

УДК 615.322: 547.972+543.544

ИССЛЕДОВАНИЕ КОМПОНЕНТНОГО СОСТАВА ЛИСТЬЕВ ВИДОВ РОДА ОРЕХ (*JUGLANS L.*) МЕТОДОМ ВЭЖХ*

© В.А. Куркин **, Н.И. Зименкина

Самарский государственный медицинский университет, ул. Чапаевская, 89, Самара, 443099 (Россия), e-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

Листья видов рода орех (*Juglans L.*) семейства *Juglandaceae* представляют собой перспективные виды официального лекарственного растительного сырья, препараты которых оказывают противомикробное, общеукрепляющее действие. На наш взгляд, вклад в антимикробную активность, наряду с нафтохинонами, вносят и флавоноиды, содержащиеся в листьях различных видов рода орех. Следовательно, существует необходимость в определении химического состава листьев видов рода орех с помощью современных методов анализа. В данной статье обсуждаются результаты сравнительного исследования компонентного состава листьев ореха черного (*Juglans nigra L.*), ореха грецкого (*Juglans regia L.*) и ореха серого (*Juglans cinerea L.*) методом микроколоночной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) при аналитической длине волны 360 нм.

Установлены условия хроматографического разделения для анализа извлечений из листьев видов рода орех. Определено, что в листьях ореха черного (*Juglans nigra L.*) с помощью ВЭЖХ возможна идентификация флавоноидов – миритритина, кверцитрина, являющихся доминирующими и диагностически значимыми для данного вида сырья. Кроме того, в листьях ореха черного определен также агликон миритритина – миритетин. Выявлен схожий флавоноидный профиль в двух видах лекарственного растительного сырья – листьях ореха грецкого и ореха серого, в которых обнаружены гиперозид, кверцитрин, юглантин.

Ключевые слова: орех, *Juglans regia*, *Juglans nigra*, *Juglans cinerea*, листья, флавоноиды, миритетин, кверцитрин, гиперозид, юглантин, высокоэффективная жидкостная хроматография.

Введение

На территории РФ культивируется около 8 видов растений рода орех (*Juglans L.*), при этом каждый представитель рода является потенциальным источником биологически активных соединений (БАС) [1–5]. Основными видами, культивируемыми в Европейской части РФ, являются орех грецкий (*Juglans regia L.*), орех черный (*Juglans nigra L.*) и орех серый (*Juglans cinerea L.*).

Как известно, представители рода орех (*Juglans L.*) – лекарственное растительное сырье, обладающее широким спектром фармакологической активности [6–10]. Различные виды сырья представителей рода орех чаще всего известны в связи с наличием в надземной части различных нафтохинонов, оказывающих антибактериальную активность, в частности: юглон, гидроюглон, глюкозид гидроюглона [11, 12]. Наряду с вышеуказанными БАС, растение содержит следующие ценные соединения – липиды, азотистые вещества, углеводы, органические кислоты, флавоноиды и другие фенольные соединения, которые также вносят свой вклад в фармакологическое действие [13–21]. Несмотря на богатый химический состав и разнообразие фармакологического действия, сырье видов рода орех не является фармакопейным в РФ.

Для стандартизации лекарственного растительного сырья (ЛРС) вопросы идентификации и определения основных групп биологически активных соединений играют важную роль [22–27]. Учитывая отсут-

Куркин Владимир Александрович – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, e-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

Зименкина Наталья Игоревна – аспирант, e-mail: nata.zimenkina@mail.ru

ствие необходимой нормативной документации, регламентирующей качество листьев видов рода орех, существует необходимость в детектировании компонентного состава ЛРС листьев ореха грецкого, ореха черного и ореха серого. Кроме того,

* Данная статья имеет электронный дополнительный материал (приложение), который доступен читателям на сайте журнала. DOI: 10.14258/jcprtm.2022049923s

** Автор, с которым следует вести переписку.

необходимо учитывать тот факт, что в сырье, предназначенном для получения водных, спиртовых, спирто-водных извлечений, экстрактов, существует необходимость определения действующих веществ гидрофильной природы, к которым относят флавоноиды данных видов ЛРС [28–31].

Экспериментальная часть

В качестве объектов исследования использовали образцы листьев ореха черного (*Juglans nigra* L.), ореха грецкого (*Juglans regia* L.) и ореха серого (*Juglans cinerea* L.), заготовленные в марте-апреле 2018–2020 гг. на территории Ботанического сада Самарского университета (г. Самара). Из листьев указанных видов растений получали водно-спиртовые извлечения, которые были использованы для качественного анализа – идентификации БАС. В работе использовали ацетонитрил (ООО «Компонент-реактив», «Для высокоэффективной жидкостной хроматографии»), воду, полученную с использованием системы для получения воды очищенной с многоступенчатой системой очистки (адсорбция, обратный осмос, мембранное фильтрование) и проверенную на чистоту в условиях хроматографического анализа. Остальные реактивы имели степень чистоты ч.д.а. или х.ч.

Анализировали водно-спиртовые извлечения из листьев ореха черного, ореха грецкого и ореха серого с использованием стандартных образцов (СО) мирицитрина (1), мирицетина (2), кверцитрина (3), гиперозида (4), югланина (5) (рис. 1) методом ВЭЖХ. С использованием колоночной хроматографии флавоноиды 1–3 выделены из листьев ореха черного, флавоноиды 4 и 5 получены из листьев ореха грецкого в минорных количествах. Идентификацию выделенных соединений проводили на основании данных УФ-, ¹H-ЯМР-спектроскопии, а также результатов химических превращений. Спектры ЯМР ¹H получали на приборах «JNM-ESX 400» (399.78 МГц) и «Bruker AM 300» (300 МГц), регистрацию УФ-спектров проводили с помощью спектрофотометра «Specord 40» (Analytik Jena AG, Германия) в диапазоне длин волн 190–500 нм в кюветах с толщиной слоя 10 мм.

Указанные стандартные образцы имели следующие спектральные характеристики:

Мирицитрин (мирицетин-3-О-α-L-рамнопиранозид) (1). Желтое с кремовым оттенком кристаллическое вещество состава C₂₁H₂₀O₁₂ с т.пл. 203–205 °С (водный спирт), УФ-спектр (EtOH, λ_{max}, нм): 212, 260, 358; + NaOAc 268, 366; + NaOAc + H₃BO₃ 260, 382; + AlCl₃ 278, 416; + AlCl₃ + HCl 270, 406.

¹H-ЯМР-спектр (300 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J/Гц): 12.68 (1H, с, 5-ОН-группа), 9.23 (2H, уш. с, 7-ОН-группа и 4'-ОН-группа), 6.88 (2H, с, Н-2' и Н-6'), 6.36 (1H, д, 2.5 Гц, Н-8), 6.19 (1H, д, 2.5 Гц, Н-6), 5.20 (1H, д, 1.5 Гц, Н-1'' рамнозы), 3.1–5.0 (м, 4H рамнозы), 0.84 (3H, д, 6 Гц, CH₃ рамнозы).

Мирицетин (3,5,7,3',4',5'-гексагидроксифлавонон) (2). Желтовато-зеленое кристаллическое вещество состава C₁₅H₁₀O₈, с т.пл. 257–259 °С (водный спирт), УФ-спектр (EtOH, λ_{max}, нм): 256, 378; + NaOAc 260, 378; + NaOAc + H₃BO₃ 258, 390; + AlCl₃ 267, 435; + AlCl₃ + HCl 267, 430; + NaOMe 264, 422(разл.) нм.

¹H-ЯМР-спектр (399.78 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J/Гц): 12.45 (1H, с, 5-ОН-группа), 10.73 (3H, с, 7-ОН-группа), 9.28 (1H, с, 4'-ОН-группа), 9.17 (2H, с, 3'-ОН-группа и 5'-ОН-группа), 8.75 (1H, с, 3-ОН-группа), 7.20 (2H, с, Н-2' и Н-6'), 6.36 (1H, д, 2.5 Гц, Н-8), 6.14 (1H, д, 2.5 Гц, Н-6).

Кверцитрин (3-О-α-L-рамнопиранозид 3,5,7,3',4'-пентагидроксифлавонона) (3). Светло-желтое кристаллическое вещество состава C₂₁H₂₀O₁₂ с т.пл. 187–189 °С (водный спирт), УФ-спектр (EtOH, λ_{max}, нм): 257, 268 пл., 361 нм; + NaOAc 261, 380 нм; + NaOAc + H₃BO₃ 265, 380 нм; + AlCl₃ 274, 415 нм; + AlCl₃ + HCl 270, 404 нм.

¹H-ЯМР-спектр (399.78 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J/Гц): 12.61 (1H, с, 5-ОН-группа), 10.83 (3H, с, 7-ОН-группа), 9.66 (1H, с, 4'-ОН-группа), 9.30 (1H, с, 3'-ОН-группа), 8.75 (1H, с, 3-ОН-группа), 7.26 (1H, д, J = 2.5 Гц, Н-2'), 7.21 (1H, дд, J = 2.5, 9 Гц, Н-6'), 6.82 (1H, д, J = 9, Н-5'), 6.35 (1H, д, 2.5 Гц, Н-8), 6.16 (1H, д, 2.5 Гц, Н-6), 5.21 (1H, д, 1.5 Гц, Н-1'' рамнозы), 3.1–4.9 (м, 4H рамнозы), 0.78 (3H, д, 6 Гц, CH₃ рамнозы).

Гиперозид (3-О-β-галактопиранозид 3,5,7,3',4'-пентагидроксифлавонона) (4). Светло-желтое кристаллическое вещество состава C₂₁H₂₀O₁₂ с т.пл. 231–233 °С (водный ацетон), УФ-спектр (EtOH, λ_{max}, нм): 258, 267 пл., 363; + NaOAc + H₃BO₃ 262, 384; + AlCl₃ 276, 414; + AlCl₃ + HCl 272, 402.

Югланин (кемпферол-3-О-α-L-арабинофуранозид) (5). Желтое кристаллическое вещество состава C₂₀H₁₈O₁₀ с т.пл. 212–214 °С (водный спирт), УФ-спектр (EtOH, λ_{max}, нм): 268, 352; + NaOAc 274, 371; + NaOAc + H₃BO₃ 268, 370; + AlCl₃ 275, 400; + AlCl₃ + HCl 274, 400.

Исходя из спектральных данных, поскольку все указанные соединения имеют в длинноволновой области электронного спектра максимум поглощения при 360±2 нм, нами была выбрана длина волны 360 нм для детекции анализируемых веществ при проведении ВЭЖХ-анализа.

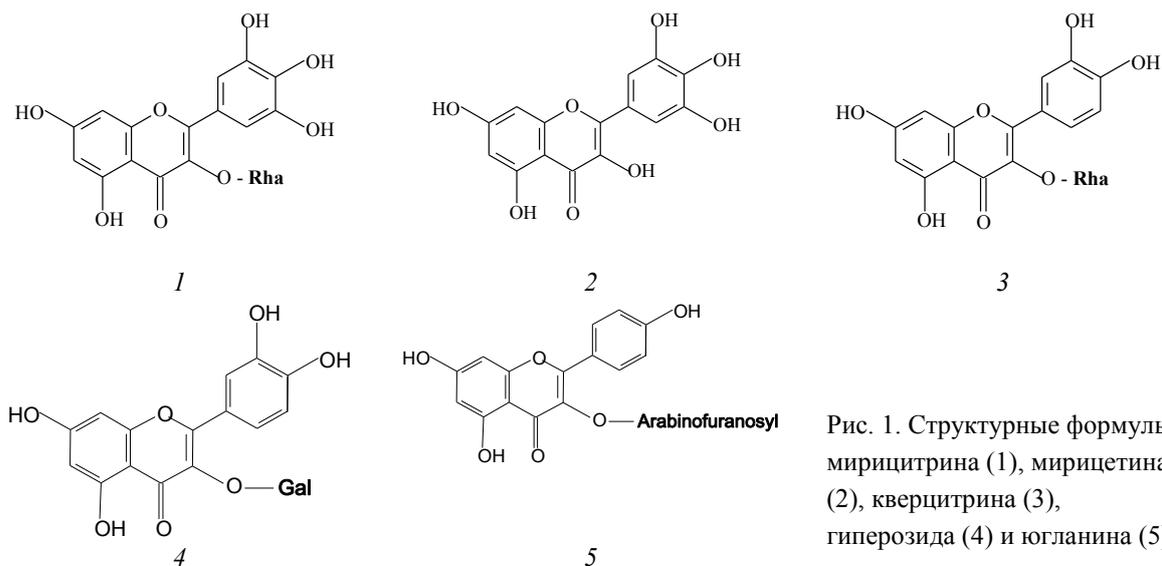


Рис. 1. Структурные формулы мирицитрина (1), мирицетина (2), кверцитрина (3), гиперозида (4) и югланина (5)

Приготовление рабочих растворов. Для аналитических целей извлечения из листьев ореха черного, ореха грецкого и ореха серого получены в условиях, описанных в методике количественного определения суммы флавоноидов методом дифференциальной спектрофотометрии [28].

Пробоподготовка для извлечения из листьев видов рода орех. Около 1 г измельченного сырья (точная навеска) помещали в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляли 30 мл 70% этанола. Колбу закрывали пробкой и взвешивали на тарированных весах с точностью до ± 0.01 . Колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 30 мин. Затем колбу охлаждали в течение 30 мин, закрывали той же пробкой, снова взвешивали и восполняли недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтровали через бумажный фильтр (красная полоса) и затем дополнительно фильтровали через мембранный фильтр Milipore (0.45 мкм) (испытуемый раствор).

Приготовление стандартного раствора мирицитрина. Около 0.02 г (точная навеска предварительно высушенного мирицитрина (содержание основного вещества $\geq 98\%$) переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяли в 70% этаноле и доводили объем раствора до метки тем же растворителем.

Приготовление стандартного раствора мирицетина. Около 0.02 г (точная навеска предварительно высушенного мирицетина (содержание основного вещества $\geq 98\%$) переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяли в 70% этаноле и доводили объем раствора до метки тем же растворителем.

Приготовление стандартного раствора кверцитрина. Около 0.02 г (точная навеска предварительно высушенного кверцитрина (содержание основного вещества $\geq 98\%$) переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяли в 70% этаноле и доводили объем раствора до метки тем же растворителем.

Приготовление стандартного раствора гиперозида. Около 0.02 г (точная навеска предварительно высушенного гиперозида (содержание основного вещества $\geq 98\%$) переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяли в 70% этаноле и доводили объем раствора до метки тем же растворителем.

Приготовление стандартного раствора югланина. Около 0.02 г (точная навеска предварительно высушенного югланина (содержание основного вещества $\geq 98\%$) переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяли в 70% этаноле и доводили объем раствора до метки тем же растворителем.

Условия хроматографического разделения.

Хроматографический анализ осуществляли методом обращенно-фазовой ВЭЖХ на микроколоночном жидкостном хроматографе «Милихром-6» (НПАО «Научприбор») в следующих условиях: изократический режим, стальная колонка «КАХ-6-80-4» (№2; 2 мм \times 80 мм; Сепарон-С18 7 мкм), подвижная фаза – ацетонитрил : 1% раствор уксусной кислоты в воде в соотношении 2 : 8, скорость элюирования – 100 мкл/мин, объем элюента – 2500 мкл. Детекцию веществ осуществляли при длине волны 360 нм. Объемы инъектируемых проб для извлечения из листьев ореха черного, а также растворов СО мирицитрина, мирицетина, кверцитрина, югланина – 4 мкл; для извлечений из листьев ореха грецкого – 6 мкл, для извлечений из листьев ореха серого – 8 мкл.

Оценка пригодности системы. Пригодность хроматографической системы оценивали в соответствии с ОФС.1.2.1.2.0001.15 «Хроматография» [13]. С целью проверки пригодности хроматографической системы проводили 5-кратное хроматографирование 4 мкл раствора извлечения листьев ореха черного. В дальнейшем рассчитывали следующие показатели: эффективность колонки, разрешение между пиками, фактор асимметрии. В результате расчетов были получены следующие результаты (табл. 1).

Обсуждение результатов

Определено, что в указанных условиях хроматографирования при использовании системы ацетонитрил – вода в соотношении 2 : 8 в листьях ореха черного возможно идентифицировать анализируемые компоненты системы – мирицитрин (рис. 1 электронного приложения и рис. 2) и кверцитрин (рис. 2 электронного приложения и рис. 2).

Кроме того, выявлено, что при использовании системы ацетонитрил-вода в соотношении 2 : 8 для анализа того же вида лекарственного растительного сырья возможно идентифицировать агликон мирицитрина – мирицетин (рис. 3 электронного приложения и рис. 2).

Время удерживания пиков мирицитрина, кверцитрина и мирицетина на соответствующих хроматограммах рабочих стандартных образцов, а также в извлечении из листьев ореха черного представлены в таблице 2.

Добавление раствора мирицитрина (1), кверцитрина (3) и мирицетина (2) в извлечение проявляется на хроматограмме увеличением интенсивности пика мирицитрина, пика кверцитрина и пика мирицетина соответственно по сравнению с таковой флавоноидов 1, 3 и 2 в исходном испытуемом растворе (рис. 4 электронного приложения).

При анализе извлечения листьев ореха грецкого в указанных условиях хроматографирования при использовании системы ацетонитрил – вода в соотношении 2 : 8 возможно идентифицировать анализируемые компоненты системы – кверцитрин (рис. 2 электронного приложения и рис. 3), гиперозид (рис. 5 электронного приложения и рис. 3) и югланин (рис. 6 электронного приложения и рис. 3).

Время удерживания пиков кверцитрина, гиперозида и югланина на соответствующих хроматограммах рабочих стандартных образцов, а также в извлечении из листьев ореха грецкого представлены в таблице 3.

Добавление раствора стандартного образца кверцитрина (3), гиперозида (4), югланина (5) в извлечение проявляется на хроматограмме увеличением интенсивности пика кверцитрина, пика гиперозида и пика югланина соответственно по сравнению с таковой флавоноидов 4, 3 и 5 в исходном испытуемом растворе (рис. 7 электронного приложения).

При анализе извлечения листьев ореха серого в аналогичных условиях хроматографирования при использовании системы ацетонитрил – вода в соотношении 2 : 8 компоненты флавоноидного профиля листьев ореха серого совпадают с составом листьев ореха грецкого (рис. 4)

Таблица 1. Определение пригодности хроматографической колонки

Параметр хроматографической колонки	Значение	Нормативный показатель
Эффективность колонки	5115	Не менее 2000 теоретических тарелок
Разрешение между пиками	1.65	Не менее 1.5
Фактор асимметрии	1.35	Не более 1.5

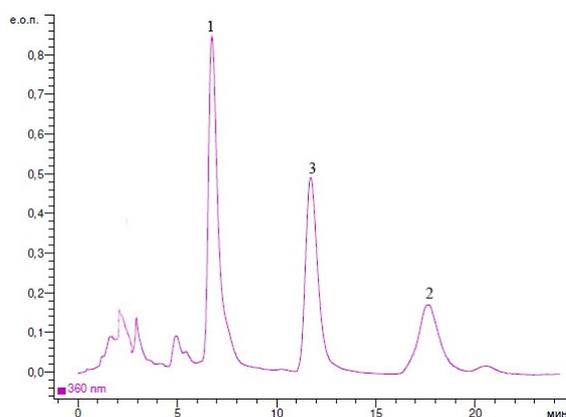


Рис. 2. ВЭЖХ-хроматограмма извлечения из листьев ореха черного. Обозначения: 1 – мирицитрин; 2 – мирицетин; 3 – кверцитрин

Таблица 2. Времена удерживания пиков флавоноидов листьев ореха черного

Флавоноид	Время удерживания на хроматограмме, мин	
	Стандартный образец	Извлечение
Мирицитрин (1)	6.526	6.856
Кверцитрин (3)	11.342	11.724
Мирицетин (2)	14.211	17.631

Рис. 3. ВЭЖХ-хроматограмма извлечения из листьев ореха грецкого. Обозначения: 3 – кверцитрин; 4 – гиперозид; 5 – югланин

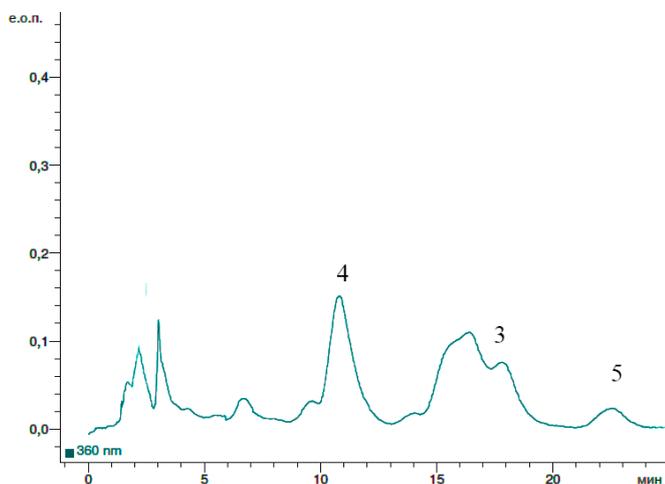


Таблица 3. Времена удерживания пиков флавоноидов листьев ореха грецкого

Флавоноид	Время удерживания на хроматограмме, мин	
	Стандартный образец	Извлечение
Кверцитрин (3)	12.342	16.256
Гиперозид (4)	10.799	10.830
Югланин (5)	21.411	22.531

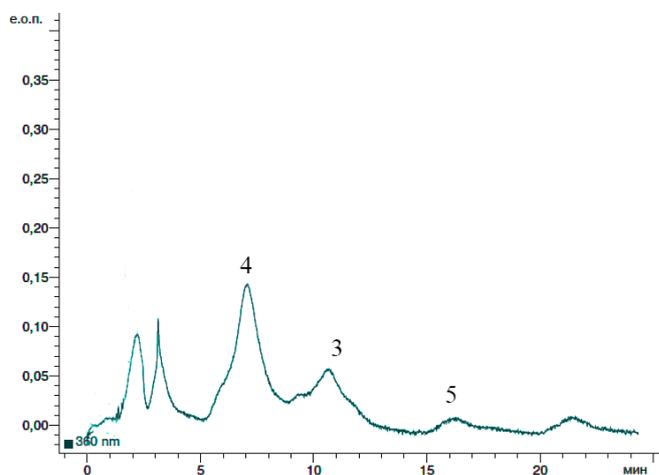


Рис. 4. ВЭЖХ-хроматограмма извлечения из листьев ореха серого. Обозначения: 3 – кверцитрин; 4 – гиперозид; 5 – югланин

Время удерживания пиков кверцитрина, гиперозида и югланина на соответствующих хроматограммах рабочих стандартных образцов, а также в извлечении из листьев ореха серого представлены в таблице 4.

Добавление раствора стандартного образца кверцитрина (3), гиперозида (4), югланина (5) в извлечение проявляется на хроматограмме увеличением интенсивности пика кверцитрина, пика гиперозида и пика югланина соответственно по сравнению с таковой флавоноидов 4, 3 и 5 в исходном испытуемом растворе (рис. 8 электронного приложения).

Таким образом, результаты проведенных исследований установили особенности флавоноидного состава изучаемых объектов – листьев ореха черного, ореха грецкого и ореха серого.

Таблица 4. Времена удерживания пиков флавоноидов листьев ореха серого

Флавоноид	Время удерживания на хроматограмме, мин	
	Стандартный образец	Извлечение
Кверцитрин (3)	11.342	11.456
Гиперозид (4)	10.799	8.083
Югланин (5)	21.411	18.734

Выводы

1. Проведенное хроматографическое исследование позволило выявить наличие флавоноидов в водно-спиртовых извлечениях листьев видов рода орех (*Juglans* L.).

2. С использованием микроколоночной высокоэффективной жидкостной хроматографии выявлены особенности химического состава листьев ореха черного, ореха грецкого и ореха серого.

3. На основании ВЭЖХ-хроматограмм извлечения из листьев ореха черного идентифицированы доминирующий и диагностически значимый флавоноид – миритрин, а также его агликон – миритетин и кверцитрин.

4. Представленные ВЭЖХ-хроматограммы извлечений листьев ореха грецкого и ореха серого позволили установить особенности флавоноидного профиля указанных объектов. Для них определены следующие химические соединения – гиперозид, кверцитрин, югланин.

5. Указанные особенности химического состава листьев видов рода орех необходимо учесть при разработке раздела «Определение подлинности биологически активных веществ» планируемой фармакопейной статьи на изучаемые виды ЛРС.

6. Таким образом, листья видов рода орех является перспективным источником лекарственного растительного сырья и может служить источником биологически активных соединений – флавоноидов.

Список литературы

1. Губанов И.А., Крылова И.Л., Тихонова В.Л. Дикорастущие полезные растения СССР. М., 1976. С. 81–85.
2. Дайронас Ж.В., Зилфикаров И.Н. Орех грецкий – перспективное лекарственное растение (обзор литературы) // Традиционная медицина: Российский фитотерапевтический съезд: сб. науч. тр. 2010. №3 (22). С. 118–123.
3. Ильинская И.А. К систематике и филогении семейства *Juglandaceae* // Ботанический журнал. 1990. Т. 75(6). С. 792–803.
4. Куркин В.А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармац. вузов. Самара, 2019. 1278 с.
5. Pereira J.A., Oliveira I., Sousa A., Valentão P., Andrade P.B., Ferreira I.C., Ferreres F., Bento A., Seabra R., Estevinho L. Walnut (*Juglans regia* L.) leaves: phenolic compounds, antibacterial activity and antioxidant potential of different cultivars // Food Chem Toxicol. 2007. Vol. 45(11). Pp. 2287–2295.
6. Беленовская Л.М., Буданцев А.Л. Нафтохиноны видов флоры России и их биологическая активность // Растительные ресурсы. 2006. Т. 42(4). С. 108–141.
7. Ильичева Е.С. Основные способы получения 5-окси-1,4-нафтохинона (юглона) – антибактериального препарата широкого спектра действия // Вестник Казанского технологического университета. 2015. Т. 18(3). С. 147–150.
8. Пастушенкова А.Л. Лекарственные растения и лекарственное растительное сырье с противомикробным действием как путь преодоления лекарственной устойчивости микроорганизмов к действию антибактериальных препаратов // Клиническая патофизиология. 2018. Т. 24. №1. С. 20–24.
9. Рыбников В.Н., Ласкова И.Л., Прокопенко Л.Г. Нафтохиноны как иммуномодуляторы при интенсивных физических нагрузках // Антибиотики и химиотерапия. 1997. Т. 42. №3. С. 6–10.
10. Тушканова О.В., Бойко И.Е. Исследование антибиотической активности юглона, выделенного из околоплодника *Juglans nigra* L. // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2017. №1(18). С. 126–129.
11. Alshatwi A.A., Hasan T.N., Shafi G., Syed N.A., Al-Assaf A.H., Alamri M.S., Al-Khalifa A.S. Validation of the anti-proliferative effects of organic extracts from the green husk of *Juglans regia* L. on PC-3 human prostate cancer cells by assessment of apoptosis-related genes // Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2012. Vol. 2012. DOI: 10.1155/2012/103026.
12. Paudel P., Satyal P., Dosoky N.S., Maharjan S., Setzer W.N. *Juglans regia* and *J. nigra*, two trees important in traditional medicine: A comparison of leaf essential oil compositions and biological activities // Nat. Prod. Commun. 2013. Vol. 8(10). Pp. 1481–1486.
13. Дудников М.Э., Андреева И.Н., Арчинова Т.Ю. Сравнительные исследования суммарных фитопрепаратов, полученных из околоплодника некоторых разновидностей орехов // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. Пятигорск, 2003. Т. 58. С. 203–204.

14. Есауленко Е.Е., Ладутько А.А., Быков И.М., Щербакова Е.В. Перспективы использования масла ореха черного (*Juglans nigra* L.) для коррекции окислительного стресса и патологии липидного обмена при токсическом гепатите // Аллергология и иммунология. 2010. Т. 10. №3. С. 260–262.
15. Куркина А.В. Флавоноиды фармакопейных растений: монография. Самара, 2012. 290 с.
16. Назарова Н.В. Исследование стрессовых реакций эпидермиса листа видов рода *Juglans*, произрастающих в условиях Белгородской области, на действие высоких температур // Современные проблемы науки и образования. 2013. №6. С. 715.
17. Gonzalez O., Fontanes V., Raychaudhuri S. The heat shock protein inhibitor Quercetin attenuates hepatitis C virus production // Hepatology. 2009. Vol. 50. Pp. 1756–1764.
18. Domitrovic R., Rashed K., Cvijanovic O., Vladimir-Knezevic S., Skoda M., Visnic A. Myricitrin exhibits antioxidant, anti-inflammatory and antifibrotic activity in carbon tetrachloride-intoxicated mice // Chemico-Biological Interactions. 2015. Vol. 230. Pp. 21–29. DOI: 10.1016/j.cbi.2015.01.030.
19. Li M., Xu Z. Quercetin in a lotus leaves extract may be responsible for antibacterial activity // Arch. Pharm. Res. 2008. Vol. 31. N5. Pp. 640–644. DOI: 10.1007/s12272-001-1206-5.
20. Caballero E., Soto C., Jara J. Thermal stability data of juglone from extracts of walnut (*Juglans regia*) green husk, and technologies used to concentrate juglone // Data in Brief. 2019. Vol. 25. Pp. 1–4. DOI: 10.1016/j.dib.2019.104081.
21. Ebrahimia I., Gashti M.P. Extraction of juglone from *Pterocarya fraxinifolia* leaves for dyeing, anti-fungal finishing, and solar UV protection of wool // Coloration Technology. 2015. Vol. 131 (6). Pp. 451–457. DOI: 10.1111/cote.12180.
22. Hasan T.N., B L.G., Shafi G., Al-Hazzani A.A., Alshatwi A.A. Anti-proliferative effects of organic extracts from root bark of *Juglans regia* L. (RBJR) on MDA-MB-231 human breast cancer cells: role of Bcl-2/Bax, caspases and Trp53 // Asian Pac. J. Cancer Prev. 2011. Vol. 12(2). Pp. 525–530.
23. Железникова А.С. Изучение флавоноидов в листьях некоторых видов рода *Juglans*, интродуцированных в условиях Самарской области // Материалы докладов Всероссийской конференции с международным участием Аспирантские чтения – 2013: «Молодые учёные в медицине». 2013. С. 274–277.
24. Картелев В.Г. Мишнев В.Г. Диагностика разновидностей ореха грецкого // Лесное хозяйство. 1976. №12. С. 39–40.
25. Орловская Т.В., Степанова Э.Ф., Гагуева А.У. Фитохимическое изучение околоплодника ореха грецкого // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. Пятигорск, 2003. Т. 58. С. 73–74.
26. Cosmulescu S., Trandafir I., Nour V. Seasonal variation of the main individual phenolics and juglone in walnut (*Juglans regia*) leaves // Pharm. Biol. 2014. Vol. 52(5). Pp. 575–580. DOI: 10.3109/13880209.2013.853813.
27. Lin Y., Liang J., Peng X., Ruan H. Phenolic constituents from the fresh pericarps of *Juglans sigillata* // Natural Product Research. 2019. Vol. 10. P. 1080. DOI: 10.1080/14786419.2019.1644631.
28. Зайцева Е.Н., Дубищев А.В., Куркин В.А. Анализ влияния рутина и гравитационного воздействия на выделительную функцию почек // Наука и инновации в медицине. 2016. Т. 1(4). С. 47–50.
29. Дайронас Ж.В., Кулешова С.А., Пшукова И.В. Фитохимическое изучение листьев грецкого ореха как источника антиоксидантного средства // Химия растительного сырья. 2010. №4. С. 95–98.
30. Зименкина Н.И., Куркин В.А. Разработка подходов к стандартизации листьев ореха грецкого. Разработка подходов к стандартизации коры ореха черного // Фармация. 2020. Т. 69(7). С. 23–28. DOI: 10/29296/25419218-2020-07-04.
31. Zhao M.H., Jiang Z.T., Liu T., Li R. Flavonoids in *Juglans regia* L. leaves and evaluation of in vitro antioxidant activity via intracellular and chemical methods // The Scientific World Journal. 2014. Vol. 2014. DOI: 10.1155/2014/303878.

Поступила в редакцию 5 августа 2021 г.

После переработки 5 сентября 2021 г.

Принята к публикации 29 августа 2022 г.

Для цитирования: Куркин В.А., Зименкина Н.И. Исследование компонентного состава листьев видов рода орех (*Juglans* L.) методом ВЭЖХ // Химия растительного сырья. 2022. №4. С. 231–239. DOI: 10.14258/jcrpm.2022049923.

Kurkin V.A.*, Zimenkina N.I. STUDY OF THE COMPONENT COMPOSITION OF LEAVES OF SPECIES OF THE GENUS *JUGLANS* L. BY HPLC

Samara State Medical Universit, ul. Chapaevskaya, 89, Samara, 443099 (Russia), e-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

Leaves of species of the genus *Juglans* L. of the Juglandaceae family are promising types of officinal medicinal plant materials, which preparations have an antimicrobial, restorative effect. In our opinion, the contribution to the antimicrobial activity, along with naphthoquinones, is also made by flavonoids contained in the leaves of various species of the genus *Juglans* L. Therefore, there is a need to determine the chemical composition of the leaves of species of the genus *Juglans* L. using modern methods of analysis. This article discusses the results of studying the component composition of the leaves of *Juglans nigra* L., *Juglans regia* L. and *Juglans cinerea* L. by microcolumn high performance liquid chromatography (HPLC) at an analytical wavelength of 360 nm. The conditions for chromatographic separation were established for the analysis of extracts from the leaves of species of the genus *Juglans* L. It was determined that in the leaves of *Juglans nigra* L. using HPLC it is possible to identify flavonoids - myricitrin, quercitrin, which are dominant and diagnostically significant for this type of raw material. In addition, the medicinal plant contains the aglycone of myricitrin – myricetin. A similar flavonoid profile was revealed in two types of medicinal plant raw materials – leaves of *Juglans regia* L. and *Juglans cinerea* L. Hyperoside, quercitrin, and juglanin were found in these species.

Keywords: walnut, *Juglans regia*, *Juglans nigra*, *Juglans cinerea*, leaves, flavonoids, myricitrin, quercitrin, hyperoside, juglanin, high performance liquid chromatography.

Referenses

- Gubanov I.A., Krylova I.L., Tikhonova V.L. *Dikorastushchiye poleznyye rasteniya SSSR*. [Wild useful plants of the USSR]. Moscow, 1976, pp. 81–85. (in Russ.).
- Dayronas Zh.V. Zilfikarov I.N. *Traditsionnaya meditsina: Rossiyskiy fitoterapevticheskiy s"yezd: sbornik nauchnykh trudov*. [Traditional Medicine: Russian Phytotherapeutic Congress: a collection of scientific papers]. 2010, no. 3 (22), pp. 118–123. (in Russ.).
- Il'inskaya I.A. *Botanicheskiy zhurnal*, 1990, vol. 75(6), pp. 792–803. (in Russ.).
- Kurkin V.A. *Farmakognoziya: Uchebnik dlya studentov farmats. vuzov*. [Pharmacognosy: A textbook for students of pharmacy. universities]. Samara, 2019, 1278 p. (in Russ.).
- Pereira J.A., Oliveira I., Sousa A., Valentão P., Andrade P.B., Ferreira I.C., Ferreres F., Bento A., Seabra R., Estevinho L. *Food Chem Toxicol.*, 2007, vol. 45(11), pp. 2287–2295.
- Belenovskaya L.M., Budantsev A.L. *Rastitel'nyye resursy*, 2006, vol. 42(4), pp. 108–141. (in Russ.).
- Il'icheva Ye.S. *Vestnik Kazanskogo tekhnologicheskogo universiteta*, 2015, vol. 18(3), pp. 147–150. (in Russ.).
- Pastushenkova A.L. *Klinicheskaya patofiziologiya*, 2018, vol. 24, no. 1, pp. 20–24. (in Russ.).
- Rybnikov V.N., Laskova I.L., Prokopenko L.G. *Antibiotiki i khimioterapiya*, 1997, vol. 42, no. 3, pp. 6–10. (in Russ.).
- Tushkanova O.V., Boyko I.Ye. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv*, 2017, no. 1(18), pp. 126–129. (in Russ.).
- Alshatwi A.A., Hasan T.N., Shafi G., Syed N.A., Al-Assaf A.H., Alamri M.S., Al-Khalifa A.S. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012, vol. 2012. DOI: 10.1155/2012/103026.
- Paudel P., Satyal P., Dosoky N.S., Maharjan S., Setzer W.N. *Nat. Prod. Commun.*, 2013, vol. 8(10), pp. 1481–1486.
- Dudnikov M.E., Andreyeva I.N., Archinova T.Yu. *Razrabotka, issledovaniye i marketing novoy farmatsevticheskoy produktsii: sbornik nauchnykh trudov*. [Development, research and marketing of new pharmaceutical products: a collection of scientific papers]. Pyatigorsk, 2003, vol. 58, pp. 203–204. (in Russ.).
- Yesaulenko Ye.Ye., Ladut'ko A.A., Bykov I.M., Shcherbakova Ye.V. *Allergologiya i immunologiya*, 2010, vol. 10, no. 3, pp. 260–262. (in Russ.).
- Kurkina A.V. *Flavonoidy farmakopeynykh rasteniy: monografiya*. [Flavonoids of pharmacopoeial plants: monograph]. Samara, 2012, 290 p. (in Russ.).
- Nazarova N.V. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya*, 2013, no. 6, p. 715. (in Russ.).
- Gonzalez O., Fontanes V., Raychaudhuri S. *Hepatology*, 2009, vol. 50, pp. 1756–1764.
- Domitrovic R., Rashed K., Cvijanovic O., Vladimir-Knezevic S., Skoda M., Visnic A. *Chemico-Biological Interactions*, 2015, vol. 230, pp. 21–29. DOI: 10.1016/j.cbi.2015.01.030.
- Li M., Xu Z. *Arch. Pharm. Res.*, 2008, vol. 31, no. 5, pp. 640–644. DOI: 10.1007/s12272-001-1206-5.
- Caballero E., Soto C., Jara J. *Data in Brief*, 2019, vol. 25, pp. 1–4. DOI: 10.1016/j.dib.2019.104081.
- Ebrahimia I., Gashti M.P. *Coloration Technology*, 2015, vol. 131 (6), pp. 451–457. DOI: 10.1111/cote.12180.
- Hasan T.N., B L.G., Shafi G., Al-Hazzani A.A., Alshatwi A.A. *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, 2011, vol. 12(2), pp. 525–530.
- Zheleznikova A.S. *Materialy dokladov Vserossiyskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiyem Aspirantskiye chteniya – 2013: "Molodyye uchonyye v meditsine"*. [Proceedings of the All-Russian Conference with international participation Postgraduate readings - 2013: "Young scientists in medicine"]. 2013, pp. 274–277. (in Russ.).
- Kartelev V.G. Mishnev V.G. *Lesnoye khozyaystvo*, 1976, no. 12, pp. 39–40. (in Russ.).
- Orlovskaya T.V., Stepanova E.F., Gaguyeva A.U. *Razrabotka, issledovaniye i marketing novoy farmatsevticheskoy produktsii: sbornik nauchnykh trudov*. [Development, research and marketing of new pharmaceutical products: a collection of scientific papers]. Pyatigorsk, 2003, vol. 58, pp. 73–74. (in Russ.).

* Corresponding author.

26. Cosmulescu S., Trandafir I., Nour V. *Pharm. Biol.*, 2014, vol. 52(5), pp. 575–580. DOI: 10.3109/13880209.2013.853813.
27. Lin Y., Liang J., Peng X., Ruan H. *Natural Product Research*, 2019, vol. 10, p. 1080. DOI: 10.1080/14786419.2019.1644631.
28. Zaytseva Ye.N., Dubishchev A.V., Kurkin V.A. *Nauka i innovatsii v meditsine*, 2016, vol. 1(4), pp. 47–50. (in Russ.).
29. Dayronas Zh.V., Kuleshova S.A., Pshukova I.V. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2010, no. 4, pp. 95–98. (in Russ.).
30. Zimenkina N.I., Kurkin V.A. *Farmatsiya*, 2020, vol. 69(7), pp. 23–28. DOI: 10/29296/25419218-2020-07-04. (in Russ.).
31. Zhao M.H., Jiang Z.T., Liu T., Li R. *The Scientific World Journal*, 2014, vol. 2014. DOI: 10.1155/2014/303878.

Received August 5, 2021

Revised September 5, 2021

Accepted August 29, 2022

For citing: Kurkin V.A., Zimenkina N.I. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2022, no. 4, pp. 231–239. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2022049923.

