

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САМАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

КАЗАКОВА МАРИЯ АЛЕКСАНДРОВНА

**СРАВНИТЕЛЬНОЕ ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
НЕКОТОРЫХ ВИДОВ И СОРТОВ РОДА МЯТА (*MENTHA L.*)**

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:
Куркин Владимир Александрович,
доктор фармацевтических наук,
профессор

Самара – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ СВЕДЕНИЯ О КОМПОНЕНТНОМ СОСТАВЕ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВАХ ВИДОВ РОДА МЯТА (<i>MENTHA L.</i>) (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	19
1.1. Ботаническое описание и ареал видов рода <i>Mentha L.</i>	19
1.2. Химический состав представителей рода <i>Mentha L.</i>	23
1.3. Фармакологические свойства и область применения листьев мяты	36
1.4. Актуальные аспекты стандартизации листьев <i>Mentha piperita L.</i>	39
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 1	41
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ	42
2.1. Объекты исследования.....	42
2.2. Материалы, приборы и реактивы, использованные в работе	43
2.3. Характеристика методов исследования.....	44
2.3.1. Методы проведения анатомо-гистологического исследования	44
2.3.2. Хроматографические методы исследования.....	44
2.3.4. Физико-химические методы исследования	46
2.3.5. Технологические методы исследования.....	47
2.3.6. Микробиологические и фармакологические методы исследования	47
ГЛАВА 3. АНАТОМО-ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИСТА МЯТЫ ПЕРЕЧНОЙ (<i>MENTHA PIPERITA L.</i>)	48
3.1. Световая и люминесцентная микроскопия черешка листа мяты перечной (<i>Mentha piperita L.</i>)	48
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3	61
ГЛАВА 4. ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВЕЩЕСТВ ИЗ ЛИСТЬЕВ МЯТЫ ПЕРЕЧНОЙ (<i>MENTHA PIPERITA L.</i>)	62
4.1. Извлечение индивидуальных соединений из листьев мяты перечной (<i>Mentha piperita L.</i>)	62
4.2. Идентификация выделенных веществ из листьев мяты перечной (<i>Mentha piperita L.</i>).....	63
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4	69
ГЛАВА 5. СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ПОДХОДОВ К СТАНДАРТИЗАЦИИ ЛИСТЬЕВ МЯТЫ ПЕРЕЧНОЙ (<i>MENTHA PIPERITA L.</i>)	70
5.1. Определение подлинности видов и сортов рода <i>Mentha L.</i>	70

5.1.1. Исследование спектральных и хроматографических характеристик водно-спиртового извлечения из листьев мяты перечной (<i>Mentha piperita</i> L.)	70
5.2. Разработка методики количественного определения суммы фенилпропаноидов в пересчете на розмариновую кислоту	74
5.2.1. Сравнительное спектрофотометрическое исследование водно-спиртового извлечения из листьев растений рода <i>Mentha</i> L.	81
5.3. Разработка методики количественного определения содержания розмариновой кислоты методом ВЭЖХ	83
5.4. Изучение компонентного состава листьев мяты перечной (<i>Mentha piperita</i> L.) методом ВЭЖХ.....	91
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 5.....	96
ГЛАВА 6. ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТОВ ЛИСТЬЕВ МЯТЫ ПЕРЕЧНОЙ И НЕКОТОРЫХ ВИДОВ И СОРТОВ МЯТЫ	98
6.1. Изучение диуретической активности сухого экстракта и 5,4'-дигидрокси-6,7,3'-триметоксифлавоны листьев рода Мята (<i>Mentha</i> L.)	98
6.2. Изучение нейротропной активности сухого экстракта и 5,4'-дигидрокси-6,7,3'-триметоксифлавона, выделенного из листьев листьев рода Мята (<i>Mentha</i> L.)	100
6.3. Изучение антимикробной активности извлечений из листьев рода Мята (<i>Mentha</i> L.)	102
6.3.1. Изучение антимикробной активности извлечений из листьев рода Мята (<i>Mentha</i> L.) на микроорганизмах, вызывающих осложнения у пациентов с муковисцидозом.	102
6.3.2. Изучение антимикробной активности извлечений из листьев рода Мята (<i>Mentha</i> L.) на грибах и микроорганизмах.....	109
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 6.....	113
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	115
Список литературы.....	118
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	141
Приложение 1. Патент на изобретение «Способ количественного определения розмариновой кислоты в листьях мяты перечной»	142
Приложение 2. Акты внедрения результатов диссертационной работы	143
Приложение 3. ¹ H-ЯМР, ¹³ C-ЯМР - и масс-спектры индивидуальных соединений, выделенных из листьев мяты перечной	150

Приложение 4. Методики проведения исследований на диуретическую, нейротропную и микробиологическую активность.	156
Приложение 5. Схема приготовления настойки листьев мяты и описание технологических операций изготовления сухого экстракта из них.	159
Приложение 6. Проект дополнений к фармакопейной статье «Мяты перечной листья».....	161

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Одним из ключевых направлений для отечественной фармацевтической науки и промышленности является создание в стране высокоэффективных и безопасных фармацевтических препаратов и активных субстанций представляет собой одно из ключевых направлений.

В Государственном реестре лекарственных средств приводятся данные о более 4000 наименований лекарственных препаратов растительного происхождения в Российской Федерации. Ассортимент лекарственных растительных препаратов продолжает расширяться благодаря таким преимуществам в лечении хронических заболеваний относительно синтетических лекарственных препаратов, как возможность длительного применения и комплексное воздействие на весь организм пациента.

Ведущие ученые страны изучают множество перспективных растений и соединений растительного происхождения (Авдеева Е.В., 2023; Киселева Т.Л., 2024; Кудашкина Н.В., 2024; Куркин В.А., 2024; Мизина П.Г., 2024; Правдивцева О.Е., 2024; Самылина И.А., 2024; Шмыгарева А.А., 2023; Зилфикаров И.Н., 2022; Белогова В.Д., 2022). Род Мята (*Mentha* L.) широко используется в различных областях деятельности человека, таких как официальная и традиционная медицина, косметология, пищевая промышленность, сельское хозяйство. Однако, несмотря на популярность представителей рода *Mentha* L., единственным видом лекарственного растительного сырья (ЛРС), включенным в фармакопеи разных стран, являются листья мяты перечной (*Menthae piperitae folia*) (Государственная..., 2015, 2018, 2024; European..., 2024).

В разделе «Подлинность» ФС.2.5.0029.15 «Мяты перечной листья» ГФ РФ XIV издания при описании методики определения основных групп биологически активных веществ методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) наряду с ментолом используется раствор стандартного образца (СО) тимола, однако данное биологически активное вещество (БАВ) не является диагностически значимым компонентом данного сырья [87].

Кроме того, в разделе «Количественное определение» наряду с эфирным маслом методом дифференциальной спектрофотометрии определяют сумму флавоноидов в пересчете на лютеолин, однако используемая методика не лишена недостатков. На наш взгляд, с точки зрения стандартизации больший интерес представляют фенилпропаноиды, в частности, розмариновая кислота, являющаяся доминирующим компонентом фенольной природы в листьях мяты перечной. В этом отношении актуальным является внедрение в фармакопейный анализ листьев мяты перечной использование метода высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Важным также является внедрение петиолярной микроскопии в подраздел «Микроскопические признаки» раздела «Подлинность», в том числе с использованием метода люминесцентной микроскопии листа и черешка листьев мяты перечной.

В разделе ФС.2.5.0029.15 «Определение основных групп биологически активных веществ» при проведении тонкослойной хроматографии наряду с раствором ментола, целесообразно использовать раствор стандартного образца доминирующего компонента - розмариновой кислоты.

Степень разработанности темы. Несмотря на глубокую степень изученности химического листьев мяты перечной (*Mentha piperita* L.), проблема стандартизации данного вида фармакопейного растительного сырья остается актуальной.

В разделе ФС.2.5.0029.15 «Количественное определение» для подтверждения качества сырья используется количественное определение эфирного масла, основным компонентом которого является ментол (Государственная..., 2018).

Также в разделе «Количественное определение» ФС.2.5.0029.15 для количественного определения суммы флавоноидов используется метод дифференциальной спектрофотометрии при этом измерение проводят при аналитической длине волны 400 нм в пересчете на лютеолин (Государственная..., 2018). Однако данная методика имеет ряд недостатков. Основываясь на проведенных исследованиях и данных обзора литературы, доминирующим соединением фенольной природы является розмариновая кислота (Куркин В.А., 2024; Gudzenko A., 2013; European..., 2024). Из этого следует, что при количественном определении целесообразнее

проводить определение суммы фенилпропаноидов и количественное определение розмариновой кислоты методом ВЭЖХ.

По нашему мнению, определение тимола в разделе «Определение основных групп биологически активных веществ» нецелесообразно, так как тимол не является диагностически значимым соединением в химическом составе листьев мяты перечной.

В соответствии с ГФ РФ XIV издания основными микроскопическими признаками листьев мяты перечной являются строение стенок клеток эпидермиса, тип строения устьичных аппаратов и их расположение, наличие простых клеточных волосков, головчатых волоски и эфиромасличных желез (Государственная..., 2018). На наш взгляд, использование новых методов микроскопии, таких как люминесцентная микроскопия черешка и листьев мяты перечной, позволит выделить новые диагностические микроскопические признаки сырья, что в перспективе будет способствовать более объективному анализу сырья.

Цель работы и основные задачи исследования - совершенствование методик стандартизации листьев мяты перечной и проведение сравнительного фармакогностического исследования сортовых форм и некоторых видов рода Мята (*Mentha L.*).

Задачи исследования:

1. Анатомо-гистологическое исследование листа мяты перечной (*Mentha piperita L.*).
2. Сравнительное фитохимическое исследование листьев сортовых форм и некоторых видов рода Мята (*Mentha L.*) с применением современных методов исследования (ТСХ, спектрофотометрии и ВЭЖХ).
3. Препаративное выделение и идентификация индивидуальных веществ из листьев мяты перечной с помощью таких современных методов, как спектрофотометрия, ВЭЖХ, ЯМР-спектроскопия и масс-спектрометрия.
4. Разработка методики качественного анализа листьев мяты перечной с использованием метода ТСХ и спектрофотометрии.

5. Разработка методики количественного определения суммы фенилпропаноидов в ЛРС «Мяты перечной листья».
6. Разработка методики количественного определения листьев мяты перечной с помощью метода ВЭЖХ.
7. Изучение антидепрессантной, диуретической и антимикробной активности сухого экстракта листьев некоторых видов и сортов мяты, а также индивидуальных веществ (ментол, лютеолин, 5,3'-дигидрокси-4,7,8,4'-тетраметоксифлавонон).
8. Разработка проекта дополнений к фармакопейной статье (ФС) на ЛРС «Мяты перечной листья».

Научная новизна. В ходе работы проведен анализ петиолярной анатомии листа мяты перечной с применением методов световой и люминесцентной микроскопии (*Mentha piperita* L.) и определены особенности строения и люминесценции частей черешка, заключающиеся в следующем:

- особой ланцетной форме черешка с изломом посередине к верхней стороне листа;
- люминесценции протопластов железистых трихом, указывающей на наличие в секрете под кутикулой монотерпенов (ментола) и флавоноидов;
- веерообразных образованиях, имеющих характерную для флавоноидов желто-оранжевую люминесценцию в диапазоне возбуждения 330-400 нм и локализованных во флоэмной части проводящей системы;
- ярко-голубой люминесценции в диапазоне возбуждения 330-400 нм в клетках мезофилла черешка указывающая на наличие фенилпропаноидов (в частности, розмариновой кислоты).

В ходе спектрофотометрического исследования установлено, что соединениями, определяющими максимумы поглощения УФ-спектра извлечения из листьев мяты перечной, являются гидроксикоричные кислоты. Нами изучены спектральные характеристики стандартных образцов, таких как хлорогеновая кислота,

сальвианоловая кислота В, кофейная кислота и розмариновая кислота. Определено, что доминирующим компонентом фенольной природы является розмариновая кислота, что позволило сделать вывод о целесообразности разработки методики количественного определения розмариновой кислоты в листьях мяты перечной методом ВЭЖХ.

В результате эксперимента нами были определены условия, оптимальные для экстрагирования – размер частиц сухого сырья, проходящего через сито 2 мм, время экстрагирования – 60 минут, в качестве экстрагента выбран спирт этиловый 60%, в соотношении «сырье:экстрагент» – 1:50. Научно обоснована целесообразность проведения стандартизации листьев мяты перечной по содержанию суммы фенилпропаноидов в пересчете на розмариновую кислоту.

В диссертационной работе нами обоснована целесообразность стандартизации листьев мяты перечной по содержанию доминирующего фенилпропаноида – розмариновой кислоты методом ВЭЖХ.

С использованием колоночной хроматографии извлечений из листьев мяты перечной нами выделены 7 индивидуальных соединений, из них фенилпропаноиды (розмариновая кислота и кофейная кислота), флавоноиды (5,3'-дигидрокси-4,7,8,4'-тетраметоксифлавоны, 5,4'-дигидрокси-6,7,3'-триметоксифлавоны, лютеолин и цинарозид) и углевод (сахароза), идентифицированные на основе данных УФ-, ¹H-ЯМР, ¹³C-ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии, а также результатов кислотного и ферментативного гидролиза. Соединение 5,4'-дигидрокси-6,7,3'-триметоксифлавоны впервые описано в качестве компонента листьев мяты перечной (*Mentha piperita* L.). Флавоноид 5,3'-дигидрокси-6,7,8,4'-тетраметоксифлавоны впервые выделен в России из листьев мяты перечной (*Mentha piperita* L.).

В ходе проведения исследования микробиологической активности водно-спиртовых извлечений листьев мяты перечной определено, что экстракты исследуемых образцов сырья проявляют антибактериальную активность в отношении штаммов *P. aeruginosa*, *P. aeruginosa*, *B. cereus*, условно-патогенных микроорганизмов, таких как *S. maltophilia*, *C. indologenes*, *B. cereus*, *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans*. Исследование противомикробной активности извлечений из листьев мяты

перечной в отношении *Pseudomonas aeruginosa* штамм 1, *Pseudomonas aeruginosa* штамм 2, *Burkholderia cenocepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Chryseobacterium indologenes* проведено впервые.

Исследование сухих экстрактов из листьев некоторых видов и сортов мяты с помощью теста Порсолта показало, что сухой экстракт мяты длиннолистной увеличивает двигательную активность на 154%, проявляет выраженное антидепрессантное действие, тогда как сухой экстракт листьев мяты перечной и 5,3'-дигидрокси-4,7,8,4'-тетраметоксифлавоны снижают двигательную активность животных на 73%, проявляя седативный эффект.

При исследовании диуретической активности было выявлено, что сухой экстракт мяты перечной вызывает достоверное увеличение натрийуреза (на 55%) за 24 часа опыта относительно показателей контроля, а сухой экстракт мяты перечной сорт «Шоколадная» вызывает достоверное значительное увеличение натрийуреза (на 189%) за 4 ч опыта и достоверное значительное увеличение натрийуреза (на 78%) и калийуреза (на 108%) за 24 ч опыта относительно показателей контроля. Сухой экстракт мяты длиннолистной (10 мг/кг) достоверно увеличивает натрийурез (на 46%), калийурез (на 84%) и креатининуризу (на 30%) за 24 ч опыта относительно показателей контроля. Сухой экстракт мяты перечной (10 мг/кг) вызывает изолированное достоверное увеличение натрийуреза (на 82%) относительно показателей контроля. Данные могут быть полезны при разработке калий- и натрий-сберегающих препаратов, а также диуретических, седативных и антидепрессантных средств.

Теоретическая и практическая значимость. На основании проведенного анатомо-гистологического анализа были получены следующие результаты:

1. Черешки мяты перечной могут играть диагностическую роль при отличии листьев данного растения от близкородственных видов, произрастающих в средней полосе России.
2. Наиболее ярким диагностическим признаком является очертание поперечного сечения черешка, имеющего ланцетную форму с изломом по

середине к верхней стороне листа. Излом образует тупой угол, достигающий 140° .

3. Трихомы на поверхности черешка аналогичны описанным ранее в литературе на листовой пластинке. Люминесценция протопластов железистых трихом указывает на наличие в секрете под кутикулой монотерпенов (ментола) и флавоноидов.
4. Основная концентрация флавоноидов, вероятнее всего, локализована во флоэмной части проводящей системы в виде кристаллических веерообразных образований, имеющих характерную для флавоноидов желто-оранжевую люминесценцию в диапазоне возбуждения 330-400 нм.
5. Фенилпропаноиды (розмариновая кислота) локализованы в клетках мезофилла черешка и могут быть обнаружены по ярко-голубой люминесценции в диапазоне возбуждения 330-400 нм.

Полученные данные о строении черешка листа мяты перечной, включенные в раздел «Микроскопические признаки» проекта дополнений к ФС «Мята перечной листья», позволят повысить уровень стандартизации лекарственного растительного сырья мяты перечной.

В ходе колоночной хроматографии были выделены 7 индивидуальных соединений, такие как розмариновая кислота, кофейная кислота, 5,4'-дигидрокси-6,7,3'-триметоксифлавоны, 5,3'-дигидрокси-6,7,8,4'-тетраметоксифлавоны, лютеолин, цинарозид и сахароза. Данные вещества были использованы при разработке методики количественного определения суммы фенилпропаноидов в листьях мяты перечной. Для разработки данной методики применяли метод прямой спектрофотометрии. Валидационная оценка методики проводилась в соответствии с ОФС 1.1.0012 «Валидация аналитических методик» по показателям: специфичность, линейность, правильность.

Разработана методика количественного определения розмариновой кислоты в листьях мяты перечной методом ВЭЖХ с использованием выделенных индивидуальных соединений. Подобраны условия хроматографирования и проведена оценка пригодности методики. Выполнено скрининговое исследование водно-

спиртовых извлечений с целью определения пригодности методики для подтверждения подлинности сырья сортовых форм мяты перечной и других видов рода *Mentha* L.

Разработана методика определения подлинности листьев мяты перечной (*Mentha piperita* L.) методом ТСХ, заключающаяся в обнаружении розмариновой кислоты наряду с ментолом в водно-спиртовых извлечениях мяты перечной, а также способа идентификации сырья с использованием спектрофотометрии.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о целесообразности стандартизации листьев мяты перечной (*Mentha piperita* L.) путем определения содержания доминирующего и диагностически значимого фенилпропаноида – розмариновой кислоты с использованием современных методов ТСХ, УФ-спектрофотометрии, ВЭЖХ с детектированием на УФ-детекторе при $\lambda=330$ нм.

Скрининговое исследование компонентного состава листьев сортовых форм мяты перечной, а также мяты длиннолистной и мяты круглолистной свидетельствует о высоком содержании в них суммы фенилпропаноидов.

Результаты исследования биологической активности водно-спиртовых извлечений и сухих экстрактов из листьев мяты позволили сделать вывод о перспективности использования сырья сортовых форм мяты перечной и других видов мяты для разработки антимикробных, калий- и натрий-сберегающих препаратов, а также диуретических, седативных и антидепрессантных лекарственных растительных средств. Так, при изучении микробиологической активности наиболее сильный бактерицидный и бактериостатический эффект показали образцы водно-спиртовых извлечений мяты перечной сорт «Ментоловая» и мяты круглолистной сорт «Ананасная». Сухие экстракты мяты длиннолистной и мяты перечной сорт «Шоколадная» показали значительную диуретическую и в случае сухого экстракта мяты длиннолистной антидепрессантную активность. Сухой экстракт листьев мяты перечной и 5,3'-дигидрокси-4,7,8,4'-тетраметоксифлавоны показали снижение двигательной активности животных на 73%, проявляя седативный эффект.

Разработан проект дополнений к ФС «Мяты перечной листья» для включения в Государственную фармакопею Российской Федерации.

Внедрение результатов исследования. Результаты диссертационной исследования внедрены в учебно-образовательные и научно-исследовательские процессы подразделений Института фармации Самарского государственного медицинского университета (г. Самара) и кафедры фармакогнозии Пермской государственной фармацевтической академии (г. Пермь). Соответствующие акты приведены в приложениях № 2 диссертационной работы.

Личный вклад автора. В диссертационной работе представлены результаты исследований, которые были получены автором лично. В результате анатомо-гистологического исследования видов рода *Mentha* L. были выявлены диагностически значимые признаки листьев *Mentha piperita* L. При проведении фитохимического исследования листьев мяты перечной (*Mentha piperita* L.) и изучения их компонентного состава, из данного вида сырья автором были выделены и идентифицированы 7 индивидуальных веществ.

Методики качественного и количественного анализов извлечений из листьев мяты перечной, разработанные автором диссертационной работы, с применением современных методов анализа, таких как ТСХ, спектрофотометрии и ВЭЖХ позволили выявить перспективность применения сырья некоторых сортовых форм мяты перечной и других представителей рода *Mentha* L. в фармации и медицине.

Для определения перспективности использования листьев мяты перечной, как источника для создания препаратов, обладающих диуретической и нейротропной активностью, изучены сухие экстракты и извлеченный из листьев мяты перечной и индивидуальное соединение фенольной природы – 5,3'-дигидрокси-6,7,8,4'-тетраметоксифлавоон. В ходе микробиологического исследования определено, что настойки данных видов сырья проявляют антимикробную активность в отношении *P. aeruginosa* штамм 1, *P. aeruginosa* штамм 2, *B. cenocercia*, *S. maltophilia*, *C. indologenes*, штаммов *B. cereus* (ATCC 29213) *S. aureus* (ATCC 29213), *E. coli* (ATCC 25922), *P. aeruginosa* (ATCC 27853), *C. albicans* (ATCC 90028).

Автор является разработчиком проекта дополненной ФС на ЛРС «Мята перечной листья», в котором приведена новая редакция разделов «Микроскопические признаки», «Идентификация», «Количественное определение» (Приложение № 6).

Связь задач исследования с планами научно-исследовательских работ.

Диссертационное исследование проводилось с учетом плана научно-исследовательских работ Самарского государственного медицинского университета, а именно в рамках выполнения темы НИОКР: «Химико-фармацевтические, биотехнологические, фармакологические и организационно-экономические исследования по разработке, анализу и применению фармацевтических субстанций и лекарственных препаратов» (регистрационный номер: АААА-А19-119051490148-7, Дата регистрации: 14.05.2019 г.).

Методология и методы исследования. Методология данной диссертационной работы основана на глубоком и детальном анализе и систематизации существующих литературных данных, касающихся фармакогностических исследований листьев некоторых видов и сортов представителей рода *Mentha* L., оценке актуальности и степени разработанности выбранной темы исследования.

В рамках диссертационной работы была определена цель исследования, сформулированы ключевые задачи для её достижения, а также разработан план выполнения диссертационного исследования, выбраны объекты и методы исследования.

Объектами данного исследования являлись листья некоторых видов и сортов представителей рода мята (*Mentha* L.), культивируемые в разных регионах России. Сырье заготовлено в Ботаническом саду Самарского университета (г. Самара), Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Ордена Трудового Красного Знамени Никитском ботаническом саду — Национальном научном центре РАН» (г. Ялта). Исследовались также промышленные образцы сырья (АО «Красногорсклексредства» различных серий, биологически активная добавка (БАД) мяты перечной ООО «Камелия-ЛТ»). Также в ходе диссертационного исследования были изучены водно-спиртовые извлечения из них. Исследование осуществлялось с применением современных методов, таких как цифровая и люминесцентная микроскопия, различные виды хроматографий (тонкослойная, колоночная, высокоэффективная жидкостная), УФ-спектрофотометрии, масс-спектрометрии, ЯМР-спектроскопии, а также методы фармакологических исследований.

Математическую обработку полученных данных осуществляли с применением программного обеспечения в соответствии с Государственной фармакопеей Российской Федерации XIV и XV изданий.

Степень достоверности. Достоверность настоящей диссертационной работы обусловлена значительным объемом экспериментальных данных, полученных в ходе исследования с использованием как современных, так и классических аналитических методов, а также корректной обработкой большого объема информации и опорой на актуальные и рецензируемые источники. Результаты исследования были обработаны с применением математических методов анализа данных.

Цельные листья некоторых видов и сортов представителей рода мята (*Mentha L.*) являлись объектами данного исследования. Сырье некоторых видов и сортов представителей рода мята (*Mentha L.*), культивируемое на территории Российской Федерации, было собрано на фармакопейном участке Ботанического сада Самарского Университета, а также в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Ордена Трудового Красного Знамени Никитском ботаническом саду — Национальном научном центре РАН» (г. Ялта). Исследовались также промышленные образцы сырья (АО «Красногорсклексредства» различных серий, биологически активная добавка (БАД) мяты перечной ООО «Камелия-ЛТ»). Также в ходе диссертационного исследования были изучены водно-спиртовые извлечения из них. Исследования проводились с применением современных методов исследования.

Обработка полученных данных проводилась с применением программного обеспечения в соответствии с действующими общими фармакопейными статьями Государственной фармакопеи Российской Федерации.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Диссертационная работа соответствует пп. 2,3,5 и 6 паспорта научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки).

Положения, выдвигаемые на защиту:

1. Результаты исследования анатомии и гистологии листьев мяты перечной (петиолярная микроскопия методом световой и люминесцентной микроскопии).
2. Данные по разработке подходов к качественному анализу листьев мяты методом тонкослойной хроматографии и спектрофотометрии.
3. Данные о результатах исследования компонентного состава листьев мяты перечной, способах препаративного выделения и идентификации индивидуальных соединений.
4. Результаты исследования по разработке методики количественного определения суммы фенилпропаноидов в водно-спиртовых экстрактах мяты перечной (*Mentha piperita* L.) в пересчете на розмариновую кислоту и абсолютно сухое сырье методом прямой спектрофотометрии.
5. Результаты разработки методики качественного исследования состава водно-спиртовых извлечений мяты перечной (*Mentha piperita* L.) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.
6. Результаты разработки методики количественного исследования розмариновой кислоты мяты перечной (*Mentha piperita* L.) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.
7. Результаты диссертационной работы, включенные в проект дополненной фармакопейной статьи «Мяты перечной листья».

Публикации. Автор диссертационного исследования представил результаты своей работы в 18 публикациях. Среди них 5 статей опубликованы в журналах, которые включены в перечень рецензируемых научных изданий, утверждённый Высшей аттестационной комиссией, в том числе 3 статьи были размещены в журналах, входящих в международные базы данных. Получен 1 патент Российской Федерации на изобретение № 2833834 «Способ количественного определения розмариновой кислоты в листьях мяты перечной».

Апробация работы. Результаты диссертационной работы были доложены и обсуждены на симпозиумах, научных и научно-практических конференциях

различных уровней (областного, всероссийского и международного), таких как XII научно-практической конференции молодых учёных и студентов ТГМУ им. Абу-али ибни Сино с международным участием, посвящённой «Году молодёжи» (Таджикистан, 2017 г.); V научно-практическая конференция «Современные аспекты использования растительного сырья и сырья природного происхождения в медицине» (г. Москва, 2017 г.); X Международный симпозиум «Фенольные соединения: свойства, активность, инновации» (г. Москва, 2018 г.); III Межвузовская научно-практическая конференция с международным участием, посвященная 100-летию Самарского государственного медицинского университета «Современные проблемы фармакогнозии» (г. Самара, 2018 г.); IV Межвузовская научно-практическая конференция, посвященная 100-летию Самарского государственного медицинского университета «Фармацевтическая ботаника: современность и перспективы» (г. Самара, 2019 г.); XIV Всероссийская (88-я Итоговая) студенческая научная конференция СНО с международным участием, посвященная 90-летию Клиник СамГМУ «Студенческая наука и медицина XXI века: традиции, инновации и приоритеты» (г. Самара, 2020 г.); III Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы и перспективы фармацевтической науки и практики» (г. Кемерово, 2023 г.); XIV Всероссийская научная конференция с международным участием молодежного научного общества «Молодая фармация – потенциал будущего» (г. Санкт-Петербург, 2024 г.); Международная конференция «Достижения и перспективы создания новых лекарственных средств растительного происхождения» (г. Москва, 2024 г.); Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Аспирантские чтения - 2023: Молодые ученые - медицине. Приоритетные направления науки в достижении технологического суверенитета.» SIMS - 2023: Samara International Medical Science (г. Самара, 2023 г.); III Научно-практическая онлайн-конференция с международным участием, посвященная 105-летию Самарского государственного медицинского университета «Современные проблемы фармации» (г. Самара, 2024 г.); XXV Международный съезд ФИТО-ФАРМ 2024 (г. Санкт-Петербург, 2024 г.).

Объем и структура работы. Диссертационная работа изложена на 174 страницах, состоит из введения, обзора литературы, главы об объектах и методах исследования, 4 глав результатов экспериментальных исследований, выводов и заключения, списка литературы и приложения. В данную работу включены 26 таблиц и 33 рисунков. Список литературы состоит из 163 источников, из которых 27 – на иностранном языке.

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ СВЕДЕНИЯ О КОМПОНЕНТНОМ СОСТАВЕ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВАХ ВИДОВ РОДА МЯТА (*MENTHA* L.) (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Ботаническое описание и ареал видов рода *Mentha* L.

Семейство Губоцветные (Яснотковые) – *Labiatae* (*Lamiaceae*) насчитывает в своем составе более 180 родов и около 3500 видов, распространенных повсеместно [27, 31, 114]. Многие растения из семейства Губоцветные (*Lamiaceae*) обладают лекарственными свойствами (почечный чай, мята, базилик, пустырник, панцерия и др.) [27].

К данному семейству относятся растения рода *Mentha* L. Род *Mentha* L. - многолетние, реже однолетние, травянистые растения, высотой от 15 до 100 см [31]. Растения рода Мята произрастают повсеместно, исключая территории Арктики [31].

В диком виде на территории Российской Федерации и стран СНГ встречаются такие представители рода *Mentha* L., как мята водяная, мята зеленая, мята пулегиевая (блошница), мята полевая и другие [27].



Рисунок 1 – Мята пулегиевая (*M. pulegium* L.) [155]

Мята пулегиевая (блошница) (*M. pulegium* L.) представляет собой многолетние травянистые растения с прямостоячими или стелющимися побегами, длина которых варьируется от 15 до 50 см [27]. Листовые пластины обладают короткими черешками, имеют яйцевидную форму, достигая 8-25 мм в длину и 5-12 мм в ширину, и характеризуются длинным опушением [27]. Соцветия цветков располагаются в пазушных зонтиках, образуя мутовки [27]. Чашечка цветка достигает около 3 мм в длину, отличается щетинистой текстурой; нижняя губа обладает двумя

шиловидными широкотреугольными зубцами, в то время как верхняя губа имеет три - ланцетной формы. Венчик окрашен в ярко-розовый, розово-сиреневый или белый цвет и в два раза превышает размер чашечки. Семена-орешки имеют округлую форму, их диаметр составляет приблизительно 0,5 мм. Цветение происходит в июле. Мята пулегиевая встречается в окрестностях водоемов, на известняках и мергелях [27].



Рисунок 2 – Мята водная (*M. aquatica* L.) [156]

Мята водная (*M. aquatica* L.) – многолетнее растение, 20-100 см в высоту [98]. Произрастает в Европейской части Евразии: России (Республика Крым, во всех районах Кавказ, кроме Южного Закавказья), Прибалтике, Молдавии. Встречается мята водная преимущественно у воды, болотистых участков, лесах [98].



Рисунок 3 – Мята полевая (*M. arvensis* L.) [157]

Мята полевая (*M. arvensis* L.) - многолетник 8-100 см в высоту [98]. Ареал распространения данного вида охватывает территории Арктики, а также европейской части, за исключением Крыма, Кавказа, Сибири, Средней Азии и Дальнего

Востока [98]. Мята полевая обитает в тенистых лесах, на берегах водоемов, в лугах, на полях и в заболоченных участках лесной местности [98].



Рисунок 4 – Мята длиннолистная (*M. longifolia* L.) [158]

Мята длиннолистная (*M. longifolia* L.) представляет собой многолетнее травянистое растение, имеющее высоту в диапазоне от 3 до 180 см. Это растение распространено на территории Европейской части континента, Кавказа, Западной Сибири и Средней Азии [98]. Для произрастания необходима тень и влага, поэтому чаще всего мята длиннолистная встречается у сырых берегов рек, озер, края болот, канав, на заливных лугах, в галечниковых ущельях [98].



Рисунок 5 – Мята колосковая (*M. spicata* L.) [159]

Мята колосковая (*M. spicata* L.) представляет собой многолетнее травянистое растение, высотой от 40 до 90 см [98]. Этот вид мяты распространен на территории Европейской части России, включая Кавказ, Западную Сибирь, Алтайский край и Среднюю Азию. *Mentha spicata* L. встречается на берегах рек, в луговых и полевых участках, а также в ореховых лесах [98].



Рисунок 6 – Мята перечная (*M. piperita* L.) [160]

Согласно описанию, приведенному в учебнике для студентов фармацевтических вузов «Фармакогнозия» авторства В.А. Куркина, «Мята перечная (*M. piperita* L.) в диком виде не встречается, однако широко культивируется на территории России и стран СНГ. Это многолетнее травянистое растение достигает от 60 до 100 см высоты. Стебли мяты перечной ветвистого строения, четырехгранные, голые или с редкими волосками и густо облиственны. Листья расположены накрест супротивно, имеют короткие черешки, продолговато-яйцевидные, с заостренной верхушкой и сердцевидным основанием. Край листа неравномерно-остропильчатый, причем в этом верхняя сторона листьев имеет темно-зеленый цвет, нижняя – светло-зеленый. На обеих сторонах листьев располагаются многочисленные эфиромасличные железки. Цветки мелкие, красно-фиолетового цвета, со слегка неправильным четырехлопастным венчиком, собранные на верхушках стеблей и ветвей в соцветия колосовидного типа. Корневище горизонтальное и ветвистое, с тонкими мочковатыми корнями, которые отходят от узлов корневищ. От корневища развиваются многочисленные молодых подземные побеги, находящиеся близко к поверхности почвы, некоторые их проникают глубже в почву и приобретает характер корневищ, остальные - выходят на поверхность почвы и стелется в виде плетей. Все растения обладают характерным пряным ароматом. Цветение происходит с конца июня до сентября. Размножение мяты происходит вегетативно посредством отрезков корневищ длиной от 6 до 10 см и молодых побегов от перезимовавших в почве корневищ. Основными районами культивирования в России являются Северный Кавказ (в частности, Краснодарский край),

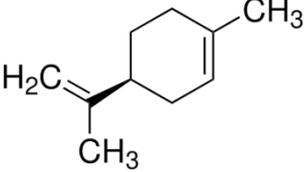
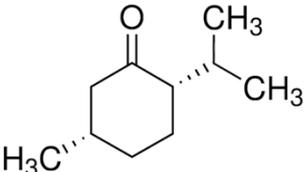
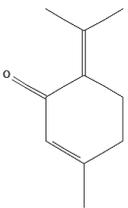
Республика Крым, Воронежская область, а также территории бывшего СССР — Украина, Молдова, Беларусь» [62].

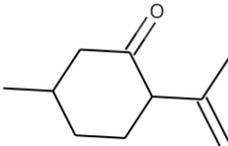
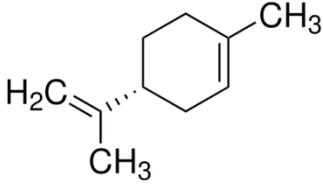
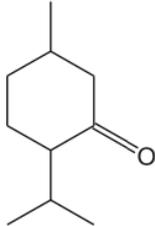
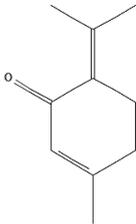
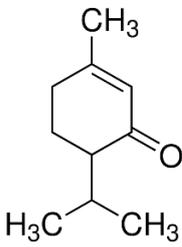
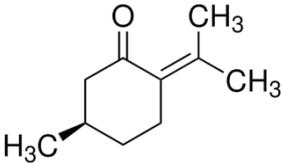
1.2. Химический состав представителей рода *Mentha* L.

Химический состав видов рода *Mentha* L. представляет большой интерес для отечественных и зарубежных ученых [4, 7, 15, 34, 36, 44, 62, 68, 71, 73, 74, 79, 81, 84, 89, 104, 105, 109, 122, 128, 129, 131, 132, 134, 139, 142, 150, 151, 153, 161, 163]. Все представители данного рода относятся к эфиромасличным растениям [14, 19, 75, 91, 121, 125, 127, 144, 154, 162].

В листьях мяты пулегиевой (блошницы) (*M. pulegium* L.) содержится от до 2% эфирного масла. В состав эфирного масла входят вещества, описанные в таблице 1 [98].

Таблица 1 – Химический состав эфирного масла *M. pulegium* L. [98]

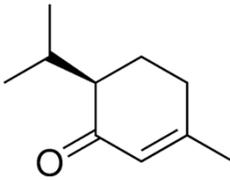
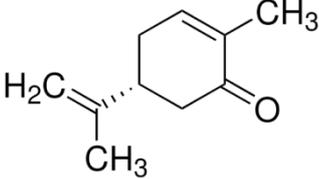
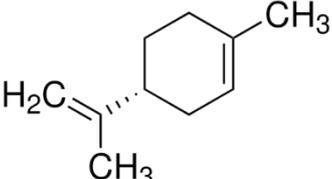
№ п/п	Соединение	Структурная формула соединения	Брутто-формула соединения
1.	Дипентен		C ₁₀ H ₁₆
2.	Изоментон		C ₁₀ H ₁₈ O
3.	Изопиперитон		C ₁₀ H ₁₄ O

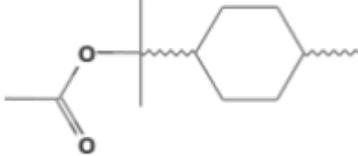
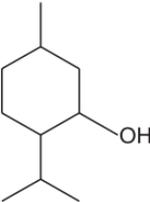
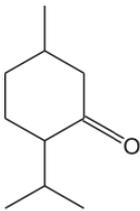
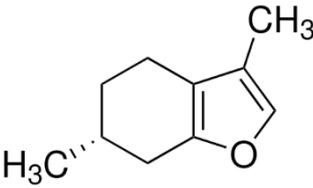
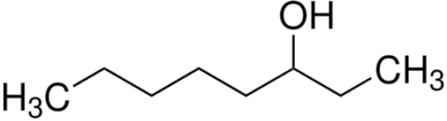
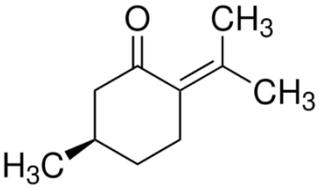
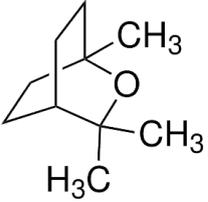
4.	Изопулегон		$C_{10}H_{16}O$
5.	Лимонен		$C_{10}H_{16}$
6.	Ментон		$C_{10}H_{18}O$
7.	Октен-1-ол-3	$CH_3(CH_2)_3CH_2-CH(OH)-CH=CH_2$	$C_8H_{16}O$
8.	Пиперитенон		$C_{10}H_{14}O$
9.	Пиперитон		$C_{10}H_{16}O$
10.	Пулегон		$C_{10}H_{16}O$

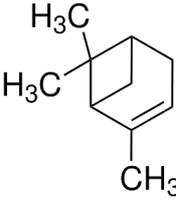
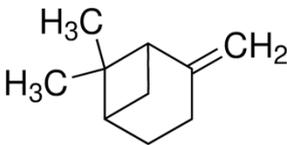
Также в компонентном составе мяты пулегиевой (блосница) (*M. pulegium* L.) содержатся сапонины, дубильные вещества (3,7%), кумарины, флавоноиды (диосмин) [98]. Как описано в «Растительные ресурсы СССР. Цветковые растения, их химический состав, использование: Семейства Caprifoliaceae – Plantaginaceae» Т.А. Орлова «в надземной части данного растения содержатся алкалоиды (0,25%) и флавоноиды (0,24 – 0,28%), высшие жирные кислоты, такие как лауриновая кислота, миристиновая кислота и пальмитиновая кислота. В литературе также описано наличие стеблях витамина С, каротина и эфирного масла, содержание которого составляет приблизительно 1,7% по отношению к сухой массе сырья. Кроме того, в цветках мяты перечной также описано наличие витамин С» [98].

Мята водная (*M. aquatica* L.) содержит до 1,47% эфирного масла, в составе которого соединения приведенные в таблице 2 [98].

Таблица 2 - Химический состав эфирного масла *M. aquatica* L. [98]

№ п/п	Соединение	Структурная формула соединения	Брутто - формула соединения
1.	Изопиперитон		C ₁₀ H ₁₆ O
2.	Карвон		C ₁₀ H ₁₄ O
3.	Лимонен		C ₁₀ H ₁₆

4.	Ментенилацетат		$C_{12}H_{22}O_2$
5.	Ментол		$C_{10}H_{20}O$
6.	Ментон		$C_{10}H_{18}O$
7.	Ментофуран		$C_{10}H_{14}O$
8.	Октанол-3		$C_8H_{18}O$
9.	Пулегон		$C_{10}H_{16}O$
10.	Цинеол		$C_{10}H_{18}O$

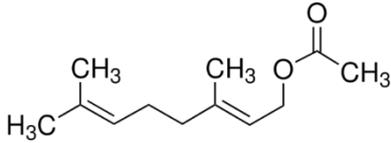
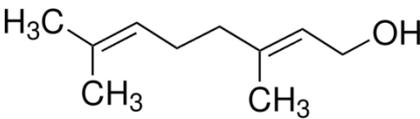
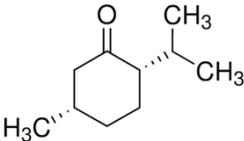
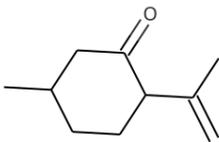
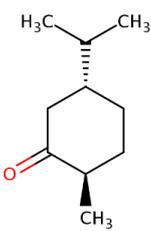
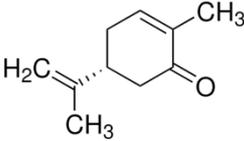
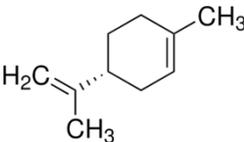
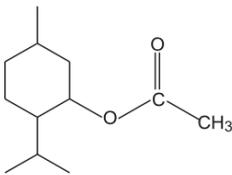
11.	α -пипен		$C_{10}H_{16}$
12.	β -пинен		$C_{10}H_{16}$

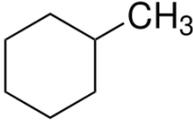
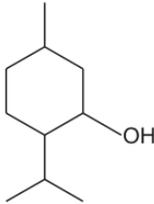
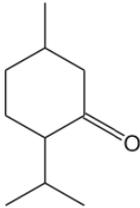
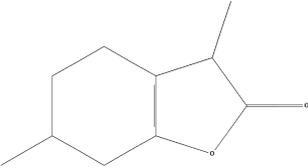
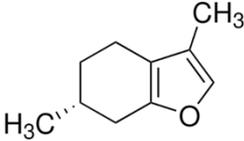
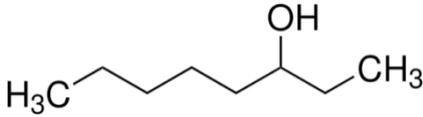
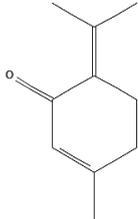
Также описано, что в составе *M. aquatica* L. содержатся стероиды, сапонины, дубильные вещества (11%), флавоноиды (гесперидин, изоройфолин, ментозид, пиперитозид) [98]. В надземной части содержание эфирного масла составляет около 0,8%, флавоноиды (7-рутинозид лютеолина, пиранозид лютеолина, 7- β -D-глюкопиранозид, 7- α -L-рамнозил- β -D-глюкопиранозид, 7- α -L-рамнозил- β -D-глюкопиранозид-5,7,3'-тригидрокси-4'-метоксифлаванона, 7- β -D-рутинозид эриодиктиола, гесперидин, 7- β -D-рутинозид акацетина, 7- β -D-глюкопиранозид гесперетина, 7- β -D-глюкопиранозид эриодиктитиола, 7-O- β -D-глюкопиранозид и 7-рутинозид апигенина, акацетин, апигенин, лютеолин [98]. В стеблях также содержится эфирное масло (0,3%) [98]. В листьях описаны углеводы, органические кислоты (3,2%), эфирное масло (0,2 - 1,2%), витамин С, витамин К, каротин, дубильные вещества (1,2%), липиды (1,76%) [98].

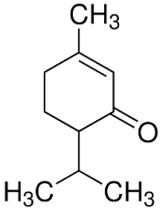
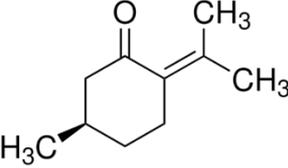
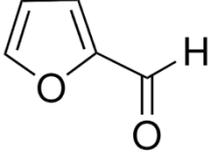
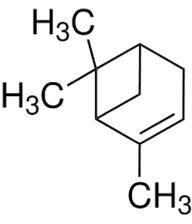
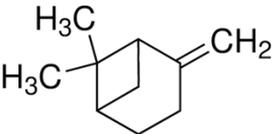
Мята полевая (*M. arvensis* L.) в своем составе имеет органические кислоты (уксусная кислота), содержит эфирное масло. Состав, которого описан в таблице 3 [98].

Таблица 3 - Химический состав эфирного масла *M. arvensis* L. [98]

№ п/п	Соединение	Структурная формула соединения	Брутто – формула соединения

1.	Геранилацетат		$C_{12}H_{20}O$
2.	Гераниол		$C_{10}H_{18}O$
3.	Изоментон		$C_{10}H_{18}O$
4.	Изопулегон		$C_{10}H_{16}O$
5.	Карвоментон		$C_{10}H_{18}O$
6.	Карвон		$C_{10}H_{14}O$
7.	Лимонен		$C_{10}H_{16}$
8.	Ментилацетат		CH_3COOCH_3

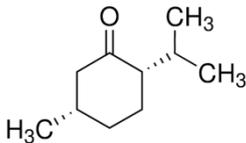
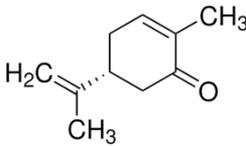
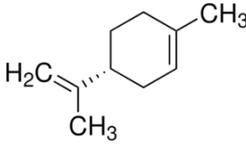
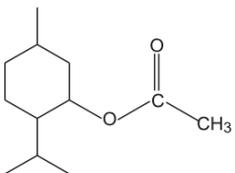
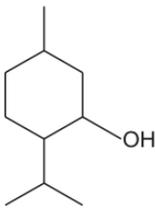
9.	Ментилциклогексан		$C_6H_{11}CH_3$
10.	Ментол		$C_{10}H_{20}O$
11.	Ментон		$C_{10}H_{18}O$
12.	Ментофуралактон		$C_{10}H_{14}O_2$
13.	Ментофуран		$C_{10}H_{14}O$
14.	Октанол-3		$C_8H_{18}O$
15.	Пиперитенон		$C_{10}H_{14}O$

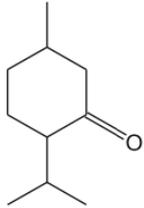
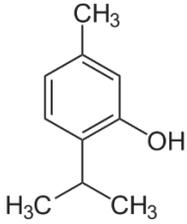
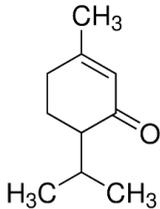
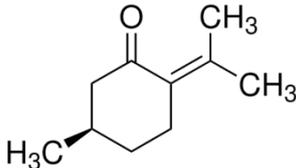
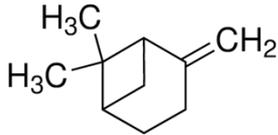
16.	Пиперитон		$C_{10}H_{16}O$
17.	Пулегон		$C_{10}H_{16}O$
18.	Ферфураль (фурфурол)		$C_5H_4O_2$
19.	α -пипен		$C_{10}H_{16}$
20.	β -пинен		$C_{10}H_{16}$

Также описано, что в составе мяты полевой есть фенолкарбоновые кислоты в гидролизате (кофейная кислота, феруловая кислота, *n*-кумаровая кислота), антоцианы [98]. Содержание эфирного масла в траве мяты полевой колеблется от 0.84-3%, состав схож с описанным выше (табл. 3). В стеблях также содержится эфирное масло (до 0,06%) [98]. Семена мяты полевой также содержат эфирное масло (в составе: ментол, ментон, пелегон) [98]. Из травы мяты полевой можно получить жирное масло, которое включает в себя олеиновую кислоту (13%), линолевую кислоту (16%), линоленовую (58%) [98].

Согласно литературным источникам, в эфирном масле листьев **мяты длиннолистной** (*M. longifolia* L.) были выявлены следующие химические соединения (табл. 4).

Таблица 4 - Химический состав эфирного масла *M. longifolia* L. [98]

№ п/п	Соединение	Структурная формула соединения	Брутто – формула соединения
1.	Изоментон		$C_{10}H_{18}O$
2.	Карвон		$C_{10}H_{14}O$
3.	Лимонен		$C_{10}H_{16}$
4.	Ментилацетат		CH_3COOCH_3
5.	Ментол		$C_{10}H_{20}O$

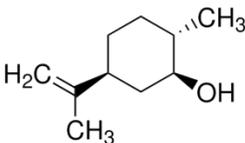
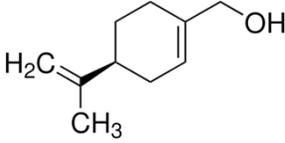
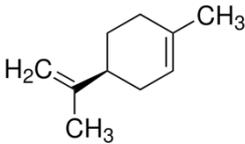
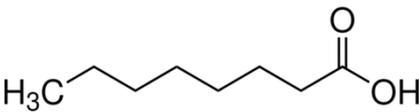
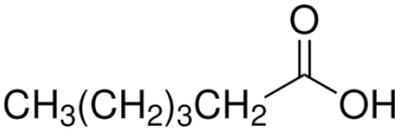
6.	Ментон		$C_{10}H_{18}O$
7.	Тимол		$C_{10}H_{14}O$
8.	Пиперитон		$C_{10}H_{16}O$
9.	Пулегон		$C_{10}H_{16}O$
10.	β -пинен		$C_{10}H_{16}$

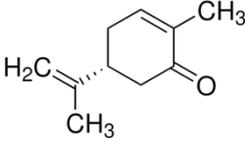
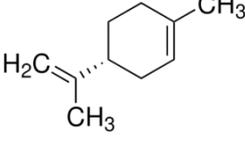
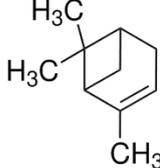
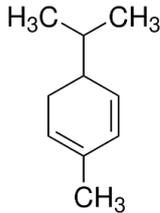
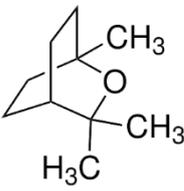
Согласно литературным данным, взятым из «Растительные ресурсы СССР. Цветковые растения, их химический состав, использование: Семейства *Caprifoliaceae* – *Plantaginaceae*» и «Фенольные соединения водно-этанольного экстракта *Mentha longifolia* L.» Гребенникова О.А. «в составе листьев мяты длиннолистной содержатся следующие компоненты, углеводы (в частности, сахароза), трирерпеноиды (олеаноловая, урсоловая и эпиурсоловая кислоты), карденолиды, витамин К, хромоны, кумарины, флавоноиды (включая кверцитрин, гесперидин, изоройфолин, ментозид, пиперитозид), дитерпеноиды, тритерпеноиды, стероиды, фенолкарбоновые кислоты и их производные, а также фенилпропаноны, среди которых

розмариновая и кофейная кислоты» [26, 98, 101]. Содержание эфирного масла в листьях составляет до 2,89%, при этом основными компонентами являются ментол, ментон, изоментон, неоментон, неоментол [98].

Мята колосковая (*M. spicata* L.) содержит эфирное масло в количестве от 0,15% до 0,3%, состав которого представлен в таблице 5 [98], а также эфиры уксусной, валериановой и масляной кислот, дигидрокумариновый спирт, капроновая кислота, каприловая кислота [98].

Таблица 5 – Химический состав эфирного масла *M. spicata* L. [98]

№ п/п	Соединение	Структурная формула соединения	Брутто – формула соединения
1.	Дигидрокарнеол		$C_{10}H_{18}O$
2.	Дигидрокуминовый спирт		$C_{10}H_{16}O$
3.	Дипентен (лимонен)		$C_{10}H_{16}$
4.	Каприловая кислота		$C_8H_{16}O_2$
5.	Капроновая кислота		$CH_3(CH_2)_4COO$ H

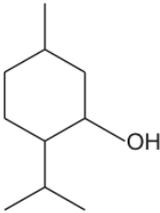
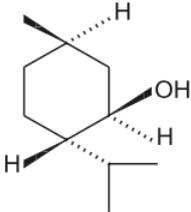
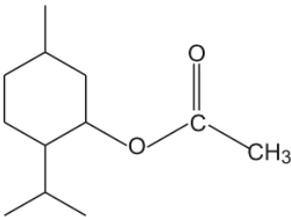
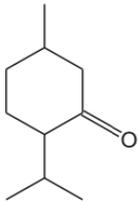
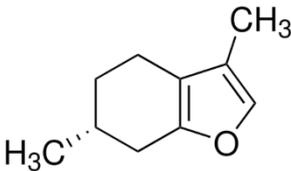
6.	Карвон		$C_{10}H_{14}O$
7.	Лимонен		$C_{10}H_{16}$
8.	Пинен		$C_{10}H_{16}$
9.	Фелландрен		$C_{10}H_{16}$
10.	Цинеол		$C_{10}H_{18}O$

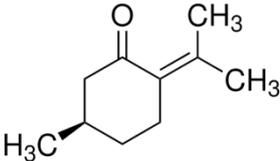
Тем не менее, несмотря на разнообразный компонентный состав рассматриваемых видов мяты, Государственная фармакопея Российской Федерации устанавливает требования к качеству сырья только одного вида - **мяты перечной (*M. piperita* L.)** [23, 24, 25].

В составе фармакопейного сырья листьев мяты перечной определено несколько групп биологически активных соединений (БАВ) [67, 112]. Одной из них является эфирное масло (около 3-5%) [37, 38, 62, 106], основным компонентом которого является моноциклический монотерпен – ментол (50-80%), а также другие терпеноиды – ментон (10-20%), ментофуран (до 5-10%), пулегон, эфиры ментола с уксусной (ментилацетат) и изовалериановой кислотами (5-20%) [62] (табл. 6).

Наиболее богаты маслом соцветия мяты перечной, невысокое содержание эфирного масла отмечено в стеблях [62]. В мятном масле также присутствуют сопутствующие терпены: лимонен, α -фелландрен, α -пинен, β -пинен, в свободном виде уксусная и изовалериновые кислоты [62].

Таблица 6 – Химический состав эфирного масла *M. piperita* L. [62]

№ п/п	Соединение	Структурная формула соединения	Брутто – формула соединения
1.	Ментол [47]		$C_{10}H_{20}O$
2.	(-)-ментон		$C_{10}H_{18}O$
3.	Ментилацетат		CH_3COOCH_3
4.	Ментон		$C_{10}H_{18}O$
5.	Ментофуран		$C_{10}H_{14}O$

6.	Пулегон		C ₁₀ H ₁₆ O
----	---------	--	-----------------------------------

Второй группой БАС выделяют флавоноиды, включая производными апигенина (ментозид), лютеолина, гесперидина и других агликонов [28, 62]. Как сопутствующие вещества отмечают тритерпеновые сапонины (урсоловая и олеаноловая кислоты) (до 0,5%), дубильные вещества, каротиноиды, бетаин и др. [62].

О химическом составе изучаемых сортовых форм рода *Mentha* L. данных в открытых источниках нет.

Из этого следует вывод, что несмотря на большое разнообразие видов и сортов представителей рода Мята (*Mentha* L.), их компонентный состав имеет общие химические соединения.

1.3. Фармакологические свойства и область применения листьев мяты

Мята пулегиевая (блошница) (*M. pulegium* L.) применяется при бронхиальной астме, кашле, заболеваниях желудочно-кишечного тракта, подагре [27]. В народной медицине настой и отвар – антисептическое, седативное, ранозаживляющее, асците, раке матки. Эфирное масло применяется при подагре [27].

Мята водная (*M. aquatica* L.) применяется в народной медицине при желудочных коликах, рвоте, детоксикационное – отравлении грибами, укусах змей; припарки – противоопухолевое и при мастите [27]. Надземная часть применяется как тонизирующее, противосудорожное, диуретическое, желчегонное, при желчнокаменной болезни, заболеваниях желудка, гастралгии, диарее, метеоризме, благодаря флавоноидам содержащимся в составе проявляет холеретическую активность [27]. В ветеринарии – при коликах, метеоризме. Листья применяются в народной медицине как ранозаживляющее, седативное, желчегонное, при сердечной недостаточности, заболеваниях желудка, метеоризме. Проявляет противовирусное и противогрибковое действие [27].

Настой мяты полевой (*M. arvensis* L.) применяется как спазмолитическое, диуретическое, жаропонижающее, при желудочных заболеваниях, метеоризме, для стимуляции регул [27]. В китайской, тибетской, монгольской, индийской и народной медицине настой и отвар проявляют противовоспалительное, ранозаживляющее, гемостатическое, при гастрите, дизентерии, диарее, желудочных коликах, гастралгии, диспепсии, рвоте, туберкулезе легких, респираторных заболеваниях, коклюше, головокружении, зубной боли [27]. Эфирное масло используется для возбуждения аппетита, слабительного, антигельминтного эффекта. В Китае и Японии официально применяются листья. В ветеринарии- при мастите у коров [**Ошибка! Источник ссылки не найден.**].

Мята длиннолистная (*M. longifolia* L.) официально применяется в США и Венесуэле [27]. Сок используется в качестве отхаркивающего средства при различных заболеваниях желудка, асците и гепатите [27]. Он также применяется при эпилепсии, желудочных коликах, рвоте, диарее и респираторных инфекциях. В средневековой медицинской практике Армении сок был рекомендован для лечения гипертонической болезни и нервно-психических расстройств [27]. Настой, приготовленный из данного растения, обладает седативным эффектом [27].

Мята колосковая (*M. spicata* L.) применяется при головной боли, гипоксии, бронхиальной астме, гастралгии, рвоте, диарее, аминорее, припарки – как противоопухолевое [27]. Листья входили в отечественную фармакопею 1-4-го издания. В народной медицине – при заболеваниях печени, желчного пузыря, как спазмолитическое, при головной боли [27]. Эфирное масло – противосудорожное, наружно-при невралгии. Проявляет антабактериальную и антифунгальную активности [27].

Мята перечная (*M. piperita* L.) применяется как спазмолитическое, противовоспалительное, желчегонное, седативное, антисептическое, анальгетическим, противовоспалительным, антимикробным [41, 42], седативным, протвотревожным, действием [8, 9, 10, 17, 30, 33, 64, 65, 66, 69, 72, 76, 78, 94, 95, 99, 100, 108, 110, 116, 118, 120, 123, 126, 135, 136, 141, 143, 147, 148, 149].

В народной медицине данный вид мяты применяется как желчегонное, седативное средство [34]. Применяются как водные (чай, травяные настои, отвары), так и водно-спиртовые экстракты на листьях мяты перечной (настойки) [34, 35, 58, 75].

По данным из источников литературы в медицине мята перечная также применяется как средство, обладающее антиоксидантным, анальгетическим свойствами и фотозащитным эффектом [33, 40, 64, 90, 120, 130]. Мята включена в состав комбинированных препаратов для лечения урологических заболеваний [65, 72]. Также мята является ценным источником эфирного масла мяты [14]. По данным из открытых источников эфирное масло мяты предлагается применять как средство лечения хронического катарального гингивита у детей [30]. Листья мяты перечной входят в состав желчегонных сборов № 1, № 2 и № 3, успокоительных сборов № 1 и № 2, грудного сбора № 4 и др. [65].

Из листьев мяты перечной получают настойку, водно-спиртовое извлечение из листьев на 90% спирте этиловом в смеси с маслом используют для устранения тошноты и рвоты, как болеутоляющее средство, а также как коррегирующий компонент в микстурах [72].

Эфирное масло мяты перечной широко используется в медицине в качестве освежающего и антисептического средства, а в парфюмерии входит в состав ароматной воды, зубных паст и порошков [3, 29, 33, 47, 70]. Мятное масло является составной частью многочисленных препаратов («Корвалол», «Валокордин», «Таблетки мятные» и др.), оказывающих успокаивающее, спазмолитическое, противотошнотное действие [75].

Основной компонент мятного масла - ментол входит в состав комплексных сердечно-сосудистых препаратов (валидол, капли Зеленина и др.), а также используется для производства обезболивающих препаратов («Меновазин»), антисептических средств («Пектусин» и др.), противомигреневых карандашей, мазей («Эфкамон»), всевозможных капель, в том числе от насморка («Эвкатол»), ингаляционных смесей («Ингакамф») и т.д. [65].

Сортовые формы рода *Mentha* L. применяются в кулинарии, как украшение для кондитерских изделий и компоненты различных напитков.

Многие представители рода *Mentha* L. применяются в сельскохозяйственной промышленности [138], литейном деле [137], как добавка к кормовым составам, обеспечивающая противомикробный эффект [83].

Как ароматическое в парфюмерии, свечеварении, мыловарении [75].

Мята применяется в технологии изготовления хлебобулочных изделий [1, 6, 18, 20, 43, 56, 57, 59, 80, 85, 86, 96, 97, 107, 115, 117, 142].

Эфирное масло мяты применяется в парфюмерии и ароматерапии [75].

Отмечается инсектицидную и репеллентную активность [32, 103, 152].

1.4. Актуальные аспекты стандартизации листьев *Mentha piperita* L.

Вопросы стандартизации листа мяты перечной и препаратов на основе данного сырья не теряют своей актуальности [4, 11, 12, 15, 92, 93, 127]. Мята перечная и её сортовые формы активно исследуются учеными со всего мира [57, 73, 74, 77, 89, 104, 105, 140]. При проведении обзора литературы нами были выявлены несоответствия в подходах к стандартизации сырья листьев мяты перечной и препаратов на его основе [21, 22, 24, 133]. Так, в фармакопеях зарубежных стран [133] для стандартизации листьев мяты перечной определяют количественное содержание эфирного масла, тогда как сумма флавоноидов не определяется. Однако в случае экстракта сухого из листьев мяты перечной методом ВЭЖХ определяют содержание розмариновой кислоты [133].

В Государственной фармакопее Российской Федерации в разделе «Подлинность» ФС.2.5.0029.15 «Мята перечной листа» ГФ РФ XIV издания при описании методики определения основных групп биологически активных веществ методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) используется раствор стандартного образца (СО) тимола, однако данное биологически активное вещество (БАВ) не является диагностически значимым компонентом данного сырья.

Кроме того, в разделе «Количественное определение» наряду с эфирным маслом методом дифференциальной спектрофотометрии определяют сумму флавоноидов в пересчете на лютеолин, однако используемая методика не лишена недостатков. На наш взгляд, с точки зрения стандартизации больший интерес представляют фенилпропаноиды, в частности, розмариновая кислота, являющаяся

доминирующим компонентом фенольной природы в листьях мяты перечной [63, 88, 124]. В этом отношении актуальным является внедрение в фармакопейный анализ листьев мяты перечной использование метода высокоэффективной жидкостной хроматографии.

В разделе ФС.2.5.0029.15 «Определение основных групп биологически активных веществ» при проведении тонкослойной хроматографии наряду с раствором ментола, целесообразно использовать раствор стандартного образца доминирующего компонента - розмариновой кислоты.

В подразделе «Микроскопические признаки» раздела «Подлинность» не приведены признаки люминесцентной микроскопии листа мяты перечной. Также нет описания петиолярной анатомии листа, в том числе с использованием современных методов микроскопии, таких как люминесцентная микроскопия.

Исходя из зарубежного опыта, нами были рассмотрены существующие методики количественного определения фенилпропаноидов в листьях мяты перечной методом ВЭЖХ [140]. Однако данная методика анализа продолжительна по времени и сопряжена с большим расходом подвижной фазы.

Все это позволяет сделать вывод о необходимости разработки новых подходов в стандартизации для лекарственного растительного сырья листьев мяты перечной.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 1

1. По результатам литературного обзора было выявлено отсутствие описания в литературе петиолярной анатомии листа мяты перечной, люминесцентной микроскопии листа.
2. В ходе литературного обзора было определено, что эфирные масла различных видов мяты имеют схожий компонентный состав. Так, в эфирных маслах многих видов встречается ментол, ментон, изоментон, пулегон, изопулегон, пиперитон и др.
3. В компонентном составе листьев различных видов встречаются соединения фенольной природы: флавоноиды (лютеолин) и фенилпропаноиды (кофейная кислота, хлорогеновая кислота, розмариновая кислота). Например, в компонентном составе мяты длиннолистной описаны углеводы, в частности сахароза.
4. Данные, полученные в ходе обзора литературы, позволяют сделать вывод о необходимости определения фенилпропаноидов, в частности розмариновой кислоты, как третьей группы БАС в составе листьев мяты перечной. В этой связи использование стандартного образца розмариновой кислоты в методиках «Определения основных групп биологически активных веществ» и введение методики определения суммы фенилпропаноидов листьях мяты перечной в фармакопейную статью Государственной фармакопеи Российской Федерации.
5. Установлено, что у представителей рода Мята широкий спектр применения в различных отраслях промышленности. В медицине мята перечная входит в состав спазмолитических, желчегонных, успокаивающих, антимикробных и противовоспалительных средств. Мята длиннолистная, м. полевая, м. колосковая используются в народной медицине как спазмолитические, желчегонные средства. Виды рода Мята применяются, в качестве монопрепаратов, а также в составе комплексных лекарственных средств. Мятное масло широко применяется и в других областях - парфюмерии, свечеварении, ароматерапии, как инсектицидное и репеллентное средство.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

2.1. Объекты исследования

В ходе диссертационной работы были исследованы листья некоторых видов и сортов представителей рода Мята (*Mentha L.*), а также образцы промышленного измельченного сырья листьев мяты перечной (табл. 7).

Таблица 7 – Изучаемые образцы сырья мяты перечной (*Mentha piperita L.*) и сортовых форм.

№ п/п	Вид	Заготовленное сырье	Год сбора	Место сбора
1.	Мята перечная (<i>Mentha piperita L.</i>)	Цельные листья	2021-2024	Ботанический сад Самарского университета
		Цельные листья	2023	Никитский ботанический сад
		Измельченные листья 50 г	2021-2022	АО «Красногорск-лексредства»
2.	Мята перечная сорт «Шоколадная» (<i>Mentha piperita L. cv. Шоколадная</i>)	Цельные листья	2021-2024	Ботанический сад Самарского университета
4.	Мята перечная сорт «Карамельная» (<i>Mentha piperita L. cv. Карамельная</i>)	Цельные листья	2021-2024	Ботанический сад Самарского университета
5.	Мята перечная сорт «Ментоловая» (<i>Mentha piperita L. cv. Ментоловая</i>)	Цельные листья	2021-2024	Ботанический сад Самарского университета

Кроме того, для валидации разработанных методик в качестве сравнения были изучены следующие образцы, представленные в таблице 8.

Таблица 8 – Изучаемые образцы сырья других видов рода *Mentha* L.

№ п/п	Вид	Заготовленное сырье	Год сбора	Место сбора
1.	Мята длиннолистная (<i>Mentha longifolia</i> L.)	Цельные листья	2021-2024	Ботанический сад Самарского университета
2.	Мята круглолистная «Ананасная» (<i>Mentha rotundifolia</i> (L.) <u>Huds.</u> cv. Ананасная)	Цельные листья	2021-2024	Ботанический сад Самарского университета
3.	Мята курчавая (<i>Mentha spicata</i> L. var. <u>crispa</u>)	Цельные листья	2021-2024	Ботанический сад Самарского университета

Сбор сырья осуществлялся в период массового цветения (июнь-август). Образцами и индивидуальными субстанциями, отобранными для проведения анализов, являлись извлечения из листьев мяты разных видов и сортов на этиловом спирте различных концентраций (табл. 7 и 8); сухие экстракты видов и сортов листьев мяты; препаративно выделенные соединения, такие как розмариновая и кофейная кислота, лютеолин, цинарозид, 5,3'-дигидрокси-6,7,8,4'-тетраметоксифлавоон, 5,4'-дигидрокси-6,7,3'-триметоксифлавоон. В качестве стандартных образцов были использованы также хлорогеновая и сальвианоловая кислоты.

2.2. Материалы, приборы и реактивы, использованные в работе

В диссертационной работе использовались следующие приборы: весы аптечные для сыпучих материалов (BCM-1, BCM-5, BCM-20); весы аналитические «Metler Toledo XS 204»; плитка электрическая Skyline DP-45B (Kromax Group Co.Ltd., Швеция); спектрофотометр «Specord 40» (Germany, Analytik Jena AG);

роторный испаритель «Labtex ИР-1 ЛТ» (Лабтех, РФ); высокоэффективный жидкостной хроматограф «Милихром-6» (НПАО «Научприбор»); люминесцентный микроскоп марки «Альтами» ЛЮМ-2 (Россия).

Реактивами и материалами, отобранными для анализов, являлись пластины хроматографические марки «Sorbfil» типа ПТСХ-АФ-А- УФ (ООО «ИМИД», Россия), силикагель КСК 50/100 мкм (ТУ 6-09-39-23-86, ООО «ИМИД»), полиамид (MN Polyamid SC 6, Германия), ацетонитрил для ВЭЖХ (ТУ СОМР 3-074-06, ООО «Компонент- Реактив», Россия), хлороформ ХЧ (ТУ СОМР 2-028-06, ООО «Компонент-Реактив», Россия) и спирт этиловый медицинский 96% ХЧ.

2.3. Характеристика методов исследования

2.3.1. Методы проведения анатомо-гистологического исследования

Микроскопический анализ проведен с помощью методов световой микроскопии в проходящем и отражённом свете и люминесцентной микроскопии. Пробоподготовка образцов, приготовление микропрепаратов, а также техника проведения микроскопического исследования были осуществлены в соответствии с требованиями ГФ XV издания ОФС.1.5.3.0003 «Микроскопический и микрохимический анализ лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения» [25].

2.3.2. Хроматографические методы исследования

1. Тонкослойная хроматография (ТСХ).

Для определения основных групп БАВ в водно-спиртовых извлечениях из листьев некоторых видов и сортов рода *Mentha* L. выбрана тонкослойная хроматография [24].

Перед проведением исследования хроматографические пластинки размещаются в сушильном шкафу для удаления влаги (100-105 °С). Капилляром на линию старта наносятся исследуемые образцы: 0,02 мл анализируемого извлечения и рядом 0,01 мл 0,02% раствора СО хлорогеновой, 0,01 мл 0,02% розмариновой, 0,01 мл 0,02% сальвианоловой кислоты В, 0,01 мл 0,02% лютеолин и 0,01 мл 0,02%

цинарозид. Хроматографическая пластинка с нанесенными образцами помещается в камеру для проведения тонкослойной хроматографии (первоначально насыщена парами системы растворителей не менее 24 часов). При достижении фронта элюента уровня 1-1,5 см от верхнего края, пластинка извлекается из камеры; исследование считается завершенным.

С целью определения оптимальных условий качественного определения состава БАВ в листьях мяты использовались следующие системы:

- хлороформ - этиловый спирт 96% - вода, соотношение 25:18:2;
- *n*-бутанол - уксусная кислота - вода (БУВ), соотношение 4:1:2.

После полного высушивания хроматографической пластинки первоначально осуществляется детекция в видимом свете; далее - в УФ-свете при $\lambda=254$ и $\lambda=365$ нм. После этого наносится 3% спиртовой раствор $AlCl_3$, раствор диазобензолсульфо кислоты в щелочной среде.

2. Колоночная хроматография.

Для изолирования веществ, содержащихся в сырье, была применена колоночная хроматография на силикагеле с использованием материала КСК 50/100 мкм (Россия) и полиамиде (MN Polyamid SC 6, Германия) на этапе рехроматографирования, после чего производилась их перекристаллизация. Для определения чистоты веществ использовались физико-химические константы, а также спектральные характеристики.

3. Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ).

Хроматографический анализ проводили методом обращенно-фазовой хроматографии в изократическом и градиентном режимах. Прибор – высокоэффективный жидкостной хроматограф «Милихром-6» (НПАО «Научприбор») (стальная колонка «КАХ-6-80-4», 2 мм x 80 мм; 5 мкм). Температура колонки поддерживалась при 30°C. Элюент: система ацетонитрил (ПФА) – 1% р-р уксусной кислоты (ПФБ), скорость элюирования – 1 мл/мин. Детектирование соединений проводили при $\lambda=330$ нм. Объем вводимой пробы – 10 мкл.

Количественный анализ проводился в изократическом режиме в системе ПФА = 20% и ПФБ = 80% [60].

Качественный анализ проводили в градиентном режиме, профиль представлен в таблице 9.

Таблица 9 – Профиль градиента хроматографического разделения в градиентном режиме

Время, мин	ПФА, %	ПФБ, %	Режим
0-4	10,0	90,0	Изократический режим
4-10	10,0 → 20,0	90,0 → 80,0	Линейный градиент
10-17,5	20,0 → 30,0	80,0 → 70,0	Линейный градиент
17,5-25	30,0 → 80,0	70,0 → 20,0	Линейный градиент

2.3.4. Физико-химические методы исследования

Спектрофотометрия. Спектральная регистрация определялась при помощи спектрофотометра «Spesord 40» в кюветах с $l=10$ мм; с рабочим диапазоном $\lambda=190-500$ нм. Раствор сравнения являлся спирт этиловый 96% [48, 52, 53, 54, 72].

ЯМР-спектроскопия и масс-спектрометрия. Для идентификации веществ, полученных с помощью колоночной хроматографии из *Mentha piperita* L., характеристики соединений определяли путем регистрации ^1H -ЯМР-спектров (на приборе «JNM-ECX 400» (399.78 МГц) и ^{13}C -ЯМР-спектров (на приборе «JNM-ECX 400» (100.52 МГц) [16, 55].

Для получения масс-спектров высокого разрешения использовался прибор «Bruker micrOTOF II». В качестве метода выбрана электрораспылительная ионизация (ESI). Измерения выполнены на положительных ионах (напряжение на капилляре – 4500 V). Диапазон сканирования масс – m/z 50 – 3000, калибровка — внешняя или внутренняя (Electrospray Calibrant Solution, Fluka) с применением шприцевого ввода вещества для растворов в метаноле, скорость потока составляла 3

мкл/мин. В качестве газа-распылителя использован азот (4 л/мин), температура интерфейса – 180°C [16].

2.3.5. Технологические методы исследования

С целью получения и дальнейшего анализа экстракта сухого мяты перечной нами был предварительно получен жидкий экстракт. Экстракт жидкий получен методом дробной модифицированной мацерации в соотношении «сырье-этиловый спирт 60%» 1:5; мацерацию проводили в течение 6 дней. Очистку полученной вытяжки проводили путём отстаивания в температурном режиме не выше 10°C в течение 2 суток с дальнейшей фильтрацией. Конечный продукт получали путем упаривания из жидкого экстракта на водной бане $T = 100^{\circ}\text{C}$ и высушивания в сухожаровом шкафу.

2.3.6. Микробиологические и фармакологические методы исследования

В рамках настоящей диссертационной работы определяли диуретический и нейротропный эффекты сухого экстракта листьев мяты, а также выделенного индивидуального вещества – 5,3'-дигидрокси-6,7,8,4'-тетраметоксифлавона.

Методики проведения исследований биологической активности приведены в приложении 4.

ГЛАВА 3. АНАТОМО-ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИСТА МЯТЫ ПЕРЕЧНОЙ (*MENTHA PIPERITA* L.)

3.1. Световая и люминесцентная микроскопия черешка листа мяты перечной (*Mentha piperita* L.)

Микроскопия листа мяты перечной (*Mentha piperita* L.) широко изучена и описана в различных источниках [24, 50, 82, 102]. Однако, на сегодняшний день аспект петиолярной микроскопии листа мяты перечной в научной литературе не рассмотрен. При обзоре нормативной документации, определяющей требования к внешнему виду сырья мяты перечной, было выявлено полное отсутствие раздела петиолярной анатомии листа мяты перечной, а также люминесцентной микроскопии листа и черешка мяты перечной.

Согласно Государственной фармакопее Российской Федерации, «для определения видовой принадлежности растения руководствуются совокупностью признаков, таких как: тип листа, степень его изрезанности, наличие или отсутствие черешка, размер и форма листовой пластины и др.» [24].

В рамках выполнения диссертационной работы был исследованы поперечные срезы черешка листа мяты перечной (*Mentha piperita* L.), культивируемой на территории Ботанического сада Самарского университета, г. Самара. Сбор сырья осуществлялся в период массового цветения (июнь-сентябрь 2022 г.). Сырье сушили в хорошо проветриваемом помещении без доступа прямых солнечных лучей. Высушенные листья с черешками в емкости со смесью спирта этилового 96%, глицерина ректифицированного и воды очищенной в соотношении 1:1:1 в течение суток.

Видовую специфичность подтверждали с применением справочной литературы [24, 45].

Мята перечная многолетнее травянистое растение с мощной корневой системой [51], относящееся к семейству губоцветные *Lamiaceae*. Растение достигает 100 см в высоту. Листья мяты перечной по длине стебля накрест супротивные, продолговато-яйцевидные, с заостренной верхушкой и сердцевидным основанием. Край листа неравномерно-остропильчатый. Цвет поверхности листовой пластинки

различается, так с верхней стороны листья темно-зеленые, с нижней – светло-зеленые. С обеих сторон листьев имеются многочисленные эфиромасличные железки.

Морфологически листья мяты перечной короткочерешковые, что само по себе является отличительной чертой среди представителей рода *Mentha*. Так у наиболее часто встречающегося в средней полосе России примесного вида мяты длиннолистной (*M. longifolia* L.) листья сидячие. У других видов рода *Mentha*, таких как мята полевая (*M. arvensis* L.), мята водяная (*M. aquatica* L.) листья, как правило, черешковые (рис. 7). При этом черешок имеет достаточную длину. Однако наибольшая диагностическая значимость листовых черешков заключается в их анатомическом строении, успешно используемом в фундаментальной ботанике при таксации близкородственных видов [45].

В фармацевтической практике применение данных петиолярной анатомии (анатомии черешков листьев) внедрено относительно недавно. В частности, впервые в ГФ РФ 13 издания в ОФС 1.5.1.0003.15 «Листья» включён раздел, трактующий обязательное изучение петиолярных признаков фармакопейного сырья при наличии черешков как таковых [23].

Несмотря на наличие требований ГФ РФ в ряде частных фармакопейных статей на листья и травы петиолярные признаки до сих пор в недостаточной степени изучены. К таким объектам относится и сырьё мяты перечной «*Menthae piperitae folia*».

В целях совершенствования стандартизации лекарственного растительного сырья мяты перечной, а также приведения в соответствии с требованиями ОФС 1.5.1.0003. «Листья. Folia.» ГФ РФ 15 издания, вышедшей взамен ОФС 1.5.1.0003.15 [25], нами проведено изучение петиолярных особенностей листьев мяты перечной.

Кроме того, одним из вопросов морфолого-анатомической таксации является наличие и локализация вторичных и первичных метаболитов, в растительных тканях. Одним из фармакопейных методов, отвечающих на данный вопрос, является люминесцентная микроскопия [5, 39, 46, 111, 113, 119].

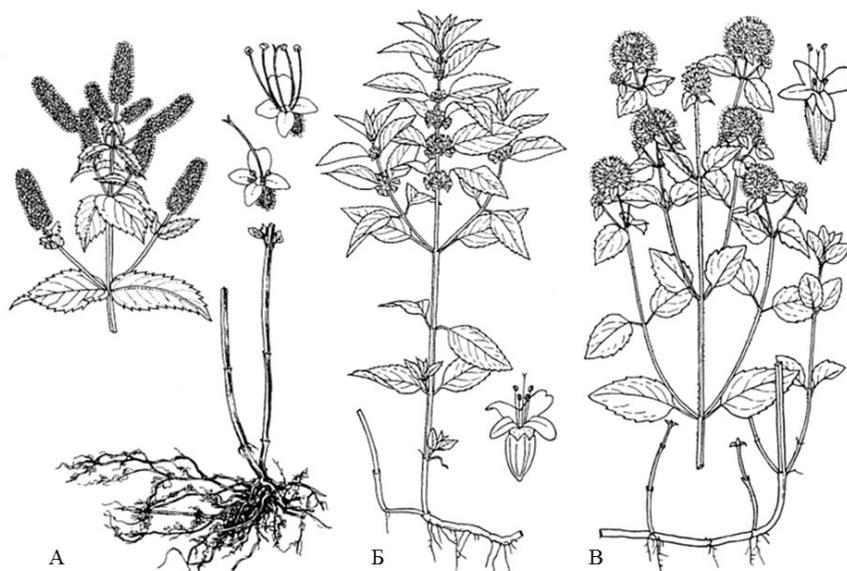


Рисунок 7 - Виды рода *Mentha* средней полосы России [45]: А – Мята длиннолистная (*Mentha longifolia* L.); Б – Мята полевая (*Mentha arvensis* L.); В – Мята водная (*Mentha aquatica* L.)

Анатомо-гистологический анализ признаков исследуемых субстанций и растительного сырья мяты перечной проводили с помощью световых микроскопов с цифровой насадкой в проходящем и отражённом свете (Zeiss Primo Star и Motic DM-39C-N9GO) и люминесцентного микроскопа марки «Альтами» ЛЮМ-2 (Россия) и применением голубого и желтого светофильтров 32 мм. Источником света служила высоковольтная ртутная лампа (НВО 100Вт); спектральный диапазон возбуждения люминесценции: голубой светофильтр – 420-550 нм; желтый светофильтр – 330-400 нм.

Необходимо отметить, что люминесцентный метод микроскопии включён в общую фармакопейную статью Государственной фармакопеи Российской Федерации XV издания «Микроскопический и микрохимический анализ лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения» (ОФС.1.5.3.0003) [25]. Преимуществом метода является возможность его применения для изучения сухого исследуемого образца, из которого готовят толстые срезы или микропрепараты порошка.

Пробоподготовка сырья и микропрепаратов осуществлялась согласно ОФС.1.5.3.0003 ГФ РФ XV издания [25].

При изучении цветности гистологических и цитологических структур использовали международную классификацию цветов Pantone Matching System (PMS), определяя при этом универсальный номер Web цвета с помощью графического редактора Paint.Net [11].

В результате скрининговой оценки облиственных побегов мяты перечной выявлено, что по всей длине побега листья коротко черешковые к верхушке почти сидячие. Ближе к основанию побега черешок более выраженный (рис. 8 А, Б).

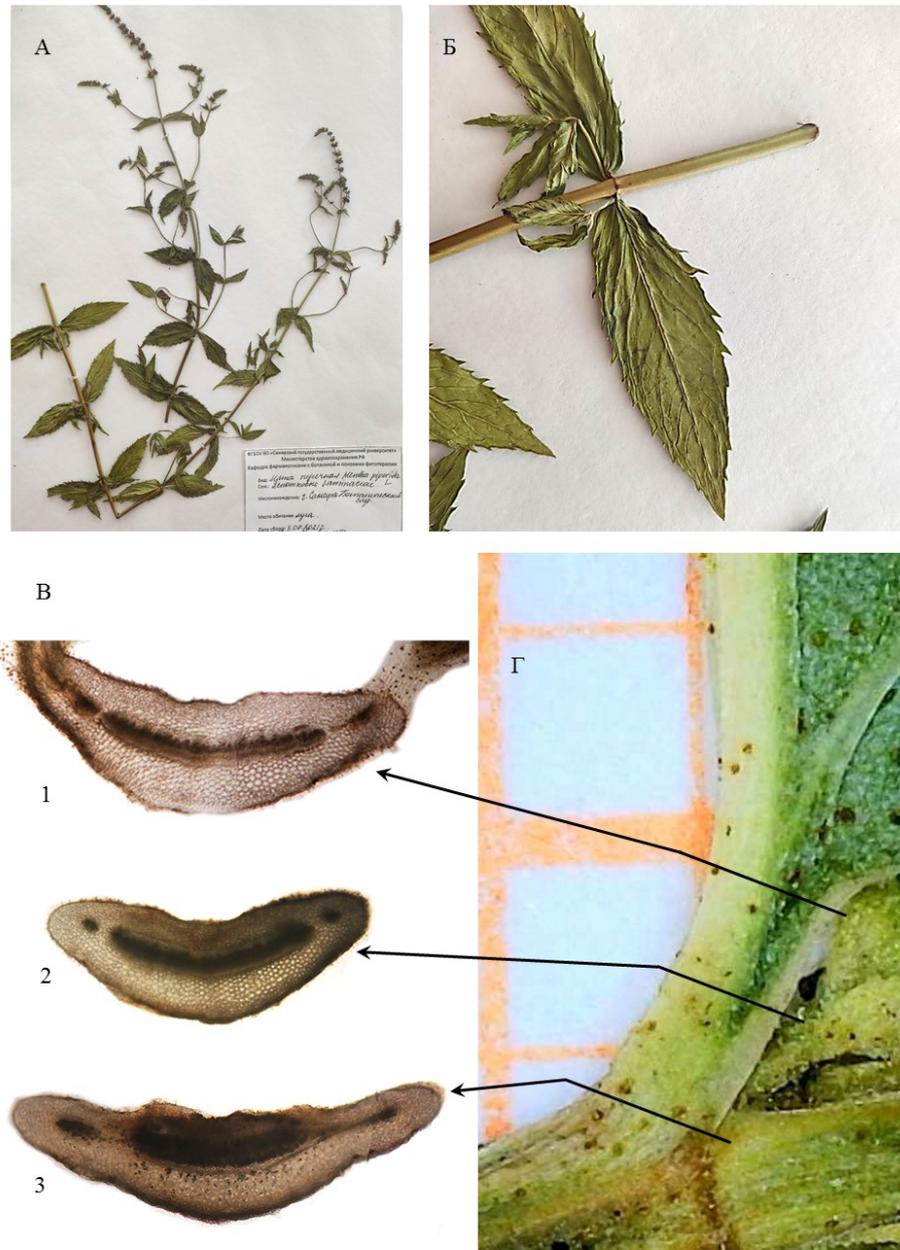


Рисунок 8 - Морфологические особенности черешка листа мяты перечной и топография его сечения в эксперименте: А – гербарный образец (*Mentha piperita*

L.) гербарного фонда кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии СамГМУ 2021 года сбора; Б – коротко черешковые листья; В – внешний вид поперечных сечений (x40); Г – топография срезов черешка (x20).

Обозначения: 1 – апикальная часть, 2 – медиальная часть, 3 – базальная часть.

Длина черешка у листьев мяты перечной изучаемого образца небольшая и достигает в максимуме до 2 мм в длину (рис. 8 Г).

Несмотря на малые размеры, технически возможно получать устойчивые поперечные срезы с черешков листьев в разных его частях (рис. 8 В).

Анатомирование поперечных сечений в базальной медиальной и апикальной часть черешка показала незначительные изменения их формы и особенностей проводящей системы.

Так, в целом на всей длине черешок в поперечном сечении имеет ланцетную форму, надломленную в середине к адаксиальной стороне листа. Надлом образует угол в 140° не изменяющийся от базальной часть до перехода в листовую пластинку. Ланцетная форма определялась по соотношению ширины и длины поперечного сечения составляющего пропорцию 1:3 (рис. 9).

Адаксиальная сторона всех срезов как в базальной, медиальной так и в апикальной части имеет округлую форму. При этом диаметр окружности сопоставим по всей длине черешка (рис. 9).

Медиальная часть черешка более компактная и лучше всего подпадает под определение ланцета. В базальной часть у поперечного сечения имеются овальные рёбра по краям среза, нарушающие общую круговую симметрию (рис. 9).

В апикальной части форма схожа с базальной, но очень быстро переходит в листовую пластинку и трудно диагностируется.

На этапе фитохимического анализа надземной части мяты перечной из анализируемого сырья были изолированы индивидуальные химические соединения флавоноидной и терпеновой природы.

Наиболее диагностичные к данному виду растения вещества были отобраны и использованы в дальнейшем исследовании люминесцентных особенностей

тканей черешка листа мяты перечной. Все отобранные структуры имели кристаллическую природу и были проанализированы на предмет наличия люминесценции. Результаты люминесцентного анализа индивидуальных соединений представлены на рис. 10.

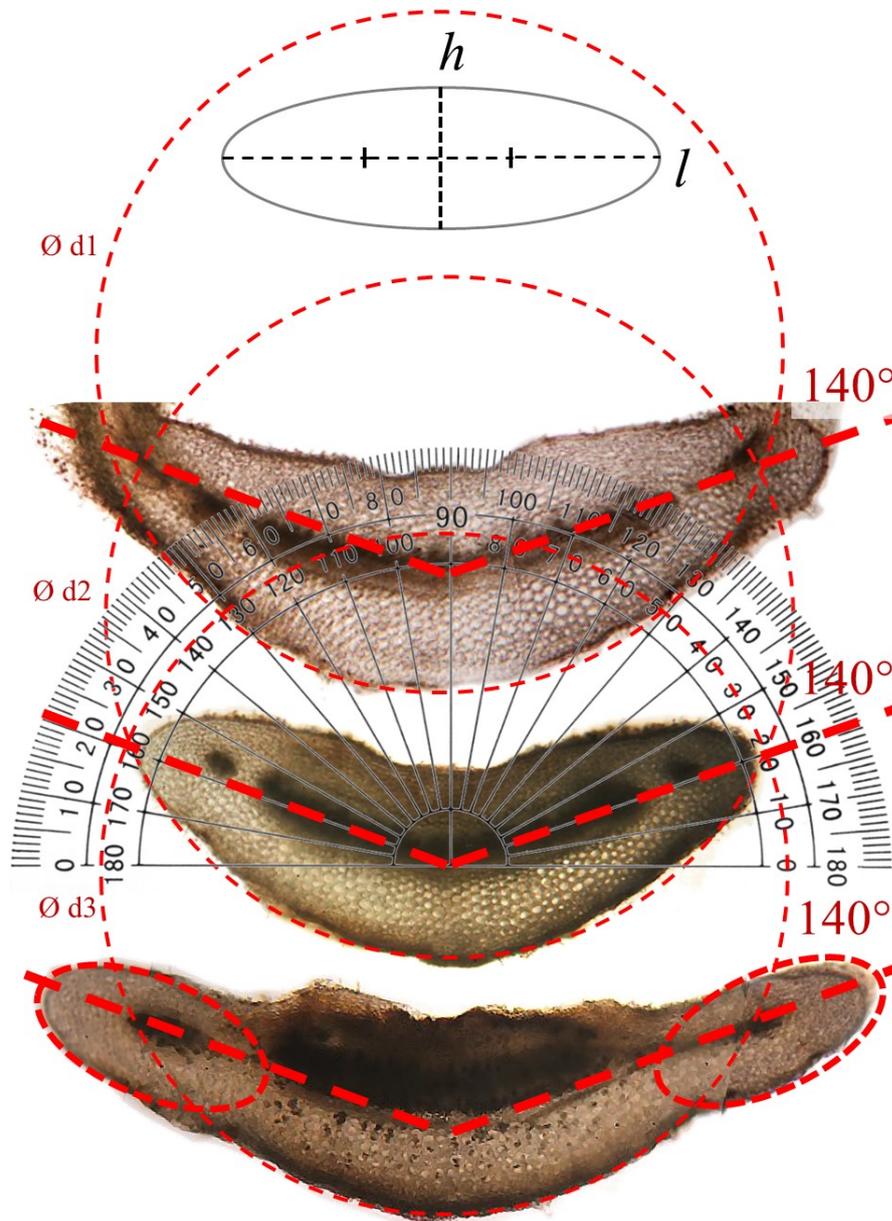


Рисунок 9 - Ланцетная форма поперечных сечений черешка.

Обозначения: $\text{Ø } d1$ – диаметр окружности в очертании апикального среза, $\text{Ø } d2$ – диаметр окружности в очертании медиального среза, $\text{Ø } d3$ – диаметр окружности в очертании базального среза, h – ширина поперечного сечения черешка, l – длина поперечного сечения черешка.

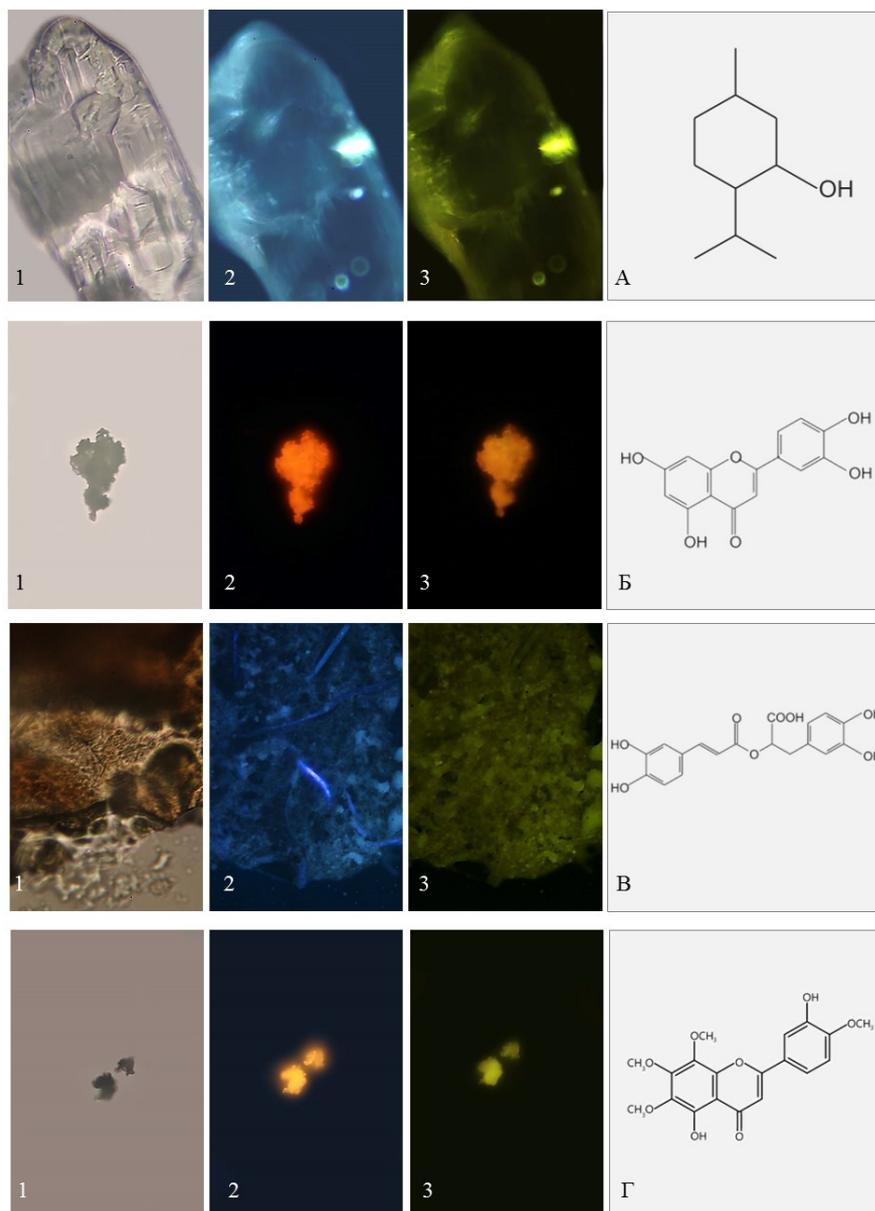


Рисунок 10 - Люминесцентный анализ веществ стандартов: А – ментол; Б – лютеолин; В – розмариновая кислота; Г – вещество, изолированное из листьев мяты перечной, - 5,3'-дигидрокси-6,7,8,4'-тетраметоксифлавоны.

Обозначения: 1 – видимая область света, 2 - светофильтр 330-400 нм, 3 – светофильтр 420-550 нм.

В ходе анализа особенностей свечения химических соединений определялась цветность люминесценции при различных условиях облучения.

При спектральном диапазоне возбуждения с голубым светофильтром 330-400 нм кристаллический ментол обладает слабым голубым свечением с цветностью #99ccff. Напротив, при спектральном диапазоне возбуждения с желтым

светофильтром – 420-550 нм кристаллы ментола имеют желтое свечение с цветностью # 666600 (рис. 10 А).

Вещества флавоноидной природы – лютеолин и впервые выделенный нами в Российской Федерации 5,3'-дигидрокси-6,7,8,4'-тетраметоксифлавоны в диапазоне возбуждения с голубым светофильтром при 330-400 нм имеют ярко-оранжевую флуоресценцию. При этом у лютеолина люминесценция имеет красный оттенок с цветностью #ff6600. У впервые выделенного 5,3'-дигидрокси-6,7,8,4'-тетраметоксифлавона люминесценция в том же диапазоне облучения имеет желтый оттенок с цветностью #ffcc33 (рис. 10 Б, Г).

При спектральном диапазоне возбуждения с желтым светофильтром – 420-550 нм оба вещества светятся слабее, имея цветность: лютеолин - #cc6600, 5,3'-дигидрокси-6,7,8,4'-тетраметоксифлавоны - #999900.

Выделенное из листьев мяты перечной, фенилпропаноидное соединение - розмариновая кислота в диапазоне возбуждения 330-400 нм имеет ярко-синюю люминесценцию с цветностью #336699, в диапазоне возбуждения 420-550 нм люминесценция значительно слабее и имеет грязно-желтый цвет с цветностью - #666600 (рис. 10 В).

В дальнейшем при исследовании особенностей гистологии и люминесценции тканей черешка мяты перечной проводили сравнение с особенностью цветности люминесценции гистологических структур и индивидуальных соединений.

Поверхность черешка покрыта эпидермисом с неравномерно развитой кутикулой. Наиболее плотный и однородный кутикулярный слой отмечается с бортов черешка, а также с его адаксиальной стороны (рис. 11 А, Б).

Кутикула с нижней стороны черешка имеет продольную морщинистость и значительно тоньше чем с верхней стороны (рис. 11 В). При этом кутикула светится в диапазоне возбуждения 330-400 нм голубым цветом с цветностью свечения - #666699, в диапазоне возбуждения 420-550 нм люминесценция желтого цвета с цветностью - #cccc00.

При наблюдении за клетками эпидермы видны элементы протопластов. Они также подвержены свечению в диапазоне возбуждения 330-400 нм розового цвета

(#666699), в диапазоне возбуждения 420-550 нм светло-желтого цвета #666600 (рис. 11 Б, В).

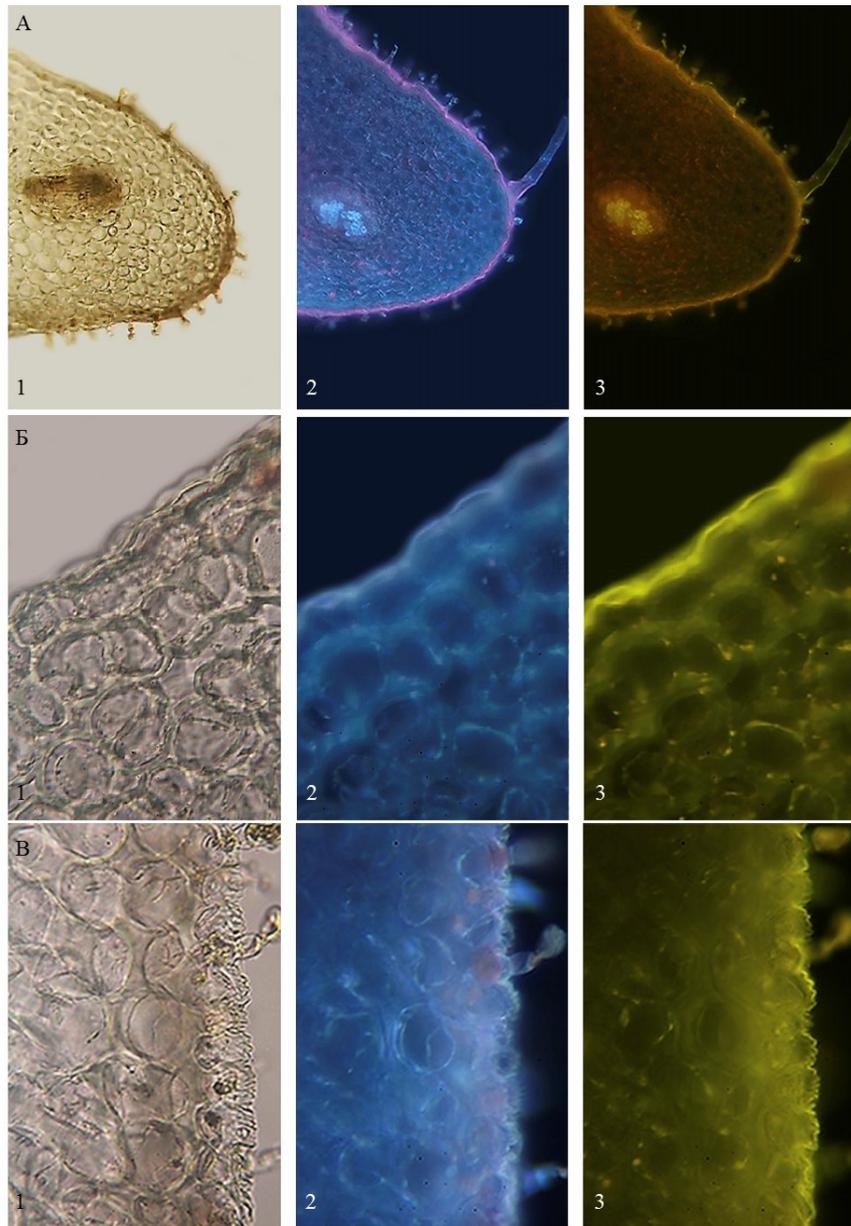


Рисунок 11 - Люминесцентный анализ эпидермальных поверхностей: А – ребро черешка (x100); Б – адаксиальная сторона черешка (x400); В – абаксиальная сторона черешка (x400).

Обозначения: 1 – видимая область света, 2 – светофильтр 420-550 нм; 3 – светофильтр 330-400 нм.

Поверхность черешка мяты перечной густо опушена кроющими и железистыми трихомами. Типы трихом известны и описаны ранее в ФС.2.5.0029.15 «Мята перечной листья» [24].

Головчатые волоски – наиболее мелкие трихомы имеют двухклеточную ножку и одноклеточную головку. В головке под кутикулой заметны элементы протопласта выделительных клеток, а также капли эфирного масла (рис. 12 А).

Капли эфирного масла под кутикулой нативно окрашены в слабозелтый цвет. В диапазоне возбуждения 330-400 нм капли эфирного масла люминесцируют ярко голубым цветом с (#0099cc), в диапазоне возбуждения 420-550 нм люминесценция слабее и имеет желто-оранжевый цвет (#999900) (рис. 12 А). Свечение капель в головчатых волосках схоже со свечением кристаллов ментола (рис. 10 А).

Грибовидные желёзки наиболее крупные образования железистой экзогенной ткани мяты перечной. Они хорошо видны даже при малом увеличении под лупой (рис. 8 Г). Головка желёзки покрыта кутикулой. Кутикула тонкая, бесцветная. На просвет под кутикулой заметны клетки головки в среднем до 8 клеток. Протопласты клеток и секреторных капель под кутикулой имеют желто-коричневый оттенок (рис. 12 Б). В диапазоне возбуждения 330-400 нм протопласты клеток головки слабо светятся грязно желтым цветом (#669999), в диапазоне возбуждения 420-550 нм цвет люминесценции ярче и имеет желтый оттенок (#cc9900) (рис. 12 Б).

Кроющие трихомы встречаются в большей степени с нижней стороны листа и по рёбрам. Они представляют собой простые многоклеточные волоски от трёх до шести клеток. Кутикула трихом слабо-бородавчатая. В клетках заметны структуры протопласта светло-коричневого цвета (рис. 12 В). Протопласты кроющих трихом люминесцируют аналогично протопластам желёзок.

В диапазоне возбуждения 330-400 нм протопласты, сгруппированные по периферии полости клетки окрашены в грязно-жёлтый цвет (#336699), в диапазоне возбуждения 420-550 нм люминесценция значительно ярче и имеет оранжево-красный цвет (#999900) (рис. 12 В).

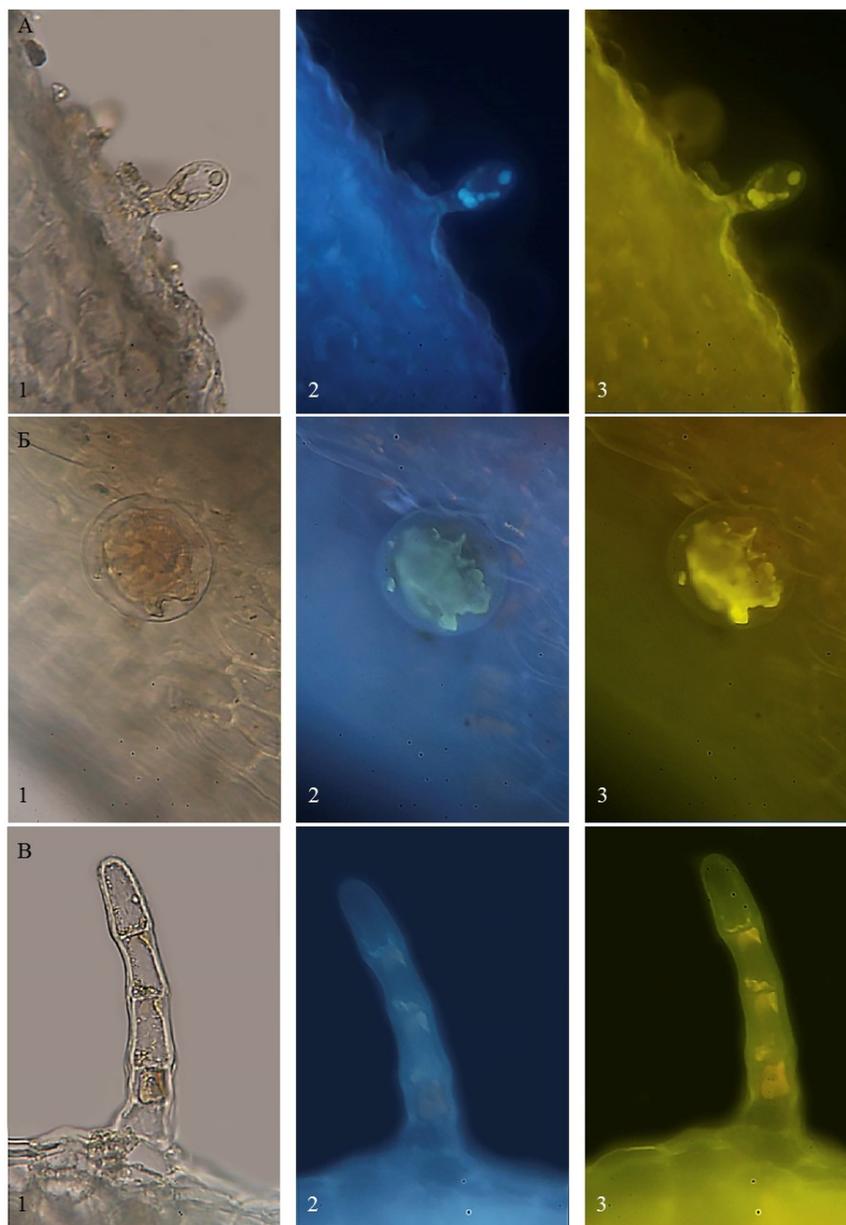


Рисунок 12 - Люминесцентный анализ трихом на поверхности черешка: А – головчатый волосок (x100); Б – грибовидная железка (x400); В – простой многоклеточный волосок (x400).

Обозначения: 1 – видимая область света, 2 – светофильтр 420-550 нм, 3 – светофильтр 330-400 нм.

Проводящая система черешка слабо меняется по его длине. Начиная с его базальной части в центре поперечного среза локализован крупный пучок центральной жилки. Он имеет продолговатую С-образную форму. По периферии к бортам черешка имеются более мелкие пучки второго порядка. Они сохраняются по всей длине черешка до листовой пластинки.

Ксилема пучков состоит из радиально расположенных сосудов, перемежающихся с рядами паренхимных клеток с живым структурированным протопластом.

Сосуд ксилемы светятся ярко-голубой люминесценцией в диапазоне возбуждения 330-400 нм за счет лигнификации их оболочек. В диапазоне возбуждения 420-550 нм клеточные стенки сосудов ксилемы люминесцируют ярко-желтым цветом (рис. 13А).

Во флоэмной части пучка центральной жилки наблюдается скопление кристаллических образований. Кристаллы мелкие веерообразно заполняют полости клеток идиобластов. При дневном свете кристаллические включения имеют слабо-желтый цвет. В диапазоне возбуждения 330-400 нм веерообразные кристаллические образования приобретают кирпичный оттенок, схожий с люминесценцией флавоноидов лютеолина и 5,3'-дигидрокси-6,7,8,4'-тетраметоксифлавона (#666666) (рис. 9). В диапазоне возбуждения 420-550 нм те же кристаллы имеют ярко-желтую люминесценцию #999933 (рис. 13 В).

Черешок в значительной степени паренхимизирован. Клетки мезофилла черешка округлой формы с заметно утолщенной целлюлозной клеточной стенкой. Клеточная стенка в видимом диапазоне света – бесцветная. В диапазоне возбуждения 330-400 нм клеточные стенки люминесцируют слабо-фиолетовым цветом. При этом детектируются ярко-голубые точки элементов протопласта #3333сс. В диапазоне возбуждения 420-550 нм клеточные стенки люминесцируют слабожелтым цветом (#333300), а протопласты незаметны. Люминесценция данных элементов протопласта схожа со свечением розмариновой кислоты в аналогичных условиях облучения, что позволяет сделать вывод о её локализации в клетках мезофилла.

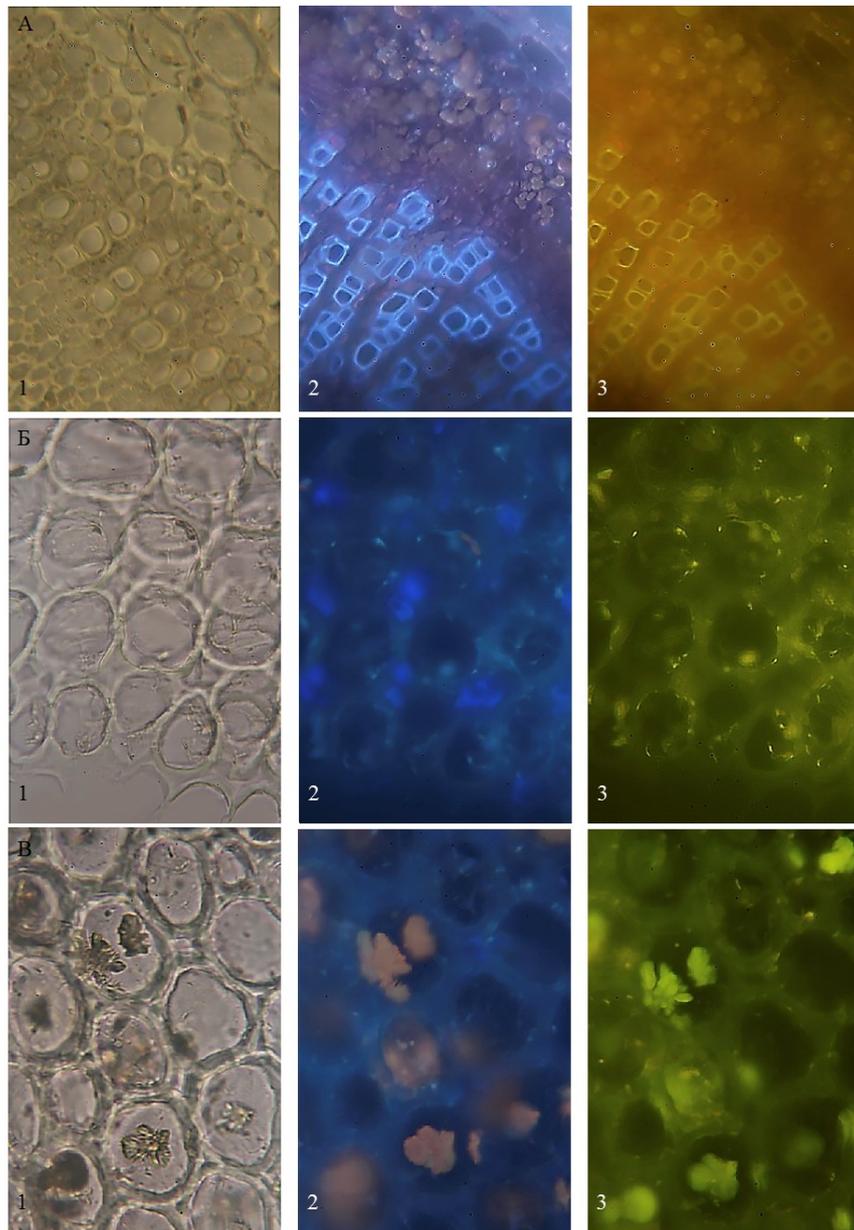


Рисунок 13 - Люминесцентный анализ протопластов и клеточных включений клеток мезофилла и проводящих тканей: А – фрагмент проводящего пучка с ксилемой и флоэмой (x100); Б – клетки мезофилла черешка с адаксиальной стороны (x400); В – клетки мезофилла черешка с абаксиальной стороны (x400).

Обозначения: 1 – видимая область света, 2 – светофильтр 420-550 нм, 3 – светофильтр 330-400 нм.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3

В ходе анатомо-гистологического исследования были получены следующие результаты:

1. Анатомические признаки черешков мяты перечной могут играть диагностическую роль при отличии листьев данного растения от близкородственных видов, произрастающих в средней полосе России.
2. Наиболее ярким диагностическим признаком сырья мяты перечной является очертание поперечного сечения черешка, имеющего ланцетную форму с изломом по середине к верхней стороне листа. Излом образует тупой угол, достигающий 140° .
3. Трихомы на поверхности черешка мяты перечной аналогичны описанным ранее в литературе на листовой пластинке. Люминесценция протопластов железистых трихом указывает на наличие в секрете под кутикулой монотерпенов (ментола) и флавоноидов.
4. Основная концентрация флавоноидов, вероятнее всего, локализована во флоэмной части проводящей системы в виде кристаллических веерообразных образований, имеющих характерную для флавоноидов желто-оранжевую люминесценцию в диапазоне возбуждения 330-400 нм.
5. Фенилпропаноиды (розмариновая кислота) локализованы в клетках мезофилла черешка и могут быть обнаружены по ярко-голубой люминесценции в диапазоне возбуждения 330-400 нм.
6. Полученные данные о строении черешка позволят повысить уровень стандартизации лекарственного растительного сырья мяты перечной.
7. Результаты анатомо-морфологического исследования листа мяты перечной включены в раздел «Микроскопические признаки» проекта дополненной ФС «Мята перечной листья».

ГЛАВА 4. ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВЕЩЕСТВ ИЗ ЛИСТЬЕВ МЯТЫ ПЕРЕЧНОЙ (*MENTHA PIPERITA* L.)

Для изучения компонентного состава листьев мяты перечной (*Mentha piperita* L.) нами была проведена серия адсорбционных колоночных хроматографий. В ходе исследования было выделено 7 индивидуальных веществ.

4.1. Извлечение индивидуальных соединений из листьев мяты перечной (*Mentha piperita* L.)

Для проведения адсорбционной колоночной хроматографии получали жидкий экстракт из 300 г измельченного фармакопейного сырья листьев мяты перечной методом дробной модифицированной мацерации, 70% этиловым спиртом в соотношении 1:5. Полученное водно-спиртовое извлечение упаривали на водной бане. Упаренный экстракт нанесли на силикагель КСК 50/100 и высушили.

В качестве элюентов был выбран химически чистый хлороформ, смесь хлороформа и этанола в разных соотношениях. Полученные растворители были разделены на фракции V=200 мл. Фракции упарили на ротационной вакуумной установке до объема равного 10 мл. (табл. 10).

Таблица 10 – Схема элюирования фракций из экстракта листьев мяты перечной *M. piperita* L.

№ фракции	Состав элюента, %		Объем элюента, мл
	Хлороформ	Этанол 96%	
-	100	0	-
1-3	100	0	500
4-6	97	3	500
7-12	93	7	2000
13-18	90	10	1000
19-27	85	15	1500
28-40	80	20	2000

41-52	70	30	1500
53-61	60	40	1500
62-66	50	50	500
67-74	40	60	1000
75-84	0	100	1000
85-86	ВОДА		500

После проведения основной колоночной хроматографии полученные фракции многократно подвергались рехроматографии на полиамиде (MN Polyamid SC 6, Германия).

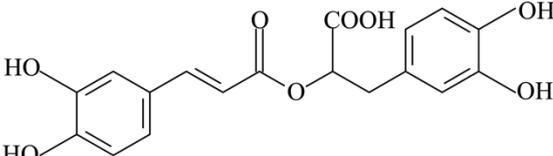
При проведении исследования эффективность разделения веществ контролировали по изменению интенсивности окраски получаемых фракций во время элюирования и с помощью тонкослойной хроматографии в системе элюентов хлороформ: этиловый спирт 96%: вода (25:18:2).

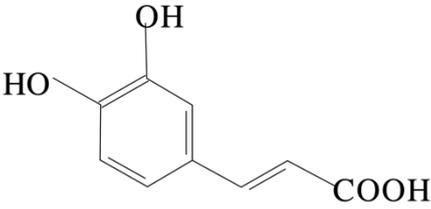
4.2. Идентификация выделенных веществ из листьев мяты перечной (*Mentha piperita* L.)

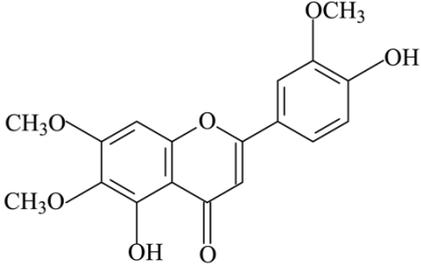
Для идентификации выделенных соединений использованы УФ-, ^1H -ЯМР-, ^{13}C -ЯМР-спектроскопия и масс-спектрометрия.

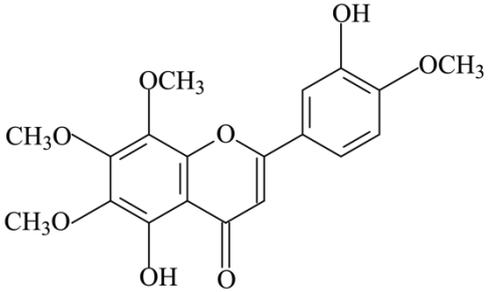
Спектральные характеристики веществ указаны в таблице 11.

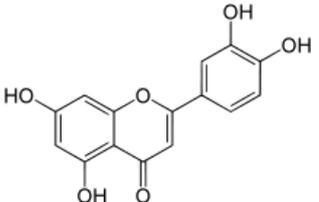
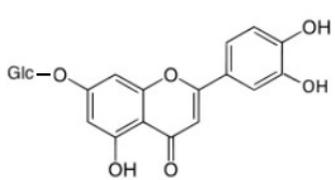
Таблица 11 – Физико-химические характеристики выделенных соединений.

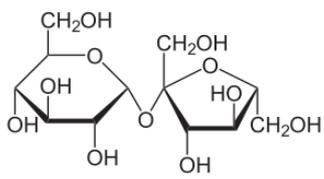
№ п/п	Название индивидуального соединения	Характеристика и химическая формула
1.	Розмариновая кислота 	$\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_8$ Аморфное вещество светло-желтого цвета; λ_{max} EtOH 243, 290, 328 нм. ♦ Спектр ЯМР ^1H (500МГц, DMSO- d_6 , δ , м.д., J/Гц): 7.43 (1H, д, J = 16.0, H-7), 7.04 (1H, д, J = 2.0, H-

		<p>2), 6.96 (1H, дд, J = 2.0 и J = 9.0, H-6), 6.71 (1H, д, J=9.0, H-5), 6.68 (1H, д, J = 2.0, H-2'), 6.64 (1H, д, J =9.0, H-5'), 6.51 (1H, дд, J = 2.0 и J = 9.0, H-6'), 6.20 (1H, д, J = 16.0, H-8), 4.93 (1H, дд, J = 3.0 и J = 8.0, H-6), 2.98 и 2.75 (2H, м, H-7')[55].</p> <p>◆ Спектр ЯМР ^{13}C (125.78 МГц, DMSO-d₆, $\delta_{\text{с}}$, м.д.): 166.60 (C-9 и C-9'), 148.80 (C-4), 146.14 (C-4'), 145.35 (C-3), 145.09 (C-7), 144.08 (C-3'), 129.66 (C-1'), 125.2 (C-1), 121.9 (C-6), 120,21 (C-6'), 117.1 (C-2'), 116.62 (C-5), 116.28 (C-2), 115.80 (C-8), 115.46 (C-5'), 114.95 (C-5), 74.48 (C-8'), 37.30 (C-7').</p> <p>◆ Масс-спектр: HR-ESI-MS m/z 359.0770 [M-H]⁺, 383.0736 [M+Na]⁺[55].</p>
2.	<p>Кофейная кислота</p> 	<p>Светло-желтые кристаллы состава C₉H₈O₄ с т. пл. 218-220° (ацетон-вода). max EtOH 217, 243, 299, 328 нм.</p> <p>◆ Спектр ^1H-ЯМР-спектр (399.78 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J/Гц): 12.08 (1H, уш.с, COOH), 9.48 (1H, с, 4-OH-группа), 9.09 (1H, с, 3-OH-группа), 7,38 (1H, д, J = 16.0, H-7), 6.99 (1H, д, J = 2.0, H-2), 6.92</p>

		<p>(1H, дд, J = 2.0 и J = 9.0, H-6), 6.72 (1H, д, J = 9.0, H-5), 6.14 (1H, д, J = 16.0, H-8).</p> <p>◆ Спектр Спектр ЯМР ^{13}C (100.52 МГц, DMSO-d₆, δ_{C}, м.д.): 168.56, 148.74 (C-4), 146.15 (C-3), 145.23 (C-7), 126.32 (C-1), 121.79 (C-6), 116.37 (C-5), 115.72 (C-2), 115.25 (C-8).</p>
3.	<p>5,4'-дигидрокси-6,7,3'-триметоксифлавонон</p> 	<p>$\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_7$</p> <p>Кристаллы желтого цвета, т.пл. 202-204 °С (хлороформ-гексан); max EtOH 278, 345 нм; +NaOAc 278, 345; +NaOAc+H₃BO₃ 278, 345; +NaOMe 278, 380 пл.; +AlCl₃ 290, 363; +AlCl₃+HCl 290, 363; +NaOMe 290, 400[55].</p> <p>◆ Спектр ЯМР ^1H (500 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J/Гц): 12.95 (1H, с, 5-OH группы), 10.00 (1H, с, 4'-OH группы), 7.62 (1H, дд, J = 2.0 и J = 9.0, H-6'), 7.61 (1H, д, J = 2.0, H-2'), 6.97 (1H, с, H-3), 6.95 (1H, с, H-3), 6.92 (1H, д, J = 9.0, H-5'), 3.94 (3H, с, CH₃O при C-7), 3.91 (3H, с, CH₃O при C-3'), 3.75 (3H, с, CH₃O при C-6) [55].</p> <p>◆ Спектр ЯМР ^{13}C (125.78 МГц, DMSO-d₆, δ_{C}, м.д.): 182.74(C-4),</p>

		<p>167.43 (C-7), 164.48 (C-5), 159.08 (C-2), 158.08 (C-4'), 153.19 (C-9), 148.50 (C-3'), 132.33 (C-6), 129.24 (C-6'), 121.88 (C-2'), 120.93 (C-1'), 119.09 (C-5'), 105.55 (C-10), 103.50 (C-3), 92.11 (C-8), 60.52 (CH₃O при C-6), 56.94 (CH₃O при C-7), 56.26 (CH₃O при C-3')[55].</p> <p>◆ Масс-спектр: HR-ESI-MS <i>m/z</i> 343.0821 [M-H]⁻, <i>m/z</i> 367.0788 [M+H]⁺ [55].</p>
4.	<p>5,3'-дигидрокси-6,7,8,4'-тетраметоксифлавоон [145]</p> 	<p>C₁₉H₂₀O₈</p> <p>Кристаллы желтого цвета, т.пл. 176-178 °С (этиловый спирт); <i>max</i> EtOH 297, 347 нм; +NaOAc 297, 347; +NaOAc+H₃BO₃ 300, 349; +NaOMe 278, 380 пл.; +AlCl₃ 293, 367; +AlCl₃+HCl 293, 367[55].</p> <p>◆ Спектр ЯМР ¹H (500МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J/Гц): 12.43 (1H, с, 5-OH группы), 9.03 (1H, с, 3'-OH группы), 7.66 (1H, дд, J = 2.0 и J = 9.0, H-6'), 7.54 (1H, д, J = 2.0, H-2'), 7.13 (1H, д, J = 9.0, H-5'), 6.98 (1H, с, H-3), 3.91 (3H, с, CH₃O при C-7), 3.89 (3H, с, CH₃O при C-8), 3.84 (3H, с, CH₃O при C-6), 3.82 (3H, с, CH₃O при C-4') [55].</p>

		<p>◆ Спектр ЯМР ^{13}C (125.78 МГц, DMSO-d_6, δ_c, м.д.): 183.22 (C-4), 163.96 (C-7), 162.95 (C-2), 162.95 (C-5), 152.74 (C-9), 152.74 (C-3'), 149.53 (C-4'), 134.70 (C-6), 133.42 (C-8), 128.75 (C-6'), 123.54 (C-2'), 120.41 (C-1'), 120.41 (C-5'), 105.63 (C-10), 103.59 (C-3), 62.36 (CH₃O при C-7), 61.46 (CH₃O при C-8), 56.31 (CH₃O при C-6), 56.26 (CH₃O при C-4') [55].</p> <p>◆ Масс-спектр: HR-ESI-MS m/z 373.0926 [M-H]⁻, m/z 375.1016 [M+H]⁺, m/z 397.0895 [M+Na]⁺, m/z 413.0634 [M+K]⁺ [55].</p>
5.	<p>Лютеолин 5,7,3',4'-тетрагидроксифлавонон</p> 	<p>Кристаллы желтого цвета состава C₁₅H₁₀O₆ с т.пл. 226-229 °С (водный спирт); λ_{max} EtOH 257, 268 нм, 357 нм; +NaOAc 257, 269 (пл), 391 нм; +AlCl₃, 279, 331, 356, 402 нм.</p>
6.	<p>Цинарозид 7-O-β-D-глюкопиранозид лютеолина</p> 	<p>Кристаллы светло-желтого цвета состава C₂₁H₂₀O₁₁ с т.пл. 232-234 °С (водный спирт); λ_{max} EtOH 257, 266 нм, 352 нм; +NaOAc 258, 268 (пл), 380 нм; +AlCl₃, 276, 330, 350, 394.</p> <p>◆ Спектр ЯМР ^1H (399.78 МГц, DMSO-d_6, δ, м.д., J/Гц): 12.95 (1H, с, 5-OH группы), 9.72 (2H, уш.с,</p>

		3'-ОН-группа и 4'-ОН-группа), 7.42 (1H, дд, 9.0 и 2.0 Гц, Н-6'), 7.38 (1H, д, 2.0 Гц, Н-2'), 6.87 (1H, д, 9.0 Гц, Н-5'), 6.75 (1H, д, 2.0 Гц, Н-8), 6.71 (1H, с, Н-3), 6.40 (1H, д, 2 Гц, Н-6), 5.05 (1H, д, 7.0 Гц, Н-1''), 3.23-3.67 (6H, м, 6H глюкозы).
7.	<p>Сахароза</p> 	<p>C₁₂H₂₂O₁₁</p> <p>Бесцветные моноклинные кристаллы, растворимые в воде.</p> <p>◆ Масс-спектр: HR-ESI-MS <i>m/z</i> 341.1087 [M-H]⁻, <i>m/z</i> 365.1048[M+Na]⁺.</p>

В результате кислотного и ферментативного гидролиза цинарозида (6) получен агликон, идентифицированный как лютеолин (5,7,3',4'-тетрагидроксифлавонон) (5), который в свободном виде выделен в минорных количествах и обнаружен в листьях мяты перечной методом ВЭЖХ.

Среди сопутствующих веществ листьев мяты перечной впервые выделена сахароза (7), идентифицированная на основании ЯМР-спектров и масс-спектров.

¹H-ЯМР, ¹³C-ЯМР- и масс-спектры индивидуальных соединений, выделенных из листьев мяты перечной, приведены в приложении 3.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4

1. Из листьев мяты перечной выделены 7 индивидуальных соединений, химическое строение которых было определено с помощью УФ-, ^1H -ЯМР- и ^{13}C -ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии.
2. Соединения **1** и **2** выделены из основной хроматографической колонки с использованием сорбента силикагель КСК 50/100 мкм (элюентная система – хлороформ : спирт этиловый в различных концентрациях). Полученные фракции с помощью многократной рехроматографии на полиамиде (MN Polyamid SC 6, Германия) (элюентная система этиловый спирт : вода) очищена и идентифицирована с применением методов УФ-, ^1H -ЯМР- и ^{13}C -ЯМР- спектроскопии, масс-спектрометрии.
3. Соединения **3** и **4** выделены из основной хроматографической колонки с использованием сорбента силикагель КСК 50/100 мкм (элюентная система – хлороформ : спирт этиловый в различных концентрациях). 10 и 11 фракции были многократно рехроматографированы с помощью микроколонок, в качестве сорбента использовали полиамид (MN Polyamid SC 6, Германия), элюэнт – этиловый спирт : вода.
4. Соединение **7** выделено из водных фракций основной колонки и очищено с применением рехроматографии на полиамиде (MN Polyamid SC 6, Германия), элюэнт – хлороформ : спирт этиловый.
5. Соединение **1** идентифицировано как розмариновая кислота; соединение **2** – кофейная кислота; соединение **3** - 5,4'-дигидрокси-6,7,3'-триметоксифлавоны; соединение **4** - 5,3'-дигидрокси-6,7,8,4'-тетраметоксифлавоны; соединение **5** – лютеолин, **6** – цинарозид, **7** - сахароза.
6. Флавоноид (**3**) - 5,4'-дигидрокси-6,7,3'-триметоксифлавоны впервые описан для листьев мяты перечной (*Mentha piperita* L.).
7. Флавоноид (**4**) - 5,3'-дигидрокси-6,7,8,4'-тетраметоксифлавоны впервые выделен в России из листьев мяты перечной (*Mentha piperita* L.).

ГЛАВА 5. СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ПОДХОДОВ К СТАНДАРТИЗАЦИИ ЛИСТЬЕВ МЯТЫ ПЕРЕЧНОЙ (*MENTHA PIPERITA* L.)

5.1. Определение подлинности видов и сортов рода *Mentha* L.

Для совершенствования методик определения БАВ листьев мяты перечной нами были проведены исследования качественных и количественных параметров извлечений из листьев видов и сортовых форм рода *Mentha* L. Фитохимический анализ проводили с применением тонкослойной хроматографии, спектрофотометрии и ВЭЖХ.

Объектами исследования являлись измельченные листья некоторых видов и сортов рода *Mentha* L., описанных в главе 2 (табл. 7 и 8). Для подтверждения подлинности сырья применяли фармакопейную методику определения суммы флавоноидов, описанную в ФС.2.5.0029.15 [13, 24].

5.1.1. Исследование спектральных и хроматографических характеристик водно-спиртового извлечения из листьев мяты перечной (*Mentha piperita* L.)

Для проведения исследования нами предварительно были получены водно-спиртовые извлечения из листьев мяты перечной (АО «Красногорсклектравы», Рег.№ ЛП-003986), приобретенное в аптечной сети г. Самары. В качестве экстрагента нами использовался спирт этиловый 70%. При проведении методики количественного анализа суммы флавоноидов использовали 3 % спиртовой раствор алюминия хлорида [61].

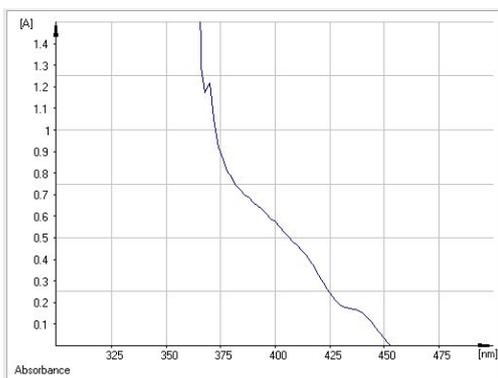
Рабочие растворы лютеолина, цинарозиды, хлорогеновой кислоты, розмариновой кислоты и сальвианоловой кислоты В использовались нами в качестве стандартных образцов. Данные индивидуальные соединения выделены нами с использованием метода колоночной хроматографии на силикагеле КСК 50/100 мкм (ТУ 6-09-39-23-86, ООО «ИМИД») с последующей многократной рехроматографией полученных фракций на полиамиде (MN Polyamid SC 6, Германия) или препаративной ТСХ [61].

Исследование проводили методом спектрофотометрии, в соответствии с ОФС.1.2.1.1.0003.15 «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях». Спектральные характеристики объектов исследования оценивали на спектрофотометре «Specord 40» (Analytik Jena AG, Германия) в кюветах с толщиной слоя 10 мм. В качестве второго метода исследования нами использовался метод тонкослойной хроматографии на пластинках Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ, системе растворителей хлороформ – этанол – вода (26 : 16 : 3) и *n*-бутанол – уксусная кислота – вода (4 : 1 : 2) [61].

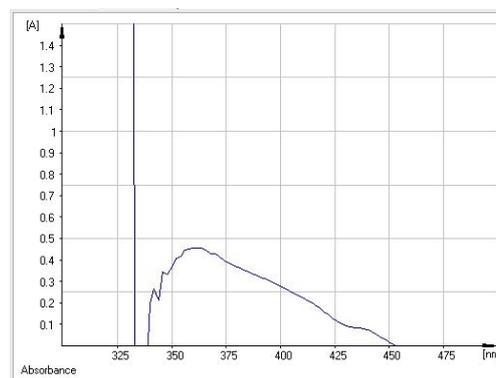
В соответствии с Государственной фармакопеей Российской Федерации (ФС.2.5.0029.15) определение суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин проводится в условиях дифференциальной спектрофотометрии при длине волны 400 нм. На наш взгляд, этот подход не совсем удачен, так как измерение оптической плотности происходит не в максимуме поглощения, а в области «плеча» УФ-спектра (рис. 14 А). Далее нами было произведено разведение испытуемого раствора, позволившее обнаружить, что максимум поглощения исследуемого образца находится при длине волны 376 нм, что характерно для гидроксикоричных кислот, в частности, розмариновой кислоты [2] (рис. 14 Б).

С целью подтверждения полученных данных, описанных выше, нами были изучены спектральные характеристики исходного извлечения и индивидуальных веществ, выделенных из фракций препаративно методом колоночной хроматографии. В ходе проведения прямой спектрофотометрии установлено, что вещества в полученных фракциях близки по спектральным характеристикам к розмариновой кислоте, хлорогеновой кислоте и сальвианоловой кислоте В (рис. 15). Подтверждено, что характер кривой поглощения водно-спиртового извлечения из листьев мяты перечной во многом определяют гидроксикоричные кислоты. Следовательно, метод спектрофотометрия может быть использован в целях идентификации листьев мяты перечной. Кроме того, принимая во внимание тот факт, что в соответствии с Европейской фармакопеей для определения качества сухого экстракта из мяты перечной используется определение содержания розмариновой кислоты методом ВЭЖХ [133], представляется целесообразным проведение оценки качества

изучаемого сырья по сумме фенилпропаноидов в пересчете на розмариновую кислоту методом прямой спектрофотометрии.



А



Б

Рисунок 14 - Электронный дифференциальный спектр раствора водно-спиртового извлечения листьев мяты перечной: А - в присутствии алюминия хлорида в соответствии с ФС.2.5.0029.15; Б - разбавленный исходный раствор в присутствии алюминия хлорида (разведение 1:5).

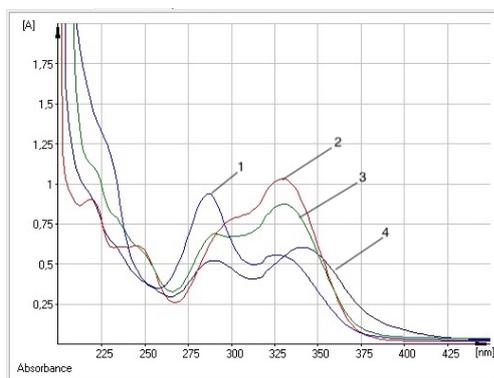


Рисунок 15 - Электронные спектры растворов индивидуальных веществ и водно-спиртового извлечения из листьев мяты перечной
 Обозначения: 1 - сальвианоловая кислота, 2 - хлорогеновая кислота, 3 - розмариновая кислота, 4 - экстракт листьев мяты перечной.

На наш взгляд, использование СО тимола при проведении тонкослойной хроматографии согласно методике, описанной в ФС «Мяты перечной листья», нецелесообразно, так как для подтверждения подлинности исследуемого сырья достаточно определения ментола, как важнейшего диагностически значимого компонента листьев мяты перечной.

Наряду с изучением УФ-спектров исследуемого раствора и выделенными фенилпропаноидами нами выполнена серия тонкослойных хроматографий (рис. 16 и 17). Из представленных результатов видно, что в системе хлороформ– этанол – вода (26 : 16 : 3) разделение исходного извлечения происходит более полно. Данная хроматографическая система позволяет наблюдать флуоресценцию пятен веществ, соответствующих вышеперечисленным гидроксикоричным кислотам (рис. 15). При этом доминирующим фенилпропаноидом водно-спиртового извлечения является розмариновая кислота (рис. 17). В связи с этим, на наш взгляд, целесообразно при определении подлинности листьев мяты перечной методом ТСХ в разделе «Определение основных групп биологически активных веществ» ФС.2.5.0029.15 ГФ РФ дополнительно к СО ментола использовать СО розмариновой кислоты.

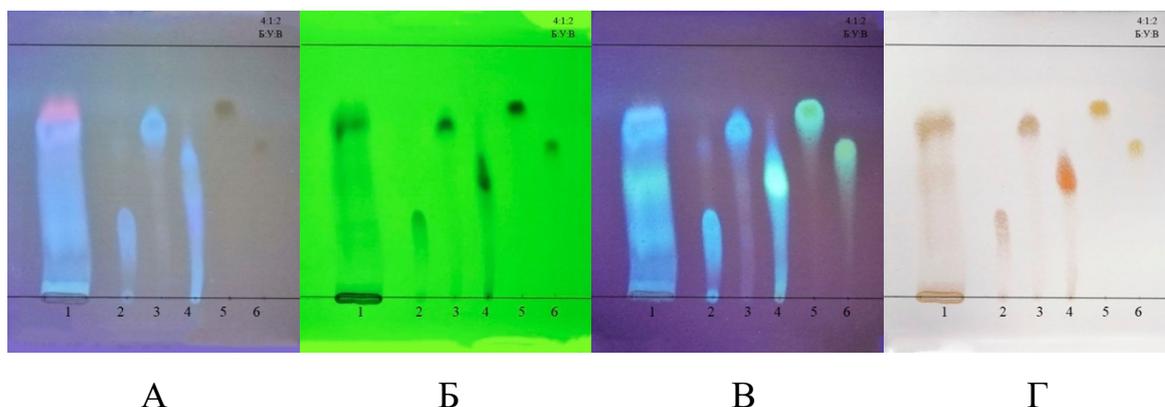


Рисунок 16 - Хроматограмма анализа водно-спиртового извлечения листьев мяты перечной в системе растворителей *n*-бутанол – уксусная кислота – вода (4 : 1 : 2):
 А - детекция в УФ-свете до проявления при длине волны 366 нм; Б - детекция в УФ-свете до проявления при длине волны 254 нм; В - детекция в УФ- свете при длине волны 366 нм после обработки спиртовым раствором $AlCl_3$; Г – детекция в видимом свете после обработки раствором ДСК.

Обозначения: 1 - настойка листьев мяты перечной, 2 – хлорогеновая кислота, 3 – розмариновая кислота, 4 – сальвианоловая кислота, 5 – лютеолин, 6 – цинарозид.

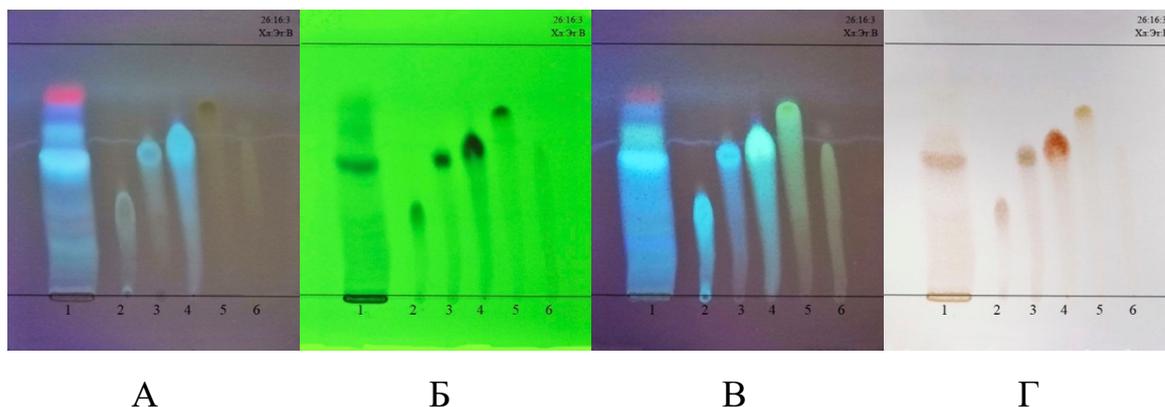


Рисунок 17 - Хроматограмма анализа водно-спиртового извлечения листьев мяты перечной в системе растворителей хлороформ – этанол – вода (26 : 16 : 3): А - детекция в УФ-свете до проявления при длине волны 366 нм; Б - детекция в УФ-свете до проявления при длине волны 254 нм; В - детекция в УФ- свете при длине волны 366 нм после обработки спиртовым раствором $AlCl_3$; Г - детекция в видимом свете после обработки раствором ДСК.

Обозначения: 1 - настойка листьев мяты перечной, 2 – хлорогеновая кислота, 3 – розмариновая кислота, 4 – сальвианоловая кислота В, 5 – лютеолин, 6 – цинарозид.

5.2. Разработка методики количественного определения суммы фенолпропаноидов в пересчете на розмариновую кислоту

В качестве материала исследования были отобраны образцы измельченного лекарственного растительного сырья мяты перечной (АО Красногорсклектравы, Рег.№ ЛП-003986 различных серий), биологически активная добавка (БАД) мяты перечной ООО «Камелия-ЛТ», приобретенное в аптечной сети г. Самары, а также листья мяты перечной культивируемой в Ботаническом саду Самарского университета и Никитинском ботаническом саду.

Для подтверждения соответствия исследуемых образцов требованиям Государственной фармакопеи и количественного определения суммы флавоноидов использовался метод дифференциальной спектрофотометрии в УФ-области. Определено, что содержание суммы флавоноидов в образцах листьев мяты перечной варьируется от $1,09 \pm 0,05$ % до $1,80 \pm 0,05$ % в пересчете на лютеолин, что соответствует требованиям ФС.2.5.0029.15.

Экспериментально нами были проанализированы извлечения листьев мяты перечной, полученные на спирте этиловом различных концентраций, различных степеней измельчения, времени экстракции, различных соотношений «сырье-экстрагент» (табл. 12).

Таблица 12 - Влияние различных факторов на полноту извлечения фенилпропаноидов из листьев мяты перечной.

Экстрагент - спирт этиловый в концентрации (в %)	Соотношение «сырье-экстрагент»	Время экстракции, мин	Степень измельчения, мм	Содержание суммы фенилпропаноидов в пересчете на розмариновую кислоту и абсолютно сухое сырье, %
Экстрагент				
40	1:50	60	2	6,60 ± 0,05
50	1:50	60	2	6,70 ± 0,05
60	1:50	60	2	7,07 ± 0,06
70	1:50	60	2	6,62 ± 0,05
80	1:50	60	2	6,49 ± 0,05
90	1:50	60	2	6,87 ± 0,06
96	1:50	60	2	3,75 ± 0,04
Время экстрагирования				
60	1:50	30	2	6,51 ± 0,05
60	1:50	45	2	6,80 ± 0,05
60	1:50	60	2	6,64 ± 0,05
60	1:50	90	2	6,77 ± 0,06
60	1:50	120	2	6,89 ± 0,06
Степень измельченности				

60	1:50	60	0,5	6,47 ± 0,05
60	1:50	60	1	7,12 ± 0,06
60	1:50	60	2	7,32 ± 0,06
60	1:50	60	3	7,24 ± 0,06
Соотношение «сырье – экстрагент»				
60	1:30	60	2	6,83± 0,05
60	1:50	60	2	6,97± 0,06
60	1:100	60	2	6,78± 0,05

Результаты влияния различных факторов на полноту извлечения фенилпропаноидов из листьев мяты перечной (табл. 7) показали, что оптимальными параметрами экстракции являются: степень измельчения сырья 2 мм, однократное извлечение 60 % этиловым спиртом на кипящей водяной бане в течение 60 мин в соотношении «сырье - экстрагент» - 1:50.

Методика количественного определения суммы фенилпропаноидов в листьях мяты перечной.

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм. Около 1 г измельченного сырья (точная навеска) помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл 60% 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 60 мин. Затем ее охлаждают в течение 30 мин, закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр (красная полоса). Испытуемый раствор готовят следующим образом: 1 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем до метки спиртом этиловым 96% (испытуемый раствор А). Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 326 нм.

Приготовление раствора стандартного образца розмариновой кислоты.

Около 0,025 г (точная навеска) розмариновой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 20 мл 96% этилового спирта. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем раствора 96% этиловым спиртом до метки (раствор А розмариновая кислота). 1 мл раствора А розмариновой кислоты помещают в мерную колбу на 50 мл и доводят объем до метки спиртом этиловым 96% (испытуемый раствор Б розмариновой кислоты). Содержание суммы фенолпропаноидов в пересчете на розмариновую кислоту и абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

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

где

D – оптическая плотность испытуемого раствора;

D₀ – оптическая плотность раствора СО розмариновой кислоты;

m – масса сырья, г;

m₀ – масса СО розмариновой кислоты, г;

W – потеря в массе при высушивании, %.

В случае отсутствия стандартного образца розмариновой кислоты целесообразно использовать рассчитанное значение удельного показателя поглощения при 326 нм – 500

$$X = \frac{D \cdot 50 \cdot 50 \cdot 100}{m \cdot 500 \cdot (100 - W)},$$

где

D – оптическая плотность испытуемого раствора;

m – масса сырья, г;

500 – удельный показатель 1% поглощения (E_{1cm}) СО розмариновой кислоты при 326 нм;

W – потеря в массе при высушивании, %.

Критерием оценки аналитической методики является валидационная оценка. Валидацию методики проводили в соответствии с Государственной фармакопеей Российской Федерации [24, 25].

Валидационная оценка разработанной методики проводилась по показателям: специфичность, линейность, правильность.

Специфичность методики определялась по соответствию максимумов поглощения комплекса фенилпропаноидов в листьях мяты перечной и раствора СО розмариновой кислоты.

Линейность методики определяли для серии растворов водно-спиртовых извлечений из листьев мяты перечной (с концентрациями в диапазоне от 0,0071 до 0,0237 мг/мл) при длине волны 326 нм. На основании полученных данных строили график зависимости значений оптической плотности растворов водно-спиртовых извлечений от концентрации раствора водно-спиртового извлечения из листьев мяты перечной, затем рассчитывали уравнение линейной регрессии (табл. 13; рис. 18).

При изучении линейной зависимости вида $y = bx + a$, коэффициент корреляции составил 0,9880, следовательно, данную методику можно использовать для анализа суммы фенилпропаноидов в листьях мяты перечной в пересчете на розмариновую кислоту в указанном диапазоне концентраций (табл. 13; рис. 18).

Таблица 13 - Исходные данные для оценки линейности методики.

Концентрация водно-спиртового извлечения из листьев мяты перечной, мг/мл	Значение оптической плотности, е.о.п. (среднее значение из четырех последовательных измерений)
0,0071	0,3501
0,0142	0,7352
0,0237	1,1415

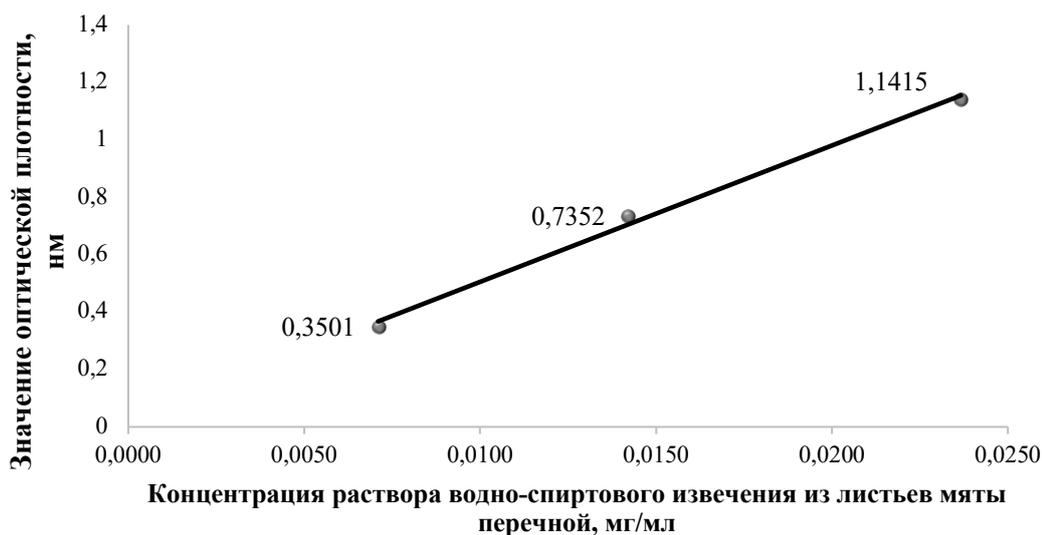


Рисунок 18 - Зависимость значений оптической плотности раствора водно-спиртового извлечения от концентрации раствора водно-спиртового извлечения из листьев мяты перечной.

Метрологические характеристики методик количественного определения содержания суммы фенилпропаноидов в водно-спиртовом извлечении листьев мяты перечной представлены в таблице 14.

Ошибка единичного определения суммы фенилпропаноидов листьев мяты перечной с доверительной вероятностью 95% составляет $\pm 2,10\%$ (табл. 14).

Таблица 14 - Результаты оценки прецизионности методики количественного определения суммы фенилпропаноидов в листьях мяты перечной (уровень повторяемости)

Метрологические характеристики	n	f	\bar{X} , %	S	$S_{\bar{X}}$	P, %	T (P,t) (табл.)	$\pm \Delta X$	E, %
Значения	11	10	6,9782	0,2177	0,0656	95	2,23	0,1465	$\pm 2,10$

Установлено, что среднее содержание фенилпропаноидов в исследуемом образце сырья составило приблизительно 6,99% (относительная погрешность определения составила $\pm 2,10\%$).

Таким образом, исходя из результатов валидационной оценки результатов эксперимента, можно сделать вывод о пригодности использования данной

методики для количественной оценки суммы фенилпропаноидов в пересчете на розмариновую кислоту.

С использованием разработанной методики нами проанализированы пять образцов листьев мяты (табл. 15). Определено, что содержание суммы фенилпропаноидов в анализируемых образцах варьируется от $3,52 \pm 0,05$ % до $9,23 \pm 0,06$ % в зависимости от места сбора растительного сырья и производителя (табл. 15) [52, 53, 54, 61].

Таблица 15 - Содержание суммы фенилпропаноидов в образцах листьев мяты перечной (в %) в пересчете на розмариновую кислоту.

№	Характеристика образца листьев мяты перечной	Содержание суммы фенилпропаноидов в абсолютно сухом сырье (в %) в пересчете на розмариновую кислоту
1.	Ботанический сад Самарского университета	$9,23 \pm 0,06$
2.	Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад — Национальный научный центр РАН»	$5,56 \pm 0,04$
3.	АО Красногорсклектравы, Рег.№ ЛП-003986 Серия 70822	$6,80 \pm 0,05$
4.	АО Красногорсклектравы, Рег.№ ЛП-003986 Серия 40322	$6,83 \pm 0,05$
5.	Биологически активная добавка (БАД) мяты перечной ООО «Камелия-ЛТ»	$3,52 \pm 0,03$

5.2.1. Сравнительное спектрофотометрическое исследование водно-спиртового извлечения из листьев растений рода *Mentha L.*

Материалом для исследования являлись листья сортов мяты перечной («Шоколадная», «Карамельная» и «Ментоловая»), мяты круглолистной сорт «Ананасная», мяты курчавой, описанных в таблицах 7 и 8 главы 2 (раздел 2.1) диссертационной работы, собранные в июле 2022 году, а также измельченное лекарственное растительное сырье мяты перечной (АО Красногорсклектравы, Рег.№ ЛП-003986) (табл. 7). Для проведения анализа из исследуемого растительного сырья получали водно-спиртовые извлечения (спирт этиловый различных концентраций). Для подтверждения качества сырья использовали фармакопейную методику определения суммы флавоноидов, описанную в ФС.2.5.0029.15 [24].

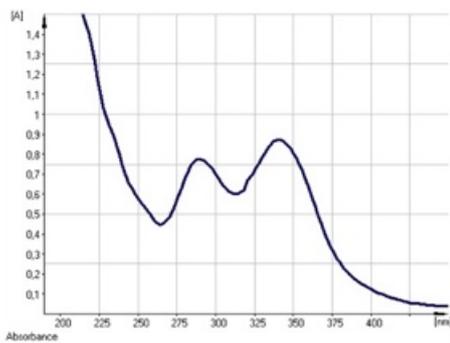
В качестве стандартных образцов применяли розмариновую кислоту (Sigma-Aldrich, степень чистоты 96%) и лютеолин, полученный нами в ходе кислотного гидролиза цинарозида и соответствующий требованиям ВФС 42-1709-87 (степень чистоты 98,8%).

С помощью метода прямой спектрофотометрии при длине волны 326 нм были проанализированы 4 исследуемых образца и получены следующие результаты, представленные в таблице 16 и рисунок 19.

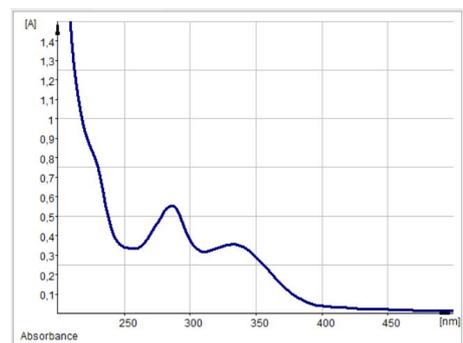
Таблица 16 - Содержание суммы фенилпропаноидов в листьях представителей рода Мята (*Mentha L.*) (в %) в пересчете на розмариновую кислоту.

№	Образец сырья листьев мяты перечной	Содержание суммы фенилпропаноидов в абсолютно сухом сырье (в %) в пересчете на розмариновую кислоту
1.	Сорт «Шоколадная»	4,54± 0,05

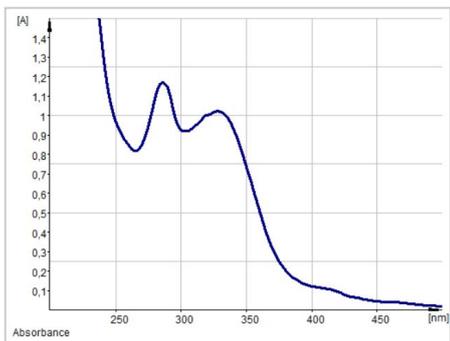
2.	Сорт «Карамельная»	$3,47 \pm 0,06$
3.	Сорт «Ментоловая»	$10,20 \pm 0,04$
4.	АО Красногорсклектравы, Рег.№ ЛП-003986	$6,83 \pm 0,05$
5.	Мята круглолистная сорт «Ананасная»	$13,03 \pm 0,05$
6.	Мята курчавая	$10,20 \pm 0,03$



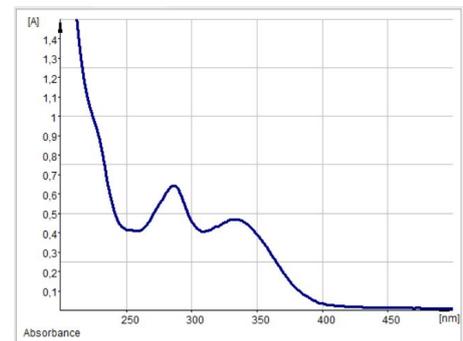
А



Б



В



Г

Рисунок 19 - Электронный прямой спектр раствора водно-спиртового извлечения листьев мяты перечной: А - АО Красногорсклектравы, Рег.№ ЛП-003986; Б – сорт «Карамельная»; В – сорт «Ментоловая»; Г – сорт «Шоколадная».

Полученные результаты свидетельствуют о том, что сырье некоторых сортов и видов мяты может быть использовано, как перспективный источник фенилпропаноидов.

5.3. Разработка методики количественного определения содержания розмариновой кислоты методом ВЭЖХ

Исходя из зарубежного опыта нами были рассмотрены существующие разработанные методики количественного определения фенилпропаноидов в листьях мяты перечной методом ВЭЖХ [140]. Однако данная методика анализа продолжительна по времени и сопряжена с большим расходом подвижной фазы.

Целью настоящего исследования являлась разработка методики количественного определения содержания розмариновой кислоты в листьях мяты перечной методом ВЭЖХ [49, 60, 146].

В качестве объекта исследования использовали образцы листьев мяты перечной (АО Красногорсклектравы, Рег.№ ЛП-003986 различных серий), биологически активная добавка (БАД) мяты перечной ООО «Камелия-ЛТ», приобретенное в аптечной сети г. Самары, а также листья мяты перечной культивируемой в Ботаническом саду Самарского университета и Никитинском ботаническом саду.

Эксперимент и валидационная оценка методики проведены в соответствии с ОФС 1.2.1.2.0001.15 «Хроматография» и ОФС 1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического анализа» Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV издания.

При анализе методом ВЭЖХ были использованы: ацетонитрил (ООО «Компонент-реактив», «Для высокоэффективной жидкостной хроматографии»); вода, полученная с использованием системы для получения воды очищенной с многоступенчатой системой очистки (адсорбция, обратный осмос, мембранное фильтрование) и проверенная на чистоту в условиях хроматографического анализа. Остальные реактивы имели степень чистоты х.ч.

При изучении фенолпропаноидного состава листьев мяты перечной методом ВЭЖХ нами были использованы стандартный образец розмариновой кислоты (Sigma-Aldrich, степень чистоты 96%).

На основе описанных выше спектрофотометрических исследований, нами определено, что розмариновая кислота вносит существенный вклад в кривую поглощения извлечения из листьев мяты перечной в области 330 ± 2 нм, которая и была выбрана для детекции при проведении ВЭЖХ-анализа.

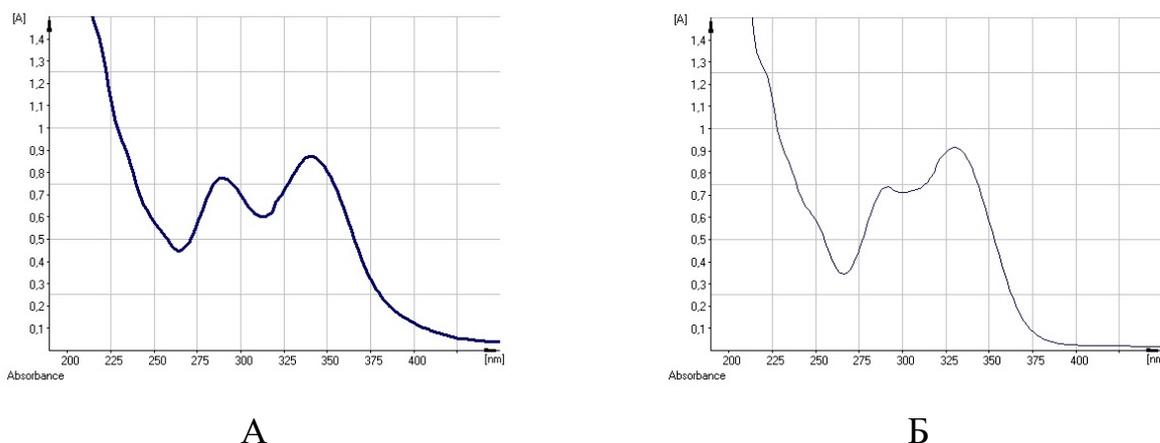


Рисунок 20 – Электронные спектры: А – водно-спиртовое извлечение из листьев мяты перечной; Б – спиртовой раствор стандартного образца розмариновой кислоты.

Приготовление рабочих растворов.

Методика приготовления водно-спиртовых извлечений из листьев мяты перечной рабочих растворов описана нами в материалах, опубликованных ранее, также описаны условия получения для проведения анализа методом прямой спектрофотометрии.

Пробоподготовка. Около 1 г измельченного сырья (точная навеска) помещали в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляли 50 мл 60 % этанола. Колбу закрывали пробкой и взвешивали на тарированных весах с точностью до $\pm 0,01$. Колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 60 мин. Затем колбу охлаждали в течение 30 мин, закрывали той же пробкой, снова взвешивали и восполняли недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтровали через бумажный

фильтр («Синяя лента»). Перед хроматографическим анализом дополнительно фильтровали через мембранный фильтр Milipore (0,22 мкм).

Приготовление стандартного раствора розмариновой кислоты. Точную навеску (0,025 г) розмариновой кислоты (содержание основного вещества 96 %) переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяли в 20 мл 96% этанола и доводили объем раствора до метки тем же растворителем.

Условия хроматографического разделения.

Хроматографический анализ осуществляли методом ВЭЖХ в изократическом режиме на микроколоночном жидкостном хроматографе «Миличром-6» (НПАО «Научприбор») в следующих условиях: изократический режим, стальная колонка «КАХ-6-80-4» (№2; 2 мм x 80 мм; Сепарон-С18 7 мкм), элюентная система: ацетонитрил (ПФА) – 1% раствор уксусной кислоты (ПФБ) (2:8), скорость элюирования – 100 мкл/мин, объем элюента – 2500 мкл. Детекцию веществ осуществляли при длине волны 330 нм. Объемы инжектируемых проб 2 мкл.

Оценка пригодности системы. С целью проверки пригодности хроматографической системы проводили 5-кратное хроматографирование 2 мкл раствора извлечения листьев мяты перечной. В дальнейшем рассчитывали следующие показатели: эффективность колонки, разрешение между пиками, фактор асимметрии. В результате расчетов были получены следующие результаты (табл. 17).

Таблица 17 – Определение пригодности хроматографической колонки.

Параметр хроматографической колонки	Значение	Нормативный показатель
Эффективность колонки	5954	Не менее 5000 теоретических тарелок
Разрешение между наиболее близкими пиками	1,77	Не менее 1,5
Фактор асимметрии	1,48	Не более 1,5

Полученные данные при хроматографировании позволяют оценить пригодность данной хроматографической системы, а также сделать заключение о том, что

данная система может быть использована для количественного определения розмариновой кислоты в листьях мяты перечной.

Валидация методики. Специфичность методики оценивали по соответствию времени удерживания стандартного рабочего раствора розмариновой кислоты и пика на хроматограмме извлечения. Для определения линейности строили градуировочный график серии разведения розмариновой кислоты (в диапазоне концентраций от 0,0002 до 0,0006 мг/мл). На основании полученных данных строили график в координатах «концентрация, мг/мл – площадь пика» и рассчитывали уравнение линейной регрессии ($Y = aX + b$), значение коэффициента детерминации (R^2), стандартное отклонение с использованием программного обеспечения Microsoft Excel 2016. Правильность методики подтверждали на образце извлечения мяты перечной введением аликвоты образца раствора стандартного образца розмариновой кислоты в количестве от 80% до 120% от исходного содержания (табл. 19).

Результаты и их обсуждение

В результате проведения ВЭЖХ-анализа выявлено, что в указанных условиях хроматографирования раствор стандартного образца розмариновой кислоты имеет время удерживания $12,37 \pm 0,35$ мин (рис. 21). В водно-спиртовом извлечении листьев мяты перечной время удерживания розмариновой кислоты составляет $11,79 \pm 0,22$ мин (рис.22, табл. 18).

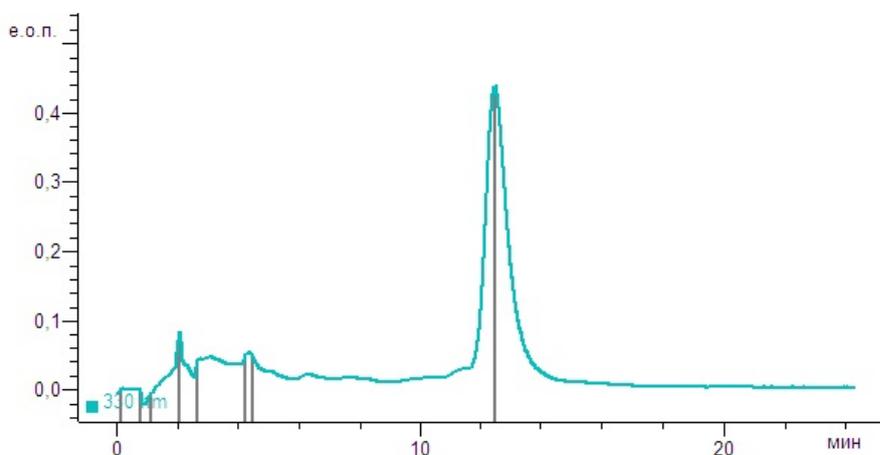


Рисунок 21 - ВЭЖХ-хроматограмма водно-спиртового извлечения из листьев мяты перечной.

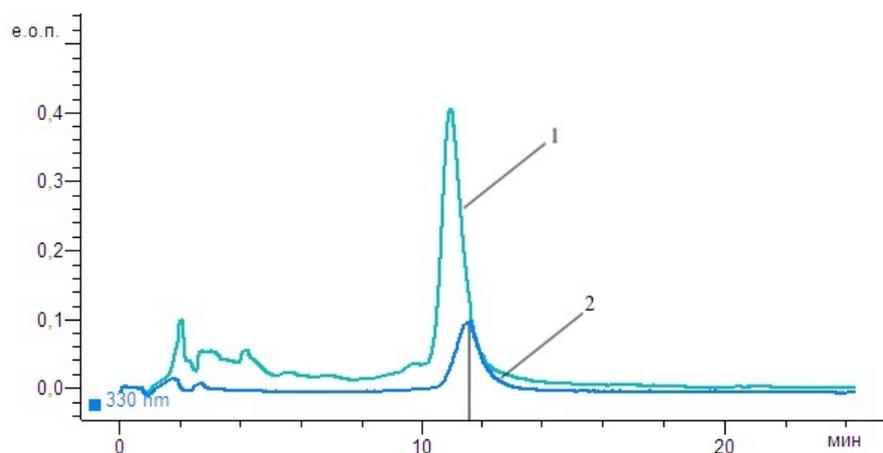


Рисунок 22. ВЭЖХ-хроматограмма водно-спиртового извлечения и розмариновой кислоты.

Обозначения: 1 – водно-спиртовое извлечение, 2 – розмариновая кислота.

Таблица 18 - Время удерживания пиков на хроматограммах извлечения и стандартного образца.

Фенилпропаноид	Время удерживания на хроматограмме, мин	
	Стандартный образец	Извлечение
Розмариновая кислота	11.51	10.94

На рис. 23 приводится хроматограмма водно-спиртового извлечения из листьев мяты перечной и хроматограмма водно-спиртового извлечения с добавкой стандартного раствора розмариновой кислоты.

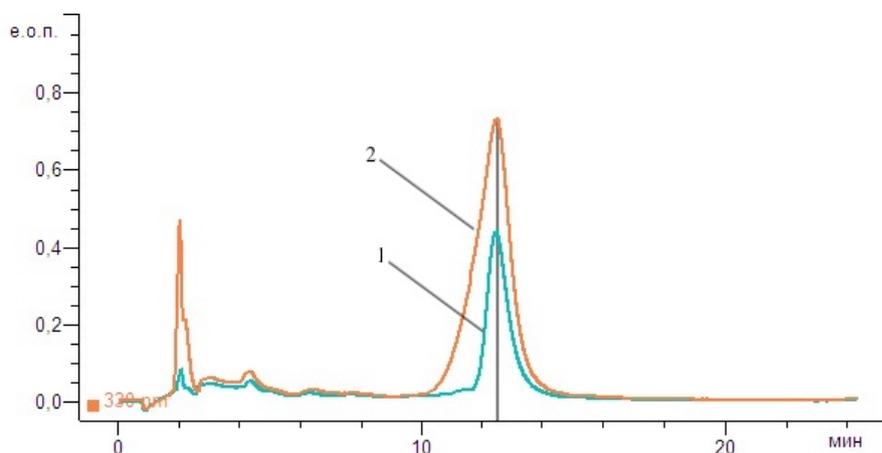


Рисунок 23 - ВЭЖХ-хроматограмма извлечения из листьев мяты перечной с добавлением розмариновой кислоты.

Обозначения: 1 – извлечение из листьев мяты перечной, 2 – извлечение из листьев мяты перечной после добавления СО розмариновой кислоты.

Зависимость высоты и площади хроматографического пика от концентрации розмариновой кислоты описывалась линейной регрессией в диапазоне концентраций от 0,0002 до 0,0006 мг/мл (рис. 24), однако коэффициент корреляции для зависимости высоты пика от концентрации розмариновой кислоты составил 0,9991, для зависимости площади пика от концентрации – 0,9504. Поэтому определение содержания розмариновой кислоты проводили с использованием площади пика.

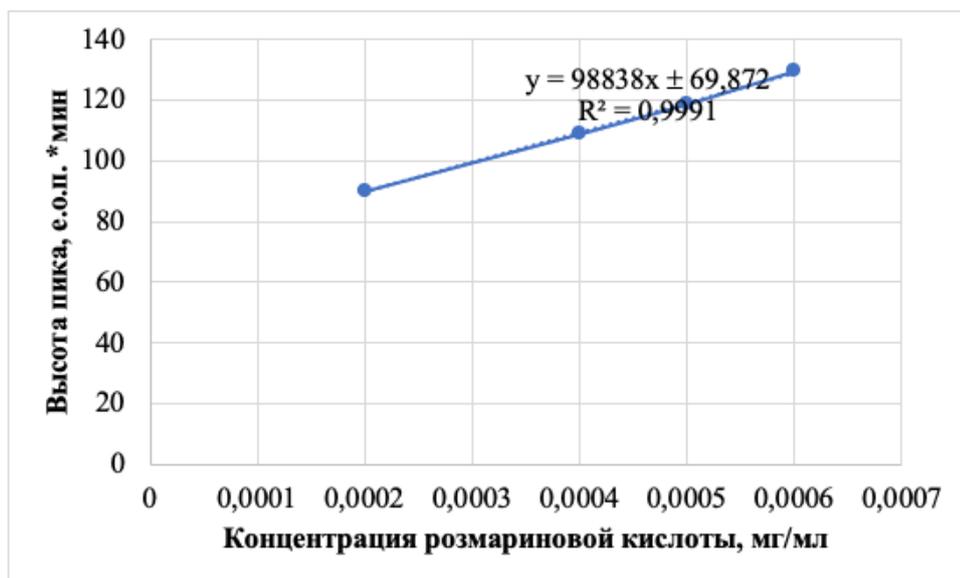


Рисунок 24 - График зависимости площади пика от концентрации розмариновой кислоты в пробе и уравнение линейной регрессии.

Таблица 19 - Результаты определения правильности методики.

Исходное содержание розмариновой кислоты, мг/мл водно-спиртового извлечения	Добавлено розмариновой кислоты, мг/мл	Содержание розмариновой кислоты, мг/мл		Ошибка	
		Расчетное	Найденное	Абсолютная, мг/мл	Относительная, %
0,13	0,104	0,234	0,225	-0,009	-3,84

0,13	0,13	0,26	0,28	+0,02	+7,69
0,13	0,156	0,286	0,293	+0,007	+2,45

Методика количественного определения розмариновой кислоты в листьях мяты перечной.

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм. Около 1 г измельченного сырья (точная навеска) помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл 60% этилового спирта. Колбу закрывают пробкой и взвешивают на тарированных весах с точностью до $\pm 0,01$. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 60 минут. Затем колбу охлаждают в течение 30 минут, закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр («Синяя лента»). Перед хроматографическим анализом дополнительно фильтруют через мембранный фильтр Milipore (0,22 мкм).

В жидкостной хроматограф «Милихром-6» (НПАО «Научприбор») с УФ-детектором вводят 2 мкл полученного раствора. Хроматографируют в условиях прямой хроматографии в изократическом режиме на стальной колонке «КАХ-6-80-4» (№2; 2 мм x 80 мм; Сепарон-С18 7 мкм), элюентная система: ацетонитрил (ПФА) – 1% раствор уксусной кислоты (ПФБ), скорость элюирования – 100 мкл/мин, объем пробы испытуемого раствора – 2 мкл. Проводят УФ-детектирование при длине волны 340 нм, диапазон чувствительности 0,5. Проводят не менее 3 параллельных определений. Соотношение компонентов в элюентной системе равняется 2:8.

Параллельно 10 мкл раствора розмариновой кислоты вводят в хроматограф и хроматографируют, как описано выше. Определяют время удерживания и идентифицируют пик розмариновой кислоты на хроматограмме испытуемого раствора. Вычисляют высоту пика розмариновой кислоты на хроматограмме и рассчитывают среднюю высоту пика по 3 параллельным определениям.

Содержание розмариновой кислоты в листьях мяты перечной в пересчете на абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$x = \frac{H * m_0 * V * V_2 * 100 * 100}{H_0 * m * V_0 * V_1 * (100 - W)}$$

Где H – среднее значение высоты пика розмариновой кислоты испытуемого раствора, вычисленное из хроматограмм раствора испытуемого образца; H_0 – среднее значение высоты пика раствора СО розмариновой кислоты, вычисленное из хроматограмм раствора РСО розмариновой кислоты; V – объем извлечения, мл; V_1 – объем вводимой пробы раствора испытуемого образца, мкл; V_0 – объем раствора СО розмариновой кислоты, мл; V_2 – объем вводимой пробы раствора РСО розмариновой кислоты, мкл; m – масса сырья, г; m_0 – масса СО розмариновой кислоты, г; W – потеря в массе при высушивании сырья, %.

Метрологические характеристики разработанной методики ВЭЖХ-анализа свидетельствуют о том, что ошибка единичного определения содержания розмариновой кислоты в листьях мяты перечной с доверительной вероятностью 95% составляет $\pm 2,91\%$. (табл. 21)

Таблица 20 - Содержание розмариновой кислоты в образцах листьев мяты перечной.

№	Образец	Содержание розмариновой кислоты в сырье (%)
1.	Ботанический сад Самарского университета	5,22± 0,06
2.	Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Ордена Трудового Красного Знамени» Никитский ботанический сад — Национальный научный центр РАН»	1,76± 0,04
3.	АО Красногорсклектравы, Рег.№ ЛП-003986 Серия 70822	4,63± 0,05
4.	АО Красногорсклектравы, Рег.№ ЛП-003986 Серия 40322	5,54± 0,05

5.	Биологически активная добавка (БАД) мяты перечной ООО «Камелия-ЛТ»	2,01± 0,03
----	--	------------

Таблица 21 - Метрологические характеристики методики количественного определения розмариновой кислоты в листьях мяты перечной.

n	f	$\bar{X},\%$	S^2	S	$S_{\bar{X}}$	P, %	t (P, f)	$\pm\Delta X$	$\pm\Delta\bar{X}$	E, %	$\bar{E},$ %
11	10	4,23	0,03	0,18	0,06	95	2,23	0,41	0,12	9,66	2,91

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют о целесообразности стандартизации листьев мяты перечной путем определения содержания доминирующего и диагностически значимого фенолпропаноида – розмариновой кислоты с использованием метода ВЭЖХ и детектированием на УФ-детекторе при длине волны 330 нм. Содержание розмариновой кислоты в образцах листьев мяты перечной варьирует от $1,76 \pm 0,04\%$ до $5,54 \pm 0,05\%$.

5.4. Изучение компонентного состава листьев мяты перечной (*Mentha piperita* L.) методом ВЭЖХ

Материалом исследования являлись образцы листьев мяты перечной (АО Красногорсклектравы, Рег.№ ЛП-003986, а также листья мяты перечной, культивируемой в Ботаническом саду Самарского университета). Из листьев мяты перечной получали водно-спиртовые извлечения, которые были использованы для качественного анализа (прямая спектрофотометрия), а также для препаративного выделения индивидуальных соединений. В качестве СО нами использовались рабочие растворы розмариновой кислоты (Sigma-Aldrich, степень чистоты 96%), хлорогеновой кислоты, сальвианоловой кислоты В, лютеолина, цинарозида и 5,3'-дигидрокси-6,7,8,4'-тетраметоксифлавона, выделенных нами препаративно.

При исследовании компонентного состава водно-спиртового извлечения из листьев мяты перечной методом ВЭЖХ были использованы: ацетонитрил (ООО «Компонент-реактив», «Для высокоэффективной жидкостной хроматографии»); вода, полученная с использованием системы для получения воды очищенной с

многоступенчатой системой очистки (адсорбция, обратный осмос, мембранное фильтрование) и проверенная на чистоту в условиях хроматографического анализа. Остальные реактивы имели степень чистоты х.ч.

Поскольку все исследуемые фенольные соединения имеют максимум поглощения в длинноволновой области электронного спектра (диапазон области 290-360 нм), для детекции анализируемых веществ при проведении ВЭЖХ-анализа нами была выбрана длина волны 330 нм.

Анализ осуществляли методом обращенно-фазовой хроматографии в градиентном режиме на высокоэффективном жидкостном хроматографе микроколоночном жидкостном хроматографе «Миличром-6» (НПАО «Научприбор») в следующих условиях: стальная колонка «КАХ-6-80-4» (№2; 2 мм x 80 мм; Сепарон-С18 7 мкм), элюентная система: ацетонитрил (ПФА) – 1% раствор уксусной кислоты (ПФБ), скорость элюирования – 100 мкл/мин, объем элюента - 2500 мкл. Детекцию веществ осуществляли при длине волны 330 нм. Объемы инжестируемых проб 2 мкл. Профиль градиента представлен в таблице 22.

Таблица 22 - Профиль градиента хроматографического разделения

Время, мин	ПФА, %	ПФБ, %
0-4	10	90
4-10	20	80
10-17,5	30	70
17,5-25	80	20

Пригодность хроматографической системы оценивали в соответствии с ОФС.1.2.1.2.0001.15 «Хроматография». С целью проверки пригодности хроматографической системы проводили 5-кратное хроматографирование 10 мкл раствора извлечения листьев мяты перечной. В дальнейшем рассчитывали следующие показатели: эффективность колонки, разрешение между пиками, фактор асимметрии. В результате расчетов были получены следующие результаты (табл. 23).

Таблица 23 - Определение пригодности хроматографической колонки.

Параметр хроматографической колонки	Значение	Нормативный показатель
Эффективность колонки	5954	Не менее 5000 теоретических тарелок
Разрешение между наиболее близкими пиками	1,77	Не менее 1,5
Фактор асимметрии	1,48	Не более 1,5

ВЭЖХ-анализ извлечения листьев мяты перечной в указанных условиях хроматографирования позволил идентифицировать соединения, такие как – розмариновая кислота, хлорогеновая кислота, кофейная кислота, цинарозид, лютеолин, 5,3'-дигидрокси-6,7,8,4'-тетраметоксифлавонон (рис. 25). Время удерживания пиков представлены в таблице 24.

Таблица 24 - Время удерживания пиков на хроматограммах извлечений и стандартных образцов

Индивидуальное соединение	Время удерживания на хроматограмме, мин		
	Стандартный образец	Извлечение (АО «Красногорск-лектравы»)	Извлечение (Ботанический сад Самарского университета)
Хлорогеновая кислота (1)	6,04	6,01	5,70
Кофейная кислота (2)	7,00	7,05	7,22
Цинарозид (3)	8,89	8,99	8,34
Розмариновая кислота (4)	12,70	12,61	12,80
Лютеолин (5)	18,53	18,53	18,53

5,3'-дигидрокси- 6,7,8,4'-тетраметок- сифлавона (6)	20,70	20,70	20,70
---	-------	-------	-------

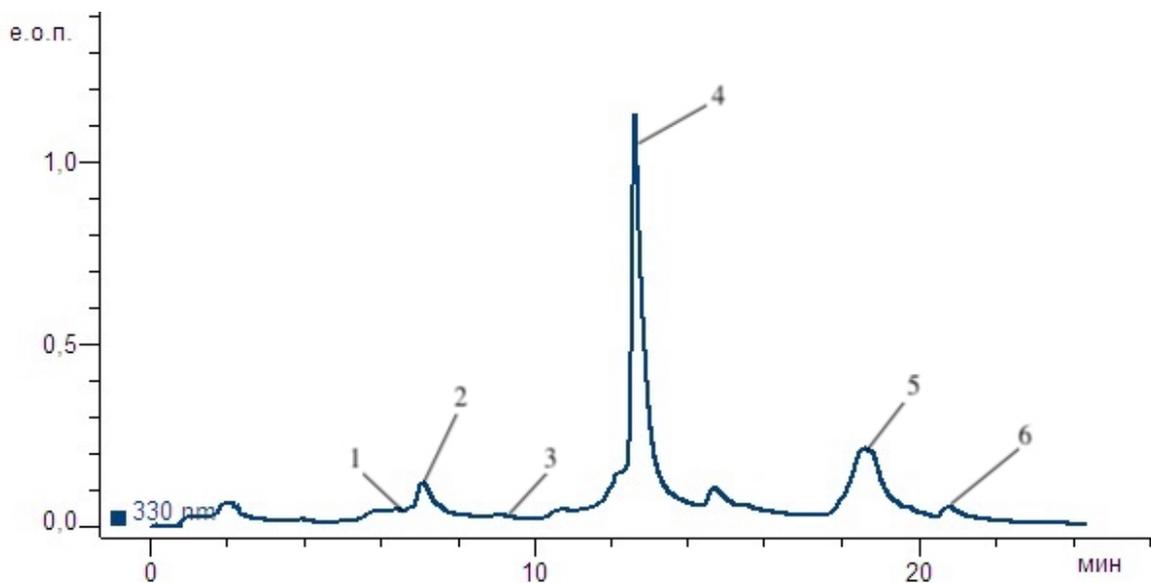


Рисунок 25 - ВЭЖХ- хроматограмма извлечения из листьев мяты перечной.
 Обозначени: 1 – хлорогеновая кислота, 2 – кофейная кислота, 3 – цинарозид, 4 –
 розмариновая кислота, 5 – лютеолин,
 6 – 5,3'-дигидрокси-6,7,8,4'-тетраметоксифлавон.

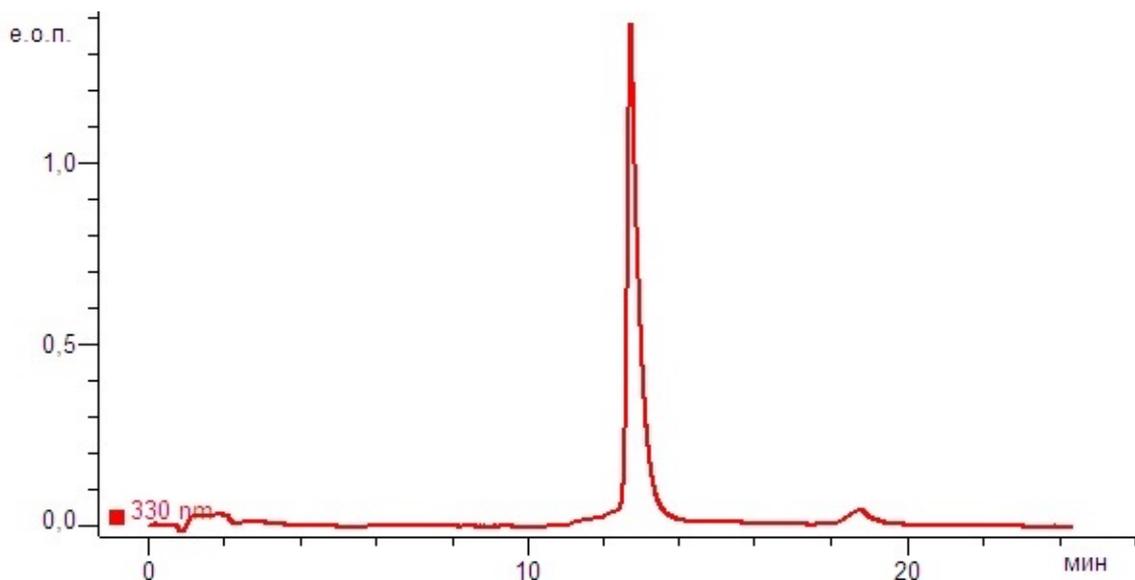


Рисунок 26 - ВЭЖХ-хроматограмма стандартного образца розмариновой кислоты.

Таким образом, с использованием метода ВЭЖХ изучен компонентный состав фенольных соединений, представленный фенилпропаноидами (розмариновая кислота, хлорогеновая кислота и кофейная кислота) и флавоноидами (лютеолин, цинарозид и 5,3'-дигидрокси-6,7,8,4'-тетраметоксифлавоон). Определено, что доминирующим и диагностически значимым фенилпропаноидом водно-спиртовых извлечений из листьев мяты перечной является розмариновая кислота (рис. 26), которая может быть использована для стандартизации лекарственного растительного сырья при исследованиях (разделы «Идентификация» и «Количественное определение»).

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 5

1. Проведено исследование компонентного состава водно-спиртовых извлечений из листьев мяты методами тонкослойной хроматографии, прямой УФ-спектрофотометрии и высокоэффективной хроматографии.
2. Определено, что гидроксикоричные кислоты являются одной из ведущих групп биологически активных веществ, причем доминирующей гидроксикоричной кислотой является розмариновая кислота.
3. Определена длина волны наиболее подходящая для детекции гидроксикоричных кислот, в частности, розмариновой кислоты, равная 328 нм, и метод спектрофотометрия может быть использован для идентификации листьев мяты перечной. В методе ТСХ для подтверждения подлинности сырья наряду со СО ментола необходимо применять СО розмариновой кислоты.
4. Разработана методика количественного определения суммы фенилпропаноидов в пересчете на розмариновую кислоту методом прямой спектрофотометрии. Содержание суммы фенилпропаноидов в листьях мяты перечной варьирует от $3,52 \pm 0,03\%$ до $9,23 \pm 0,06\%$. Нижний предел содержания не менее 3%.
5. Разработанная методика количественного определения суммы фенилпропаноидов в листьях мяты перечной позволила оценить качество сырья сортовых форм мяты перечной, мяты круглолистной сорт «Ананасная» и мяты курчавой. Содержание суммы фенилпропаноидов в абсолютно сухом сырье (в %) в пересчете на розмариновую кислоту варьирует от $3,47 \pm 0,06$ до $13,03 \pm 0,05$.
6. Разработана методика количественного определения розмариновой кислоты методом ВЭЖХ. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о целесообразности стандартизации листьев мяты перечной путем определения содержания доминирующего и диагностически значимого фенилпропаноида – розмариновой кислоты с использованием метода ВЭЖХ и детектированием на УФ-детекторе при длине волны 330 нм. Содержание

розмариновой кислоты в образцах листьев мяты перечной варьирует от $1,76 \pm 0,04\%$ до $5,54 \pm 0,05\%$. Нижний предел содержания не менее 1,5%.

7. Проведенное исследование компонентного состава листьев мяты перечной методом ВЭЖХ, позволило разработать методику качественного анализа состава водно-спиртовых извлечений из листьев мяты перечной (*Mentha piperita* L.), заключающаяся в определении основных компонентов водно-спиртовых извлечений из исследуемого сырья, представленных фенилпропаноидами, такими как розмариновая кислота, хлорогеновая кислота, кофейная кислота, и флавоноидами - лютеолин, цинарозид и 5,3'-дигидрокси-6,7,8,4'-тетраметоксифлавоон.
8. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о целесообразности проведения стандартизации листьев мяты перечной (*Mentha piperita* L.) определением содержания розмариновой кислоты с использованием метода ВЭЖХ с детектированием на УФ-детекторе при $\lambda=330$ нм.

ГЛАВА 6. ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТОВ ЛИСТЬЕВ МЯТЫ ПЕРЕЧНОЙ И НЕКОТОРЫХ ВИДОВ И СОРТОВ МЯТЫ

С целью анализа фармакологической активности препаратов листьев рода Мята (*Mentha* L.) нами были получены сухие экстракты из измельченных листьев фармакопейного сырья мяты перечной, мяты перечной сорт «Шоколадная», мяты круглолистной сорт «Ананасная», мяты перечной сорт «Ментоловая», мяты длиннолистной, а также фармакопейной настойки мяты перечной (Ивановская фармацевтическая фабрика). Схема приготовления настойки из листьев мяты и описание технологических операций изготовления сухого экстракта из нее приведена в приложении 5.

Помимо сухого экстракта были исследованы:

- ◆ 5,4'-дигидрокси-6,7,3'-триметоксифлавоны, выделенный из листьев мяты перечной, с целью изучения их предполагаемой диуретической и нейротропной активности
- ◆ ментол и лютеолин в качестве препаратов сравнения для подтверждения антимикробной активности извлечений из листьев некоторых растений рода мята.

6.1. Изучение диуретической активности сухого экстракта и 5,4'-дигидрокси-6,7,3'-триметоксифлавоны листьев рода Мята (*Mentha* L.)

Для определения диуретической активности были исследованы сухие экстракты (СЭ) из некоторых видов и сортовых форм листьев рода Мята (*Mentha* L.), розмариновая кислота и флавоноид - 5,4'-дигидрокси-6,7,3'-триметоксифлавоны.

Анализируемые образцы сырья.

Сухие экстракты листьев мяты перечной (*Mentha piperita* L.), мяты перечной сорт «Шоколадная» (*Mentha piperita* L. cv. Chocolate), мяты круглолистной сорт «Ананасная» (*Mentha rotundifolia* (L.) Huds. cv. Ananasminze), мяты перечной сорт «Карамельная» (*Mentha piperita* L. cv. Карамельная), мяты перечной сорт «Ментоловая» (*Mentha piperita* L. cv. Ментоловая), собранных в ботаническом саду

Самарского университета (г. Самара) и фармакопейный препарат «Настойка мяты перечной», приобретённый в аптечной сети г. Самары.

Препараты сравнения.

Фуросемид в пороговой дозе 1 мг/кг (препарат сравнения для 4-х часовых опытов) и гипотиазид в эффективной средней терапевтической дозе 20 мг/кг (препарат сравнения для 24-х часовых опытов).

Методика проведения анализов на диуретическую активность представлена в приложении 4.

Результаты проведенных исследований.

Выявлено, что однократное введение сухого экстракта мяты перечной вызывает достоверное увеличение натрийуреза (на 55%) за 24 часа опыта относительно показателей контроля, а сухой экстракт мяты перечной сорт «Шоколадная» вызывает достоверное значительное увеличение натрийуреза (на 189%) за 4 ч опыта и достоверное значительное увеличение натрийуреза (на 78%) и калийуреза (на 108%) за 24 ч опыта относительно показателей контроля. Сухой экстракт мяты длиннолистной (10 мг/кг) достоверно увеличивает натрийурез (на 46%), калийурез (на 84%) и креатининурез (на 30%) за 24 ч опыта относительно показателей контроля. Сухой экстракт мяты перечной (10 мг/кг) вызывает изолированное достоверное увеличение натрийуреза (на 82%) относительно показателей контроля. Данные (табл. 25-26) могут быть полезны при разработке калий- и натрий-сберегающих препаратов, а также диуретических средств.

Таблица 25 - Показатели натрийуреза у крыс после введения сухих экстрактов мяты в дозировке 10 мг/кг.

Образец	Контроль через 4 ч ($M \pm m$), мг	Натрийурез через 4 ч		Контроль через 24 ч ($M \pm m$), мг	Натрийурез через 24 ч	
		($M \pm m$), мл	в % к контролю		($M \pm m$), мл	в % к контролю
СЭ мяты перечной	33,42 ± 8,49	48,02 ± 10,95	143%	352,89 ± 72,21	15,77 ± 4,47	60%

СЭ мяты перечной (сорт «Шоколадная»)		96,47 ± 14,96 **	289% **		9,68 ± 1,61*	37%*
СЭ мяты длиннолистой	45,37 ± 6,94	44,62 ± 10,88	98%	237,59 ± 39,76	347,46 ± 27,69*	146%*
СЭ мяты перечной (аптечная)		53,15 ± 9,75	117%		432,73 ± 54,19*	182%*
* p < 0,05. ** p < 0,01.						

Таблица 26 - Показатели калий- и креатининурина у крыс после введения сухих экстрактов мяты в дозировке 10 мг/кг через 24 часа.

Образец	Калийурез - Контроль (M ± m), мг	Калийурез через 24 ч		Креатининурина - Контроль (M ± m), мг	Креатининурина через 24 ч	
		(M ± m), мл	в % к контролю		(M ± m), мл	в % к контролю
СЭ мяты перечной		196,06 ± 15,86	161%	3,45 ± 0,32	3,46 ± 0,29	100%
СЭ мяты перечной (сорт «Шоколадная»)	121,48 ± 31,98	252,25 ± 26,90 **	208% **		3,12 ± 0,30	90%
СЭ мяты длиннолистой	113,56 ± 6,94	208,95 ± 33,50*	184% *	1,87 ± 0,13	2,43 ± 0,15*	130%*
СЭ мяты перечной (аптечная)		165,94 ± 24,35	146%		2,70 ± 0,44	144%
* p < 0,05. ** p < 0,01.						

6.2. Изучение нейротропной активности сухого экстракта и 5,4'-дигидрокси-6,7,3'-триметоксифлавона, выделенного из листьев листьев рода Мята (*Mentha L.*)

Для определения нейротропной активности были исследованы сухие экстракты из некоторых видов и сортовых форм листьев рода Мята (*Mentha L.*), розмариновая кислота и флавоноид 5,4'-дигидрокси-6,7,3'-триметоксифлавоны.

Анализируемые образцы сырья.

Сухие экстракты листьев мяты перечной (*Mentha piperita* L.), мяты перечной сорт «Шоколадная» (*Mentha piperita* L. cv. Chocolate), мяты круглолистной сорт «Ананасная» (*Mentha rotundifolia* (L.) Huds. cv. Ananasminze), мяты перечной сорт «Карамельная» (*Mentha piperita* L. cv. Карамельная), мяты перечной сорт «Ментоловая» (*Mentha piperita* L. cv. Ментоловая), собранных в ботаническом саду Самарского университета (г. Самара) и фармакопейный препарат «Настойка мяты перечной», приобретённый в аптечной сети г. Самары.

Методика проведения анализов на нейротропную активность представлена в приложении 4.

Результаты проведения исследования.

При проверке антидепрессантной активности сухих экстрактов из листьев некоторых видов и сортов мяты с помощью теста Порсолта, определено, что сухой экстракт мяты длиннолистной увеличивает двигательную активность на 154%, проявляет выраженное антидепрессантное действие, тогда как сухой экстракт листьев мяты перечной и 5,3'-дигидрокси-6,7,8,4'-тетраметоксифлавоны снижают двигательную активность животных на 73%, проявляя седативный эффект (табл. 27).

Таблица 27 - Показатели нейротропной активности у крыс после введения 5,3'-дигидрокси-6,7,8,4'-тетраметоксифлавоны (1 мг/кг) и сухих экстрактов мяты (10 мг/кг).

Исследуемые образцы, дозировка	Контроль Двигательная активность животных за 5 мин, с	Двигательная активность животных за 5 мин, с	Двигательная активность животных за 5 мин, %	Достоверность отличий от опытных показателей контроля
5,3'- дигидрокси - 6,7,8,4'- тетраметоксифлавоны, 1 мг/кг	81,00 ± 15,25	59,29 ± 14,64	73%	p=0,325

СЭ мяты перечной, 10 мг/кг	95,14 ± 15,61	69,57 ± 11,55	73%	p=0,212
СЭ мяты перечной (сорт «Шоколад- ная»), 10 мг/кг		62,86 ± 7,03	66%	p=0,084
СЭ мяты перечной (сорт «Ментоловая»), 10 мг/кг	69,00 ± 9,69	98,14 ± 37,94	142%	p=0,471
СЭ мяты круглистной (сорт «Ананасная»), 10 мг/кг		91,43 ± 18,65	133%	p=0,307
СЭ мяты длинноли- стой, 10 мг/кг	28,57 ± 12,27	72,43 ± 15,25	254%	p=0,045
СЭ мяты перечной (аптечная), 10 мг/кг		34,29 ± 6,54	120%	p=0,688

6.3. Изучение антимикробной активности извлечений из листьев рода Мята (*Mentha L.*)

6.3.1. Изучение антимикробной активности извлечений из листьев рода Мята (*Mentha L.*) на микроорганизмах, вызывающих осложнения у пациентов с муковисцидозом.

Объектами исследования являлись водно-спиртовые извлечения из некоторых видов и сортов рода Мята (*Mentha L.*).

Анализируемые образцы сырья.

Листья мяты перечной (*Mentha piperita L.*), мяты перечной сорт «Шоколадная» (*Mentha piperita L. cv. Chocolate*), мяты круглолистной сорт «Ананасная» (*Mentha rotundifolia (L.) Huds. cv. Ananasminze*), мяты перечной сорт «Карамельная» (*Mentha piperita L. cv. Карамельная*), мяты перечной сорт «Ментоловая» (*Mentha piperita L. cv. Ментоловая*), собранных в ботаническом саду Самарского университета (г. Самара) и листья мяты перечной (*Mentha piperita L.*), собранной в Никитском ботаническом саду (г. Ялта), заготовленные в июне 2022 года.

Для подтверждения соответствия сырья листьев мяты требованиям Государственной фармакопеи Российской Федерации использовался метод дифференциальной спектрофотометрии в УФ-области. Определено, что содержание суммы флавоноидов в исследуемом растительном сырье варьируется от $1,26 \pm 0,03$ % до $8,35 \pm 0,03$ %, что соответствует требованиям ФС.2.5.0029.15 (нижний предел содержания суммы флавоноидов не менее 0,6%).

В результате проведенного сравнительного анализа были получены следующие данные.

Исследуемые образцы показали значительную противомикробную активность в отношении штаммов *Pseudomonas aeruginosa* штамм 1, *Pseudomonas aeruginosa* штамм 2, *Burkholderia cenocepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Chryseobacterium indologenes* (табл. 28) по сравнению с таковой препаратов контроля (табл. 29).

Извлечение из листьев мяты перечной (*Mentha piperita* L.), собранной в ботаническом саду Самарского университета, наиболее активно подавляла рост колоний микроорганизмов штаммов *Burkholderia cenocepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Chryseobacterium indologenes*.

Водно-спиртовое извлечение из листьев мяты перечной (Никитский ботанический сад, г. Ялта) проявило противомикробный эффект в отношении штаммов *Pseudomonas aeruginosa* штамм 1, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Chryseobacterium indologenes*. При этом один из самых выраженных бактерицидных эффектов был показан в отношении *Stenotrophomonas maltophilia*.

Водно-спиртовой экстракт из листьев мяты перечной сорт «Карамельная» был наиболее активен к штаммам *Pseudomonas aeruginosa* штамм 1, *Pseudomonas aeruginosa* штамм 2, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Chryseobacterium indologenes*.

Водно-спиртовое извлечение из листьев мяты перечной сорт «Ментоловая» активна в отношении штаммов *Pseudomonas aeruginosa* штамм 1, *Pseudomonas aeruginosa* штамм 2, *Burkholderia cenocepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Chryseobacterium indologenes*,

Водно-спиртовое извлечение из листьев мяты перечной сорт «Шоколадная» активна в отношении *Pseudomonas aeruginosa* штамм 1, *Pseudomonas aeruginosa* штамм 2, *Burkholderia cenocepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Chryseobacterium indologenes*.

Водно-спиртовое извлечение из листьев мяты круглолистная сорт «Ананасная» наиболее активно подавляло рост микроорганизмов штаммов *Pseudomonas aeruginosa* штамм 1, *Pseudomonas aeruginosa* штамм 2, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Chryseobacterium indologenes*. Экстракт из листьев мяты круглолистной сорт «Ананасная» *Mentha rotundifolia* (L.) Huds. cv. Ananasminze) показал активность при большем разведении, в отличие от экстрактов других исследуемых образцов, что позволяет сделать вывод о перспективности применения данного вида мяты в изготовлении противомикробных препаратов для комплексной терапии как заболеваний верхних дыхательных путей, так и препаратов для лечения осложнений у пациентов с муковисцидозом.

Спиртовой раствор лютеолина 0,06% показал эффективное подавление роста микроорганизмов штамма *Stenotrophomonas maltophilia*, а спиртовой раствор ментола 5% проявил бактериостатический и бактерицидный эффекты на все проверяемые штаммы бактерий (табл. 28).

Наибольшую противомикробную активность проявили извлечения из листьев мяты круглолистной сорт «Ананасная» (70% спирт этиловый) и листьев мяты перечной сорт «Ментоловая» (70% спирт этиловый) (табл. 28). Это соотносится с результатами количественного определения содержания суммы фенилпропаноидов в образцах листьев мяты перечной и сортовых форм (табл. 30).

Так, именно в образцах листьев мяты круглолистной сорт «Ананасная» и листьев мяты перечной сорт «Ментоловая» обнаруживается наибольшее содержание суммы фенилпропаноидов в пересчете на розмариновую кислоту - $13,03 \pm 0,05\%$ и $10,20 \pm 0,03\%$ соответственно (табл. 30). На наш взгляд, именно розмариновая кислота, обладающая широким спектром биологической активности [62, 63, 124], должна рассматриваться наряду с ментолом как одно из ключевых биологически активных соединений листьев мяты перечной.

Что касается содержания суммы флавоноидов в исследуемых образцах сырья (табл. 31), то в этом случае какой-либо закономерности не прослеживается. Это подтверждается и меньшей антимикробной активностью флавоноида лютеолина по сравнению с ментолом (табл. 28).

Таблица 28 – Результаты тестирования извлечений из листьев изучаемых образцов рода Мята (*Mentha L.*).

***Pseudomonas aeruginosa* штамм 1**

Кратность разведения*		Образцы							
		1	2	3	4	5	6	7	8
1	1:2	-	-	-	-	-	-	-	-
2	1:4	-	-	-	-	-	-	-	-
3	1:8	-	-	-	-	-	-	-	-
4	1:16	+	-	-	-	-	-	+	-
5	1:32	+	+	+	+	+	+	+	+
6	1:64	+	+	+	+	+	+	+	+
7	1:128	+	+	+	+	+	+	+	+

***Pseudomonas aeruginosa* штамм 2**

Кратность разведения*		Образцы							
		1	2	3	4	5	6	7	8
1	1:2	-	-	-	-	-	-	-	-
2	1:4	-	-	-	-	-	-	-	-
3	1:8	-	-	-	-	-	-	-	-
4	1:16	+	+	-	-	-	-	+	-
5	1:32	+	+	+	-	-	+	+	+
6	1:64	+	+	+	+	+	+	+	+
7	1:128	+	+	+	+	+	+	+	+

Burkholderia cenocepacia

Образцы	
---------	--

7	1:128	+	+	+	+	+	+	+	+
---	-------	---	---	---	---	---	---	---	---

Примечание*: + наличие роста микроорганизма; – отсутствие роста микроорганизма.

Примечание **: 1 – мята перечная (70% спирт этиловый); 2 - мята перечная (г. Ялта) (70% спирт этиловый); 3 - мята перечная сорт «Карамельная» (70% спирт этиловый); 4 - мята круглолистная сорт «Ананасная» (70% спирт этиловый); 5 - мята перечная сорт «Ментоловая» (70% спирт этиловый); 6 - мята перечная сорт «Шоколадная» (70% спирт этиловый); 7 - Спиртовой раствор лютеолина 0,06%; 8 - Спиртовой раствор ментола 5%.

Таблица 29 – Результаты тестирования препаратов контроля.

Об-разцы**/Кратность разведения*		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> штамм 1		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> штамм 2		<i>Burkholderia cenocepacia</i>		<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>		<i>Chryseobacterium indologenes</i>	
		1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
1	1:2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	1:4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	1:8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	1:16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	1:32	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	1:64	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	1:128	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Примечание*: + наличие роста микроорганизма; – отсутствие роста микроорганизма.

Примечание **: 1 - 70% спирт этиловый; 2 - 96% спирт этиловый.

Таблица 30 – Содержание суммы фенилпропаноидов в образцах листьев мяты перечной и сортовых форм (в %) в пересчете на розмариновую кислоту.

№	Характеристика образца сырья	Содержание суммы фенолпропаноидов в абсолютно сухом сырье (в %) в пересчете на розмариновую кислоту
1.	Мята перечная Ботанический сад Самарского университета.	9,23± 0,06
2.	Мята перечная Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад — Национальный научный центр РАН».	5,56± 0,04
3.	Мята перечная сорт «Карамельная».	3,47± 0,05
4.	Мята круглолистная сорт «Ананасная».	13,03± 0,05
5.	Мята перечная сорт «Ментоловая».	10,20± 0,03
6.	Мята перечная сорт «Шоколадная».	4,54± 0,03

Таблица 31 – Содержание суммы флавоноидов в образцах листьев мяты перечной и сортовых форм (в %) в пересчете на лютеолин.

№	Характеристика образца сырья	Содержание суммы флавоноидов в абсолютно сухом сырье (в %) в пересчете на лютеолин
1.	Мята перечная Ботанический сад Самарского университета.	3,86± 0,06
2.	Мята перечная Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Ордена Трудового	1,80± 0,04

2	1:4	-	-	-	-	-	-	-	-
3	1:8	-	-	-	-	-	-	-	-
4	1:16	+	-	+	+	-	+	-	-
5	1:32	+	+	+	+	+	+	+	-
6	1:64	+	+	+	+	+	+	+	+
7	1:128	+	+	+	+	+	+	+	+

Candida albicans

Кратность разведения*		Образцы**							
		1	2	3	4	5	6	7	8
1	1:2	-	-	-	-	-	-	-	-
2	1:4	-	-	-	-	-	-	-	-
3	1:8	-	-	-	-	-	+	-	-
4	1:16	-	-	-	-	-	+	+	-
5	1:32	+	-	+	+	+	+	+	+
6	1:64	+	+	+	+	+	+	+	+
7	1:128	+	+	+	+	+	+	+	+

Примечание*: + наличие роста микроорганизма; – отсутствие роста микроорганизма.

Примечание **: 1 – мята перечная (70% спирт этиловый); 2 - мята перечная (г. Ялта) (70% спирт этиловый); 3 - мята перечная сорт «Карамельная» (70% спирт этиловый); 4 - мята круглолистная сорт «Ананасная» (70% спирт этиловый); 5 - мята перечная сорт «Ментоловая» (70% спирт этиловый); 6 - мята перечная сорт «Шоколадная» (70% спирт этиловый); 7 - Спиртовой раствор лютеолина 0,06%;
8 - Спиртовой раствор ментола 5%.

Таблица 33 – Результаты тестирования препаратов контроля

Образцы/ Кратность разведения	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Candida albicans</i>

		1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
1	1:2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	1:4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	1:8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	1:16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	1:32	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	1:64	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	1:128	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Примечание*: + наличие роста микроорганизма; – отсутствие роста микроорганизма.

Примечание**: 1 - 70% спирт этиловый; 2 - 96% спирт этиловый.

Растворы лютеолина, ментола проявили высокую противомикробную активность (табл. 33), но в случае раствора СО ментола при пятикратном разведении бактерицидное действие сохранялось, что может послужить основанием для предположения, что в образцах растительного сырья, где процент содержания ментола больше, противомикробная активность была более высокой, чем в других водно-спиртовых извлечениях.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 6

В результате проведенных исследований были сформулированы следующие выводы:

1. Проведены исследования диуретической активности сухих экстрактов из листьев растений рода *Mentha* L. и действующих веществ входящих в состав извлечений на их основе. Выявлено, что однократное введение сухого экстракта мяты перечной вызывает достоверное увеличение натрийуреза (на 55%) за 24 часа опыта относительно показателей контроля, а сухой экстракт мяты перечной сорт «Шоколадная» вызывает достоверное значительное увеличение натрийуреза (на 189%) за 4 ч опыта и достоверное значительное увеличение натрийуреза (на 78%) и калийуреза (на 108%) за 24 ч опыта относительно показателей контроля. Сухой экстракт мяты длиннолистной (10 мг/кг) достоверно увеличивает натрийурез (на 46%), калийурез (на 84%) и креатининурез (на 30%) за 24 ч опыта относительно показателей контроля. Сухой экстракт мяты перечной (10 мг/кг) вызывает изолированное достоверное увеличение натрийуреза (на 82%) относительно показателей контроля.
2. Проведены исследования нейротропной активности экстрактов из листьев растений рода *Mentha* L. и действующих веществ входящих в состав извлечений на их основе. Определено, что сухой экстракт мяты длиннолистной увеличивает двигательную активность на 154%, проявляет выраженное антидепрессантное действие, тогда как сухой экстракт листьев мяты перечной и 5,3'-дигидрокси-4,7,8,4'-тетраметоксифлавоны снижают двигательную активность животных на 73%, проявляя седативный эффект.
3. Изучена антимикробная активность водно-спиртовых извлечений из мяты перечной. Наибольшую противомикробную активность проявили извлечения из листьев мяты круглолистной сорт «Ананасная» (70% спирт этиловый) и листьев мяты перечной сорт «Ментоловая» (70% спирт этиловый). Это соотносится с результатами количественного определения содержания суммы фенилпропаноидов в образцах листьев мяты перечной и сортовых

форм. Так, именно в образцах листьев мяты круглолистной сорт «Ананасная» и листьев мяты перечной сорт «Ментоловая» обнаруживается наибольшее содержание суммы фенилпропаноидов в пересчете на розмариновую кислоту - $13,03 \pm 0,05\%$ и $10,20 \pm 0,03\%$ соответственно.

4. Относительно штаммов *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* растворы лютеолина, ментола проявили высокую противомикробную активность, но в случае раствора СО ментола при пятикратном разведении бактерицидное действие сохранялось, что может послужить основанием для предположения, что в образцах растительного сырья, где процент содержания ментола больше, противомикробная активность была более высокой, чем в других водно-спиртовых извлечениях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное фармакогностическое исследование видов и сортов рода Мята (*Mentha* L.) позволило сформулировать следующие выводы:

1. В результате проведения анатомо-гистологического исследования листа мяты перечной (*Mentha piperita* L.) были выявлены наиболее важные диагностические признаки черешка, такие как очертание поперечного сечения черешка, имеющего ланцетную форму с изломом по середине к верхней стороне листа с тупым углом, достигающим 140° .
2. Люминесценция протопластов железистых трихом указывает на наличие в секрете под кутикулой монотерпенов (ментола) и флавоноидов. Основная концентрация флавоноидов, вероятнее всего, локализована во флоэмной части проводящей системы в виде кристаллических веерообразных образований, имеющих характерную для флавоноидов желто-оранжевую люминесценцию в диапазоне возбуждения 330-400 нм. Фенилпропаноиды (розмариновая кислота) локализованы в клетках мезофилла черешка и могут быть обнаружены по ярко-голубой люминесценции в диапазоне возбуждения 330-400 нм.
3. Из листьев мяты перечной выделены 7 индивидуальных соединений, относящихся к фенилпропаноидам (розмариновая кислота и кофейная кислота), флавоноидам (5,4'-дигидрокси-6,7,3'-триметоксифлавоны, 5,3'-дигидрокси-6,7,8,4'-тетраметоксифлавоны, лютеолин и цинарозид) и углеводам (сахароза), которые идентифицированы с помощью УФ-, ^1H -ЯМР- и ^{13}C -ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии. Следует отметить, что 5,4'-дигидрокси-6,7,3'-триметоксифлавоны впервые описаны для листьев мяты перечной (*Mentha piperita* L.), а 5,3'-дигидрокси-6,7,8,4'-тетраметоксифлавоны впервые выделены в России из листьев мяты перечной (*Mentha piperita* L.).
4. Разработана методика количественного определения суммы фенилпропаноидов в пересчете на розмариновую кислоту методом прямой спектрофотометрии. Содержание суммы фенилпропаноидов в листьях мяты перечной варьирует от $3,52 \pm 0,03\%$ до $9,23 \pm 0,06\%$. Нижний предел – не менее 3%.

Результаты сравнительного изучения компонентного состава сырья сортовых форм мяты перечной мяты круглолистной сорт «Ананасная» и мяты курчавой показало, что содержание суммы фенилпропаноидов в которых в абсолютно сухом сырье (в %) в пересчете на розмариновую кислоту варьирует от $3,47 \pm 0,06\%$ до $13,03 \pm 0,04\%$. Полученные результаты позволили сделать вывод о перспективности использования сортовых форм и некоторых видов мяты в качестве источника фенилпропаноидов.

5. Разработана методика количественного определения розмариновой кислоты методом ВЭЖХ. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о целесообразности стандартизации листьев мяты перечной путем определения содержания доминирующего и диагностически значимого фенилпропаноида – розмариновой кислоты с использованием метода ВЭЖХ и детектированием на УФ-детекторе при длине волны 330 нм. Содержание розмариновой кислоты в образцах листьев мяты перечной варьирует от $1,76 \pm 0,04\%$ до $5,54 \pm 0,05\%$.
6. В результате исследования компонентного состава листьев мяты перечной, а также некоторых сортов и видов мяты методом ВЭЖХ обнаружены такие вещества, как розмариновая кислота, хлорогеновая кислота, кофейная кислота, 5,3'-дигидрокси-6,7,8,4'-тетраметоксифлавоны, лютеолин и цинарозид.
7. В результате исследования биологической активности сухих экстрактов из листьев некоторых сортов и видов мяты и некоторых индивидуальных веществ определено, что выраженную диуретическую активность показали сухой экстракт листьев мяты перечной, мяты перечной сорт «Шоколадная» и мяты длиннолистной. В результате исследования нейротропной активности сухого экстракта мяты длиннолистной определено его антидепрессантное действие, однако сухой экстракт листьев мяты перечной и 5,3'-дигидрокси-4,7,8,4'-тетраметоксифлавоны наоборот снижали двигательную активность животных на 73%, проявляя седативный эффект. В результате исследования антимикробной активности водно-спиртовые извлечения из листьев некоторых сортов и видов мяты перечной наибольший антимикробный эффект

показали извлечения из листьев мяты перечной сорт «Ананасная» и сорт «Ментоловая».

8. Разработан проект дополнений к ФС «Мяты перечной листья» для включения в Государственную фармакопею Российской Федерации (разделы «Микроскопические признаки», «Подлинность» и «Количественное определение»).

Практические рекомендации. Результаты диссертационной работы будут способствовать совершенствованию подходов в стандартизации ЛРС, содержащего фенилпропаноиды и флавоноиды, и могут быть использованы в учебно-образовательных процессах по дисциплинам «Фармакогнозия» и «Фармацевтическая химия», а также в организациях и предприятиях, специализирующихся в области создания, стандартизации, сертификации и контроля качества ЛС и ЛП.

Перспективы дальнейшей разработки. Проведение дальнейших исследований объектов диссертационной работы имеет научно-практическое значение для решения актуальных задач фармации в области фармакогнозии и фармацевтической химии. Планируется осуществление экспериментально-аналитической работы по углубленному изучению химического состава других видов растений рода *Mentha* L., и последующая разработка современных, объективных и унифицированных подходов к стандартизации новых видов лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов.

Список литературы

1. Абрарова, М. Ф. Польза перечной мяты в хлебобулочных изделиях / М. Ф. Абрарова, А. В. Минеева // Стратегические ресурсы Тюменского АПК: Люди, наука, технологии: Сборник трудов LVIII международной научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, Тюмень, 12 марта 2024 года. – Тюмень: Государственный аграрный университет Северного Зауралья, 2024. – С. 306-313.
2. Азнагулова, А. В. Фармакогностическое исследование одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* wigg.) : специальность 14.04.02 «Фармацевтическая химия» : диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук / Азнагулова Анастасия Викторовна. – Самара, 2016. – 216 с.
3. Амельченко, В. Е. Влияние состава растительных экстрактов на потребительские свойства косметических средств / В. Е. Амельченко, В. С. Болтовский, Ж. В. Бондаренко // Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия химических наук. – 2016. – № 1. – С. 88–93.
4. Амельченко, В. Е. Влияние условий экстракции на эффективность извлечения экстрактивных веществ из ромашки аптечной и мяты перечной / В. Е. Амельченко, В. С. Болтовский, В. Л. Флейшер // Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия химических наук. – 2017. – № 2. – С. 88-92.
5. Анализ морфологии травы Синюхи голубой методами стерео- и люминесцентной микроскопии / А. С. Чистякова, Г. Ю. Шестакова, А. А. Гудкова [и др.] // Аспирантский вестник Поволжья. – 2023. – Т. 23, № 3. – С. 34–38.
6. Артамонова, В. В. Дикорастущее растительное сырье в производстве пищевых продуктов функционального назначения / В. В. Артамонова, А. М. Артамонов // Нетрадиционное растительное сырье - резерв в решении проблемы создания пищевых продуктов разной функциональной направленности : Материалы I Международной научно-практической конференции, Майкоп, 13 декабря 2022 года / Министерство науки и высшего образования РФ, Майкопский государственный технологический университет. – Майкоп: Индивидуальный предприниматель Кучеренко Вячеслав Олегович, 2022. – С. 19-27.

7. Белоногова, В. Д. Запасы, рациональное использование и охрана дикорастущих лекарственных растений среднего Урала / В. Д. Белоногова, А. Ю. Турышев, А. В. Курицын и др. // Пермь : Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 2022. – 273 с.
8. Биологическая активность экстрактов мяты перечной / Н. А. Коваленко, Г. Н. Супиченко, Т. И. Ахрамович [и др.] // Техника и технология пищевых производств. Материалы XV Юбилейной Международной научно-технической конференции (Могилев, 19–20 апреля 2023 года). – Могилев : Учреждение образования "Белорусский государственный университет пищевых и химических технологий", 2023. – С. 278–279.
9. Биологически активные соединения лекарственных растений как источник диуретических препаратов / В. А. Куркин, О. Е. Правдивцева, А. В. Куркина, Е. Н. Зайцева, А. С. Цибина. – Самара : Стандарт, 2024. – 86 с.
10. Бобизода, Г. М. Изучение токсикологической и фармакологической активности композиции на основе суммарных экстрактов подорожника большого (*Plantago major* L.), мяты перечной (*Mentha piperita* L.) и дипептид изолейцил триптофан / Г. М. Бобизода, Г. М. Хусейнов // Вестник Педагогического университета. Естественные науки. – 2019. – № 3-4(3-4). – С. 163–166.
11. Бодьян, Л. А. Основы теории цвета. физиологические и психологические основы цветовосприятия : учебное пособие / Л. А. Бодьян, Н. Л. Медяник, Л. В. Савочкина. – Магнитогорск, 2010. – 90 с.
12. Бостанова, Ф. А. Получение экстрактов из лекарственных растений и исследование их состава методом капиллярного электрофореза / Ф. А. Бостанова, Е. В. Белик, Ю. С. Грядских // Современные технологии: проблемы инновационного развития и внедрения результатов : сборник статей XIII Международной научно-практической конференции (Петрозаводск, 10 октября 2022 года). – Петрозаводск : Международный центр научного партнерства «Новая Наука» (ИП Ивановская И.И.), 2022. – С. 107–112.

13. Бубенчикова, В. Н. Валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в траве чабреца / В. Н. Бубенчикова, Ю. А. Старчак // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. – 2012. – № 22-1(141). – С. 157–160.
14. Бугаенко, Л. А. Мята как источник натурального эфирного масла и ментола для медицинской промышленности / Л. А. Бугаенко // Человек-Природа-Общество: Теория и практика безопасности жизнедеятельности, экологии и валеологии. – 2009. – № 2. – С. 33–36.
15. Варданян, Л. Р. Экспериментальные исследования по изучению макро- и микроэлементного состава мяты перечной (*Méntha piperíta*), произрастающей в Горисском регионе Армении / Л. Р. Варданян, С. А. Айрапетян // Вестник Северо-Восточного федерального университета им. М. К. Аммосова. – 2024. – Т. 21, № 2. – С. 7–13.
16. Васильев, В. П. Аналитическая химия. В 2 книгах. Книга 2. Физико-химические методы анализа : учеб. для студ. вузов, обучающихся по химико-технол. спец. / В. П. Васильев. – 5-е изд., стереотип. – Москва : Дрофа, 2005. – 383 с.
17. Возможности фитотерапии при заболеваниях системы пищеварения / В. А. Куркин, Е. В. Авдеева, А. В. Куркина, В. Р. Галямова // Фармация и фармакология. – 2016. – Т. 4, № 2. – С. 26–40.
18. Галимова, В. Е. Применение мяты перечной как перспективного сырья в пищевой промышленности / В. Е. Галимова, Д. Д. Руденко, Е. А. Мылтусова // Кузбасс: образование, наука, инновации. Материалы XI Инновационного конвента (Кемерово, 08 февраля 2023 года). – Кемерово : Кемеровский государственный университет, 2023. – С. 115–116.
19. Гасанова, К. Ф. Экстракты мяты в качестве природного источника ментола и его производных / К. Ф. Гасанова, С. В. Исмаилова // Вестник Башкирского государственного педагогического университета им. М. Акмуллы. – 2022. – № 3(64). – С. 106–112.
20. Головина, Д. А. Разработка рецептуры кондитерского изделия, формирующего стрессоустойчивость / Д. А. Головина, В. Ю. Неверов // Пищевая

биотехнология и продовольственная безопасность. Материалы X Международной научно-практической онлайн-конференции (Тюмень, 22 апреля 2022 года) / отв. ред. В. Г. Попов. – Тюмень : Тюменский индустриальный университет, 2022. – С. 60–63.

21. Государственная фармакопея Республики Беларусь : [в 3 томах] / УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении» ; под общ. ред. А. А. Шерякова. – Минск : Минск государственный ПТК полиграфии им. В. Хоружей, 2009. – 3 т.

22. Государственная фармакопея Республики Казахстан. В 3 томах. Том 2. – Алматы : Жибек жолы, 2009. – 804 с.

23. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд., Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2018. URL: <https://femb.ru/record/pharmacopea13>.

24. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд., Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2018. URL: <http://www.femb.ru/femb/pharmacopea.php>.

25. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд., Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2023. URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/>

26. Гребенникова, О. А. Фенольные соединения водно-этанольного экстракта *Mentha longifolia* L. / О. А. Гребенникова, А. Е. Палий, В. Д. Работягов. – Текст : электронный // Фармация и фармакология. – 2014. – № 6(7). – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/fenolnye-soedineniya-vodno-etanolnogo-ekstrakta-mentha-longifolia-1> (дата обращения: 20.01.2025).

27. Губанов, И. А. Дикорастущие полезные растения СССР / И. А. Губанов, И. Л. Крылова, В. Л. Тихонова ; отв. ред. Т. А. Работнов. – Москва : Мысль, 1976. – 360 с. : ил.

28. Давлатзода, А. Д. Фенольные соединения водно-этанольного экстракта *Mentha Piperita* / А. Д. Давлатзода, Г. М. Бобизода, Х. Ш. Шарифов // Фармацевтический рынок Таджикистана: проблемы и перспективы : Материалы

- международной научно-практической конференции (Душанбе, 16–17 октября 2023 года). – Душанбе : Таджикский национальный университет, 2023. – С. 45–51.
29. Девяшина, В. А. применение натуральных эфирных масел / В. А. Девяшина, М. С. Иванова // Молодежь и наука. – 2024. – № 5.
30. Деньга, О. В. Оценка эффективности применения эфирных масел в сочетании с бентонитовой глиной для лечения хронического катарального гингивита у детей / О. В. Деньга, Ж. А. Довбня // Вестник стоматологии. – 2014. – № 2(87). – С. 74–79.
31. Дикорастущие полезные растения России / авт. кол. Л. Н. Абышева, Л. М. Беленовская, Н. С. Бобылева [и др.] ; отв. ред. А. Л. Буданцев, Е. Е. Лесиовская. – Санкт-Петербург : изд-во СПХФА, 2001. – 663 с.
32. Жарина, И. А. Влияние водного экстракта мяты перечной (*Mentha piperita* L.) на прорастание семян / И. А. Жарина, В. А. Седакова, А. А. Чебыкина // Проблемы устойчивого развития регионов Республики Беларусь и сопредельных стран : сборник материалов X Международной научно-практической конференции (Могилев, 13–14 мая 2021 года). – Могилев : Могилевский государственный университет им. А. А. Кулешова, 2021. – С. 16–19.
33. Журавель, В. В. Влияние эфирного масла *Mentha piperita* L. На электрическую активность кожи человека / В. В. Журавель // Forcipe. – 2021. – Т. 4, № S1. – С. 474.
34. Журтова, З. Х. Мята перечная - лекарственное растение / З. Х. Журтова // Научные труды студентов Горского государственного аграрного университета «Студенческая наука - агропромышленному комплексу» (Владикавказ, 16–17 марта 2020 года). – Владикавказ : Горский государственный аграрный университет, 2020. – Т. 57, ч. 1. – С. 144–145.
35. Захваткина, А. Г. Польза и вред мятного чая / А. Г. Захваткина, А. А. Абдуллаева // Студенческие научные исследования: сборник статей XV Международной научно-практической конференции (Пенза, 20 декабря 2022 года). – Пенза : Наука и Просвещение (ИП Гуляев Г.Ю.), 2022. – С. 232–235.

36. Зилфикаров, И. Н. Основные аспекты сквозной стандартизации сырья и лекарственных препаратов эвкалипта прутовидного / И. Н. Зилфикаров, Ж. В. Дайронас, И. И. Бочкарева и др. // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. – 2022. – Т. 12, № 2. – С. 183-192.
37. Зуев, С. С. Изучение липофильных фракций мяты перечной и тысячелистника обыкновенного (углеводородные экстракты) : специальность 14.04.02 «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук / Зуев Сергей Сергеевич. – Москва, 2014. – 24 с.
38. Изменчивость компонентного состава эфирного масла *Mentha piperita* L. в зависимости от условий интродукции / А. Н. Алибегова, А. М. Алиев, Г. К. Раджабов [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2024. – Т. 58, № 2. – С. 19–25.
39. Изучение морфологических и анатомо-диагностических признаков сырья Валерианы волжской методом люминесцентной микроскопии / О. А. Колосова, О. В. Тринеева, А. А. Сорокина [и др.] // Фармация. – 2021. – Т. 70(8). – С. 26–30.
40. Изучение природных пищевых антиоксидантов CO₂-экстракта *Mentha Piperita* L. / Т. К. Каленик, Т. А. Сенотрусова, Е. В. Моткина [и др.] // Вестник ВСГУТУ. – 2021. – № 1(80). – С. 29–38.
41. Изучение противомикробной активности флавоноидов листьев мяты перечной в отношении штаммов муковисцидоза / М. А. Казакова, О. В. Минько, С. С. Миронова [и др.] // Фенольные соединения: свойства, активность, инновации. Сборник научных статей по материалам X Международного симпозиума (Москва, 14–19 мая 2018 года) / отв. ред. Н. В. Загоскина. – Москва : ИФР РАН, PRESS-BOOK.RU, 2018. – С. 449–453.
42. Изучение противомикробной активности извлечений из листьев мяты перечной в отношении штаммов муковисцидоза / О. В. Минько, М. А. Казакова, В. М. Рыжов [и др.] // Современные проблемы фармакогнозии. Сборник материалов III Межвузовской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 100-летию Самарского государственного медицинского

- университета (Самара, 27 октября 2018 года) / под ред. В. А. Куркина. – Самара : Самарский государственный медицинский университет, 2018. – С. 149–153.
43. Изучение химического состава и острой токсичности отваров дикорастущих трав как рецептурного компонента напитков безалкогольных / Р. А. Федорова, Т. В. Котова, А. С. Вальнюкова [и др.] // Индустрия питания. – 2022. – Т. 7, № 2. – С. 5–14.
44. Икроми, М. Б. Компонентный состав фенольных соединений растений семейства Яснотковых / М. Б. Икроми, Г. Н. Тураева // Вестник Технологического университета Таджикистана. – 2019. – № 1(36). – С. 25–30.
45. Иллюстрированный определитель растений Средней России. В 3 томах. Том 3. Покрытосеменные (двудольные: раздельнолепестные) / И. А. Губанов, К. В. Киселёва, В. С. Новиков [и др.]. – Москва : Т-во научных изданий КМК, Ин-т технологических исследований, 2004. – 520 с. : ил.
46. Индикация анатомических признаков надземной части солодки голой методами световой и люминесцентной микроскопии / О. В. Недилько, А. В. Яницкая, И. В. Землянская [и др.] // Лекарственный вестник. – 2023. – Т. 24, № 3(91). – С. 3–9.
47. Исмайлова, С. В. Производные ментола в составе экстрактов мяты / С. В. Исмайлова // Вестник Башкирского государственного педагогического университета им. М. Акмуллы. – 2022. – № 3(64). – С. 157–165.
48. Казакова, М. А. Актуальные проблемы стандартизации мяты перечной / М. А. Казакова, В. А. Куркин // Актуальные проблемы и перспективы фармацевтической науки и практики: материалы III Международной научно-практической конференции (Кемерово, 26 мая 2023 г.). – Кемерово : КемГМУ, 2023. – С. 259–264.
49. Казакова, М. А. Исследование компонентного состава листьев мяты перечной методом ВЭЖХ / М. А. Казакова, В. А. Куркин, А. Р. Мубинов // Фармация. – 2023. – Т. 72, № 8. – С. 33–38.
50. Казакова, М. А. Люминесцентная микроскопия мяты перечной (*Mentha piperita* L.) / М. А. Казакова // Роль молодёжи в развитии медицинской науки : материалы XII научно-практической конференции молодых учёных и студентов ТГМУ им. Абуали ибни Сино с международным участием, посвящённой «Году

молодёжи» (Душанбе, 28 апреля 2017 года) / Таджикский государственный медицинский университет им. Абу Али Ибн Сины. – Душанбе : Таджикский государственный медицинский университет им. Абуали ибни Сино, 2017. – С. 304.

51. Казакова, М. А. Морфолого-анатомический анализ корневищ мяты перечной *Mentha piperita* L / М. А. Казакова, В. М. Рыжов, Л. В. Тарасенко // Фармацевтическая ботаника: современность и перспективы. Сборник материалов IV Межвузовской научно-практической конференции, посвященной 100-летию Самарского государственного медицинского университета (Самара, 28 сентября 2019 года) / под ред. В. А. Куркина. – Самара : Самарский государственный медицинский университет, 2019. – С. 185–191.

52. Казакова, М. А. Сравнительное спектрофотометрическое исследование извлечений из листьев некоторых видов и сортов представителей рода мята (*Mentha* L.) / М. А. Казакова, В. А. Куркин // Достижения и перспективы создания новых лекарственных средств растительного происхождения. Сборник материалов Международной конференции (Москва, 07 июня 2024 года). – Москва : Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений, 2024. – С. 341–344.

53. Казакова, М. А. Сравнительное спектрофотометрическое исследование листьев различных сортов представителей рода *Mentha* L / М. А. Казакова // Молодая фармация – потенциал будущего. Сборник материалов XIV всероссийской научной конференции с международным участием Молодежного научного общества СПХФУ (Санкт-Петербург, 28 марта – 02 2024 года). – Санкт-Петербург : Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет, 2024. – С. 615–617.

54. Казакова, М. А. Сравнительный спектрофотометрический анализ сортовых форм мяты перечной (*Mentha piperita* L.) / М. А. Казакова // Аспирантские чтения - 2023: молодые ученые - медицине. Приоритетные направления науки в достижении технологического суверенитета. Сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (Самара, 25 октября 2023 года). – Самара : Стандарт, 2024. – С. 338–341.

55. Казакова, М. А. Флавоноиды и фенилпропаноиды листьев мяты перечной (*Mentha piperita* L.) / М. А. Казакова, В. А. Куркин // Современные проблемы фармации. Сборник научных трудов III Научно-практической онлайн-конференции с международным участием, посвященной 105-летию Самарского государственного медицинского университета (Самара, 18–19 ноября 2024 года). – Самара : Самарский государственный медицинский университет : Стандарт, 2024. – С. 225–228.
56. Какимова, Ж. Х. Теоретические и практические аспекты применения лекарственных растений при производстве йогурта / Ж. Х. Какимова, А. А. Ошанова // Вестник университета Шакарима. Серия технические науки. – 2021. – № 1(1). – С. 16–21.
57. Киселева, М. А. Традиционные и современные растворимые пребиотики природного происхождения. Публикация 1. Про- и пребиотики в традиционной медицине и современной концепции питания / М. А. Киселева, Т. Л. Киселева, Е. В. Хлебников // Традиционная медицина. – 2024. – № 3(75). – С. 17–50.
58. Кондратенко, Л. Н. О терапевтических и промышленных свойствах мяты перечной и эвкалипта / Л. Н. Кондратенко, О. В. Велигура // Безопасность и качество товаров. Материалы XIV Международной научно-практической конференции (Саратов, 16 июля 2020 года) / под ред. С. А. Богатырева. – Саратов : Саратовский государственный аграрный университет им. Н. И. Вавилова, 2020. – С. 112–116.
59. Коренькова, Ю. А. Применение порошка из листьев мяты перечной при производстве кексов из муки пшеничной высшего сорта / Ю. А. Коренькова, А. А. Кикарь // Современные технологии в производстве сельскохозяйственного сырья и продуктов питания. Сборник научных трудов национальной научно-практической конференции студентов, магистрантов и аспирантов технологического факультета (Кинель, 25 февраля 2022 года). – Кинель : Самарский государственный аграрный университет, 2022. – С. 17–23.
60. Куркин, В. А. Определение содержания розмариновой кислоты в листьях мяты перечной методом ВЭЖХ / В. А. Куркин, М. А. Казакова, А. Р. Мубинов // Химико-фармацевтический журнал. – 2024. – Т. 58, № 4. – С. 35–40.

61. Куркин, В. А. Разработка методики количественного определения суммы фенилпропаноидов в листьях мяты перечной / В. А. Куркин, М. А. Казакова // Химия растительного сырья. – 2024. – № 3. – С. 161–168.
62. Куркин, В. А. Фармакогнозия : учебник для студентов фармацевтических вузов (факультетов) / В. А. Куркин. – 5-е изд. перераб. и доп. – Самара : Стандарт : ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, 2020. – 1280 с. : ил.
63. Куркин, В. А. Фенилпропаноиды - перспективные природные биологически активные соединения. – Самара : СамГМУ, 1996. – 80 с.
64. Ларионов, Е. А. Исследование фотозащитных свойств троксерутина, феруловой кислоты, водных экстрактов Melissa лекарственной (*Melissa officinalis*) и мяты перечной (*Mentha piperita*) методом УФ-спектроскопии / Е. А. Ларионов, В. М. Ларионова, Е. М. Козлова // Chemical Bulletin. – 2021. – Т. 4, № 4. – С. 17–28.
65. Лекарственные препараты в справочнике Видаль. – Текст : электронный // ВИДАЛЬ. Справочник лекарственных растений [сайт]. – URL: <https://www.vidal.ru> (дата обращения: 10.02.2025).
66. Литовченко, Ю. Р. К вопросу изучения мяты перечной травы с целью внедрения сырья в медицинскую практику / Ю. Р. Литовченко, И. В. Попов // Вестник Южно-Казахстанской медицинской академии. – 2022. – № 4-7(98). – С. 12–17.
67. Литовченко, Ю. Р. Фитохимический скрининг основных групп биологически активных соединений травы мяты перечной, выращиваемой в ботаническом саду Пятигорского медико-фармацевтического института / Ю. Р. Литовченко // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции (Пятигорск, 27 марта – 20 2023 года). Сборник научных трудов. – Пятигорск : Рекламно-информационное агентство на КМВ, 2023. – Вып. 78. – С. 302–305.
68. Макарова, И. А. Сравнительное исследование мяты лесной, Melissa лекарственной и Melissa турецкой на суммарное содержание дубильных веществ / И. А. Макарова, А. К. Уфимова, Т. А. Ткачева. – Текст : электронный // Современные научные исследования и инновации. – 2017. – № 3(71). – С. 40–42. – URL: <https://web.snauka.ru/issues/2017/03/79670> (дата обращения: 19.01.2025).

69. Марина, Ф. Ш. Биологически активные вещества мяты перечной и их использование : специальность 03.00.04 «Биохимия» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Марина Федоровна Шахова. – Москва, 1975. – 22 с.
70. Маткаш, А. А. Лекарственные растения в косметологии / А. А. Маткаш // Достижения молодежной науки для агропромышленного комплекса : сборник трудов LVII научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых учёных (27 февраля 2023 г. – 03 марта 2023 г.). – Тюмень : Государственный аграрный университет Северного Зауралья, 2023. – Ч. 2. – С. 75–80.
71. Махамматова, С. Х. Химический состав мяты, её значение в производстве лекарств и применение в народной медицине / С. Х. Махамматова // Экономика и социум. – 2023. – Вып. 4-1(107). – С. 715–718.
72. Машковский, М. Д. Лекарственные средства / М. Д. Машковский. – 16-е изд., перераб., испр. и доп. – Москва : Новая волна, 2012. – 1216 с.
73. Методика количественного определения суммы флавоноидов в траве мяты перечной / Е. Е. Курдюков, Е. В. Карасева, Е. Ф. Семенова [и др.] // Международный научно-исследовательский журнал. – 2022. – № 10(124). – С. 1–5.
74. Мизина, П. Г. От растения до лекарственного препарата / П. Г. Мизина, Н. И. Сидельников. – Москва : Наш мир, 2025. – 136 с.
75. Мндлян, П. А. Пряно-ароматические растения, их свойства и область применения / П. А. Мндлян, В. М. Губанова // Достижения молодежной науки для агропромышленного комплекса : сборник материалов LVI научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых (Тюмень, 14–18 марта 2022 года). – Тюмень : Государственный аграрный университет Северного Зауралья, 2022. – Ч. 2. – С. 35 – 41.
76. Морозов, А. И. Исследования антиоксидантной активности сортов мяты перечной / А. И. Морозов // От растения к препарату: традиции и современность : сборник научных трудов Всероссийской конференции с международным участием посвященной 95-летию со дня рождения профессора Алексея Ивановича Шретера (Москва, 23–24 апреля 2014 года) / общ. ред. Н. И. Сидельников, отв. ред. Л. Н.

Зайко. – Москва : Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений, 2014. – С. 95–97.

77. Морозов, А. И. Мята перечная: сорта и технология возделывания в нечерноземной зоне России / А. И. Морозов. – Москва : Де'Либри, 2019. – 206 с.

78. Мята перечная (*mentha piperita* L.): особенности и применение / А. П. Низоленко, Л. К. Асякина, Н. В. Фотина [и др.] // Пищевые инновации и биотехнологии. Сборник тезисов X Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых (Кемерово, 17 мая 2022 года) / под общей ред. А. Ю. Просекова. – Кемерово : Кемеровский государственный университет, 2022. – Т. 1. – С. 88–89.

79. Мята перечная (*Mentha piperita* L.) сорт "Очарование" в Беларуси / Л. В. Кухарева, А. А. Кот, Т. В. Гиль [и др.] // Овощеводство : сборник научных трудов. – Минск : РУП Институт овощеводства, 2013. – С. 105–109.

80. Наумов, В. А. Определение некоторых качественных показателей плавленых сыров с растительными добавками / В. А. Наумов, О. Н. Пастух, П. А. Корневская // Инновационные технологии в науке: управление качеством, метрологическое обеспечение, новые подходы и цифровизация производства в сфере АПК. Сборник научных материалов I Всероссийской (национальной) научно-практической конференции с международным участием, приуроченной к Всемирному дню метрологии (Саратов, 28 апреля 2023 года). – Саратов : Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова, 2023. – С. 468–471.

81. Научное обоснование использования лекарственных растений в оториноларингологии / В. А. Куркин, Е. В. Авдеева, О. Е. Правдивцева [и др.] // Наука и инновации в медицине. – 2021. – Т. 6, № 2. – С. 54–59.

82. Нгуен Тхи Ньы Куинь. Сравнительный морфолого-анатомический анализ сырья мяты перечной и мяты полевой / Нгуен Тхи Ньы Куинь, И. В. Гравель, А. В. Филиппова // Известия Алтайского государственного университета. – 2011. – № 3-2(71). – С. 30–33.

83. Низоленко, А. П. Биологически активная добавка растительного происхождения на основе мяты перечной и чаги / А. П. Низоленко, В. П. Емельяненко // Кузбасс: образование, наука, инновации. Материалы XI Инновационного конвента

(Кемерово, 08 февраля 2023 года). – Кемерово : Кемеровский государственный университет, 2023. – С. 174–176.

84. Низоленко, А. П. Подбор оптимальных параметров экстракции мяты перечной (*mentariperital.*) / А. П. Низоленко, В. П. Емельяненко // Наука в современных условиях: от идеи до внедрения: материалы Национальной научно-практической конференции с международным участием, посвященной 80-летию Ульяновского государственного аграрного университета имени П. А. Столыпина (Ульяновск, 15 декабря 2022 года). – Ульяновск : Ульяновский государственный аграрный университет им. П. А. Столыпина, 2022. – С. 2603–2607.

85. Носкова, Е. О. Сывороточные напитки с использованием дикорастущего растительного сырья / Е. О. Носкова, Т. С. Демидова // Молодые исследователи: взгляд в прошлое, настоящее, будущее: материалы III Международной студенческой научно-практической конференции (Смоленск, 30 ноября 2022 года). – Смоленск : Смоленский филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский экономический университет имени Г. В. Плеханова», 2022. – С. 817–821.

86. Органолептическая оценка горьких настоек, произведенных из разных сортов мяты перечной / Е. С. Румянцева, М. В. Нестеренко, А. Э. Китова [и др.] // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. – 2017. – № 2-3. – С. 101–104.

87. Оценка качества листьев мяты перечной методом тонкослойной хроматографии в ряде объектов растительного происхождения / В. А. Сахратов, Т. Л. Малкова, Л. Н. Карпова [и др.] // Аспирантский вестник Поволжья. – 2019. – № 5-6. – С. 148–154.

88. Патент № 2541542 С2 Российская Федерация, МПК С07С 67/52, С07С 67/56 (2006.01). Способ получения розмариновой кислоты : заявка № 2013125893/04 : заявл. 04.06.2013 : опубл. 20.02.2015 / Л. И. Алексеева ; Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук. – Бюл. № 5. – 11 с.

89. Патент № 2812737 С1 Российская Федерация, МПК G01N 33/15, А61К 36/734 (2023.08). Способ количественного определения гидроксикоричных кислот в побегах боярышника крупноколючкового : заявка № 2023129754 : заявл. 16.11.2023 : опубл. 01.02.2024 / Н. В. Кудашкина, С. Р. Хасанова, Т. В. Шубина, Р. Р. Галияхметова ; Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. – Бюл. № 4. – 10 с.
90. Петикян, К. Разработка технологий, получение профилактических текстильных изделий для использования при купировании болевых ощущений в мышцах, возникающих после интенсивных физических нагрузок / К. Петикян // Научные исследования молодых учёных: сборник статей XXIII Международной научно-практической конференции (Пенза, 12 мая 2023 года). – Пенза : Наука и Просвещение (ИП Гуляев Г.Ю.), 2023. – С. 340–342.
91. Пояркова, Н. М. Мята перечная (*Méntha piperítaL.*) - важнейшее эфирномасличное растение / Н. М. Пояркова, В. В. Чулкова, С. Е. Сапарклычева // Вестник биотехнологии. – 2020. – № 1(22). – С. 12.
92. Приходько, Е. В. Исследование экстрактов мяты перечной (*Mentha piperita*) и душицы обыкновенной (*Origanum vulgare*) методами гравиметрии и окислительно-восстановительного титрования / Е. В. Приходько, Е. А. Ларионов, В. М. Ларионова // Международный журнал гуманитарных и естественных наук. – 2024. – № 3-4(90). – С. 221–225.
93. Производственная практика по стандартизации лекарственного растительного сырья и фитопрепаратов : учебное пособие для студентов фармацевтических вузов / В. А. Куркин, В. Б. Браславский, Е. В. Авдеева, О. Е. Правдивцева [и др.]. – Самара : Офорт, 2007. – 126 с.
94. Разработка комбинированных составов на базе лекарственного растительного сырья урологической направленности действия и их первичный биологический скрининг / В. В. Давыдова, Э. Ф. Степанова, М. А. Огай [и др.] // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2021. – № 2. – С. 76–82.

95. Разработка микрокапсул на базе комбинированной антидиабетической субстанции и ее фармакологическая характеристика / А. Ш. Гиесзода, Э. Ф. Степанова, О. Ф. Веселова [и др.] // Фармация и фармакология. – 2022. – Т. 10, № 4. – С. 320–330.
96. Разработка рецептуры и технологии карамельных изделий с повышенным фитохимическим потенциалом / И. В. Анненкова, А. Р. Абушаева, О. В. Романова [и др.] // Пищевые технологии будущего: инновации в производстве и переработке сельскохозяйственной продукции. Сборник статей IV Международной научно-практической конференции в рамках V Научно-практического форума, посвященного Дню Хлеба и соли (Саратов, 04–06 октября 2023 года). – Пенза : Пензенский государственный аграрный университет, 2023. – С. 108–114.
97. Разработка технологии хлебобулочных изделий с использованием мяты перечной / И. Г. Белявская, Е. В. Алексеенко, К. Ф. Капустина [и др.] // Health, Food & Biotechnology. – 2019. – Т. 1, № 4. – С. 53–69.
98. Растительные ресурсы СССР. Цветковые растения, их химический состав, использование : Семейства *Caprifoliaceae - Plantaginaceae* / АН СССР, Ботан. ин-т им. В. Л. Комарова ; [Составители Т. А. Орлова и др.] ; отв. ред. П. Д. Соколов. – Ленинград : Наука, Ленинградское отделение, 1990. – 325 с.
99. Рачина, С. А. Валериана, мелисса и мята в терапии тревожных расстройств и нарушений сна: обзор клинических исследований / С. А. Рачина, А. П. Рачин // Лечащий врач. – 2016. – № 6. – С. 61.
100. Результаты использования эфирного масла мяты перечной в комплексном лечении лиц с инфильтративным туберкулезом легких / В. А. Шкурупий, О. А. Одицова, Н. В. Казаринова [и др.] // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2006. – Т. 83, № 9. – С. 43–45.
101. Розмариновая кислота и ее сырьевые источники в Крыму / А. Е. Палий, Ф. М. Меликов, О. А. Гребенникова [и др.]. – Текст : электронный // Фармация и фармакология. – 2015. – № 2(9). – С. 7–12.
102. Сазоненко, М. М. Анатомо-морфологическое сравнение двух сортов мяты перечной (*Mentha piperita*) / М. М. Сазоненко // Научное обеспечение

агропромышленного комплекса. Сборник статей по материалам XI Всероссийской конференции молодых ученых, посвященной 95-летию Кубанского ГАУ и 80-летию со дня образования Краснодарского края, (Краснодар, 29–30 ноября 2017 года) / ответственный за выпуск А. Г. Кощаев. – Краснодар : Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина, 2017. – С. 89–90.

103. Салимзода, А. Ф. Новые перспективы противогрибковой защиты плодов лимона при хранении с использованием эфирных масел методом *in vitro* / А. Ф. Салимзода, Р. Д. Джурахонзода // Peasant. – 2020. – № 2(87). – С. 4–7.

104. Самылина, И. А. Проблемы стандартизации лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных средств / И. А. Самылина // Традиционная медицина и питание: теоретические и практические аспекты: материалы 1-го Международного научного конгресса. – Москва : Институт традиционных методов лечения МЗ РФ [и др.], 1994. – С. 203.

105. Самылина, И. А. Фармакогнозия. Атлас : учебное пособие. В 3 томах Том 3. Лекарственное растительное сырье, сборы. Растительные порошки. Лекарственные средства на основе измельченного растительного сырья / И. А. Самылина, Н. В. Бобкова, О. Г. Потанина. – 2-е издание, переработанное и дополненное. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2024. – 480 с.

106. Седакова, В. А. Экстракция летучих органических соединений из мяты перечной / В. А. Седакова, В. И. Пылькова, Р. В. Орлов // Веснік Магілёўскага дзяржаўнага ўніверсітэта імя А. А. Куляшова. Серыя В. Прыродазнаўчыя навукі: матэматыка, фізіка, біялогія. – 2022. – № 2(60). – С. 66–72.

107. Селезнев, А. М. Особенности растительного сырья используемого для приготовления бальзама / А. М. Селезнев // Актуальные вопросы совершенствования технологии производства и переработки продукции сельского хозяйства. Материалы международной научно-практической конференции (Йошкар-Ола, 23–24 марта 2023 года). – Йошкар-Ола : Марийский государственный университет, 2023. – Вып. XXV. – С. 202–206.

108. Скрининг бактерицидной активности экстрактов таволги вязолистной, пятилитника кустарникового, мяты перечной и камелии китайской / А. В. Башилов, Е.

В. Мурылева, И. А. Линник [и др.] // Биологически активные вещества растений - изучение и использование. Материалы международной научной конференции (Минск, Беларусь, 29–31 мая 2013 года). – Минск, Беларусь : Государственное научное учреждение "Центральный ботанический сад НАН Беларуси", 2013. – С. 74–75.

109. Содержание тяжелых металлов, мышьяка и алюминия в листьях мяты и продуктах на их основе / В. М. Щукин, Е. А. Блинкова, Н. Е. Кузьмина [и др.] // Вестники Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. – 2022. – Т. 12(2) – С. 193–204.

110. Соловьева, Н. А. Применение эфиромасличной продукции в медицине на примере подсолнечника однолетнего и мяты перечной / Н. А. Соловьева, М. З. Юсупова // Безопасность и качество товаров. Материалы XIV Международной научно-практической конференции (Саратов, 16 июля 2020 года) / под ред. С. А. Богатырева. – Саратов : Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова, 2020. – С. 192–196.

111. Способ цитоанатомического изучения пыльцы растений с помощью люминесцентной микроскопии / М. Л. Дубровский, Р. В. Папихин, И. Б. Кирина [и др.] // Наука и Образование. – 2020. – Т. 3, № 1. – С. 74.

112. Сравнительный анализ химического состава экстрактов из образцов растений рода *Mentha* L. после гидродистилляции и субкритической экстракции методом газовой хромато-масс-спектрометрии / Д. В. Назарова, З. А. Темердашев, Е. А. Виницкая [и др.] // Журнал аналитической химии. – 2023. – Т. 78, № 9. – С. 837–847.

113. Стельмах, Л. В. Количественная оценка красной автофлуоресценции хлорофилла а у динофитовых водорослей с помощью люминесцентной микроскопии / Л. В. Стельмах, И. М. Мансурова // Системы контроля окружающей среды. – 2019. – № 4(38). – С. 128–134.

114. Таксономия, морфология и селекция ментольных мят (обзор) / Н. И. Бочкарев, С. В. Зеленцов, Т. П. Шуваева [и др.] // Масличные культуры. Научно-

технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур. – 2015. – № 2(162). – С. 106–124.

115. Тарасенко, С. А. Обоснование возможности комплексного использования биологических активных веществ ягод брусники и мяты перечной в пищевом производстве / С. А. Тарасенко // Актуальные исследования молодых ученых - результаты и перспективы : материалы научно-практической конференции молодых ученых, посвященной Дню российской науки (Благовещенск, 08 февраля 2024 года). – Благовещенск : Дальневосточный государственный аграрный университет, 2024. – С. 453–456.

116. Тарасова, В. Н. Разработка оптимальной композиции иммуномодулирующего напитка «ИММУНОПЕКТ шиповник-мята» / В. Н. Тарасова // Вестник современных исследований. – 2018. – № 7.3(22). – С. 316–318.

117. Терехина, А. В. Гидролат мяты перечной - инновационный ингредиент для эмульсионных жировых продуктов / А. В. Терехина, В. Н. Ярошева // Инновационные технологии в пищевой промышленности: наука, образование и производство. Материалы IX Международной научно-технической конференции (Воронеж, 08 декабря 2023 года). – Воронеж : Воронежский государственный университет инженерных технологий, 2024. – С. 115–116.

118. Тожиев, Т. О. Анализ биологически активных веществ в лекарственном растительном сырье, используемом при стрессе / Т. О. Тожиев, Л. Н. Царахова // Экологическая безопасность и сохранение генетических ресурсов растений и животных России и сопредельных территорий. Материалы XIV Всероссийской научной конференции с международным участием (Владикавказ, 13–18 мая 2023 года). – Владикавказ : Северо-Осетинский государственный университет имени К. Л. Хетагурова, 2023. – Т. 2. – С. 199–203.

119. Тринеева, О. В. Применение люминесцентной микроскопии в анализе анатомо-диагностических признаков плодов Облепихи крушиновидной / О. В. Тринеева, А. А. Гудкова, М. А. Рудая // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2020. – Т. 9, № 1. – С. 40–45.

120. Тураева, Г. Н. Антиоксидантная активность экстрактов растений семейства яснотковых (Lamiaceae) / Г. Н. Тураева, М. Б. Икрами // Вестник Педагогического университета. Естественные науки. – 2019. – № 1-2(1-2). – С. 203–207.
121. Удянская, И. Л. Хроматографическое изучение эфирного масла и лекарственного растительного сырья мяты перечной : специальность 15.00.02 «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук / Удянская Ирина Львовна. – Москва, 1991. – 24 с.
122. Уранов, И. О. Изучение химического состава мяты перечной интродуцированной на территории астраханской области / И. О. Уранов, Д. Р. Зайнутдинов // Молодёжь и медицинская наука. Материалы V Межвузовской научно-практической конференции молодых ученых (Тверь, 23 ноября 2017 года). – Тверь : ГБОУ ВПО Тверская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения Российской Федерации, 2018. – С. 435–439.
123. Утепбергенова, Ж. Ж. Мята перечная: польза, вред и противопоказания / Ж. Ж. Утепбергенова // Теория и практика современной науки. – 2024. – № 9(111). – С. 59–63.
124. Фенилпропаноиды как класс природных биологически активных соединений - органопротекторов / В. А. Куркин, Н. Р. Варина, Е. В. Авдеева, И. В. Рузаева // Фармация и фармакология. – 2023. – Т. 11, № 5. – С. 399–411.
125. Флора СССР. В 30 томах. Том 21 / под глав. ред. акад. В. Л. Комарова ; ред. тома Б. К. Шишкин. – Москва ; Ленинград : изд-во Академия наук СССР, 1954. – 612 с.
126. Хишова, О. М. Разработка сиропа сухих экстрактов пустырника и мяты перечной / О. М. Хишова, О. М. Шимко // Вестник фармации. – 2020. – № 2(88). – С. 65–69.
127. Хроматографические спектры удерживания летучих компонентов равновесной паровой фазы лекарственных растений "лаванда колосовая", "мята перечная", "трава тархуна" / Ю. И. Арутюнов, Л. А. Онучак, Н. А. Крупнова [и др.] // Вестник

Самарского государственного университета. Естественнонаучная серия. – 2015. – № 3(125). – С. 153–163.

128. Чуркина, Л. А. Фармакогностический анализ сырья семейства Губоцветные (мята перечная, Melissa лекарственная) / Л. А. Чуркина // Бюллетень медицинских интернет-конференций. – 2016. – Т. 6, № 5. – С. 906.

129. Шмыгарева, А. А. Разработка методики получения и стандартизации настойки на основе лекарственного растительного сырья / А. А. Шмыгарева, В. А. Куркин, М. В. Лабковская [и др.] // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2023. – Т. 22, № 4. – С. 223-228.

130. Экспериментальные исследования по изучению изменения антиоксидантной ценности мяты перечной при сушке в поле СВЧ / О. В. Перфилова, К. В. Брыксина, Е. П. Иванова [и др.] // Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК – продукты здорового питания. – 2021. – № 3. – С. 172–176.

131. Abbas, A. GC-MS analysis and nutra-pharmaceutical potential of *Mentha piperita* essential oil extracted by supercritical fluid extraction and hydro-distillation / A. Abbas, F. Anwar, N. Ahmad // Heliyon. – 2024. – Vol. 10(16). – P. e35282.

132. Allam, S. F. How do mentha plants induce resistance against *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) in organic farming? / S. F. Allam, B. A. Soudy, A. S. Hassan [et al.] // Journal of Plant Protection Research. – 2018. – Vol. 58(3). – P. 265–275.

133. European Pharmacopoeia — 11th edition published July 2022 URL: <http://pharmeuropa.edqm.eu> (дата обращения: 25.09.2023).

134. Esmaeili, F., Rahimi Z., Yousefian S., и др. Comparative phenolic profile and antioxidant potential of mentha hairy roots and aerial parts / F. Esmaeili, Z. Rahimi, S. Yousefian [et al.] // Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. – 2025. – Vol. 63. – P. 103469.

135. Faria, J.M.S. Bioactivity against *Bursaphelenchus xylophilus*: Nematotoxics from essential oils, essential oils fractions and decoction waters / J.M.S. Faria, P. Barbosa, R.N. Bennett [et al.] // Phytochemistry. – 2013. – Vol. 94 – P. 220–228.

136. Fathi, R., Javanbakht S., Mohammadi R. Pectin/Alginate bio-nanocomposite hydrogel beads based on in-situ formed layered double hydroxide in the presence of *Mentha*

extract: Antibacterial carrier for potential pH-responsive targeted anti-cancer drug delivery / R. Fathi, S. Javanbakht, R. Pectin Mohammadi // *European Polymer Journal*. – 2024. – Vol. 221). – P. 113548.

137. Fouda, A. S. *Mentha piperita* extract as a natural product for the corrosion inhibition of low carbon steel in a polluted NaCl environment: Chemical, electrochemical and biological studies / A. S. Fouda // *Indian Journal of Chemical Technology*. – 2023. – Vol. 30(3). – P. 331–341.

138. Gholamipourfard, K. *Mentha piperita* phytochemicals in agriculture, food industry and medicine: Features and applications / K. Gholamipourfard, M. Salehi, E. Banchio // *South African Journal of Botany*. – 2021. – Vol. 141. – P. 183–195.

139. Grayer, R.J. The chemotaxonomic significance of two bioactive caffeic acid esters, nepetoidins A and B, in the Lamiaceae / R.J. Grayer, M.R. Eckert, N.C. Veitch [et al.] // *Special Issue in memory of Professor Jeffrey B. Harborne*. – 2003. – № 2 (64). – P. 519–528.

140. Gudzenko, A. Development and validation of a method for the determination of rosmarinic acid in *Mentha piperita* L. using solid-phase extraction and RP-HPLC with photodiode array detection / A. Gudzenko // *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. – 2013. – Vol. 5(9). – P. 40–45.

141. Haider, L. Enhanced in-vitro bioavailability of curcumin, lutein and isoflavones through interaction with spearmint (*Mentha spicata*) via its bioactive component (R)-(-)-carvone/ L. Haider, B. Blank-Landeshammer, N. Reiter [et al.] // *The Journal of Nutritional Biochemistry* – 2025. – P. 109868.

142. Ibrahim, O. A. Natural peppermint-flavored cheese / J. A. Ibrahim, A. G. Mohamed, W. K. Bahgaat // *Acta scientiarum Polonorum. Technologia Alimentaria*. – 2019. – Vol.18(1). – P. 75–85.

143. In vitro and in vivo evaluation of antibacterial and anti-biofilm properties of five ethnomedicinal plants against oral bacteria by TEM / F. Fathi, M. Sadrnia, M. Arjomandzadegan [et al.] // *Avicenna J. Phytomed*. – 2021. – Mar.-Apr., vol. 11(2). – P. 180–189.

144. Jayasekher, A. Authentication of *Mentha arvensis* essential oil using attenuated total reflectance-Fourier transform infrared spectrophotometry coupled with chemometrics

/ A. Jayasekher, P.C. Panchariya, F. Maurelli [et al.] // Journal of Food Composition and Analysis. – 2024. – Vol. 135. – P. 106576.

145. Jullien, F. Highly oxygenated flavones from *Mentha piperita* / F. Jullien, B. Voirin, J. Bernillon [et al.] // Phytochemistry. – 1984. – № 12 (23). – P. 2972–2973.

146. Kazakova, M. A. Determination of the Rosmarinic Acid Content in *Mentha piperita* L. Leaves by HPLC / M. A. Kazakova, A. R. Mubinov, V. A. Kurkin // Pharmaceutical Chemistry Journal. – 2024. – Vol. 58(4). – P. 661–665.

147. Mohammadi, F. Anti-inflammatory effects of *Mentha pulegium* L. extract on human peripheral blood mononuclear cells are mediated by TLR-4 and NF- κ B suppression / F. Mohammadi, K. Rahimi, A. Ahmadi [et al.] // Heliyon – 2024. – Vol. 58(4). – e24040

148. Process optimisation for green synthesis of zero-valent iron nanoparticles using *Mentha piperita* / M. Akhbari, R. Hajiaghaee, R. Ghafarzadegan, S. Hamedei [et al.] // IET Nanobiotechnol. – 2019. – Vol. 13(2). – P. 160–169.

149. Sarwar, W. Microscopic visualization of the antibiofilm potential of essential oils against *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae* / W. Sarwar, Q. Ali, S. Ahmed // Microsc. Res. Thes. – 2022. – Vol. 85(12). – P. 3921–3931.

150. Sgorbini, B. Determination of free and glucosidically-bound volatiles in plants. Two case studies: L-menthol in peppermint (*Mentha x piperita* L.) and eugenol in clove (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry) / B. Sgorbini, C. Cagliero, A. Pagani // Phytochemistry – 2015. – Vol. 117. – P. 296–305.

151. Shaiq, Ali M. A chlorinated monoterpene ketone, acylated β -sitosterol glycosides and a flavanone glycoside from *Mentha longifolia* (Lamiaceae) / Ali M. Shaiq, M. Saleem, W. Ahmad [et al.] // Phytochemistry. – 2002. – № 8(59). – P. 889–895.

152. Sharma, S. Phytochemical analysis and antifungal activity of *Mentha* against *Phytophthora infestans* / S. Sharma, R. Roy, H. Prasad [et al.] // South African Journal of Botany. – 2024. – Vol. 172. – P. 501–514.

153. Sravanthi, G. Valorization of deoiled herb of *Mentha arvensis* via phytochemical investigation and anticancer activity against breast cancer / G. Sravanthi, R.M. Sparjan

Samuvel, B.B. Pratyusha [et al.] // *Industrial Crops and Products*. – 2025. – Vol. 224. – P. 120319.

154. Telci, İ. Assessing chemical diversity in essential oil compositions of Mint (*Mentha* spp.) cultivars and clones using Multivariate analysis / İ. Telci, T. Özek, G. Özek [et al.] // *Biochemical Systematics and Ecology*. – 2025. – Vol. 120. – P. 104972.

155. (URL: https://lvgira.narod.ru/africa/mentha_pulegium.htm1)

156. (URL: <https://herbana.world/plant/myata-vodyanaya.html>)

157. (URL: https://ru.wikipedia.org/wiki/Синонимы_вида_Мята_полевая)

158. (URL: <https://blog-travushka.ru/товар/мыата-longifoliya-shandra>)

159. (URL: https://travki-muravki.ru/shop/mjata_sladkaja)

160. (URL: https://znanierussia.ru/articles/Мята_перечная)

161. Voirin, B. Free flavonoid aglycones as markers of parentage in *Mentha aquatica*, *M. citrata*, *M. spicata* and *M. x piperita* / B. Voirin, C. Bayet, O. Faure [et al.] // *Phytochemistry* – 1999. – № 7(50). – P. 1189–1193.

162. Yadegarinia, D. Biochemical activities of Iranian *Mentha piperita* L. and *Myrtus communis* L. essential oils / D. Yadegarinia, L. Gachkar, M.B. Rezaei [et al.] // *Phytochemistry*. – 2006. – № 12(67). – P. 1249–1255.

163. Zaidi, F. Free flavonoid aglycones from leaves of *mentha pulegium* and *mentha suaveolens* (labiatae) / F. Zaidi, B. Voirin, M. Jay [et al.] // *Phytochemistry*. – 1998. – № 6(48). – P. 991–994.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 2. Акты внедрения результатов диссертационной работы



«Утверждаю»
Начальник ГБУЗ
«Центр контроля качества
лекарственных средств
Самарской области»
О.В. ОСИПОВА
«11» сентября 2023 г.

АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы Казаковой Марии Александровны «Сравнительное фармакогностическое исследование некоторых видов и сортов рода Мята (*Mentha L.*)» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия в ЗАО в ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области»

Комиссия в составе сотрудников ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области»: заместителя начальника центра Жнякиной Л.Е., провизора-аналитика Черняевой Н.А., провизора-аналитика Шарьмовой О.А., подтверждает использование материалов диссертационного исследования Казаковой М.А., посвященного сравнительному фармакогностическому исследованию некоторых видов и сортов рода Мята (*Mentha L.*) при анализе лекарственного растительного сырья и препаратов на его основе. Разработанные методики качественного и количественного анализа апробированы в процессе работы Центра. В основе разработанных методик лежат методологические подходы, предусматривающие использование ТСХ, ВЭЖХ и УФ-спектроскопии в присутствии стандартных образцов биологически активных соединений. Методики определения подлинности сырья и препаратов на основе сырья некоторых видов и сортов рода Мята (*Mentha L.*), а также методики определения суммы фенилпропаноидов в данном виде сырья воспроизводимы и удобны в работе.

Таким образом, внедрение результатов диссертационного исследования Казаковой М.А. будет способствовать повышению объективности стандартизации растительного сырья некоторых видов и сортов рода Мята (*Mentha L.*), а также лекарственных растительных препаратов на основе данного вида сырья.

Члены комиссии:

Заместитель начальника ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области», кандидат фармацевтических наук

 Л.Е. ЖНЯКИНА

Провизор-аналитик ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области»

 Н.А. ЧЕРНЯЕВА

Провизор-аналитик ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области»

 О.А. ШАРЫМОВА


 «Утверждаю»
 Генеральный директор
 ЗАО «Самаралектравы»
 Н.Д. ЛУЖНОВ
 2022 г.

АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы Казаковой Марии Александровны «Сравнительное фармакогностическое исследование некоторых видов и сортов рода Мята (*Mentha L.*)» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия в ЗАО «Самаралектравы»

Комиссия в составе сотрудников ЗАО «Самаралектравы» зав. производством ЗАО «Самаралектравы» А.Н. Загорянского, главного инженера А.В. Никитенкова подтверждает использование материалов диссертационного исследования М.А. Казаковой, посвящённого исследованию химического состава, а также разработке методик анализа сырья некоторых видов и сортов рода Мята, определению диагностических признаков и обоснованию подходов к стандартизации нового вида лекарственного растительного сырья – «Мяты перечной сорт «Шоколадная» листья», «Мяты перечной сорт «Карамельная» листья», «Мяты круглолистной сорт «Ананасная» листья», «Мяты перечной сорт «Ментоловая» листья» в работе предприятия.

Разработанные методики качественного и количественного анализа сырья некоторых видов и сортов рода Мята (*Mentha L.*) апробированы в процессе работы предприятия. Внедренные результаты способствуют повышению объективности стандартизации сырья и лекарственных препаратов на основе некоторых видов и сортов рода Мята (*Mentha L.*).

Члены комиссии:

Заведующий производством ЗАО «Самаралектравы»  А.Н. ЗАГОРЯНСКИЙ

Главный инженер ЗАО «Самаралектравы»



А.В. НИКИТЕНКОВ

«Утверждаю»

Проректор по научной работе
ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России,
лауреат премии Правительства РФ,
доктор медицинских наук, профессор
И.Л. Давыдкин

2025 г.

АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы Казаковой Марии Александровны «Сравнительное фармакогностическое исследование некоторых видов и сортов рода Мята (*Mentha L.*)» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки) на кафедре фармацевтической технологии с курсом биотехнологий ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России

Комиссия в составе сотрудников кафедры фармацевтической технологии с курсом биотехнологий: зав. кафедрой, д.фарм.н., профессора Куркиной А.В., профессора кафедры, д.фарм.н., профессора Первушкина С.В., доцента кафедры, к.фарм.н., доцента Климовой Л.Д. подтверждает использование материалов исследования М.А. Казаковой, посвященного изучению химического состава и обоснованию использования в медицине лекарственного растительного сырья и лекарственных препаратов на основе сырья мяты перечной в учебном процессе при проведении практических занятий со студентами, а также в научно-исследовательской работе в области технологических исследований по производству лекарственных препаратов на основе сырья «Мяты перечной листья».

Используемые при этом результаты изучения химического состава, а также разработанные подходы к стандартизации сырья являются методической и методологической основой для научного обоснования ресурсосберегающих технологий.

Члены комиссии:

Зав. кафедрой фармацевтической технологии
с курсом биотехнологий,
д. фарм. н., профессор

А.В. Куркина

Профессор кафедры фармацевтической технологии
с курсом биотехнологий,
д. фарм. н., профессор

С.В. Первушкин

Доцент кафедры фармацевтической технологии
с курсом биотехнологий,
к.фарм.н., доцент

Л.Д. Климова

«Утверждаю»

Проректор по научной работе
ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России,
лауреат премии Правительства РФ,
доктор медицинских наук, профессор

И. Д. Давыдкин

«13»  2025 г.

АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы Казаковой Марии Александровны «Сравнительное фармакогностическое исследование некоторых видов и сортов рода Мята (*Mentha L.*)» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки) на кафедре фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России

Комиссия в составе сотрудников кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии: зав. кафедрой, д.фарм.н., профессора Куркина В.А., профессора кафедры, д.фарм.н., профессора Правдивцевой О.Е., доцента кафедры, к.фарм.н, доцента Рыжова В.М. подтверждает использование материалов диссертационного исследования М.А. Казаковой, посвященного изучению вопросов фитохимической и морфолого-диагностической диагностики, обоснованию подходов к стандартизации лекарственного растительного сырья и препаратов на основе сырья мяты перечной в учебном процессе при проведении практических занятий со студентами и ординаторами, а также в научно-исследовательской работе.

Внедренные результаты способствуют повышению объективности стандартизации лекарственного растительного сырья боярышника вееролистного.

Члены комиссии:

Зав. кафедрой фармакогнозии
с ботаникой и основами фитотерапии,
д. фарм. н., профессор



В.А. Куркин

Профессор кафедры фармакогнозии
с ботаникой и основами фитотерапии,
д. фарм. н., профессор



О.Е. Правдивцева

Доцент кафедры фармакогнозии
с ботаникой и основами фитотерапии,
к.фарм.н., доцент



В.М. Рыжов

«Утверждаю»

Проректор по научной работе
ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России,
лауреат премии Правительства РФ,
доктор медицинских наук, профессор

И. Л. Давыдкин

« 1 » 2025 г.

АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы Казаковой Марии Александровны «Сравнительное фармакогностическое исследование некоторых видов и сортов рода Мята (*Mentha L.*)» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки) на кафедре химии Института фармации ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России

Комиссия в составе сотрудников кафедры химии Института фармации: зав. кафедрой, д.фарм.н., доцента Воронина А.В., доцента кафедры, к.хим.н., доцента Шариповой С.Х., доцента кафедры, к.биол.н., доцента Расцветовой Н.В. подтверждает использование материалов диссертационного исследования М.А. Казаковой, посвященного изучению химического состава, определению диагностических признаков и обоснованию подходов к стандартизации лекарственного растительного сырья мяты перечной в учебном процессе при проведении практических занятий со студентами, а также в научно-исследовательской работе в области изучения лекарственного растительного сырья, содержащего флавоноиды.

Внедренные результаты способствуют повышению объективности стандартизации лекарственных препаратов на основе лекарственного растительного сырья мяты перечной.

Члены комиссии:

Зав. кафедрой химии Института фармации,
д. фарм. н., доцент



А.В. Воронин

Доцент кафедры химии Института фармации,
к.хим.н., доцент



С.Х. Шарипова

Доцент кафедры химии Института фармации,
к.биол.н., доцент



Н.В. Расцветова

«Утверждаю»

Ректор Пермской государственной
фармацевтической академии, к.б.н., доцент
В.Г. ЛУЖАНИН

«11» декабря 2024 г.

АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы Казаковой Марии Александровны «Сравнительное фармакогностическое исследование некоторых видов и сортов рода Мята (*Mentha L.*)» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия в Пермской государственной фармацевтической академии

Комиссия в составе сотрудников Пермской государственной фармацевтической академии заведующей кафедрой фармакогнозии В.Д. Белоноговой, профессора кафедры фармакогнозии А.Ю. Турышева подтверждает использование материалов диссертационного исследования М.А. Казаковой, посвящённого исследованию химического состава, а также разработке методик анализа сырья некоторых видов и сортов рода Мята (*Mentha L.*), определению диагностических признаков и обоснованию подходов к стандартизации лекарственного растительного сырья – «Мяты перечной листья» в работе кафедры фармакогнозии Пермской государственной фармацевтической академии.

Разработанные методики качественного и количественного анализа сырья некоторых видов и сортов рода Мята (*Mentha L.*) апробированы в процессе работы кафедры фармакогнозии Пермской государственной фармацевтической академии. Внедренные результаты способствуют повышению объективности стандартизации сырья и лекарственных препаратов на основе некоторых видов и сортов рода Мята (*Mentha L.*).

Члены комиссии:

Заведующий кафедрой фармакогнозии,
д.фарм.н., доцент

Профессор кафедры фармакогнозии,
д.фарм.н., доцент

 В.Д. Белоногова

 А.Ю. Турышев

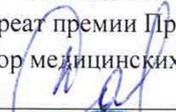
614990, г. Пермь, ул. Полевая, 2

Подпись *Белоноговой В.Д.*
Турышева А.Ю.
заверяю *А.В. Кудряков*
(начальник отдела кадров)

11.12.2024



«Утверждаю»

Проректор по научной работе
ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России,
лауреат премии Правительства РФ,
доктор медицинских наук, профессор
 И.Л. Давыдкин

«» 2025 г.

АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы Казаковой Марии Александровны «Сравнительное фармакогностическое исследование некоторых видов и сортов рода Мята (*Mentha L.*)» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки) на кафедре управления и экономики фармации – базовой кафедре «Аптеки Плюс» ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России

Комиссия в составе сотрудников кафедры управления и экономики фармации – базовая кафедра «Аптеки Плюс»: зав. кафедрой, д.фарм.н., доцента Петрухиной И.К., профессора кафедры, д.фарм.н., профессора Гладуновой Е.П., старшего преподавателя, к.фарм.н. Богдановой П.Р. подтверждает использование материалов исследования М.А. Казаковой, посвященного изучению химического состава и разработке подходов к стандартизации лекарственного растительного сырья мяты перечной в учебном процессе при проведении практических занятий со студентами Института фармации, а также в научно-исследовательской работе.

Внедренные результаты диссертационного исследования способствуют научному обоснованию целесообразности создания конкурентноспособных лекарственных препаратов, обладающих противомикробным действием, в том числе импортозамещающих препаратов.

Члены комиссии:

Зав. кафедрой управления и экономики фармации

– базовая кафедра «Аптеки Плюс»,

д. фарм. н., профессор



И.К. Петрухина

Профессор кафедры управления и экономики фармации

– базовая кафедра «Аптеки Плюс»,

д. фарм. н., профессор



Е.П. Гладунова

Старший преподаватель кафедры управления и экономики

фармации – базовой кафедры «Аптеки Плюс»,

к.фарм.н.



П.Р. Богданова

Приложение 3. ^1H -ЯМР, ^{13}C -ЯМР - и масс-спектры индивидуальных соединений, выделенных из листьев мяты перечной

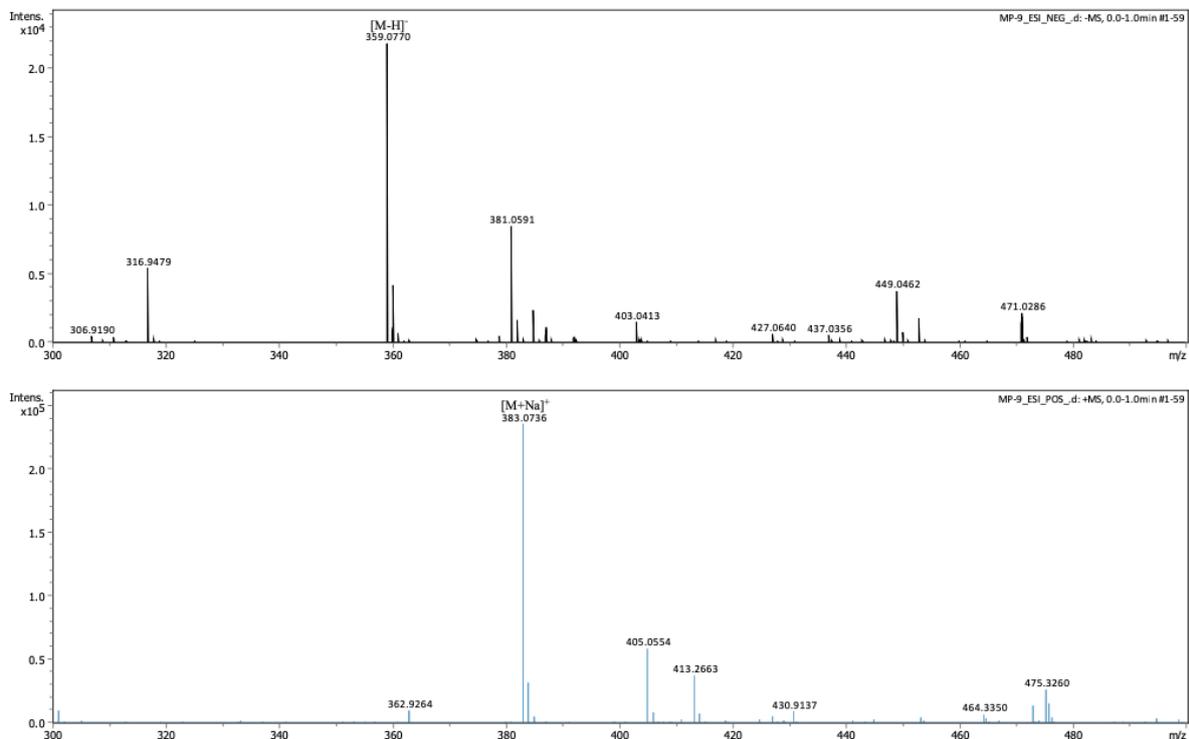


Рисунок 1 – Масс-спектр розмариновой кислоты

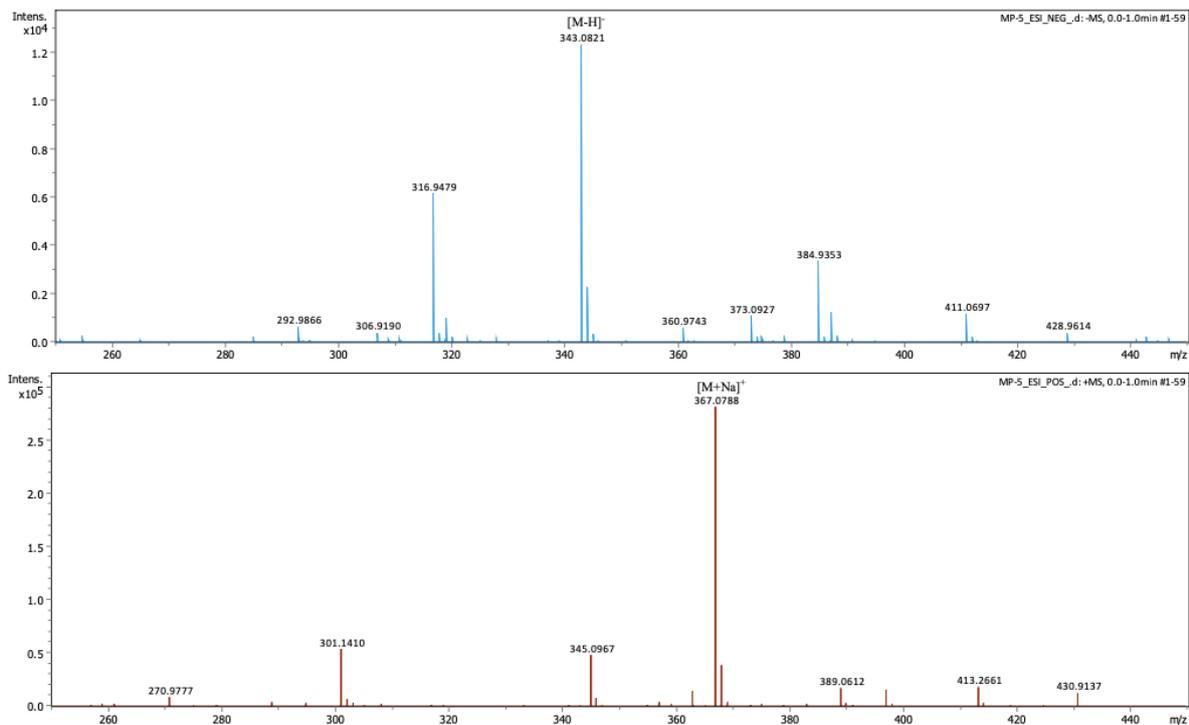


Рисунок 2 – Масс-спектр 5,4'-дигидрокси-6,7,3'-триметоксифлавонон

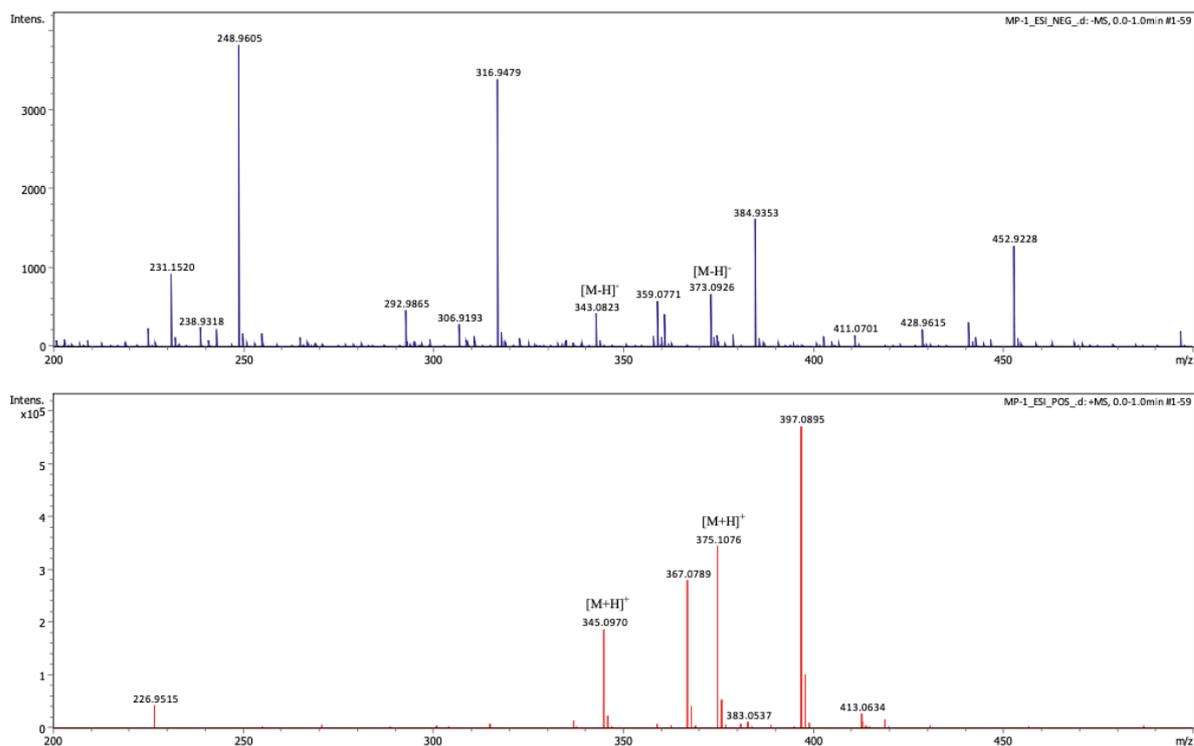


Рисунок 3 – Масс-спектр 5,3'-дигидрокси-6,7,8,4'-тетраметоксифлавонон

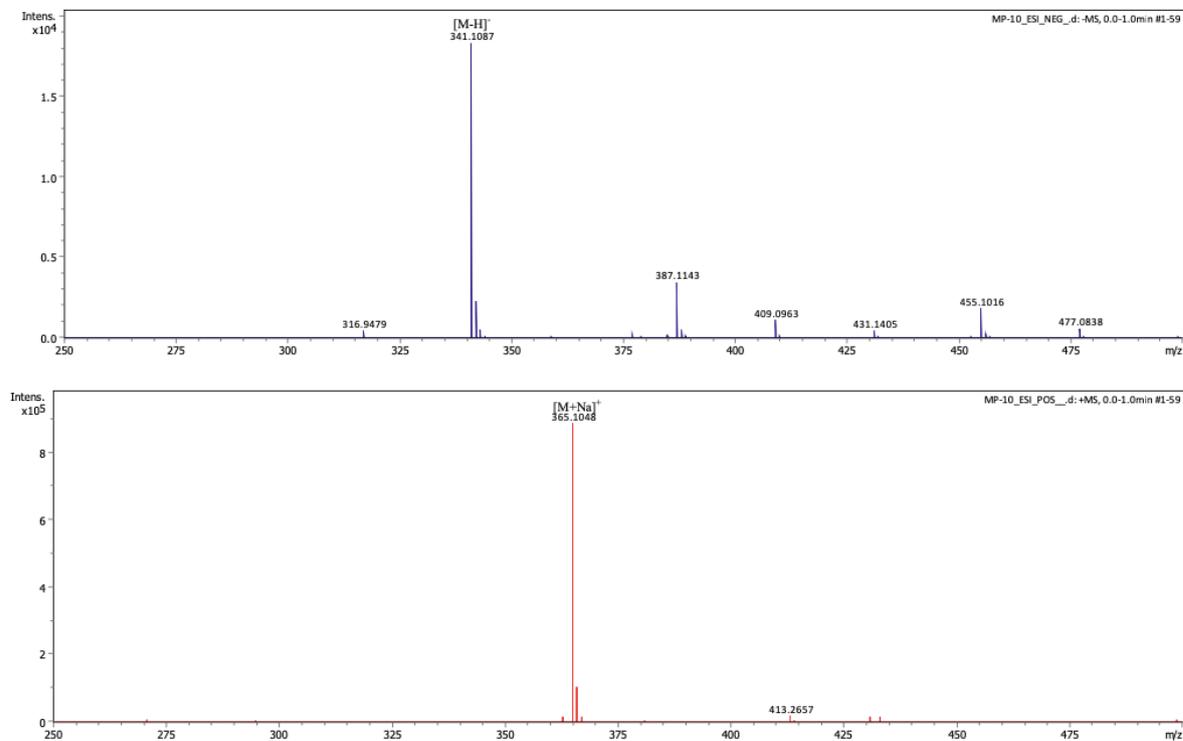
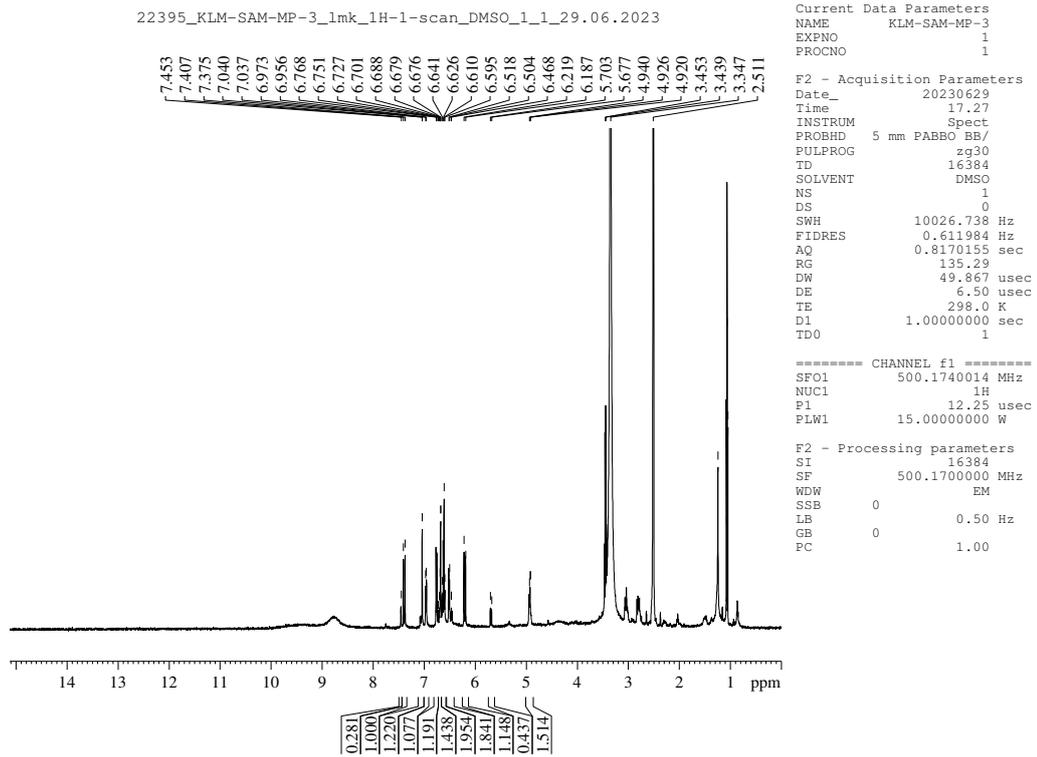
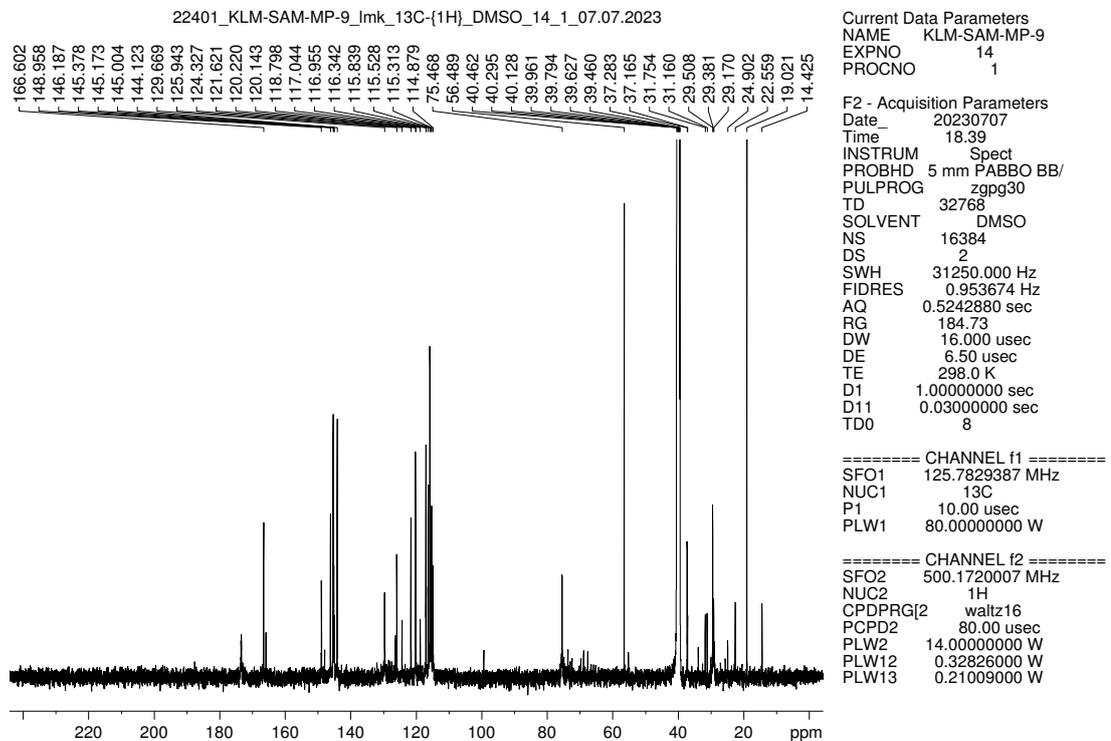


Рисунок 4 – Масс-спектр сахарозы

Рисунок 5 – ^1H -ЯМР-спектр розмариновой кислоты в ДМСО- d_6 .Рисунок 6 - ^{13}C -ЯМР-спектр розмариновой кислоты в ДМСО- d_6 .

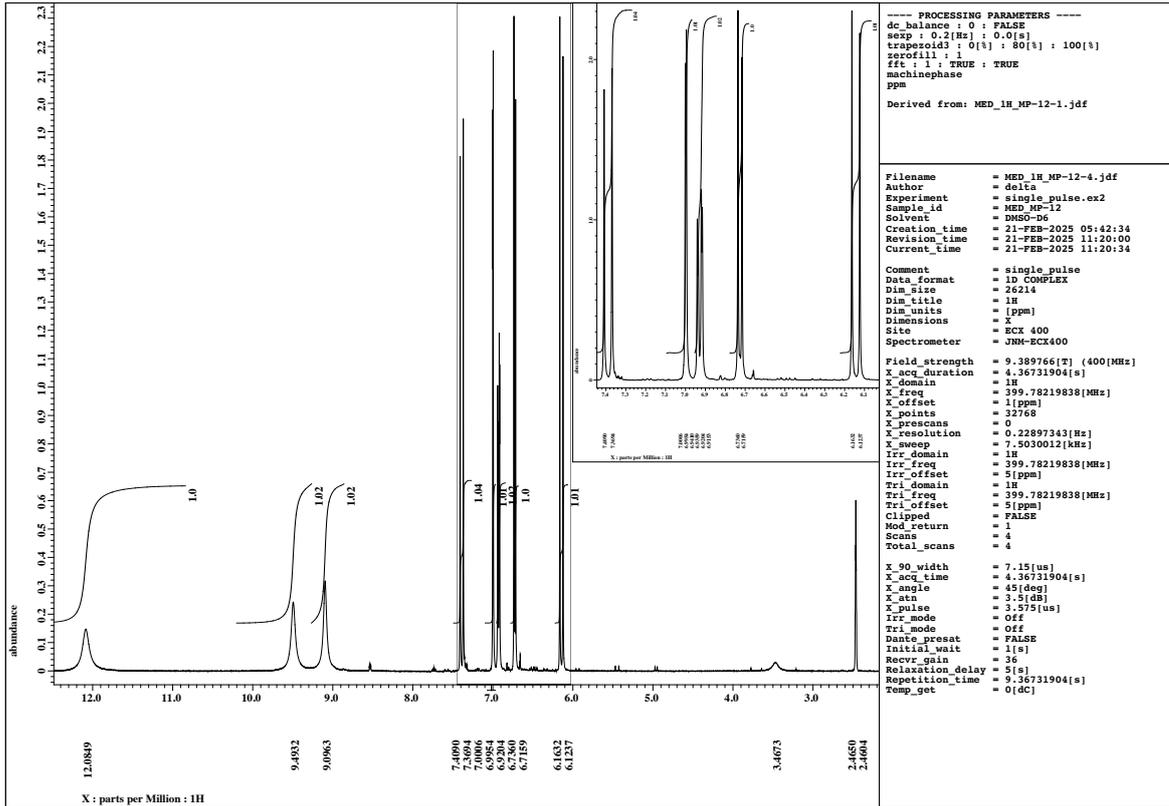


Рисунок 7 – ¹H-ЯМР-спектр кофейной кислоты в ДМСО-d₆.

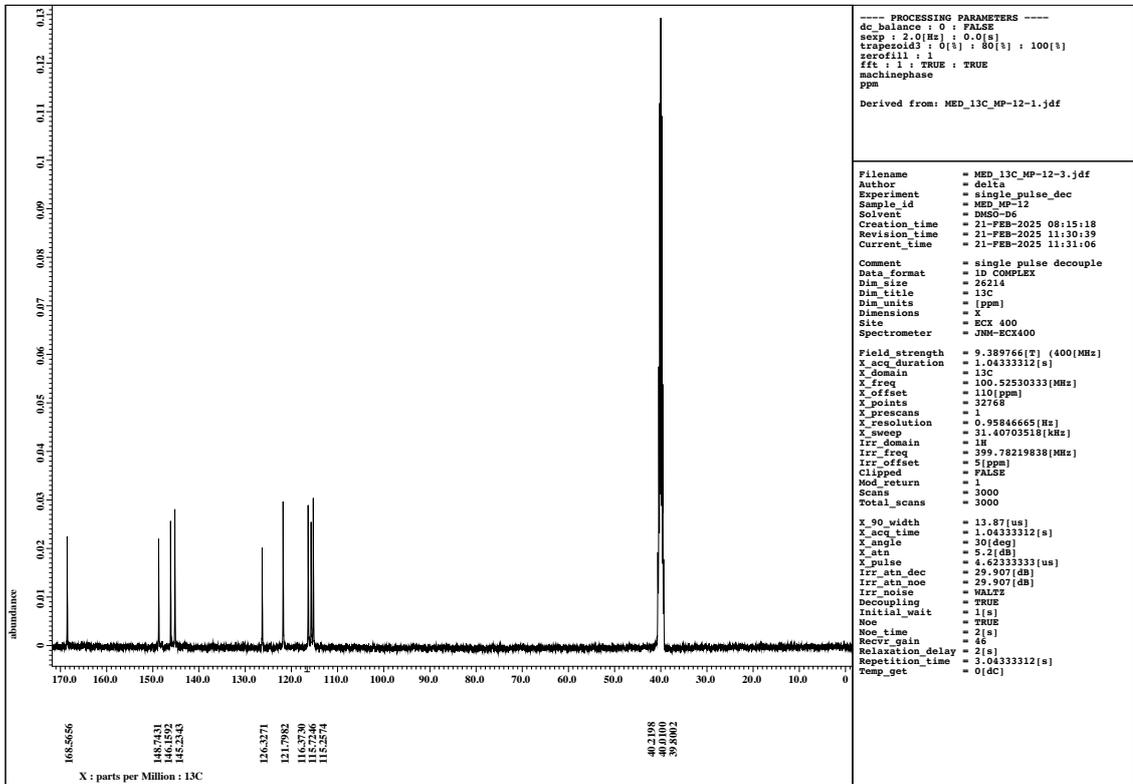


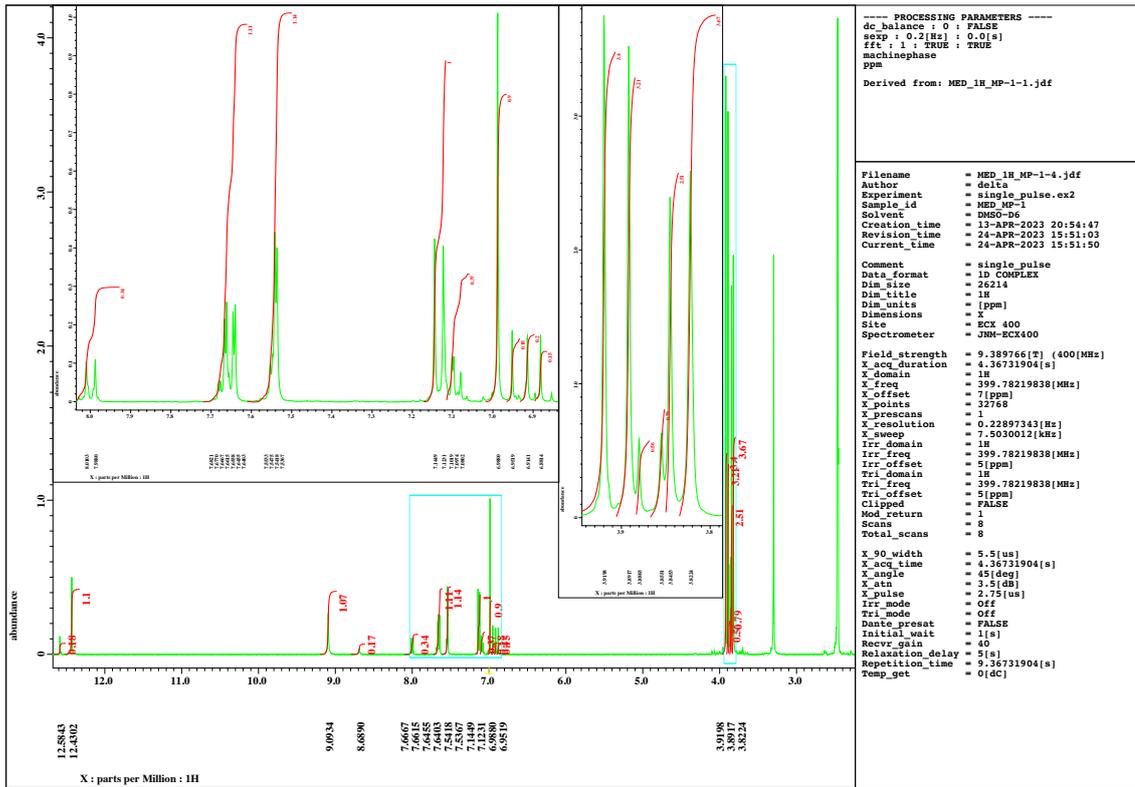
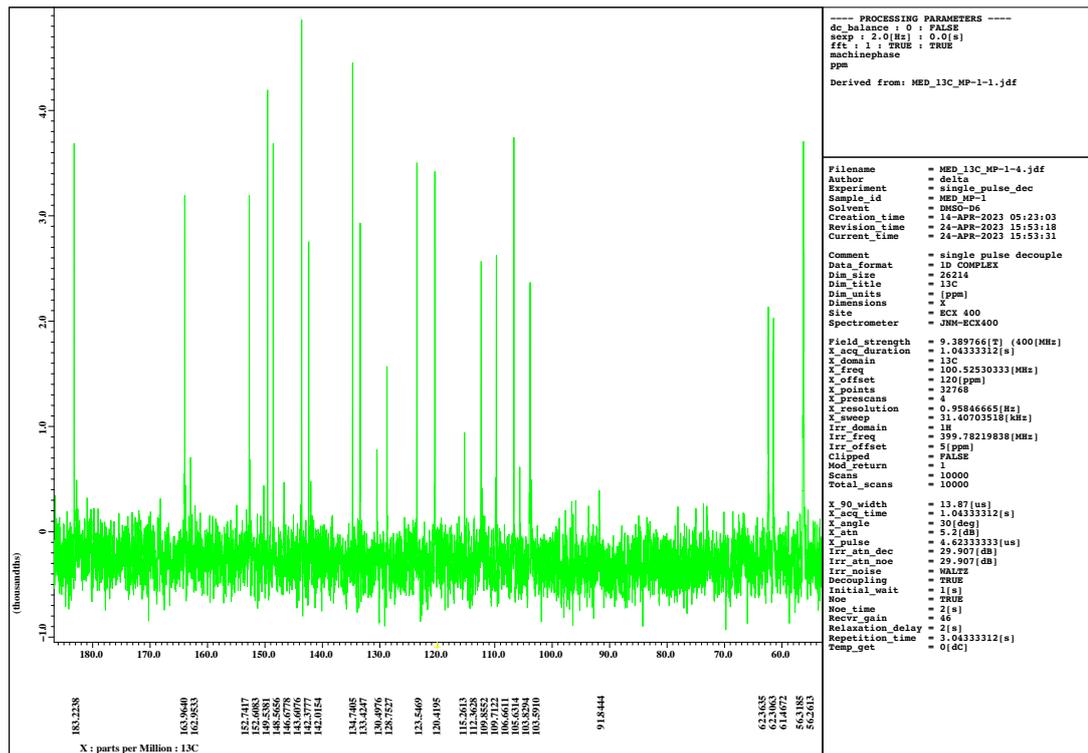
Рисунок 8 - ^{13}C -ЯМР-спектр кофейной кислоты в ДМСО- d_6 .Рисунок 9 – ^{13}C -ЯМР-спектр 5,3'-дигидрокси-6,7,8,4'-тетраметоксифлавона в ДМСО- d_6 .

Рисунок 10 - ^{13}C -ЯМР-спектр 5,3'-дигидрокси-6,7,8,4'-тетраметоксифлавона в DMSO-d_6 .

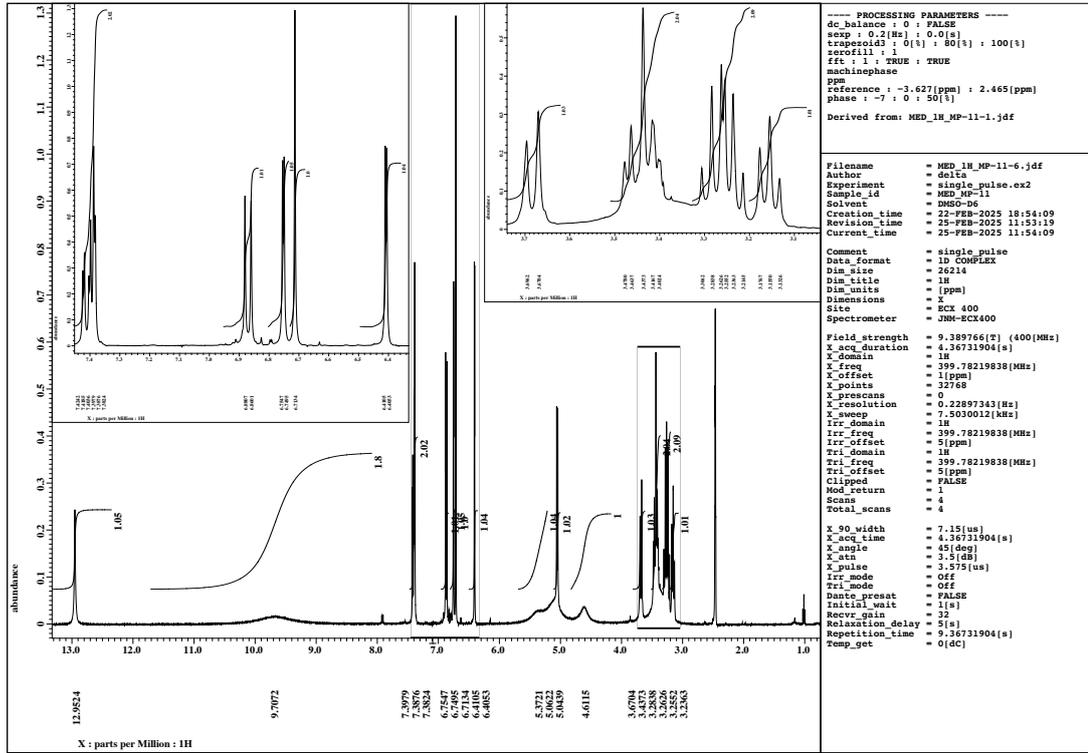


Рисунок 11 – ^1H -ЯМР-спектр цинарозида в DMSO-d_6 .

Приложение 4. Методики проведения исследований на диуретическую, нейротропную и микробиологическую активность.

Анализ фармакологических эффектов определялся на белых беспородных крысах обоего пола, $m=200-220$ г. Животные размещались в виварии, рацион обычный, не ограниченный доступ к воде. Животные были поделены на группы: 1) группа, которой вводили образцы для анализа; 2) контролируемая группа; 3) группа с препаратом сравнения. Методом случайного отбора путем жеребьевки формировали контрольные и опытные группы. Образцы изучения вводились внутрижелудочно с помощью зонда. Суммарно проведено 8 серий экспериментов – 5 опытных и 3 контрольных (10 животных в каждой серии). Статистическая обработка полученных параметров проводилась с применением стандартных методов вариационной статистики при помощи программ Microsoft Excel 2019 «Пакет анализа» и Statistica 10.0 по критерию Манна – Уитни с поправкой Бонфферрони.

Диуретическая активность

Первоначально, за 24 ч перед экспериментом, животные получали вводную нагрузку внутрижелудочно в объеме 3% от массы тела. В день анализа животным группы контроля аналогично давали внутрижелудочно водную нагрузку. Опытные животные внутрижелудочно получали анализируемые образцы в эквивалентном объеме воды. Сухой экстракт дан в дозе 10 мг/кг, БАВ – в дозе 1 мг/кг.

Препараты сравнения: фуросемид в пороговой дозе 1 мг/кг (препарат сравнения для 4-х Ч опытов) и гипотиазид в эффективной средней терапевтической дозе 20 мг/кг (препарат сравнения для 24-х Ч опытов).

Животных размещали в обменные клетки на 24 ч. Собранные порции мочи по истечении 4 и 24 ч подвергали анализу. Измеряли почечную экскрецию воды, а также концентрацию креатинина колориметрическим методом на фотоколориметре КФК-3.

Нейротропная активность

Анализ нейротропной активности экстракта сухого листьев разных видов и сортов мяты и индивидуальных соединений проводили с использованием теста Порсолта. Данный тест предусматривает оценку двигательной активности крыс,

помещенных в стеклянный цилиндр диаметром 20 см и высотой 40 см, на 1/3 заполненный водой с температурой 27 ± 1 °С. Животное помещали в цилиндр на 5 мин, регистрировали время активного и пассивного плавания, время иммобилизации. Увеличение времени активного плавания и уменьшение времени иммобилизации рассматривали как антидепрессантный эффект. Тест проводили спустя 2 ч после введения густого экстракта и БАС.

При изучении нейротропной активности исследуемый сухой экстракт и индивидуальные соединения вводили однократно внутрижелудочно через зонд на фоне 1% водной нагрузки. Дозы исследуемых образцов подбирались экспериментальным путем.

Исследования проводили на кафедре фармакологии имени ЗДН РФ, профессора А. А. Лебедева ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России.

Исследование микробиологической активности

В эксперименте задействованы следующие тест-культуры: *Bacillus cereus* (ATCC 29213) *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Candida albicans* (ATCC 90028), *Pseudomonas aeruginosa* штамм 1, *Pseudomonas aeruginosa* штамм 2, *Burkholderia cenocepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Chryseobacterium indologenes*.

Для проведения скринингового анализа антимикробной активности получены водно-спиртовые извлечения на этиловом спирте 70% по классической технологии.

Определение МИК проводили методом двойных серийных разведений в бульоне в соответствии с методиками, описанными в ГОСТ Р ИСО 20776-1-2010 «Клинические лабораторные исследования и диагностические тест-системы *in vitro*. Исследование чувствительности инфекционных агентов и оценка функциональных характеристик изделий для исследования чувствительности к антимикробным средствам». Наличие антимикробного эффекта определяли путем визуальной оценки в сравнении со стандартом. В качестве питательной среды использовали питательный бульон Мюллера-Хинтона (Bio-Rad, США).

Скрининговый анализ антимикробного эффекта проводили в НОПЦ генетических и лабораторных технологий ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России.

Приложение 5. Схема приготовления настойки листьев мяты и описание технологических операций изготовления сухого экстракта из них.

<p>Получение жидкого экстракта. Первый день.</p>	<p>Помещали по 1-ой части измельченного сырья в заранее подготовленные колбы (3 шт.). 1-ую колбу заполнили n объемами этанола 70% (для замачивания и экстракции сырья), настаивали в течение 24ч при T=25°C. Во 2-ую колбу поместили 2V этанола 70% для замачивания сырья в течение 24 ч.</p>
<p>Получение жидкого экстракта. Второй день.</p>	<p>Полученное извлечение из 1-ой колбы перенесли во 2-ую колбу, оставляли в течение 24 ч при T=25°C. В 1-ую колбу прибавили V экстрагента для настаивания в течение 1 суток, в 3-ю колбу – V₂ на замачивание сырья.</p>
<p>Получение жидкого экстракта. Третий день.</p>	<p>Извлечение из 2-ой колбы переносили в 3-ю, а из 1-ой – во 2-ую. 5 объемов чистого экстрагента (этанола 70%) прибавили в 1-ую колбу и оставили на 24ч при T=25°C для замачивания.</p>
<p>Получение жидкого экстракта. Четвертый день.</p>	<p>Извлечение, полученное в 3-ей колбе, собрали в отдельную экстрактивную колбу (1/3 от общего объема). Извлечение из 2-ой колбы перенесли в 3-ю. 1-ую колбу поместили на кипящую водяную баню в течение 30 минут с обратным холодильником для термической экстракции. После охлаждения до комнатной температуры извлечение переносили во 2-ую колбу. Сырье из 1-ой колбы отнесли к отработанному.</p>
<p>Получение жидкого экстракта. Пятый день.</p>	<p>Дополнительную часть готовой продукции получили из 3-ей колбы, перенесли в колбе для экстракта. Содержимое 2-ой колбы в течение получаса подвергли термической экстракции,</p>

	аналогичной том, что проходила в 4-ый день. Охлажденное до комнатной температуры извлечение из 2-ой колбы перенесли в 3-ю колбу и оставили на 24 ч при $T=25^{\circ}\text{C}$. Сырье из 2-ой колбы отнесли к отработанному.
Получение жидкого экстракта. Шестой день.	3-ю колбу поместили на кипящую водную баню с обратным холодильником, проводили термическую экстракцию в течение 30 мин. Извлечение после охлаждения перенесли в колбу для готового экстракта. Сырье в 3-ей колбе отнесли к отработанному.
Очистка.	Методом отстаивания при температуре не выше 10°C в течение 2 суток и последующей фильтрацией осуществляли очистку вытяжки.
Получение густого экстракта.	Получали из экстракта жидкого с помощью упаривания на водяной бане при $T=100^{\circ}\text{C}$.
Получение сухого экстракта из жидкого экстракта.	Упаренный экстракт помещается в сухожаровой шкаф и выдерживается до образования пленки. Получившаяся роба охлаждается и собирается в пенициллинку шпателем в виде мелкокристаллического порошка.

Приложение 6. Проект дополнений к фармакопейной статье «Мяты перечной листья»

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

УТВЕРЖДАЮ

И.о. генерального директора
ФГБУ «Научный центр экспертизы
средств медицинского применения»,
кандидат фармацевтических наук

_____ **В.В. КОСЕНКО**

«__» _____ 20__ г.

**ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ КАЧЕСТВА
ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА**

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Организация-разработчик: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Мяты перечной листья

Дополнение к ФС.2.5.0029.15

Menthae piperitae folia

Срок введения установлен
с «__» _____ 20__ г.

до «__» _____ 20__ г.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

Дополнение к разделу «Микроскопические признаки»:

1. Петиолярная анатомия листа

Листья коротко черешковые к верхушке почти сидячие. Ближе к основанию побега черешок более выраженный.

Длина черешка у листьев мяты перечной достигает в maximume до 2 мм. По всей длине черешок в поперечном сечении имеет ланцетную форму, надломленную

в середине к адаксиальной стороне листа. Надлом образует угол в 140° не изменяющийся от базальной часть до перехода в листовую пластинку. Ланцетная форма определялась по соотношению ширины и длины поперечного сечения составляющего пропорцию 1:3 (рис. 1).

Адаксиальная сторона всех срезов как в базальной, медиальной так и в апикальной части имеет округлую форму. При этом диаметр окружности сопоставим по всей длине черешка (рис. 1).

Медиальная часть черешка более компактная и лучше всего подпадает под определение ланцета. В базальной часть у поперечного сечения имеются овальные рёбра по краям среза, нарушающие общую круговую симметрию (рис. 1).

В апикальной части форма схожа с базальной, но очень быстро переходит в листовую пластинку и трудно диагностируется.

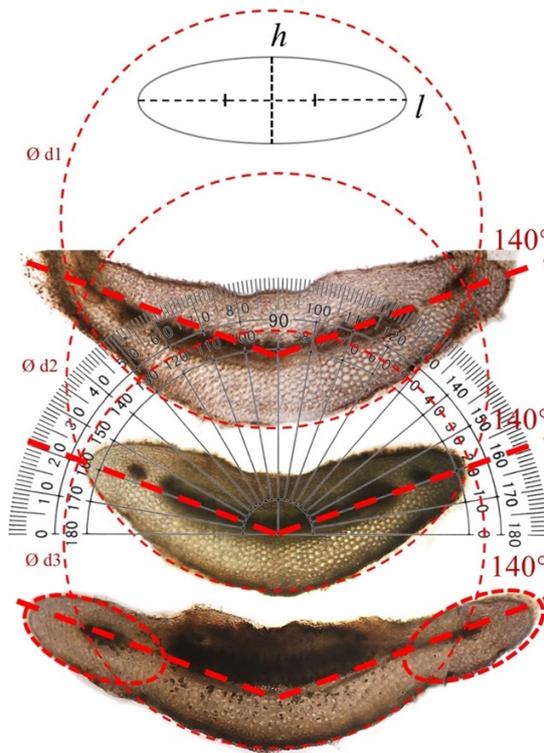


Рисунок 1 - Ланцетная форма поперечных сечений черешка.

Обозначения: $\text{Ø } d1$ – диаметр окружности в очертании апикального среза, $\text{Ø } d2$ – диаметр окружности в очертании медиального среза, $\text{Ø } d3$ – диаметр окружности в очертании базального среза, h – ширина поперечного сечения черешка, l – длина поперечного сечения черешка.

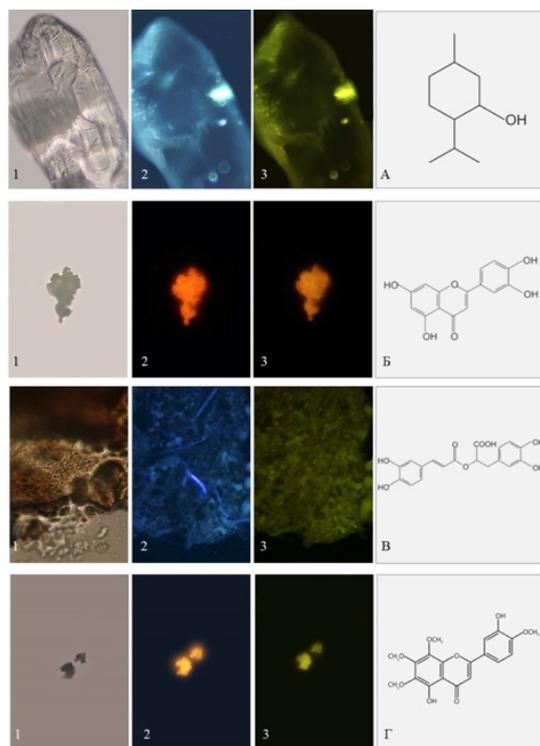


Рисунок 2 - Люминесцентный анализ веществ стандартов: А – ментол; Б – лютеолин; В – розмариновая кислота; Г – 5,3'-дигидрокси-6,7,8,4'-тетраметоксифлаво-
Обозначения: 1 – видимая область света; 2 - светофильтр 330-400 нм; 3 – светофильтр 420-550 нм.

В ходе анализа особенностей свечения химических соединений определялась цветность люминесценции при различных условиях облучения.

При спектральном диапазоне возбуждения с голубым светофильтром 330-400 нм кристаллический ментол обладает слабым голубым свечением с цветностью #99ccff. Напротив, при спектральном диапазоне возбуждения с желтым светофильтром – 420-550 нм кристаллы ментола имеют желтое свечение с цветностью #666600 (рис. 2 А).

Вещества флавоноидной природы – лютеолин и впервые выделенный нами в Российской Федерации 5,3'-дигидрокси-6,7,8,4'-тетраметоксифлаво-
 возбуждения с голубым светофильтром при 330-400 нм имеют ярко-оранжевую флуоресценцию. При этом у лютеолина люминесценция имеет красный оттенок с цветностью #ff6600. У впервые выделенного 5,3'-дигидрокси-6,7,8,4'-

тетраметоксифлавона люминесценция в том же диапазоне облучения имеет желтый оттенок с цветностью #ffcc33 (рис. 2 Б, Г).

При спектральном диапазоне возбуждения с желтым светофильтром – 420-550 нм оба вещества светятся слабее, имея цветность: лютеолин - #cc6600, 5,3'-дигидрокси-6,7,8,4'-тетраметоксифлавоны - #999900.

Выделенное из листьев мяты перечной, фенилпропаноидное соединение – розмариновая кислота в диапазоне возбуждения 330-400 нм имеет ярко-синюю люминесценцию с цветностью #336699, в диапазоне возбуждения 420-550 нм люминесценция значительно слабее и имеет грязно-желтый цвет с цветностью - #666600 (рис. 2 В).

При исследовании особенностей гистологии и люминесценции тканей черешка мяты перечной проводили сравнение с особенностью цветности люминесценции гистологических структур и индивидуальных соединений.

Поверхность черешка покрыта эпидермисом с неравномерно развитой кутикулой. Наиболее плотный и однородный кутикулярный слой отмечается с бортов черешка, а также с его адаксиальной стороны (рис. 3 А, Б).

Кутикула с нижней стороны черешка имеет продольную морщинистость и значительно тоньше чем с верхней стороны (рис. 3 В). При этом кутикула светится в диапазоне возбуждения 330-400 нм голубым цветом с цветностью свечения - #666699, в диапазоне возбуждения 420-550 нм люминесценция желтого цвета с цветностью - #cccc00.

При наблюдении за клетками эпидермы видны элементы протопластов. Они также подвержены свечению в диапазоне возбуждения 330-400 нм розового цвета (#666699), в диапазоне возбуждения 420-550 нм светло-желтого цвета #666600 (рис. 3 Б, В).

Головчатые волоски – наиболее мелкие трихомы имеют двухклеточную ножку и одноклеточную головку. В головке под кутикулой заметны элементы протопласта выделительных клеток, а также капли эфирного масла (рис. 4 А).

Капли эфирного масла под кутикулой нативно окрашены в слабожелтый цвет. В диапазоне возбуждения 330-400 нм капли эфирного масла люминесцируют

ярко голубым цветом с (#0099cc), в диапазоне возбуждения 420-550 нм люминесценция слабее и имеет желто-оранжевый цвет (#999900) (рис. 4 А). Свечение капель в головчатых волосках схоже со свечением кристаллов ментола (рис. 2 А).

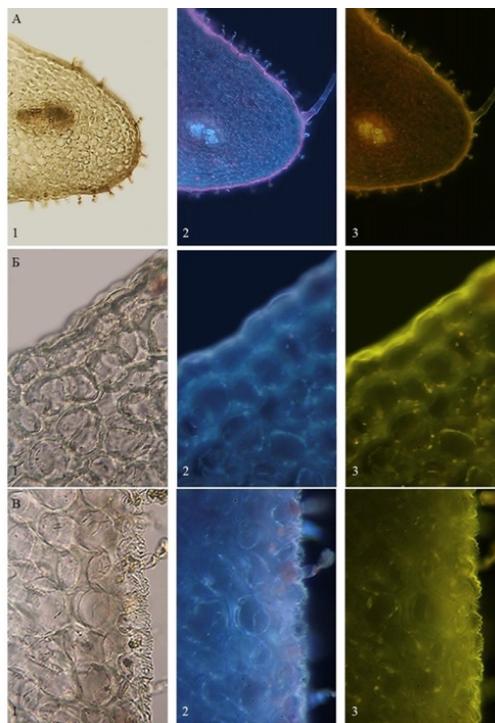


Рисунок 3 - Люминесцентный анализ эпидермальных поверхностей: А – ребро черешка (x100); Б – адаксиальная сторона черешка (x400); В – абаксиальная сторона черешка (x400).

Обозначения: 1 – видимая область света; 2 – светофильтр 420-550 нм; 3 – светофильтр 330-400 нм.

Грибовидные желёзки наиболее крупные образования железистой экзогенной ткани мяты перечной. Они хорошо видны даже при малом увеличении под лупой. Головка желёзки покрыта кутикулой. Кутикула тонкая, бесцветная. На просвет под кутикулой заметны клетки головки в среднем до 8 клеток. Протопласты клеток и секреторных капель под кутикулой имеют желто-коричневый оттенок (рис. 4 Б). В диапазоне возбуждения 330-400 нм протопласты клеток головки слабо светятся грязно желтым цветом (#669999), в диапазоне возбуждения 420-550 нм цвет люминесценции ярче и имеет желтый оттенок (#cc9900) (рис. 4 Б).

Кроющие трихомы встречаются в большей степени с нижней стороны листа и по рёбрам. Они представляют собой простые многоклеточные волоски от трёх до

шести клеток. Кутикула трихом слабо-бородавчатая. В клетках заметны структуры протопласта светло-коричневого цвета (рис. 4 В). Протопласты кроющих трихом люминесцируют аналогично протопластам желёзок.

В диапазоне возбуждения 330-400 нм протопласты, сгруппированные по периферии полости клетки окрашены в грязно-жёлтый цвет (#336699), в диапазоне возбуждения 420-550 нм люминесценция значительно ярче и имеет оранжево-красный цвет (#999900) (рис. 4 В).

Ксилема пучков состоит из радиально расположенных сосудов, перемежающихся с рядами паренхимных клеток с живым структурированным протопластом.

Сосуд ксилемы светятся ярко-голубой люминесценцией в диапазоне возбуждения 330-400 нм за счет лигнификации их оболочек. В диапазоне возбуждения 420-550 нм клеточные стенки сосудов ксилемы люминесцируют ярко-желтым цветом (рис. 5А).

Во флоэмной части пучка центральной жилки наблюдается скопление кристаллических образований. Кристаллы мелкие веерообразно заполняют полости клеток идиобластов. При дневном свете кристаллические включения имеют слабо-желтый цвет. В диапазоне возбуждения 330-400 нм веерообразные кристаллические образования приобретают кирпичный оттенок, схожий с люминесценцией флавоноидов лютеолина и 5,3'-дигидрокси-6,7,8,4'-тетраметоксифлавона (#666666) (рис. 1). В диапазоне возбуждения 420-550 нм те же кристаллы имеют ярко-желтую люминесценцию #999933 (рис. 5 В).

Черешок в значительной степени паренхимизирован. Клетки мезофилла черешка округлой формы с заметно утолщенной целлюлозной клеточной стенкой. Клеточная стенка в видимом диапазоне света – бесцветная. В диапазоне возбуждения 330-400 нм клеточные стенки люминесцируют слабо-фиолетовым цветом. При этом детектируются ярко-голубые точки элементов протопласта #3333сс. В диапазоне возбуждения 420-550 нм клеточные стенки люминесцируют слабожелтым цветом (#333300), а протопласты незаметны. Люминесценция данных элементов протопласта схожа со свечением розмариновой кислоты в аналогичных условиях облучения, что позволяет сделать вывод о её локализации в клетках мезофилла.

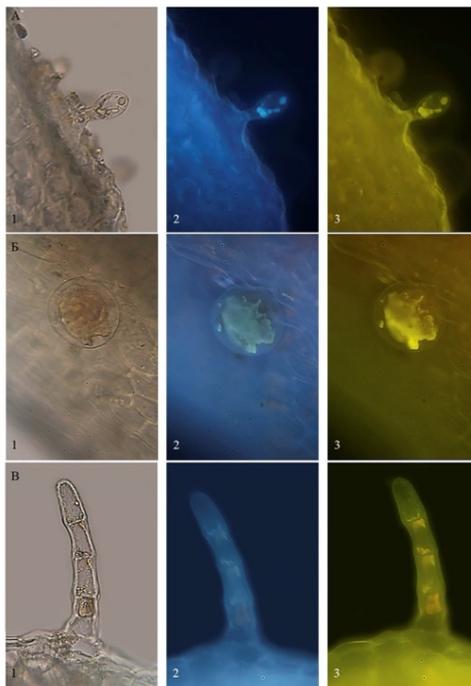


Рисунок 4 - Люминесцентный анализ трихом на поверхности черешка: А – головчатый волосок (x100); Б – грибовидная железка (x400); В – простой многоклеточный волосок (x400).

Обозначения: 1 – видимая область света; 2 – светофильтр 420-550 нм; 3 – светофильтр 330-400 нм.

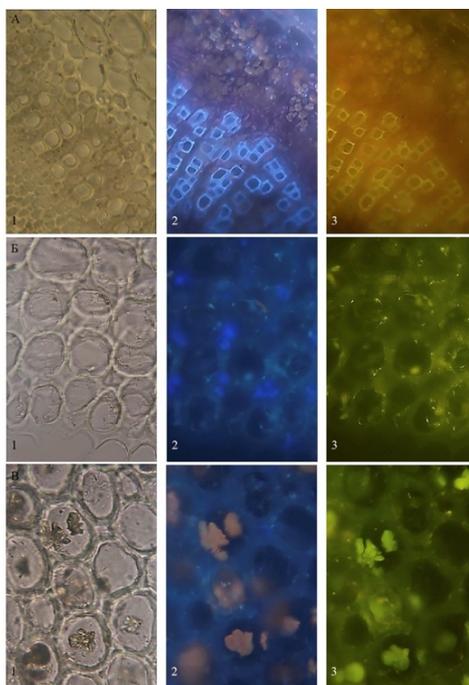


Рисунок 5 - Люминесцентный анализ протопластов и клеточных включений клеток мезофилла и проводящих тканей: А – фрагмент проводящего пучка с

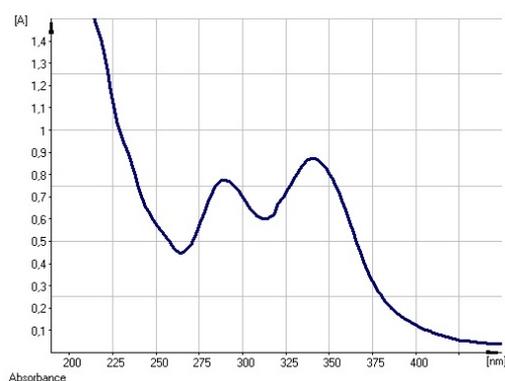
ксилемой и флоэмой (x100); Б – клетки мезофилла черешка с адаксиальной стороны (x400); В – клетки мезофилла черешка с абаксиальной стороны (x400).

Обозначения: 1 – видимая область света, 2 – светофильтр 420-550 нм, 3 – светофильтр 330-400 нм.

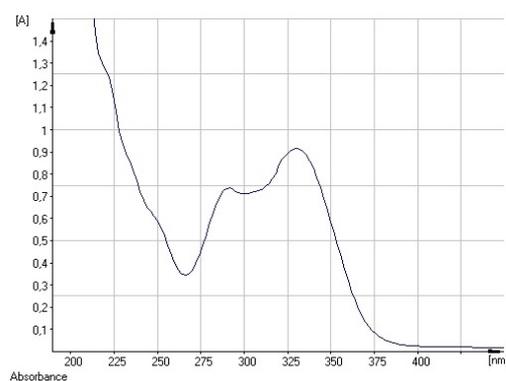
Дополнение к разделу «Определение основных групп биологически активных веществ»:

1. УФ- спектроскопия

Испытуемый раствор, приготовленный как указано в разделе «Количественное определение» имеет максимум для кривой поглощения при длине волны 328 ± 2 нм (рис. 6).



А



Б

Рисунок 6 - Электронные спектры: А - водно-спиртовое извлечение из листьев мяты перечной; Б - спиртовой раствор стандартного образца розмариновой кислоты.

2. Тонкослойная хроматография

Приготовление растворов.

Раствор для детектирования. Смешивают последовательно: 0,5 мл анисового альдегида (4-метоксибензальдегида), 10 мл уксусной кислоты ледяной, 85 мл спирта 96 % и 5 мл серной кислоты концентрированной. Срок годности

раствора не более 30 сут при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

Раствор стандартного образца (СО) розмариновой кислоты. Около 0,02 г СО розмариновой кислоты растворяют в 10 мл спирта 96 % и перемешивают. Срок годности раствора не более 3 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

Раствор СО ментола. Около 0,01 г СО ментола (левоментола) растворяют в 10 мл спирта 96 % и перемешивают. Срок годности раствора не более 3 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

Около 1,0 г сырья, измельченного до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм, помещают в колбу вместимостью 100 мл, добавляют 50 мл спирта этилового 70%, нагревают на водяной бане в течение 60 минут с конденсатором, затем охлаждают извлечение, извлечение фильтруют через бумажный фильтр (испытуемый раствор).

На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля на пластиковой подложке размером 10 × 15 см наносят 10 мкл испытуемого раствора в виде полос длиной 10 мм, шириной не более 2 мм и параллельно в одну полосу и по 5 мкл раствора СО ментола и раствора СО розмариновой кислоты.

Пластинку с нанесенными пробами сушат, помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение 60 мин смесью растворителей хлороформ – этанол – вода (26 : 16 : 3), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80 – 90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей и обрабатывают раствором для детектирования, выдерживают в сушильном шкафу при 100 – 105 °С в течение 3 – 5 мин и просматривают сразу же в дневном свете.

На хроматограмме раствора СО ментола должна обнаруживаться зона адсорбции синего или фиолетового цвета; на хроматограмме раствора СО розмариновой кислоты – зона адсорбции зелено-голубого цвета.

На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться: зона адсорбции синего, сине-зеленого, зеленого или фиолетового цвета на уровне зоны на хроматограмме раствора СО ментола, зона адсорбции зелено-голубого цвета на уровне СО розмариновой кислоты; допускается обнаружение других дополнительных зон адсорбции.

Дополнение к разделу «Испытания»:

Количественное определение.

Нижний предел содержания суммы фенилпропаноидов не менее 3%.

Сумма фенилпропаноидов.

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм. Около 1 г измельченного сырья (точная навеска) помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл 60% этилового спирта. Колбу закрывают пробкой и взвешивают на тарированных весах с точностью до $\pm 0,01$. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 60 мин. Затем ее охлаждают в течение 30 мин, закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр (красная полоса). Испытуемый раствор готовят следующим образом: 1 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем до метки спиртом этиловым 96% (испытуемый раствор А). Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 326 нм.

Приготовление раствора стандартного образца розмариновой кислоты.

Около 0,025 г (точная навеска) розмариновой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 20 мл 96% этилового спирта. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем раствора 96% этиловым спиртом до метки (раствор А розмариновая кислота). 1 мл раствора А розмариновой кислоты помещают в мерную колбу на 50 мл и доводят объем до метки спиртом этиловым 96% (испытуемый раствор Б розмариновой кислоты).

Содержание суммы фенилпропаноидов в пересчете на розмариновую кислоту и абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

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

где

D – оптическая плотность испытуемого раствора;

D₀ – оптическая плотность раствора СО розмариновой кислоты;

m – масса сырья, г;

m₀ – масса СО розмариновой кислоты, г;

W – потеря в массе при высушивании, %.

В случае отсутствия стандартного образца розмариновой кислоты целесообразно использовать рассчитанное значение удельного показателя поглощения при 326 нм – 500

$$X = \frac{D \cdot 50 \cdot 50 \cdot 100}{m \cdot 500 \cdot (100 - W)},$$

где

D – оптическая плотность испытуемого раствора;

m – масса сырья, г;

500 – удельный показатель 1% поглощения (E_{1cm}) СО розмариновой кислоты при 326 нм;

W – потеря в массе при высушивании, %.

Содержание розмариновой кислоты.

Нижний предел содержания розмариновой кислоты не менее 1,5%.

Приготовление рабочих растворов.

Методика приготовления водно-спиртовых извлечений из листьев мяты перечной рабочих растворов описана нами в материалах, опубликованных ранее, также

описаны условия получения для проведения анализа методом прямой спектрофотометрии.

Пробоподготовка. Около 1 г измельченного сырья (точная навеска) помещали в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляли 50 мл 60 % этанола. Колбу закрывали пробкой и взвешивали на тарированных весах с точностью до $\pm 0,01$. Колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 60 мин. Затем колбу охлаждали в течение 30 мин, закрывали той же пробкой, снова взвешивали и восполняли недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтровали через бумажный фильтр («Синяя лента»). Перед хроматографическим анализом дополнительно фильтровали через мембранный фильтр Milipore (0,22 мкм).

Приготовление стандартного раствора розмариновой кислоты. Точную навеску (0,025 г) розмариновой кислоты (содержание основного вещества 96 %) переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяли в 20 мл 96% этанола и доводили объем раствора до метки тем же растворителем.

Условия хроматографического разделения.

Хроматографический анализ осуществляли методом ВЭЖХ в изократическом режиме на микроколоночном жидкостном хроматографе «Миличром-6» (НПАО «Научприбор») в следующих условиях: изократический режим, стальная колонка «КАХ-6-80-4» (№2; 2 мм x 80 мм; Сепарон-С18 7 мкм), элюентная система: ацетонитрил (ПФА) – 1% раствор уксусной кислоты (ПФБ) (2:8), скорость элюирования – 100 мкл/мин, объем элюента - 2500 мкл. Детекцию веществ осуществляли при длине волны 330 нм. Объемы инжестируемых проб 2 мкл.

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм. Около 1 г измельченного сырья (точная навеска) помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл 60% этилового спирта. Колбу закрывают пробкой и взвешивают на тарированных весах с точностью до $\pm 0,01$. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 60 минут.

Затем колбу охлаждают в течение 30 минут, закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр («Синяя лента»). Перед хроматографическим анализом дополнительно фильтруют через мембранный фильтр Milipore (0,22 мкм).

В жидкостной хроматограф «Милихром-6» (НПАО «Научприбор») с УФ-детектором вводят 2 мкл полученного раствора. Хроматографируют в условиях прямой хроматографии в изократическом режиме на стальной колонке «КАХ-6-80-4» (№2; 2 мм x 80 мм; Сепарон-С18 7 мкм), элюентная система: ацетонитрил (ПФА) – 1% раствор уксусной кислоты (ПФБ), скорость элюирования – 100 мкл/мин, объем пробы испытуемого раствора – 2 мкл. Проводят УФ-детектирование при длине волны 340 нм, диапазон чувствительности 0,5. Проводят не менее 3 параллельных определений. Соотношение компонентов в элюентной системе равняется 2:8.

Параллельно 10 мкл раствора розмариновой кислоты вводят в хроматограф и хроматографируют, как описано выше. Определяют время удерживания и идентифицируют пик розмариновой кислоты на хроматограмме испытуемого раствора. Вычисляют высоту пика розмариновой кислоты на хроматограмме и рассчитывают среднюю высоту пика по 3 параллельным определениям.

Содержание розмариновой кислоты в листьях мяты перечной в пересчете на абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$x = \frac{H * m_0 * V * V_2 * 100 * 100}{H_0 * m * V_0 * V_1 * (100 - W)}$$

Где H – среднее значение высоты пика розмариновой кислоты испытуемого раствора, вычисленное из хроматограмм раствора испытуемого образца; H_0 – среднее значение высоты пика раствора СО розмариновой кислоты, вычисленное из хроматограмм раствора РСО розмариновой кислоты; V – объем извлечения, мл; V_1 – объем вводимой пробы раствора испытуемого образца, мкл; V_0 – объем раствора СО розмариновой кислоты, мл; V_2 – объем вводимой пробы раствора РСО

розмариновой кислоты, мкл; m – масса сырья, г; m_0 – масса СО розмариновой кислоты, г; W – потеря в массе при высушивании сырья, %.

Проректор по научной работе ФГБОУ
ВО СамГМУ Минздрава России,
лауреат премии Правительства РФ
доктор медицинских наук, профессор



И.Л. Давыдкин

И.Л. Давыдкин

«14» 01 2025

Заведующий кафедрой фармакогнозии
с ботаникой и основами фитотерапии
ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава
России, доктор фармацевтических
наук, профессор

В.А. Куркин

В.А. Куркин

«14» 01 2025

Очный аспирант кафедры фармакогнозии
с ботаникой и основами фитотерапии
ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава
России

М.А. Казакова

М.А. Казакова

«14» 01 2025