

УДК 542.06.542.61.542.46.808.542.97.542.93

ЭКСТРАКЦИЯ ХЛОРОГЕНОВОЙ КИСЛОТЫ ИЗ САБЕЛЬНИКА БОЛОТНОГО *COMARUM PALUSTRE* L. В СРЕДЕ СУБКРИТИЧЕСКОЙ ВОДЫ

© А.В. Лекарь¹, О.В. Филонова², С.Н. Борисенко^{2*}, Е.В. Максименко¹, Н.И. Борисенко¹, В.И. Минкин²

¹ Эколого-аналитический центр Южного федерального университета,
ул. Зорге, 7, Ростов-на-Дону, 344090 (Россия)

² НИИ физической и органической химии Южного федерального
университета, пр. Стачки, 194/2, Ростов-на-Дону, 344090 (Россия),
e-mail: boni@ipoc.rsu.ru

Предложен и изучен метод экологически чистой экстракции хлорогеновой кислоты из сабельника болотного в среде субкритической воды. Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии определены количества хлорогеновой кислоты в экстрактах, полученных в среде субкритической воды и в водном растворе этанола. Продемонстрирована высокая эффективность экстракции хлорогеновой кислоты из корневищ сабельника болотного в среде субкритической воды без использования дорогостоящих органических растворителей.

Ключевые слова: экстракция, хлорогеновая кислота, сабельник болотный, *Comarum palustre* L., субкритическая вода, высокоэффективная жидкостная хроматография.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ 13-03-01318, 13-03-12271 (офи-м) и гос. задания ВУЗам на 2013 год (проект 3.5193.2011).

Введение

Сабельник болотный *Comarum palustre* L. обладает широким спектром биологической активности, в том числе ранозаживляющим, болеутоляющим, противовоспалительным, иммуностимулирующим и антиревматическим действиями [1]. Сабельник болотный широко используется в традиционной и народной медицине. Химический состав сабельника болотного характеризуется большим разнообразием, в нем представлены полифенольный комплекс, эфирные масла, смолы, органические, гидроксикоричные кислоты и их производные [2], в том числе хлорогеновая кислота (I) (рис. 1).

Хлорогеновая кислота (ХК) – 3-О-кофеил-хинная кислота и ее изомеры являются мощными антиоксидантами. ХК содержится в различных плодах и напитках, например, в чернике, баклажанах, яблоках и особенно высокое ее содержание регистрируется в зеленых зернах кофе. Свойства ХК интенсивно изу-

Борисенко Сергей Николаевич – старший научный сотрудник, кандидат химических наук,
e-mail: boni@ipoc.rsu.ru, sn.borisenko@gmail.com

Лекарь Анна Владимировна – старший лаборант,
e-mail: lekarann@mail.ru

Филонова Ольга Владимировна – младший научный сотрудник, fokysnik007@mail.ru

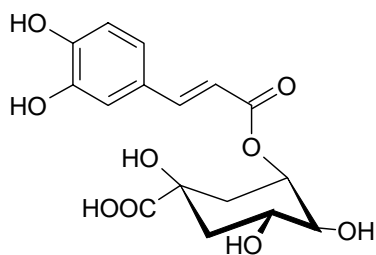
Максименко Елена Владимировна – заведующая лабораторией, e-mail: maximenkoev52@mail.ru

Борисенко Николай Иванович – директор, кандидат химических наук, e-mail: boni@ipoc.rsu.ru

Минкин Владимир Исаакович – главный научный сотрудник, доктор химических наук, профессор, Академик РАН, e-mail: bell@ipoc.rsu.ru

чаются последние несколько лет, благодаря обнаружению широкого спектра биологической активности. ХК проявляет способность ингибировать рост опухолей (*in vitro*) [3], оказывает ингибирующий эффект на колоректальный рак, рак печени, рак гортани [4–12], способствует предотвращению сахарного диабета 2-го типа [13], обладает антигипертензивным [14], антивирусным [15], антибактериальным [16] и противогрибковым [16] действием. При этом ХК обладает относительно низкой токсичностью и отсутствием побочных эффектов. Пе-

* Автор, с которым следует вести переписку.



Хлорогеновая кислота $C_{16}H_{18}O_9$

Рис. 1. Структурная формула хлорогеновой кислоты (3-кофеил-хинная кислота)

методик, использующих различные варианты физического воздействия с использованием ультразвука [20] и СВЧ-генераторов [21]. Каждая из этих методик обладает теми или иными недостатками. При использовании органических растворителей следует учитывать их дороговизну, а зачастую – и токсичность (например, метанол [22]). Как правило, традиционные методики требуют еще и значительных временных затрат. Переход к использованию УЗИ- и СВЧ-генераторов при пробоподготовке и экстракции позволяет существенно сократить время, затрачиваемое на экстракцию. Сокращение времени экстракции достигается за счет изменения структуры растительной матрицы в результате воздействия ультразвуковых или СВЧ-колебаний. Однако это требует дополнительных затрат на модернизацию экспериментальной базы. Еще одним параметром, который может и должен быть оптимизирован для увеличения эффективности процессов экстракции, наряду с варьированием природы растворителей и соразтворителей, является температура [23].

В последнее десятилетие для экстракции полярных и слабополярных соединений используется среда субкритической воды (вода в жидком состоянии под давлением при температурах от 100 до 374 °C) [24]. Среда субкритической воды (СБВ) обеспечивает варьирование полярности и pH среды в широком интервале при изменении температуры, обеспечивая возврат к обычным значениям полярности и pH среды при охлаждении до комнатной температуры. Исследования, нацеленные на разработку методов экологически чистой экстракции и химической модификации биологически активных соединений, являются актуальными и имеют значительный теоретический и инновационный потенциал. Для государств с богатейшими растительными ресурсами, таких как Россия и страны СНГ, например, применение экологически дружелюбной, доступной и недорогой субкритической воды в технологических процессах взамен дорогостоящих и зачастую токсичных органических растворителей открывает широчайшие перспективы использования в промышленности. В связи с этим последние 5 лет в Южном Федеральном университете РФ изучаются возможности использования в качестве растворителя для экстракции среды СБВ.

Целью работы явилась разработка и изучение методики экологически чистой экстракции ХК из сабельника болотного в среде СБВ. Предлагаемая методика позволяет использовать корневища сабельника в качестве источника ХК для возможного дизайна иммуномодулирующих и гепатопротекторных препаратов в экологически чистой среде СБВ.

С другой стороны, исследование содержания хлорогеновой кислоты в экстрактах сабельника болотного, полученных в различных средах, позволяет оценить потенциал применения экстрактов корневищ сабельника болотного в качестве лекарственного средства с учетом биологической активности ХК.

Экспериментальная часть

В качестве объекта исследования использованы корневища сабельника болотного – *Comarum palustre* L. (изготовитель ПБОЮ Матюшин).

Классическая экстракция ХК из корневищ сабельника болотного выполнена с использованием водного раствора этанола [18]. Навеску массой 3 г среднеизмельченных сухих корневищ сабельника (диаметр частиц 0,5–1,0 мм) помещали в колбу с притертым шлифом, добавляли 24 мл 30%-ного водного раствора этанола и трехкратно экстрагировали на магнитной мешалке с подогревом при 60 ± 5 °C в течение 90 мин. Полученные экстракты охлаждали, отфильтровывали через складчатый фильтр марки «Белая лента». Этанольные вытяжки объединяли, упаривали и анализировали на содержание ХК методом высокоэффективной хроматографии (ВЭЖХ).

речисленные свойства нашли применение ХК при создании, пищевых добавок и косметических средств [18]. На сегодняшний день на основе ХК в Норвегии и Великобритании, под торговой маркой Svetol и Coffee Slender, начато продвижение пищевых добавок для снижения и контроля веса (зеленый кофе, обогащенный хлорогеновой кислотой, жевательные резинки и леденцы). Все вместе взятое делает актуальным поиск новых растительных источников ХК и методов ее извлечения.

Для извлечения хлорогеновой кислоты из растительной матрицы предложены различные методы: от традиционных методик, основанных на использовании органических растворителей и водно-спиртовых растворов [19], до

Экстракция ХК в среде субкритической воды (СБВ) выполнена по методике, аналогичной описанной ранее в работах по извлечению полифенолов [25–27]. Процедура экстракции ХК в среде субкритической воды состояла в следующем: навеску определенной массы (0,3; 0,4; 0,5 и 1,0 г) сухого среднеизмельченного исходного сырья (диаметр частиц 0,5–1,0 мм) помещали в экстрактор (цилиндрический толстостенный сосуд из нержавеющей стали внутренним объемом 10 мл), в который добавляли 7 мл дистиллированной воды. Экстрактор герметично закрывали и устанавливали в сушильный шкаф с заданной температурой (точность ± 1 °С) на 1 ч. Затем экстрактор охлаждали до комнатной температуры в емкости с проточной холодной водой и оставляли на несколько часов (для полного оседания белковых веществ). Содержимое экстрактора фильтровали через складчатый бумажный фильтр. Аликвоту экстракта очищали фильтрованием под вакуумом для последующего анализа с использованием ВЭЖХ.

Количество ХК в экстрактах определяли с использованием обращено-фазового варианта ВЭЖХ на жидкостном хроматографе «Agilent 1200». Условия хроматографирования экстрактов: колонка «ZorbaxSB-C18» (2,1×150 мм, 3,5 μ m); подвижная фаза: метанол: 5%-ная муравьиная кислота – 88 : 12 (градиент), температура колонки – 35 °С, скорость элюента – 0,15 мл/мин, UV-детектор – 320 и 254 нм. Количественное определение ХК в экстрактах сабельника проводили по методу абсолютной калибровки. В качестве стандарта использовали изомер 3-О-кофеилхинной кислоты (99,1%. *Chengdu Biopurify Phytochemicals Ltd.*, CAS No.: 327-97-9, Catalogue No.: C07007).

Результаты и обсуждение

Изучен выход ХК из корневища сабельника болотного при различной температуре, времени экстракции, природы и концентрации соразтворителей, соотношения сырья: реагент и массы загрузки сырья при экстракции в среде субкритической воды. Для оценки эффективности нового метода экстракции с использованием субкритической воды исследован выход ХК с применением традиционной методики экстракции.

Количество ХК в экстракте в зависимости от природы экстрагента и температуры субкритической воды (от 120 до 150 °С) представлены на рисунке 2. В качестве экстрагентов использованы чистая вода и водные растворы этанола (5, 10 и 30%-ного этанола). Результаты выхода ХК приведены в пересчете на 1 г сухого сырья.

Результаты исследований показали, что наилучшим экстрагентом с точки зрения извлечения максимального количества ХК является чистая вода без добавок этанола при температуре 140 °С.

Зависимость выхода ХК в СБВ от соотношения массы загружаемого сырья и объема экстрагента при температуре 140 °С (рис. 3) показала, что максимальный выход ХК достигается при загрузке 0,4 г.

Для определения оптимального времени экстракции получены зависимости количества ХК извлекаемой из сабельника болотного за определенный отрезок времени (от 30 до 90 мин). Результаты представлены на рисунке 4.

Полученные результаты (рис. 2–4) демонстрируют оптимальные условия экстракции хлорогеновой кислоты из корневищ сабельника в среде субкритической воды: температура – 140 °С, соотношение сырья: экстрагент – 1: 17, растворитель – H₂O, масса сырья – 0,4 г, объем растворителя – 7,0 мл, продолжительность экстракции – 60 мин.

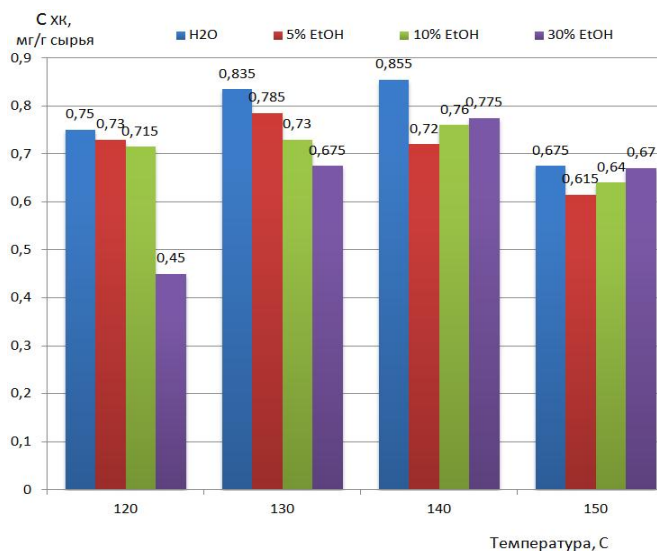


Рис. 2. Количество ХК, извлекаемой из корневища сабельника болотного в среде субкритической воды, в зависимости от температуры (°С) и природы экстрагента

Представленные на рисунке 4 данные по выходу ХК указывают на наличие процессов термической деградации хлорогеновой кислоты и гидролитических процессов, протекающих как при повышении температуры выше 140 °С, с одной стороны, так и с увеличением продолжительности экстракции свыше 40 мин – с другой. Подтверждением этого служат данные анализа ВЭЖХ экстрактов, полученных различными методами. На рисунке 5 приведены типичные хроматограммы экстрактов, из корневищ сабельника болотного, полученных как традиционным методом (рис. 5а), так и в среде СБВ (рис. 5б).

Количество ХК, извлеченной из сабельника болотного различными способами экстракции, представлено на рисунке 6. В среде субкритической воды извлекается ХК в 1,4 раза больше, чем с использованием традиционного метода, использующего водно-этанольный раствор.

Разработанная недорогая методика экологически чистой экстракции ХК открывает перспективу дизайна новых фармсубстанций без использования дорогостоящих и зачастую токсичных органических растворителей.

Изучение полифенольного профиля субстанций, извлекаемых в среде СБВ из сабельника болотного и изменений их антиоксидантных, иммуномодулирующих и гепатопротекторных свойств планируется в продолжении данной работы.

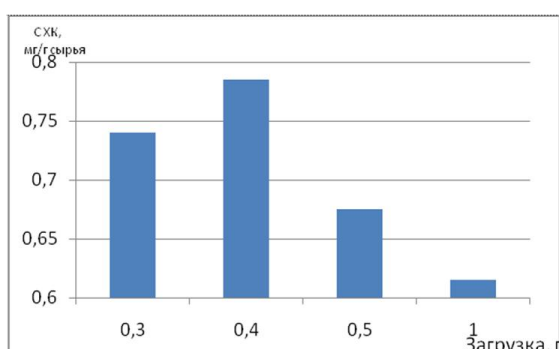


Рис. 3. Количество извлекаемой ХК в зависимости от массы загрузки при экстракции в среде субкритической воды

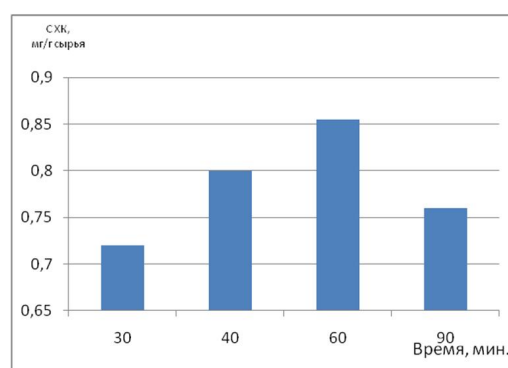
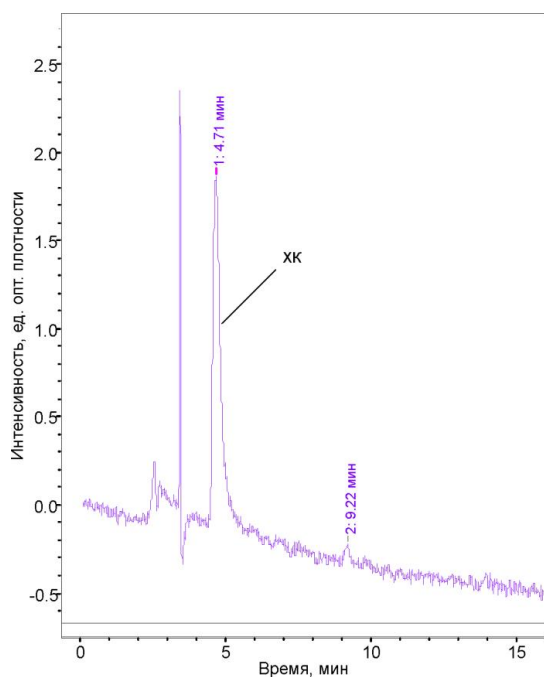
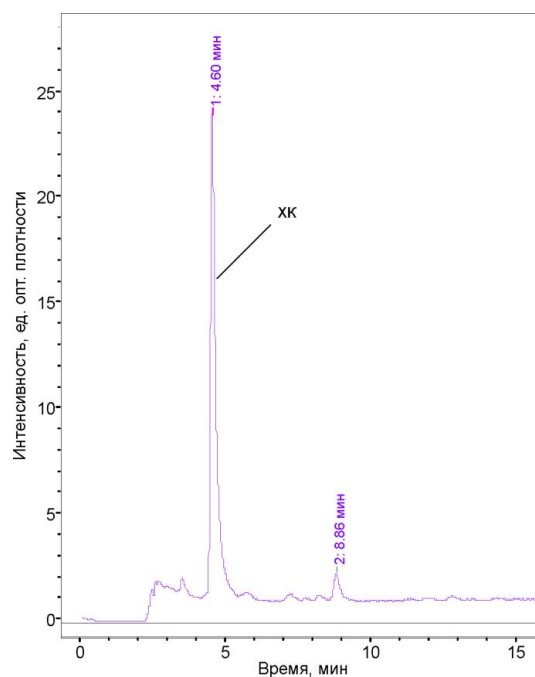


Рис. 4. Количество ХК в зависимости от времени экстракции



а



б

Рис. 5. Хроматограммы экстрактов корневищ сабельника болотного, полученных традиционным методом (а) и в субкритической воде (б). Длина волны регистрации – 320 нм

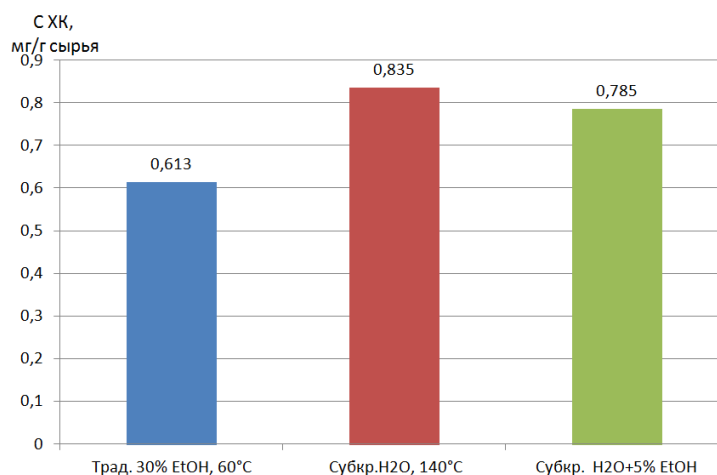


Рис. 6. Количество хлорогеновой кислоты, экстрагируемое из сабельника болотного различными методами

Заключение

Разработана и изучена недорогая методика экологически чистой экстракции хлорогеновой кислоты из сабельника болотного в среде субкритической воды без использования дорогостоящих органических растворителей.

Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии определены количества хлорогеновой кислоты в экстрактах, полученных в среде субкритической воды и в водном растворе этанола.

Показано, что количество хлорогеновой кислоты, экстрагируемой из сабельника болотного в среде субкритической воды, превышает в 1,4 раза количество ХК, экстрагируемой традиционным методом.

Список литературы

1. Бузук Г.Н., Ловкова М.Я., Ёршик О.А., Соколова С.М. Новый источник проантоцианидинов с противовоспалительной активностью корневища с корнями сабельника болотного (*Comarum palustre* L.) // ДАН. 2008. Т. 421. № 4. С. 546–548.
2. Жукова О.Л., Абрамов А.А., Даргаева Т.Д., Маркарян А.А. Изучение фенольного состава подземных органов сабельника болотного // Вестник Московского университета. Сер. 2. Химия. 2006. Т. 47. № 5. С. 342–345.
3. Xu R., Kang Q., Ren J., Li Z., Xu X. Antitumor molecular mechanism of chlorogenic acid on inducing genes gsk-3 β and apc and inhibiting gene β -catenin // J. of Analytical Methods in Chemistry. 2013. Vol. 2013. Pp. 1–7.
4. Pellati F., Benvenuti S., Magro L., Melegari M., Soragni F. Analysis of phenolic compounds and radical scavenging activity of Echinacea spp // J. of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2004. Vol. 35. N 2. Pp. 289–301.
5. Liu and J.-H., Qiu A.-Y. Chlorogenic acid extraction and purification and application prospects // J. of Cereals&Oils. 2003. N 9. Pp. 444–446.
6. Dorrell D.G. Chlorogenic acid content of meal from cultivated and wild sunflowers // Crop Science. 1976. Vol. 16. N 3. Pp. 422–424.
7. Shimizu M., Yoshimi N., Yamada Y. et al. Suppressive effects of chlorogenic acid on N-methyl-N-nitrosourea-induced glandular stomach carcinogenesis in male F344 rats // J. of Toxicological Sciences. 1999. Vol. 24. N 5. Pp. 433–439.
8. Matsunaga K., Katayama M., Sakata K. et al. Inhibitory effects of chlorogenic acid on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in male F344 rats // Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. 2002. Vol. 3. Pp. 163–166.
9. Kurata R., Adachi M., Yamakawa O. and Yoshimoto M. Growth suppression of human cancer cells by polyphenolics from sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) leaves // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2007. Vol. 55. N 1. Pp. 185–190.
10. Rylova S.N., Amalfitano A., Persaud-Sawin D.A. et al. The CLN3 gene is a novel molecular target for cancer drug discovery // Cancer Research. 2002. Vol. 62. N 1. Pp. 801–808.
11. Pereira R.C., Delany A.M., and Canalis E. CCAAT/enhancer binding protein homologous protein (DDIT3) induces osteoblastic cell differentiation // Endocrinology. 2004 Vol. 145. N 4. Pp. 1952–1960.
12. Kang T.Y., Yang H. R., Zhang J., Li D., Lin J., Wang L., Xu X.P. The Studies of Chlorogenic Acid Antitumor Mechanism by Gene Chip Detection: The Immune Pathway Gene Expression // J. of Analytical Methods in Chemistry. 2013. Vol. 2013. 7 p.
13. Paynter N.P., Yeh, H.C., Voutilainen S., Schmidt M.I., Heis G., Folsom A.R., Brancati F.L., Kao, W.H.L. Coffee and Sweetened Beverage Consumption and the Risk of Type 2 Diabetes Mellitus (abstract) // American Journal of Epidemiology (Oxford Journals). 2006. Vol. 164. N 11. Pp. 1075–1084.
14. Zhao Y., Wang J., Balleve O., Luo H., Zhang W. Antihypertensive effects and mechanisms of chlorogenic acids // Hypertension Research. 2012. Vol. 35. N 4. Pp. 370–375.

15. Jassim S.A.A., Naji M.A. Novel antiviral agents: a medicinal plant perspective // *J. of Applied Microbiology*. 2003. Vol. 95. N 3. Pp. 412–427.
16. De Sotillo D.R., Hadley M., Wolf-Hall C. Potato Peel Extract a Nonmutagenic Antioxidant with Potential Antimicrobial Activity // *Journal of Food Science*. 1998. Vol. 63. N 5. Pp. 907–910.
17. Bowels B.L., Miller A.J. Caffeic Acid Activity Against *Clostridium botulinum* Spores // *J. of Food Science*. 1994. Vol. 59. N 4. Pp. 905–908.
18. Куркин В.А., Запесочная Г.Г., Ежков В.Н. Фенилпропаноиды лекарственных растений. Самара, 2005. 120 с.
19. Grujic N., Lepojevic Z., Srdjenovic B., Vlastic J., Sudji J. Effects of Different Extraction Methods and Conditions on the Phenolic Composition of Mate Tea Extracts // *Molecules*. 2012. Vol. 17. N 3. Pp. 2518–2528.
20. Liu Q. M., Yang X. M., Zhan L., Majetich G. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of chlorogenic acid from *Folium eucommiae* and evaluation of its antioxidant activity // *J. of Medicinal Plants Research*. 2010. Vol. 4. N 23. Pp. 2503–2511.
21. Upadhyay R., Ramalakshmi K., Rao L.J.M. Microwave-assisted extraction of chlorogenic acids from green coffee beans // *Food Chemistry*. 2012. Vol. 130. N 1. Pp. 184–188.
22. Jin U.-H., Lee J.Y., Kang S.-K., Kimb J.-K., Parkb W.-H., Kimc J.-G., Moond S.-K., Kim C.-H. A phenolic compound, 5-caffeoylquinic acid (chlorogenic acid), is a new type and strong matrix metalloproteinase-9 inhibitor: Isolation and identification from methanol extract of *Euonymus alatus* // *Life Sciences*. 2005. Vol. 77. N 22. Pp. 2760–2769.
23. Wu C. H., Murthy H. N., Hahn E. J., Lee H. L., Paek K.Y. Efficient extraction of caffeic acid derivatives from adventitious roots of *Echinacea purpurea* // *Czech Journal of Food Sciences*. 2008. Vol. 26. N 4. Pp. 254–258.
24. Галкин А.А., Лунин В.В. Вода в суб- и сверхкритическом состояниях – универсальная среда для осуществления химических реакций // *Успехи химии*. 2005. Т. 74. № 1. С. 24–40.
25. Лекарь А.В., Борисенко С.Н., Максименко Е.В., Борисенко Р.Н., Ветрова Е.В., Борисенко Н.И., Минкин В.И. Извлечение биофлавоноида кверцетина из растительного сырья в среде субкритической воды // *Сверхкритические флюиды: Теория и практика*. 2008. Т. 3. № 2. С. 33–36.
26. Лекарь А.В., Филонова О.В., Борисенко С.Н., Казьмина М.А., Ветрова Е.В., Борисенко Н.И., Минкин В.И. Извлечение биофлавоноидов из шелухи лука в среде субкритической воды // *Сверхкритические флюиды: Теория и практика*. 2012. Т. 7. № 4. С. 4–15.
27. Лекарь А.В., Борисенко С. Н., Филонова О.В., Ветрова Е.В., Максименко Е.В., Борисенко Н.И., Минкин В.И. Экстракция кафтаровой и цикориевой кислот из эхинацеи пурпурной в среде субкритической воды // *Сверхкритические флюиды: Теория и практика*. 2013. Т. 8. № 1. С. 69–79.

Поступило в редакцию 31 октября 2013 г.

После переработки 27 марта 2014 г.

Lekar' A.V.¹, Filonova O.V.², Borisenko S.N.^{2*}, Maksimenko E.V.¹, Borisenko N.I.¹, Minkin V.I.² EXTRACTION OF CHLOROGENIC ACID MARSH CINQUEFOIL *COMARUM PALUSTRE* L. WATER IN THE ENVIRONMENT SUBCRITICAL

¹Ecological and Analytical Center, Southern Federal University, ul. Zorge, 7, Rostov-on-Don, 344090 (Russia)

²Institute of Physical and Organic Chemistry, Southern Federal University, pr. Stachek, 194/2, Rostov-on-Don, 344090 (Russia), e-mail: boni@ipoc.rsu.ru

The environmentally friendly method for the extraction of chlorogenic acid from *Comarum palustre* L. by subcritical water in the static and dynamic modes was developed. The technique of separation and identification of polyphenolic composition in developed extract by HPLC-MS was proposed. The effectiveness of the developed method of extracting chlorogenic acid from the roots *Comarum palustre* L. by subcritical water in the environment was proved and graphically presented.

Keywords: extraction, subcritical water, chlorogenic acid, *Comarum palustre* L., HPLC-MS.

References

1. Buzuk G.N., Lovkova M.Ja., Jorshik O.A., Sokolova S.M. *DAN*, 2008, vol. 421, no. 4, pp. 546–548. (in Russ.).
2. Zhukova O.L., Abramov A.A., Dargaeva T.D., Markarjan A.A. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Ser. 2. Himija*, 2006, vol. 47, no. 5, pp. 342–345. (in Russ.).
3. Xu R., Kang Q., Ren J., Li Z., Xu X. *J. of Analytical Methods in Chemistry*, 2013, vol. 2013, pp. 1–7.
4. Pellati F., Benvenuti S., Magro L., Melegari M., Soragni F. *J. of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2004, vol. 35, no. 2, pp. 289–301.
5. Liu and J.-H., Qiu A.-Y. *J. of Cereals&Oils*, 2003, no. 9, pp. 444–446.
6. Dorrell D.G. *Crop Science*, 1976, vol. 16, no. 3, pp. 422–424.
7. Shimizu M., Yoshimi N., Yamada Y. et al. *J. of Toxicological Sciences*, 1999, vol. 24, no. 5, pp. 433–439.
8. Matsunaga K., Katayama M., Sakata K. et al. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 2002, vol. 3, pp. 163–166.
9. Kurata R., Adachi M., Yamakawa O., Yoshimoto M. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, vol. 55, no. 1, pp. 185–190.
10. Rylova S.N., Amalfitano A., Persaud-Sawin D.A. et al. *Cancer Research*, 2002, vol. 62, no. 1, pp. 801–808.
11. Pereira R.C., Delany A.M., and Canalis E. *Endocrinology*, 2004, vol. 145, no. 4, pp. 1952–1960.
12. Kang T.Y., Yang H. R., Zhang J., Li D., Lin J., Wang L., Xu X.P. *J. of Analytical Methods in Chemistry*, 2013, vol. 2013, 7 p.
13. Paynter N.P., Yeh, H.C., Voutilainen S., Schmidt M.I., Heis G., Folsom A.R., Brancati F.L., Kao, W.H.L. *American Journal of Epidemiology (Oxford Journals)*, 2006, vol. 164, no. 11, pp. 1075–1084.
14. Zhao Y., Wang J., Balleve O., Luo H., Zhang W. *Hypertension Research*, 2012, vol. 35, no. 4, pp. 370–375.
15. Jassim S.A.A., Naji M.A. *J. of Applied Microbiology*, 2003, vol. 95, no. 3, pp. 412–427.
16. De Sotillo D.R., Hadley M., Wolf-Hall C. *J. of Food Science*, 1998, vol. 63, no. 5, pp. 907–910.
17. Bowels B.L., Miller A.J. *J. of Food Science*, 1994, vol. 59, no. 4, pp. 905–908.
18. Kurkin V.A., Zapesochnaja G.G., Ezhkov V.N. *Fenilpropanoidy lekarstvennyh rastenij*. [Phenylpropanoids medicinal plants]. Samara, 2005, 120 p. (in Russ.).
19. Grujic N., Lepojevic Z., Srdjenovic B., Vlastic J., Sudji J. *Molecules*, 2012, vol. 17, no. 3, pp. 2518–2528.
20. Liu Q. M., Yang X. M., Zhan L., Majetich G. *J. of Medicinal Plants Research*, 2010, vol. 4, no. 23, pp. 2503–2511.
21. Upadhyay R., Ramalakshmi K., Rao L.J.M. *Food Chemistry*, 2012, vol. 130, no. 1, pp. 184–188.
22. Jin U.-H., Lee J.Y., Kang S.-K., Kimb J.-K., Parkb W.-H., Kimc J.-G., Moond S.-K., Kim C.-H. *Life Sciences*, 2005, vol. 77, no. 22, pp. 2760–2769.
23. Wu C. H., Murthy H. N., Hahn E. J., Lee H. L., Paek K.Y. *Czech Journal of Food Sciences*, 2008, vol. 26, no. 4, pp. 254–258.
24. Galkin A.A., Lunin V.V. *Uspehi himii*, 2005, vol. 74, no. 1, pp. 24–40. (in Russ.).
25. Lekar' A.V., Borisenko S.N., Maksimenko E.V., Borisenko R.N., Vetrova E.V., Borisenko N.I., Minkin V.I. *Sverhkriti-cheskie fljuidy: Teorija i praktika*, 2008, vol. 3, no. 2, pp. 33–36. (in Russ.).
26. Lekar' A.V., Filonova O.V., Borisenko S.N., Kaz'mina M.A., Vetrova E.V., Borisenko N.I., Minkin V.I. *Sverhkriticheskie fljuidy: Teorija i praktika*, 2012, vol. 7, no. 4, pp. 4–15. (in Russ.).
27. Lekar' A.V., Borisenko S. N., Filonova O.V., Vetrova E.V., Maksimenko E.V., Borisenko N.I., Minkin V.I. *Sverhkriticheskie fljuidy: Teorija i praktika*, 2013, vol. 8, no. 1, pp. 69–79. (in Russ.).

Received October 31, 2013

Revised March 27, 2014

* Corresponding author.

