установления показателей качества водно-пропиленгликолевых экстрактов является актуальной.

Свободные радикалы и окислительный стресс являются одними из основных факторов, лежащих в основе физико-химических механизмов повреждения биомакромолекул, клеток, тканей и органов, в том числе фотоповреждения и старения кожи, злокачественного перерождения ее клеток и других заболеваний. Кожа как орган, непосредственно контактирующий с внешней средой, помимо воздействия эндогенных факторов, инициирующих свободнорадикальное окисление, подвергается наибольшему воздействию факторов внешней среды, таких как УФ-радиация, фотосенсибилизаторы, другие токсичные вещества, участвующие в реакциях с образованием свободных радикалов. В связи с этим антиоксиданты (АО) являются одними из важнейших действующих веществ в профилактических средствах для наружного применения.

Растительные фенолы, помимо ингибирования свободных радикалов, при нанесении на кожу оказывают защитное действие и благодаря наличию широких интенсивных полос поглощения в УФ-области электромагнитного спектра. Известно, что солнечное излучение с длинами волн 320 – 400 нм (А-диапазон) способно проникать в кожные покровы на глубину до 1 мм [2], т.е. на половину и более толщины дермы, при этом обладая способностью повреждать ДНК, вызывать рак и снижение иммунитета. Поскольку прооксидантное действие УФ-излучения реализуется не только через фотодеструкцию молекул, но и через активацию по различным механизмам экспрессии оксидаз, в частности, циклооксигеназы-2 [3], способность многих флавоноидов снижать активность этого фермента является важным фактором защитного действия экстрактов растений на кожу. Подавление активности циклооксигеназы снижает и активность металлопро-

теаз, что предотвращает разрушение фибрилл коллагена в межклеточном матриксе.

Многие растительные фенолы путем непосредственного взаимодействия с гидрофобными участками коллагена стабилизируют его фибриллы и способствуют их более быстрой сборке из отдельных молекул [4, 5].

В исследованиях выявлены и другие механизмы защитного действия растительных фенолов на кожу: активация ферментов эндогенной антиоксидантной защиты [6], индукция меланогенеза меланоцитами путем активации экспрессии соответствующих генов [7], повышение экспрессии аквапорина 3 (способствует нормализации нарушенного в результате УФ-облучения солевого и осмотического баланса клетки) [8], активация белка — супрессора опухолей p53 [9].

Корреляции химического строения и активности в большинстве случаев не установлены. Разнообразие механизмов защитного действия и молекулярных мишеней растительных фенолов свидетельствует о том, что действует либо комплекс соединений, взаимно усиливающих эффекты друг друга, либо компонент, количественно значительно преобладающий над всеми остальными. Поэтому стандартизацию и определение параметров качества экстрактов можно проводить на основе интегральных параметров.

Объекты и методы исследования

При выборе видов лекарственных растений для приготовления экстрактов и последующих исследований предпочтение было отдано наиболее востребованным крупными отечественными производителями косметической продукции.

Высушенное растительное сырье приобретали у специализированных поставщиков: трава зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum* L.), листья шалфея лекарственного (*Salvia officinalis* L.), цветки календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.), цветки ромашки аптечной (*Matricaria chamomilla* L.), трава сабельника болотного (*Comarum palustre* L.), листья крапивы двудомной (*Urtica dioica* L.), листья зеленого чая (*Camellia sinensis* L.), трава череды трехраздельной (*Bidens tripartita* L.), плоды облепихи крушиновидной (*Hippophae rhamnoides* L.), трава тысячелистника обыкновенного (*Achillea millefolium* L.).

Экстракцию сухого лекарственного растительного сырья 50 %-ным водным 1,2-пропиленгликолем осуществляли при массовом соотношении сырья и экстрагента 1:19 при температуре 50 °С в течение 4 ч в условиях постоянного перемешивания. Экстракты фильтровали через трехслойный фильтр из марли и очищали центрифугированием при 5000 мин⁻¹ в течение 20 мин.

Динамику изменения аналитических характеристик экстрактов в процессе извлечения веществ из растительного сырья изучали на примере ромашки аптечной (регион произрастания — Белоруссия, размер частиц — 1–5 мм) при различных режимах (температура, соотношение воды и пропиленгликоля) и периодическом перемешивании с отбором проб по 10 мл в различные моменты времени в течение периода экстракции. Массовое отношение сырья и экстрагента (гидромуль) — 1:19 (50 г сырья на 950 г растворителя).

Спектры поглощения регистрировали с использованием спектрофотометра «СФ-2000» (Россия).

Антирадикальные АО определяли, основываясь на спектрометрическом наблюдении за их взаимодействием со стабильным хромоген-радикалом — 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом (ДФПГ) [10, 11]. К исследуемому образцу добавляли 2,7 мл $8,1 \cdot 10^{-5}$ М раствора ДФПГ в этаноле, после чего объем реакционной системы довели этанолом до 3,6 мл и помещали в термостат при $T = 293$ К на 30 мин. Точно по окончании этого интервала времени измеряли оптическую плотность раствора на длине волны 517 нм в кювете с толщиной поглощающего слоя 1 см. При этом изменением объема образца добивались того, чтобы глубина превращения радикала ДФПГ по окончании эксперимента, измеряемая по его оптическому поглощению, составляла от 15 до 70 %. Глубину превращения ДФПГ рассчитывали по формуле:

$$\zeta = 1 - D_{\text{эксп}}/D_{\text{контр}}, \quad (1)$$

где $D_{\text{эксп}}$ — оптическая плотность реакционной системы через 30 мин после начала реакции; $D_{\text{контр}}$ — оптическая плотность контрольного раствора; ζ — глубина превращения ДФПГ через 30 мин после смешивания реагентов.

В контрольном опыте вместо раствора экстракта в реакционную систему вводили 96 %-ный этанол.

Формула для расчета концентрации АО в экстракте (мг/л) в сравнении с раствором стандартного образца (СО) галловой кислоты имеет следующий вид:

$$[\text{АО}]_{\text{экстр}} = 1,7 \cdot 10^5 \cdot [\text{ДФПГ}]_0 V_{\text{сист}} \zeta / (4,7 V_{\text{ал}}), \quad (2)$$

где $[\text{ДФПГ}]_0$ — начальная концентрация ДФПГ в реакционной системе, моль/л; $V_{\text{сист}}$ — объем реакционной системы, мл; $V_{\text{ал}}$ — объем экстракта, введенный в реакционную систему, мл; 4,7 — стехиометрический коэффициент ингибирования ДФПГ галловой кислотой в выбранных условиях эксперимента. При переходе к концентрациям

АО в сравнении со стандартным раствором рутин данные умножали на коэффициент 2,04 (учитывает соотношение стехиометрических коэффициентов ингибирования рутина и галловой кислоты и соотношение их молярных масс).

Флавоноиды определяли по модифицированной методике Государственной фармакопеи XIII издания, основанной на комплексообразовании некоторых групп флавоноидов с катионом Al^{3+} (в качестве реакционной среды служила смесь воды и пропиленгликоля в объемном соотношении 1:1). 1 мл анализируемого экстракта смешивали с 1 мл 2 %-ного раствора AlCl_3 в 50 %-ном водном пропиленгликоле, добавляли 10 мл 50 %-ного водного пропиленгликоля и через 20 мин определяли оптическую плотность на длине волны 414 нм, при необходимости проводя дополнительное разбавление. Для приготовления фонового раствора 1 мл того же экстракта смешивали с 11 мл 50 %-ного водного пропиленгликоля и добавляли несколько капель уксусной кислоты. Содержание флавоноидов в образце рассчитывали по градуировочному графику, построенному с использованием СО рутина.

Содержание сухого остатка также определяли по модифицированной методике Государственной фармакопеи XIII издания. Бюкс сушили в сушильном шкафу при температуре 184–189 °С в течение 15–20 мин, охлаждали (50 ± 2) мин в эксикаторе над хлоридом кальция и взвешивали с погрешностью взвешивания не более 0,2 мг. Сушку бюкса проводили до тех пор, пока расхождение между последовательными взвешиваниями не станет менее 0,0002 г.

В бюкс вносили около 1 г экстракта, взвешивали и сушили в сушильном шкафу при температуре 184–189 °С в течение 4 ч. По окончании высушивания бюкс с продуктом выдерживали в эксикаторе над хлоридом кальция в течение (50 ± 2) мин и снова взвешивали. Высушивание продолжали до тех пор, пока разница между двумя последующими взвешиваниями не станет менее 0,0001 г.

Компонентный анализ экстрактов ромашки аптечной проводили методом ВЭЖХ-МС/МС. Образцы экстрактов разбавляли в 10 раз подвижной фазой перед проведением анализа. Использовали гибридный (ионная ловушка, времяпролетный масс-анализатор) масс-спектрометр LCMS-IT-TOF (Shimadzu, Япония), снабженный источником электрораспылительной ионизации при атмосферном давлении. Хроматографическая система LC-20 (Shimadzu, Япония) состояла из насосного модуля LC-20AD, системы автоматического ввода пробы SIL-20AC, термостата колонок CTO-20AC, диодно-матричного детектора SPD-M20A и блока управления CBM-20AC. Раз-

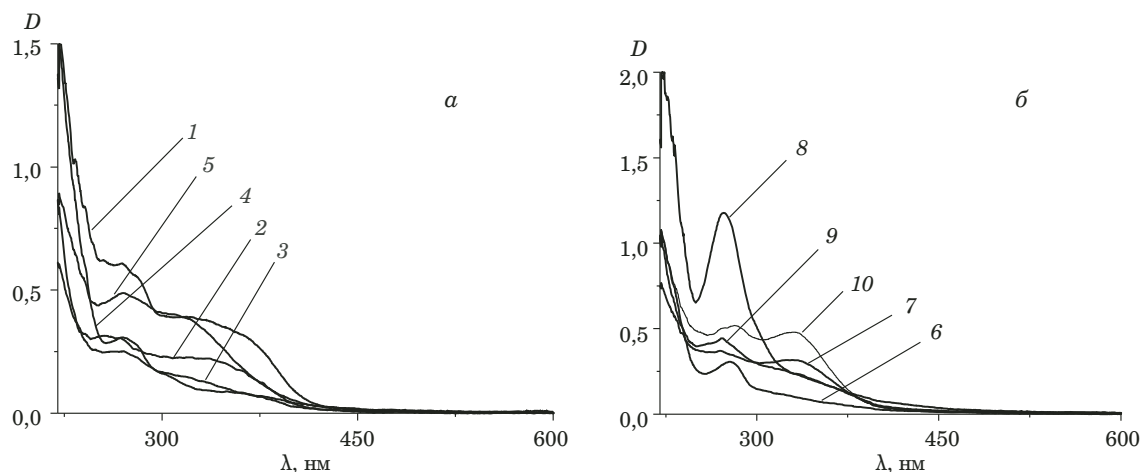


Рис. 1. УФ-спектры 50 %-ных водно-пропиленгликолевых экстрактов лекарственных растений при 100-кратном разбавлении: 1 — зверобоя продырявленного; 2 — календулы лекарственной; 3 — крапивы двудомной; 4 — облепихи крушиновидной; 5 — ромашки аптечной (а); 6 — сабельника болотного; 7 — тысячелистника обыкновенного; 8 — зеленого чая; 9 — череды трехраздельной; 10 — шалфея лекарственного (б)

Fig. 1. UV spectra of 100-fold diluted 50% water-propylene glycol extracts of medicinal plants: 1 — *Hypericum perforatum* L.; 2 — *Calendula officinalis* L.; 3 — *Urtica dioica* L.; 4 — *Hippophae rhamnoides* L.; 5 — *Matricaria chamomilla* L. (a); on the right 6 — *Comarum palustre* L.; 7 — *Achillea millefolium* L.; 8 — *Camellia sinensis* L.; 9 — *Bidens tripartita* L.; 10 — *Salvia officinalis* L. (b)

деление проводили на колонке с привитыми C_{18} -группами Zorbax C_{18} ($4,6 \times 250$ мм, диаметр частиц — 5 мкм) производства Agilent (США) с использованием бинарной системы растворителей — деионизованная вода с добавкой 0,05 % муравьиной кислоты и ацетонитрил. В течение анализа концентрация ацетонитрила линейно увеличивалась от 5 до 95 % за 40 мин, далее ее поддерживали постоянной в течение 5 мин, затем система уравнивалась на начальных условиях (5 % ацетонитрила) в течение 5 мин. Скорость потока составляла 0,5 мл/мин, температура колонки — 25 °С, объем вводимой пробы — 10 мкл. Спектры поглощения регистрировали в диапазоне длин волн от 190 до 750 нм с частотой 3,125 Гц. Температура ячейки — 40 °С. Масс-спектрометр был настроен таким образом, чтобы каждое полное МС-сканирование (m/z 100 – 1200) в режиме профилирования регистрировалось во времяпролетном анализаторе с разрешением 15 000 при m/z 200. Спектры регистрировали попеременно в режиме положительных и отрицательных ионов с периодом 0,8 с. Время накопления ионов составляло 10 мс, напряжение на капилляре в источнике ионизации устанавливали равным +4,5 и –3,5 кВ для детектирования положительных и отрицательных ионов соответственно. Поток газа-распылителя — 1,5 л/мин, температура нагревательного блока и температура линии десольватации — 200 °С. Обработку данных проводили в программе GCMS Solution (Shimadzu, Япония).

Математическую обработку данных в настоящем исследовании проводили с помощью ПО

Microcal Origin Pro 8.5. В соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-6-2002 проводили от 2 до 4 параллельных определений.

Обсуждение результатов

Прямая фотометрия и возможности ее использования в определении качества сырья и мониторинге динамики экстракции на примере ромашки аптечной. УФ-спектроскопические характеристики всех исследованных экстрактов в диапазоне длин волн свыше 250 нм определяются наличием фенольных соединений [12] (рис. 1), которые дают характерный пик около 270 нм, в спектрах некоторых экстрактов несколько смещенный в длинноволновую (шалфей, сабельник) или коротковолновую область (календула). В области 310 – 370 нм большинство экстрактов также имеют пик или плечо; таким образом, чем интенсивнее и сильнее смещен в длинноволновую область этот пик, тем эффективнее может работать добавка этого экстракта в средство для наружного применения в качестве защитного светофильтра. Сантиметровый слой разбавленного в 100 раз образца в кювете соответствует по поглощающей способности пленке неразбавленного экстракта толщиной 100 мкм. Такая пленка экстракта шалфея (см. рис. 1, кривая 5) обеспечит почти равномерное трехкратное ослабление света во всем потенциально опасном диапазоне длин волн. Однако при использовании экстрактов для приготовления наружных средств необходимо учитывать, что, например, гиперин, являющийся одним из основных полифено-

лов зверобоя, оказывает фотосенсибилизирующее действие [13].

Несмотря на общие черты, формы спектров достаточно индивидуальны и могут быть использованы в качестве одного из критериев подлинности экстракта и сырья [14].

Применение метода прямой фотометрии в целях контроля процесса экстракции очень удобно, поскольку почти не требует пробоподготовки. Рассмотрим это на примере получения 50 %-ного водно-пропиленгликолевого экстракта ромашки аптечной.

По данным проведенного исследования методом ВЭЖХ/УФ/МС при водно-пропиленгликолевой экстракции использованных нами образцов сырья ромашки аптечной из группы флавоноидов были идентифицированы апигенин и его производные (апигенин-7-О-глюкопиранозид (космосин); ацетил-апигенин-7-О-глюкопиранозид, малонил-7-О-глюкопиранозид, ацетил-малонил-апигенин-7-О-глюкопиранозид в различных изомерных формах по месту присоединения ацилирующей группы), а также 5,4'-диокси-3,6,7,3'-тетраметоксифлавоны. Соединения с временами удерживания 14,33 и 16,36 мин имеют брутто-формулу $C_{16}H_{20}O_9$ ($[M-H]^-$ 355,1016, $\Delta = -5,3$ м.д.), что в совокупности с данными о массе молекулярного иона $[M+Na]^+$ 379,1003 и массах продуктов фрагментации 177,0542 и 195,0649 свидетельствует о том, что эти соединения являются моноглюкозидами феруловой кислоты или ее изомеров [15]. Методом ВЭЖХ-ЯМР в работе [16] было доказано, что в водно-этанольных экстрактах ромашки содержатся изомерные *цис*- и *транс*-формы 2-О-глюкопиранозиды 2-гидрокси-4-метоксикоричной кислоты, которая изомерна феруловой и является предшественником 7-метоксикумарина. На основании сопоставления представленных в работе [16] данных с полученными из УФ и МС спектров пиков 2, 3 и 9 (рис. 2) можно сделать вывод о присутствии данных соединений в водно-пропиленгликолевом экстракте. Пик 1 со временем удерживания 7,2 мин предварительно идентифицирован как принадлежащий дигликозиду моноядерного фенольного соединения на основании установленной брутто-формулы $C_{22}H_{30}O_{12}$ ($[M+H]^+$ 487,1791, $\Delta = -3,9$ м.д.) и УФ-спектра с максимумом поглощения при 280 нм. Из литературы [17] известно, что в водно-этанольных экстрактах апигенин и его производные являются доминирующими соединениями, как и в рассматриваемых здесь водно-пропиленгликолевых экстрактах ромашки. Таким образом, водно-пропиленгликолевый и водно-этанольный экстракты имеют существенное сходство по составу основных извлекаемых соединений.

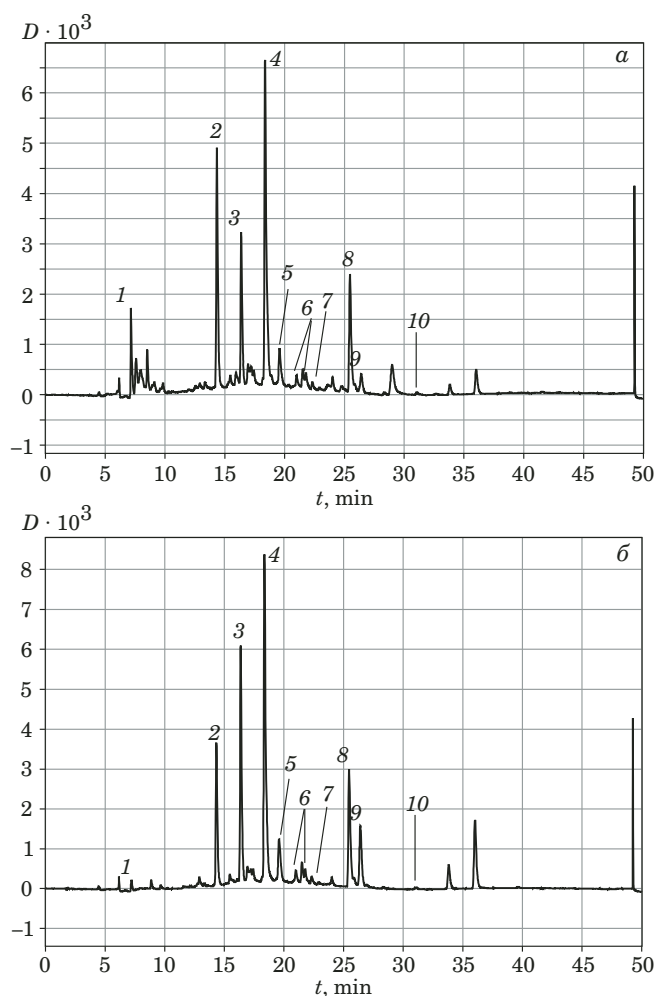


Рис. 2. Хроматографические профили 50 %-ного водно-пропиленгликолевого экстракта ромашки аптечной на длине волны 254 нм (а) и 330 нм (б): 1 — моноядерный фенольный дигликозид (предварительный состав $C_{22}H_{30}O_{12}$); 2 — *цис*-2-гидрокси-4-метоксикоричной кислоты 2-О-глюкопиранозид; 3 — *транс*-2-гидрокси-4-метоксикоричной кислоты 2-О-глюкопиранозид; 4 — апигенин-7-О-глюкозид; 5 — апигенин-7-О-6-О-малонил-D-глюкозид; 6 — апигенин-7-ацетилглюкозид; 7 — ацетил-малонил-апигенин-7-О-глюкозид; 8 — апигенин; 9 — 7-метоксикумарин; 10 — 5,4'-диокси-3,6,7,3'-тетраметоксифлавоны

Fig. 2. Chromatographic profiles of a 50% water-propylene glycol extract of *Matricaria chamomilla* L. at a wavelength of 254 nm (top) and 330 nm (bottom): 1 — monophenolic diglycoside (tentative composition $C_{22}H_{30}O_{12}$); 2 — *cis*-2-glucopyranosyloxy-4-methoxycinnamic acid; 3 — *trans*-2-glucopyranosyloxy-4-methoxycinnamic acid; 4 — apigenin-7-glucoside; 5 — apigenin-7-O-6-O-malonyl-D-glucoside; 6 — apigenin-7-acetylglucoside; 7 — acetyl-malonyl-apigenin-7-O-glucoside; 8 — apigenin; 9 — 7-methoxycoumarin; 10 — 5,4'-dioxi-3,6,7,3'-tetramethoxyflavone

При экстрагировании сырья одной и той же партии оптическая плотность на длине волны 270 нм связана с параметрами извлечения флавоноидов, антиоксидантов и сухого вещества функциональной зависимостью, что подтверждается корреляционным анализом ($n = 9$) на примере ромашки аптечной (табл. 1).

Наличие этих функциональных зависимостей очень удобно для контроля производственных процессов в целях получения продукта, имеющего воспроизводимые характеристики (рис. 3).

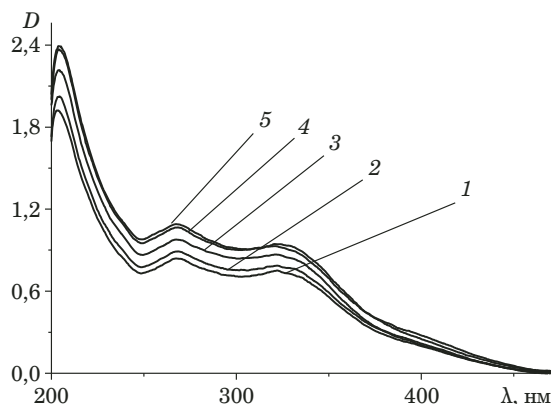


Рис. 3. Спектры поглощения экстракта ромашки аптечной, зарегистрированные в ходе экстракции 50 %-ным водным пропиленгликолем при температуре 50 °С в течение 1 ч (1), 2 ч (2), 3 ч (3), 4 ч (4), 24 ч (5)

Fig. 3. The absorption spectra of *Matricaria chamomilla* L. extract upon extraction with 50% water-propylene glycol at a temperature of 50 °C for 1 h (1), 2 h (2), 3 h (3), 4 h (4), 24 h (5)

Очевидно, что при выбранных условиях и температуре 50 °С процесс экстракции через 4 ч после начала можно считать практически завершённым; повышение температуры экстракции не сопровождается повышением ее эффективности (рис. 4).

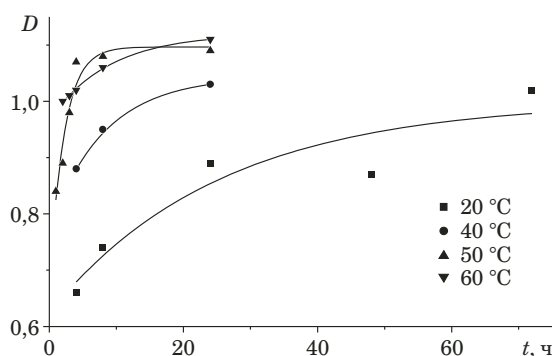


Рис. 4. Временная зависимость оптической плотности экстракта ромашки в кювете толщиной 1 см при 100-кратном разведении на длине волны 270 нм в ходе экстракции при различных температурах (гидро модуль 1:19)

Fig. 4. The time dependence of the optical density of chamomile extract in 1 cm cuvette (100-fold dilution) at 270 nm during extraction at different temperature conditions (hydro module 1:19)

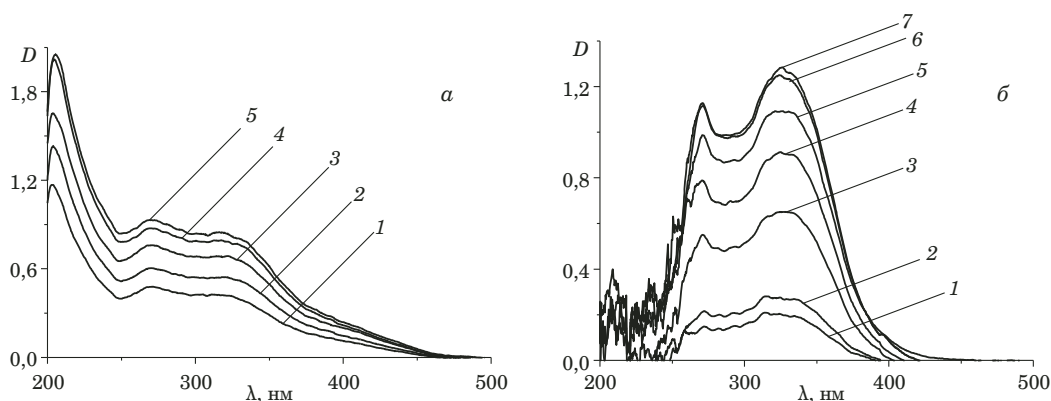


Рис. 5. Спектры поглощения экстрактов ромашки аптечной в ходе экстракции 75 %-ным водным пропиленгликолем (а, разбавление в 100 раз) и 100 %-ным пропиленгликолем (б, разбавление в 10 раз) в течение 4 ч (1); 8 ч (2), 24 ч (3), 48 ч (4), 72 ч (5), 96 ч (6), 120 ч (7) при температуре 20 °С (гидро модуль 1:19)

Fig. 5. The absorption spectra of chamomile extracts upon extraction with 75% propylene glycol (left, 100-fold dilution), and 100% propylene glycol (right, 10-fold dilution) for 4 h (1), 8 h (2), 24 h (3), 48 h (4), 72 h (5), 96 h (6), 120 (7) at 20 °C (Hydro module 1:19)

Таблица 1. Коэффициенты парной корреляции (Пирсона) между параметрами водно-пропиленгликолевых экстрактов ромашки аптечной, полученных из одной партии сырья при различных условиях экстракционного процесса (время, температура, соотношение воды и пропиленгликоля)

Table 1. Pearson's correlation coefficients between the parameters of water-propylene glycol extracts of *Matricaria chamomilla* L. obtained from the same batch of raw materials under different conditions of the extraction process (time, temperature, and water/ propylene glycol ratio)

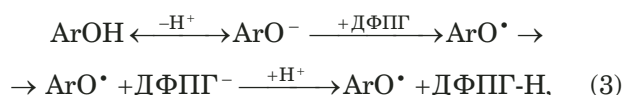
Параметр	% сухого вещества	Концентрация флавоноидов	D при 270 нм
Содержание антиоксидантов	0,90	0,89	0,91
D при 270 нм	0,99	0,94	—
Концентрация флавоноидов	0,98	—	—

75 %-ный водный пропиленгликоль имеет экстрагирующую способность, аналогичную 50 %-ному (рис. 5, а). Динамика изменения УФ-спектра проб при экстракции 100 %-ным 1,2-пропиленгликолем (рис. 5, б) демонстрирует, что не содержащий воду экстрагент почти на порядок уступает по эффективности в отношении вторичных метаболитов фенольного типа: при времени экстракции 72 ч и температуре 20 °С для регистрации аналогичных значений оптической плотности требуется в 10 раз меньшее разбавление; форма спектра и, следовательно, соотношение компонентов в экстракте при этом заметно меняются.

Рисунок 6 иллюстрирует высокую повторяемость спектральных кривых вне зависимости от источника сырья. При этом более высокая интенсивность поглощения, особенно в области длинноволнового пика, соответствует более высокому качеству сырья (табл. 2).

Содержание антиоксидантов и флавоноидов. Соотношения между аналитическими характеристиками экстрактов разных видов сырья. На рис. 7 в виде корреляционных диаграмм представлены взаимосвязи величин оптической плотности водно-пропиленгликолевых экстрактов различных видов лекарственного растительного сырья и содержания биологически активных соединений.

Аналитический сигнал в методе, основанном на применении радикала ДФПГ, в использованном варианте реакционной среды отражает ход реакции:



в которой активность проявляют соединения, легко отдающие атом водорода. Такие соединения в подавляющем большинстве являются и эффективными ингибиторами кислородцентрированных радикалов — ключевого звена механизмов развития окислительного стресса.

Тангенс угла наклона линии регрессии на рис. 7, б, проведенной даже без учета точек 4, 6 и

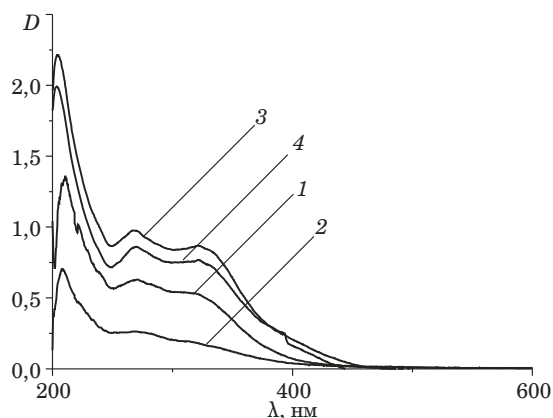


Рис. 6. Спектры поглощения 50 %-ных водно-пропиленгликолевых экстрактов ромашки аптечной (*Matricaria chamomilla* L.), полученных из сырья разных производителей: 1 — поставщик 1; 2 — поставщик 2; 3 — поставщик 3, партия 1; 4 — поставщик 3, партия 2

Fig. 6. The absorption spectra of 50% water-propylene glycol extracts of *Matricaria chamomilla* L. obtained from raw materials of different manufacturers: 1 — supplier 1; 2 — supplier 2; 3 — supplier 3, lot 1; 4 — supplier 3, lot 2

8, равный 3,2, т.е. существенно больший единицы, говорит о том, что значительная часть АО, определяемых методом ДФПГ, не образует комплексов с Al^{3+} , поглощающих на аналитической длине волны.

Очень высоким содержанием антиоксидантов обладает ВПГ экстракт зеленого чая. Согласно литературным данным [18] фенольные антиоксиданты чая представлены в основном катехинами и их производными (до 30 % сухой массы листа), в том числе, эпигаллокатехингаллатом, для которого установлена способность стабилизировать фибриллы коллагена, поддерживающего упругие свойства кожи, и защищать коллаген от гидролиза коллагеназами [19].

Хорошее сочетание высокого содержания АО, определяемых с помощью Al^{3+} флавоноидов и поглощения УФ-излучения во всем А- и В-диапазоне наблюдается у ВПГ экстракта листьев шалфея лекарственного. Основными флавоноидами шалфея являются лютеолин и его гликозидная форма лютеолин 7-О-глюкозид [20]. Большое ко-

Таблица 2. Физико-химические показатели водно-пропиленгликолевых экстрактов ромашки аптечной (*Matricaria chamomilla* L.), полученных из сырья разных производителей

Table 2. Physicochemical characteristics of water-propylene glycol extracts of *Matricaria chamomilla* L. obtained from raw materials of different manufacturers

Производитель сырья	Время экстракции, ч	D_{max1}^*	$D_{321 \text{ nm}}^*$	Масса сухого остатка, %	Содержание флавоноидов, мг/л (по рутину)
Поставщик 1	4	0,63 (271 нм)	0,53 (плечо)	0,79	0,23
Поставщик 2	4	0,26 (266 нм)	0,18 (плечо)	0,40	0,08
Поставщик 3 партия 1	3	0,98 (267 нм)	0,87	1,33	0,82

* Значения оптических плотностей измерены при 100-кратном разбавлении исходного экстракта.

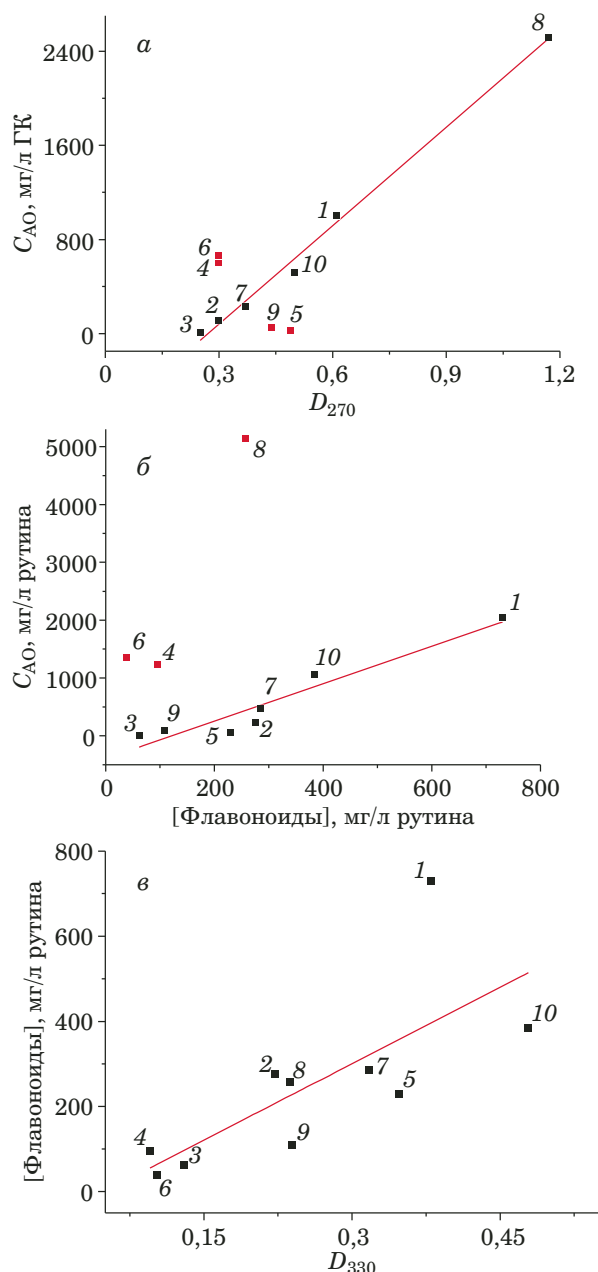


Рис. 7. Диаграммы корреляций содержания флавоноидов, суммарного количества антиоксидантов (метод ДФПГ) и оптической плотности исследуемых экстрактов лекарственных растений: 1 — зверобой продырявленный (трава); 2 — календула лекарственная (цветки); 3 — крапива двудомная (листья); 4 — облепиха крушиновидная (плоды); 5 — ромашка аптечная (цветки); 6 — сабельник болотный (трава); 7 — тысячелистник обыкновенный (трава); 8 — чай зеленый (листья); 9 — череда трехраздельная (трава); 10 — шалфей лекарственный (листья) (содержание АО в объектах представлено в сравнении со стандартным образцом галловой кислоты (ГК) и рутина)

Fig. 7. Correlation diagrams of the flavonoid content, total amount of antioxidants (DPPH method) and the optical density of the studied extracts of medicinal plants: 1 — *Hypericum perforatum* L. (grass); 2 — *Calendula officinalis* L. (flowers); 3 — *Urtica dioica* L. (leaves); 4 — *Hippophae rhamnoides* L. (fruits); 5 — *Matricaria chamomilla* L. (flowers); 6 — *Comarum palustre* L. (grass); 7 — *Achillea millefolium* L. (grass); 8 — *Camellia sinensis* L. (leaves); 9 — *Bidens tripartita* L. (grass); 10 — *Salvia officinalis* L. (leaves) (the AO content in the objects is presented in comparison with a standard sample of gallic acid (GA) and rutin)

личество данных указывает на полезные свойства данного флавоноида: так, лютеолин снижал уровень УФ-А-индуцированного окислительного стресса в фибробластах кожи человека. Снижая содержание активных форм кислорода, лютеолин тем самым замедляет активацию фактора NF- κ B, активность которого связана с усилением аутофагии в условиях окислительного стресса [21]. Была продемонстрирована возможность использования лютеолина в кожной пластической хирургии для снижения ишемических реперфузионных повреждений кожи, которое связано с повышением уровня активных форм кислорода [22].

Основным флавоноидом ромашки является апигенин (в виде агликона и гликозидов), который способен благодаря индуцированию входа кальция в цитоплазму клеток снижать экспрессию металлопротеиназ [23, 24], гидролизующих структурные белки межклеточного матрикса кожи. Преобладание апигенина среди флавоноидов цветков ромашки объясняет и низкие значения показателя активности этого экстракта в отношении свободного радикала ДФПГ (в 18 раз ниже, чем у экстракта шалфея при всего в 1,7 раза более низкой определяемой концентрации флавоноидов), поскольку апигенин не содержит двух ОН-групп в *орто*-положении, повышающих на 2–3 порядка величины константу скорости взаимодействия АО с радикалами в гомогенных средах вследствие повышения прочности внутримолекулярной водородной связи при окислении исходного вещества до семихинонного радикала [25]. Тем не менее данные работы [26] свидетельствуют о том, что в гетерогенных системах разница между величинами активности соединений, имеющих и не имеющих *орто*-диоксигруппу, менее существенна.

Следует отметить, что многие виды лекарственных растений обладают значительной генетической вариабельностью химического состава, однако рассмотрение этого вопроса не является целью настоящего исследования.

Заключение

Для большей части видов экстрактов взаимосвязь между оптической плотностью на длине волны 270 нм и содержанием антирадикальных АО имеет детерминированный характер. Из линии регрессии выпал экстракт ромашки по упомянутой выше причине преобладания АО без *орто*-диоксигруппировки, экстракт травы череды, а также сабельника и облепихи. Точки двух последних экстрактов находятся существенно выше линии регрессии, т.е. значительная часть антирадикальной активности этих экстрактов обусловлена веществами нефенольной природы.

Таблица 3. Коэффициенты парной корреляции (Пирсона) между измеренными параметрами 50 %-ных водно-пропиленгликолевых экстрактов разных растений**Table 3.** Pearson's correlation coefficients between the measured parameters of 50% water-propylene glycol extracts of different plants

Параметр	Концентрация флавоноидов	D при 270 нм	D при 330 нм
Содержание антиоксидантов по ДФПГ	0,26	0,89	0,01
D при 330 нм	0,74	0,31	—
D при 270 нм	0,35	—	—

Данные о коэффициентах корреляции аналитических данных по экстрактам приведены в табл. 3.

Содержание флавоноидов, способных образовывать комплексы с Al^{3+} , поглощающих около 414 нм, коррелирует с поглощением экстрактов на длине волны 330 нм, где избирательно поглощают флавоноиды и оксикоричные кислоты, имеющие сопряженную с ароматическим кольцом непредельную связь, и очень слабо коррелирует с поглощением на длине волны 270 нм.

Представленные в работе результаты и закономерности могут быть использованы на производстве для контроля процесса экстракции и стандартизации продукта.

Финансирование

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Zhang Q., Li P., Roberts M. S. Maximum transepidermal flux for similar size phenolic compounds is enhanced by solvent uptake into the skin / J. Controlled Release. 2011. Vol. 154. N 1. P. 50 – 57. DOI: 10.1016/j.jconrel.2011.04.018.
2. Тараховский Ю. С., Ким Ю. А., Абдралилов Б. С., Муфазаров Е. Н. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина. — Пущино: Synchronbook, 2013. — 310 с.
3. Beak S. M., Lee Y. S., Kim J. A. NADPH oxidase and cyclooxygenase mediate the ultraviolet B-induced generation of reactive oxygen species and activation of nuclear factor-kappa-B in HaCaT human keratinocytes / Biochimie. 2004. Vol. 86. N 7. P. 425 – 429. DOI: 10.1016/j.biochi.2004.06.010.
4. Tang H. R., Covington A. D., Hancock R. A. Structure-activity relationships in the hydrophobic interactions of polyphenols with cellulose and collagen / Biopolymers. 2003. Vol. 70. P. 403 – 413. DOI: 10.1002/bip.10499.
5. Тараховский Ю. С., Селезнева И. И., Васильева Н. А. и др. Ускорение фибриллообразования и температурная стабилизация фибрилл коллагена в присутствии таксифолина (дигидрокверцетина) / Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2007. Т. 144. № 12. С. 640 – 643.
6. Murapa P., Dai J., Chung M., et al. Anthocyanin-rich fractions of blackberry extracts reduce UV-induced free radicals and oxidative damage in keratinocytes / Phytother. Res. 2012. Vol. 26(1). P. 106 – 112. DOI: 10.1002/ptr.3510.
7. Kang Y. G., Choi E. J., Choi Y., Hwang J. K. 5,7-dimethoxyflavone induces melanogenesis in B16F10 melanoma cells through cAMP-dependent signaling / Exp. Dermatol. 2011. Vol. 20. N 5. P. 445 – 447. DOI: 10.1111/j.1600-0625.2010.01236.x.
8. Nan-Lin Wu, Jia-You Fang, Marcelo Chen, et al. Chrysin protects epidermal keratinocytes from UVA- and UVB-induced damage / J. Agric. Food Chem. 2011. Vol. 59. N 15. P. 8391 – 8400. DOI: 10.1021/jf200931t.
9. Roy S., Deep G., Agarwal C., Agarwal R. Silibinin prevents ultraviolet B radiation-induced epidermal damages in JB6 cells and mouse skin in a p53-GADD45alpha-dependent manner / Carcinogenesis. 2012. Vol. 33. N 3. P. 629 – 636. DOI: 10.1093/carcin/bgr299.
10. Bondet W., Brand-Williams W., Berset C. Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity using the DPPH• Free Radical Method / Lebensm.-Wiss u. -Technol. 1997. Vol. 30. N 6. P. 609 – 615.
11. Волков В. А., Сажина Н. Н., Пахомов П. М., Мисин В. М. Содержание и активность низкомолекулярных антиоксидантов в пищевых и лекарственных растениях / Химическая физика. 2010. Т. 29. № 8. С. 73 – 77.
12. Блажей А., Шутый Л. Фенольные соединения растительного происхождения. — М.: Мир, 1977. — 239 с.
13. de Andrade G. P., Manieri T. M., Nunes E. A., et al. Comparative in vitro study of photodynamic activity of hypericin and hypericins in MCF-7 cells / J. Photochem. Photobiol. B. 2017. Vol. 175. P. 89 – 98. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2017.08.025.
14. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII издание. Т. 3. ФС.2.5.0037.15.
15. Markus Ganzera, Manuela Guggenberger, Hermann Stuppner, Christian Zidorn. Altitudinal variation of secondary metabolite profiles in flowering heads of *Matricaria chamomilla* cv. BONA / Planta Medica. 2008. Vol. 74. N 4. P. 453 – 457. DOI: 10.1055/s-2008-1034326.
16. Berthold Weber, Martina Herrmann, Beate Hartmann, et al. HPLC/MS and HPLC/NMR as hyphenated techniques for accelerated characterization of the main constituents in Chamomile (*Chamomilla recutita* [L.] Rauschert) / Eur. Food Res. Technol. 2008. Vol. 226. P. 755 – 760. DOI: 10.1007/s00217-007-0587-y.
17. Кащенко Н. И., Оленников Д. Н. Количественный анализ флавоноидов в цветках ромашки аптечной (*Matricaria chamomilla* L.) методом микроколоночной ВЭЖХ-УФ / Химия растительного сырья. 2016. № 4. С. 107 – 115. DOI: 10.14258/jepm.2016041339.
18. Карцова Л. А., Деев В. А., Бессонова Е. А. и др. Определение полифенольных антиоксидантов в образцах зеленого чая. Характеристические хроматографические профили / Аналитика и контроль. 2019. Т. 23. № 3. С. 377 – 385. DOI: 10.15826/analitika.2019.23.3.010.
19. John K. Jackson, Jinying Zhao, Wesley Wong, Helen M. Burt. The inhibition of collagenase induced degradation of collagen by the galloyl-containing polyphenols tannic acid, epigallocatechin gallate and epicatechin gallate / J. Mater. Sci. Mater. Med. 2010. Vol. 21. P. 1435 – 1443. DOI: 10.1007/s10856-010-4019-3.
20. Попов И. В., Чумакова В. В., Попова О. И., Чумаков В. Ф. Биологически активные вещества, проявляющие антиоксидантную активность, некоторых представителей семейства Lamiaceae, культивируемых в Ставропольском крае / Химия растительного сырья. 2019. № 4. С. 163 – 172. DOI: 10.14258/jcpm.2019045200.
21. Miaomiao Yan, Zhongrong Liu, Huilan Yang, et al. Luteolin decrease the UVA-induced autophagy of human skin fibro-

- lasts by scavenging ROS / Mol. Med. Rep. 2016. Vol. 14. N 3. P. 1986 – 1992. DOI: 10.3892/mmr.2016.5517.
22. **Gang Chen, Hugang Shen, Linlin Zang, et al.** Protective effect of luteolin on skin ischemia-reperfusion injury through an AKT-dependent mechanism / Int. J. Mol. Med. 2018. Vol. 42. N 6. P. 3073 – 3082. DOI: 10.3892/ijmm.2018.3915.
 23. **Yong Pil Hwang, Kyo Nyeo Oh, Hye Jeong Yun, Hye Gwang Jeong.** The flavonoids apigenin and luteolin suppress ultraviolet A-induced matrix metalloproteinase-1 expression via MAPKs and AP-1-dependent signaling in HaCaT cells / J. Dermatol. Sci. 2011. Vol. 61. N 1. P. 23 – 31. DOI: 10.1016/j.jdermsci.2010.10.016.
 24. **Lee C. W., Na Y., Park N., et al.** Amentoflavone inhibits UVB-induced matrix metallo299 proteinase-1 expression through the modulation of AP-1 components in normal human fibroblasts / Appl. Biochem. Biotechnol. 2012. Vol. 166. N 5. P. 1137 – 1147. DOI: 10.1007/s12010-011-9500-z.
 25. **Волков В. А., Волков А. Н., Мисин В. М.** Кинетические характеристики взаимодействия 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила с некоторыми природными фенольными антиоксидантами в среде этанола / Изв. РАН. Серия химическая. 2014. № 9. С. 2013 – 2019. DOI: 10.1007/s11172-014-0693-5.
 26. **Тихонов И. В., Бородин Л. И., Осипов Е. М., Рябкова В. А.** Антиоксидантная активность полифенолов при окислении метиллинолеата в мицеллах / Сб. трудов X Международного симпозиума «Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты». 2018. Т. 1. С. 165 – 169.
- ## REFERENCES
1. **Zhang Q., Li P., Roberts M. S.** Maximum transepidermal flux for similar size phenolic compounds is enhanced by solvent uptake into the skin / J. Controlled Release. 2011. Vol. 154. N 1. P. 50 – 57. DOI: 10.1016/j.jconrel.2011.04.018.
 2. **Tarakhovsky Yu. S., Kim Yu. A., Abdrasilov B. S., Mufazarov E. N.** Flavonoids: biochemistry, biophysics, medicine. — Pushhino: Synchronbook, 2013. — 310 p. [in Russian].
 3. **Beak S. M., Lee Y. S., Kim J. A.** NADPH oxidase and cyclooxygenase mediate the ultraviolet B-induced generation of reactive oxygen species and activation of nuclear factor-kappa-B in HaCaT human keratinocytes / Biochimie. 2004. Vol. 86. N 7. P. 425 – 429. DOI: 10.1016/j.biochi.2004.06.010.
 4. **Tang H. R., Covington A. D., Hancock R. A.** Structure-activity relationships in the hydrophobic interactions of polyphenols with cellulose and collagen / Biopolymers. 2003. Vol. 70. P. 403 – 413. DOI: 10.1002/bip.10499.
 5. **Tarakhovsky Yu. S., Selezneva I. I., Vasilieva N. A., et al.** Acceleration of fibril formation and thermal stabilization of collagen fibrils in the presence of taxifolin (Dihydroquercetin) / Bull. Exp. Biol. Med. 2007. Vol. 144. N 6. P. 640 – 643. DOI: 10.1007/s10517-007-0433-z.
 6. **Murapa P., Dai J., Chung M., et al.** Anthocyanin-rich fractions of blackberry extracts reduce UV-induced free radicals and oxidative damage in keratinocytes / Phytother. Res. 2012. Vol. 26(1). P. 106 – 112. DOI: 10.1002/ptr.3510.
 7. **Kang Y. G., Choi E. J., Choi Y., Hwang J. K.** 5,7-dimethoxyflavone induces melanogenesis in B16F10 melanoma cells through cAMP-dependent signaling / Exp. Dermatol. 2011. Vol. 20. N 5. P. 445 – 447. DOI: 10.1111/j.1600-0625.2010.01236.x.
 8. **Nan-Lin Wu, Jia-You Fang, Marcelo Chen, et al.** Chrysin protects epidermal keratinocytes from UVA- and UVB-induced damage / J. Agric. Food Chem. 2011. Vol. 59. N 15. P. 8391 – 8400. DOI: 10.1021/jf200931t.
 9. **Roy S., Deep G., Agarwal C., Agarwal R.** Silibinin prevents ultraviolet B radiation-induced epidermal damages in JB6 cells and mouse skin in a p53-GADD45alpha-dependent manner / Carcinogenesis. 2012. Vol. 33. N 3. P. 629 – 636. DOI: 10.1093/carcin/bgr299.
 10. **Bondet W., Brand-Williams W., Berset C.** Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity using the DPPH• Free Radical Method / Lebensm.-Wiss u. -Technol. 1997. Vol. 30. N 6. P. 609 – 615.
 11. **Volkov V. A., Sazhina N. N., Pakhomov P. M., Misin V. M.** Content and activity of low-molecular antioxidants in food and medicinal plants / Russ. J. Phys. Chem. B. 2010. Vol. 4. N 4. P. 676 – 679. DOI: 10.1134/S1990793110040214.
 12. **Blazhei A., Shutyi L.** Phenolic compounds of plant origin. — Moscow: Mir, 1977. — 239 p. [in Russian].
 13. **de Andrade G. P., Manieri T. M., Nunes E. A., et al.** Comparative in vitro study of photodynamic activity of hypericin and hypericinates in MCF-7 cells / J. Photochem. Photobiol. B. 2017. Vol. 175. P. 89 – 98. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2017.08.025.
 14. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIII edition. Vol. 3. FS.2.5.0037.15 [in Russian].
 15. **Markus Ganzera, Manuela Guggenberger, Hermann Stuppner, Christian Zidorn.** Altitudinal variation of secondary metabolite profiles in flowering heads of *Matricaria chamomilla* cv. BONA / Planta Medica. 2008. Vol. 74. N 4. P. 453 – 457. DOI: 10.1055/s-2008-1034326.
 16. **Berthold Weber, Martina Herrmann, Beate Hartmann, et al.** HPLC/MS and HPLC/NMR as hyphenated techniques for accelerated characterization of the main constituents in Chamomile (*Chamomilla recutita* [L.] Rauschert) / Eur. Food Res. Technol. 2008. Vol. 226. P. 755 – 760. DOI: 10.1007/s00217-007-0587-y.
 17. **Kashchenko N. I., Olennikov D. N.** Quantitative analysis of flavonoids in chamomile flowers (*Matricaria chamomilla* L.) by microcolumn HPLC-UV / Russ. J. Bioorg. Chem. 2017. Vol. 43. N 7. P. 783 – 789. DOI: 10.1134/S106816201707007X.
 18. **Kartsova L. A., Deev V. A., Bessonova E. A., et al.** Determination of polyphenol antioxidants in the samples of green tea. The characteristic chromatographic profiles / Analit. Kontrol'. 2019. Vol. 23. N 3. P. 377 – 385. DOI: 10.15826/analitika.2019.23.3.010 [in Russian].
 19. **John K. Jackson, Jinying Zhao, Wesley Wong, Helen M. Burt.** The inhibition of collagenase induced degradation of collagen by the galloyl-containing polyphenols tannic acid, epigallocatechin gallate and epicatechin gallate / J. Mater. Sci. Mater. Med. 2010. Vol. 21. P. 1435 – 1443. DOI: 10.1007/s10856-010-4019-3.
 20. **Popov I. V., Chumakova V. V., Popova O. I., Chumakov V. F.** Biologically active substances exhibiting antioxidant activity, some representatives of the Lamiaceae family cultivated in the Stavropol region / Khim. Rastit. Syr'ya. 2019. N 4. P. 163 – 172. DOI: 10.14258/jcprm.2019045200 [in Russian].
 21. **Miaomiao Yan, Zhongrong Liu, Huilan Yang, et al.** Luteolin decrease the UVA-induced autophagy of human skin fibroblasts by scavenging ROS / Mol. Med. Rep. 2016. Vol. 14. N 3. P. 1986 – 1992. DOI: 10.3892/mmr.2016.5517.
 22. **Gang Chen, Hugang Shen, Linlin Zang, et al.** Protective effect of luteolin on skin ischemia-reperfusion injury through an AKT-dependent mechanism / Int. J. Mol. Med. 2018. Vol. 42. N 6. P. 3073 – 3082. DOI: 10.3892/ijmm.2018.3915.
 23. **Yong Pil Hwang, Kyo Nyeo Oh, Hye Jeong Yun, Hye Gwang Jeong.** The flavonoids apigenin and luteolin suppress ultraviolet A-induced matrix metalloproteinase-1 expression via MAPKs and AP-1-dependent signaling in HaCaT cells / J. Dermatol. Sci. 2011. Vol. 61. N 1. P. 23 – 31. DOI: 10.1016/j.jdermsci.2010.10.016.
 24. **Lee C. W., Na Y., Park N., et al.** Amentoflavone inhibits UVB-induced matrix metallo299 proteinase-1 expression through the modulation of AP-1 components in normal human fibroblasts / Appl. Biochem. Biotechnol. 2012. Vol. 166. N 5. P. 1137 – 1147. DOI: 10.1007/s12010-011-9500-z.
 25. **Volkov V. A., Volkov A. N., Misin V. M.** Kinetic characteristics for reactions of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl with some natural phenolic antioxidants in ethanol / Russ. Chem. Bull. 2014. Vol. 63. N 9. P. 2013 – 2019. DOI: 10.1007/s11172-014-0693-5.
 26. **Tikhonov I. V., Borodin L. I., Osipov E. M., Ryabkova V. A.** Antioxidant activity of polyphenols during the oxidation of methyl linoleate in micelles / Proc. of X international Symposium “Phenolic compounds: fundamental and applied aspects”. 2018. Vol. 1. P. 165 – 169 [in Russian].