

FURANOKUMARYNY – NATURALNE ZWIĄZKI ORGANICZNE O WIELU WŁAŚCIWOŚCIACH

FURANOCOUMARINS – NATURALLY OCCURRING COMPOUNDS THAT POSSESS A WIDE RANGE OF BENEFICAL BIOLOGICAL PROPERTIES

**Justyna Piechocka*, Paulina Owczarek, Grażyna
Chwatko**

*Katedra Chemii Środowiska, Wydział Chemii, Uniwersytet Łódzki
e-mail: justyna.piechocka@chemia.uni.lodz.pl

Abstract
Wprowadzenie
1. Budowa chemiczna
2. Biosynteza furanokumaryn
3. Występowanie
4. Właściwości wybranych furanokumaryn
5. Metody oznaczania wybranych furanokumaryn
Uwagi końcowe
Piśmiennictwo cytowane

Dr Justyna Piechocka zatrudniona jest na stanowisku adiunkta w Katedrze Chemii Środowiska na Wydziale Chemii Uniwersytetu Łódzkiego. Rozprawę doktorską zatytułowaną „Wysokosprawna chromatografia cieczowa wybranych pochodnych endogennych tioli” obroniła w 2018 roku. Jej zainteresowania naukowe koncentrują się na opracowywaniu metod analizy próbek biologicznych (mocz, ślina, osocze) na zawartość istotnych z biologicznego punktu widzenia endo- i egzogennych związków siarki. Metody te, opierają się na wykorzystaniu technik separacji w fazie ciekłej i gazowej. Dodatkowy aspekt badawczy stanowi poszukiwanie związków, które mogłyby pełnić rolę nowych markerów wybranych chorób cywilizacyjnych, w szczególności nieznanymi metabolitów homocysteiny i spokrewnionych z nią w szlaku przemian metabolicznych związków siarki.



<https://orcid.org/0000-0002-1160-3160>

Paulina Owczarek jest studentką ostatniego roku studiów magisterskich na kierunku Analityka Chemiczna, prowadzonym przez Wydział Chemii Uniwersytetu Łódzkiego. W 2021 roku ukończyła studia licencjackie w tej samej jednostce. Obecnie prowadzi badania nad opracowaniem chromatograficznej metody oznaczania wybranych furanokumaryny w produktach spożywczych, które realizuje w Katedrze Chemii Środowiska UŁ pod kierunkiem dr hab. Grażyny Chwatko, prof. UŁ.

Dr hab. Grażyna Chwatko, prof. UŁ od 1996 roku jest zatrudniona na Wydziale Chemii Uniwersytetu Łódzkiego. Pracę doktorską na temat „Wyznaczanie statusu redox tioli w osoczu krwi ludzkiej metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej” obroniła w 2002 roku. Roczny staż podoktorski, związany z badaniem biochemicznych aspektów aterogenego działania homocysteiny, odbyła w New Jersey Medical School, International Center for Public Health, Newark, USA. W 2014 roku uzyskała stopień doktora habilitowanego nauk chemicznych po przedstawieniu rozprawy na temat „Analiza próbek biologicznych na zawartość metabolicznie spokrewnionych związków siarki”. Jej zainteresowania naukowe obejmują opracowywanie nowych metod wykrywania i oznaczania związków siarki w próbkach biologicznych oraz zastosowanie tych metod do monitorowania przemian metabolicznych w organizmach, zarówno w stanach fizjologicznych jak i patologicznych.



<https://orcid.org/0000-0001-9247-5131>

ABSTRACT

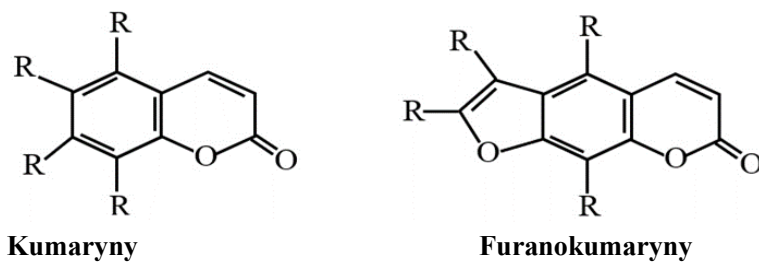
Psoralen and angelicin are organic, natural chemical compounds, belonging to the furanocoumarin group, which are quite common in nature. Among others, these compounds are present in plants of the celery, rutaceae, mulberry and bean families, such as celery, carrot, lemon and fig. Interestingly, they exhibit a variety of biological activities, for instance insecticidal, anticonvulsant, anticancer, and antioxidant properties. For this reason, they are commonly used in different area of life. For example, psoralen is used in photochemotherapy as a photosensitizer in the treatment of psoriasis or acquired vitiligo (PUVA therapy). However, there is evidence that overexposure to psoralen and angelicin can also cause adverse effects. For these reasons, a number of analytical methods have been developed for their determination in environmental samples, while the vast majority of them are based on separation techniques. This paper discusses issues related to psoralen and angelicin and their analytics.

Keywords: furanocoumarins, psoralen, angelicin, properties, occurrence, determination of furanocoumarins

Słowa kluczowe: furanokumaryny, psoralen, angelicina, właściwości, występowanie, oznaczanie furanokumaryn

WPROWADZENIE

Kumaryny to grupa związków chemicznych dość powszechnie występująca w przyrodzie, na przykład w warzywach (brokuł, rośliny strączkowe), cytrusach oraz roślinach leczniczych (mięta lekarska). W jej obrębie można wyróżnić proste kumaryny, furanokumaryny, izokumaryny oraz piranokumaryny. Kumaryny zbudowane są z rdzenia benzopirenowego (Rysunek 1), do którego przyłączone mogą być pierścień furanowy lub piranowy odpowiednio w przypadku furanokumaryn i piranokumaryn [1]. Zdecydowanie przeważającą część związków kumarynowych ulega procesowi sublimacji oraz dobrze rozpuszcza się w rozpuszczalnikach organicznych, takich jak alkohol metylowy (MeOH), etylowy (EtOH) czy eter naftowy [2].



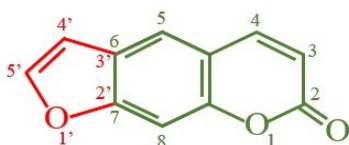
Rysunek 1. Poglądowe struktury chemiczne związków z grupy kumaryn i furanokumaryn. R oznacza podstawnik, na przykład ugrupowanie metoksyłowe ($-\text{OCH}_3$), wodorotlenkowe ($-\text{OH}$), łańcuch węglowy [1]

Figure 1. Chemical structures of compounds representing the coumarin and furanocoumarin group. R stands for substituent, for example, methoxy group ($-\text{OCH}_3$), hydroxide group ($-\text{OH}$), carbon chain [1]

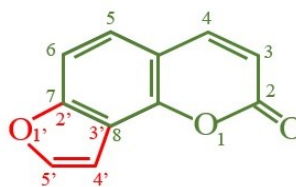
Furanokumaryny są fitochemikaliami, wtórnymi metabolitami syntezowanymi przez liczne rośliny jako czynniki ich ochrony przed szkodnikami [3, 4], które powszechnie stosowane są w ziołolecznictwie. Jak wskazują źródła literaturowe [5], zainteresowanie tą grupą związków sięga XIX wieku kiedy po raz pierwszy wyodrębniony został 5-metoksypsoralen z eterycznego olejku bergamotowego. Furanokumaryny ze względu na swoją budowę zostały podzielone na dwie podstawowe klasy, a mianowicie typ psoralenowy oraz zdecydowanie mniej rozpowszechniony w przyrodzie typ angelicyny [3].

1. BUDOWA CHEMICZNA

Furanokumaryny zbudowane są z pierścienia furanowego (Rysunek 2, fragment struktury zaznaczony kolorem czerwonym) związanego z benzo- α -pironem stanowiącym tak zwany szkielet kumarynowy (Rysunek 2, fragment struktury zaznaczony kolorem zielonym). Jak wcześniej wspomniano omawiane związki mogą mieć budowę liniową lub kątową, w zależności od miejsca przyłączenia się pierścienia furanowego do kumaryny. W przypadku formy liniowej podstawienie ma miejsce przy węglu C6 oraz C7, z kolei w przypadku formy kątowej przy węglu C7 i C8. W przyrodzie występują liczne pochodne psoralenu i angelicyny, powstające poprzez przyłączenie do rdzenia kumarynowego lub (rzadziej) pierścienia furanu odpowiednich podstawników w różnych pozycjach. Przykładami związków organicznych zaliczanych do odmiany liniowej są psoralen, bergapten, imperatoryna, izopimpineline, ksantotoksyna, peucedanina. Z kolei do odmiany kątowej zalicza się angelicynę, izobergapten, pimpinelinę oraz sfondynę [3]. Związki te cechują odmienne właściwości oraz aktywność biologiczna.



Psoralen (typ liniowy)



Angelicyna (typ kątowy)

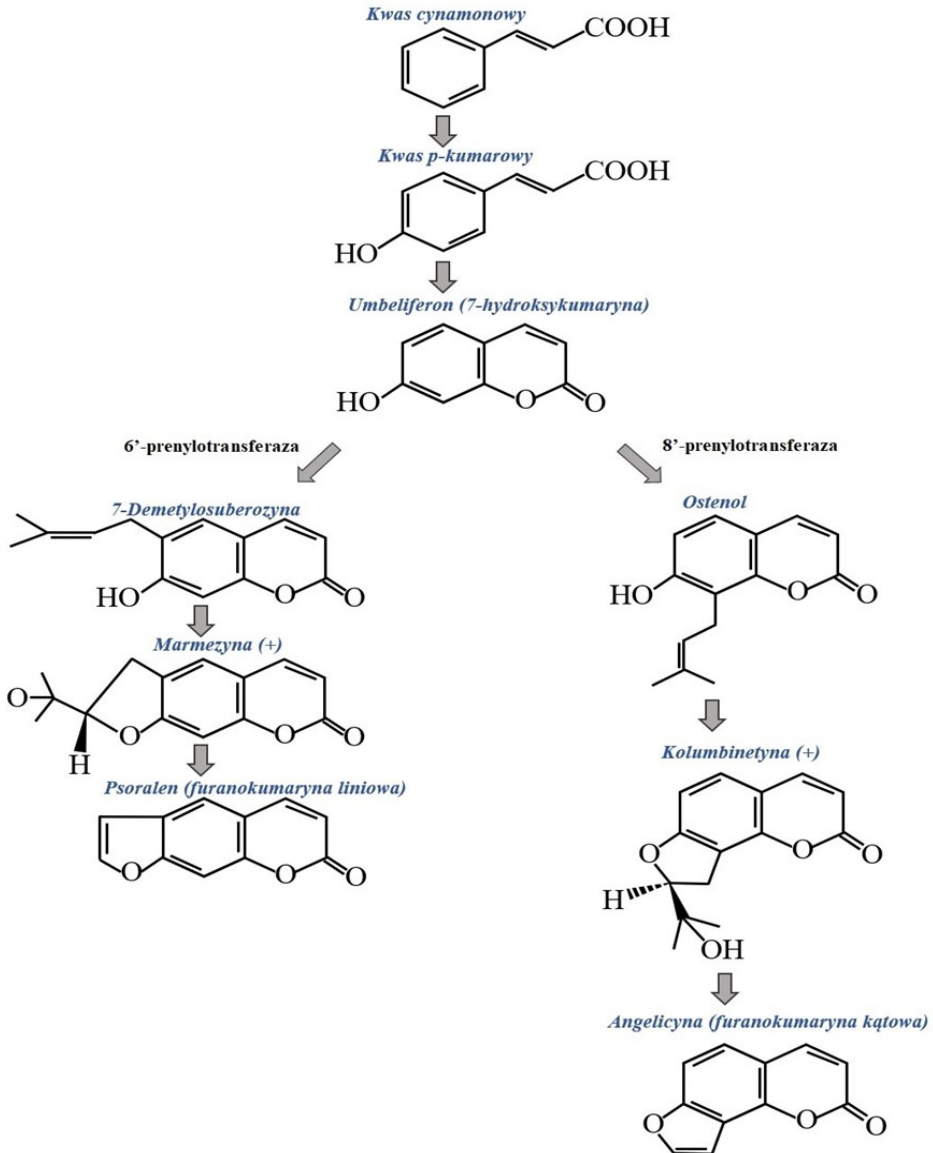
Rysunek 2. Poglądowe struktury chemiczne psoralenu i angelicyny [3]

Figure 2. Chemical structures of psoralen and angelicin [3]

2. BIOSYNTETA FURANOKUMARYN

Proces biosyntezy furanokumaryn (Rysunek 3) rozpoczyna się od prekursora o nazwie 7-hydroksykumaryna, inaczej określanego jako umbeliferon, który sam otrzymywany jest z kwasu cynamonowego, pośrednio ulegającego przemianom do kwasu p-kumarowego. W zależności od enzymów (6'-prenylotransferaza, 8'-prenylotransferaza), które biorą udział w szlaku metabolicznym, w dalszej przemianie z umbeliferonu powstaje odpowiednio psoralen bądź angelicyna. W przypadku furanokumaryny liniowej w ostatnim etapie biosyntezy od marmezyny oderwany zostaje aceton, na skutek czego dochodzi do uformowania psoralenu. Z niego na drodze kolejnych transformacji mogą kształtować się jego poszczególne pochodne.

W przypadku biosyntezy angelicyny prekursor przekształca się kolejno w ostenol i kolumbinetynę [2]. W reakcji prowadzącej do uzyskania dwóch docelowych odmian, istnieje pewna zbieżność, a także specyfika, gdyż zarówno dla marmezyny, jak i kolumbinetyny formuje się wyłącznie stereoisomer (+) [5].



Rysunek 3.
Figure 3.

Uproszczony schemat biosyntezy psoralenu i angelicyny [2, 5]
Simplified scheme of psoralen and angelicin biosynthesis [2, 5]

3. WYSTĘPOWANIE

Furanokumaryny dość powszechnie występują w przyrodzie, przy czym zdecydowanie większą ich część stanowią psoraleny aniżeli angelicyny. Związki te głównie produkowane są przez rośliny w odpowiedzi obronnej przeciwko szkodnikom. Ich największą zawartość, która w dużej mierze uzależniona jest od stopnia ekspozycji roślin na działanie czynników stresowych, stwierdza się w korzeniach, owocach oraz nasionach [3].

Furanokumaryny, w tym angelicyny oraz psoraleny, wytwarzane są głównie przez rośliny z rodziny bobowatych oraz selerowatych. Występują na przykład w korzeniu arcydzięgla lub biedrzeńca. Ponadto furanokumaryny typu psoralen można znaleźć w roślinach z rodziny morwowatych i rutowatych, na przykład korzeniu lubczyka czy liściach figowca [3] (Tabela 1). Obecnie za główne źródło furanokumaryn typu psoralen uznaje się roślinę o nazwie aminek większy (*Ammi majus* L.), występującą naturalnie w rejonie śródziemnomorskim oraz Azji południowo-zachodniej, gdzie traktowany jest jako chwast. Ze względu na odmienny klimat, nie jest on jednak spotykany na terenie naszego kraju [6].

Tabela 1. Przykłady roślin syntezujących furanokumaryny typu psoralen oraz angelicyna [5, 7]

Table 1. Examples of plants that synthesize furanocoumarins like psoralen and angelicin [5, 7]

Rodzina	Występowanie	
	Psoralen	Angelicyna
<i>Moraceae</i> (morwowate)	figa pospolita	
<i>Apiaceae</i> (selerowate)	arcydzięgiel, pasternak zwyczajny, marchew, barszcz Sosnowskiego, seler, aminek większy, koper, barszcz kaukaski, korzeń lubczyka	pasternak zwyczajny, seler naciowy, korzeń arcydzięgla, aminek większy, korzeń biedrzeńca
<i>Rutaceae</i> (rutowate)	cytryna, ruta zwyczajna, bergamota	-
<i>Leguminosae</i> (bobowate)	ziele babchi	groszek arabski

4. WŁAŚCIWOŚCI WYBRANYCH FURANOKUMARYN

Furanokumaryny stanowią dość zróżnicowaną pod kątem właściwości oraz aktywności biologicznej grupę związków chemicznych. Przede wszystkim znane są ze swojego działania jako środki owado- i grzybobójcze, oraz wykazujące aktywność przeciwbakteryjną. Produkowane są przez określone rośliny w wyniku ich narażenia na działanie czynników stresujących, na przykład atak owadów lub patogenów, takich jak bakterie, wirusy czy grzyby [3, 4].

Obecnie furanokumaryny, dzięki swoim unikatowym właściwościom, stosowane są w leczeniu licznych schorzeń. Jednym z przykładów jest ich wykorzystanie w leczeniu chorób dermatologicznych, takich jak bielactwo nabyte, pokrzywka barwnikowa, łuszczyca czy też trądzik [6]. Furanokumaryny, w tym przede wszystkim psoraleny, wykazują właściwości fotouczulające istotne z punktu widzenia możliwości ich wykorzystania w fotochemioterapii (terapia PUVA z ang. *Psoralen Ultra-Violet A*) [2, 3]. Niemniej należy zaznaczyć, że nadmierna ekspozycja na działanie promieniowania UVA i furanokumaryn typu psoralen może prowadzić do poparzenia skóry, zaćmy bądź stać się przyczyną tworzenia fitofotodermatoz [3].

Furanokumaryny, na przykład psoralen, angelicyna, imperatoryna, izoimperatoryna, posiadają także działanie przeciwnowotworowe. Szczególnie interesujące jest ich wykorzystanie w terapii skojarzonej nowotworów narządów rodnych kobiety. Między innymi potwierdzono, że związki te wykazują aktywność proapoptotyczną w stosunku do komórek raka jajnika (linia SK-OV-3). Dodatkowo wykazano, że ograniczają proliferację ludzkich linii komórkowych, takich jak SK-MEL-2 (czerniak), J5 (pierwotny rak wątroby), SH-SY5Y (neuroblastoma), KBv200 (rak płaskonabłonkowy jamy ustnej) [3, 4]. Wśród wielu właściwości biologicznych przypisywanym furanokumarynom, na uwagę zasługuje również ich aktywność przeciwdrgawkowa [3, 6]. Badania potwierdziły, że furanokumaryny, takie jak bergapten, ksantotoksyna, imperatoryna, izoimperatoryna mogą pełnić rolę antagonistów kanałów wapniowych, przyczyniając się do zmniejszenia częstotliwości napadów padaczkowych [3].

5. METODY OZNACZANIA WYBRANYCH FURANOKUMARYN

Dotychczas opracowano szereg metod analitycznych umożliwiających ocenę składu próbek biologicznych pod kątem obecności i zawartości wybranych związków z grupy furanokumaryn. Na podstawie przeprowadzonych badań literaturowych z całym przekonaniem można stwierdzić, że metody te w głównej mierze opierają się na wykorzystaniu technik separacyjnych (chromatograficznych). Początkowo powszechnie do tego celu stosowano przede wszystkim technikę chromatografii cienkowarstwowej, która z biegiem lat zaczęła być wypierana przez nowoczesne techniki instrumentalne. Obecnie w analityce próbek biologicznych, na potrzeby oz-

naczenia psoralenu czy angelicyny, przeważnie wykorzystuje się wysokosprawną chromatografię cieczową (HPLC) sprzężoną z różnymi rodzajami detekcji [5, 8]. Dotychczas w literaturze zostały opisane metody opierające się na wykorzystaniu HPLC w połączeniu z detektorem spektrofotometrycznym (UV-Vis) [9-13] fluorescencyjnym (FLD) [14] oraz spektrometrem mas (MS) [15], a także spektrometrem mas z analizatorem czasu przelotu (TOF-MS) [16]. Warto zaznaczyć, że oznaczenia prowadzono najczęściej z wykorzystaniem metod opierających się na detekcji UV-Vis oraz FLD, natomiast detekcja MS czy TOF-MS stosowana była głównie na potrzeby potwierdzenia tożsamości. Znane są również sposoby oznaczania pochodnych kumaryny z zastosowaniem techniki chromatografii gazowej [17].

Z uwagi na fakt, że próbki w których występują psoralen czy angelicyna charakteryzują się złożoną matrycą, niezbędne jest ich odpowiednie przygotowanie nim zostaną poddane analizie chromatograficznej. Niejednokrotnie proces ten był wieloetapowy i zarazem czasochłonny. W przypadku analizy ziela babchi (nasiona, owoce czy liście) próbki początkowo były rozdrabniane, a następnie poddawane ekstrakcji typu ciecz-ciało stałe z zastosowaniem MeOH [9-11, 13, 14, 16], EtOH [12] bądź mieszaniny wody i dichlorometanu [15] jako ekstrahenta. W celu zwiększenia wydajności procesu, próby ogrzewano [10] bądź częściej poddawano działaniu ultradźwięków [9, 11-16]. Ponadto, przed poddaniem materiału analizie chromatograficznej, próbki wirowano i/lub filtrowano.

Równie istotny etap prac podczas opracowywania metody analitycznej stanowi dobór warunków chromatograficznych. Na podstawie analizy literatury można stwierdzić, że psoralen oraz angelicyna wykazują retencję w odwróconym układzie faz. W omawianych przypadkach z powodzeniem stosowano kolumny, w których złożo chromatograficzne stanowiła krzemionka modyfikowana łańcuchami alkilowymi typu C18. Na fazę ruchomą najczęściej składała się mieszanina rozpuszczalników organicznych, takich jak MeOH czy acetonitryl z wodą [9-11, 14, 15] bądź rozcieńczonym kwasem mrówkowym albo kwasem fosforowym(V) [12, 13, 16]. Ze względu na złożoność próbek analizowanych na zawartość psoralenu oraz angelicyny, jak również dużą retencję analitów w przeważającej liczbie przypadków niezbędne okazało się stosowanie elucji gradientowej.

Każdą z omawianych metod poddano procesowi walidacji, który wykazał że cechuje je wysoka dokładność i precyzja, jak również czułość. Co ważne, zastosowanie wspomnianych metod umożliwiło oznaczenie psoralenu i angelicyny w analizowanym materiale [9-16]. Dla rośliny ziela babchi średnia zawartość psoralenu i angelicyny wynosiła odpowiednio 7,8 mg/g oraz 2,3 mg/g [15]. Natomiast w przypadku owoców ziela babchi zawartość ta mieściła się w zakresie od 2,5 do 13,0 mg/g oraz od 2,16 do 9,2 mg/g odpowiednio dla psoralenu oraz angelicyny [10-12]. W każdym omawianym przypadku zawartość analitów została określona w mg/g suchej masy.

W poniższej tabeli 2 zestawiono wybrane metody oznaczania wspomnianych związków w próbkach roślin i produktach roślinnych. W szczególności zamieszczono informacje na temat kluczowych etapów przygotowania materiału do analizy, warunków chromatograficznych oraz wyznaczonych (wybranych) parametrów walidacyjnych. W tym miejscu należy nadmienić, że przytoczone przykłady stanowią niewielki odsetek spośród dotychczas opracowanych narzędzi analitycznych.

Tabela 2. Zestawienie wybranych metod oznaczania psoralenu oraz angelicyny w ziele babchi metodami opartymi na wykorzystaniu techniki HPLC [9-16]
 Table 2. The overview of selected methods, based on the HPLC technique, for the determination of psoralen and angelicin in babchi herb [9-16]

Analit(y)	Material	Najważniejsze etapy procedury przygotowania próbki	Kolumna	Faza ruchoma (początkowy skład eluentu)	Detekcja	LOD	Źródło
Psoralen Angelicyna	Nasiona	Ekstrakcja MeOH wspomagana ultradźwiękami	Luna C18 (Phenomenex) (150 × 4,6 mm; 5 μm)	A) woda, B) MeOH (A:B, 45:55, v/v) elucja gradientowa	UV (246 nm)	360 ng/ml 310 ng/ml	[9]
Psoralen Angelicyna	Owoce	Rozdrobnienie, ekstrakcja MeOH, filtracja	Cosmosil 5C18-AR-II (Nacalai Tesque) (250 × 4,6 mm; 5 μm)	A) woda, B) MeCN (A:B, 80:20, v/v) elucja gradientowa	DAD (254 nm)	37,5 ng/ml 43,7 ng/ml	[10]
Psoralen Angelicyna	Owoce	Rozdrobnienie, ekstrakcja MeOH wspomagana ultradźwiękami, filtracja	C18 (GL Sciences) (250 × 4,6 mm; 5 μm)	A) MeOH, B) woda (A:B, 55:45, v/v) elucja izokratyczna	UV (254 nm)	0,01 ng/ml 0,01 ng/ml	[11]
Psoralen Angelicyna	Owoce	Rozdrobnienie, ekstrakcja EtOH wspomagana ultradźwiękami, filtracja	Acquity UHPLC BEH C18 (Waters) (100 × 2,1 mm; 1,7 μm)	A) 0,05% FA, B) MeCN (A:B, 92:8, v/v) elucja gradientowa	UV (246 nm)	b.d.	[12]
Psoralen Angelicyna	Owoce	Rozdrobnienie, ekstrakcja MeOH wspomagana ultradźwiękami, filtracja	Poroshell 120 EC-C18 (Agilent Technologies) (100 × 4,6 mm; 2,7 μm)	A) 0,1% FA, B) MeOH, C) MeCN (A:B:C, 60:40:0, v/v/v) elucja gradientowa	DAD (312 nm)	1,12 ng 2,16 ng	[13]

Tabela 2. Ciąg dalszy
Table 2. Continued

Anality(y)	Material	Najważniejsze etapy procedury przygotowania próbki	Kolumna	Faza ruchoma (początkowy skład eluentu)	Detekcja	LOD	Źródło
Psoralen Angelicyna	Owoce	<u>Owoce</u> : rozdrobnienie, ekstrakcja MeOH wspomagana ultradźwiękami, filtracja	WondaSil C18-WR (GL Science) (250 × 4,6 mm; 5 μm)	A) MeOH, B) woda (A:B, 50:50, v/v) elucja gradientowa	FLD (λ _{ex} 280 nm; λ _{em} 405 nm)	0,8 ng/ml 2,5 ng/ml	[14]
	Osocze szczurów	<u>Osocze</u> : ekstrakcja MeOH wspomagana ultradźwiękami, filtracja					
Psoralen Angelicyna	Ziola	Rozdrobnienie, ekstrakcja mieszaniną woda : CH ₂ Cl ₂ (1:1; v/v) wspomagana ultradźwiękami, odparowanie próbki do sucha w strumieniu N ₂ rozpuszczenie pozostałości w MeOH	Zorbax 300SB C18 (Hewlett-Packard) (150 × 4,6 mm; 5 μm)	A) MeCN, B) woda, (A:B, 20:80, v/v) elucja izokratyczna	UV (245 nm)	100 ng/g 100 ng/g	[15]
Psoralen Angelicyna	Owoce	Ekstrakcja MeOH wspomagana ultradźwiękami, filtracja	Kromasil 100-5-C18 (AkzoNobel) (250 × 4,6 mm; 5 μm)	A) MeCN, B) H ₃ PO ₄ (0,1%) (A:B, 10:90, v/v) elucja gradientowa	DAD (245 nm)	54,5 ng/ml 50,5 ng/ml	[16]

Objaśnienia: MeOH metanol, MeCN acetonitryl, EtOH etanol, FA kwas mrówkowy, UV/DAD detekcja spektrofotometryczna, FLD detekcja fluorescencyjna, LOD granica wykrywalności, λ_{ex} długość fali wzbudzenia, λ_{em} długość fali emisji, b.d. brak danych.

UWAGI KOŃCOWE

Furanokumaryny reprezentują grupę związków chemicznych, wytwarzanych przez rośliny jako produkty metabolizmu wtórnego, o zróżnicowanej budowie czy działaniu biologicznym. Wśród nich można wyróżnić substancje zarówno o budowie kątowej jak i liniowej, których występowanie ograniczone jest do kilku rodzin botanicznych, a mianowicie *Apiaceae*, *Moraceae*, *Rutaceae*, *Leguminosae*. Pomimo upływu wielu lat, furanokumaryny cieszą się nielubianym zainteresowaniem wśród ogółu społeczeństwa, szczególnie ze względu na zróżnicowaną aktywność biologiczną oraz wynikające z tego faktu zastosowanie w terapii wielu chorób człowieka. Co istotne, nieustannie prowadzone są również badania nakierowane na odkrycie niepoznanych dotychczas możliwości terapeutycznego ich zastosowania, co z kolei pociąga za sobą konieczność opracowywania nowych narzędzi analitycznych umożliwiających selektywną izolację czy też oznaczenie furanokumaryn w materiale biologicznym.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] M. Malinowska, K. Bielawska, *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2013, **46**, 393
- [2] T. Wolski, T. Baj, *Post. Fitoter.*, 2014, **3**, 166
- [3] K. Kosidło, A. Żurek, K. Zarosa, *Nauki Przyrodnicze*, 2015, **9**, 3
- [4] S. Ahmed, H. Khan, M. Aschner, H. Mirzae, E. Kúpeli Akkol, R. Capasso, *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, **21**, 1
- [5] J. A. Del Rio, L. Diaz, D. Garcia-Bernal, M. Blanquer, A. Ortuno, E. Correal, J. M. Moraleda, *Stud. Nat. Prod. Chem.*, 2014, **43**, 145
- [6] H. Ekiert, *Biotechnologia*, 1994, **1**, 121
- [7] A. Nikiel, *Kosmetologia Estetyczna* 2017, **6**, 231
- [8] R. Bruni, D. Barreca, M. Protti, V. Brighenti, L. Righetti, L. Anceschi, L. Mercolini, S. Benvenuti, G. Gattuso, F. Pellati, *Molecules*, 2019, **24**, 1
- [9] M. Jeong, T. Hong, K. Lee, H. Hwangbo, M. Kim, W. Ma, M. Zahn, *J. AOAC INT.*, 2015, **98**, 902
- [10] C. F. Lin, Y. L. Huang, M. Y. Chien, S. J. Sheu, C. C. Chen, *J. Food Drug Anal.*, 2007, **15**, 433
- [11] Y. Chen, R. Wang, Z. Chen, *Anal. Methods*, 2019, **11**, 29
- [12] K. Z. Du, J. Li, X. M. Gao, Y. X. Chang, *Sustain. Chem. Pharm.*, 2020, **15**, 1
- [13] Y. Zhang, Z. Chen, X. Xu, Q. Zhou, X. Liu, L. Liao, Z. Zhang, Z. Wang, *J. Sep. Sci.*, 2017, **40**, 4191
- [14] Y. Chen, Q. Xiang, Z. Chen, *Anal. Methods*, 2014, **6**, 269
- [15] N. T. Dong, K. Bae, Y. H. Kim, G. S. Hwang, O. S. Heo, S. E. Kim, J. S. Kang, *Arch. Pharm. Res.*, 2003, **26**, 516
- [16] L. Luan, X. Shen, X. Liu, Y. Wu, M. Tan., *Biomed. Chromatogr.*, 2018, **32**, 1
- [17] R. Peroutka, V. Schulzová, P. Botek, J. Hajšlová, *J. Sci. Food Agric.*, 2007, **87**, 2152

