

УДК 615.322: 547.972+543.544

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СУММЫ ФЛАВОНОИДОВ В ЛИСТЬЯХ МИРТА ОБЫКНОВЕННОГО (*MYRTUS COMMUNIS* L.)*

© В.А. Куркин**, В.Д. Маслова, А.Р. Мубинов

Самарский государственный медицинский университет, ул. Чапаевская,
89, Самара, 443099, Россия, v.a.kurkin@samsmu.ru

Мирт обыкновенный (*Myrtus communis* L.) является перспективным видом растительного сырья, который активно применяется за рубежом для изготовления препаратов с противомикробным, противогрибковым, антиоксидантным действием. На наш взгляд, вклад в антимикробную и антиоксидантную активность, наряду с миртокоммулонами, вносят и флавоноиды, которые содержатся в листьях мирта. В данной статье обсуждаются результаты исследования флавоноидного состава листьев мирта обыкновенного (*Myrtus communis* L.). В результате проведенной колоночной хроматографии на силикагеле КСК 50/100 выделен доминирующий флавоноид – мирицитрин. На основании данных УФ-, ¹H-ЯМР-, ¹³C-ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии, а также результатов кислотного гидролиза, мирицитрин идентифицирован как 3-*O*- α -L-рамнопиранозид мирицетина.

Определено, что во всех УФ-спектрах извлечений из листьев мирта обыкновенного наблюдается bathochromный сдвиг длинноволновой полосы в присутствии 3% спиртового раствора AlCl₃, что подтверждает наличие доминирующего флавоноида. В условиях дифференциальной спектрофотометрии мирицитрина наблюдается максимум поглощения при длине волны 418 нм. В результате проведенного исследования усовершенствована методика количественного определения суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного. Определено, что содержание суммы флавоноидов в пересчете на мирицитрин во всех исследуемых образцах варьирует от 1.57±0.06 до 1.99±0.11%.

Ключевые слова: мирт обыкновенный, *Myrtus communis* L, листья, флавоноиды, мирицитрин, спектрофотометрия, хроматография, стандартизация.

Для цитирования: Куркин В.А., Маслова В.Д., Мубинов А.Р. Совершенствование методики количественного определения суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного (*Myrtus communis* L.) // Химия растительного сырья. 2025. №2. С. 236–244. <https://doi.org/10.14258/jcprm.20250214847>.

Введение

Мирт обыкновенный (*Myrtus communis* L.) – вечнозеленый многолетний кустарник из семейства Миртовых (*Myrtaceae*), произрастающий в Южной Европе, Северной Африке, Западной Азии и на островах Средиземноморья [1]. На территории Российской Федерации мирт обыкновенный введен в культуру как эфиромасличное растение еще в XIX веке в Никитском ботаническом саду (Республика Крым, РФ), а также произрастает и культивируется на территории Краснодарского края, Северного Кавказа [2]. На сегодняшний день мирт обыкновенный не является фармакопейным растением в РФ [3], хотя входит в зарубежные фармакопеи, например, во Французскую и Европейскую [4, 5].

В России и за рубежом были проведены некоторые исследования по изучению компонентного состава сырья мирта обыкновенного [6–9]. Интерес к мирту обыкновенному связан с наличием в его листьях различных групп биологически активных соединений, в том числе полифенольных соединений, терпеноидов, аминокислот, миртокоммулонов, флавоноидов и др. [10–12]. Извлечения из листьев мирта обыкновенного обладают доказанным антиоксидантным, противовоспалительным и антимикробным действием [13–16].

Обзор имеющихся данных показал возможность стандартизации листьев мирта обыкновенного при проведении количественного определения суммы флавоноидов методом дифференциальной

*Данная статья имеет электронный дополнительный материал (приложение), который доступен читателям на сайте журнала. DOI: 10.14258/jcprm.20250214847s

** Автор, с которым следует вести переписку.

спектрофотометрии в пересчете на рутин при аналитической длине волны 414 нм. Установлено, что содержание суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного варьирует от 2.48 ± 0.12 до $3.64 \pm 0.15\%$ [17]. Позже было установлено, что доминирующим флавоноидом в листьях мирта обыкновенного является мирицитрин [18]. Соответственно, на текущий момент актуальной задачей является совершенствование данной методики с использованием стандартного образца мирицитрина.

Цель настоящего исследования – совершенствование методики количественного определения суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного в пересчете на мирицитрин.

Экспериментальная часть

Объектом исследования служили листья мирта обыкновенного (*Myrtus communis* L.), заготовленные в период массового цветения растения и высушенные в Никитском ботаническом саду (г. Ялта, Республика Крым, Россия) в июне и июле 2021 года, а также в июле 2022 года. Собранное сырье было высушено на воздухе без доступа прямых солнечных лучей. Видовую специфичность объекта подтверждали при помощи определителей [19–21], а также по гербарным образцам гербарного фонда Никитского ботанического сада – Национального научного центра РАН [22]. Для проведения анализа получали водно-спиртовые извлечения исследуемого растительного сырья в соотношении 1 : 5 на 70%-ном этиловом спирте для качественной (тонкослойная хроматография) и количественной (спектрофотометрия) оценки.

Выделение индивидуальных веществ из листьев мирта обыкновенного проводили с использованием колоночной хроматографии на силикагеле КСК 50/100 (Россия) в условиях градиентного элюирования смесью растворителей хлороформ-этанол в различных соотношениях. 300 г воздушно-сухого растительного сырья мирта обыкновенного экстрагировали 70% этиловым спиртом, проведя вначале две экстракции при комнатной температуре в течение 24 ч, а затем при нагревании на кипящей водяной бане в течение 30 мин. Объединенное водно-спиртовое извлечение упаривали под вакуумом до объема 50 мл, смешивали с 70 г силикагеля КСК 50/100 и высушивали до получения однородного порошкообразного состояния. Высушенный порошок наносили на слой силикагеля (диаметр 8 см, высота 5 см), сформированный в виде взвеси в хлороформе. Хроматографическую колонку элюировали хлороформом- и смесью хлороформ-этанол в различных соотношениях (99 : 1, 98 : 2, 97 : 3, 95 : 5, 93 : 7, 90 : 10, 85 : 15, 80 : 20, 70 : 30, 60 : 40, 50 : 50, 40 : 60). Разделение веществ контролировали ТСХ-анализом. Из объединенных фракций, полученных элюированием смесью воды и этилового спирта в соотношении 70:30, выпал осадок, который отделили, перекристаллизовали из водного спирта и выделили доминирующее вещество с величиной $R_f=0.40$. Идентификацию мирицитрина проводили с помощью УФ-, ^1H -ЯМР-, ^{13}C -ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии, различных химических превращений (кислотный гидролиз). Для мирицитрина спектры ЯМР ^1H получали на приборе «JNM-ECX 400» (399.78 МГц), спектры ЯМР ^{13}C – на приборе «JNM-ECX 400» (100.52 МГц). Масс-спектры высокого разрешения были зарегистрированы на приборе Bruker maXis impact методом электрораспылительной ионизации (ESI). Регистрацию спектров проводили с помощью спектрофотометра «Specord 40» (Analytik Jena AG, Германия) в диапазоне длин волн 190–500 нм в кюветах с толщиной слоя 10 мм.

Кислотный гидролиз мирицитрина осуществляли в присутствии 2% хлористоводородной кислоты на кипящей водяной бане в течение 2 ч.

Идентификацию рамнозы в кислотном гидролизате осуществляли хроматографией на бумаге в системе растворителей: *n*-бутанол – ледяная уксусная кислота – вода в соотношении 4 : 1 : 2 (анилинфталатный реактив).

Для количественного определения флавоноидов в листьях мирта обыкновенного использовали метод дифференциальной спектрофотометрии, основанный на реакции комплексообразования флавоноидов с раствором алюминия хлорида [23–25]. Регистрацию УФ-спектров проводили с помощью спектрофотометра «Specord 40» (Analytik Jena). Расчет суммы флавоноидов проводили с использованием удельного показателя поглощения комплекса мирицитрина с 3% спиртовым раствором алюминия хлорида.

Содержание суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного (*Myrtus communis* L.) проводили методом дифференциальной спектрофотометрии при длине волны 418 нм в пересчете на мирицитрин.

Обсуждение результатов

Флавоноид, выделенный из листьев мирта обыкновенного, идентифицирован с использованием УФ-, ^1H -ЯМР-, ^{13}C -ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии, а также результатов кислотного гидролиза как мирицитрина (мирицетин-3-*O*- α -L-рамнопиранозид) (рис. 1).

Мирицитрин (3-*O*- α -L-рамнопиранозид мирицетина). Желтое кристаллическое вещество с т.пл. 202–204 °С (водный спирт), УФ-спектр (EtOH, λ_{max} , нм): 212, 260, 358; + NaOAc 268, 366; + NaOAc + H_3BO_3 260, 382; + AlCl_3 278, 416; + AlCl_3 + HCl 270, 406.

^1H -ЯМР-спектр (399.78 МГц, DMSO- d_6 , δ , м.д., J/Гц): 12.64 (1H, с, 5-OH-группа), 10.79 (1H, уш. с, 7-OH-группа), 9.19 (3H, уш. с, 3'-OH-группа, 4'-OH-группа и 5'-OH-группа), 6.84 (2H, с, H-2' и H-6'), 6.33 (1H, д, 2.5 Гц, H-8), 6.16 (1H, д, 2.5 Гц, H-6), 5.16 (1H, д, 1.5 Гц, H-1'' рамнозы), 3.11–4.89 (м, 4H рамнозы), 0.81 (3H, д, 6 Гц, CH_3 рамнозы) (рис. 1 электронного приложения).

^{13}C -ЯМР спектр (100.52 МГц, DMSO- d_6 , δC , м.д.): 178.30 (C-4), 164.24 (C-7), 161.83 (C-5), 158.01 (C-2), 156.93 (C-9), 146.29 (C-3' и C-5'), 136.98 (C-4'), 134.79 (C-3), 120.12 (C-1'), 108.41 (C-2' и C-6'), 104.54 (C-10), 102.45 (C-1'' рамнозы), 99.19 (C-6), 94.05 (C-8), 71.78 (C-3''), 71.08 (C-5''), 70.89 (C-4''), 70.53 (C-2''), 18.05 (C-6'' CH_3 рамнозы) (рис. 2 электронного приложения).

Масс-спектр (HR-ESI-MS, 180 °С, m/z): m/z 465.1028 $[\text{M}+\text{H}]^+$, m/z 487.0847 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, m/z 503.0586 $[\text{M}+\text{K}]^+$.

Мирицитрин впервые выделен нами из листьев мирта обыкновенного, произрастающего на территории Российской Федерации.

При сравнительном изучении электронных спектров водно-спиртовых извлечений из листьев мирта обыкновенного и раствора мирицитрина обнаруживаются характерные для флавоноидов [24, 25], в частности флавонолов, два максимума поглощения около 260 нм и 360 нм, что подтверждается батохромным сдвигом длинноволновой полосы в присутствии алюминия хлорида, а также данными дифференциальных спектров с максимумом поглощения при 418 ± 2 нм (рис. 2–5, рис. 3 и 4 электронного приложения).

Нами было выявлено, что выделенный из листьев мирта обыкновенного флавоноид во многом определяет характер кривой поглощения водно-спиртового извлечения из листьев мирта обыкновенного, а значит, является доминирующим и диагностически значимым веществом для данного вида сырья, что соответствует литературным данным [18]. Принимая во внимание тот факт, что максимумы поглощения раствора выделенного флавоноида и водно-спиртового извлечения листьев мирта обыкновенного имеют длину волны 418 нм (дифференциальный вариант), определение содержания суммы флавоноидов в пересчете на доминирующий флавоноид проводилось при этом показателе (рис. 3 и 5).

Ранее определено, что оптимальными параметрами являются: 80% этиловый спирт, соотношение «сырье-экстрагент» – 1 : 50, время экстракции – 90 мин [17], однако аналитическая длина волны в ходе нашего исследования была уточнена и составляет 418 нм (рис. 4 электронного приложения), вместо ранее используемой аналитической длины волны – 414 нм.

Методика количественного определения суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного. Аналитическую пробу сырья измельчают до размера 1 мм. Около 1 г измельченного сырья (точная навеска)

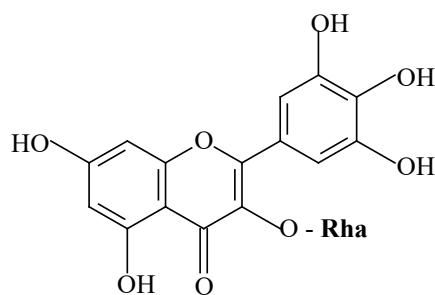


Рис. 1. Структурная формула мирицитрина, выделенного из листьев мирта обыкновенного

помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл 80% этилового спирта. Колбу закрывают пробкой и взвешивают на тарированных 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 бумажный фильтр (красная полоса). Испытуемый раствор для анализа флавоноидов готовят следующим образом: 1 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 2 мл 3% спиртового раствора алюминия хлорида и доводят объем раствора до метки 96% этиловым спиртом (испытуемый

раствор А). Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 418 нм через 40 мин после приготовления. Раствор сравнения готовят следующим образом: 1 мл полученного извлечения (1 : 50) помещают в мерную колбу на 50 мл и доводят объем раствора до метки 96% этиловым спиртом.

Приготовление раствора мирицитрина – стандартного образца. Около 0.004 г (точная навеска) мирицитрина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 15 мл 96% этилового спирта при нагревании на водяной бане. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем раствора 96% этиловым спиртом до метки (раствор А мирицитрина). 5 мл раствора А мирицитрина 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 мирицитрина). Измеряют оптическую плотность раствора Б на спектрофотометре при длине волны 418 нм. В качестве раствора сравнения используют раствор, который готовят следующим образом: 5 мл раствора А мирицитрина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 96% (раствор сравнения Б мирицитрина).

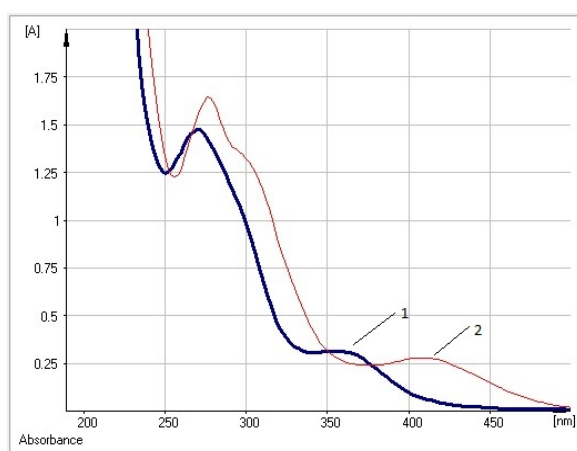


Рис. 2. Электронные спектры растворов 80% водно-спиртового извлечения из листьев мирта обыкновенного. Обозначения: 1 – раствор извлечения; 2 – раствор извлечения с добавлением алюминия хлорида

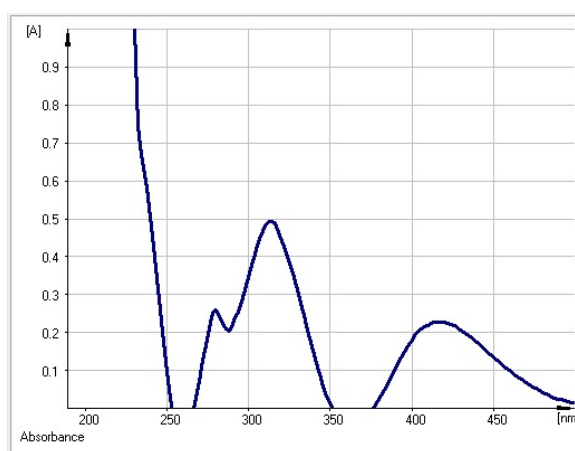


Рис. 3. Электронный спектр раствора 80% водно-спиртового извлечения из листьев мирта обыкновенного (дифференциальный вариант)

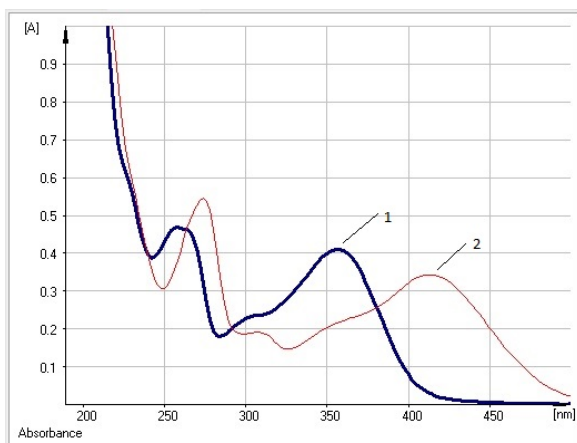


Рис. 4. Электронные спектры спиртовых растворов мирицитрина. Обозначения: 1 – исходный раствор; 2 – раствор с добавлением алюминия хлорида

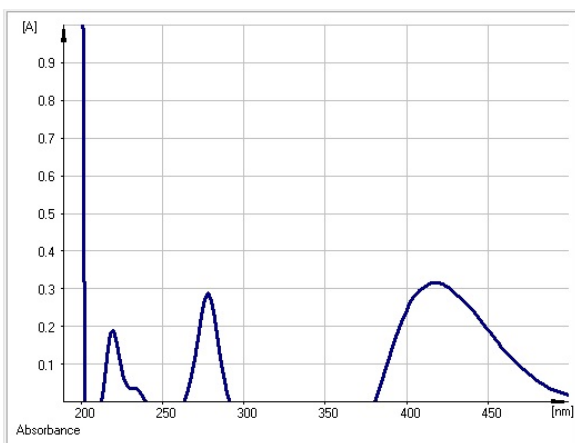


Рис. 5. Электронный спектр раствора мирицитрина (дифференциальный вариант)

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на мирицитрин и абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$x = \frac{D \cdot m_0 \cdot 50 \cdot 50 \cdot 5 \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot m \cdot 25 \cdot 1 \cdot 25 \cdot (100 - W)},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора; D_0 – оптическая плотность раствора СО мирицитрина; m – масса сырья, г; m_0 – масса СО мирицитрина, г; W – потеря в массе при высушивании сырья, %.

В случае отсутствия стандартного образца мирицитрина целесообразно использовать теоретическое значение удельного показателя поглощения – 363 при длине волны 418 нм:

$$x = \frac{D \cdot 50 \cdot 50 \cdot 100}{m \cdot 363 \cdot (100 - W)},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора; m – масса сырья, г; 363 – удельный показатель поглощения ($E_{1\text{см}}^{1\%}$) СО мирицитрина при 418 нм; W – потеря в массе при высушивании сырья, %.

Метрологические характеристики методики количественного определения содержания суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного представлены в таблице 1. Результаты статистической обработки проведенных опытов свидетельствуют о том, что ошибка единичного определения суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного с доверительной вероятностью 95% составляет $\pm 16.05\%$ и средняя ошибка определения суммы флавоноидов в пересчете на мирицитрин в листьях мирта обыкновенного с доверительной вероятностью 95% составляет $\pm 4.84\%$ (табл. 1).

Валидационная оценка разработанной методики проводилась по показателям: специфичность, линейность, правильность и прецизионность [26]. Специфичность методики определялась по соответствию максимумов поглощения комплекса флавоноидов в листьях мирта обыкновенного и выделенного доминирующего вещества с алюминием хлоридом. Линейность методики определяли для серии растворов мирицитрина (с концентрациями в диапазоне от 0.1255 до 1.3140 мг/мл). Коэффициент корреляции составил 1 (рис. 6).

Правильность методики определяли методом добавок путем добавления раствора выделенного вещества мирицитрина с известной концентрацией (80, 100 и 120%) к испытуемому раствору. При этом средний процент восстановления составил 98%. Опыты с добавками СО мирицитрина к навеске сырья показали, что ошибка анализа находится в пределах ошибки единичного определения, что свидетельствует об отсутствии систематической ошибки разработанной методики (опыты с добавками) (табл. 2).

Таблица 1. Метрологические характеристики методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на мирицитрин в листьях мирта обыкновенного

| n | f | $\bar{X}, \%$ | S^2 | S | $S_{\bar{X}}$ | P, % | t (P, f) | ΔX | $\Delta \bar{X} \bar{X}$ | E, % | $\bar{E}, \%$ |
|----|----|---------------|-------|-------|---------------|------|----------|------------|--------------------------|-------------|---------------|
| 11 | 10 | 1.80 | 0.017 | 0.130 | 0.039 | 95 | 2.23 | ± 0.29 | ± 0.09 | ± 16.05 | ± 4.84 |

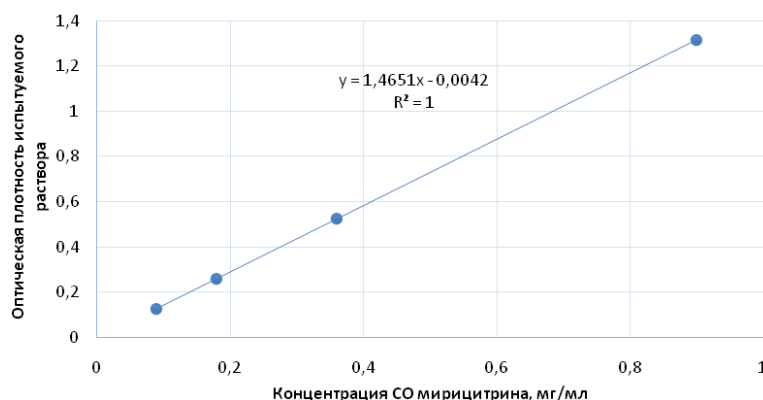


Рис. 6. Градуировочный график зависимости оптической плотности испытуемого раствора от концентрации мирицитрина методом спектрофотометрии

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».

Содержание суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного, определенное методом дифференциальной спектрофотометрии при аналитической длине волны 418 нм, представлено в таблице 3. Содержание суммы флавоноидов для исследуемых образцов варьирует от 1.57 ± 0.16 до $1.99 \pm 0.11\%$ в пересчете на мирицитрин.

Содержание суммы флавоноидов для исследуемых образцов варьирует 1.57 ± 0.06 до $1.99 \pm 0.11\%$ (в пересчете на мирицитрин).

Таблица 2. Содержание суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного в зависимости от добавления мирицитрина

| Исходное содержание суммы флавоноидов, мг/мл | Добавлено мирицитрина, мг/мл | Содержание мирицитрина, мг/мл | | Ошибка | |
|--|------------------------------|-------------------------------|-----------|-------------------|------------------|
| | | расчетное | найденное | Абсолютная, мг/мл | Относительная, % |
| 0.28 | 0.16 | 0.44 | 0.42 | -0.02 | -4.55 |
| 0.28 | 0.25 | 0.53 | 0.56 | +0.03 | +5.66 |
| 0.28 | 0.40 | 0.68 | 0.65 | -0.03 | -4.41 |

Таблица 3. Содержание суммы флавоноидов в образцах листьев мирта обыкновенного (Ялта, Республика Крым, Никитский Ботанический сад) в зависимости от добавления мирицитрина

| № п/п | Время заготовки сырья | Содержание суммы флавоноидов в пересчете на мирицитрин и а.с.с, % |
|-------|-----------------------|---|
| 1 | Июнь 2021 г. | 1.57 ± 0.06 |
| 2 | Июль 2021 г. | 1.85 ± 0.09 |
| 3 | Июль 2022 г. | 1.99 ± 0.11 |

Выводы

1. С использованием колоночной хроматографии из листьев мирта обыкновенного выделен доминирующий флавоноид – мирицитрин (мирицетин-3-О- α -L-рамнопиранозид), идентифицированный на основании данных УФ-, ^1H -ЯМР-, ^{13}C -ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии, а также результатов кислотного гидролиза и использованный в качестве стандартного образца с целью совершенствования методики количественного определения суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного.

2. При добавлении спиртового раствора алюминия хлорида во всех электронных спектрах исследуемых образцов обнаруживается батохромный сдвиг длинноволновой полосы, что свидетельствует о вкладе мирицитрина и других флавоноидов в кривую поглощения УФ-спектров. В условиях дифференциальной спектрофотометрии наблюдается максимум поглощения в области 418 нм, что дает нам основание применять методику определения содержания суммы флавоноидов в извлечениях из листьев мирта обыкновенного методом дифференциальной спектрофотометрии при длине волны 418 нм в пересчете на мирицитрин.

3. На основании сравнительного исследования электронных спектров водно-спиртовых извлечений листьев мирта обыкновенного усовершенствована методика количественного определения суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного в пересчете на мирицитрин, заключающаяся в использовании 80%-ного этанола, экстракции в течение 90 минут в соотношении «сырье-экстракт» – 1:50 при аналитической длине волны 418 нм.

4. Определено, что содержание суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного варьирует от 1.57 ± 0.06 до $1.99 \pm 0.11\%$ в пересчете на мирицитрин.

5. Результаты статистической обработки проведенных опытов свидетельствуют о том, что ошибка единичного определения суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного с доверительной вероятностью 95% составляет $\pm 16.05\%$ и средняя ошибка определения суммы флавоноидов в пересчете на мирицитрин в листьях мирта обыкновенного с доверительной вероятностью 95% составляет $\pm 4.84\%$.

Дополнительная информация

В электронном приложении к статье (DOI: <http://www.doi.org/10.14258/jcprm.20250214847s>) приведен дополнительный экспериментальный материал, раскрывающий основные положения, изложенные в статье.

Финансирование

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета Самарского государственного медицинского университета. 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. Николаевский В.В. Ароматерапия: справочник. М., 2000. С. 52.
2. Логвиненко Л.А. Культура мирт обыкновенный (*Myrtus communis* L.) в условиях южного берега Крыма // Аграрный вестник Урала. 2017. №9 (163). С. 15–21. https://doi.org/10.32417/article_5d47f7f2cc7a67.55851754.
3. Государственная фармакопея Российской Федерации XV изд. М., 2023. URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/>.
4. European Pharmacopoeia (Ph. Eur.) 11th edition. 2023. URL: <https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia-ph-eur.-11th-edition>.
5. Pharmacopée Française XI édition, Préparations homéopathiques. 2017. Pp. 2012–2015.
6. Sisay M., Gashaw T. Ethnobotanical, ethnopharmacological, and phytochemical studies of *Myrtus communis* Linn: a popular herb in Unani system of medicine // J. Evid. Based Complement Altern. Med. 2017. Vol. 22(4). Pp. 1035–1043. <https://doi.org/10.1177/2156587217718958>.
7. 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. Vol. 39. Pp. 942–956. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2011.02646.x>.
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, no. 4. Pp. 599–604. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.08.005>.
9. Бакова Е.Ю., Плугатарь Ю.В., Бакова Н.Н., Коновалов Д.А. Минеральный и аминокислотный состав листьев *Myrtus communis* L // Химия растительного сырья. 2019. №3. С. 217–223. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2019034917>.
10. 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* L.) // World Journal Microbiol. Biotechnol. 2014. Vol. 30. Pp. 1047–1052. <https://doi.org/10.1007/s11274-013-1523-x>.
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 Medica. 2012. Vol. 78, no. 18. Pp. 1932–1938. <https://doi.org/10.1055/s-0032-1327881>.
12. Medda S., Fadda A., Dessena L., Mulas M. Quantification of total phenols, tannins, anthocyanins content in *Myrtus communis* L. and antioxidant activity evaluation in function of plant development stages and altitude of origin site // Agronomy. 2021. Vol. 11, no. 6. 1059. <https://doi.org/10.3390/agronomy11061059>.
13. Yoshimura M., Amakura Y., Tokuhara M., Yoshida T. Polyphenolic compounds isolated from the leaves of *Myrtus communis* // Journal of Natural Medicines. 2008. Vol. 62, no. 3. Pp. 366–368. <https://doi.org/10.1007/s11418-008-0251-2>.
14. Alipour G., Dashti S., Hosseinzadeh H. Review of Pharmacological Effects of *Myrtus communis* L. and its Active Constituents // Phototherapy Research. 2014. Vol. 28, no. 8. Pp. 1125–1136. <https://doi.org/10.1002/ptr.5122>.
15. Hennia 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, no. 3. 89. <https://doi.org/10.3390/medicines5030089>.
16. Mansour R.B., Megdiche-Ksouri W., Nefzi N., Soumaya B., Ksouri R., Giroux-Metgès M.A., Talarmin H. *Myrtus communis* L. Ellagitannins and Flavonoids Protect Cardiomyoblast Cells against CoCl₂-Induced Hypoxia and H₂O₂ Stress by Improving Oxidative Balance // Austin Journal of Nutrition & Metabolism. 2022. Vol. 9, no. 1. Pp. 1–9. <https://doi.org/10.26420/austinjnutrmetab.2022.1121>.
17. 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. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2021017423>.
18. Bakova N.N., Bakova E.Y., Paliy A.E., Konovalov D.A. Chemical compositions of *Myrtus communis* L. // Acta Horticulturae. 2021. Vol. 1324. Pp. 361–365. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2021.1324.56>.
19. Белодубровская Г.А. и др. Энциклопедический словарь лекарственных растений и продуктов животного происхождения: Учеб. Пособие. СПб: Специальная литература, 1999. С. 196.
20. Шишкин Б.К., Бобров Е.Г. Флора СССР. М.: Просвещение, 1949. Т. 15. С. 554–555.

21. Киселёва Т.Л., Смирнова Ю.А. Лекарственные растения в мировой медицинской практике: государственное регулирование номенклатуры и качества. М., 2009. 295 с.
22. Гербарии Никитского ботанического сада [Электронный ресурс]. URL: <https://nikitasad.ru/science/gerbarij-nikitskogo-botanicheskogo-sada/>.
23. ОФС.1.2.1.1.0003.15. Спектрофотометрия в УФ и видимой областях // Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. М., 2023. URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/>.
24. Куркина А.В. Современная стандартизация как методологическая основа рационального использования ресурсов лекарственных растений, содержащих флавоноиды // Известия Самарского научного центра РАН. 2012. №1-9. С. 2253–2256.
25. 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.
26. ОФС 1.1.0013.15. Статистическая обработка результатов химического эксперимента // Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. М., 2023. URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/>.

Поступила в редакцию 4 марта 2024 г.

После переработки 17 июня 2024 г.

Принята к публикации 11 апреля 2025 г.

Kurkin V.A.*, Maslova V.D., Mubinov A.R. THE METHODOLOGY IMPROVING FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF THE FLAVONOIDS AMOUNT IN THE COMMON MYRTLE LEAVES (*MYRTUS COMMUNIS* L.)

Samara State Medical University, Chapayevskaya st., 89, Samara, 443099, Russia, v.a.kurkin@samsmu.ru

Common myrtle (*Myrtus communis* L.) is a promising type of vegetable raw material, which is actively used abroad for the manufacture of drugs with antiseptic, antimicrobial, disinfecting, stabilizing effect. In our opinion, flavonoids contained in common myrtle leaves contribute to antimicrobial and antioxidant activity, along with myrtocommulones. This article discusses the results of a flavonoid composition study of the common myrtle leaves (*Myrtus communis* L.). As a result of column chromatography on silica gel KSK 50/100, the dominant flavonoid myricitrin, was isolated. Based on the data of UV, ¹H-NMR, ¹³C-NMR spectroscopy, mass spectrometry, as well as the results of acid hydrolysis, myricitrin was identified as 3-*O*- α -L-rhamno-pyranoside of myricetin.

It was determined that in all UV spectra of extracts from common myrtle leaves, a bathochromic shift of the long-wavelength band is observed in the presence of a 3% alcohol solution of AlCl₃, which confirms the presence of a dominant flavonoid. Under the conditions of differential spectrophotometry of myricitrin, the maximum absorption is observed in the 418 nm region. As a result of the conducted research, the method of quantitative determination of the flavonoids amount in the common myrtle leaves has been improved. It was determined that the content of the flavonoids sum in terms of myricitrin in all studied samples varies from 1.57 \pm 0.06 to 1.99 \pm 0.11%.

Keywords: common myrtle, *Myrtus communis* L., leaves, flavonoids, myricitrin, spectrophotometry, chromatography, standardization.

For citing: Kurkin V.A., Maslova V.D., Mubinov A.R. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2025, no. 2, pp. 236–244. (in Russ.). <https://doi.org/10.14258/jcprm.20250214847>.

References

1. Nikolayevskiy V.V. *Aromaterapiya: spravochnik*. [Aromatherapy: handbook]. Moscow, 2000, p. 52. (in Russ.).
2. Logvinenko L.A. *Agrarnyy vestnik Urala*, 2017, no. 9 (163), pp. 15–21. https://doi.org/10.32417/article_5d47f7f2cc7a67.55851754. (in Russ.).
3. *Gosudarstvennaya Farmakopeya Rossiyskoy Federatsii XV izd.* [State Pharmacopoeia of the Russian Federation XV edition]. Moscow, 2023. URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/>. (in Russ.).
4. *European Pharmacopoeia (Ph. Eur.) 11th edition*. 2023. URL: <https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia-ph-eur.-11th-edition>.
5. *Pharmacopée Française XI édition, Préparations homéopathiques*. 2017, pp. 2012–2015.

* Corresponding author.

6. Sisay M., Gashaw T. J. *Evid. Based Complement Altern. Med.*, 2017, vol. 22(4), pp. 1035–1043. <https://doi.org/10.1177/2156587217718958>.
7. Migliore J., Baumel A., Juin M., Médail F. *Journal of Biogeography*, 2012, vol. 39, pp. 942–956. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2011.02646.x>.
8. Flamin G., Cioni P.L., Morelli I., Maccioni S., Baldini R. *Food Chemistry*, 2004, vol. 85, no. 4, pp. 599–604. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.08.005>.
9. Bakova Ye.Yu., Plugatar' Yu.V., Bakova N.N., Kononov D.A. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2019, no. 3, pp. 217–223. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2019034917>. (in Russ.).
10. Nicoletti R., Ferranti P., Caira S., Misso G., Castellano M., Di Lorenzo G., Caraglia M. *World Journal Microbiol. Biotechnol.*, 2014, vol. 30, pp. 1047–1052. <https://doi.org/10.1007/s11274-013-1523-x>.
11. Gerbeth K., Hüscher J., Meins J., Rossi A., Sautebin L., Wiechmann K., Werz O., Skarke C., Barrett J.S., Schubert-Zsilavecz M., Abdel-Tawab M. *Planta Medica*, 2012, vol. 78, no. 18, pp. 1932–1938. <https://doi.org/10.1055/s-0032-1327881>.
12. Medda S., Fadda A., Dessena L., Mulas M. *Agronomy*, 2021, vol. 11, no. 6, 1059. <https://doi.org/10.3390/agronomy11061059>.
13. Yoshimura M., Amakura Y., Tokuhara M., Yoshida T. *Journal of Natural Medicines*, 2008, vol. 62, no. 3, pp. 366–368. <https://doi.org/10.1007/s11418-008-0251-2>.
14. Alipour G., Dashti S., Hosseinzadeh H. *Phototherapy Research*, 2014, vol. 28, no. 8, pp. 1125–1136. <https://doi.org/10.1002/ptr.5122>.
15. Hennia A., Miguel M.G., Nemmiche S. *Medicines*, 2018, vol. 5, no. 3, 89. <https://doi.org/10.3390/medicines5030089>.
16. Mansour K.B., Megdiche-Ksouri W., Nefzi N., Soumaya B., Ksouri R., Giroux-Metgès M.A., Talarmin H. *Austin Journal of Nutrition & Metabolism*, 2022, vol. 9, no. 1, pp. 1–9. <https://doi.org/10.26420/austinjntrmetab.2022.1121>.
17. Kurkin V.A., Khusainova A.I., Kurkina A.V., Bakova N.N., Bakova Ye.Yu. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2021, no. 1, pp. 159–166. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2021017423>. (in Russ.).
18. Bakova N.N., Bakova E.Y., Paliy A.E., Kononov D.A. *Acta Horticulturae*, 2021, vol. 1324, pp. 361–365. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2021.1324.56>.
19. Belodubrovskaya G.A. i dr. *Entsiklopedicheskiy slovar' lekarstvennykh rasteniy i produktov zhivotnogo proiskhozhdeniya: Ucheb. Posobiye*. [Encyclopedic Dictionary of Medicinal Plants and Products of Animal Origin: Textbook. Manual]. St. Petersburg, 1999, p. 196. (in Russ.).
20. Shishkin B.K., Bobrov Ye.G. *Flora SSSR*. [Flora of the USSR]. Moscow, 1949, vol. 15, pp. 554–555. (in Russ.).
21. Kiselova T.L., Smirnova Yu.A. *Lekarstvennyye rasteniya v mirovoy meditsinskoj praktike: gosudarstvennoye regulirovaniye nomenklatury i kachestva*. [Medicinal plants in world medical practice: state regulation of nomenclature and quality]. Moscow, 2009, 295 p. (in Russ.).
22. *Gerbarii Nikitskogo botanicheskogo sada* [Herbariums of the Nikitsky Botanical Garden]. URL: <https://nikitasad.ru/science/gerbarij-nikitskogo-botanicheskogo-sada/>. (in Russ.).
23. *OFS.1.2.1.1.0003.15. Spektrofotometriya v UF i vidimoy oblastiakh* [OFS.1.2.1.1.0003.15. Spectrophotometry in the UV and visible regions]. (in Russ.).
24. Kurkina A.V. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra RAN*, 2012, no. 1-9, pp. 2253–2256. (in Russ.).
25. Kurkin V.A., Avdeeva E.V., Kurkina A.V. et al. *Drug Discovery and Therapy World Congress*. Boston; USA, 2013, p. 170.
26. *OFS 1.1.0013.15. Statisticheskaya obrabotka rezul'tatov khimicheskogo eksperimenta* [OFS 1.1.0013.15. Statistical processing of chemical experiment results]. (in Russ.).

Received March 4, 2024

Revised June 17, 2024

Accepted April 11, 2025

Сведения об авторах

Куркин Владимир Александрович – заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, доктор фармацевтических наук, профессор, Kurkinvladimir@yandex.ru; v.a.kurkin@samsmu.ru

Маслова Вера Дмитриевна – аспирант, vera_maslova@mail.ru

Мувинов Артур Рустемович – главный специалист научно-образовательного центра «Фармация», a.r.mubinov@samsmu.ru

Information about authors

Kurkin Vladimir Aleksandrovich – Head of the Department of Pharmacognosy with Botany and Fundamentals of Phytotherapy, Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Kurkinvladimir@yandex.ru; v.a.kurkin@samsmu.ru

Maslova Vera Dmitrievna – Postgraduate Student, vera_maslova@mail.ru

Mubinov Artur Rustemovich – Chief Specialist of the Scientific and Educational Center "Pharmacy", a.r.mubinov@samsmu.ru