

УДК 615.322: 547.972 + 543.544

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СУММЫ ФЛАВОНОИДОВ В ЛИСТЬЯХ МИРТА ОБЫКНОВЕННОГО

© В.А. Куркин^{1*}, А.И. Хусаинова¹, А.В. Куркина¹, Н.Н. Бакова², Е.Ю. Бакова²

¹ Самарский государственный медицинский университет,
ул. Чапаевская, 89, Самара, 443099 (Россия), e-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru
² Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад –
Национальный научный центр РАН, пгт Никита, Ялта, 298648 (Россия)

Мирт обыкновенный (*Myrtus communis* L.) – вечнозеленое растение, небольшое деревце или кустарник, эндемичное для Средиземноморского региона. В районе произрастания с древних времен различные части (плоды и листья) мирта обыкновенного используются в народной медицине. Лечебные свойства различных органов мирта обыкновенного могут быть обусловлены разными биологически активными соединениями, такими как терпеноиды (α -пинен, 1,8-цинеол, геранилацетат, линалоол, лимонен, *транс*-миртенилацетат), полифенольные соединения, флавоноиды (кверцетин, мирицетин), миртокоммулоны и др. В настоящее время мирт обыкновенный успешно культивируется в прибрежной зоне Южного берега Крыма. Были исследованы образцы листьев мирта обыкновенного, заготовленные в Никитском ботаническом саду – Национальном научном центре РАН. Определены оптимальные условия экстракции флавоноидов листьев мирта обыкновенного. Установлено, что оптимальным экстрагентом для данного сырья является 80% этиловый спирт, время экстракции – 90 мин, соотношение «сырье-экстрагент» – 1 : 50. Разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного методом дифференциальной спектрофотометрии в пересчете на рутин, при аналитической длине волны 414 нм. С использованием разработанной методики был проанализирован ряд образцов листьев мирта обыкновенного. При этом было установлено, что содержание суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного варьирует от 2.48±0.08% до 3.64±0.12%.

Ключевые слова: мирт обыкновенный, *Myrtus communis* L., флавоноиды, рутин, спектрофотометрия, стандартизация.

Введение

Мирт обыкновенный (*Myrtus communis* L.) – вечнозеленый кустарник или деревце до 4 м высотой. Произрастает в субтропической зоне Европы и Азии: Средиземноморском бассейне Макаронезии, Иране и Афганистане [1–4]. Предпочитает хорошо увлажненные почвы, особенно на высотах, не превышающих около 500 м над уровнем моря [2]. Широко культивируется как декоративное и лекарственное растение в местах естественного произрастания [1, 2].

Различные части (ягоды, ветви и листья) мирта обыкновенного используются в народной медицине

Куркин Владимир Александрович – заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, e-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru

Хусаинова Алия Ильясовна – старший преподаватель кафедры управления и экономики фармации, e-mail: alia.hi@mail.ru

Куркина Анна Владимировна – доцент кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, e-mail: kurkina-av@yandex.ru

Бакова Надежда Николаевна – ведущий научный сотрудник сектора стандартизации, e-mail: tkdizain@yandex.ru

Бакова Екатерина Юрьевна – младший научный сотрудник лаборатории фитореабилитации человека, e-mail: e_bakova@bk.ru

данных регионов для лечения диареи, пептических язв, геморроя, маточных кровотечений, головной боли, уретрита, конъюнктивита, легочных и кожных заболеваний [1, 2, 5]. Листья мирта используются для заживления ран или при расстройствах пищеварительной и мочевыделительной систем благодаря их вяжущим, тонизирующим и антисептическим свойствам. Из листьев получают эфирное масло, которое используется как антисептическое средство для лечения заболеваний грудной клетки, язв и геморроя [2].

* Автор, с которым следует вести переписку.

Лечебные свойства разных органов мирта обыкновенного могут быть обусловлены различными биологически активными соединениями (БАС), такими как терпеноиды, в частности, α -пинен, 1,8-цинеол [1, 2, 5–8], геранилацетат и линалоол [1, 2, 5, 8], лимонен, *транс*-миртенол ацетат [1, 5, 8], полифенольные соединения [1, 4, 5, 9], флавоноиды (кверцетин, мирицетин) [1, 2, 9], миртокоммулоны [10–15].

В настоящее время март обыкновенный изучается как перспективное лекарственное растение в прибрежной зоне Южного берега Крыма [6, 9]. Мерт обыкновенный применяется как гомеопатическое средство [16], также в России экстракт из листьев мирта используется в качестве биологически активной добавки для профилактики и лечения гриппа, при инфекционно-воспалительных заболеваниях органов дыхательной системы, желудочно-кишечного тракта, органов мочеполовой системы в качестве противовирусного и антибактериального средства. Однако несмотря на широкое применение мирта обыкновенного в гомеопатии и народной медицине, в качестве лекарственного растительного сырья (ЛРС) на территории Российской Федерации листья мирта обыкновенного не зарегистрированы [17, 18]. Изучение состава БАС мирта обыкновенного позволит судить о перспективе использования его в качестве ЛРС.

В то же время следует отметить, что флавоноиды – наиболее многочисленный класс природных фенольных соединений, для которых характерно структурное многообразие, высокая и разносторонняя активность и малая токсичность. Широкая амплитуда биологической активности флавоноидов связана с многообразием их химических структур и вытекающих из них различных физико-химических свойств. Этот интерес связан с тем обстоятельством, что флавоноиды, будучи эволюционно адекватными организму человека, обуславливают антиоксидантные, ангиопротекторные, гепатопротекторные, желчегонные, диуретические, нейротропные и другие важнейшие фармакологические свойства [19–27]. Причем именно вышеперечисленные фармакологические эффекты в наибольшей степени привлекают ученых в области создания новых лекарственных растительных препаратов [21–25].

Вместе с тем созданию лекарственных препаратов на основе флавоноидных растений препятствует недостаточная степень изученности их химического состава, зависимостей в ряду «химическая структура – спектральные характеристики» и «компонентный состав – фармакологические свойства». Это приводит к отсутствию системного подхода в трактовке совокупной значимости действующих веществ в плане проявления фармакологических эффектов, а также научно обоснованных технологий получения и анализа лекарственных средств. Кроме того, в настоящее время остро стоит проблема объективной стандартизации сырья лекарственных растений и фитопрепаратов, содержащих флавоноиды, поскольку во многих случаях в методиках анализа отсутствует доказательная база или же не используются современные инструментальные возможности [19–26].

Целью данного исследования является разработка методики количественного определения содержания флавоноидов в листьях мирта обыкновенного.

Экспериментальная часть

Объектом исследования служили листья мирта обыкновенного, заготовленные в Никитском ботаническом саду – Национальном научном центре РАН. Собранное сырье было высушено на воздухе без доступа прямых солнечных лучей. При разработке методики количественного определения суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного применяли метод дифференциальной спектрофотометрии, позволяющий исключить вклад в значение оптической плотности других групп соединений. Регистрацию спектров водно-спиртовых извлечений из листьев мирта обыкновенного и раствора рутина проводилась на спектрофотометре «Specord 40» (Analytik Jena). В ходе разработки методики исследовали влияние различных параметров экстракции на выход действующих веществ из сырья данного растения.

Обсуждение результатов

Исследование водно-спиртовых извлечений из листьев мирта обыкновенного методом УФ-спектроскопии показало, что кривые поглощения данных извлечений коррелируют с кривыми поглощения раствора рутина, особенно в длинноволновой области спектра (рис. 1 и 2). Подобная корреляция наблюдается и в условиях дифференциальной спектрофотометрии: максимумы поглощения раствора рутина находится при длине волны 414 нм, а раствора извлечения листьев мирта обыкновенного – при длине волны 418 нм (рис. 3 и 4). Следовательно, в качестве аналитической длины можно использовать значение 414 нм, а в качестве ГСО – рутин.

Изучение влияния условий экстракции на полноту извлечения анализируемых БАС позволило выявить по следующим параметрам: концентрация экстрагента, время экстракции, соотношение «сырье-экстрагент» и степень измельченности сырья. Результаты влияния концентрации растворителя показали, что оптимальным экстрагентом является 80% этиловый спирт (табл. 1). Изучение влияния продолжительности экстракции на процесс извлечения флавоноидов выявило, что динамическое равновесие достигается в условиях экстрагирования на кипящей водяной бане в течение 90 мин в условиях однократной экстракции (табл. 2). В условиях двукратной и трехкратной экстракции сырья нами получены сопоставимые результаты анализа. Определено, что оптимальное соотношение «сырье-экстрагент» находится в диапазоне 1 : 50 – 1 : 100 (табл. 3). Таким образом, установлено, что оптимальными параметрами экстракции являются: извлечение 80% этиловым спиртом на кипящей водяной бане в течение 90 мин в соотношении «сырье-экстрагент» – 1 : 50. Изучение влияния степени измельченности сырья показало, что оптимальным является размер частиц 1 мм (табл. 4). Следует отметить, что исследование на измельченность проводилось 80% этиловым спиртом в соотношении «сырье-экстрагент» – 1 : 50 в течение 90 мин.

Метрологические характеристики методики отражены в таблице 5. Из нее следует, что ошибка единичного определения составляет $\pm 4.28\%$.

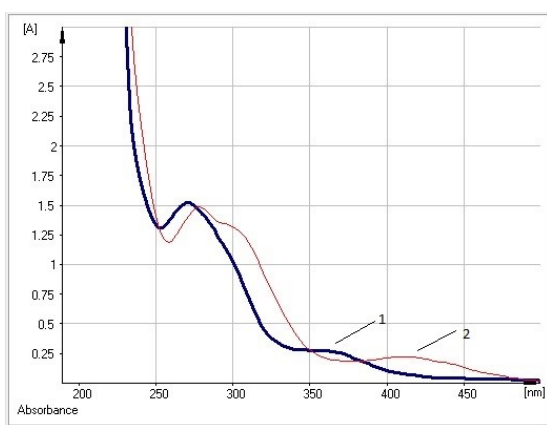


Рис. 1. УФ-спектры раствора водно-спиртового извлечения из листьев мирта обыкновенного 1 – исходный раствор; 2 – в присутствии $AlCl_3$

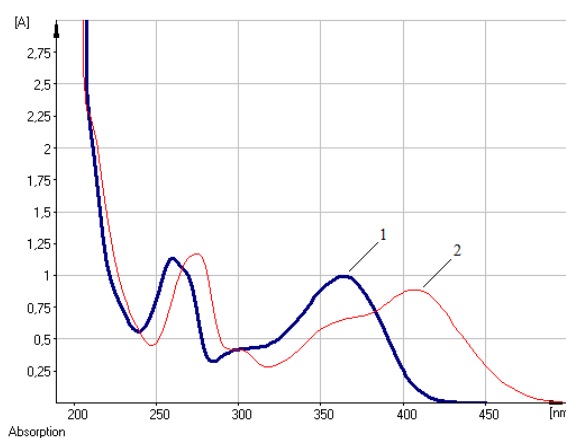


Рис. 2. УФ-спектры раствора рутина 1 – исходный раствор; 2 – в присутствии $AlCl_3$

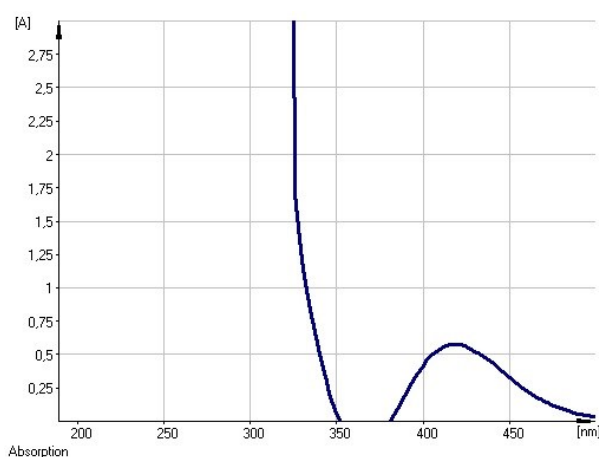


Рис. 3. УФ-спектр раствора водно-спиртового извлечения из листьев мирта обыкновенного (дифференциальный вариант)

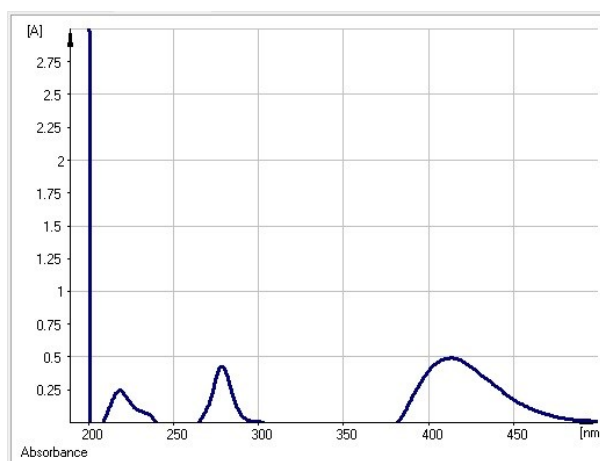


Рис. 4. УФ-спектр растворов рутина (дифференциальный вариант)

Таблица 1. Зависимость выхода флавоноидов из листьев мирта обыкновенного от концентрации экстрагента

Экстрагент (этанол), %	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на а.с.с. и рутин, %
40	2.71±0.11
50	2.71±0.10
60	2.73±0.10
70	2.83±0.12
80	3.34±0.10
90	2.93±0.09
96	1.96±0.10

Таблица 2. Зависимость выхода флавоноидов листьев мирта обыкновенного от времени экстракции на кипящей водяной бане

Время экстракции на кипящей водяной бане, мин	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на а.с.с. и рутин, %
30	2.48±0.10
45	3.11±0.12
60	3.23±0.10
90	3.40±0.13
120	3.23±0.10

Таблица 3. Зависимость выхода флавоноидов из листьев мирта обыкновенного от соотношения «сырье-экстрагент»

Соотношение «сырье – экстрагент»	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на а.с.с. и рутин, %
1 : 30	2.91±0.12
1 : 50	3.64±0.10
1 : 100	3.46±0.11

Таблица 4. Зависимость выхода флавоноидов из листьев мирта обыкновенного от степени измельченности сырья

Размер частиц, соотношение «сырье – 80% этанол» – 1 : 50, мм	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на а.с.с. и рутин, %
1	3.54±0.12
2	2.94±0.12
3	3.03±0.08

Таблица 5. Метрологические характеристики методики количественного определения суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного

f	\bar{x}	S ²	S	P (%)	T (P, f)	Δx	ε
10	3.59	0.0046	0.0677	95	2.26	±0.15	±4.28%

Валидационная оценка разработанной методики проводилась по показателям: специфичность, линейность, правильность и воспроизводимость. Специфичность методики определялась по соответствию максимумов поглощения комплекса флавоноидов мирта обыкновенного и рутина с алюминием хлоридом. Линейность методики определяли для серии растворов рутина (с концентрациями в диапазоне от 0.00880 до 0.03520 мг/мл). Коэффициент корреляции составил 0.98953.

Правильность методики определяли методом добавок путем добавления раствора рутина с известной концентрацией (25, 50 и 75%) к испытуемому раствору. При этом средний процент восстановления составил 98.57%. Следовательно, предложенная методика количественного определения флавоноидов в листьях мирта обыкновенного отвечает параметрам валидации и может быть использована для оценки доброкачественности нового вида лекарственного растительного сырья «Мирта обыкновенного листа».

Методика анализа суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц 1 мм. Около 1 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл 80% этилового спирта. Колбу закрывают пробкой и взвешивают на тарирных весах с точностью до ±0.01. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 90 мин. Затем колбу охлаждают в течение 30 мин при комнатной температуре, закрывают той же пробкой снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через рыхлый комочек ваты или фильтр с красной полосой (извлечение из листьев). Испытуемый раствор для анализа флавоноидов готовят следующим образом: 1 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 1 мл 3% спиртового раствора алюминия хлорида, и доводят объем раствора до метки 96% этиловым спиртом (испытуемый раствор А). Раствор сравнения готовят следующим образом: 1 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу на 25 мл и доводят объем раствора до метки 96% этиловым спиртом (раствор сравнения А).

Параллельно готовят раствор рутина – стандартного образца.

Приготовление раствора рутина – стандартного образца. Около 0.025 г (точная навеска) рутина, отвечающего требованиям ФС 42-42-2508-87, помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 30 мл 70% этилового спирта при нагревании на водяной бане. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем раствора 70% этиловым спиртом до метки (раствор А рутина). 1 мл раствора А рутина помещают в мерную колбу на 25 мл, прибавляют 2 мл 3% спиртового раствора алюминия хлорида и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 96% (испытуемый раствор Б рутина). Измеряют оптическую плотность раствора Б на спектрофотометре при длине волны 414 нм. В качестве раствора сравнения используют раствор, который готовят следующим образом: 1 мл раствора А рутина помещают в мерную колбу на 25 мл и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 96% (раствор сравнения Б рутина). Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле

$$x = \frac{D \cdot m_0 \cdot 50 \cdot 25 \cdot 1 \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot m \cdot 50 \cdot 25 \cdot (100 - W)},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора; D_0 – оптическая плотность раствора стандартного образца рутина; m – масса сырья, г; m_0 – масса стандартного образца рутина, г; W – потеря в массе при высушивании в процентах.

В случае отсутствия стандартного образца рутина содержание суммы флавоноидов (X в процентах) в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье для расчета целесообразно использовать теоретическое значение его удельного показателя поглощения, равное 240 [28]. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле

$$x = \frac{D \cdot 50 \cdot 25 \cdot 100}{D_0 \cdot m \cdot 50 \cdot 25 \cdot (100 - W)},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора; 240 – удельный показатель поглощения рутина; m – масса сырья, в граммах; W – потеря в массе при высушивании, в процентах.

С использованием разработанной методики был проанализирован ряд образцов листьев мирта обыкновенного. При этом было установлено, что содержание суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного варьирует от 2.48±0.12% до 3.64±0.15%.

Выводы

1. Разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного в пересчете на рутин, с использованием дифференциальной спектрофотометрии при аналитической длине волны 414 нм.
2. Установлено, что содержание суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного варьирует от 2.48±0.12 до 3.64±0.15%.
3. Листья мирта обыкновенного являются, на наш взгляд, перспективным лекарственным растительным сырьем.

Список литературы

1. Aleksic V., Knezevic P. Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis* L. // Microbiological Research. 2014. Vol. 169. N4. Pp. 240–254.
2. Henna A., Miguel M.G., Nemmiche S. Antioxidant Activity of *Myrtus communis* L. and *Myrtus nivellei* Batt.&Trab. Extracts: A Brief Review // Medicines. 2018. Vol. 5. N3. P. 89.
3. Migliore J., Baumel A., Juin M., Médail F. From Mediterranean shores to central Saharan mountains: Key phylogeographical insights from the genus *Myrtus* // Journal of Biogeography. 2012. N39. Pp. 942–956.
4. Yoshimura M., Amakura Y., Tokuhara M., Yoshida T. Polyphenolic compounds isolated from the leaves of *Myrtus communis* // Journal of Natural Medicines. 2008. Vol. 62. N3. Pp. 366–368.
5. Alipour G., Dashti S., Hosseinzadeh H. Review of Pharmacological Effects of *Myrtus communis* L. and its Active Constituents // Phototherapy Research. 2014. Vol. 28. N8. Pp. 1125–1136.

6. Бакова Е.Ю., Палий А.Е., Бакова Н.Н., Федотова И.А. Особенности компонентного состава эфирного масла *Myrtus communis* L. выращиваемого в условиях Южного берега Крыма // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2018. Т. 21 (11). С. 30–35.
7. Chalchat J.-C., Garry R.-P., Michet A. Essential Oils of Myrtle (*Myrtus communis* L.) of the Mediterranean Littoral // Journal of Essential Oil Research. 1998. Vol. 10. Pp. 613–617.
8. Flamin G., Cioni P.L., Morelli I., Maccioni S., Baldini R. Phytochemical typologies in some populations of *Myrtus communis* L. on Caprione Promontory (East Liguria, Italy) // Food Chemistry. 2004. Vol. 85. N4. Pp. 599–604.
9. Бакова Н.Н., Бакова Е.Ю., Палий А.Е., Коновалов Д.А. Биологически активные соединения *Myrtus communis* L. // Биотехнология как инструмент сохранения биоразнообразия растительного мира (физиолого-биохимические, эмбриологические, генетические и правовые аспекты). Материалы VIII Международной научно-практической конференции. 2018. С. 121–122.
10. Feißt C., Franke L., Appendino G., Werz O. Identification of Molecular Targets of the Oligomeric onprenylated Acylphloroglucinols from *Myrtus communis* and Their Implication as Anti-Inflammatory Compounds // The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 2005. Vol. 315. N1. Pp. 389–396.
11. Gerbeth K., Hüsch J., Meins J., Rossi A., Sautebin L., Wiechmann K., Werz O., Skarke C., Barrett J.S., Schubert-Zsilavecz M., Abdel-Tawab M. Myrtucommulone from *Myrtus communis*: Metabolism, Permeability, and Systemic Exposure in Rats // Planta Med. 2012. N78. Pp. 1932–1938.
12. Gerbeth K., Meins J., Werz O., Schubert-Zsilavecz M., Abdel-Tawab M. Determination of Myrtucommulone from *Myrtus communis* in Human and Rat Plasma by Liquid chromatography/Tandem Mass Spectrometry // Planta Med. 2011. N77. Pp. 450–454.
13. Hans M., Charpentier M., Huch V., Jauch J., Bruhn T., Bringmann G., Quandt D. Stereoisomeric Composition of Natural Myrtucommulone A // Journal Natural Products. 2015. N78. Pp. 2381–2389.
14. Koeberle A., Pollastro F., Northoff H., Werz O. Myrtucommulone, a natural acylphloroglucinol, inhibits microsomal prostaglandin E₂ synthase-1 // British Journal of Pharmacology. 2009. N156. Pp. 952–961.
15. Nicoletti R., Ferranti P., Caira S., Misso G., Castellano M., Di Lorenzo G., Caraglia M. Myrtucommulone production by a strain of *Neofusicoccum australe* endophytic in myrtle (*Myrtus communis*) // World Journal Microbiol Biotechnol. 2014. N30. Pp. 1047–1052.
16. Pharmacopée Française XI édition. Pp. 2012–2015.
17. Государственный реестр лекарственных средств [Электронный ресурс]. URL: <https://grls.gosminzdrav.ru/Default.aspx> (Дата обращения 02.09.2019).
18. Государственная фармакопея Российской Федерации. 14 изд. М.: Министерство здравоохранения РФ, 2018. URL: <http://femb.ru/femb/pharmacopoea.php>
19. Куркин В.А. Основы фитотерапии: учебное пособие. Самара, 2009. 963 с.
20. Куркин В.А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов (факультетов). Самара, 2019. 1278 с.
21. Куркин В.А., Куркина А.В., Авдеева Е.В. Флавоноиды как биологически активные соединения лекарственных растений // Фундаментальные исследования. 2013. №11-9. С. 1897–1901.
22. Куркина А.В. Подходы к стандартизации сырья, содержащего флавоноиды // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2013. №5. С. 38.
23. Куркина А.В. Флавоноиды как критерий качества лекарственного сырья и препаратов фармакопейных растений // Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты: материалы докладов VIII Международного симпозиума. Москва, 2012. С. 571–577.
24. Куркина А.В. Флавоноиды фармакопейных растений: монография. Самара, 2012. 290 с.
25. Куркина А.В. Экспериментально-теоретическое обоснование подходов к стандартизации сырья и препаратов фармакопейных растений, содержащих флавоноиды: автореф. дис. ... д. фарм. наук. Самара, 2012. 49 с.
26. Kurkin V.A., Avdeeva E.V., Kurkina A.V. et al. The flavonoids as the criteria of the identity and quality of the medicinal plants and phytopharmaceuticals // Drug Discovery and Therapy World Congress. Boston; USA, 2013. P. 170.
27. Куркин В.А., Зайцева Е.Н., Правдивцева О.Е., Куркина А.В., Стеняева В.В. Изучение фармакологической активности препаратов плодов боярышника мягковатого // Наука и инновации в медицине. 2019. Т. 4. №3. С. 69–72.
28. Куприянова Е.А., Куркин В.А. Разработка подходов к стандартизации листьев тополя черного // Аспирантский вестник Поволжья. 2018. №5–6. С. 17–21.

Поступила в редакцию 1 марта 2020 г.

После переработки 18 января 2021 г.

Принята к публикации 19 января 2021 г.

Для цитирования: Куркин В.А., Хусаинова А.И., Куркина А.В., Бакова Н.Н., Бакова Е.Ю. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного // Химия растительного сырья. 2021. №1. С. 159–166. DOI: 10.14258/jcrpm.2021017423.

Kurkin V.A.^{1*}, Khusainova A.I.¹, Kurkina A.V.¹, Bakova N.N.², Bakova E.Yu.² THE DEVELOPMENT OF METHOD OF QUANTITATIVE DETERMINATION OF TOTAL FLAVONOIDS IN THE LEAVES OF *MYRTUS COMMUNIS*

¹Samara State Medical University, ul. Chapaevskaya, 89, Samara, 443099 (Russia), e-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru

²Federal State Funded Institution of Science "The Labour Red Banner Order Nikitsky Botanical Gardens – National Scientific Center of the RAS", Nikita, Yalta, 298648 (Russia)

Myrtle (*Myrtus communis* L.) is an evergreen plant, a small tree or shrub endemic to the Mediterranean region. In the area of growth since ancient times, various parts (berries, fruits and leaves) of myrtle are used in folk medicine. The therapeutic properties of various parts of the myrtle can be caused with different biologically active compounds, such as terpenoids (α -pinene, 1,8-cineole, geranyl acetate, linalool, limonene, trans-myrtanol acetate), polyphenolic compounds named flavonoids (quercetin, myricetin, myrtocommulones etc. At present time the myrtle is successfully cultivated in the coastal zone of the southern coast of Crimea. We studied samples of leaves of myrtle, harvested in the Nikitsky Botanical Garden – National Science Center of the Russian Academy of Sciences. The optimal conditions for the extraction of flavonoids from the leaves of were determined. It was established that the appropriate extragent for this raw material is 80% ethanol. The extraction time is 90 min, the ratio of "raw material-extragent" is 1 : 50. The method has been developed for the quantitative determination of the total flavonoids (calculated on rutin) in the leaves of myrtle by the method of differential spectrophotometry, at an analytical wavelength of 414 nm. Using the developed methodic, a number of samples of the myrtle leaves were analyzed, and it was established that the content of the total flavonoids in the leaves of myrtle varies from 2.48±0.08% to 3.64±0.12% (calculated on rutin) .

Keywords: myrtle, *Myrtus communis* L., leaves, flavonoids, rutin, spectrophotometry, standardization.

References

1. Aleksic V., Knezevic P. *Microbiological Research*, 2014, vol. 169, no. 4, pp. 240–254.
2. Henna A., Miguel M.G., Nemmiche S. *Medicines*, 2018, vol. 5, no. 3, p. 89.
3. Migliore J., Baumel A., Juin M., Médail F. *Journal of Biogeography*, 2012, no. 39, pp. 942–956.
4. Yoshimura M., Amakura Y., Tokuhara M., Yoshida T. *Journal of Natural Medicines*, 2008, vol. 62, no. 3, pp. 366–368.
5. Alipour G., Dashti S., Hosseinzadeh H. *Phototherapy Research*, 2014, vol. 28, no. 8, pp. 1125–1136.
6. Bakova Ye.Yu., Paliy A.Ye., Bakova N.N., Fedotova I.A. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii*, 2018, vol. 21 (11), pp. 30–35. (in Russ.).
7. Chalchat J.-C., Garry R.-P., Michet A. *Journal of Essential Oil Research*, 1998, vol. 10, pp. 613–617.
8. Flamin G., Cioni P.L., Morelli I., Maccioni S., Baldini R. *Food Chemistry*, 2004, vol. 85, no. 4, pp. 599–604.
9. Bakova N.N., Bakova Ye.Yu., Paliy A.Ye., Konovalov D.A. *Biotehnologiya kak instrument sokhraneniya bioraznootobrazniya rastitel'nogo mira (fiziologo-biokhimiicheskiye, embriologicheskiye, geneticheskiye i pravovyye aspekty). Materialy VIII Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii*. [Biotechnology as a tool for preserving the biodiversity of the plant world (physiological, biochemical, embryological, genetic and legal aspects). Materials of the VIII International Scientific and Practical Conference]. 2018, pp. 121–122. (in Russ.).
10. Feißt C., Franke L., Appendino G., Werz O. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2005, vol. 315, no. 1, pp. 389–396.
11. Gerbeth K., Hüsch J., Meins J., Rossi A., Sautebin L., Wiechmann K., Werz O., Skarke C., Barrett J.S., Schubert-Zsilavecz M., Abdel-Tawab M. *Planta Med.*, 2012, no. 78, pp. 1932–1938.
12. Gerbeth K., Meins J., Werz O., Schubert-Zsilavecz M., Abdel-Tawab M. *Planta Med.*, 2011, no. 77, pp. 450–454.
13. Hans M., Charpentier M., Huch V., Jauch J., Bruhn T., Bringmann G., Quandt D. *Journal Natural Products*, 2015, no. 78, pp. 2381–2389.
14. Koeberle A., Pollastro F., Northoff H., Werz O. *British Journal of Pharmacology*, 2009, no. 156, pp. 952–961.
15. Nicoletti R., Ferranti P., Caira S., Misso G., Castellano M., Di Lorenzo G., Caraglia M. *World Journal Microbiol Biotechnol*, 2014, no. 30, pp. 1047–1052.
16. *Pharmacopée Française XI édition*. pp. 2012–2015.
17. *Gosudarstvennyy reyestr lekarstvennykh sredstv* [State register of medicines]. URL: <https://grls.rosminzdrav.ru/Default.aspx> (Date of treatment 09/02/2019). (in Russ.).
18. *Gosudarstvennaya Farmakopeya Rossiyskoy Federatsii. 14 izd.* [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 14th ed.]. Moscow, 2018. URL: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>. (in Russ.).
19. Kurkin V.A. *Osnovy fitoterapii: uchebnoye posobiye*. [Fundamentals of herbal medicine: a tutorial]. Samara, 2009, 963 p. (in Russ.).
20. Kurkin V.A. *Farmakognosiya. Uchebnik dlya studentov farmatsevticheskikh vuzov (fakul'tetov)*. [Pharmacognosy. Textbook for students of pharmaceutical universities (faculties)]. Samara, 2019, 1278 p. (in Russ.).
21. Kurkin V.A., Kurkina A.V., Avdeyeva Ye.V. *Fundamental'nyye issledovaniya*, 2013, no. 11-9, pp. 1897–1901. (in Russ.).
22. Kurkina A.V. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii*, 2013, no. 5, p. 38. (in Russ.).
23. Kurkina A.V. *Fenol'nyye soyedineniya: fundamental'nyye i prikladnyye aspekty: materialy dokladov VIII Mezhdunarodnogo simpoziuma*. [Phenolic compounds: fundamental and applied aspects: materials of reports of the VIII International symposium]. Moscow, 2012, pp. 571–577. (in Russ.).
24. Kurkina A.V. *Flavonoidy farmakopeynykh rasteniy: monografiya*. [Flavonoids of pharmacopoeial plants: monograph]. Samara, 2012, 290 p. (in Russ.).

* Corresponding author.

25. Kurkina A.V. *Ekspierimental'no-teoreticheskoye obosnovaniye podkhodov k standartizatsii syr'ya i preparatov farmakopeynykh rasteniy, sodержashchikh flavonoidy: avtoref. diss. ... d. farm. nauk.* [Experimental and theoretical substantiation of approaches to standardization of raw materials and preparations of pharmacopoeial plants containing flavonoids: author. diss. ... d. Farm. sciences]. Samara, 2012, 49 p. (in Russ.).
26. Kurkin V.A., Avdeeva E.V., Kurkina A.V. et al. *Drug Discovery and Therapy World Congress*, Boston; USA, 2013, p. 170.
27. Kurkin V.A., Zaytseva Ye.N., Pravdivtseva O.Ye., Kurkina A.V., Stenyayeva V.V. *Nauka i innovatsii v meditsine*, 2019, vol. 4, no. 3, pp. 69–72. (in Russ.).
28. Kupriyanova Ye.A., Kurkin V.A. *Aspirantskiy vestnik Povolzh'ya*, 2018, no. 5–6, pp. 17–21. (in Russ.).

Received March 1, 2020

Revised January 18, 2021

Accepted January 19, 2021

For citing: Kurkin V.A., Khusainova A.I., Kurkina A.V., Bakova N.N., Bakova E.Yu. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2021, no. 1, pp. 159–166. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2021017423.