

УДК 547.672. 633.511:631.8

ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОЦЕССА ЭКСТРАКЦИИ И СУШКИ ЮГЛОНА ИЗ ЛИСТЬЕВ ГРЕЦКОГО ОРЕХА (*JUGLANS REGIA L.*)

© Ё.С. Кариева*, Н.Ш. Раджапова, М.М. Хамдамов, О.У. Каримов

Ташкентский фармацевтический институт, ул. Айбека, 45, Ташкент,
100015, Узбекистан, yosk@mail.ru

Методом математического планирования эксперимента по Боксу-Уилсону изучены факторы, влияющие на процесс экстракции юглона из листьев грецкого ореха (*Juglans regia L.*), а также динамика экстракции. На основании результатов исследований установлено, что для максимальной экстракции юглона листья грецкого ореха необходимо измельчать до размера частиц сырья – не более 6 мм и затем экстрагировать трехкратно 90%-ным этиловым спиртом при температуре 25 °C при первом контакте фаз – 5 ч, втором – 3 ч, третьем – 2 ч. Для очистки экстракта предложена жидкостно-жидкостная экстракция, по которой концентрированный экстракт разбавляют водой и для удаления гидрофильных примесей юглон экстрагируют четырехкратно этилацетатом. Для эффективной сушки спиртового раствора юглона был использован наполнитель, в качестве которого выбрана микрокристаллическая целлюлоза (МКЦ) в массовом соотношении сухой остаток высушиваемого раствора – МКЦ 1 : 2. Для равномерного смешивания биологически активных веществ с МКЦ, а также удаления остаточного количества этилацетата предложен метод, заключающийся в концентрировании этилацетатного извлечения до постоянного веса, растворение густой массы этиловым спиртом, упаривание спиртового раствора до половины объема, смешивание спиртового раствора с МКЦ и сушка полученной массы. На основании результатов экспериментов по подбору типа сушильного аппарата для сушки массы, содержащей юглон, предложена сушка с принудительной вентиляцией воздуха при температуре 60±2 °C. Методом математического планирования эксперимента по латинскому квадрату по схеме 3×3 подобран оптимальный режим сушилки с принудительной вентиляцией воздуха. Установлено, что массу перемешанного спиртового раствора юглона с МКЦ необходимо сушить в сушильной установке с принудительной вентиляцией воздуха при следующем режиме: толщина слоя высушиваемой массы на противне сушилки – 10 мм, скорость подаваемого воздуха – 15 м/с и продолжительность процесса – 6 ч. Разработана технология получения сухого экстракта антигельминтного действия из листов грецкого ореха, обеспечивающая 9.6% выхода сухого экстракта по отношению к массе сырья с содержанием не менее 0.9% юглона.

Ключевые слова: грецкий орех, *Juglans regia L.*, листья, юглон, Бокс-Уилсон, латинский квадрат по схеме 3×3.

Для цитирования: Кариева Ё.С., Раджапова Н.Ш., Хамдамов М.М., Каримов О.У. Оптимизация процесса экстракции и сушки юглона из листьев грецкого ореха (*Juglans regia L.*) // Химия растительного сырья. 2025. №3. С. 350–359. <https://doi.org/10.14258/jcprm.20250315710>.

Введение

Грецкий орех (*Juglans regia L.*, семейство Juglandaceae) является широко известным растением – крупное дерево, произрастающее в основном в умеренных регионах и коммерчески культивируемых в Азии, западной части Южной Америки, Соединенных Штатах, а также Центральной и Южной Европе [1, 2].

Химический состав практически всех частей грецкого ореха детально изучен и установлено присутствие представителей различных классов биологических соединений. Это подтверждает их положительное влияние на здоровье человека и возможность применения в качестве антиоксидантного, антимикробного, антигистаминного, противоязвенного, противоастматического, антидиабетического, иммуномодуляторного, гепатопротекторного, противовоспалительного, ранозаживляющего, липолитического средства, стимулятора центральной нервной системы. В качестве лекарственного растительного сырья основное внимание исследователей направлено на листья грецкого ореха, так как они легкодоступны в больших количествах, в то время как другие части дерева, такие как кора, находятся не в изобилии и от них зависит жизнь растений. Листья грецкого ореха служат источником лекарственных средств, широко используемых в

* Автор, с которым следует вести переписку.

традиционной медицине для лечения геморроидальной симптоматики, венозной недостаточности; также необходимо отметить их антigelминтное, противодиарейное и вяжущее свойство [3, 4].

Листья ореха грецкого содержат дубильные вещества, нафтохиноны, фенолкарбоновые кислоты, флавоноиды, кумарины, сапонины, полисахариды, эфирное масло, алкалоиды, витамины [5–8]. Такой разнообразный химический состав обеспечивает антиоксидантное, antimикробное, противоопухолевое, антидиарейное, обезболивающее, гиполипидемическое и другие действия. В результате научных исследований разработан и внедрен в медицинскую практику антисептический препарат «Тонзилгон», в состав которого входит экстракт листьев грецкого ореха [4, 9–13].

Одним из основных действующих веществ листьев ореха грецкого является юглон (5-окси-1,4-нафтохинон). Юглон, являясь природным антибиотиком, проявляет противогрибковое, антибактериальное действие, также обладает укрепляющим и общетонизирующим свойством. Не обладая раздражающим и аллергизирующим действием, он проникает в глубокие слои кожи, способствуя более быстрому терапевтическому действию. Юглон является универсальным средством для борьбы со многими болезнями широкого спектра действия, в частности установлено его антigelминтное действие [14–16]. В связи с этим в Ташкентском фармацевтическом институте ведутся научные исследования по разработке средства антigelминтного действия на основе сухого экстракта, полученного из листьев ореха грецкого и содержащего юглон.

Цель исследования – оптимизация процесса экстракции юглона из листьев ореха грецкого, подбор оптимальных условий очистки и сушки экстракта.

Экспериментальная часть

Листья ореха грецкого заготавливали в Паркентском районе Ташкентской области в фазу начала плодоношения (май-июнь) в 2023 году. Листья сушили воздушно в защищенном от прямого попадания солнечных лучей помещении с хорошей вентиляцией.

Результаты анализа используемого нами сырья показал, что содержание юглона составило – 0.13%; потеря в массе при высушивании – 6.58%; зола общая – 7.12%; зола, нерастворимая в 10% растворе хлористоводородной кислоты – 0.14%; минеральная примесь – 0.29%.

Количественный анализ юглона был проведен с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии [17] с использованием жидкостного хроматографа марки «Agilent 1200 series» (США) с программой «Chemstation 09.03.a». Разделение проводили на колонке размером 4.6×150 мм, заполненной сорбентом Zorbax Eclipse C-18 с размером частиц 5 мкм. При этом соблюдались следующие условия проведения анализа: подвижная фаза – 0.3% фосфорная кислота (А) и метанол (В); детектирование при длине волны 370 нм, что является характеристическим значением L_{max} для юглона; скорость потока элюента – 1 мл/мин; объем вводимой пробы – 10 мкл; температура хроматографии – 35 °C; продолжительность анализа – 25 мин.

Параллельно проводят хроматографию раствора стандартного образца (РСО) юглона, время удерживания которого составляет 14.2 мин.

Для приготовления раствора для анализа 500 мг сухого экстракта помещали в мерную колбу объемом 50 мл и добавляли 30 мл 96%-ного этилового спирта, растворяли встряхивая. Затем раствор доводили до объемной отметки 96%-ным этиловым спиртом после выдерживания в течение 40 мин в темном месте и фильтровали через бумажный фильтр (ТУ-6-09-1678-77).

Приготовление РСО юглона осуществляли следующим образом: 150 мг стандартного образца юглона растворяли в метаноле в мерной колбе объемом 50 мл. Затем раствор доводили до метки тем же растворителем.

Количество юглона в сухом экстракте рассчитывают по следующей формуле 1:

$$X = \frac{S_{ucn} \cdot a_{cm} \cdot V_{ucn} \cdot P \cdot 1000}{S_{cm} \cdot a_{ucn} \cdot V_{cm} \cdot 100} = \frac{S_{ucn} \cdot a_{cm} \cdot P \div V_{ucn} \cdot 10}{S_{cm} \cdot a_{ucn} \cdot V_{cm}}, \quad (1)$$

где S_{ct} – площадь основного пика на хроматограмме РСО юглона, мAU; $S_{ исп}$ – площадь пика юглона на хроматограмме испытуемого раствора, мAU; a_{ct} – навеска стандартного образца юглона, г; $a_{ исп}$ – навеска испытуемого образца, г; Р – количество юглона в стандартном образце, %.

Для оценки степени влияния факторов на процесс экстракции, а также определения условий максимального выхода юглона из листьев ореха грецкого применяли метод математического планирования эксперимента по Боксу-Уилсону [18, 19].

Исследования по изучению выделения юглона из кубового остатка и сушки спиртового раствора юглона проводили согласно методике [20].

Обсуждение результатов

Исследование технологических процессов является трудоемким и длительным экспериментом. Поэтому важно получить максимальное количество информации при минимальном количестве проведенных опытов. Оптимизация экспериментальных исследований на всех стадиях технологического процесса дает возможность увеличить эффективность научных исследований. Для повышения эффективности исследований в оптимизации и прогнозировании химико-технологических процессов в последнее время все чаще применяют математическое планирование методов, такие как по Боксу-Уильсону, Боксу-Бенкену, латинских квадратов 3×3 или 4×4 и др. [18, 19, 21–23].

В опубликованных результатах научных исследований приведены данные экстракции биологически активных веществ из листьев ореха грецкого. В частности, для экстракции нафтохинонов авторами были использованы водные растворы различных кислот, 40–95%-ный этиловый спирт и др. органические растворители [5, 11, 24–26]. Однако в этих публикациях не приведены данные по изучению влияния различных факторов на процесс экстракции юглона. Учитывая доступность и безвредность этилового спирта, эксперименты по подбору оптимальных условий экстракции юглона из листьев грецкого ореха проводили с использованием различных концентраций этого растворителя. Применяя метод математического планирования эксперимента по Боксу-Уильсону, проводили многофакторные эксперименты и оценивали степень влияния факторов на экстракцию, а также определяли условия максимального выхода юглона из листьев ореха грецкого.

Параметром оптимизации служил выход юглона по отношению к массе сырья при первом контакте фаз. Во всех опытах количество сырья и метод выделения были идентичными. В опытах использовали по 1.0 кг воздушно-сухого сырья в статических условиях.

На основе априорной информации выбрали факторы, в наибольшей степени влияющие на экстракцию, и установили для них основные уровни и интервалы варьирования (табл. 1).

Установлены два уровня четырех факторов, т.е. полный факторный эксперимент типа 2^4 . Нами использована дробная реплика 2, реплики от полного факторного эксперимента 2^4 с применением планирования типа 2^{4-1} с генерирующими соотношениями $X_4=X_1\cdot X_2$.

Эксперименты проводили на основе матрицы планирования, приведенной в таблице 2. Каждый из 8 опытов проводили в соответствии с составленной матрицей, используя выбранные уровни каждого фактора, закодированные в матрице знаками «+» или «–» (соответственно, верхний и нижний уровни варьирования). Результаты экспериментов приведены в таблице 2.

На основании полученных результатов получили следующее уравнение регрессии (2):

$$Y = 0.0456 + 0.0051 X_1 + 0.0094 X_2 + 0.0049 X_3 + 0.0044 X_4. \quad (2)$$

Чтобы убедиться в правильности проведенных экспериментов, а также в адекватности полученной модели, провели статистическую обработку полученных данных [18, 19, 27] (табл. 2).

Расчет однородности дисперсии проводили по критерию Кохрена, в результате которого установили, что дисперсия однородна: $G_{\text{ек}}=0.2712 < G_{kp}=0.6798$ [27].

Таблица 1. Факторы и шаги их варьирования

Фактор	Уровень факторов				Единица измерения
	верхний	средний	нижний	шаг	
X_1 – температура экстракции	25	20	15	5	°C
X_2 – концентрация экстрагента	90	70	50	20	%
X_3 – продолжительность процесса	6	5	4	1	час
X_4 – степень измельчения сырья	6	4	2	2	мм

Таблица 2. Матрица планирования экспериментов и их результаты

№	Код фактора					Результаты		Статистический анализ						
	X ₀	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	Y ₁	Y ₂	Y _{ср}	ΔY _i	ΔY _i ²	S _i ²	Y _{рас}	ΔY _{i'}	(ΔY _{i'}) ²
1	+	+	-	+	-	0.036	0.042	0.039	-0.003	9·10 ⁻⁶	18·10 ⁻⁶	0.042	-0.003	83·10 ⁻⁷
2	+	+	-	-	-	0.032	0.038	0.035	-0.003	9·10 ⁻⁶	18·10 ⁻⁶	0.032	0.003	83·10 ⁻⁷
3	+	-	-	+	+	0.043	0.039	0.041	0.002	4·10 ⁻⁶	8·10 ⁻⁶	0.040	0.001	4·10 ⁻⁷
4	+	-	-	-	+	0.032	0.028	0.030	0.002	4·10 ⁻⁶	8·10 ⁻⁶	0.031	-0.001	4·10 ⁻⁷
5	+	+	+	+	+	0.073	0.069	0.071	0.002	4·10 ⁻⁶	8·10 ⁻⁶	0.069	0.002	26·10 ⁻⁷
6	+	+	+	-	+	0.054	0.062	0.058	-0.004	16·10 ⁻⁶	32·10 ⁻⁶	0.060	-0.002	26·10 ⁻⁷
7	+	-	+	+	-	0.048	0.054	0.051	-0.003	9·10 ⁻⁶	18·10 ⁻⁶	0.050	0.001	4·10 ⁻⁷
8	+	-	+	-	-	0.038	0.042	0.040	-0.002	4·10 ⁻⁶	8·10 ⁻⁶	0.041	-0.001	4·10 ⁻⁷

Адекватность модели проверяли по критерию Фишера и получили следующие результаты расчета коэффициента Фишера:

- дисперсия адекватности полученной модели ($S_{ад}^2$) – 0.000016;
- дисперсия воспроизводимости (S_y^2) – 0.000015;
- коэффициент Фишера экспериментов $F_{экс}$ – 1.056;
- $F_{таб}$ (для $f_1=2$, $f_2=8$) – 4.5 [27].

Из полученных результатов видно, что полученная модель адекватна: $F_{экс} = 1.056 < F_{таб}=4.5$.

Значимости коэффициентов регрессии определяли по критерию Стьюдента и в ходе расчетов получили следующие результаты:

- дисперсия коэффициентов регрессии (S_{bi}^2) – 1.875·10⁻⁶;
- квадратичная ошибка коэффициента регрессии (S_{bi}) – 0.0014;
- доверительный интервал варьирования (Δb_i) – 0.0043;
- табличное значение критерия Стьюдента при числе степеней свободы (t) – 3.182 [27].

Из вышеприведенных результатов видно, что коэффициенты регрессии b_0 (0.0456), b_1 (0.0051), b_2 (0.0094), b_3 (0.0049), b_4 (0.0044) больше доверительного интервала варьирования Δb_i (0.0043), следовательно, значимыми оказались все рассмотренные факторы.

В опыте №5 получили выход 0.0710% к массе сырья (54.61% от содержания в сырье), что вполне приемлемо при первом контакте фаз. Исходя из этого, установлены оптимальные условия экстракции юглона из листьев грецкого ореха, а именно экстракция 90%-ным этиловым спиртом при температуре 25 °C, времени экстракции – 6 ч и степень измельчения сырья — прохождение через сито с диаметром отверстий 6 мм.

Для отработки рационального режима извлечения были проведены исследования по определению выхода юглона во времени из листьев грецкого ореха. В результате установлено, что при первом контакте фаз равновесие достигается через 5 ч, при втором – через 3 ч, при третьем – через 2 ч. За три слива степень извлечения юглона составила 95.6%, что вполне приемлемо для стадии экстракции. Поэтому выбрали трехкратную экстракцию.

Для удаления сопутствующих веществ, переходящих в спиртовой экстракт наряду с юглоном, был применен метод очистки экстракции в системе жидкость – жидкость. Для очистки от примесей гидрофильтрного характера сгущенный экстракт разбавляли водой, затем экстрагировали биологически активные вещества соответствующим растворителем для выделяемого класса веществ. В этом случае сопутствующие вещества гидрофильтрного характера остаются в маточном растворе. В качестве растворителя для извлечения юглона из кубового остатка применяли органические растворители, не смешивающиеся с водой, такие как экстракционный бензин, хлороформ, этилацетат и *n*-бутанол (табл. 3).

Как видно из таблицы 3, экстракционная способность экстракционного бензина низка по сравнению с остальными рассмотренными растворителями. И этилацетат, и *n*-бутанол хорошо извлекают юглон. Однако *n*-бутанол вместе с юглоном хорошо извлекает и сопутствующие вещества. Кроме того, четырехкратная обработка этилацетатом извлекает более 90% юглона, а в случае с *n*-бутанолом необходима пятикратная обработка. Таким образом, для извлечения юглона из кубового остатка выбрали четырехкратную экстракцию этилацетатом в объемном соотношении водно-кубового остатка и экстрагента 1 : 1.

Таблица 3. Динамика экстракции юглона в системе жидкость-жидкость

Наименование растворителя	Выход юглона по сливам, % от содержания в кубовом остатке						Выход, % к массе сырья	
	1 слив	2 слив	3 слив	4 слив	5 слив	сумма	юглон	экстрактивные вещества
Экстракционный бензин	10.65	5.52	3.45	1.55	0.32	21.49	0.02	2.8
Хлороформ	40.64	21.25	10.82	6.16	3.98	82.85	0.09	3.6
Этилацетат	48.22	23.56	12.85	6.18	0.43	91.24	0.11	4.1
н-бутанол	46.86	22.98	12.90	6.35	2.54	91.63	0.11	5.4

Необходимо отметить, что в этилацетатном экстракте содержатся сопутствующие вещества липофильного характера. Удаление этих сопутствующих веществ при помощи экстракционного бензина, гексана и петролейного эфира привело к потере более 20% юглона. В результате было решено не удалять вещества липофильного характера и переходить сразу к стадии сушки этилацетатного экстракта. Однако это привело к другой проблеме – этилацетатный экстракт не высушивался. В таких случаях предлагается добавлять наполнитель в процессе сушки [20]. Это дает возможность сушить трудновысушиваемые экстракты, ускорить технологический процесс и улучшит технологические характеристики сухого экстракта. Исходя из этого, при получении субстанции на основе юглона было решено апробировать применение таких наполнителей, как крахмал, микрокристаллическая целлюлоза (МКЦ) и лактоза, которые разрешены для использования в качестве наполнителя при производстве медицинских препаратов.

По результатам исследований установлено, что при перемешивании этилацетатного раствора юглона с лактозой и крахмалом полученные субстанции гигроскопичны, вследствие чего быстро комкуются. При перемешивании с МКЦ наполнитель хорошо впитывал влагу, вследствие чего экстрактивные вещества, в том числе юглон, равномерно распределялись, и после измельчения не наблюдалось вкраплений. Однако присутствие липофильных веществ затрудняло процесс сушки даже при добавлении МКЦ в соотношении экстрактивных веществ к наполнителю 1 : 1. Желаемый результат достигли только при соотношении 1 : 2.

Перед добавлением МКЦ этилацетатный экстракт концентрировали до постоянного веса и растворяли в этиловом спирте. Затем спиртовой раствор упаривали до половины объема, смешивали с МКЦ и сушили. Этот процесс обеспечивает равномерное смешивание биологически активных веществ с МКЦ, а также удаление остаточного количества этилацетата.

Для подбора типа сушильного аппарата изучали три вида, такие как сушка в сушильном шкафу под вакуумом и без него, а также в сушилке с принудительной вентиляцией воздуха. Установили, что по продолжительности процесса сушки и по содержанию влаги в образцах сухих экстрактов из листьев грецкого ореха оптимальным является метод сушки с принудительной вентиляцией воздуха.

Изучение влияния температуры воздуха на качество сухого экстракта показало, что повышение температуры более 70 °С негативно влияет на цвет сухого экстракта: он темнеет. Поэтому для сушки массы, полученной перемешиванием спиртового раствора юглона с МКЦ, выбрали температуру 60±2 °С.

Для оптимизации процесса сушки с принудительной вентиляцией воздуха эксперименты проводили согласно плану латинских квадратов по схеме 3×3 и провели дисперсионный анализ результатов эксперимента [22, 27] (табл. 4).

При этом в качестве изучаемых факторов выбрали следующие:

- толщина слоя высушиваемой массы на противне сушилки ($A_1 = 10$ мм, $A_2 = 8$ мм, $A_3 = 6$ мм);
- скорость подаваемого воздуха ($B_1 = 18$ м/с, $B_2 = 15$ м/с, $B_3 = 12$ м/с);
- продолжительность процесса ($C_1 = 8$ ч, $C_2 = 6$ ч, $C_3 = 4$ ч).

В результате статистического анализа по латинским квадратам 3×3 [22, 27] получили следующие данные:

- суммы показателей каждого фактора: $T = 63.47$;
- средние значения суммы квадратов: $T/N = 447.6$;
- дисперсия квадратов показателей всех наблюдений: $S^2 = 479.22$;
- суммы квадратов каждого фактора: $S_a^2 = 453.66$, $S_b^2 = 450.85$, $S_c^2 = 469.66$;
- общие значения суммы квадратов: $SS_{общ} = 31.62$;
- суммы квадратов группы факторов: $SS_a = 6.06$, $SS_b = 3.24$, $SS_c = 22.05$;
- средний квадрат каждого фактора: $S_a = 3.03$, $S_b = 1.62$, $S_c = 11.03$;
- остаточная дисперсия: $SS_{ост} = 0.27$, $S_{ост} = 0.13$;

– дисперсия каждого фактора $F_a = 22.47$, $F_b = 12.03$, $F_c = 81.84$.

Для установления значимости влияния факторов провели дисперсионный анализ результатов эксперимента по Фишеру. Коэффициент значим, если его абсолютная величина (F_a , F_b , F_c) больше доверительного интервала ($F_{\text{таб}}$). Табличное значение критерия Фишера $F_{\text{табл.}}(2.9) = 4,3$ [27]. Из вышеприведенных данных видно, что F_a (22.47), F_b (12.03), F_c (81.84) больше, чем $F_{\text{табл.}}(4.3)$, следовательно, значимыми являются все выбранные факторы.

Из таблицы 4 следует, что наименьшее содержание влаги наблюдалось в сухом экстракте из листьев грецкого ореха, полученным при условиях $A_1B_2C_2$ (3.15%). Установлено, что массу, полученную перемешиванием спиртового раствора юглона с МКЦ, необходимо сушить в сушильной установке с принудительной вентиляцией воздуха при следующем режиме: толщина слоя высушиваемой массы на противне сушилки – 10 мм, скорость подаваемого воздуха – 15 м/с и продолжительность процесса – 6 ч.

В результате проведенных исследований разработана технология получения сухого экстракта антигельминтного действия из листьев грецкого ореха. 55.0 кг воздушно-сухих листьев грецкого ореха измельчают до размера частиц 6 мм. Полученные 50 кг измельченного сырья загружают в экстрактор, где трехкратно экстрагируют 90%-ным этиловым спиртом при температуре 25 °C (комнатная). Отфильтрованный и объединенный спиртовой экстракт в количестве 300.0 л сгущают до 10.0 л. Кубовый остаток разбавляют 10.0 л воды. Из водно-кубового остатка четырехкратно экстрагируют юглон этилацетатом по 20.0 л. Этилацетатный экстракт упаривают до полного удаления растворителя. Густую массу растворяют 10 л 95% этиловым спиртом, спиртовой раствор юглона концентрируют до половины объема. В мешалку загружают 3.6 кг МКЦ и при перемешивании медленно добавляют спиртовой раствор юглона, тщательно перемешивают и полученную массу загружают на противни с толщиной слоя не более 10 мм. Противни с высушиваемыми массами закладывают в сушильную установку и проводят сушку циркулируя воздух с температурой 60 °C со скоростью 15 м/с в течение 6 ч. Высушенную массу измельчают и просеивают через сито диаметрами отверстий 0.5 мм. Получают 5.3 кг сухого экстракта с содержанием не менее 0.9% юглона.

Разработанную технологию апробировали с получением 5 серий сухого экстракта из листьев грецкого ореха (табл. 5). Статистическую обработку результатов по определению содержание юглона в образцах сухих экстрактов провели согласно ГФ РФ XIV [28].

Из таблицы 5 видно, что выход сухих экстрактов листьев грецкого ореха (5.25–5.38% к массе сырья) и содержание юглона (0.938–0.971%) в них почти одинаковы, что доказывает воспроизводимость разработанной технологии.

Таблица 4. План эксперимента по схеме латинских квадратов 3×3 и полученные результаты

План эксперимента				Результаты опытов			Дисперсионный анализ полученных результатов					
–	A ₁	A ₂	A ₃	Содержание влаги в сухих экстрактах, %			Суммы показателей каждого фактора (T_{ij})			Средний показатель каждого фактора		
				A	B	C	A	B	C	A	B	C
B ₁	C ₃	C ₂	C ₁	7.28	6.65	9.68	17.88	23.61	26.47	5.96	7.87	8.82
B ₂	C ₂	C ₁	C ₃	3.15	9.34	6.85	23.81	19.34	15.05	7.94	6.45	5.02
B ₃	C ₁	C ₃	C ₂	7.45	7.28	5.25	21.78	20.52	21.95	7.26	6.84	7.32

Таблица 5. Результаты анализов сухих экстрактов листьев грецкого ореха, полученных по предлагаемой технологии

Номер серии	Выход сухого экстракта, % к массе сырья	Содержание юглона в сухом экстракте, %	Метрологические характеристики
1	5.38	0.938	$X_{cp}=0.952\%$
2	5.25	0.971	$f=4$, $T(95\%,4)=2.78$
3	5.32	0.944	$S^2=0.0002$; $S=0.0133$
4	5.27	0.960	$\Delta x=0.037$; $\Delta x_{cp}=0.0166$
5	5.30	0.947	$E_{cp}=1.74\%$

Выходы

1. Методом математического планирования эксперимента по Боксу-Уилсону определены оптимальные режимы экстракции листьев грецкого ореха. Установлено, что избирательным экстрагентом является 90% этиловый спирт, оптимальная степень измельченности сырья – не более 6 мм, температура процесса – 25 °С.
2. Изучена динамика экстракции, по результатам которой предложена трехкратная экстракция юглона из листьев грецкого ореха.
3. Определены условия очистки экстракта из грецкого ореха от сопутствующих веществ гидрофильного характера, которые заключаются в четырехкратной экстракции юглона этилацетатом из кубового остатка экстракта.
4. Обосновано применение наполнителя в процессе сушки спиртового раствора юглона. При этом в качестве оптимального наполнителя выбрана микрокристаллическая целлюлоза в массовом соотношении сухой остаток высушиваемого раствора – МКЦ 1 : 2.
5. Методом математического планирования по латинским квадратам по схеме 3×3 установлено, что массу, полученную перемешиванием спиртового раствора юглона с МКЦ необходимо сушить в сушильной установке с принудительной вентиляцией воздуха при следующем режиме: толщина слоя высушиваемой массы на противне сушилки – 10 мм, скорость подаваемого воздуха – 15 м/с и продолжительность процесса – 6 ч.
6. На основании результатов исследований разработана технология получения сухого экстракта антигельминтного действия из листьев грецкого ореха, обеспечивающая 9.6% выхода сухого экстракта по отношению к массе сырья, с содержанием не менее 0.9% юглона.

Финансирование

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета Ташкентского фармацевтического института. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

Конфликт интересов

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Открытый доступ

Эта статья распространяется на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), которая разрешает неограниченное использование, распространение и воспроизведение на любом носителе при условии, что вы дадите соответствующие ссылки на автора(ов) и источник и предоставите ссылку на Лицензию Creative Commons и укажете, были ли внесены изменения.

Список литературы

1. Najafi F., Mardi M., Fakheri B., Pirseyedi S., Mehdinejad N., Farsi M. Isolation and Characterization of Novel Microsatellite Markers in Walnut (*Juglans regia* L.) // American Journal of Plant Sciences. 2014. Vol. 5 (3). Pp. 409–415. <https://doi.org/10.4236/ajps.2014.53054>.
2. Zhang Q. Effect of extraction solvents on the phytochemical and antioxidant activity of extracts of green walnut (*Juglans regia* L.) green husks extracts // European Journal of Food Science and Technology. 2015. Vol. 3(5). Pp. 15–21.
3. Елисеева Т., Ямпольский А. Грецкий орех (лат. *Juglans régia*) // Журнал здорового питания и диетологии. 2019. №10. С. 2–14.
4. Ключникова А.С., Нестерова О.В., Доброхотов Д.А., Ермакова В.Ю. Исторический опыт и перспективы использования листьев грецкого ореха в медицине (*Juglans regia* L.) // Медикофармацевтический журнал «Пульс». 2022. Т. 24, №7. С. 69–77. <https://doi.org/10.26787/nydha-2686-6838-2022-24-7-69-77>.
5. 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.
6. Дайронас Ж.В., Пшукова И.В. Изучение состава липофильной фракции листьев ореха грецкого, произрастающего на Кавказских Минеральных Водах // Химия растительного сырья. 2010. №4. С. 91–93.
7. 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. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2022049923>.
8. Cosmulescu S., Trandafir I., Nour V., Cosmulescu S. Seasonal variation of the main individual phenolics and juglone in walnut (*Juglans regia*) leaves // Pharmaceutical biology. 2014. Vol. 52 (5). Pp. 575–580. <https://doi.org/10.3109/13880209.2013.853813>.
9. 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 // Natural product communications. 2013. Vol. 8(10). Pp. 1481–1486.

10. 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 // Scientific World Journal. 2014. Vol. 2014. 303878. <https://doi.org/10.1155/2014/303878>.
11. Einali A., Azizian-Shermeh O., Ghasemi A. Phytochemical screening and antimicrobial activities of *Periploca aphylla* Decne, Persian walnut (*Juglans regia* L.) and oleander (*Nerium indicum* Mill.) Leaf extracts // Journal of Food Measurement and Characterization. 2018. Vol. 12. Pp. 1350–1359. <https://doi.org/10.1007/s11694-018-9749-9>.
12. Sharafati-chaleshtori R., Sharafati-chaleshtori F., Sharafati-chaleshtori A., Rafieian M. Antibacterial effects of ethanolic extract of walnut leaves (*Juglans regia*) on propionibacterium acnes // Journal of Zanjan University of Medical Sciences and Health Services. 2012. Vol. 18 (71). Pp. 42–49.
13. Santos A., Barros L., Calhelha R.C., Duenas M., Carvalho A.M., Santos-Buelga C., Ferreira I.C.F.R. Leaves and decoction of *Juglans regia* L.: Different performances regarding bioactive compounds and in vitro // Industrial Crops and Products. 2013. Vol. 51. Pp. 430–436. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.10.003>.
14. Holowacz S., Blondeau C., Guinobert I., Guilbot A., Bardot V., Cotte C., Ripoche I., Chalard P., Hidalgo-Lucas S., Bisson J.-F. Anti-diarrheal and anti-nociceptive effects of a hydroethanolic leaf extract of walnut in rats // Medicinal & Aromatic Plants. 2016. Vol. 5(5). Pp. 1–5. <https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000268>.
15. Ильичева Е.С., Миннахметова Э.Р., Сафина Р.И., Крайнов А.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.
16. Горохова С.В. Орех маньчжурский в нетрадиционной медицине // Здоровье и образование в XXI веке. 2016. №2. С. 482–487.
17. Дайронас Ж.В. Экспериментально-теоретическое исследование лекарственного растительного сырья, содержащего нафтохиноны, и его стандартизация: автореф. дис. ... докт. фарм. наук. М., 2017. 42 с.
18. Бабин А.В., Ракипов Д.Ф. Организация и математическое планирование эксперимента. Екатеринбург, 2014. С. 85–94.
19. Абдурахманов Б.А., Халилов Р.М., Сотимов Г.Б. Изучение процесса экстракции гиперицина из надземных частей *Hypericum scabrum* и *Hypericum perforatum* // Химия растительного сырья. 2021. №1. С. 299–307. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2021018277>.
20. Маматханова М.А., Халилов Р.М., Котенко Л.Д., Маматханов А.У. Разработка технологии получения субстанции тенэстрола эстрогенного действия из надземной части *Ferula tenuisecta* // Химия растительного сырья. 2019. №1. С. 269–276. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2019013988>.
21. Анисимов П.Н. Об использовании методики планирования эксперимента в соответствие с трехуровневыми планами Бокса-Бенкена // Вестник магистратуры. 2017. №2-2 (65). С. 32–36.
22. Маматханов А.У., Хажибаев Т.А., Халилов Р.М. Технология получения суммы иридоидов из отходов переработки надземной части *Ajuga turkestanica* // Химия растительного сырья. 2023. №3. С. 293–302. <https://doi.org/10.14258/jcprm.20230311829>.
23. Кариева Ё.С., Садикова Р.К., Каримов О.У., Нуридуллаева К.Н. Изучение процесса экстракции изосалипурпизида из цветков бессмертника самаркандского // Химия растительного сырья. 2024. №1. С. 354–361. <https://doi.org/10.14258/jcprm.20240112033>.
24. 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.
25. Верниковский В.В., Дайронас Ж.В., Зилфикаров И.Н., Хаджиева З.Д. Экстракция биологически активных веществ из сырья ореха грецкого: современные подходы // Фармация. 2019. №68(1). С. 5–9. <https://doi.org/10.29296/25419218-2019-01-01>.
26. Дайронас Ж.В., Зилфикаров И.Н. Верниковский В.В. Разработка и стандартизация лекарственных растительных препаратов из листьев ореха грецкого // Сборник научных трудов ГНБС. 2018. Т. 146. С. 153–158. <https://doi.org/10.25684/NBG.scbook.146.2018.23>.
27. Ахназарова С.Л., Кафаров В.В. Оптимизация эксперимента в химии и химической технологии. М., 1978. 319 с.
28. ОФС.1.1.0013.15. Статистическая обработка результатов химического эксперимента // Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. М., 2018. Т. 1. С. 289–318.

Поступила в редакцию 20 августа 2024 г.

После переработки 22 октября 2024 г.

Принята к публикации 5 марта 2025 г.

Karieva E.S., Radjapova N.Sh., Khamdamov M.M., Karimov O.U. OPTIMIZATION OF EXTRACTION AND DRYING PROCESSES OF JUGLONE FROM WALNUT LEAVES (JUGLANS REGIA L.)*

Tashkent Pharmaceutical Institute, st. Aibeka, 45, Tashkent, 100015, Uzbekistan, yosk@mail.ru

The influencing factors on the process of juglone extraction from walnut leaves (*Juglans regia L.*), as well as the dynamics of extraction, were studied using the method of mathematical planning of an experiment according to Box-Wilson. Based on the research results, it was established that for maximum extraction of juglone, walnut leaves must be crushed to a raw material particle size of no more than 6 mm and then extracted three times with 90% ethanol at a temperature of 20–30 °C at the first contact of the phases - 5 hours, with the second – 3 hours, with the third – 2 hours. To purify the extract, liquid-liquid extraction has been proposed, in which the concentrated extract is diluted with water and juglone is extracted four times with ethyl acetate to remove hydrophilic impurities. For effective drying of the alcohol solution of juglone, a filler was used, for which microcrystalline cellulose was selected in a mass ratio of the dry residue of the dried solution - microcrystalline cellulose 1 : 2. To uniformly mix biologically active substances with microcrystalline cellulose, as well as remove residual amounts of ethyl acetate, a method has been proposed that consists of concentrating the ethyl acetate extract to constant weight, dissolving the thick mass with ethanol, evaporating the alcohol solution to half the volume, mixing the alcohol solution with microcrystalline cellulose and drying the resulting masses. Based on the results of experiments on selecting the type of drying apparatus for drying a mass containing juglone, drying with forced air ventilation at a temperature of 60±2 °C was proposed. Using the method of mathematical planning of a Latin square experiment using a 3×3 scheme, the optimal mode of a dryer with forced air ventilation was found. It has been established that the mass of a mixed alcohol solution of juglone with microcrystalline cellulose must be dried in a drying unit with forced air ventilation under the following conditions: the thickness of the layer of the dried mass on the dryer tray is 10 mm, the supplied air speed is 15 m/s and the process duration is 6 hours. A technology has been developed for obtaining a dry extract with anthelmintic action from walnut leaves, providing a 10.8% yield of dry extract to the mass of raw materials containing at least 0.9% juglone.

Keywords: Walnut, *Juglans regia L.*, leaves, juglone, Box-Wilson, latin square according to the 3×3 scheme.

For citing: Karieva E.S., Radjapova N.Sh., Khamdamov M.M., Karimov O.U. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2025, no. 3, pp. 350–359. (in Russ.). <https://doi.org/10.14258/jcprm.20250315710>.

References

1. Najafi F., Mardi M., Fakheri B., Pirseyedi S., Mehdinejad N., Farsi M. *American Journal of Plant Sciences*, 2014, vol. 5 (3), pp. 409–415. <https://doi.org/10.4236/ajps.2014.53054>.
2. Zhang Q. *European Journal of Food Science and Technology*, 2015, vol. 3(5), pp. 15–21.
3. Yeliseyeva T., Yampol'skiy A. *Zhurnal zdorovogo pitaniya i diyetologii*, 2019, no. 10, pp. 2–14. (in Russ.).
4. Klyuchnikova A.S., Nesterova O.V., Dobrokhotov D.A., Yermakova V.Yu. *Medikofarmatsevticheskiy zhurnal "Pul's"*, 2022, vol. 24, no. 7, pp. 69–77. <https://doi.org/10.26787/nydha-2686-6838-2022-24-7-69-77>. (in Russ.).
5. Dayronas Zh.V., Kuleshova S.A., Pshukova I.V. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2010, no. 4, pp. 95–98. (in Russ.).
6. Dayronas Zh.V., Pshukova I.V. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2010, no. 4, pp. 91–93. (in Russ.).
7. Kurkin V.A., Zimenkina N.I. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2022, no. 4, pp. 231–239. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2022049923>. (in Russ.).
8. Cosmulescu S., Trandafir I., Nour V., Cosmulescu S. *Pharmaceutical biology*, 2014, vol. 52 (5), pp. 575–580. <https://doi.org/10.3109/13880209.2013.853813>.
9. Paudel P., Satyal P., Dosoky N.S., Maharjan S., Setzer W.N. *Natural product communications*, 2013, vol. 8(10), pp. 1481–1486.
10. Zhao M.H., Jiang Z.T., Liu T., Li R. *Scientific World Journal*, 2014, vol. 2014, 303878. <https://doi.org/10.1155/2014/303878>.
11. Einali A., Azizian-Shermeh O., Ghasemi A. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 2018, vol. 12, pp. 1350–1359. <https://doi.org/10.1007/s11694-018-9749-9>.
12. Sharafati-chaleshtori R., Sharafati-chaleshtori F., Sharafati-chaleshtori A., Rafieian M. *Journal of Zanjan University of Medical Sciences and Health Services*, 2012, vol. 18 (71), pp. 42–49.
13. Santos A., Barros L., Calhelha R.C., Duenas M., Carvalho A.M., Santos-Buelga C., Ferreira I.C.F.R. *Industrial Crops and Products*, 2013, vol. 51, pp. 430–436. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.10.003>.
14. Holowacz S., Blondeau C., Guinobert I., Guilbot A., Bardot V., Cotte C., Ripoche I., Chalard P., Hidalgo-Lucas S., Bisson J.-F. *Medicinal & Aromatic Plants*, 2016, vol. 5(5), pp. 1–5. <https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000268>.
15. Il'icheva Ye.S., Minnakhmetova E.R., Safina R.I., Kraynov A.S. *Vestnik Kazanskogo tekhnologicheskogo universiteta*, 2015, vol. 18, no. 3, pp. 147–150. (in Russ.).
16. Gorokhova S.V. *Zdorov'ye i obrazovaniye v XXI veke*, 2016, no. 2, pp. 482–487. (in Russ.).
17. Dayronas Zh.V. *Eksperimental'no-teoreticheskoye issledovaniye lekarstvennogo rastitel'nogo syr'ya, soderzhashchego naftokinony, i yego standartizatsiya: avtoref. dis. ... dokt. farm. nauk*. [Experimental and theoretical study of medicinal plant materials containing naphthoquinones and its standardization: author's abstract. diss. ... doctor of pharmaceutical sciences]. Moscow, 2017, 42 p. (in Russ.).
18. Babin A.V., Rakipov D.F. *Organizatsiya i matematicheskoye planirovaniye eksperimenta*. [Organization and mathematical planning of the experiment]. Yekaterinburg, 2014, pp. 85–94. (in Russ.).

* Corresponding author.

19. Abdurakhmanov B.A., Khalilov R.M., Sotimov G.B. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2021, no. 1, pp. 299–307. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2021018277>. (in Russ.).
20. Mamatkhanova M.A., Khalilov R.M., Kotenko L.D., Mamatkhanov A.U. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2019, no. 1, pp. 269–276. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2019013988>. (in Russ.).
21. Anisimov P.N. *Vestnik magistratury*, 2017, no. 2-2 (65), pp. 32–36. (in Russ.).
22. Mamatkhanov A.U., Khazhibayev T.A., Khalilov R.M. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2023, no. 3, pp. 293–302. <https://doi.org/10.14258/jcprm.20230311829>. (in Russ.).
23. Kariyeva O.S., Sadikova R.K., Karimov O.U., Nuridullayeva K.N. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2024, no. 1, pp. 354–361. <https://doi.org/10.14258/jcprm.20240112033>. (in Russ.).
24. Tushkanova O.V., Boyko I.Ye. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv*, 2017, no. 1 (18), pp. 126–129. (in Russ.).
25. Vernikovskiy V.V., Dayronas Zh.V., Zilfikarov I.N., Khadzhiyeva Z.D. *Farmatsiya*, 2019, no. 68(1), pp. 5–9. <https://doi.org/10.29296/25419218-2019-01-01>. (in Russ.).
26. Dayronas Zh.V., Zilfikarov I.N. Vernikovskiy V.V. *Sbornik nauchnykh trudov GNBS*, 2018, vol. 146, pp. 153–158. <https://doi.org/10.25684/NBG.scbook.146.2018.23>. (in Russ.).
27. Akhnazarova S.L., Kafarov V.V. *Optimizatsiya eksperimenta v khimii i khimicheskoy tekhnologii*. [Optimization of an experiment in chemistry and chemical technology]. Moscow, 1978, 319 p. (in Russ.).
28. *Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii. XIV izdaniye*. [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV edition]. Moscow, 2018, vol. 1, pp. 289–318. (in Russ.).

Received August 20, 2024

Revised October 22, 2024

Accepted March 5, 2025

Сведения об авторах

Кариеva Ёкут Сайдкаримовна – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующая кафедрой, yosk@mail.ru

Раджапова Нозима Шавкатовна – старший преподаватель, nozima.radjapova76@gmail.com

Хамдамов Мирзаботир Мирзахайдарович – доцент, mirzabotirkhamdamov355@gmail.com

Каримов Отабек Улугбек уgli – магистрант, karimov_o_u@mail.ru

Information about authors

Karieva Yokut Saidkarimovna – Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Head of Department, yosk@mail.ru

Radjapova Nozima Shavkatovna – Senior Lecturer, nozima.radjapova76@gmail.com

Khamdamov Mirzabotir Mirzakhaidarovich – Associate Professor, mirzabotirkhamdamov355@gmail.com

Karimov Otabek Ulugbek – Master's Student, karimov_o_u@mail.ru