

Л. В. ЕБЕРЛЕ (<https://orcid.org/0000-0002-3466-8653>), канд. біол. наук,  
А. О. ЦІСАК (<https://orcid.org/0000-0003-3766-5156>), канд. біол. наук,  
І. М. РАДАЄВА (<https://orcid.org/0000-0002-3730-2788>), канд. біол. наук,  
А. С. КАЗАНЦЕВА (<https://orcid.org/0000-0002-6069-1590>)

*Одеський національний університет імені І. І. Мечникова*

**АНАЛІЗ ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК В ЕКСТРАКТІ З ПЛОДІВ ГОРІХА ЧОРНОГО (*JUGLANS NIGRA* L.) МЕТОДОМ ВИСОКОЕФЕКТИВНОЇ РІДИННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ**

**Ключові слова:** фенольні сполуки, високоефективна рідинна хроматографія, метод Фоліна–Чокальтеу, екстракт, чорний горіх

L. V. EBERLE (<https://orcid.org/0000-0002-3466-8653>),  
A. O. TSISAK (<https://orcid.org/0000-0003-3766-5156>),  
I. M. RADAIEVA (<https://orcid.org/0000-0002-3730-2788>),  
A. S. KAZANTSEVA (<https://orcid.org/0000-0002-6069-1590>)

*Odesa I. I. Mechnikov National University*

**ANALYSIS OF PHENOLIC COMPOUNDS IN BLACK WALNUT (*JUGLANS NIGRA* L.) FRUIT EXTRACT USING HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY**

**Key words:** phenolic compounds, high performance liquid chromatography, Folin–Chocalteau method, extract, black walnut

На фармацевтичному ринку України існує цілий арсенал лікарських засобів рослинного походження, які не втрачають своєї актуальності, ефективності та попиту серед населення різних вікових категорій.

Поряд із високим та виправданим інтересом дослідників до пошуку принципово нових джерел фітопрепаратів, заслуговують на не меншу увагу лікарські рослини, які вже давно застосовують у медицині, але водночас мають не повністю розкритий фармакотерапевтичний потенціал, оскільки вони є мало вивченими та дослідженими. Наукові відомості про них, зокрема про їх хімічний склад, фармакологічні властивості, були отримані десятки років тому в рамках, що мали на той час можливості науки, і з тих пір практично не поповнювалися.

До перспективних джерел біологічно активних речовин можна віднести *Juglans nigra* L. (Горіх чорний), який має унікальний склад біологічно активних речовин та відомий у народній медицині своїми цілющими властивостями.

Горіх чорний (*Juglans nigra* L.) – дерево родини горіхових (*Juglandaceae*) із майже чорною корою, чорнуватим плодом та голою кісточкою. Дерево сягає до 40 м у висоту. Вирізняється серед інших видів горіхів струнким стовбуром. Цвіте у травні, а плоди досягають у вересні–жовтні [1].

Плід *Juglans nigra* L. містить цілий комплекс вітамінів, а саме: А, В, D, К, Е, у великій кількості вітамін С. Вміст аскорбінової кислоти в плодах чорного горіха, згідно з джерелами літератури, перевищує показники в цитрусових плодах. Окрім вітамінів, в екстрактах чорного горіха було ідентифіковано фенольні сполуки, антацини, дубильні речовини, жирні кислоти (арахінова, ланолінова, стеаринова, альфа-ліноленева кислоти). Вважають, що екстракт *Juglans nigra* L. є натуральним антибіотиком від багатьох патогенних організмів, а також його застосовують як засіб проти вірусних та паразитарних заражень [2, 3]. Має протизапальні, репаратив-

ні та антиоксидантні властивості. У народній медицині витяжки з плодів та листя чорного горіха використовували для лікування цукрового діабету, артриту, артрозу, онкології, дерматитів, туберкульозу та ін. [4].

**Метою** роботи було встановлення показників процесу екстракції плодів *Juglans nigra* L. та аналіз фенольних сполук методом вискоєфективної рідинної хроматографії.

## Матеріали та методи дослідження

Як об'єкт дослідження було обрано плоди *Juglans nigra* L. Заготівлю рослинної сировини здійснювали наприкінці вересня місяця 2022 року на території ботанічного саду Одеського національного університету імені І. І. Мечникова відповідно до загальноприйнятих вимог ДФУ 2.0 [5, 6]. Сушіння робили в сушильній шафі за температури 27–32 °С упродовж 18 год.

Першим етапом роботи було встановлення оптимальних умов екстракції рослинної сировини, яка забезпечувала б максимальне вилучення сполук фенольної природи. Плоди горіха було подрібнено до розміру 5–8 мм у діаметрі та проекстраговано водно-етанольною сумішшю різних концентрацій (30%, 50%, 70% та 90%) за різних гідромодулів (1:3, 1:6, 1:9, 1:12) методом мацерації впродовж 10 діб. Основним критерієм оцінювання оптимальних умов екстракції був кількісний вміст фенольних сполук, який визначали спектрофотометрично на спектрофотометрі Perkin-Elmer Lambda 9 (США) за методом Фоліна–Чокальтеу. Для роботи використовували реактив Фоліна–Чокальтеу українського виробника ТОВ «Хімлаборреактив» [7, 8, 9].

Аналіз поліфенольних сполук здійснювали методом вискоєфективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) на системі Shimadzu (Японія) із модулем автоматичної подачі проб Auto sampler SIL-20A/20AC, модулем рухомої фази LC-20 AD, колонним модулем CTO-20A/20AC, дегазатором DGU-20A<sub>3</sub>/DGU-20A<sub>5</sub> та діодним ультрафіолетовим детектором SPD-20A/SPD-20AV. Хроматографічне розділення виконували на зворотно-фазовій колонці Microsorb-MV C18 (150×4,6 мм, зерно сорбенту – 5 мкм). У роботі використовували реактиви, розчинники і чисті речовини фірм Fluka, Merck, Lab-Scan.

Як рухому фазу використовували систему компонентів «метанол–0,9%-й розчин ортофосфорної кислоти» за їх початкового співвідношення 1:9. Вибір цієї системи здійснювали згідно з методичними рекомендаціями, які дають змогу отримати бездоганні піки стандартних речовин, що відрізняються за часом виходу та є показовими для більш точного розрахунку сумарного вмісту окремих представників ПФС. У ході відпрацювання умов хроматографування було розроблено оптимальний режим градієнтного елюювання. Схема зміни градієнта по метанолу:

- перші 13 хв: підвищення концентрації з 10 до 40%;
- з 13 по 20 хв: підвищення концентрації з 40 до 53%;
- з 20 по 26 хв: підвищення концентрації з 53 до 55%;
- з 26 по 40 хв: постійна концентрація 55%;
- з 40 по 41 хв: зниження концентрації до 10 %;
- з 41 по 56 хв: постійна концентрація 10%.

Усі зміни концентрацій лінійні.

Швидкість подачі елюента – 0,5 мл/хв. Температура колонки +40 °С.

Об'єм проб для аналізу – 5 мкл.

Ідентифікацію речовин у досліджуваних екстрактах здійснювали шляхом порівняння часу утримання та спектральних характеристик досліджуваних речовин з аналогічними характеристиками стандартів відповідно зі способом ідентифікації

поліфенолів. Для точної ідентифікації або визначення приналежності досліджуваних речовин до конкретних груп поліфенолів використовували такі стандарти: хлорогенова і кавова кислоти, катехін, флаванолі, кверцетин, рутин і міріцетин, флаванони нарингенин, нарингін і гесперидин, флавонолі лютеолін і апигенін, ізофлавонолі дайдрейн, генистеїн і геністин, антоціанін ціанідин (Sigma-Aldrich, Німеччина).

Екстракти перед аналізом фільтрували з використанням фільтрів Supelco Iso-Disc Filters PTFE 25-4 (25 mm×0,45µm).

Статистичну обробку даних робили з використанням програми STATISTICA 8. При порівняльному аналізі результатів досліджень використовували параметричний критерій Ст'юдента. Для всіх видів аналізу статистично достовірними вважали відмінності  $p < 0,05$  (95%).

### Результати дослідження та обговорення

Сумарний вміст сполук фенольної природи визначали спектрофотометрично зі застосуванням реактиву Фоліна-Чокальтеу, що складається із суміші фосфорно-вольфрамової й фосфорно-молібденової кислот, які відновлюються при окисненні фенолів до суміші оксидів. При цьому спостерігається утворення блакитного кольору, інтенсивність якого пропорційна кількості фенольних речовин у розчині. Вміст фенольних речовин визначали в перерахунку на галову кислоту за довжини хвилі 645 нм.

Згідно з результатами дослідження показано, що підвищення концентрації екстрагента, як і збільшення співвідношення сировини до розчинника, сприяло пришвидшеному виходу біологічно активних речовин у систему розчинника.

Найвищі показники виходу фенольних сполук відзначалися при використанні 70%-ї водно-етанольної суміші за гідромодуля 1:9 на 10 добу мацерації. Сумарний вихід сполук у цьому разі становив  $1,75 \pm 0,08\%$  на 1 г сухої сировини.

Слід зазначити, що подальше збільшення потенційної сили дифузії, а саме концентрації розчинника до 90% та гідромодуля до 1:12, не призводило до збільшення виходу цільового продукту (табл. 1).

Таблиця 1

#### Кількісний вміст фенольних сполук в екстракті *Juglans nigra* L. за різних умов екстрагування (% у 1 г сухої сировини, $n = 3$ )

Концентрація екстрагента, %	Співвідношення між сировиною і екстрагентом			
	1:3	1:6	1:9	1:12
30	$0,36 \pm 0,06$	$0,43 \pm 0,02^*$	$0,56 \pm 0,05^*$	$0,58 \pm 0,06$
50	$0,39 \pm 0,03^*$	$0,61 \pm 0,06^*$	$1,12 \pm 0,09^*$	$0,95 \pm 0,08^*$
70	$0,41 \pm 0,04^*$	$0,94 \pm 0,07^*$	<b><math>1,75 \pm 0,08</math></b>	$1,44 \pm 0,09^*$
90	$0,40 \pm 0,05$	$0,92 \pm 0,08^*$	$1,72 \pm 0,12^*$	$1,37 \pm 0,12^*$

Примітка: \* –  $p < 0,05$ .

Таким чином, доведено, що оптимальними умовами для забезпечення максимального вилучення сполук фенольної природи з рослинного матеріалу *Juglans nigra* L. є 70%-а водно-етанольна суміш при співвідношенні сировини до екстрагента 1:9 за умов екстракції методом мацерації.

Одержаний екстракт *Juglans nigra* L. із максимальним вмістом фенольних сполук у подальшому досліджували методом вискоєфективної рідинної хроматографії з ідентифікацією компонентного складу.

Результати ВЕРХ-аналізу спиртового екстракту *Juglans nigra* L. дають можливість із певним ступенем вірогідності припускати наявність у досліджуваних екстрактах таких представників фенолів як: фенольні кислоти, флавоноли, флаванони та катехінподібні речовини (рисунок).

Ефективність вилучення фенольних сполук оцінювали по кількості і площі піків в інтервалі з 6 по 27 хв на хроматограмах екстракту, оскільки для обраної методики саме в цьому інтервалі елююються присутні фенольні сполуки повною мірою. Слід зазначити, що перші 5 хв хроматографії вважають технічними, тому що можуть бути спровоковані ін'єкцією проби в гідролітичну систему хроматографа і пов'язані з коливаннями тиску в системі та оптичною шільністю

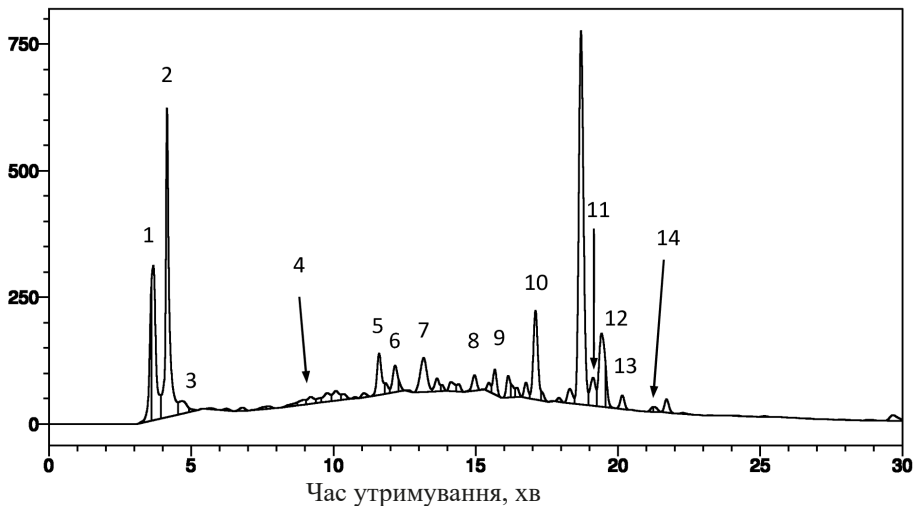


Рис. Хроматограма екстракту *Juglans nigra* L. за довжини хвилі 255 нм

Примітка: 1 – катехіноподібна речовина; 2, 3 – флаваноподібні речовини; 4 – катехін; 5, 6, 9 – флаванони; 7, 8 – катехіни; 10 – глікозид мірицетин; 12 – рутин; 13 – нарингенін; 14 – кверцетин.

Результати експериментальних досліджень вмісту фенольних сполук в екстракті з плодів *Juglans nigra* L. методом ВЕРХ подано в табл. 2.

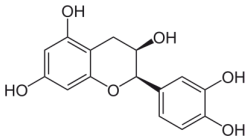
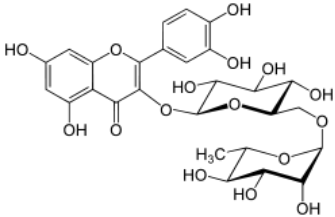
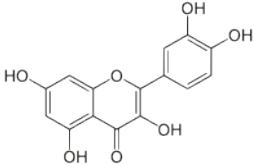
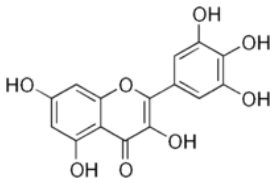
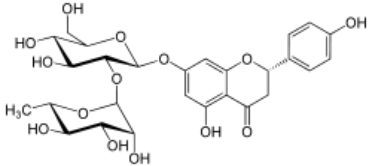
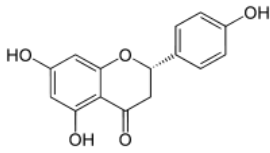
На підставі наявних в нашому розпорядженні стандартів фенольних сполук, нам вдалося ідентифікувати 6 класів сполук та деяких представників цих груп, а саме: катехіни (107,11 мкг/мл), катехіноподібні речовини (54,73 мкг/мл), флавоноли (рутин, (8,36 мкг/мл), кверцетин (4,74 мкг/мл), мірицетин (45,43 мкг/мл)), флаванони (нарингін (12,48 мкг/мл), нарингенін (0,67 мкг/мл)), а також флаваноподібні речовини, вміст яких становив 424,9 мкг/мл. У незначній кількості було виявлено фенольні кислоти (0,32 мкг/мл) (табл. 2).

Слід зазначити, що такі речовини як хлорогенова кислота, каваова кислота, кемпферол, гесперидин, глікозиди геністеїну та дайдзеїну, глікозиди лютеоліну та апігеніну, як лютеолін і апігенін в дослідному зразку екстракту не було ідентифіковано (табл. 2).

Результати дослідження екстракту *Juglans nigra* L. методом вискоелективної рідинної хроматографії свідчать, що сумарний вміст фенольних сполук становить 2 327,09 мкг/мл, де на долю неідентифікованих сполук траплялося 894,02 мкг/мл.

Таким чином, встановлено оптимальні умови екстрагування плодів *Juglans nigra* L., які забезпечують максимальне вилучення цільового продукту, та методом ВЕРХ досліджено якісний склад і кількісний вміст фенольних сполук.

Сумарний вміст фенольних сполук в екстракті з плодів *Juglans nigra* L.

Група фенолів	Вміст, мкг/мл	Окремі речовини	Вміст, мкг/мл	Структурна формула
Фенольні кислоти	0,32	Хлорогенова кислота	–	Не ідентифіковано
		Кавова кислота	–	Не ідентифіковано
Катехіни	107,11	Катехін	22,17	
Катехіноподібні*	54,73	–	–	Не ідентифіковано
Ізофлаволи	–	Глікозиди геністеїну	–	Не ідентифіковано
	–	Глікозиди даїдзеїну	–	Не ідентифіковано
Флавоноли	408	Рутин	8,36	
		Кверцетин	4,74	
		Кемпферол	–	Не ідентифіковано
		Мірицетин	45,43	
Флаванони	438,01	Нарингін	12,48	
		Нарингенин	0,67	
		Гесперидин	–	Не ідентифіковано

Флаволи	0	Глікозиди лютеоліну	–	Не ідентифіковано
		Лютеолін	–	Не ідентифіковано
		Глікозиди апігеніну	–	Не ідентифіковано
		Апігенін	–	Не ідентифіковано
Флаваноподібні*	424,9	–	–	–
Неідентифіковані речовини		894,02 мкг/мл		
<b>Загалом сума поліфенолів</b>		<b>2 327,09 мкг/мл</b>		

Примітка: \* – катехіноподібні, флаваноподібні – феноли, піки яких розташовані поза області піків катехінів і флаванонів на хроматограмі, але зі спектральними характеристиками катехінів і флаванонів.

Одержані дані свідчать про перспективність створення лікарського рослинного засобу на основі екстракту з плодів *Juglans nigra* L. із високою протизапальною, знеболювальною та антиоксидантною активністю.

## Висновки

1. Підібрано оптимальні умови екстрагування плодів *Juglans nigra* L. за умов мацерації. За результатами порівняльного аналізу показано, що для максимального вилучення фенольних сполук доцільно використовувати як екстрагент 70%-у водно-етанольну суміш за співвідношення сировини до розчинника 1:9.

2. Методом вискоєфективної рідинної хроматографії показано, що сумарний вміст фенольних сполук у плодах *Juglans nigra* L. становить 2 327,09 мкг/мл.

3. Аналіз вискоєфективної рідинної хроматографії екстракту *Juglans nigra* L. свідчить про присутність у зразках рослинного матеріалу таких фенольних сполук як катехіни, катехіноподібні речовини, флавоноли (рутин, кверцетин, мірицетин), флаванони (нарингін, нарингенін) та фенольні кислоти.

## Список використаної літератури

1. Gavrilovic P., Rajkovic M., Simic K. et al. Optimization of ultrasound-assisted extraction of total polyphenolic compounds from *Juglans nigra* L. leaves // J. Serb. Chem. Soc. – 2018. – V. 83. – P. 1273–1284. <https://doi.org/10.2298/10.2298/JSC180321069G>

2. Vieira V., Prieto M. A., Barros L. et al. Optimization and comparison of maceration and microwave extraction systems for the production of phenolic compounds from *Juglans regia* L. for the valorization of walnut leaves // Ind. Crops Prod. – 2017. – V. 107. – P. 341–352. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.06.012>

3. Trandafir L., Cosmulescu S., Botu M. et al. Antioxidant activity, and phenolic and mineral contents of the walnut kernel (*Juglans nigra* L.) as a function of the pellicle color. Fruits // Food Chem. – 2016. – V. 71. – P. 177–184. <https://doi.org/10.1051/fruits/2016006>

4. Bernard A., Barreneche T., Lheureux F. Analysis of genetic diversity and structure in a worldwide walnut (*Juglans regia* L.) germplasm using SSR markers // PLoS One. – 2018. – V. 13, N 11. – P. 67–76. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208021>

5. Державна фармакопея України: в 3 т. / ДП «Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-ге вид. – Харків: ДП «Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2015. – Т. 1. – 1128 с.



6. Дуюн І. Ф., Мазулін О. В., Мазулін Г. В., Опрошанська Т. В. Хімічний склад поліфенольних сполук у траві деревію подового (*Achillea micranthoides* Klok.) // Фармац. журн. – 2020. – Т. 75, № 1. – С. 80–87. <https://doi.org/10.32352/0367-3057.1.20.09>

7. Kravchenko I. A., Kobernik A. A., Eberle L. V. Optimization of extraction methods for total polyphenolic compounds obtained from rhizomes of *Zingiber officinale* // Trends in Phytochemical Res. – 2018. – N 2 (1). – P. 37–42. <https://doi.org/10.1001.1.25883623.2018.2.1.5.3>

8. Федоришин О. М., Загородня Д. С., Кравич А. С. та ін. Розроблення технологічної схеми екстракції коренів *Carlina acaulis* // Науковий вісник НЛТУ України. – 2021. – Т. 31, № 1. – С. 93–98. <https://doi.org/10.36930/40310116>

9. Кравич А. С., Петріна Р. О., Суберляк С. А. та ін. Одержання та дослідження екстрактів калусної біомаси *Calendula officinalis* // Хімія, технологія речовин та їх застосування. – 2018. – Т. 1, № 2. – С. 63–68. <https://doi.org/10.23939/ctas2018.02.063>

## References

1. Gavrilovic P., Rajkovic M., Simic K. et al. Optimization of ultrasound-assisted extraction of total polyphenolic compounds from *Juglans nigra* L. leaves // J. Serb. Chem. Soc. – 2018. – V. 83. – P. 1273–1284. <https://doi.org/10.2298/JSC180321069G>

2. Vieira V., Prieto M. A., Barros L. et al. Optimization and comparison of maceration and microwave extraction systems for the production of phenolic compounds from *Juglans regia* L. for the valorization of walnut leaves // Ind. Crops Prod. – 2017. – V. 107. – P. 341–352. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.06.012>

3. Trandafir I., Cosmulescu S., Botu M. et al. Antioxidant activity, and phenolic and mineral contents of the walnut kernel (*Juglans nigra* L.) as a function of the pellicle color. Fruits // Food Chem. – 2016. – V. 71. – P. 177–184. <https://doi.org/10.1051/fruits/2016006>

4. Bernard A., Barreneche T., Lheureux F. Analysis of genetic diversity and structure in a worldwide walnut (*Juglans regia* L.) germplasm using SSR markers // PLoS One. – 2018. – V. 13, N 11. – P. 67–76. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208021>

5. Derzhavna farmakopeia Ukrainy: v 3 t. / DP «Ukr. nauk. farmakopeyni tsestr yakosti likarskykh zasobiv». 2-he vyd. – Kharkiv: DP «Ukr. nauk. farmakopeyni tsestr yakosti likarskykh zasobiv». – 2015. – Т. 1. – 1128 s.

6. Дуйун І. Ф., Мазулін О. В., Мазулін Г. В., Опрошанська Т. В. Хімічний склад поліфенольних сполук у траві деревію подового (*Achillea micranthoides* Klok.) // Фармац. журн. – 2020. – Т. 75, № 1. – С. 80–87. <https://doi.org/10.32352/0367-3057.1.20.09>

7. Kravchenko I. A., Kobernik A. A., Eberle L. V. Optimization of extraction methods for total polyphenolic compounds obtained from rhizomes of *Zingiber officinale* // Trends in Phytochemical Res. – 2018. – N 2 (1). – P. 37–42. <https://doi.org/10.1001.1.25883623.2018.2.1.5.3>

8. Федорішин О. М., Загородня Д. С., Кравич А. С. та ін. Розроблення технологічної схеми екстракції коренів *Carlina acaulis* // Науковий вісник НЛТУ України. – 2021. – Т. 31, № 1. – С. 93–98. <https://doi.org/10.36930/40310116>

9. Кравич А. С., Петріна Р. О., Суберляк С. А. та ін. Одержання та дослідження екстрактів калусної біомаси *Salendula officinalis* // Хімія, технологія речовин та їх застосування. – 2018. – Т. 1, № 2. – С. 63–68. <https://doi.org/10.23939/ctas2018.02.063>

Надійшла до редакції 3 березня 2023 р.

Прийнято до друку 26 березня 2023 р.

Л. В. Еберле (<https://orcid.org/0000-0002-3466-8653>),  
А. О. Цісак (<https://orcid.org/0000-0003-3766-5156>),  
І. М. Радаєва (<https://orcid.org/0000-0002-3730-2788>),  
А. С. Казанцева (<https://orcid.org/0000-0002-6069-1590>)

*Одеський національний університет імені І. І. Мечникова*

#### АНАЛІЗ ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК В ЕКСТРАКТІ З ПЛЮДІВ ГОРІХА ЧОРНОГО (*JUGLANS NIGRA* L.) МЕТОДОМ ВИСОКОЕФЕКТИВНОЇ РІДИННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ

**Ключові слова:** фенольні сполуки, вискоєфективна рідинна хроматографія, метод Фоліна–Чокальтеу, екстракт, чорний горіх

#### А Н О Т А Ц І Я

Горіх чорний (*Juglans nigra* L.), що належить до родини Горіхових (*Juglandaceae*), є цінної сировиною для виготовлення фітопрепаратів. Екстракт із плодів *Juglans nigra* L. має імуномодельючі та антиоксидантні властивості, що, насамперед, пов'язано з присутністю в рослині фенольних сполук у великій кількості. Але фітохімічний склад *Juglans nigra* L. та його фармакологічні властивості недостатньо вивчено.

Метою нашої роботи було дослідження оптимальних умов екстракції плодів *Juglans nigra* L. із подальшою ідентифікацією його кількісного та якісного складу.

Основним критерієм оцінювання оптимальних умов екстракції був кількісний вміст фенольних сполук, який визначали спектрофотометрично за методом Фоліна–Чокальтеу. Аналіз поліфенольних сполук здійснювали методом вискоєфективної рідинної хроматографії.

На підставі експериментальних досліджень підібрано оптимальні умови екстрагування плодів *Juglans nigra* L. за умов мацерації. За результатами порівняльного аналізу показано, що для максимального вилучення фенольних сполук доцільно використовувати як екстрагент 70%-у одно-етанольну суміш за співвідношення сировини до розчинника 1:9. Методом вискоєфективної рідинної хроматографії показано, що сумарний вміст фенольних сполук у плодах *Juglans nigra* L. становить 2 327,09 мкг/мл. Аналіз екстракту *Juglans nigra* L. за допомогою вискоєфективної рідинної хроматографії свідчить про наявність у зразках рослинного матеріалу таких фенольних сполук як катехіни, катехіноподібні речовини, флавоноли (рутин, кверцетин, мірицетин), флаванони (нарингін, нарингенин) та фенольні кислоти. Слід зазначити, що присутність в екстракті *Juglans nigra* L. таких речовин як хлорогенова кислота, кавава кислота, кемпферол, гесперидин, глікозиди геністеїну та дайдзеїну, глікозиди лютеоліну та апігеніну, лютеолін і апігенін не було виявлено.

Враховуючи, що встановлено високий вміст сполук поліфенольної природи в плодах *Juglans nigra* L., ця лікарська рослинна сировина є перспективною для подальших досліджень, зокрема для розроблення лікарських засобів на основі екстракту з потенційною протизапальною, знеболювальною та антиоксидантною активністю.

Л. V. Eberle (<https://orcid.org/0000-0002-3466-8653>),  
А. О. Tsisak (<https://orcid.org/0000-0003-3766-5156>),  
І. М. Radaieva (<https://orcid.org/0000-0002-3730-2788>),  
А. S. Kazantseva (<https://orcid.org/0000-0002-6069-1590>)

*Odesa I. I. Mechnikov National University*

#### ANALYSIS OF PHENOLIC COMPOUNDS IN BLACK WALNUT (*JUGLANS NIGRA* L.) FRUIT EXTRACT USING HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

**Key words:** phenolic compounds, high performance liquid chromatography, method Folin–Chocalteu, extract, black walnut

#### A B S T R A C T

Black walnut (*Juglans nigra* L.), which belongs to the Nut family (*Juglandaceae*), is a valuable raw material for the production of phytopreparations. The extract from the fruits of *Juglans nigra* L. has immunomodulating and antioxidant properties, which is primarily due to the presence of a large amount of phenolic compounds in the plant. But the phytochemical composition and pharmacological properties of *Juglans nigra* L. have not been sufficiently studied.

The aim of our work was to study the optimal conditions for the extraction of *Juglans nigra* L. fruits, followed by the identification of its quantitative and qualitative composition.

The main criterion for evaluating optimal extraction conditions was the quantitative content of phenolic compounds, which was determined spectrophotometrically by the Folin–Chocalteu method. The analysis of polyphenolic compounds was carried out by the method of high performance liquid chromatography.



On the basis of experimental studies, the optimal conditions for extracting the fruits of *Juglans nigra* L. by maceration method conditions were selected. According to the results of the comparative analysis, it is shown that for the maximum extraction of phenolic compounds, it is advisable to use a 70% water-ethanol mixture as an extractant with a raw material to solvent ratio of 1:9. The method of high-performance liquid chromatography showed that the total content of phenolic compounds in the fruits of *Juglans nigra* L. is 2 327.09 µg/ml. Analysis of the extract of *Juglans nigra* L. by high-performance liquid chromatography method showed the presence of such phenolic compounds in plant material samples as catechins, catechin-like substances, flavonols (rutin, quercetin, myricetin), flavanones (naringin, naringenin) and phenolic acids. It should be noted, that the presence of such substances as chlorogenic acid, caffeic acid, kaempferol, hesperidin, genistein and daidzein glycosides, luteolin and apigenin glycosides, luteolin and apigenin in the extract of *Juglans nigra* L. was not detected.

A high content of compounds of polyphenolic nature in the fruits of *Juglans nigra* L. was established. Therefore, this medicinal plant material is promising for further research, in particular, for the development of medicines based on the extract with potential anti-inflammatory, analgesic and antioxidant activity.

*Електронна адреса для листування з авторами: lidaeberle@gmail.com*  
(Еберле Л. В.)