

Экстракция биологически активных веществ из сырья ореха грецкого: современные подходы

В.В. Верниковский¹, Ж.В. Дайронас¹, И.Н. Зилфикаров², З.Д. Хаджиева¹

¹Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ВолгГМУ,
Российская Федерация, 357532, Пятигорск, проспект Калинина, д. 11;

²Всероссийский институт лекарственных и ароматических растений,
Российская Федерация, 117216, Москва, ул. Грина, д. 7, стр. 1

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Верниковский Владислав Владиславович – кандидат биологических наук, доцент кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии Пятигорского медико-фармацевтического института (ПМФИ). Тел.: +7 (8793) 39-19-37. E-mail: v.v.vernikovsky@mail.ru

Дайронас Жанна Владимировна – доктор фармацевтических наук, преподаватель кафедры фармакогнозии и ботаники ПМФИ. Тел.: +7 (918) 747-93-69. E-mail: daironas@mail.ru

Зилфикаров Ифрат Назимович – доктор фармацевтических наук, главный научный сотрудник отдела фитохимии ВИЛАР. Тел. +7 (903) 004-53-92. E-mail: dagfarm@mail.ru

Хаджиева Зара Джамалеевна – доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии ПМФИ. Тел. +7 (8793) 39-19-37. E-mail: zara-farm@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Биологически активные вещества ореха грецкого (*Juglans regia* L.) обладают антиоксидантной, антигельминтной, антимикробной, противогрибковой, цитотоксической, антидиабетической активностью. Основная группа его химического состава – фенольные соединения, в том числе нафтохиноны (юглон и его производные), флавоноиды (югланин, авикулярин, гиперозид), фенолокислоты (кофейная, галловая, розмариновая, хлорогеновая, феруловая и др.), линейные или макроциклические диарилгептаноиды биарильного типа (югланин В) и диарилэфирного типа (югланин А, роиптелол), дубильные вещества. Для получения суммарных и индивидуальных лекарственных растительных препаратов ореха грецкого с целью изучения химического состава и фармакологической активности используется традиционный подход – экстракция. Наиболее часто в качестве сырья используют зеленые части растения, в первую очередь – листья и плоды. При этом применяют разнообразные приемы экстрагирования (предпочтение отдается различным вариантам мацерации) и разные растворители, преимущественно метиловый и этиловый спирты. Полученные извлечения переводят в форму сухого экстракта с помощью вакуум-роторных испарителей, что обусловлено большей компактностью и удобством хранения данной формы.

Ключевые слова: орех грецкий, *Juglans regia* L., экстракция.

Для цитирования: 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): 5–9. <https://doi.org/10.29296/25419218-2019-01-01>

EXTRACTION OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES FROM RAW WALNUT (*JUGLANS REGIA* L.) MATERIALS: CURRENT APPROACHES

V.V. Vernikovsky¹, Zh.V. Daironas¹, I.N. Zilfikarov², Z.D. Khadzhieva¹

¹Pyatigorsk Medical Pharmaceutical Institute, Branch, Volgograd State Medical University, 11, Kalinin Prospect, Pyatigorsk 357532, Russian Federation

²All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, 7, Grin St., Build. 1, Moscow 117216, Russian Federation

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Vernikovsky Vladislav Vladislavovich, candidate of biological sciences, associate professor of the Department of pharmaceutical technology with the course of medical biotechnology of Pyatigorsk Medical Pharmaceutical Institute (PMPHI) of Volgograd Medical State University of the Ministry of Health Care of Russia. Phone: +7 (8793) 39-19-37. E-mail: v.v.vernikovsky@mail.ru

Daironas Zhanna Vladimirovna, doctor of pharmaceutical sciences, professor of the Department of pharmacognosy and botany of Pyatigorsk Medical Pharmaceutical Institute (PMPHI) of Volgograd Medical State University of the Ministry of Health Care of Russia. Phone: +7 (918) 747-93-69. E-mail: daironas@mail.ru

Zilfikarov Ifrat Nazimovich, doctor of pharmaceutical sciences, chief researcher of the Department of phytochemistry of All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (VILAR), professor of the Russian Academy of Sciences. Phone: +7 (903) 004-53-92. E-mail: dagfarm@mail.ru

Khadzhiyeva Zahra Dzhamaleevna, doctor of pharmaceutical sciences, professor of the Department of pharmaceutical technology with the course of medical biotechnology of Pyatigorsk Medical Pharmaceutical Institute (PMPHI) of Volgograd Medical State University of the Ministry of Health Care of Russia. Phone: +7 (8793) 39-19-37. E-mail: zara-farm@mail.ru

SUMMARY

The biologically active substances of walnut (*Juglans regia* L.) have antioxidant, anthelmintic, antimicrobial, antifungal, cytotoxic, and antidiabetic activities. The main group of its chemical composition are phenolic compounds including naphthoquinones (juglone and its derivatives), flavonoids (juglanin, avicularin, hyperoside), phenolic acids (caffeic, gallic, rosmarinic, chlorogenic, ferulic, etc.), linear or the macrocyclic diarylheptanoids of the biaryllic (juglanin B) and diaryl ester (juglanin A and rhoiptelol) types, and tannins. A traditional approach, such as extraction, is used to prepare common and individual herbal medicines from walnut in order to study its chemical composition and pharmacological activity. The most commonly used raw materials are green parts of the plant, primarily leaves and fruits. In doing so, a variety of extraction methods (preference is given to different techniques of maceration) and different solvents, mainly methyl and ethyl alcohols, are applied. The resultant extracts are converted into a dry extract, by using rotary vacuum evaporators, which is due to the greater compactness and convenient storage of this formulation.

Key words: walnut, *Juglans regia* L., extraction.

For citation: Vernikovskiy V.V., Daironas Zh.V., Zilfikarov I.N., Khadzhiyeva Z.D. Extraction of biologically active substances from raw walnut (*Juglans regia* L.) materials: current approaches. Farmatsiya (Pharmacy), 2019, 68 (1): 5–9. <https://doi.org/10.29296/25419218-2019-01-01>

Орех грецкий (*Juglans regia* L.), семейство Ореховые (*Juglandaceae*) обладает широким спектром фармакологической активности. Многочисленные исследования показали антиоксидантный потенциал сырья ореха грецкого, в том числе плодов и околоплодников, листьев, коры [1–3]. А.А. Kale и соавт. обнаружили антигельминтное действие экстракта коры ореха грецкого [4]. Также была выявлена антимикробная и противогрибковая активность экстрактов, полученных из листьев, коры, околоплодника [1, 5–9]. S. Dolatabadia и соавт. обнаружили, что водный и метанольный экстракты листьев ореха грецкого не только ингибируют рост *Pseudomonas aeruginosa*, но и препятствуют образованию биопленки [5]. Этанольный экстракт незрелых плодов ореха грецкого угнетал адгезию и формирование биопленки *Staphylococcus aureus* [10]. V Raja и соавт. установили, что противогрибковый эффект в отношении штаммов *Candida* реализуется путем повреждения клеточной стенки грибка и ингибирования секреции протеиназы и фосфолипазы [11].

Экстракты коры ореха грецкого оказывают также цитотоксическое действие в отношении линий раковых клеток человека: толстой кишки, предстательной железы, груди, простаты, кожи и легких [12]. Результаты исследований экстрактов, полученных из листьев ореха грецкого, показали антидиабетическую активность [13, 14]. В эксперименте установлено, что экс-

тракт перегоронок плодов ореха грецкого улучшает структуру и функцию почек [15].

Столь разносторонняя активность обусловлена богатым химическим составом сырья ореха грецкого. Преобладающей группой биологически активных веществ (БАВ) в его составе являются фенольные соединения, в том числе нафтохиноны (юглон и его производные), флавоноиды (югланин, авикулярин, гиперозид), фенолокислоты (кофейная, галловая, розмариновая, хлорогеновая, феруловая и др.), линейные или макроциклические диарилгептаноиды биарильного типа (югланин В) и диарилэфирного типа (югланин А, роиптелол), дубильные вещества [16–19].

Для получения суммарных и индивидуальных лекарственных растительных препаратов ореха грецкого с целью изучения химического состава и фармакологической активности традиционно используется экстракция. Наиболее часто в качестве сырья для экстрагирования БАВ применяют зеленые части растения, в первую очередь – листья. При этом возможны разнообразные методы экстрагирования (предпочтение отдается различным вариантам мацерации) и различные растворители (преимущественно метиловый и этиловый спирты). Так, S. Dolatabadi и соавт. [5] листья ореха грецкого предварительно высушивали при комнатной температуре, а затем измельчали. При получении водного извлечения порошок листьев помещали в аппарат Сокслета и экстрагировали

водой в соотношении 1:10. Полученное извлечение фильтровали через бумажный фильтр и упаривали на вакуумном роторном испарителе при температуре 40°C. При получении метанольного извлечения порошок листьев заливали метиловым спиртом (1:5) и настаивали при комнатной температуре. Метанольное извлечение также упаривали на роторном испарителе под вакуумом при температуре 45°C.

М. Jabli и соавт. для экстрагирования побегов и листьев грецкого ореха также использовали воду и метиловый спирт. Высушенное сырье заливали экстрагентом и настаивали 72 ч при комнатной температуре. Полученные извлечения фильтровали и упаривали с помощью роторного испарителя под вакуумом. Под воздействием метилового спирта выход экстракта составил 21,45% для побегов и 19,37% – для листьев, то же с водой – 12,75 и 15,22% соответственно для побегов и листьев [20].

Работа V. Vieira и соавт. [21] посвящена оптимизации параметров экстрагирования из листьев грецкого ореха фенольных соединений этиловым спиртом методами мацерации и экстрагирования с помощью микроволнового излучения. Установлено, что при использовании мацерации при перемешивании (600 об/мин) оптимальными параметрами являлись: экспозиция – 112,5 мин, температура – 61,3°C при концентрации спирта 50,4%. При использовании микроволнового излучения оптимальная концентрация этилового спирта составила 67,9%, время экстрагирования – 3 мин при температуре 107,5°C.

В другой работе V. Vieira и соавт. [22] содержится описание извлечения фенольных соединений из листьев экстракцией, так называемыми «глубокими эвтектическими растворителями» на основе хлорида холина и карбоновых кислот при нагревании до 50°C и перемешивании со скоростью 600 об/мин. Максимальный выход фенольных соединений в этом случае был получен путем использования смесей хлорида холина с масляной или фенилпропионовой кислотой в молярном соотношении 1:2 с 20% (масс.) воды при соотношении от 5 до 120 г сырья на 1 л экстрагента.

Исследователи большое внимание, кроме листьев, уделяют другому сезонно возобновляемому сырью ореха грецкого – плодам, причем изучаются плоды и их части различной степени зрелости. С.Л. Quave и соавт. для получения экстрактов незрелых плодов высушенное сырье из-

мельчали с помощью гомогенизатора в мелкий порошок, а затем настаивали на 95% этиловом спирте в соотношении 1:10 в течение 72 ч при ежедневном перемешивании. Водное извлечение получали кипячением растительного порошка в соотношении 1:50 в течение 30 мин. Полученные вытяжки фильтровали под вакуумом и упаривали с помощью роторного испарителя, после чего замораживали и лиофильно высушивали [10].

Для получения фенольных соединений с высокой антиоксидантной активностью из перегородок плодов ореха грецкого применяли методы экстрагирования горячей водой под давлением (ЭГВД) и экстрагирования жидкостью под давлением (ЭЖД); экстрагентом служил метиловый спирт [23]. В качестве исходного сырья использовали перегородки грецких орехов, высушенные при температуре 40°C до остаточной влажности около 10,2% и измельченные до частиц размером 0,60–0,85 мм. Оптимальными условиями при использовании ЭГВД (выход экстракта – 8,42%, содержание суммы фенольных соединений – 881 мг/г) была температура 105°C, давление – 19 бар, время статического и динамического периодов экстрагирования – 18,06 и 28,34 мин соответственно. При использовании ЭЖД максимальная эффективность (выход – 7,93%, содержание суммы фенольных соединений – 816,7 мг/г) достигалась при температуре 78°C, давлении – 19 бар, продолжительности статического – 18,06 мин и динамического периода – 28,34 мин. В другой работе экстракт перегородок плодов ореха грецкого получали трехкратной мацерацией метанолом в течение 7 дней [15].

A. Fernández-Agulló и соавт. [24] рассматривали влияние используемого экстрагента на выход фенольных соединений при экстрагировании зеленых околоплодников ореха грецкого. Сравнивались следующие экстрагенты: вода, метиловый и этиловый спирты, а также 50% водные растворы этих спиртов. При водной экстракции измельченное сырье экстрагировали кипящей водой в соотношении 1:50 в течение 45 мин и фильтровали через бумажный фильтр. Сырье настаивалось в соотношении 1,5:25 при комнатной температуре 45 мин, а затем вытяжки фильтровали через бумажный фильтр. Удаление растворителей осуществляли на роторном испарителе. Максимальный выход экстракта был зафиксирован при использовании в качестве экстрагента воды (44,11%), а минимальный – при использовании абсолютного этилово-

го спирта (3,90%). Однако, согласно результатам анализа, максимальное содержание фенольных соединений обнаруживается в экстрактах, полученных при использовании 50% этилового спирта (84,46%), экстракты на 50% метиловом спирте по содержанию фенольных соединений очень близки (81,50 %), а минимальное содержание фенольных соединений установлено в водных экстрактах (40,39 %).

Для экстракции фенольных соединений из скорлупы ореха грецкого традиционные методы экстракции в системе «твердое тело – жидкость» включали в себя мацерацию водой очищенной в соотношении 1:25 или 1:50 при температуре 30°C в течение 2 ч с перемешиванием на магнитной мешалке при скорости 180 об/мин. Опробовали и другой вариант настаивания, который осуществляли аналогично, однако температура была повышена до 60°C. Полученные извлечения очищали центрифугированием со скоростью 10000 об/мин в течение 10 мин при температуре 4°C. Для проведения экстракции применяли также и интенсивные методы. Например, ультразвуковое экстрагирование проводилось водой очищенной (1:25 или 1:50) при температуре 25°C на ультразвуковой водяной бане (частота излучения – 40 кГц, экспозиция – 60 мин). Экстрагирование с помощью микроволнового излучения осуществляли с помощью установки «MARS 6-Microwave Digestion System» (CEM Corporation, Великобритания) водой очищенной в стандартных соотношениях (1:25 или 1:50) при температуре 70°C, мощности излучения – 550 Вт и экспозиции – 90 с. Очистка извлечений, полученных последними 2 методами, выполнялась так же, как и при настаивании. В результате установлено, что максимальное извлечение фенольных соединений достигалось при экстрагировании с помощью микроволнового излучения и оптимальном соотношении сырья – экстрагент 1:50 [25].

С целью изучения химического состава коры ореха грецкого V. Raja и соавт. измельчали сырье до крупного порошка, который затем экстрагировали в аппарате Сокслета метиловым спиртом в соотношении 1:20 в течение 2 дней. Полученное извлечение после фильтрования выпаривали досуха. Сухой экстракт хранили в завинчивающихся бутылках в холодильнике. В полученном экстракте с помощью качественных реакций были обнаружены фенольные соединения, алкалоиды, стероиды, сапонины и танины. С помощью ГХ-МС было идентифици-

ровано 40 соединений, из них основные: ре-гиолон (содержание в исследуемом экстракте – 28,06%), пентадекановая кислота (12,44%), 3-метил-2-гептанон (9,57%), процерозид (9,17%) и глицерин (6,92 %) [11].

Для получения экстракта из коры ореха грецкого была использована мацерация измельченного сырья 70 % этиловым спиртом (1:5) на магнитной мешалке в течение 30 мин с дальнейшим фильтрованием, выпариванием растворителя под вакуумом и лиофильной сушкой [26]. Еще более простой способ получения экстракта коры применили J. Iqbal и соавт. – настаивание при комнатной температуре в соотношении 1:10 [8]. Аналогично был получен этилацетатный экстракт коры ореха грецкого – после измельчения сырья настаивали с экстрагентом в соотношении 1:10 в течение 12 ч [7]. Возможно использование и других экстрагентов, например, гексана, хлороформа, этилацетата или метилового спирта при применении последовательного трехкратного настаивания при комнатной температуре в течение 24 ч [12]. Для получения экстрактов коры F. Zakavi и соавт. использовали циркуляционную экстракцию водой или этиловым спиртом в аппарате Сокслета при соотношении порошок коры – экстрагент 1:5 с последующим концентрированием под вакуумом при температуре 40°C [9].

Заключение

Таким образом, исследования по экстрагированию БАВ из ореха грецкого сосредоточены преимущественно на легко возобновляемом сырье – листьях и плодах, которые рассматриваются как источник различных фенольных соединений. Широко используется метод циркуляционной экстракции в аппарате Сокслета, причем в отличие от отечественной фармацевтической традиции применяют не специфические органические растворители (эфир, гексан, хлороформ и др.), а метиловый спирт и даже воду. Другой характерный способ – перевод полученных извлечений в форму сухого экстракта с помощью вакуумроторных испарителей, что обусловлено, по-видимому, большей компактностью и удобством хранения данной формы.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Литература / References

1. Oliveira I., Sousa A., Ferreira I.C. et al. Total phenols, antioxidant potential and antimicrobial activity of walnut (*Juglans regia* L.) green husks. *Food Chem. Toxicol.*, 2008; 46: 2326–31.
2. Pereira J.A., Oliveira I., Sousa A. et al. Walnut (*Juglans regia* L.) leaves: phenolic compounds, antibacterial activity and antioxidant potential of different cultivars. *Food Chem. Toxicol.*, 2007; 45: 2287–95.
3. Noumi E., Snoussi M., Trabelsi N. et al. Antibacterial, anticandidal and antioxidant activities of *Salvadora persica* and *Juglans regia* L. extracts. *J. Med. Plants Res.*, 2011; 5: 4138–46.
4. Kale A.A., Sucheta A.G., Gayatri S.K. et al. *In vitro* anthelmintic activity of stem bark of *Juglans regia* L. *J. Chem. Pharm. Res.*, 2011; 3: 298–302.
5. Dolatabadia S., Moghadama H.N., Mahdavi-Ourtakandb M. Evaluating the anti-biofilm and antibacterial effects of *Juglans regia* L. extracts against clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbial Pathogenesis*, 2018; 118: 285–9.
6. Noumi E., Mejdji S., Ines N. et al. Comparative study on the antifungal and antioxidant properties of natural and colored *Juglans regia* L. barks: a high activity against vaginal *Candida* strains. *Life Sci. J.*, 2014; 11: 327–35.
7. Noumi E., Snoussi M., Hajlaoui H. et al. Antifungal properties of *Salvadora persica* and *Juglans regia* L. extracts against oral *Candida* strains. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 2010; 29: 81–8.
8. Iqbal J., Siddiqui R., Kazmi S.U., Khan N.A. A simple assay to screen antimicrobial compounds potentiating the activity of current antibiotics. *Biomed. Res. Int.*, 2013; 2013: 9273–823. Doi: 10.1155/2013/927323. Epub 2013 Jun 20.
9. Zakavi F., Golpasand Hagh L., Daraeighadikolaei A. et al. Antibacterial effect of *Juglans regia* bark against oral pathologic bacteria. *International Journal of Dentistry*, 2013; 2013: 8547–655.
10. Quave C.L., Plano L.R., Pantuso T., Bennett B.C. Effects of extracts from Italian medicinal plants on planktonic growth, biofilm formation and adherence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Ethnopharmacol.*, 2008; 118: 418–28.
11. Raja V. et al. Anticandidal activity of ethanolic root extract of *Juglans regia* L.: Effect on growth, cell morphology, and key virulence factors. *Journal de Mycologie Médicale*, 2017; 27 (4): 476–86.
12. Zhang X.-B., Zou C.-L., Duan Y.-X. et al. Activity guided isolation and modification of juglone from *Juglans regia* as potent cytotoxic agent against lung cancer cell lines. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2015; 15: 396. DOI 10.1186/s12906-015-0920-0
13. Джафарова Р.Э., Гараев Г.Ш., Джафаркулиева З.С. Возможности использования лекарственных растений для профилактики развития сахарного диабета и его поздних осложнений. *Медицинские новости Грузии*, 2009; 5 (170): 110–4. [Dzhafarova R.E., Garaev G.Sh., Dzhafarkulieva Z.S. Possibilities of using medicinal plants for preventing the development of diabetes mellitus and its late complications. *Meditinskije novosti Gruzii*, 2009; 5 (170): 110–4 (in Russian)].
14. Jelodar G., Mohsen M., Shahram S. Effect of walnut leaf, corian-der and pomegranate on blood glucose and histopathology of pancreas of alloxan induced diabetic rats. *Afr. J. Trad. CAM*, 2007; 43: 299–305.
15. Ravanbakhsh A., Mahdavi M., Jalilzade-Amin G. et al. Acute and Subchronic Toxicity Study of the Median Septum of *Juglans regia* in Wistar Rats. *Adv. Pharm. Bull.*, 2016; 6 (4): 541–9. DOI: 10.15171/apb.2016.068.
16. Alberti Á. et al., Characterization of diarylheptanoids: An emerging class of bioactive natural products. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2018; 147: 13–34.
17. Дайронас Ж.В., Зилфикаров И.Н. Изучение фенольных соединений листьев ореха грецкого и ореха чёрного методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*, 2013; 11 (3): 57–60. [Daironas Zh.V., Zilfikarov I.N. Study of phenolic compounds of walnut and black walnut leaves by high-performance liquid chromatography. *Voprosi biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsivticheskoy khimii*, 2013; 11 (3): 57–60 (in Russian)].
18. Fukuda T., Ito H., Hatano T., Yoshida T. Walnut polyphenols: their structures and functions. *J. Pharm. Soc. Jpn.*, 2006; 126: 32–5.
19. Liu J., Meng M., Li C. et al. Simultaneous determination of three diarylheptanoids and an α -tetralone derivative in the green walnut husks (*Juglans regia* L.) by high-performance liquid chromatography with photodiode array detector. *J. Chromatogr.*, 2008; A 1190: 80–5.
20. Jabli M., Sebeia N., Boulares M., Faidi K. Chemical analysis of the characteristics of Tunisian *Juglans regia* L. fractions: Antibacterial potential, gas chromatography–mass spectroscopy and a full investigation of their dyeing properties. *Industrial Crops and Products*, 2017; 108: 690–9.
21. 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. *Industrial Crops and Products*, 2017; 107: 341–52.
22. Vieira V., Prieto M.A., Barros L. et al. Enhanced extraction of phenolic compounds using choline chloride based deep eutectic solvents from *Juglans regia* L. *Industrial Crops and Products*, 2018; 115: 261–71.
23. Kamali H., Ahmadzadeh Sani T., Mohammadi A. et al. A comparison between pressurized hot water and pressurized liquid extraction for optimizing phenolic and antioxidants capacity of the wooden layer between of walnut seed. *The Journal of Supercritical Fluids*, 2018; 133 (1): 535–41.
24. Fernández-Agulló A., Pereira E., Freire M.S. et al. Influence of solvent on the antioxidant and antimicrobial properties of walnut (*Juglans regia* L.) green husk extracts. *Industrial Crops and Products*, 2013; 42: 126–32.
25. Castro-López C., Ventura-Sobrevilla J.M., González-Hernández M.D. et al. Impact of extraction techniques on antioxidant capacities and phytochemical composition of polyphenol-rich extracts. *Food Chemistry*, 2017; 237: 1139–48.
26. Serakta M., Djerrou Z., Mansour-Djaalab H. et al. Antileishmanial activity of some plants growing in Algeria: *Juglans regia*, *Lawsonia inermis* and *Salvia officinalis*. *Tradit. Complement. Altern. Med.*, 2013; 10 (3): 427–30. <http://dx.doi.org/10.4314/ajtcam.v10i3.7>.

Поступила 14 мая 2018 г.