ПОЛУЧЕНИЕ ЛИОФИЛИЗИРОВАННОГО СУХОГО ЭКСТРАКТА ГРЕЦКОГО ОРЕХА ОБЫКНОВЕННОГО*

Хатыджа Атаева,
Преподаватель кафедры Медицинской биологии и генетики
Государственного медицинского университета Туркменистана имени Мырата Гаррыева

Аннотация

В статье описано получение сухого экстракта из листа дикого грецкого ореха обыкновенного методами лиофилизации в лабораторных условиях.

Ключевые слова: лист грецкого ореха обыкновенного, сухой экстракт, методы лиофилизации, микроскопический анализ.

Общая характеристика ореха обыкновенного. Грецкий орех обыкновенный (*Juglans regia L.*) относится к роду орех (*Juglans L.*) семейства ореховых (*Juglandaceae A. Rich. ex Kunth*) и является одним из самых распространенных орехов в мире. Во всем мире в диком виде встречается около 20 (в других источниках до 40) видов орехового дерева, относящегося к группе древних и долгоживущих деревьев, обладающих высокими лечебными и пищевыми свойствами, а в Туркменистане растет лишь 1 вид (Бердымухамедов, 2010). Стволы многолетних живых или старых деревьев темно-серого цвета. Ветви весной зеленые, осенью коричневато-зеленые, с множеством заостренных шипов. Листья сложные, очень крупные (длина 20-40 (55) см, в развивающихся ветвях до 75 см, ширина 15-40 см), очерёдные, непарные, веерообразные, состоящие из 2-7 пар яйцевидных листьев. Цветет в апреле-мае, плодоносит в сентябре-октябре.

Цель работы: определить подлинность сырья по внешним признакам, макро- и микроскопическому анализу листьев ореха грецкого (*Juglans regia L.*), высушить их в надлежащих условиях, получить лиофилизированный сухой экстракт из сушеного сырья.

Морфоанатомический анализ листа грецкого ореха обыкновенного. Для внедрения в медицинскую практику нового лекарственного растительного сырья важно охарактеризовать внешние и микроскопические диагностические признаки, позволяющие легко оценить его подлинность как в целом, так и в измельченном виде или в зольной форме. Этот аспект становится особенно важным при распределении сырьевых фильтровальных мешков и соломинок. В литературных источниках имеются научные работы, посвященные анатомии типичного листа грецкого ореха, однако фармакогностическая интерпретация результата, позволяющая поставить приблизительный диагноз, отсутствует (Дайронас, 2012).

Листья орехового дерева, произрастающего в природе в долине Гараялчи в Центральном Копетдаге, были собраны в июле 2023 года (рис. 1).

Рис 1. Лист грецкого ореха обыкновенного

* Атаева Х. e-mail: hatyjaatayeva956@gmail.com

Собранное листовое сырье проверяли на полное соответствие условиям сбора, отсутствие почерневших частей и примесей. Их сушили на воздухе до остаточной влажности 7,5–8,8% подготовили к следующим этапам исследования.

Определение внешних свойств осуществляли по обычным визуальным свойствам. Микроскопический анализ листьев грецкого ореха обыкновенного проводили по общепринятой методике (ГФ-XIV РФ; Куркин, 2014; Чебышев, 2018; Dev, 2011; Paudel, 2013).

Целый лист или определенную часть листа следует поместить в пробирку, залить в неё небольшое количество 5%-ного раствора NaOH, нагреть с помощью спиртовки и немного прокипятить. Затем размягченный лист помещают на предметное стекло микроскопа и добавляют к нему небольшое количество раствора глицерина, чтобы можно было хорошо визуализировать клетки с отличительными особенностями. Приготовленный микропрепарат затем рассматривают под микроскопом при 40-400 – кратном увеличении и характеризуют его отличительные особенности. Микроскопическую характеристику свойств проводили на микроскопе «Leica DMC 2900».

При исследовании поверхности препарата, снятого с листьев грецкого ореха, можно увидеть клетки эпидермиса с прямыми или слабо утолщенными стенками прямоугольной формы (длиной 35-50 мкм, шириной 15-30 мкм, толщина стенок равна 2-3 мкм) (рис. 2). Также видно аномоцитное устьице. Трихомы бывают трех типов: 4-6- разветвленные не железистые волоски с пучками, 2-клеточные с ножками, 4-клеточные головчатые железистые волоски и железа.

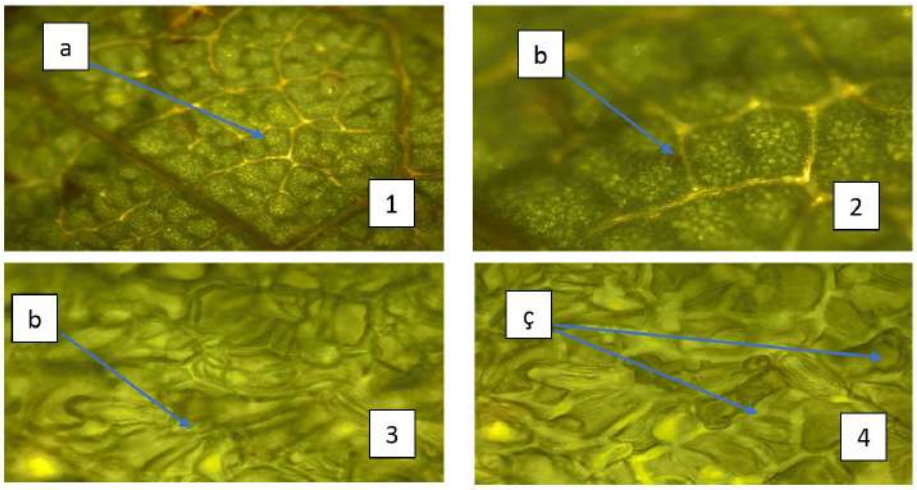

Рис 2. Микроскопия листа грецкого ореха:
1-препарат на поверхности; 2-устьицы; 3-верхний эпидермис, 4-проводящие пучки

Разветвленные волоски с пучками имеют длину 100–200 мкм и ширину у основания 10–15 мкм. Длина железистых волосков с 2-клеточными ножками и 4-клеточными головками равна 20-30 мкм, диаметр головки 20-35 мкм, ширина ножек 20 мкм. Железы состоят из 12 радиально расположенных клеток диаметром 50–70 мкм. Кристаллические добавки оксалата кальция имеют форму друз диаметром 30-50 мкм. При исследовании порошкообразного препарата можно увидеть фрагменты эпидермиса, характерные трихомы, железы и друзы оксалата кальция.

Характерные свойства листа грецкого ореха обыкновенного отличаются тем, что стеблевые волоски располагаются только вдоль жилки.

Получение сухого экстракта листьев грецкого ореха обыкновенного путем лиофилизации из темного экстракта. Высушенные листья грецкого ореха измельчили с помощью измельчителя и пропустили через сито с диаметром ячеек 2-4 мм.

Затем отобрали пробу массой 200 г, залили очищенной водой в соотношении 1:10 и поместили в холодильник при температуре 5°С на 12 часов. Затем пробу вынули из холодильника и экстрагировали на горячей плите при температуре 90°С в течение 3-х часов. После завершения стадии экстрагирования ее фильтровали через 4-слойную марлю. Затем данный жидкий экстракт поместили в ротационный испаритель Rotavapor R II на 4,5 часа (рис. 3).

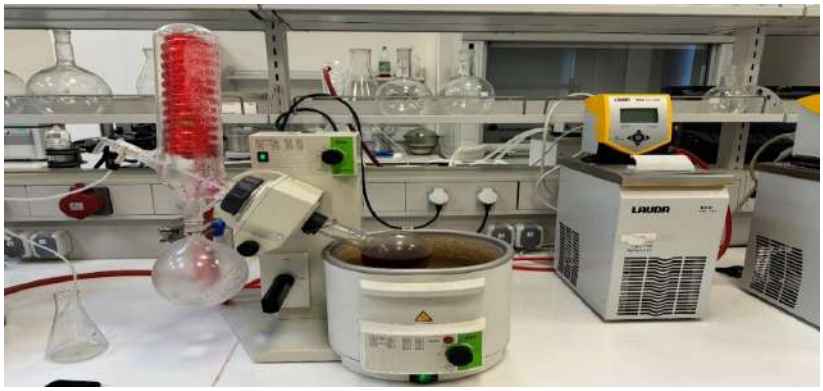

Рис. 3. Сгущение жидкого экстракта листьев грецкого ореха обыкновенного в ротационном испарителе Rotavapor R II

Концентрированный экстракт лиофилизировали в течение 36 ч в лиофилизаторе Benchtop pro 8 L XL-75.

Выход лиофилизированного сухого экстракта листьев грецкого ореха выражали в процентах в расчете на сухую массу сырья. По результатам исследований выход сухого экстракта листьев грецкого ореха обыкновенного составил 15,5%.

Физико-химические свойства сухого экстракта листьев грецкого ореха обыкновенного.

Лиофилизированный сухой экстракт листьев грецкого ореха обыкновенного представляет собой твердое вещество темно-коричневого цвета (рисунок 4) с характерным сладким запахом, легко разжижающееся со временем при влажности воздуха, легко растворимое в воде и имеющее острый вкус.

Рис. 4. Лиофилизированный сухой экстракт листьев грецкого ореха обыкновенного

Определение содержания экстрактивных веществ проводили вышеуказанным гравиметрическим методом. Для определения состава экстрактивных веществ лекарственного растительного сырья использовался метод одноразовой экстракции.

Лекарственное растительное сырье просеяли через сито с ячейками диаметром 1 мм и поместили в коническую колбу емкостью 200-250 мл. К нему добавили 50 мл раствора. Закупорив колбу пробкой, ее взвесили и оставили на 1 час. Затем ее нагрели с обратным холодильником и кипятили на медленном огне в течение 2 часов. После того, как колба остыла, ее снова

закупорили и взвесили. Потеря веса колбы была компенсирована вначале использованным растворителем. Затем колбу встряхнули и отфильтровали содержимое через бумажный фильтр в чистую колбу емкостью 150-200 мл. 25 мл отфильтрованного раствора переносят пипеткой в высушенный при температуре 100-105°С и точно взвешенный керамический (фарфоровый) сосуд диаметром 7-9 см (рисунок 5) и высушивают на водяной бане до полного высыхания.

Рис. 5. Лиофилизированный сухой экстракт листьев грецкого ореха обыкновенного

Чашку с сухими остатками снова сушили до постоянного веса при 105°С и охлаждали в эксикаторе в течение 30 минут.

Состав экстрактивных веществ рассчитывают по следующей формуле в процентах от фиксированного сухого лекарственного растительного сырья:

$$X = \frac{m \cdot 100 \cdot 100 \cdot V}{a \cdot (100 - W) \cdot 25},$$

где m – масса сухих остатков, г; a – масса лекарственного растительного сырья, г; V – объем экстрагента, израсходованный на единоразовую обработку лекарственного сырья, мл; W – влажность лекарственного сырья, %.

Масса лиофилизированного сухого экстракта, полученного из высушенного сырья листьев грецкого ореха обыкновенного, рассчитанная в указанной последовательности, составила 15%.

ВЫВОДЫ

1. В результате проведенных исследований следующие показатели были признаны наиболее выгодными при использовании очищенной воды в качестве экстрагента для приготовления лиофилизированного сухого экстракта грецкого ореха обыкновенного: выход экстрактивных веществ при использовании воды очищенной в качестве экстрагента в зависимости от размера грецкого ореха составляла 15,5% от фиксированного сухого вещества сырья.
2. Метод мацерации лучше подходит для получения сухого экстракта грецкого ореха обыкновенного.
3. В результате проведенных исследований определены внешний вид, физико-химические свойства сухого экстракта грецкого ореха – гигроскопичное вещество темного цвета с нерезким своеобразным запахом и острым вкусом. Хорошо растворяется в воде. Выход сухого экстракта листа грецкого ореха обыкновенного должен быть не менее 15%.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Gurbanguly Berdimuhamedow.* Türkmenistanyň dermanlyk ösümlikleri. – A: TDNG, 2010, I tom, 331 s.
2. *Dev T. N., Apraj V., Bhagwat A., Mallya R., Sawant L., Pandita N.* Pharmacognostic and Phytochemical Investigation of Juglans regia Linn. Bark. Pharmacognosy Journal. 2011; 3(25): 39-43.
3. *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). – P. 1481-1486.

4. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. Том IV. – Москва, 2018.

5. *Дайронас Ж.В.* Морфолого-анатомическое изучение листьев ореха серого (Juglans cinerea L.) // Фундаментальные исследования. – 2015. – № 2 (часть 23) – С. 5161-5165.

6. Куркин В. А., Рыжов В. М., Тарасенко Л. В., Железникова А. С., Помогайбин А. В. Морфолого-анатомическое исследование арахисов и черешков листа ореха грецкого (Juglans regia L.) Фундаментальные исследования. 2014; 5-1: 102–108.

7. *Чебышев Н.В., Мартемьянова Л.О., Стреляева А.В. и др. Изучение внешних признаков, микроскопии и химического состава перегородок грецкого ореха Сеченовский вестник № 4 (34), 2018. С. 60-69.*