

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

На правах рукописи

МАСЛОВА ВЕРА ДМИТРИЕВНА

**ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ЛИСТЬЕВ МИРТА ОБЫКНОВЕННОГО (*MYRTUS COMMUNIS* L.)**

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:
доктор фармацевтических наук,
профессор
Куркин Владимир Александрович

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ, ИСПОЛЬЗОВАННЫХ В ДИССЕРТАЦИИ

АОА – антиоксидантная активность

БАД – биологически активная добавка

БАВ – биологически активные вещества

БАС – биологически активные соединения

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

ГОСТ — Государственный стандарт

ГФ РФ – Государственная фармакопея Российской Федерации

ГХ-МС – газовая хроматография – масс-спектрометрия

ГЭ – густой экстракт

ДСК – диазобензолсульфо кислота

ЛП – лекарственный препарат

ЛРП – лекарственный растительный препарат

ЛРС – лекарственное растительное сырье

ЛС – лекарственное средство

МЗ РФ – Министерство здравоохранения Российской Федерации

МИК – минимальная ингибирующая концентрация

ОФС – общая фармакопейная статья

ПФ – подвижная фаза

СО – стандартный образец

ТСХ – тонкослойная хроматография

УФ-спектр – ультрафиолетовый спектр

ФС – фармакопейная статья

ЭМ – эфирное масло

ЯМР – ядерный магнитный резонанс

API – Active Pharmaceutical Ingredient

ATCC – American Type Cultures Collection

FRAP – Ferric Reducing Antioxidant Power

HR-ESI-MS – High-Resolution Electrospray Ionization Mass Spectrometry

PASS – Prediction of Activity Spectra for Substances

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1. ОТ СЫРЬЯ К ПРЕПАРАТУ: АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР ПЕРСПЕКТИВ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МИРТА ОБЫКНОВЕННОГО (<i>MYRTUS COMMUNIS</i> L.) (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	19
1.1. Эволюция представлений о роде Мирт: от традиций к науке.....	22
1.2. Ботаническая характеристика рода Мирт (<i>Myrtus</i> L.).....	22
1.2.1. Мирт обыкновенный (<i>Myrtus communis</i> L.).....	22
1.2.2. Мирт сахарский (<i>Myrtus nivellei</i> Batt.&Trab.).....	25
1.3. Мирт обыкновенный как перспективный источник биологически активных соединений.....	26
1.3.1. Сырьевая база мирта обыкновенного в Российской Федерации	26
1.3.2. Фитохимический состав листьев мирта обыкновенного	27
1.3.3. Стандартизация листьев мирта обыкновенного	38
1.3.4. Современные данные о фармакологической активности и терапевтическом потенциале листьев мирта обыкновенного	39
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ I.....	43
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	44
2.1. Объекты и материалы исследования.....	44
2.2. Методы исследования.....	48
2.2.1. Методы микроскопического исследования	48
2.2.2. Методы качественного химического исследования.....	50
2.2.3. Методы хроматографического исследования.....	50
2.2.4. Методы спектрального исследования	52
2.2.5. Технологические методы	53
2.2.6. Методы фармакологического скрининга	53
2.2.7. Метрологическая обработка результатов	57
ГЛАВА 3. МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИСТЬЕВ МИРТА ОБЫКНОВЕННОГО (<i>MYRTUS COMMUNIS</i> L.)	59
3.1. Морфология, анатомия, гистология мирта обыкновенного.....	60
3.1.1. Фитоморфология мирта обыкновенного.....	60
3.1.2. Изучение петиолярных признаков	64
3.1.3. Анатомия и гистология листовой пластинки.....	68

3.1.4. Диагностика порошка листьев.....	71
3.2. Детектирование биологически активных субстанций и их локализация в тканях листа.....	73
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3	77
ГЛАВА 4. ИССЛЕДОВАНИЕ ФИТОХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ЛИСТЬЕВ МИРТА ОБЫКНОВЕННОГО (<i>MYRTUS COMMUNIS</i> L.)	79
4.1. Методика выделения индивидуальных соединений	79
4.2. Характеристика выделенных индивидуальных соединений	82
4.3. Установление химической структуры выделенных соединений.....	82
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4	88
ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА МЕТОДИК КАЧЕСТВЕННОГО И КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА ЛИСТЬЕВ МИРТА ОБЫКНОВЕННОГО (<i>MYRTUS COMMUNIS</i> L.).....	89
5.1. Качественный анализ пробирочными химическими методами.....	89
5.2. Качественный анализ методами тонкослойной хроматографии и УФ-спектрофотометрии.....	91
5.3. Усовершенствование методики количественного определения суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного	94
5.4. Разработка методики количественного определения мирицитрина в листьях мирта обыкновенного	100
5.5. Разработка методики количественного определения мирицитрина в экстракционных препаратах из листьев мирта обыкновенного	107
5.6. Сравнительный анализ компонентного состава эфирных масел мирта обыкновенного и эвкалипта прутовидного.....	114
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 5	120
ГЛАВА 6. НАУЧНОЕ ОБОСНОВАНИЕ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ ИЗ ЛИСТЬЕВ МИРТА ОБЫКНОВЕННОГО (<i>MYRTUS COMMUNIS</i> L.)	122
6.1. Компьютерное прогнозирование спектра биологической активности мирицитрина с использованием программы PASS	124
6.2. Скрининг антимикробного, фунгицидного действия экстрактов и фенольных соединений листьев мирта обыкновенного	126
6.3. Исследование нейротропной активности мирицитрина и густого экстракта листьев мирта обыкновенного	132

6.4. Исследование диуретической активности густого экстракта листьев мирта обыкновенного.....	135
6.5. Исследование общей антиоксидантной активности настойки и фенольных соединений листьев мирта обыкновенного.....	136
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 6	142
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	144
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	148
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	176
Приложение №1. Оборудование, материалы, программное обеспечение...	177
Приложение №2. Микроскопия листовой пластинки и биологически активных соединений мирта обыкновенного.....	179
Приложение №3. ¹³ C-ЯМР-спектры мирицитрина и миртокоммулона D.....	182
Приложение №4. ¹ H-ЯМР-спектр мирицитрина. Масс-спектры мирицитрина, миртокоммулона D, мирицетина.....	183
Приложение №5. Сравнительный ГХ-МС анализ компонентного состава эфирных масел листьев мирта обыкновенного и эвкалипта прутовидного...	185
Приложение №6. ГХ-МС-хроматограммы эфирных масел мирта обыкновенного и эвкалипта прутовидного.....	189
Приложение №7. Методики определения антимикробной и противогрибковой активности.....	192
Приложение №8. Результаты сравнительного микробиологического исследования водно-спиртовых извлечений из листьев мирта обыкновенного, препаратов контроля и сравнения.....	196
Приложение №9. Способы приготовления растворов для метода FRAP.....	200
Приложение №10. Акты о внедрении результатов	201
Приложение №11. Патент на изобретение Российской Федерации «Методика количественного определения суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного».....	208
Приложение №12. Проект фармакопейной статьи на новый вид лекарственного растительного сырья «Мирта обыкновенного листа».....	209

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Разработка инновационных, эффективных и безопасных отечественных лекарственных препаратов и субстанций растительного происхождения является стратегическим приоритетом фармацевтической отрасли Российской Федерации, закрепленным в нормативно-правовых документах, включая план мероприятий по реализации Стратегии развития фармацевтической промышленности до 2030 года (Распоряжение Правительства РФ №753-р от 30.03.2024). Государственная политика направлена на создание, внедрение и применение новых лекарственных средств, усиление позиций, суверенитета и повышение конкурентоспособности российских производителей на внутреннем и международном рынках.

Актуальной задачей современной фармации является постоянный мониторинг новых возможностей использования и применения биологически активных соединений из растительного сырья, отвечающих современным требованиям безопасности (Куркин В.А., 2025). Используя новейшие методы исследования, целью ученых является создание инновационных ЛРП для лечения множества заболеваний, которые бросают вызов человечеству (Котельников Г.П., 2018; Колсанов А.В., 2017; Зилфикаров И.Н., 2011). Глобальные цели фармакогнозии включают в себя поиск перспективных источников ЛРС, изучение и расширение понимания об их фитохимическом составе, а также решение вопросов их стандартизации и рационального применения в современной медицинской практике (Куркин В.А., 2024; Самбукова Т.В., 2017; Киселева Т.Л., 2009). Более детальные задачи ведущих российских ученых в области фармации делятся на изучение параметров качества и решение вопросов стандартизации ЛРС и ЛРП, разработку их способов получения и обоснование их использования в лечебной практике.

В современной медицинской практике фитопрепаратам все чаще отдается предпочтение в связи с их низкой токсичностью при достаточно высокой эффективности, широким спектром терапевтического действия,

комплексным органопротекторным эффектом, минимумом побочных эффектов, возможностью приготовления *ex tempore*, более низкой стоимостью по сравнению с синтетическими препаратами (Самбукова Т.В., 2017).

Диссертационная работа посвящена комплексному фармакогностическому изучению листьев мирта обыкновенного (*Myrtus communis* L.) – представителя семейства Миртовые (*Myrtaceae* L.), обладающего доказанным медико-биологическим потенциалом, однако остающегося малоизученным в качестве источника отечественного лекарственного сырья. Актуальность работы обусловлена восполнением существенного пробела в доказательной базе, касающейся стандартизации и оценки фармакологических свойств российского сырья данного вида растения, что препятствовало его практическому применению в национальной фармацевтической отрасли. Данное растение не входило ранее в предыдущие издания отечественной фармакопеи, и не входит в настоящий момент в действующую Государственную фармакопею Российской Федерации XV издания. Однако мирт обыкновенный включен во Французскую фармакопею XI издания, упоминается в некоторых национальных стандартах Европейской фармакопеи 11.3 издания. Мирт в своей естественной среде обитания представлен в тропических и субтропических регионах мира, таких как Ближний Восток и страны Средиземноморского бассейна. В России *Myrtus communis* произрастает и культивируется в парках и садах на территории Республики Крым, Краснодарского края, Черноморского побережья Кавказа.

На сегодняшний день подходы к стандартизации растительного сырья мирта обыкновенного и его валидация в России в полной мере не разработаны. Имеется потребность в разработке и усовершенствовании методик качественного и количественного определения ключевых диагностически значимых биологически активных соединений листьев *Myrtus communis*. Именно этот подход обеспечит научную обоснованность выбора аналитических методов, установления нормируемых параметров качества

сырья мирта и экстракционных препаратов из него, подбора стандартных образцов, а также проведения валидации и статистической обработки данных.

Морфолого-анатомические и гистохимические признаки листьев мирта обыкновенного и их сравнительный анализ с листьями эвкалипта прутовидного, описаны в ряде отечественных и зарубежных научных работ (Бакова Е.Ю., 2021; Dessena L., 2017). Для идентификации комплекса диагностических признаков необходимы более детальные анатомо-гистологические исследования листьев мирта обыкновенного с применением методов люминесцентной и поляризационной микроскопии. Согласно нормативным требованиям раздела «Микроскопические признаки» ГФ РФ XV изд, обязательным элементом описания листьев является характеристика анатомического строения черешка (петиолярные признаки), что обусловлено высокой таксономической значимостью и видовой специфичностью данной структуры (Бакова Е.Ю., 2021; Черятова Ю.С., 2016).

Таким образом, проведение комплексного фармакогностического исследования российского сырья (листьев) мирта обыкновенного с целью научного обоснования его перевода в статус официального лекарственного растения представляет собой актуальную научную задачу.

Степень разработанности темы. На сегодняшний день в России мирт обыкновенный, в частности, его листья, в основном изучаются исследователями (Бакова Н.Н., 2018; Бакова Е.Ю., 2021; Палий А.Е., 2018; Логвиненко Л.А., 2017) Никитского ботанического сада – Национального научного центра РАН Республики Крым, ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского» (Чуян Е.Н., 2023; Миронюк И.С., 2023), ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева» (Черятова Ю.С., 2015). В качестве основных результатов работ представлены результаты исследования химического состава листьев мирта по фенольным соединениям методом ВЭЖХ, терпеноидам методом газо-жидкостной хроматографии, аминокислотному и минеральному составу, анатомо-морфологической

характеристике, антиоксидантным свойствам, а также определению токсичности водно-спиртового извлечения и сиропа из листьев мирта обыкновенного, вазоактивному действию, показателям центральной гемодинамики вторичных метаболитов мирта (Бакова Е.Ю., 2019; Черятова Е.Н., 2023; Чуян Е.Н., 2024; Bakova N.N., 2021). Зарубежными учеными опубликован обширный спектр работ по фитохимическому составу основных групп БАВ, в частности, флавоноидам, терпеноидам, миртокоммулонам и др. (Appendino G., 2006; Mendonça S.C., 2024; Nassar M.I., 2010; Tuberoso C.I., 2006). Исследователями разных стран доказан широкий спектр фармакологической активности мирта обыкновенного, включающий антимикробное, антиоксидантное, антипролиферативное, нейропротективное, противовоспалительное, регенерирующее, фотопротекторное действие и др. (Alipour G., 2014; Al-Snafi A.E., 2024; Dabbaghi M.M., 2023).

Таким образом, мирт обыкновенный является ценным источником биологически активных соединений с доказанным в международном научном поле фармакологическим действием, однако решение комплекса взаимосвязанных задач — от детального фитохимического анализа и разработки методов стандартизации российского сырья *Myrtus communis* до обоснования целесообразности создания лекарственных средств на его основе — представляет собой актуальное направление исследований в области специальности «3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия» и современной фармации в Российской Федерации.

Цель и задачи диссертационного исследования.

Целью работы являлось фармакогностическое изучение листьев мирта обыкновенного для научного обоснования целесообразности их использования в качестве нового вида лекарственного растительного сырья.

Задачи исследования:

1. Морфолого-анатомическое исследование листьев мирта обыкновенного.
2. Изучение фитохимического состава листьев мирта обыкновенного.

3. Анализ терпенового состава и диагностически значимых компонентов эфирного масла листьев *Myrtus communis* некоторых ареалов произрастания.
4. Разработка методики качественного анализа листьев мирта обыкновенного с использованием химических реакций, ТСХ и УФ-спектрофотометрии.
5. Разработка и валидация методики количественного определения мирицитрина в листьях и экстракционных препаратах из листьев мирта обыкновенного с использованием метода ВЭЖХ.
6. Усовершенствование методики количественного определения суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного в пересчете на мирицитрин с использованием метода дифференциальной спектрофотометрии и разработанной валидацией.
7. Изучение антимикробной, противогрибковой, антиоксидантной нейротропной, диуретической активности экстракционных препаратов и индивидуальных соединений, выделенных из листьев *Myrtus communis*.
8. Разработка проекта фармакопейной статьи на новый вид лекарственного растительного сырья «*Myrtus communis folia*».

Научная новизна. Впервые с использованием люминесцентного и поляризационного методов микроскопии проведено морфолого-анатомическое исследование листовой пластинки, черешка, порошка, эфирного масла мирта обыкновенного (*Myrtus communis* L.) и его доминирующих БАВ. В результате исследования выявлены ранее не описанные селективные и диагностически значимые признаки растительного сырья мирта (пигментация и люминесценция эпителия схизогенного вместилища, специфичное розовое свечение производных флороглюцина в тканях листовой пластинки мирта, люминесцентное диагностически значимое свечение сине-голубым цветом эфирного масла мирта обыкновенного).

Впервые разработана методика качественного анализа листьев мирта обыкновенного с использованием химических реакций, ТСХ и УФ-спектрофотометрии. Впервые разработана методика количественного определения мирицитрина в листьях и экстракционных препаратах из листьев

Myrtus communis с использованием метода ВЭЖХ. Усовершенствована методика количественного определения суммы флавоноидов в листьях *Myrtus communis* в пересчете на мирицитрин с использованием метода дифференциальной спектрофотометрии и уточнением критериев.

Впервые проведено сравнительное изучение компонентного состава эфирных масел листьев мирта обыкновенного некоторых географических зон произрастания, включая Россию, с эфирным маслом листьев фармакопейного, близкородственного мирту растения, эвкалипта прутовидного методом ГХ-МС с установлением, варьируемых в зависимости от ареала и диагностически значимых, компонентов эфирного масла *Myrtus communis*. Полученные результаты исследования могут быть использованы для подтверждения видовой специфичности и подлинности растительного сырья *Myrtus communis*.

В рамках настоящей работы впервые в России проведено комплексное скрининговое исследование антимикробной и фунгицидной активности водно-спиртовых извлечений из листьев *Myrtus communis* российского происхождения, а также индивидуальных биологически активных веществ, выделенных из данного сырья (мирицитрин, миртокоммулон D, галловая кислота). При этом доказан весомый вклад флороглюцинового соединения миртокоммулона D в антимикробную активность экстрактов из листьев мирта.

Научная новизна диссертационной работы включает в себя первичный скрининг на нейротропную и диуретическую активность густого экстракта, полученного из листьев мирта обыкновенного российского происхождения, и выделенного из данного сырья доминирующего флавоноида – мирицитрина.

Впервые методом FRAP изучена АОА настойки российского сырья мирта обыкновенного и индивидуальных соединений, выделенных него.

Научная новизна работы подтверждена патентом Российской Федерации на изобретение № 2847875, содержащим разработанную методику количественного определения суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного (Приложение №11). Получены приоритетные заявки на изобретения РФ «Способ количественного определения мирицитрина в

листьях мирта обыкновенного» (регистрационный номер заявки 2024125683 от 02.09.2024), «Средство, обладающее способностью подавлять рост *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*» (регистрационный номер заявки 2025109289 от 14.04.2025), «Средство, обладающее способностью подавлять рост *Staphylococcus aureus* и *Bacillus cereus*» (регистрационный номер заявки 2025125870 от 19.09.2025).

Теоретическая и практическая значимость. В рамках диссертационной работы, выполненной с использованием методов ВЭЖХ, ГХ-МС, ТСХ-анализа, УФ- и дифференциальной спектрофотометрии, химических превращений и др., научно обоснована целесообразность использования в медицинской практике листьев мирта обыкновенного.

Ключевым практическим результатом диссертационного исследования стала разработка проекта ФС на новый вид ЛРС «Мирта обыкновенного листья» (Приложение №12). Включение в плановое обновленное издание ГФ данной ФС будет способствовать внедрению ЛРС и ЛРП на его основе на фармацевтические производственные площадки России в условиях актуальной повестки технологического суверенитета.

Значимость данного диссертационного исследования заключается в расширении научного представления о мирте обыкновенном как перспективном растительном сырьевом источнике для создания и производства инновационных российских импортозамещающих ЛРП. Впервые методом адсорбционной колоночной хроматографии из листьев мирта обыкновенного российского происхождения выделены и идентифицированы методами масс-спектрометрии, ^1H -ЯМР-, ^{13}C -ЯМР-спектроскопии доминирующий, диагностически значимый флавоноид мирицитрин и специфичное для рода *Myrtus* флороглюциновое соединение миртокоммулон D. Согласно современным аспектам стандартизации ЛРС разработана методика количественного определения мирицитрина в листьях мирта обыкновенного и в экстракционных препаратах из листьев мирта обыкновенного методом ВЭЖХ, оптимизирована методика количественного

определения суммы флавоноидов в листьях *Myrtus communis* в пересчете на мирицитрин методом дифференциальной спектрофотометрии, установлены компонентные критерии качества эфирного масла листьев мирта обыкновенного с помощью метода ГХ-МС.

В результате проведенных исследований впервые установлены и научно обоснованы нормативные числовые показатели качества листьев мирта обыкновенного, которые легли в основу проекта фармакопейной статьи. Ключевые стандартизированные параметры включают: содержание суммы флавоноидов (не менее 1,5% в пересчете на мирицитрин), содержание доминирующего флавоноида мирицитрина (не менее 0,9%) и выход эфирного масла (не менее 0,8% по абсолютно сухому сырью). Раздел «Микроскопия» дополнен люминесцентным методом, что было включено в проект ФС. Изучен компонентный состав эфирного масла листьев мирта в зависимости от ареала произрастания. Установлены диагностические компоненты растения для определения видовой специфичности. Определены отличительные особенности компонентного состава эфирного масла листьев мирта обыкновенного от эфирного масла эвкалипта прутовидного.

Обосновано использование экстракционных препаратов из листьев мирта обыкновенного и выделенных из мирта БАС в качестве потенциальных субстанций (API) для расширения производства новых ЛРП с антимикробным, противогрибковым, анксиолитическим, антиоксидантным действием.

Внедрение результатов диссертационного исследования. Результаты проведенного исследования имеют подтвержденную практическую значимость и внедрены в ряд ключевых сфер фармацевтической отрасли. Теоретические положения и экспериментальные данные работы интегрированы в образовательные программы кафедр Института фармации ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» МЗ РФ. Разработанные в рамках диссертации методики анализа сырья и экстракционных препаратов мирта обыкновенного прошли успешную апробацию и используются в практической деятельности Средне-Волжского

филиала ФГБНУ ВИЛАР, ЗАО «Самаралектравы» и ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области», НОЦ «Фармация». Акты, подтверждающие внедрение, представлены в Приложении № 10.

Связь работы с научно-исследовательскими программами.

Исследование выполнено в рамках тематического плана научных работ ФГБОУ ВО «СамГМУ» МЗ РФ (Гос. регистрация № АААА-А19-119051490148-7 от 14.05.2019) по комплексной научно-исследовательской и опытно-конструкторской работе (НИОКР) «Химико-фармацевтические, биотехнологические, фармакологические и организационно-экономические исследования по разработке, анализу и применению фармацевтических субстанций и лекарственных препаратов».

Методологическая основа исследования включает комплексный подход, базирующийся на системном анализе и критическом обобщении данных российской и международной научной литературы. Работа выполнена в соответствии с классической схемой фармакогностического изучения нового вида лекарственного растительного сырья и предусматривала следующие этапы: детальную оценку современного уровня изученности *Myrtus communis*, постановку цели и конкретных задач, проведение экспериментальной части, направленной на всесторонний анализ листьев мирта обыкновенного.

В качестве основного объекта исследования были выбраны листья мирта обыкновенного (*Myrtus communis* L.), культивируемого на территории Никитского ботанического сада – Национального научного центра РАН (Республика Крым, Российская Федерация). Заготовка сырья проводилась в фенологическую фазу массового цветения растения в 2021–2023 гг.

Для проведения компаративного анализа в диссертационное исследование были включены образцы листьев мирта обыкновенного алжирского происхождения, листья эвкалипта прутовидного, российские промышленные образцы эфирных масел эвкалипта и мирта.

В диссертационной работе использовались стандартные образцы российского и европейского производства (мирицитрин, мирицетин, 1,8-

цинеол, эувималь-1, галловая кислота, аскорбиновая кислота) и индивидуальные соединения, выделенные из российского сырья *Myrtus communis* (мирицитрин, мирицетин, миртокоммулон D, галловая кислота).

Решение исследовательских задач, связанных с изучением фитохимического состава листьев мирта обыкновенного, разработкой методов анализа, стандартизации и установлением числовых показателей качества листьев мирта обыкновенного, было обеспечено комплексом современных аналитических методов. В работе использовались: ТСХ, колоночная хроматография, ВЭЖХ, спектроскопические методы (УФ-, ¹H-ЯМР-, ¹³C-ЯМР-спектроскопия, спектрофотометрия, масс-спектрометрия), ГХ-МС, набор классических химических и гистохимических реакций. Достоверность и воспроизводимость полученных данных подтверждались валидацией методик и статистической обработкой результатов в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0013, ОФС.1.1.0012 и с применением программного обеспечения (STATISTICA 8.0, ChemMetr 1.0.).

Морфолого-анатомическое изучение листовой пластинки, черешка, эфирного масла и индивидуальных соединений мирта обыкновенного проводили с применением методов люминесцентной, поляризационной микроскопии, помимо микроскопии в отраженном и проходящем свете.

Изучение антимикробного и фунгицидного действия проводили в соответствии с общепринятым микробиологическим методом серийных разведений в питательной среде (бульон Мюллера-Хинтона). Определяли минимальную ингибирующую концентрацию для экстракционных препаратов и индивидуальных соединений из листьев мирта обыкновенного, препаратов отрицательного контроля и сравнения на тест-штаммах микроорганизмов Американской коллекции типовых культур (АТСС) и клинических штаммов микроорганизмов, выделенных от пациентов с муковисцидозом.

Нейротропную активность мирицитрина и густого экстракта из листьев мирта обыкновенного определяли с использованием теста Порсолта *in vivo*. Результаты обрабатывали статистически по U-критерию Манна-Уитни.

Диуретическая активность густого экстракта из листьев мирта оценивалась *in vivo* в 4- и 24-часовом эксперименте. Определены диурез, креатининурия методом колориметрии на КФК-3.

Антиоксидантную активность настойки и индивидуальных соединений из листьев мирта обыкновенного определяли методом FRAP с последующей метрологической обработкой результатов.

Положения, выдвигаемые на защиту:

1. Результаты морфолого-анатомического исследования листьев мирта обыкновенного.
2. Результаты фитохимического исследования листьев мирта обыкновенного и препаративного выделения индивидуальных соединений.
3. Результаты сравнительного изучения качественного и количественного состава эфирного масла листьев мирта обыкновенного некоторых ареалов произрастания, диагностическое компонентное сравнение с эфирным маслом эвкалипта прутовидного.
4. Методика качественного анализа листьев мирта обыкновенного с использованием пробирочных химических реакций и ТСХ-анализа.
5. Методика количественного определения содержания суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного с пересчетом на мирицитрин методом дифференциальной спектрофотометрии.
6. Методика количественного определения содержания мирицитрина в листьях и экстракционных препаратах из листьев мирта обыкновенного методом ВЭЖХ.
7. Результаты исследований биологической активности (антимикробной, нейротропной, антиоксидантной, диуретической) экстракционных препаратов и индивидуальных соединений из листьев мирта обыкновенного.
8. Проект ФС на новый вид ЛРС «Мирта обыкновенного листа».

Степень достоверности. Достоверность полученных в работе научных данных и выводов обеспечена применением комплекса взаимодополняющих классических и современных аналитических методов, включая микроскопию

(световую, поляризационную, люминесцентную), хроматографию (ТСХ, адсорбционную колоночную, ВЭЖХ, ГХ-МС) и спектральный анализ (УФ-, ЯМР-спектроскопию, масс-спектрометрию, спектрофотометрию). Валидность экспериментальных исследований подтверждена статистической обработкой данных и процедурой валидации аналитических методик, выполненной в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0012 и ОФС.1.1.0013 ГФ РФ XV изд.

Личный вклад автора. Все экспериментальные данные, представленные в диссертационной работе, получены автором самостоятельно. Автором лично проведены все этапы исследований, включая микроскопический, фитохимический, хроматографический и спектральный анализ растительного сырья мирта обыкновенного и выделенных из него соединений. При участии автора изучены антимикробная, нейротропная и диуретическая активность экстрактов и фенольных соединений листьев мирта обыкновенного. Автором разработаны и валидированы новые, а также усовершенствованы существующие методики качественного и количественного определения биологически активных веществ в сырье и экстракционных препаратах из листьев мирта. Автором подготовлен комплект нормативной документации, включающим проект фармакопейной статьи на новый вид ЛРС «Мирта обыкновенного листа» (Приложение №12).

Соответствие диссертационной работы паспорту научной специальности. Проведенное диссертационное исследование, его результаты и выносимые на защиту положения соответствуют пунктам 2, 3, 5, 6 паспорта научной специальности 3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки).

Публикации. Основные положения и результаты диссертации отражены в 15 научных публикациях, в том числе 8 статьях в рецензируемых журналах, входящих в Перечень ВАК Минобрнауки России, и 5 статьях, индексируемых в международной базе данных. Практическая значимость работы подтверждена патентом на изобретение (Приложение №11) и 3 приоритетными заявками на изобретение.

Апробация работы. Результаты исследований прошли апробацию на научных конференциях различного уровня. Доклады были представлены на русском и английском языках: на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Современные Проблемы Фармации» (Самара, 2022; 2024; 2025); на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Аспирантские чтения. Молодые ученые – медицине. Приоритетные направления науки в достижении технологического суверенитета. SIMS – 2025: Samara International Medical Science» (Самара, 2023; 2025; 2026); на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего» (Санкт-Петербург, 2024); на Международной научной конференции «Достижения и перспективы создания новых лекарственных растительных препаратов» (Москва, 2025); на Международной научно-практической конференции «Современное медицинское образование. Достижения, проблемы, пути решения» (Иркутск, 2025); на XXVI Международном Съезде ФИТОФАРМ (Санкт-Петербург, 2025 г.); на XIII Международной научной конференции молодых ученых «Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения» (Москва, 2025).

Автор диссертационной работы является лауреатом конкурса на соискание Губернского гранта в области науки и техники в 2025 году.

Объем и структура работы. Диссертационная работа объемом 226 страниц машинописного текста содержит 49 рисунков и 32 таблицы. Структурно работа состоит из введения, литературного обзора, главы, посвященной объектам, материалам и методам исследования, четырех экспериментальных глав, выводов и заключения. Библиографический список включает 198 ссылок, из которых 125 источников на иностранных языках. После списка литературы работа дополнена 12 приложениями.

В главе 1 представлен аналитический обзор международных литературных источников по ботанической и фармакогностической характеристике мирта обыкновенного. В ней систематизированы данные по

таксономии, ареалу произрастания и сырьевой базе на территории Российской Федерации. Проанализирован фитохимический состав *Myrtus communis*, освещены проблемы его стандартизации, обобщены сведения о его биологической активности. Дана характеристика мирта сахарского.

В главе 2 систематизированы объекты, материалы и методы диссертационного исследования.

Глава 3 посвящена комплексному морфолого-анатомическому анализу растительного сырья мирта обыкновенного. Установлены диагностические признаки листовой пластинки, черешка и порошка листьев *Myrtus communis*, включая гистохимическую локализацию БАС с применением современных методов микроскопии (люминесцентной, поляризационной).

В главе 4 представлены результаты фитохимического исследования, направленного на выделение и идентификацию индивидуальных соединений из листьев мирта обыкновенного, обоснование критериев стандартизации, необходимых для подтверждения подлинности и установления качества растительного сырья мирта обыкновенного.

Глава 5 включает разработанные методики качественного и количественного анализа листьев мирта обыкновенного. Также в главе содержится сравнительный анализ компонентного состава эфирного масла листьев мирта обыкновенного некоторых регионов произрастания с эфирным маслом эвкалипта прутовидного.

Глава 6 содержит результаты прогнозирования биологической активности мирцитрина, исследований антимикробной, противогрибковой, нейротропной, диуретической, антиоксидантной активности экстрактов и индивидуальных соединений из листьев мирта обыкновенного.

Структуру диссертации завершают заключение с формулировкой итоговых выводов, библиографический список и приложения.

**ГЛАВА 1. ОТ СЫРЬЯ К ПРЕПАРАТУ:
АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР ПЕРСПЕКТИВ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ
МИРТА ОБЫКНОВЕННОГО (*MYRTUS COMMUNIS* L.)
(ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)**

Мирт обыкновенный (*Myrtus communis* Linn.) — вид рода Мирт (*Myrtus* Linn.) семейства Миртовые (*Myrtaceae* Linn.), который с древности является традиционным растением в народной медицине стран Средиземноморского бассейна [101, 107, 147]. Из мирта обыкновенного готовили настойки, крема, мази, отвары, масла для применения как внутрь, так и наружно в терапии простудных и дерматологических заболеваний [144, 176]. Но, несмотря на длительный научный интерес, обусловленный уникальным богатством его химического состава и возможностью культивации в субтропических регионах Российской Федерации, мирт обыкновенный до настоящего времени не включен в Государственную фармакопею РФ и не имеет статуса официального лекарственного растения [15, 38, 41].

1.1. Эволюция представлений о роде Мирт: от традиций к науке

В Древней Греции и Древнем Риме мирт обыкновенный часто упоминался в мифологии и был посвящен богиням Афродите и Венере [181]. Овидий описывает Венеру, выходящую из моря с ветвью мирта в руках [91]. Венок из мирта был популярным компонентом почетных гирлянд и традиционным свадебным украшением, символизируя вечную любовь и супружескую верность. *Myrtus communis* занимает видное место в трудах Гиппократ, Плиния, Диоскорида, Галена, а также некоторых арабских писателей [181]. Миртовые венки, сделанные из золота, находят во время раскопок по территории всего древнего мира, особенно в Македонии [91].

В Коране, Библии и Торе можно неоднократно встретить упоминание мирта [91, 181]. Это древнее растение играло большую церемониальную роль в иудаизме, где мирт известен как Хадасса, одно из четырех священных растений. Мирт считается символом мира, Эдема и брака. В христианстве

мирт стал символом чистоты Девы Марии [91]. В исламских садах Пиренейского полуострова мирт произрастал со времен средневековья [91].

Мирт сохранил за собой символизм любви и верности в эпоху Возрождения [142]. Он стал популярным и модным кустарником в британских садах, куда он был завезен в 1597 году, несмотря на отсутствие идеальных условий для зимнего содержания этого растения. Миртовые венки с розами стали обязательным атрибутом при бракосочетании королевских особ Англии. Со времен свадьбы королевы Виктории в 1858 году и до сих пор в букете каждой невесты британского королевского двора обязательно присутствует миртовая ветвь из королевского сада [91, 142].

Джон Джерард в своей книге "Травы" 1597 года (рис. 1А) выделял шесть сортов мирта, выращиваемых в Южной Англии [90, 91]. Впервые мирт был описан шведским ботаником Карлом Линнеем в 1753 году [181].



Джон Паркинсон в своей книге “Рай земной”, или “Сад всевозможных приятных цветов”, писал о "миртле" (рис. 1В). Публикации эпохи королевы

Виктории или более ранних лет, такие как "Цветочные эмблемы" Генри Филипса (1825) (рис. 1С), "Язык цветов с поэтическими иллюстрациями" Шарлотты де Ля Тур и Фредерика Шоберля (1839), "Символика флоры, или язык и чувства цветов" (1866) и "История растений" Ричарда Фолкарда, «Легенды и тексты песен» (1884) описывают значение мирта — молодость, невинность, чистота, плодородие, бессмертие, верность, любовь [90, 91].

В современной средиземноморской кулинарии из мирта готовят ароматный ликер или шнапс, вымачивая листья и плоды *Myrtus communis* в спирте [94]. Миртовое желе, мед со вкусом мирта или террин можно приобрести в этническом корсиканском продуктовом магазине, например во Франции или Италии. Местные жители традиционно приправляют готовое блюдо сухими листьями мирта, чтобы придать ему специфический вкус [107]. Во многих частях Средиземноморья листья мирта используются в качестве ароматизатора и для изготовления духов, а плоды используются в качестве заменителя перца в некоторых мясных консервах. Богатая танином кора мирта используется для изготовления высококачественной кожи [142].

Первые документально подтвержденные сведения о культивировании мирта как источника эфирного масла и декоративной культуры на юге России относятся к 1815 году, когда растение было интродуцировано в Никитском ботаническом саду Республики Крым, а с 1860-х годов — на Черноморском побережье Кавказа [7, 39]. В настоящее время основными зонами интродукции и культивирования мирта обыкновенного в России служат субтропические регионы: Краснодарский край, Черноморское побережье Кавказа и Южное побережье Крыма [3, 12, 40].

1.2. Ботаническая характеристика рода Мирт (*Myrtus* L.)

1.2.1. Мирт обыкновенный (*Myrtus communis* L.)

Родовое латинское наименование *Myrtus* происходит от греческого μύρτος «мирт» - производное от слова μύρρα «мирра, жидкое благовоние» [94]. По классификации Тахтаджяна А.Л., род Мирт (*Myrtus* Linn.) относится к

отделу Сосудистые растения (*Tracheophyta*), классу Двудольные (*Magnoliopsida*), порядку Миртоцветные (*Myrtales*), семейству Миртовые (*Myrtaceae* Linn.) [56, 173, 181].

В семействе *Myrtaceae* насчитывается более 100 родов и более 3000 представителей. В роде *Myrtus* L. есть два вида: мирт обыкновенный (*Myrtus communis* L.) и мирт сахарский (*Myrtus nivellei* Batt.), произрастающий, как правило, в горах Центральной Сахары [114, 119, 173]. Только в одной стране, Алжире, произрастают оба вида мирта: *M. communis* на севере и *M. nivellei* на юге. Естественный ареал мирта обыкновенного охватывает обширные субтропические территории от Макаронезии на западе до Западной и Центральной Азии и северной Индии на востоке (рис. 2) [74, 142].

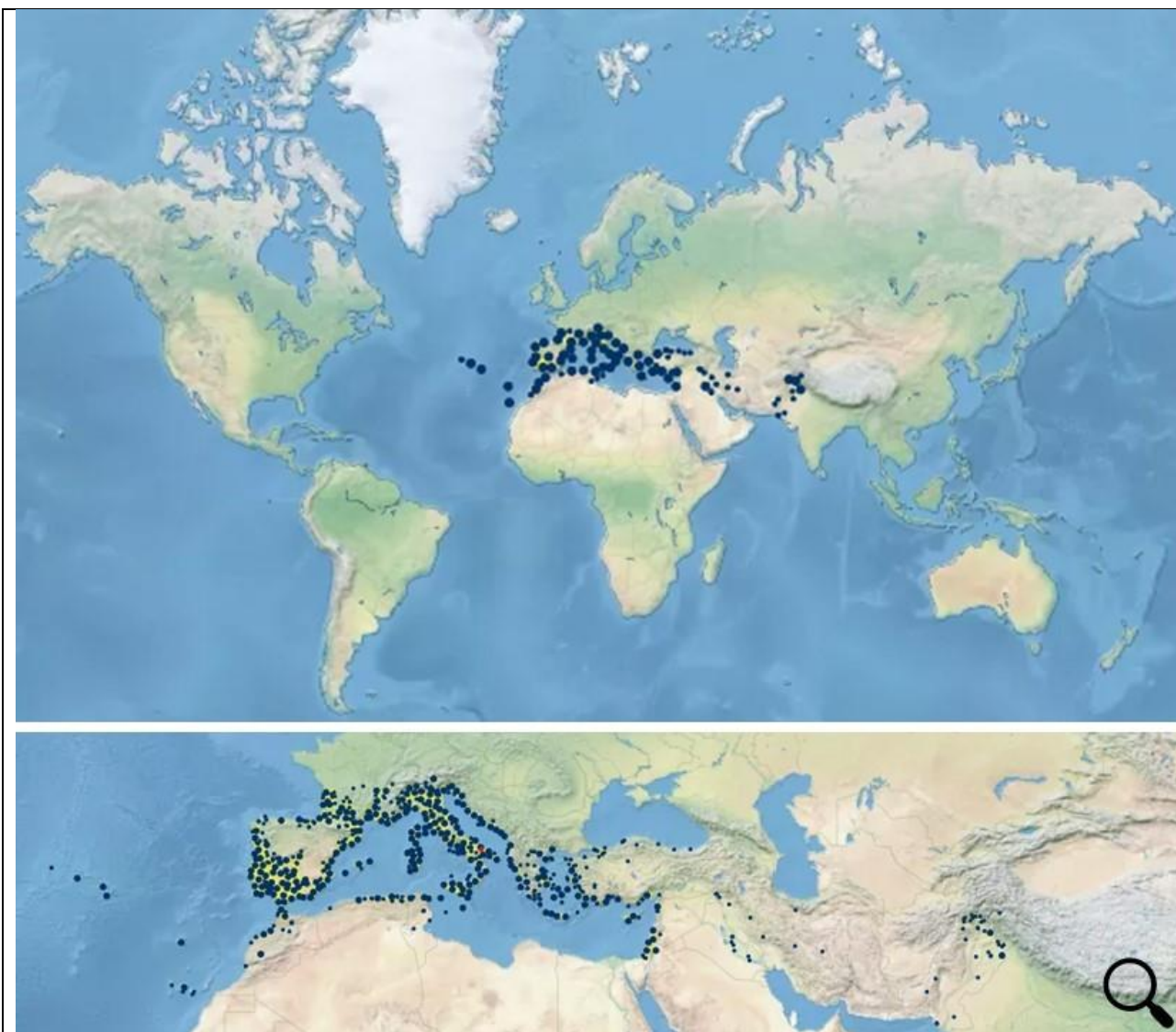


Рисунок 2 – Естественный ареал произрастания мирта обыкновенного [121]

Вид широко распространен в странах Средиземноморского бассейна, включая прибрежные регионы Португалии, Испании, южной Франции, Италии, Греции, Турции, а также в Северной Африке и Ближнем Востоке [112]. На острове Сардиния, мирт спонтанно произрастает на нейтральных или слабокислых почвах на высотах до 800 м над уровнем моря [147].

Myrtus communis – уроженец: Азорские острова, Албания, Алжир, Афганистан, Балеарские острова, Восточно-Эгейские острова, Гибралтар, Греция, Египет, Израиль, Ирак, Иран, Испания, Италия, Йемен, Канарские острова, Кипр, Корсика, Крит, Ливан, Ливия, Мадейра, Мальта, Марокко, Монако, Палестина, Пакистан, Португалия, Саудовская Аравия, Сирия, Тунис, Турция, Франция, Черногория, Эритрея, Эфиопия (рис. 2) [74, 92, 121].

Род *Myrtus* демонстрирует значительный полиморфизм, что проявляется в вариабельности ключевых морфологических признаков, таких как форма и размер листовой пластинки. Данное свойство является отражением широкой генетической пластичности вида *Myrtus communis*. Современный ареал рода, охватывающий Средиземноморский регион и изолированные локации (Макаронезия, горные массивы Сахары) (рис. 2), объясняется не только способностью мирта к длительной персистенции в рефугиумах, но и его эффективными механизмами миграции [142]. Молекулярно-генетические исследования французских ученых подтверждают существование выраженной дифференциации между восточной и западной популяциями *Myrtus communis* [142]. Формирование современного филогеографического паттерна и внутривидового разнообразия связывают с процессами расселения, инициированными примерно в период 5–8 млн лет назад, и последующей более поздней колонизацией территорий, включая Сахару [142].

Myrtus communis представляет собой вечнозеленый кустарник, достигающий высоты до 4 метров в высоту, типичный для средиземноморских субтропических биотопов (рис. 3) [53, 54, 112]. Это склерофилловое растение характеризуется мелкой листвой, глубокой трещиноватой корой и может жить

до 300 лет. Мирт отличается своими гибкими ветвями с красно-коричневой корой, образующие плотную крону, густо покрытую ароматными блестящими зелеными листьями, богатыми эфирными маслами, которые придают местам обитания характерные ароматы [10, 21, 188].



Рисунок 3 – Внешний вид мирта обыкновенного (*Myrtus communis* L.) [158]

Вид *Myrtus communis* является единственным представителем рода *Myrtus*, естественный ареал которого охватывает регионы Европы в рамках тропических и субтропических видов обширного семейства *Myrtaceae*. К данному семейству также относятся гвоздичное дерево (*Syzygium aromaticum*), душистый перец (*Pimenta dioica*) и виды рода *Eucalyptus* [15, 22, 121].

1.2.2. Мирт сахарский (*Myrtus nivellei* Batt.&Trab.)

В роде *Myrtus* семейства *Myrtaceae* есть второй вид – мирт сахарский (*Myrtus nivellei* Batt.&Trab.). (на языке туарегов: Тефельтест) (рис. 4) [114, 160]. Сахарский мирт является эндемиком небольших участков редкого реликтового леса на горных возвышенностях над пустынными равнинами Центральной Сахары, от чего и получил свое название [135, 160].

Растет в песчаных и каменистых промоинах и долинах на больших высотах, превышающих 1400 метров над уровнем моря. *Myrtus nivellei* встречается в ограниченном ареале в горах Тассили-н'Аджер на юге Алжира и

в горах Тибести на севере Чада [86, 160]. Это традиционное лекарственное растение для народа туарегов, например, для лечения дерматофитии [136].

Согласно этноботаническим исследованиям, в регионе Тассили в Алжире измельченные листья сахарского мирта, добавляемые в масло или мазь, рекомендуются при лечении дерматозов и для ухода за волосами [114]. Результаты исследований алжирских ученых сообщают о богатом содержании фенольных соединений в листьях *Myrtus nivellei* и о высоком антиоксидантном, противовоспалительном и фотопротекторном потенциале данного вида мирта [119, 135, 136].

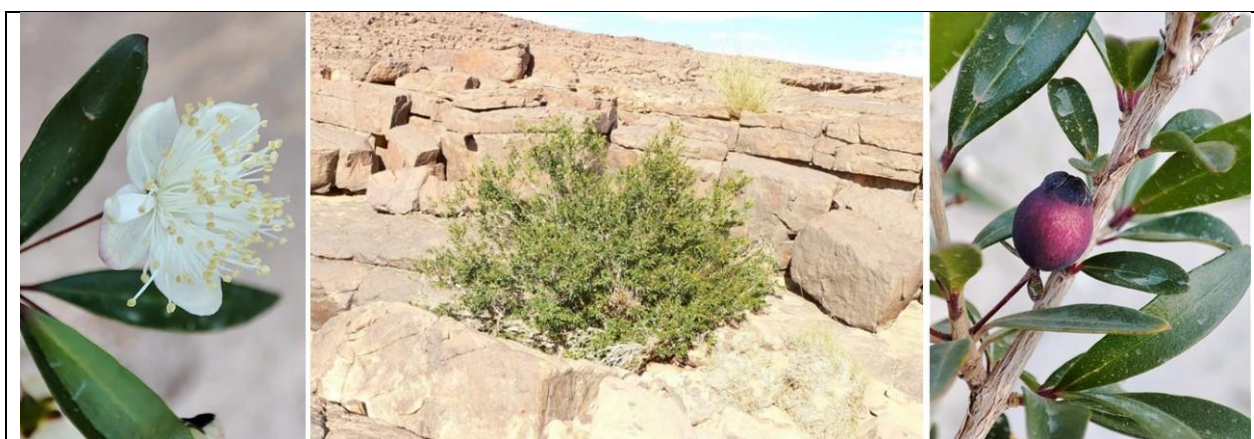


Рисунок 4 – Внешний вид мирта сахарского (*Myrtus nivellei* Batt.&Trab.) [120]

Алжирские и португальские исследователи сообщают о том, что ЭМ мирта сахарского отличается от ЭМ мирта обыкновенного химической однородностью, в его составе преобладают 1,8-цинеол и лимонен [119]. Два ди-нор-сесквитерпена можно рассматривать как диагностические компоненты ЭМ *Myrtus nivellei* [119].

1.3. Мирт обыкновенный как перспективный источник биологически активных соединений

1.3.1. Сырьевая база мирта обыкновенного в Российской Федерации

В настоящее время культурный ареал мирта обыкновенного в России охватывает наиболее теплые субтропические регионы: территории Краснодарского края, Черноморского побережья Кавказа, а также южную

часть Крыма [3, 12, 40]. Это создает устойчивую сырьевую базу для его фармакогностического изучения и потенциального промышленного использования [1, 42, 65]. В диком виде в России мирт не встречается, но в условиях южного региона имеются подходящие внешние условия (погодные, почвенные, аграрноресурсные) для масштабного культивирования данного растения, что подтверждается множественными небольшими плантациями в частных хозяйствах [28, 166]. В промышленных масштабах мирт обыкновенный не выращивается ввиду отсутствия фармакопейного статуса у растения на территории Российской Федерации.

Основными поставщиками растительного сырья мирта обыкновенного (листья, ЭМ) являются Марокко, Тунис, Алжир и другие страны Средиземноморского бассейна [9, 44]. Проверки на критерии качества неофициального сырья минимальные, что ставит под сомнение наличие достаточного количества основных и ценных групп БАВ в сырье мирта обыкновенного. Таким образом, актуальной задачей на сегодняшний день видится нормативно-правовая легализация в России листьев мирта обыкновенного в качестве ЛРС и, затем, развитие тепличных хозяйств и ферм в субтропической зоне нашей страны с целью выращивания высококачественного растительного сырья мирта для дальнейшей переработки и использования в фармацевтической и медицинской практике.

1.3.2. Фитохимический состав листьев мирта обыкновенного

В Российской Федерации на 2025 год зарегистрированы только зарубежные безрецептурные ЛРП на основе БАС мирта обыкновенного. Это «РеспероМиртол»® и «РеспероМиртол Форте»® (производитель «Berlin-Chemie AG/Menarini Group», Германия), относящиеся к фармакологической группе секретолитиков и стимуляторов моторной функции дыхательных путей [16]. Основное действующее вещество миртол (*Myrtolum*), включающий определенные концентрации трех монотерпенов: D-лимонена, 1,8-цинеола и α -пинена [16]. Показанием к применению данных ЛРП являются

воспалительные заболевания дыхательных путей (бронхиты, синуситы) в составе комплексной терапии [16]. В России *Myrtus communis* не имеет фармакопейного статуса и не зарегистрирован в качестве ЛРС [15], ограничиваясь включением в состав нескольких БАД для терапии респираторных, желудочно-кишечных и урогенитальных инфекций [113].

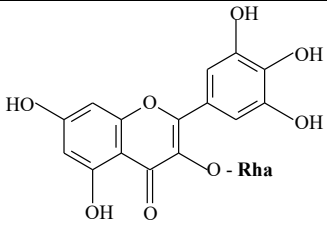
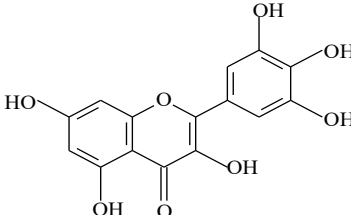
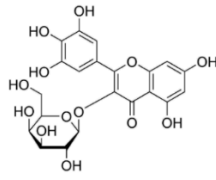
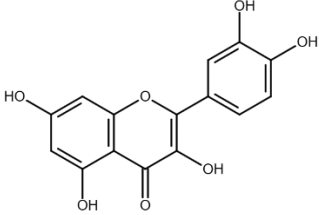
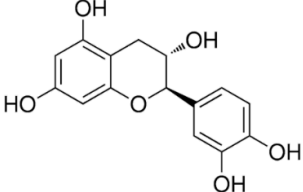
Эффективность и безопасность водно-спиртовых экстрактов и ЭМ листьев мирта обыкновенного доказаны международными исследованиями, а широкий спектр его применения в фитотерапии и традиционной медицине известен во многих странах мира, что делает данное растение перспективным претендентом на официальный статус в России [53, 82, 107, 188]. Широкий диапазон биологического действия экстрактов и ЭМ из листьев мирта обыкновенного обусловлен его неповторимым, уникальным и богатым компонентным составом [77-79, 102, 166].

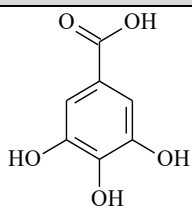
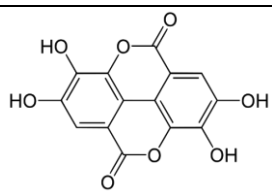
Зарубежными учеными компонентный состав листьев мирта обыкновенного исследован комплексно [100, 105, 166, 170, 196]. Имеются данные о различии фитохимического состава листьев *Myrtus communis* в зависимости от ареала произрастания [44, 178, 188, 197]. Российскими исследователями из Республики Крым в листьях мирта обыкновенного выявлено 14 соединений фенольной природы, из них 9 идентифицировано [42, 85]. Кроме того, было проведено компаративное изучение биохимического состава нескольких растений из коллекции Никитского ботанического сада, и по результатам исследования наиболее богатым источником полифенолов оказался мирт обыкновенный (более 1900 мг ГК/100 г сухой массы) [12].

Основу фенольного комплекса мирта обыкновенного составляют фенолкарбоновые кислоты (галловая, эллаговая) и флавоноиды (мирицетин и его гликозиды, катехин и его производные, кверцетин) (табл. 1) [24, 55, 113, 184]. Из группы флавоноидов мирицетин можно отнести к одним из наиболее гидроксированных соединений, а из-за его структурного сходства с кверцетином его также называют гидроксикверцетином [71, 117, 128]. В фитохимическом профиле листьев и водно-этанольного экстракта мирта

обыкновенного доминируют три основных флавоноида: мирицитрин, мирицетин-3-О-α-L-галактозид, (+)D-катехин. Их количественное соотношение в сырье и экстракте мирта сопоставимо: массовая доля (+)D-катехина составляет 29,5% и 30,2%, мирицитрина – 28,2% и 26,2%, мирицетин-3-О-α-L-галактозида – 16,8% и 16,1% соответственно [6, 151]. При этом в процессе экстракции содержание галловой и эллаговой кислот снижается с 5,1% в сухом сырье мирта до 3,3% в экстракте, в то время как суммарная массовая доля флавоноидов возрастает с 84,9% до 87,3% [85].

Таблица 1 – Фенольные соединения листьев *Myrtus communis* [95, 113, 167]

№ п/п	Соединение	Структурная формула	Брутто-формула
Флавоноиды			
1.	Мирицитрин (мирицетин-3-О-α-L-рамнопиранозид)		C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂
2.	Мирицетин (3,5,7,3',4',5'-гексагидроксифлавонон)		C ₁₅ H ₁₀ O ₈
3.	Мирицетин-3-О-α-L-галактозид		C ₂₁ H ₂₀ O ₁₃
4.	Кверцетин		C ₁₅ H ₁₀ O ₇
5.	(+)D-катехин		C ₁₅ H ₁₄ O ₆

Фенолкарбоновые кислоты			
6.	Галловая кислота (3,4,5 – тригидроксibenзойная кислота)		$C_7H_6O_5$
7.	Эллаговая кислота		$C_{14}H_6O_8$

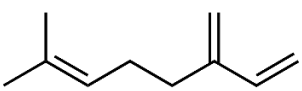
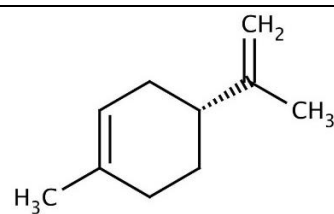
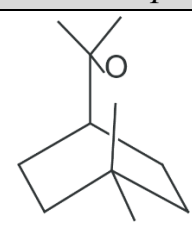
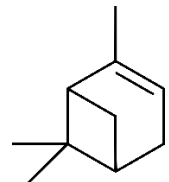
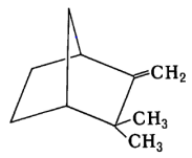
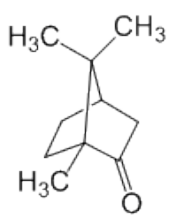
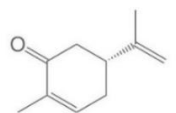
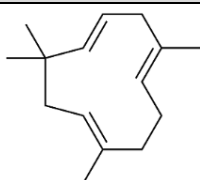
Водно-спиртовое извлечение из листьев мирта 70% характеризуется максимальным уровнем экстракции ключевых фенольных соединений, в том числе мирицитрина [59, 85, 156]. Параллельно данный экстрагент обеспечивает извлечение основных терпеновых компонентов эфирного масла, включая 1,8-цинеол, миртенилацетат и линалоол [7, 34, 78, 188].

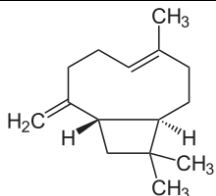
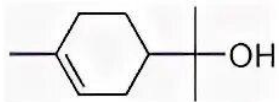
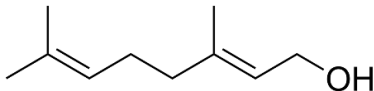
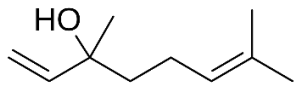
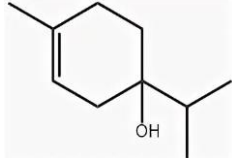
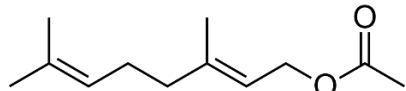
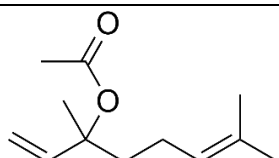
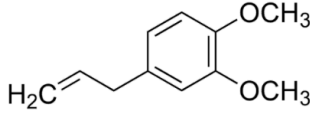
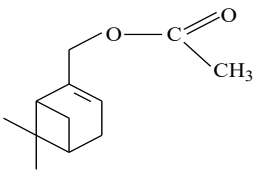
Зарубежными учеными было обнаружено, что фитохимический состав и цветность (желтое или зеленовато-желтое) ЭМ, получаемого из листьев, цветков и ягод *Myrtus communis*, зависит от региона произрастания, месяца заготовки сырья мирта и способа экстракции [20, 44]. Мирт обыкновенный в условиях произрастания сухого субтропического климата, по сравнению с произрастанием во влажных субтропиках, накапливает в листьях в 2 раза большее количество ЭМ [44]. Доминирующими компонентами ЭМ листьев мирта являются α -пинен, 1,8-цинеол (эвкалиптол), лимонен, линалоол, миртенилацетат, гераниол, α -терпинолен [7, 78, 103].

ЭМ мирта обыкновенного получают из высушенных листьев, чаще дистилляцией (перегонкой) с водой или водяным паром (метод 1 или 2 ОФС.1.5.3.0010 «Определение содержания эфирного масла в лекарственном растительном сырье и лекарственных средствах растительного происхождения» ГФ РФ XV изд.), реже - экстракцией органическими растворителями или другими способами выделения [15, 169].

Качественный состав доминирующих компонентов эфирного масла листьев мирта обыкновенного представлен в таблице 2 [7, 19, 78, 92].

Таблица 2 – Терпеновые соединения листьев *Myrtus communis* [95, 113, 167]

№ п/п	Соединение	Структурная формула	Брутто-формула
<i>Ациклические и циклические монотерпены и дитерпены</i>			
1.	β -Мирцен		$C_{10}H_{16}$
2.	D-Лимонен		$C_{10}H_{16}$
<i>Бициклические монотерпены</i>			
3.	1,8-цинеол (эвкалиптол)		$C_{10}H_{18}O$
4.	α -Пинен		$C_{10}H_{16}$
5.	Камфен		$C_{10}H_{16}$
6.	Камфора		$C_{10}H_{16}O$
7.	Карвон		$C_{10}H_{14}O$
<i>Трициклические сесквитерпены</i>			
8.	Гумулен		$C_{15}H_{24}$

9.	Кариофиллен		$C_{15}H_{24}$
<i>Монотерпеновые спирты</i>			
10.	α -Терпинеол		$C_{10}H_{16}O$
11.	Гераниол		$C_{10}H_{18}O$
12.	Линалоол		$C_{10}H_{18}O$
13.	Терпинен-4-ол		$C_{10}H_{18}O$
<i>Сложные эфиры жирных кислот</i>			
14.	Геранилацетат		$C_{12}H_{20}O_2$
15.	Линалилацетат		$C_{12}H_{20}O_2$
16.	Метилэвгенол		$C_{11}H_{14}O_2$
17.	Миртенилацетат		$C_{12}H_{18}O_2$

Отсутствие комплексных данных для дифференциальной диагностики растительного сырья и ЭМ мирта обыкновенного в сравнении с таксонами близкородственных видов представляет собой значимую научную проблему. Для установления достоверных критериев подлинности листьев *Myrtus communis* необходима детальная сравнительная оценка с листьями фармакопейного вида – эвкалипта прутовидного с помощью современных

инструментальных методов анализа. Ключевым аспектом такого сравнения выступает компонентный состав эфирных масел, учитывая, что доминирующим компонентом ЭМ *Eucalyptus viminalis* является 1,8-цинеол (эвкалиптол) [15, 17, 22, 75, 102, 148, 156].

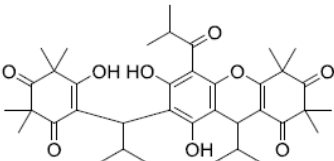
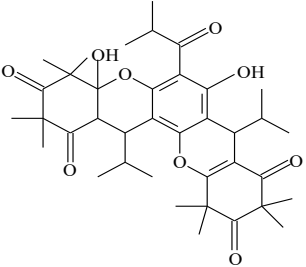
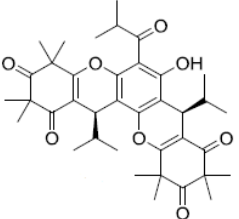
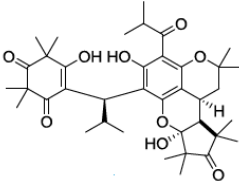
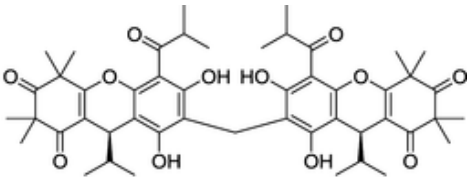
Листья мирта обыкновенного характеризуются наличием комплекса 16 аминокислот с суммарной долей ~12% [4]. Доминирующими аминокислотами в мирте являются глутаминовая (Glu), аспарагиновая (Asp) кислоты, лейцин (Leu), аланин (Ala), Аргинин (Arg), лизин (Lys) и др. [4].

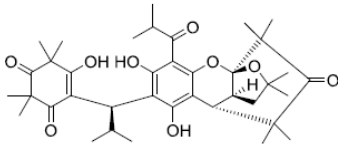
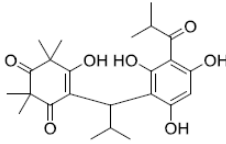
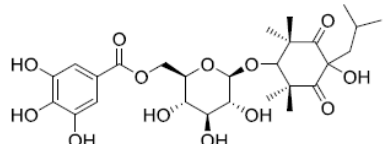
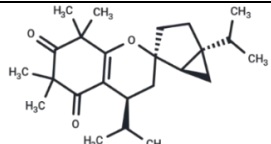
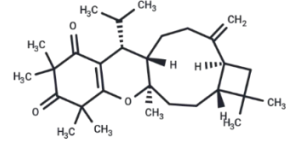
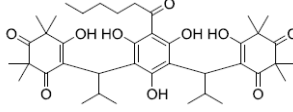
В мирте обыкновенном присутствует диагностически значимая группа БАВ, присущая представителям семейства *Myrtaceae*, называемая флороглюцинами, ацилфлороглюцинами или ацилфлороглюцинолами [81]. Основным структурным элементом в данных соединениях является флороглюцин или 1,3,5-тригидроксибензол [94, 124]. Одними из ярких представителей этой группы являются миртокоммулоны, впервые выделенные именно из *Myrtus communis* и названные соответственно [94, 109]. Миртокоммулоны обнаруживаются исключительно в мирте обыкновенном и еще нескольких видах растений семейства *Myrtaceae* [93]. Данные БАВ относительно недавно привлекли внимание фармакологов своим антимикробным, антипролиферативным, противовоспалительным действием и способностью к ингибированию белков, участвующих в возникновении боли [94, 126, 137, 141, 143, 146, 154, 187]. Несмотря на это, фармацевтическая промышленность неохотно использует данные активные ингредиенты в производстве ЛРП. Вероятно, причиной является, во-первых, неполное знание изомерного состава производных миртокоммулонов, во-вторых, трудности с получением этих БАВ в более крупных промышленных масштабах, в-третьих, затратами и отсутствием гарантий стабильности при их изготовлении [92].

Все идентифицированные на 2026 год миртокоммулоны, содержащиеся в *Myrtus communis*, систематизированы в таблице 3.

Таблица 3 – Миртокоммулоны листьев мирта обыкновенного (*Myrtus communis* Linn.)

№ п/п	Наименование*	Структурная формула	Химическая формула	Номинальная масса (U)	Источники
1.	Миртокоммулон А (<i>Myrtucommulone A</i>)		$C_{38}H_{52}O_{10}$	668,82	[82, 94, 102, 124, 153, 155, 172]
2.	Миртокоммулон В (<i>Myrtucommulone B</i>)		$C_{24}H_{30}O_6$	414,49	[82, 94, 124, 152, 155, 163, 173]
3.	Изомиртокоммулон В (<i>IsoMyrtucommulone B</i>)		$C_{24}H_{30}O_6$	414,498	[81, 94, 155]
4.	Семимиртокоммулон (<i>SemiMyrtucommulone</i>)		$C_{25}H_{34}O_7$	446,23	[81, 94, 124, 141, 155]

5.	Миртокоммулон С (<i>Myrtucommulone C</i>)		$C_{38}H_{50}O_9$	650	[81, 94, 155, 179]
6.	Миртокоммулон D (<i>Myrtucommulone D</i>)		$C_{38}H_{50}O_9$	649,37	[94, 155, 179, 198]
7.	Миртокоммулон E (<i>Myrtucommulone E</i>)		$C_{38}H_{48}O_8$	632,79	[94, 155, 179]
8.	Миртокоммулон J (<i>Myrtucommulone J</i>)		$C_{38}H_{52}O_9$	652,83	[94, 102, 155]
9.	Миртокоммулон M (<i>Myrtucommulone M</i>)		$C_{49}H_{60}O_{12}$	841	[94, 98, 155]

10.	Миртокоммуацеталон (<i>Myrtucommuacetalone</i>)		$C_{38}H_{52}O_9$	652,8	[94, 98]
11.	Нор-семимиртокоммулон (<i>Nor-SemiMyrtucommulone</i>)		$C_{24}H_{32}O_7$	432,21	[94, 141]
12.	Галломиртокоммулон В (<i>Gallomyrtucommulone B</i>)		$C_{25}H_{32}O_6$	428	[94, 107]
13.	Миртокоммулон L (<i>Myrtucommulone L</i>)		$C_{24}H_{36}O_3$	372,549	[96, 102]
14.	Миртокоммулон К (<i>Myrtucommulone K</i>)		$C_{29}H_{44}O_3$	440,7	[102, 118, 132, 155, 191]
15.	Миртокоммулон F (<i>Myrtucommulone F</i>)		$C_{40}H_{56}O_{10}$	696,88	[94, 155]

*Примечание. Соединения перечислены в хронологическом порядке их обнаружения.

Имеются некоторые зарубежные исследования по данной группе БАВ [80, 81, 103, 115, 122, 124, 141, 155, 198]. В 1998 году во Франции был получен европейский патент (EP 1 112 079 B1) на экстракт мирта для наружного применения (*Extrait de Myrte, Procédure de Préparation et Application*) с целью лечения псориаза и гиперкератоза [161]. В составе декларировались миртокоммулоны А и В [163]. На 2026 год данный патент недействителен.

Немецкими исследователями в 2015 году была опубликована кандидатская диссертация по теме синтеза производных миртокоммулонов, в котором были обсуждены возможности получения миртокоммулонов А и В [94]. Итальянскими и немецкими учеными в листьях *Myrtus communis* идентифицированы миртокоммулон А, В и семимиртокоммулон, представляющие собой олигомерные непренилированные ацилфлорглюцинолы [82, 171]. Из листьев мирта, помимо этого, были выделены галлоилалкилфлороглюцинолгликозиды - галломиртокоммулоны А, В, С и D, содержащие синкарпиновую кислоту, которые показали антибактериальную активность в испытаниях [9, 80]. На сегодняшний день актуальной тенденцией у зарубежных ученых является углубленное исследование и изомеризация миртокоммулонов для получения более активных и стабильных изомеров, изменения свойств данных соединений с целью повышения их биологической активности и доступности [94, 191, 192, 198]. В России тема миртокоммулонов остается практически не изученной.

Минеральный состав листьев мирта обыкновенного богат К, Са, Mg, Р, Fe согласно исследованию турецких ученых [159, 194]. Отдельного внимания заслуживает способность данного растения к аккумуляции химических элементов. Исследования, проведенные испанскими учеными, демонстрируют, что *Myrtus communis* может накапливать не только эссенциальные, но и потенциально токсичные элементы (мышьяк, кадмий, медь, цинк), что свидетельствует о его адаптационном потенциале в ответ на экологические и антропогенные факторы [141].

Российскими исследователями установлено наличие 28 микро- и макроэлементов в листьях *Myrtus communis*, таких как Ca, Mg, P, Fe, K, Si, Na, Mn и др. [4, 159]. В водном экстракте из листьев мирта обыкновенного, по результатам экспериментов, оказалось меньше водорастворимых минералов (20,6 г/кг), чем в некоторых других растениях из коллекции Никитского ботанического сада [12]. Ввиду того факта, что нитраты всех металлов растворимы в воде, показана прямая корреляция между уровнем накопления растворимых в воде минералов и установленной относительно низкой концентрацией нитратов в водном извлечении из листьев мирта (0,951^b г/кг), что является важной характеристикой для любого лекарственного растения, используемого чаще всего в виде чайного напитка [12].

1.3.3. Стандартизация листьев мирта обыкновенного

Несмотря на богатый спектр БАВ и доказанную фармакологическую эффективность мирт обыкновенный не включен в ГФ РФ [15]. Данный факт контрастирует с официальным статусом *Myrtus communis* в ряде зарубежных фармакопей, в частности, во Французской фармакопее XI издания (Pharmacopée Française 11^{ème} édition, Ph. Fr. XI) [25], где его применение исторически обосновано и регламентировано. В Европейскую фармакопею 11.3 издания (Ph. Eur. 11.3) мирт обыкновенный не входит, однако упоминается в некоторых национальных стандартах [185]. Хотя отдельной главы на *Myrtus communis* в этих фармакопеях нет, применяются общие требования к ЛРС. В Немецкой фармакопее, известной как DAB 2024 (Deutsches Arzneibuch 2024), ЭМ мирта обыкновенного встречается в травяных стандартах [180, 185]. В Испании и Италии, где мирт широко распространен, листья и плоды входят в локальные травяные сборы и фитопрепараты [177, 185]. Кроме того, сырье *Myrtus communis* используется в аюрведе и традиционной арабской медицине Унани [181].

Анализ имеющихся международных научных публикаций показал в целом отсутствие изученности и проработанности вопросов стандартизации

Myrtus communis, в том числе листьев. Индийскими исследователями в 2022 году опубликована работа по стандартизации плодов мирта обыкновенного, однако по стандартизации листьев мирта нет достоверной научной информации [174]. Проведено достаточно исследований по изучению фитохимического состава листьев *Myrtus communis*, в том числе с методами ГХ-МС, спектрофотометрии, однако нет достаточно данных о методиках количественного анализа с метрологической обработкой [7, 20, 42, 54, 85, 102, 107, 166, 188]. В российской научной базе имеется методика количественного определения суммы флавоноидов (в пересчете на рутин) в листьях *Myrtus communis*, основанная на дифференциальной спектрофотометрии ($\lambda_{\text{макс}}=414$ нм) [34]. Однако необходимо усовершенствование данной методики с уточнением важных диагностически значимых критериев для мирта обыкновенного и последующая валидация оптимизированной методики.

Ключевой недостаток существующей научной базы — отсутствие валидированных методов и неточность критериев стандартизации российского сырья мирта обыкновенного. В рамках диссертационного исследования была поставлена и решена комплексная задача, включающая разработку, валидацию и установление нормативных числовых показателей для методик качественного и количественного анализа листьев мирта. Полученные результаты формируют фундаментальную основу для научного обоснования и практического внедрения нового вида ЛРС «Мирта обыкновенного листа» в отечественную фармакопейную практику.

1.3.4. Современные данные о фармакологической активности и терапевтическом потенциале листьев мирта обыкновенного

Мирт обыкновенный представляет собой эндемичный элемент средиземноморской флоры, использование которого в терапевтических и пищевых целях уходит корнями в глубокую древность, что прежде всего отразилось в его применении в качестве природного антисептика [114, 144].

В зарубежных источниках сообщается о противоишемическом, антиоксидантном, антипролиферативном, противовоспалительном, гипогликемическом, противовирусном, анальгетическом, нейропротективном, антимуtagenном, антипаразитарном, инсектицидном, противомаларийном, противотревожном, кардиопротекторном, фотопротективном, гемостатическом, регенерирующем действии экстрактов и ЭМ *Myrtus communis* [62, 77, 104, 110, 123, 134, 145, 146, 175, 195]. Выявлены ключевые факторы, определяющие их бактериостатический эффект [157, 182].

Международные исследования *in vitro* показали антимикробную и АО эффективность экстрактов и ЭМ листьев *Myrtus communis* [76, 78, 79, 86, 89, 98, 106, 118, 134], в том числе, в сравнительных исследованиях превосходящие экстракты эвкалипта [156]. Однако выход и биологическая активность БАВ мирта существенно зависят от концентрации экстрагента. Среди природных соединений полифенолы считаются наиболее мощными антиоксидантами [31]. Как вторичные метаболиты, эти соединения участвуют в ингибировании канцерогенеза на стадиях инициации и развития раковых клеток, что определяет особую значимость содержания полифенолов в сырье [18, 196].

Российскими учеными было проведено компаративное изучение биохимического состава нескольких растений из коллекции Никитского ботанического сада. Наиболее богатым источником полифенолов оказался *Myrtus communis* (>1900 мг ГК/100 г) [12]. Для листьев мирта уровень антиоксидантов в водно-спиртовом извлечении определялся в 1,5 раза выше, чем в водном [12]. Наибольшая АОА характерна именно для листьев *Myrtus communis*, что коррелирует с максимальной концентрацией в них суммарных фенольных соединений по сравнению с другими органами растения [6, 196].

Была проведена оценка *in vivo* АОА и «острой токсичности» методом «Up and Down» водно-спиртового извлечения 70% (1:5) и сиропа 5% из крымского сырья мирта обыкновенного на модели необратимой фокальной ишемии головного мозга [2]. По результатам исследований экстракт и сироп мирта низкотоксичны (V класс токсичности системы GHS). Извлечение мирта

70% было сопоставимо по степени АОА с контрольным образцом – стандартизованным экстрактом *Ginkgo biloba* (производитель IPSEN, Франция) в дозе 35 мг/кг. Сироп из листьев *M. communis* по степени влияния на изменение активности ферментов эндогенной антиоксидантной защиты и концентрации продуктов свободно радикальных реакций окисления превосходил экстракт гинкго и экстракт из листьев *M. communis* [2].

Комплекс фенольных соединений, идентифицированный в этанольных экстрактах листьев *M. communis*, определяет их широкий спектр биологической активности, включающий антимикробные, противогрибковые, антиоксидантные и другие эффекты [75, 76, 126, 131, 139, 149, 150]. Доказано, что гликозиды мирицетина *M. communis* обладают ингибирующей активностью в отношении цитохромов CUR2S9, SURZA4 и проявляют АОА, превосходящую витамины С и Е [85, 103]. Мирицитрин проявляет комплексную нейротропную активность, выступая ингибитором оксида азота и протеинкиназы С [117]. Это определяет его доказанный анксиолитический и антипсихотический эффект на животных моделях тревоги и психоза [117], а также антиноцицептивное действие в моделях острой и хронической боли [94]. Некоторые исследователи установили взаимосвязь между АОА *M. communis* и его потенциалом в качестве химиопротекторного средства [85]. В этих зарубежных исследованиях водный экстракт мирта продемонстрировал высокую АОА по всем протестированным экспериментальным протоколам (DPPH, ABTS+, galvinoxyl, FRAP) при относительно низких концентрациях общего количества фенолов и флавоноидов, что свидетельствует об АОА фенольных соединений экстракта мирта [103, 190]. Экстракт мирта вызывает некроз провоспалительных клеток вместо индукции апоптоза [85, 137].

Особый научный интерес в ряду диагностически значимых соединений мирта обыкновенного представляют миртокоммулоны — специфические производные флороглюцина [126, 141]. Исследования полярной гликозидной фракции листьев *Myrtus communis* проводились итальянскими учеными, где были выявлены четыре галлоилированных непренилированных гликозида

флороглюцина (А, В, С, D), родственных эндопероксидному гормону G3 [94, 154]. Антибактериальную активность проявил только галломиртокоммулон В [154]. Согласно литературным данным, БАС *Myrtus communis* проявляют избирательную активность, демонстрируя низкую эффективность в отношении грамотрицательных микроорганизмов [17]. К числу наиболее изученных соединений относится миртокоммулон А, первоначально выделенный и идентифицированный израильскими учеными в 1974 году [124], которому приписывается выраженное антибактериальное действие, направленное преимущественно против грамположительных бактерий [192]. Были продемонстрированы его цитотоксические эффекты в отношении раковых клеток [192]. Миртокоммулон А индуцировал внутренний путь апоптоза посредством прямого воздействия на митохондрии и взаимодействия с HSP60 [187]. Недавние исследования показали, что миртокоммулон А подавляет биосинтез эйкозаноидов путем ингибирования 5-липоксигеназы и циклооксигеназы-1 *in vitro*. Данное БАВ ингибирует высвобождение эластазы и образование активных форм кислорода в активированных полиморфноядерных лейкоцитах [183]. Миртокоммулон А показал способность подавлять типичные провоспалительные клеточные реакции *in vitro* и на моделях воспаления *in vivo* [171], уменьшая развитие отека лап у мышей в зависимости от дозы и оказывая противовоспалительное действие на модели плеврита. Результаты показали, что миртокоммулон А оказывает мощное противовоспалительное действие *in vivo* и предлагает новый терапевтический подход к лечению острого воспаления [171].

Таким образом, мирт обыкновенный является перспективным источником ЛРС. Дальнейшее изучение его экстрактов и индивидуальных соединений, особенно из российского сырья, открывает путь к созданию инновационных фитопрепаратов с поливалентной фармакологической активностью (антимикробной, антиоксидантной, антипролиферативной, гипогликемической и др.) для расширения терапевтического арсенала в моно- и комбинированной терапии ряда патологий в современной медицине.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ I

1. Результаты исследований международной научной литературы доказывают фитохимическую и фармакологическую ценность листьев мирта обыкновенного, соответственно имеется необходимость дальнейшего изучения листьев и эфирного масла данного растения в качестве потенциального нового вида ЛРС на территории России.
2. Листья мирта обыкновенного характеризуются уникальным фитохимическим составом с преобладанием соединений фенольной природы. Основными группами биологически активных веществ выступают флавоноиды, терпеноиды, миртокоммулоны, фенолокислоты, аминокислоты и др. Миртокоммулоны остаются наименее изученной группой БАС на территории РФ.
3. В зарубежной литературе описаны результаты исследований по антимикробному, антиоксидантному, гипогликемическому, противовирусному, противовоспалительному, антипролиферативному, фотопротективному, регенерирующему и другим действиям экстракционных препаратов и эфирного масла листьев *Myrtus communis*.
4. В Российской Федерации имеется устойчивая сырьевая база мирта обыкновенного, обеспеченная возможностями его интродукции и промышленного культивирования в субтропических регионах Краснодарского края, Черноморского побережья Кавказа, Южного побережья Республики Крым.
5. Обобщено научное обоснование для разработки проекта фармакопейной статьи на новый вид лекарственного растительного сырья «Мирта обыкновенного листа». Данное обоснование создает нормативно-правовые предпосылки для официального применения данного ЛРС и препаратов на его основе в фармацевтическом производстве и клинической практике, в том числе служит фундаментом для дальнейших научных исследований в области ботаники и фармакогнозии представителей семейства *Myrtaceae*.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объекты и материалы исследования

В исследовании были изучены объекты, перечисленные в таблице 4.

Таблица 4 – Объекты диссертационного исследования

№ п/п	Наименование	Происхождение, характеристика
1.	Листья мирта обыкновенного	Коллекция Никитского ботанического сада (г. Ялта, Республика Крым, Россия). Заготовленные по стандартной методике в период оптимального накопления БАС – во время массового цветения растения в течение трех вегетационных сезонов (июнь–июль 2021–2023 гг.)
2.	Листья мирта обыкновенного	г. Уэ-Риу, провинция Релизан, Алжир. Заготовленные во время массового цветения растения (июнь 2023 г.)
3.	Эфирное масло листьев мирта обыкновенного	Полученное из российского сырья
4.	Эфирное масло листьев мирта обыкновенного	Полученное из алжирского сырья
5.	Эфирное масло мирта обыкновенного	Промышленный образец, производитель г. Подольск, Россия
6.	Водно-спиртовые извлечения из листьев мирта обыкновенного	Полученные из российского сырья, концентрации 40%, 60%, 70%, 80%, 96% (1:5, 1:30)
7.	Настойка листьев мирта обыкновенного	Полученная из российского сырья 70% (1:5)
8.	Густой экстракт из листьев мирта обыкновенного	Полученный из российского сырья
9.	Настой листьев мирта обыкновенного	Полученный из российского сырья (1:10)
10.	Индивидуальные соединения: мирицитрин, мирицетин, миртокоммулон D, галловая кислота	Выделенные из российского сырья мирта обыкновенного. Спиртовые растворы 70%, 96%. БАС имели химическую чистоту не менее 98%, подтвержденную методом ВЭЖХ

Идентификация вида *Myrtus communis* проводилась на основании данных стандартных определителей и верифицирована сравнением с гербарными образцами из гербарного фонда Никитского ботанического сада [9, 58, 65].

Модифицированным методом дробной мацерации в соответствии с требованиями ОФС.1.4.1.0019 «Настойки» ГФ РФ XV изд. [15] была получена 70% настойка из листьев мирта обыкновенного (см. раздел 2.2.5. *Технологические методы*). Используемая 70% концентрация этилового спирта является оптимальной для получения настойки листьев мирта обыкновенного, которая обеспечивает максимальный выход мирицитрина по сравнению с другими концентрациями этанола [34, 85]. Этанол 70% концентрации имеет высокую экстракционную способность в отношении флавоноидов, обусловленную оптимальным балансом полярности для проникновения через клеточные мембраны [33, 36, 172]. Помимо фенольных соединений, этот экстрагент эффективно извлекает и терпеноидные компоненты сырья мирта обыкновенного, формируя поликомпонентный состав извлечения [8, 85].

Получение густого экстракта осуществляли упариванием на водяной бане настойки листьев мирта обыкновенного (1:5) по методике, регламентированной ОФС.1.4.1.0021 ГФ РФ XV изд. [15].

Настой листьев мирта обыкновенного готовили в соответствии с требованиями ОФС.1.4.1.0018 «Настои и отвары» ГФ РФ XV изд. в стандартном соотношении сырья и экстрагента 1:10 [15]. Срок годности полученного извлечения в условиях эксперимента составлял 48 часов.

В качестве контрольных препаратов и получения необходимой концентрации экстрагента использовали серию разведений этанола (40%, 60%, 70%, 80%, 96%), приготовленных из 96% этанола в соответствии с алкоголетрической таблицей №1 Приложения к ГФ РФ XV изд. [15].

В исследованиях применялась очищенная вода, полученная на установке с многоступенчатой системой очистки (адсорбция → обратный осмос → мембранная фильтрация). Отсутствие примесей, влияющих на результаты, было верифицировано хроматографически.

Объектом сравнения в компаративных экспериментах служил эвкалипт прутовидный (*Eucalyptus viminalis* L.). Эвкалипт прутовидный является фармакопейным растением в РФ с доказанным антимикробным и противовоспалительным действием [15, 22, 148, 156]. Данное растение рассматривалось нами в качестве близкородственного, возможного примесного к мирту вида семейства *Myrtaceae* с целью выявления морфолого-анатомических, фитохимических, биологических различий.

Листья эвкалипта прутовидного были заготовлены по стандартной методе в Республике Абхазия в июне 2023 г. Видовую специфичность листьев эвкалипта прутовидного подтверждали при помощи определителей [9, 58, 65].

Объектами сравнения в диссертационной работе являлись:

1. Стандартные образцы (спиртовые растворы 70%, 96%): *мирицитрин* (CAS Number: 17912-87-7, $\geq 99\%$, MERCK), *мирицетин* ($\geq 99\%$, ФГБОУ ВО СамГМУ), *эувималь-1* ($\geq 95\%$, ФГБНУ ВИЛАР), *1,8-цинеол (эвкалиптол)* ($\geq 95\%$, ФГБНУ ВИЛАР), *галловая кислота* ($\geq 98\%$, ФГБНУ ВИЛАР), *аскорбиновая кислота* (CAS Number; 50-81-7, $\geq 99\%$, MERCK). Чистота стандартных образцов была проверена и подтверждена методом ВЭЖХ.
2. Настойка эвкалипта прутовидного (промышленный образец, РФ).
3. Настойка листьев эвкалипта прутовидного 70% (1:5) (Абхазия).
4. Эфирное масло эвкалипта прутовидного (промышленный образец, РФ).
5. Эфирное масло листьев эвкалипта прутовидного (Абхазия).

Эфирные масла из листьев мирта обыкновенного и эвкалипта прутовидного получали методом перегонки с водяным паром (методика Клевенджера) в соответствии с требованием ОФС.1.5.3.0010.15 «Определение содержания эфирного масла в лекарственном растительном сырье и лекарственных средствах растительного происхождения» ГФ РФ XV изд. [15].

Комплекс оборудования и расходных материалов, применявшихся в экспериментальной части исследования, приведен в таблице 1 Приложения №1. Реактивы и сорбенты систематизированы в таблице 5. Используемое программное обеспечение перечислено в таблице 2 Приложения №1.

Таблица 5 – Химические реактивы и хроматографические сорбенты

№ п/п	Наименование	Производитель
1.	Спирт этиловый C ₂ H ₆ O (96%) (х.ч.)	«Гиппократ», Россия
2.	Хлороформ CHCl ₃ (хч). СТП ТУ СОМР 2-028-06	«Компонент-Реактив», Россия
3.	Гексан C ₆ H ₁₄ (Сорт 2, хч). ТУ 2631-001-54260861-2013	«Криохром», Россия
4.	Ацетон C ₃ H ₆ O (ч.д.а.). ГОСТ 2603-79	«Компонент-Реактив», Россия
5.	Бутанол-1 C ₄ H ₁₀ O (хч). СТП ТУ КОМП 2-021-491-12	«Компонент-Реактив», Россия
6.	Ацетонитрил C ₂ H ₃ N (Сорт 0, осч). ТУ 2634-002-54260861-2013	«Криохром», Россия
7.	Кислота уксусная ледяная CH ₃ COOH (х.ч.). ГОСТ 61-75	«Компонент-Реактив», Россия
8.	Хлористоводородная кислота HCl (х.ч.). ГОСТ 61-75	«База №1 Химреактивов», Россия
9.	Серная кислота H ₂ SO ₄ (хч). ГОСТ 4204-77	«Сигма Тек», Россия
10.	Ортофосфорная кислота H ₃ PO ₄ (ч.). ГОСТ 6552-80	«Химреактив», Россия
11.	Трихлорметан CHCl ₃ (хч). СТП ТУ СОМР 2-028-06	«Компонент-Реактив», Россия
12.	Сорбенты для колоночной хроматографии: Силикагель КСК, фракционный состав 50/100 мкм. ТУ 6-09-39-23-86; Полиамид (for column chromatography), фракционный состав 50/160 мкм; Сефадекс LH-20.	ООО «ИМИД», Россия

Поиск научной литературы проводился в базах данных интернет-источников КиберЛенинка [24], Biodiversity Heritage Library [90], ChEMBL [95], ChemSpider [96], Cochrane Library [184], eLIBRARY [55], Google Scholar [113], PubChem [167], PubMed [168], Research Gate [170], ScienceDirect [177], SpringerLink [180].

Скрининг официальных данных о растительном сырье мирта обыкновенного проводился в ГФ РФ XV изд. [15], Французской фармакопее [25], Европейской фармакопее [185]. Методология информационного поиска

базировалась на использовании авторитетных официальных источников: Государственного реестра ЛС [16], реестра Роспотребнадзора [57], реестра Росстандарта [13, 14], базы данных FDA [108]. Поиск осуществлялся по ключевым словам, соответствующим систематическим названиям объектов на русском, английском, французском, арабском и латинском языках. Селекция источников для аналитического обзора осуществлялась на основе наличия в них релевантных данных, включая информацию об ареале произрастания, морфолого-анатомическом строении, компонентном составе, аналитических подходах, спектре биологической активности и прочих значимых результатах российских и зарубежных исследований.

2.2. Методы исследования

Решение задач настоящего исследования осуществлялось с применением комплекса современных аналитических методик. Методологическую основу составили микроскопический анализ, хроматографические методы (тонкослойная и высокоэффективная жидкостная хроматография), спектральные методы (спектрофотометрия в УФ-области, ядерная магнитная резонансная и масс-спектрометрия), хромато-масс-спектрометрия, колориметрия, флуориметрия и др. Был проведен широкий спектр исследований биологической активности изучаемых объектов *in silico*, *in vivo*, *in vitro*.

2.2.1. Методы микроскопического исследования

В рамках диссертационной работы проводили исследования микропрепаратов из высушенных листьев мирта обыкновенного. Препаративную подготовку листьев мирта обыкновенного осуществляли в соответствии с методикой оптической микроскопии по ОФС.1.2.1.0009 [15]. Для морфолого-анатомического и гистохимического исследования образцы сырья фиксировали смесью из очищенного глицерина, этилового спирта и дистиллированной воды в объемном соотношении 1:1:1. Анализ проводили в соответствии с методикой, изложенной в ОФС.1.5.1.0003 «Листья» [15].

Предварительная органолептическая оценка включала определение цветовых характеристик, размеров, запаха и вкуса, а также визуальный осмотр под лупой (увеличение 10×). Анатомио-гистологическое исследование микропрепаратов выполняли с использованием микроскопов:

- Zeiss Primo Star и Motic DM-39C-N9GO-A (наблюдение в поляризованном и проходящем свете);
- люминесцентного микроскопа Альтами ЛЮМ-2 (табл. 1 Приложения №1).

Для идентификации диагностически значимых структур растительных тканей *Myrtus* использовали комплекс стандартных гистохимических методов:

1. Выявление *лигнина* проводили путем обработки срезов *10% раствором сульфата анилина*. Положительная реакция, характеризующаяся появлением желтого окрашивания, свидетельствовала о лигнификации клеточных стенок [13, 15, 30, 66].

2. Детекция *кутина* осуществлялась с помощью спиртового раствора красителя *Судан III*. Специфическое розовое окрашивание кутинизированных клеток эпидермы подтверждало наличие данного полиэфира [13, 15, 36, 66].

Метод люминесцентной микроскопии был применен на всех этапах анатомической диагностики растительного сырья мирта обыкновенного и его БАВ, что обусловлено его регламентацией в ОФС.1.5.3.0003 «Микроскопический и микрохимический анализ лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения» ГФ РФ XV изд. [15]. Ключевым преимуществом данного метода является возможность исследования сухого образца путем приготовления толстых срезов или микропрепаратов порошка без необходимости сложной пробоподготовки, что сохраняет нативные свойства материала.

Цвета наблюдаемых компонентов микропрепаратов и их свечения определились субъективно и с помощью стандартной шкалы Web-цветов библиотеки цветности Pantone+Solid Coated по классификации цветов Pantone Matching System (PMS) [161].

2.2.2. Методы качественного химического исследования

Качественное определение ведущих групп БАВ в растительном сырье и экстрактах *Myrtus communis* проводили в рамках фитохимического скрининга, основанного на классических пробирочных реакциях. Применяли специфические реакции с растворами ванилина в кислоте, хлорида алюминия и диазотированной сульфаниловой кислоты, включая реакцию с хлоридом сурьмы. Для подтверждения и уточнения химической природы соединений дополнительно использовали цианидиновую пробу (по Брианту), реакцию Вильсона и процедуру кислотного гидролиза [29, 33, 36].

2.2.3. Методы хроматографического исследования

Тонкослойная хроматография

Качественный анализ химического состава водно-спиртовых извлечений и экстракционных препаратов листьев *Myrtus communis* проводили методом тонкослойной хроматографии (ТСХ).

Хроматографический анализ выполняли на пластинках марки «Sorbfil». Для удаления остаточной влаги сорбент активировали путем термостатирования в сушильном шкафу при температуре 110°C.

В качестве ПФ служили системы растворителей:

- бинарные: хлороформ – этанол 96% в объемных соотношениях 4:1, 6:1, 9:1;
- тернарные: хлороформ – этанол 96% – вода дистиллированная в объемных соотношениях 25:18:2, 4:1:2.

Подвижную фазу готовили не менее чем за 48 ч до анализа для достижения хроматографического равновесия в системе. Пробы исследуемых образцов и растворов референс-субстанций наносили микрокапиллярами на линию старта, выдерживая расстояние между точками нанесения ≥ 1 см. Хроматографирование проводили восходящим способом в хроматографических камерах, предварительно насыщенных парами ПФ, при комнатной температуре. Пластинки извлекали из камер после прохождения фронтом элюента расстояния 8 см (~90%) от длины пластины.

Детекцию хроматографических зон выполняли систематично:

1. Визуальное наблюдение в дневном свете и УФ-спектроскопии при длинах волн 254 нм и 365 нм.
2. Последовательная обработка хроматограмм для детекции фенольных соединений (в частности, флавоноидов) с помощью проявителей: 3% спиртовой раствор хлорида алюминия ($AlCl_3$); щелочной раствор ДСК.

Адсорбционная колоночная хроматография

Для анализа фитохимического состава листьев мирта обыкновенного применяли метод адсорбционной колоночной хроматографии. Разделение проводили на стеклянной колонке, заполненной сорбентом (силикагель КСК 50/100, фракция 50–100 мкм) высотой 6 см и диаметром 8 см. В качестве ПФ использовали индивидуальные растворители (хлороформ, 96% этанол, дистиллированная вода) и их бинарные смеси (этанол-хлороформ) в различном градиентном режиме.

Полученные в результате хроматографического разделения фракции дополнительно очищали с помощью перекристаллизации и препаративной хроматографии на сорбентах различной природы: силикагель КСК 50/100, полиамид и сефадекс LH-20.

Газовая хромато-масс-спектрометрия

Компонентный состав эфирных масел исследуемых образцов мирта обыкновенного и образцов сравнения определяли методом газовой хроматографии с масс-спектрометрической детекцией в соответствии с методикой [15]. Эксперименты проводили на хромато-масс-спектрометрической системе, включающей газовый хроматограф «МАЭСТРО 7820» с масс-селективным детектором Agilent 5975 и автоинжектором.

Хроматографическое разделение осуществляли на кварцевой капиллярной колонке HP-5ms (30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм) со стационарной фазой на основе 5%-дифенил-95%-диметилсилоксана. Основные параметры хроматографирования:

- Газ-носитель: гелий, скорость потока 1 мл/мин.

- Программирование температуры термостата колонок: изотерма 40°C в течение 5 мин – нагрев до 80°C со скоростью 3°C/мин – нагрев до 180°C со скоростью 4°C/мин – нагрев до 280°C со скоростью 8°C/мин – изотерма 280°C в течение 10 мин.
- Температура испарителя 270°C; температура источника ионов 150°C.
- Температура квадруполя 230°C; температура переходной камеры 280°C.
- Объем вводимой жидкой пробы 1 мкл.

Идентификацию компонентов выполняли на основании сравнения экспериментально полученных линейных индексов удерживания и полных масс-спектров с эталонными данными коммерческой библиотеки масс-спектров NIST 2.0 и литературными источниками. Для анализа учитывали соединения с вероятностью совпадения спектра не менее 90%.

Количественный анализ проводили методом внутренней нормализации, вычисляя массовую долю (%) каждого компонента от общего хроматографируемого состава по площадям соответствующих пиков на хроматограмме по полному ионному току. Для каждого образца проводили по три измерения, результаты представлены как среднее арифметическое.

2.2.4. Методы спектрального исследования

Дифференциальная и прямая УФ-спектрофотометрия

Методика дифференциальной спектрофотометрии в ультрафиолетовой и видимой областях основана на реакции комплексообразования анализируемых соединений мирта обыкновенного с 3% спиртовым раствором хлорида алюминия (III). Спектральные измерения выполнены на спектрофотометрах СФ-2000 и Specord-40 в диапазоне длин волн 190–500 нм с использованием кювет с толщиной поглощающего слоя 10 мм. Регистрацию аналитического сигнала проводили как в прямом, так и в дифференциальном режиме. Полученные спектрофотометрические данные подвергали математической обработке с применением стандартного приборного программного обеспечения и статистических программ [11, 15, 60, 61].

ЯМР-спектроскопия и масс-спектрометрия

Спектры ¹H ЯМР регистрировали на спектрометре «JNM-ECX 400» при рабочей частоте 399,78 МГц. Спектры ¹³C ЯМР получали на том же приборе при частоте 100,52 МГц. Масс-спектры снимали методом хромато-масс-спектрометрии с электрораспылительной ионизацией высокого разрешения (HR-ESI-MS) на приборах «EXPEC L-Chrom MS WR» и «Bruker micrOTOF II» в следующих условиях: режим регистрации положительных ионов (напряжение на капилляре 4500 В), газ-распылитель – азот (расход 4 л/мин), ввод пробы – шприцевой в метанольном растворе (скорость потока 3 мкл/мин), температура интерфейса 180°C, диапазон регистрации масс 50–3000 m/z. Температуру плавления определяли на микротермическом блоке Кофлера.

2.2.5. Технологические методы

Технология получения настойки из листьев мирта обыкновенного модифицированным методом дробной мацерации включала предварительное замачивание 300 г измельченных до размера 2 мм листьев мирта двумя объемами экстрагента (70% этанол) общим объемом 1,5 л с последующей трехкратной экстракцией при комнатной температуре в статических условиях [15]. Завершающим этапом процесса являлась термическая стадия (~80°C, 30 мин) для интенсификации извлечения индивидуальных веществ. Соотношение «сырье : экстрагент» на стадии основной мацерации составляло 1:5. Полученное извлечение подвергали стадиям очистки и стабилизации: отстаиванию в течение 48 часов при температуре +10°C в условиях светомаскировки с последующей фильтрацией через обеззоленный фильтр («Красная лента») [15]. Полученная настойка была расфасована во флаконы из темного стекла вместимостью 0,5 л, укупорена полиэтиленовыми пробками с навинчивающимися крышками и маркирована [15].

2.2.6. Методы фармакологического скрининга

Скрининг антимикробного и фунгицидного действия водно-спиртовых извлечений и индивидуальных соединений из листьев мирта обыкновенного

Экспериментальная часть работы включала изучение экстракционных препаратов, полученных из листьев мирта обыкновенного. Использовали настой и извлечения на этаноле с варьированием концентрации спирта (40%, 70%, 80%, 96%) при соотношении «сырье:экстрагент» 1:30, а также настойку листьев мирта обыкновенного, стандартизованную по ГФ РФ XV изд. (70% этанол, соотношение «сырье:экстрагент» 1:5) [15].

Для определения бактериостатической активности исследуемых объектов, препаратов контроля и сравнения в качестве тестовых культур были взяты штаммы Американской коллекции типовых культур (микроорганизмов): *Bacillus cereus* (ATCC 14579), *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603), *Candida albicans* (ATCC 90028), *Candida albicans* (клинический штамм), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Acinetobacter baumannii* (ATCC 17978), *Escherichia coli* (ATCC 35218). Некоторые штаммы микроорганизмов, такие как *Candida albicans* (клинический штамм), *Pseudomonas aeruginosa* (штамм 1), *Pseudomonas aeruginosa* (штамм 2 мукоидный), *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cenocepacia* и *Chryseobacterium indologenes* были выделены из мокроты от пациентов с бронхолегочной патологией в структурном подразделении микробиологического отдела клинико-диагностической лаборатории Клиник СамГМУ в соответствии с заключением комитета по биоэтике при ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» МЗ РФ (выписка из протокола № 204 от 11.12.2019 года). Пациенты проходили микробиологическое обследование в амбулаторных условиях в соответствии с актуальными Национальными клиническими рекомендациями РФ «Кистозный фиброз (Муковисцидоз)».

Используя метод двойных серийных разведений в питательном бульоне Мюллера-Хинтона (Bio-Rad, США) в соответствии с ГОСТ Р ИСО 20776-1-2022 проводился эксперимент на определение МИК исследуемых образцов

(пробирочный, макрометод) [14]. Оценку результатов проводили визуально по наличию либо отсутствию роста штамма микроорганизмов в пробирках с соответствующими разведениями исследуемых образцов. В качестве контрольного препарата выступал этиловый спирт (70%, 96%), а препаратом сравнения с установленной антимикробной активностью являлась настойка эвкалипта прутовидного [15, 148]. Описание методик со стадиями проведения анализа представлено в Приложении №7 в таблицах 4 и 5.

Нейротропная активность мирицитрина и густого экстракта из листьев мирта обыкновенного

Экспериментальное изучение нейротропной активности мирицитрина и густого экстракта из листьев мирта обыкновенного было выполнено на кафедре фармакологии имени з.д.н. РФ профессора А.А. Лебедева СамГМУ.

Исследование нейротропной активности ГЭ из листьев мирта обыкновенного (доза 10,0 мг/кг) и мирицитрина (дозы 0,5, 1,0 и 5,0 мг/кг) проводили с использованием теста принудительного плавания (теста Порсолта) [67] на взрослых белых беспородных крысах обоего пола, случайно разделенных на основную и контрольную группы по 10 особей. Исследуемое вещество и ГЭ листьев *M. communis* вводили однократно внутривентрикулярно через зонд на фоне 1% водной нагрузки. Поведенческое тестирование (тест Порсолта) выполняли через 2 часа после введения мирицитрина и ГЭ из листьев мирта обыкновенного. В течение 5 минут регистрировали индивидуальное время активных попыток крыс выбраться из воды [67].

Диуретическая активность густого экстракта из листьев мирта обыкновенного

Экспериментальная часть работы по изучению диуретической активности ГЭ из листьев мирта обыкновенного была выполнена на базе кафедры фармакологии имени з.д.н. РФ профессора А.А. Лебедева СамГМУ.

Оценка диуретической активности ГЭ из листьев мирта обыкновенного проводилась в ходе эксперимента на половозрелых беспородных белых крысах обоего пола. Животные были разделены на опытную и контрольную

группы методом рандомизации (n=10 в каждой). За 24 часа до начала исследования крысам осуществляли стандартную водную нагрузку (3% от массы тела) путем внутрижелудочного введения. Содержание крыс осуществляли в условиях вивария со свободным доступом к воде и стандартным рационом. В день эксперимента крысам контрольной группы повторно вводили 3% водную нагрузку. Животным опытной группы на фоне аналогичной водной нагрузки внутрижелудочно вводили исследуемый ГЭ из листьев *Myrtus communis* в дозе 10,0 мг/кг. Для количественной оценки диуретического эффекта сразу после введения препарата животных помещали в индивидуальные метаболические клетки на 24 часа. Сбор мочи проводили фракционно: за первые 4 часа эксперимента и за последующие 20 часов, что в совокупности составило полные сутки наблюдения. Определялся диурез, регистрировался креатининурез методом колориметрии на КФК-3.

Антиоксидантная активность настойки и биологически активных соединений из листьев мирта обыкновенного

Оценка общей антиоксидантной активности настойки российского сырья мирта обыкновенного и индивидуальных БАС (мирицитрин, мирицетин, миртокоммулон D, галловая кислота), выделенных из него, проводилась методом FRAP.

Метод FRAP позволяет провести прямое определение суммарной АОО исследуемых объектов по восстановлению ими железа [88]. В методе FRAP вводят в избытке ионы Fe³⁺ и фотометрический реагент – трипиридилтриазин, 1,10-фенантролин, 2,2'-дипиридил и др. Под действием антиоксидантов образуется интенсивно окрашенный комплекс железа (II) с реагентом. При низких значениях рН восстановление трипиридилтриазинового комплекса Fe (III) в комплекс с Fe (II) сопровождается появлением интенсивной голубой окраски. Измерения основаны на способности антиоксиданта подавлять окислительный эффект реакционных частиц, генерируемых в реакционной смеси. Окраска развивается медленно, поэтому аналитический сигнал измеряют через 5 мин после смешивания реагентов, не дожидаясь

установления равновесия. Общую АОА находят по градуировочному графику, предварительно построенному по растворам стандартного вещества (аскорбиновой кислоты) [88]. Аскорбиновая кислота выбрана в качестве стандарта для FRAP так как имеет постоянный стехиометрический фактор 2,0, то есть прямая реакция Fe (II) дает изменение поглощения в два раза меньше, чем эквивалентная молярная концентрация аскорбиновой кислоты. Стандарт аскорбиновой кислоты 1000 μM , таким образом, эквивалентен 2000 μM антиоксидантной силы в виде силы FRAP [88].

2.2.7. Метрологическая обработка результатов

Статистическую обработку данных проводили в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0013.15 ГФ РФ [15] с использованием программного обеспечения STATISTICA 8.0 и ChemMetr 1.0 [11]. Для всех количественных результатов определяли основные параметры описательной статистики: среднее арифметическое (\bar{X}), стандартное отклонение (S) и доверительный интервал (ΔX) при заданном уровне вероятности. Однородность выборок оценивали с применением стандартных критериев.

Валидация разработанных аналитических методик выполнена по ключевым параметрам (специфичность, линейность, правильность) в соответствии с руководством ОФС.1.1.0012.15 ГФ РФ XV изд. [15].

Результаты изучения нейротропной активности подвергали непараметрической статистической обработке с использованием U-критерия Манна-Уитни [10].

Таким образом, комплексный дизайн проведенного фармакогностического исследования листьев мирта обыкновенного (*Myrtus communis* L.) (рис. 5) включал как подробное изучение самих листьев и водно-спиртовых экстракционных препаратов из них, так и углубленное изучение вторичных метаболитов изучаемого растения.



Рисунок 5 – Дизайн проведения фармакогностического исследования листьев мирта обыкновенного (*Myrtus communis* L.)

ГЛАВА 3. МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИСТЬЕВ МИРТА ОБЫКНОВЕННОГО (*MYRTUS COMMUNIS* L.)

Согласно российским и зарубежным научным источникам, описаны морфолого-анатомические и гистохимические признаки листьев и порошка листьев *Myrtus communis*, в том числе сравнительный анализ листовых пластинок мирта обыкновенного и эвкалипта прутовидного [7, 96]. Хотя морфолого-анатомические, включая петиолярные, признаки листьев мирта обыкновенного описаны в литературе [1, 21, 59, 68-70, 96], существующие исследования обладают рядом методологических ограничений. В них не применялись современные методы люминесцентной и поляризационной микроскопии для анализа тканей черешка, листовой пластинки, порошка и локализации БАВ в тканях листа. Использование люминесценции позволило бы значительно повысить специфичность диагностики листьев мирта обыкновенного. Кроме того, имеющиеся описания зачастую не соответствуют актуальным требованиям раздела «Микроскопические признаки» ГФ РФ XV изд., регламентирующего обязательное включение детальных анатомических характеристик черешка листа с учетом люминесцентной микроскопии в проект ФС [15]. Данное требование основано на высокой видовой специфичности анатомического строения листового черешка, что делает его ключевым диагностическим признаком. ОФС.1.5.1.0003 «Листья», ОФС.1.5.3.0003 «Микроскопический и микрохимический анализ лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения» ГФ РФ XV изд. в обязательном порядке включают разделы «Люминесцентная микроскопия», «Основные группы биологически активных веществ» [15]. Следовательно, установление однозначных диагностических критериев для листьев мирта обыкновенного возможно лишь на основе детального анатомо-гистологического изучения, дополненного применением современных методов микроскопии (люминесцентной, поляризационной).

3.1. Морфология, анатомия, гистология мирта обыкновенного

В соответствии с фармакопейными стандартами и с целью выявления диагностически значимых микроскопических признаков растительного сырья, морфолого-анатомические этапы исследования листьев мирта обыкновенного включали в себя развернутое морфологическое описание растения, анатомическое и гистологическое изучение листьев мирта (листовой пластинки, черешка, порошка) с использованием современных методов микроскопии (см. раздел 2.2.1. Методы микроскопического исследования).

3.1.1. Фитоморфология мирта обыкновенного

Мирт обыкновенный растет относительно медленно на глинистых почвах, быстрее – на наносных, умеренно влажных, суглинистых красноземах. Растение светолюбиво. Цвести и плодоносить мирт начинает с 4–5 лет [4, 7]. Мирт выдерживает кратковременные морозы до -12°C [28]. При температуре от -13°C до -14°C растение сильно подмерзает, а в холодные зимы с продолжительными морозами от -10°C заметно обмерзает [2, 65].

Морфологическая характеристика побегов *Myrtus communis* демонстрирует возрастную динамику. Молодые (однолетние) побеги обладают четырехгранной формой, окрашены в зеленовато-серый цвет и характеризуются наличием редкого опушения из малозаметных волосков, локализованных преимущественно на ребрах. В процессе одревеснения (на второй год) побеги приобретают желтовато-коричневую окраску и становятся гладкими (голыми). Трехлетние побеги имеют округлое или слабо граненое сечение, их кора окрашена в серый или серо-коричневый цвет и лишена опушения [58]. На старых стволах кора бурая, мелко трещиноватая [10].

Листья мирта обыкновенного простые, супротивные, сидячие или короткочерешковые (длина черешка 2–3 мм), без прилистников. Листовая пластинка имеет яйцевидную, реже ланцетную форму, размеры которой варьируют в пределах 2–5 см в длину и 1–2,5 см в ширину (рис. 6) [46, 50].

Пластинка цельнокрайняя, с заостренной верхушкой и ширококлиновидным или почти округлым основанием [46]. Для листовой поверхности характерна кожистая, голая, блестящая текстура с обильным железками [46]. Окраска дорсальной поверхности темно-зеленая, вентральной – более светлая. Жилкование перистое, малозаметное на адаксиальной стороне, с выпуклыми жилками на абаксиальной [1, 9, 46, 58, 65].



Рисунок 6 – Морфология мирта обыкновенного (*Myrtus communis* L.) [162]

Мирт обыкновенный пышно цветет одиночными белыми цветками, как правило, с конца мая до начала июля [5, 21, 37, 140]. Цветки мирта правильные, расположенные в пазухах листьев, в щитках или кистях, снабженные обыкновенно прицветниками [6, 58] (рис. 6). Окрашены в белый или красноватый цвет. Цветки обоеполые или многобрачные, с большим количеством белых тычинок. Расположены цветки в пазухах листьев по одному на коротких, тонких цветоножках от 2 до 2,5 см в длину. Трубка цветоложа широко коническая. Чашечка цветков мирта спайнолистная, имеющая 4–5 зубцов и 5–6 дельтовидных голых лопастей, остающимися на

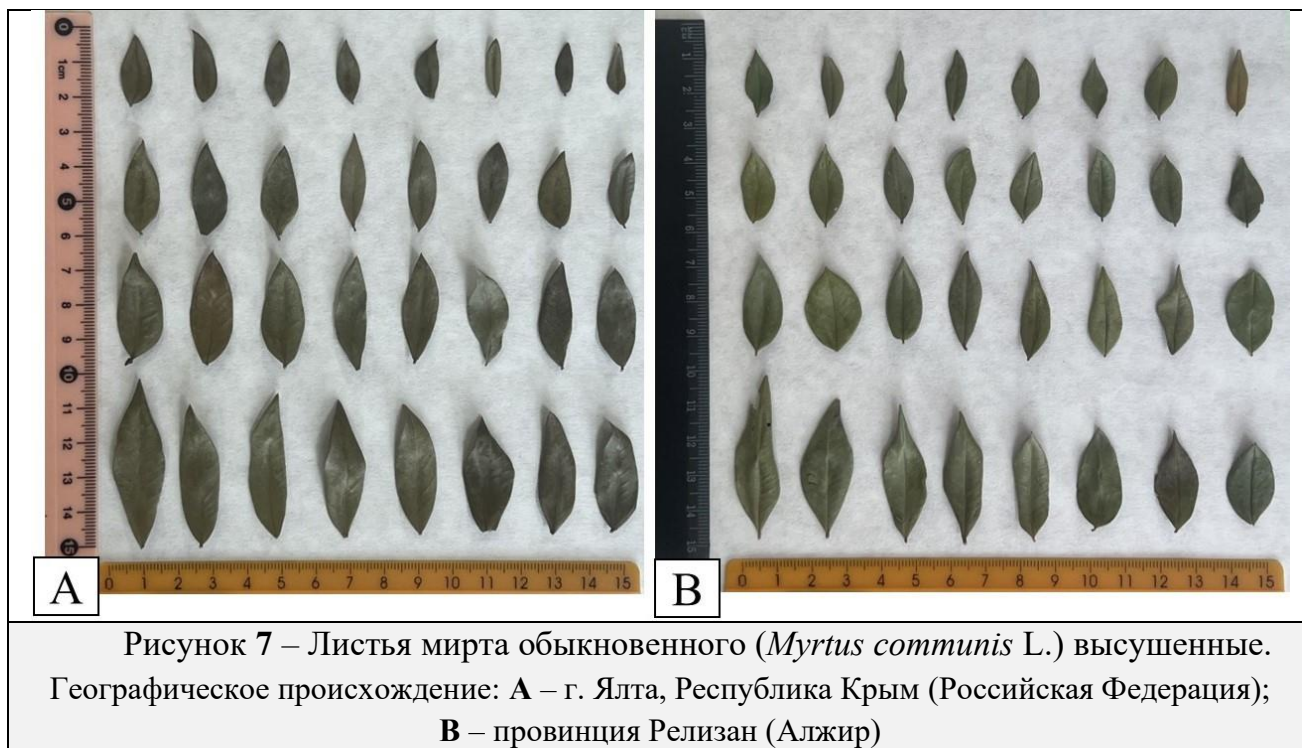
плодах. Чашечка у мирта может и вовсе отсутствовать. Лепестки цветка мирта в числе 4–5, реже 6, или их не бывает совсем. Лепестки *Myrtus* имеют яйцевидную форму, слегка вогнутые, свободные, в нескольких кругах. Тычинки цветков могут быть многочисленные, свободные или частично сраженные, часто находящиеся в пучках, супротивных лепесткам, прикрепляющиеся несколькими рядами по краю слегка вогнутого, блюдцевидного диска [140]. Плодоножки цветков мирта обыкновенного мелкие, двугнездные, имеют продолговатую форму, открывающиеся вдоль щелью и редко верхушечными порами. Коннектива плодоножки наверху часто с железкой. Окрашены плодоножки мирта в желтый цвет. Завязь нижняя, одно- или трехгнездная с боковой плацентой. В каждом гнезде находятся от 12 до 16 семязачек. Столбик цветков мирта простой, шиловидный, с небольшим эндоспермом, по большей части, прямой формы. Окрашен в беловатый цвет. Зародыш прямой или согнутый, иногда кольцевой или спиральный (рис. 6). Двукрылые и перепончатокрылые в основном ответственны за опыление белых цветков-гермафродитов мирта [108, 140].

Плоды мирта – многосеменные ягоды шаровидной или овальной формы, которые расположены в разные стороны, с окраской от белого до синевато-черного цвета после созревания (рис. 6) [58]. Редко встречаются формы с желтовато-белыми плодами. В каждом плоде мирта располагаются от 5 до 15 семян. Тысяча семян мирта весят от 4 до 5,5 г. В 1 кг плодов мирта обыкновенного насчитывается около 200.000 семян. Размеры плода определяются от 10 до 12 мм в длину и от 5 до 6 мм в ширину. Плоды мирта имеют пряный сладковатый вкус. Созревают в ноябре – декабре [58, 65, 147, 194]. Птицы, в основном семейства Воробьиных, способствуют размножению и расселению мирта, разбрасывая семена на территориях [112].

Проведенное морфологическое изучение растительного сырья мирта обыкновенного установлено и подтвердило диагностически значимые

макроскопические и органолептические признаки листьев: характерная форма и размер, а также специфический аромат [46, 50].

Морфологический анализ сырья выявил высокую степень сходства листовых пластинок *Myrtus communis* российского (рис. 7А) и алжирского (рис. 7В) происхождения при низком уровне внутривидовой изменчивости. Для российского сырья мирта характерна ланцетовидная форма листа с варьированием линейных размеров в пределах: длина 1,5–3,4 см, ширина 1,4–1,9 см. Полученные данные свидетельствуют о морфологической стабильности сырья, что является важным диагностическим признаком для его идентификации и стандартизации [46, 50].



Органолептические свойства листьев мирта обыкновенного: цвет от темно- до светло-зеленого, запах ароматный пряный, при растирании усиливается до выраженного камфорно-смолистого.

Органолептические свойства водного извлечения из листьев мирта обыкновенного: янтарно-коньячная прозрачная с зеленоватыми бликами жидкость с камфорно-смолистым запахом и интенсивным горько-пряным вяжущим вкусом.

3.1.2. Изучение петиолярных признаков

В качестве объекта для микроскопического исследования были использованы листья мирта обыкновенного российского происхождения. Пробоподготовка микропрепаратов проводилась в полном соответствии с требованиями ОФС.1.5.3.0003 «Микроскопический и микрохимический анализ лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения» ГФ РФ XV изд. [15]. Гистохимический анализ выполняли с использованием специфических реактивов: 10% раствора серноокислого анилина и спиртового раствора Судана III, качество которых соответствовало действующим ГОСТ [12, 15].

Одним из важных аспектов стандартизации лекарственного растительного сырья, согласно ОФС.1.5.1.0003 «Листья» ГФ РФ XV изд., является изучение петиолярных признаков [15, 46, 50].

Микроскопический анализ черешков листа мирта обыкновенного выявил диагностические особенности люминесценции доминирующих БАВ и тканей черешков листьев данного вида растения [46]. Были проанализированы и обобщены морфология и анатомия черешков листьев мирта, свечения их тканей и выявлены дополнительные диагностические признаки данного растительного объекта [46]. Среди них наиболее ценными для стандартизации ЛРС, с нашей точки зрения, являются особая форма черешков листьев, резко переходящих в листовую пластинку (рис. 8) [46, 50]. По периметру черешков диагностируется характерная структура эфиромасличных вместилищ со специфичным сине-голубым свечением ЭМ мирта обыкновенного при УФ облучении с $\lambda=360$ нм, чечевички на поверхности эпидермы, слабое опушение с адаксиальной стороны черешков [46, 50].

В результате исследований микропрепаратов из растительного сырья мирта обыкновенного, были изучены особенности поперечных сечений базальной и медиальной частей листовых черешков. Так как лист мирта обыкновенного короткочерешковый, апикальная часть черешка нами не исследовалась. При микроскопировании объекта с помощью цифрового

микроскопа в проходящем и отраженном свете, анализ показал: черешок быстро переходит в листовую пластинку без каких-либо изменений в структуре. Определялись формы очертания его поперечных сечений, которые являются диагностическими для изученного вида [46, 50].

Изучались характерные особенности центральной жилки: степень развитости склеренхимных волокон в области флоэмной части пучка (рис. 8А). В базальной части поперечное сечение пучка имеет округлую форму, приплюснутую с адаксиальной стороны. В медиальной части листового черешка мирта обыкновенного поперечный срез имеет широкоугольную форму с округлыми ребрами; причем с абаксиальной стороны черешка ребра значительно шире, чем боковые ребра (рис. 8В) [46, 50].

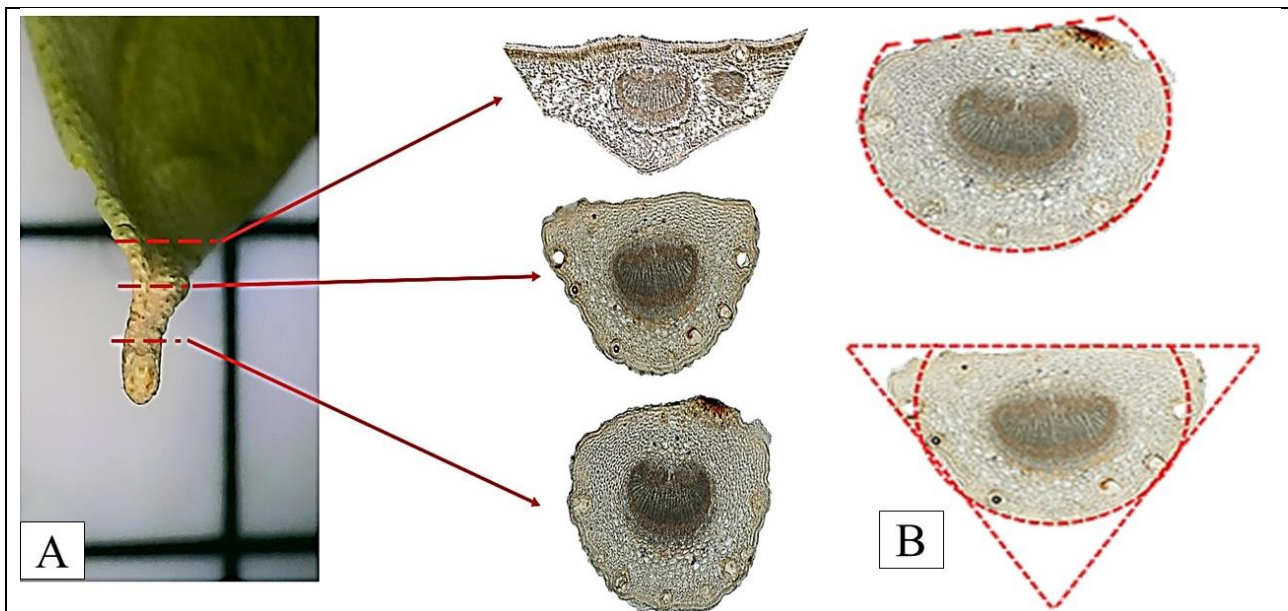


Рисунок 8 – Поперечные срезы черешка (100×): А – топография поперечных срезов; В – форма срезов черешка [46, 50]

Эпидерма черешка состоит из вытянутых продолговатых клеток с равномерно утолщенными стенками. При облучении светом с $\lambda=420$ нм наблюдается ярко-желтое свечение эпидермальных клеток и клеток складчатой паренхимы, оранжевое свечение кутикулы. Облучение тканей ультрафиолетовым светом с $\lambda=360$ нм дает ярко-фиолетовое свечение [46, 50].

По периметру черешка листовой пластинки мирта, на поперечном срезе, наблюдаются схизогенные вместилища или смолянистые ходы, которые имеют по периферии округлые клетки эпителия (рис. 9А-9С). Анализ тканей при дневном свете показал, что протопласты клеток эпителия темно-бурого цвета (рис. 9А). При облучении светом с $\lambda=360$ нм клеточные стенки эпителиальных клеток имеют голубое свечение, а протопласты клеток не светятся (рис. 9С) [46, 50]. Облучение черешков светом с $\lambda=420$ нм дает ярко-желтое свечение клеточных стенок складчатой паренхимы и ярко-оранжевое свечение протопластов этих клеток, что свидетельствует о каротиноидной природе пигментов в оболочках клеток (рис. 9В) [46, 50].

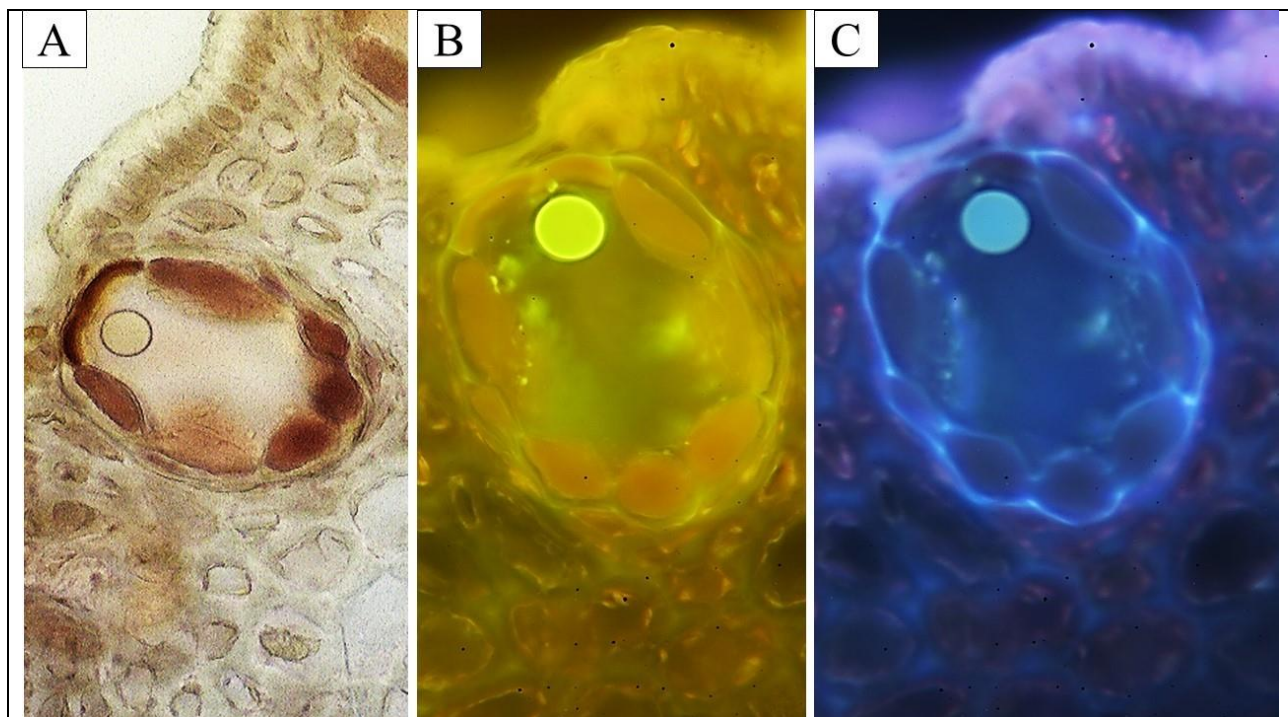


Рисунок 9 – Эфиромасличные вместилища мирта обыкновенного с каплей эфирного масла (100×): А – видимый свет; В – облучение при $\lambda= 420$ нм; С – облучение при $\lambda=360$ нм [46]

Известно, что капли секрета вместилищ, оно же ЭМ, обладают характерным свечением для большинства моно- и сесквитерпенов [33, 36]. Наблюдаемая в эфиромасличных вместилищах интенсивная сине-голубая флуоресценция ЭМ *Myrtus communis* (рис. 9С, 14.1В) является диагностически значимым признаком, отличающим его от ЭМ *Eucalyptus viminalis*, которое проявляет лишь слабую белесую люминесценцию (рис. 14.3В) [46, 50]. Данное

различие в люминесцентном свечении может быть обусловлено вариабельностью компонентного состава ЭМ.

При микроскопическом анализе поперечных срезов черешков листа *Myrtus communis* на поверхности перидермы визуализированы чечевички [46, 50]. Наличие данных структурных образований, аналогичных описанным в научной литературе для листьев эвкалипта прутовидного и обозначаемых как «пробковые пятна» [8, 15], может быть обусловлено многолетней вегетацией листовых пластинок мирта обыкновенного. Наблюдаемые чечевички характеризуются малыми размерами; при исследовании в проходящем свете отмечена темно-бурая окраска их вершины (рис. 10А) [46, 50].

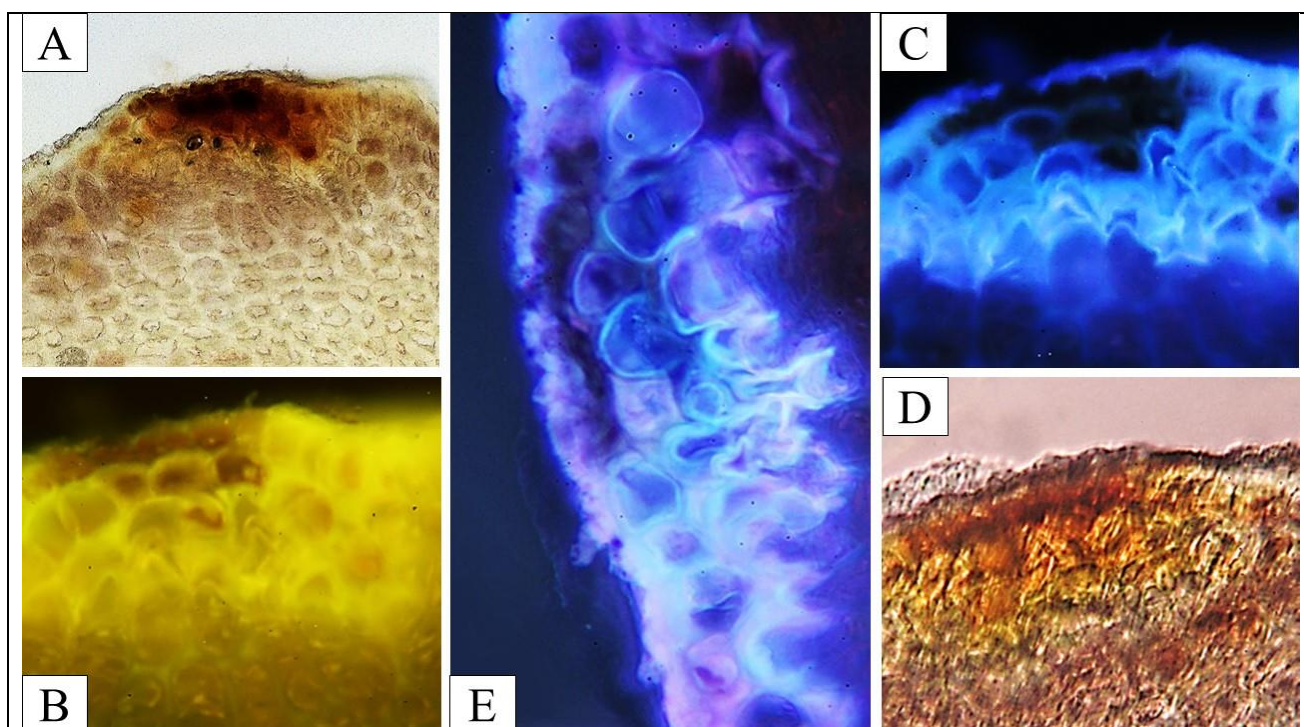


Рисунок 10 – Чечевички черешка листа *Myrtus communis* (400×): **А** – видимый свет; **В** – облучение при $\lambda=420$ нм; **С** – облучение при $\lambda=360$ нм; **Д** – гистохимическая окраска 10% раствором сульфата анилина; **Е** – люминесценция при $\lambda=360$ нм после окрашивания 10% раствором сульфатом анилина [46, 50]

При люминесцентной микроскопии чечевичек выявлено интенсивное флуоресцентное свечение как в ультрафиолетовом диапазоне при $\lambda=360$ нм (рис. 10В), так и в синей области спектра при $\lambda=420$ нм (рис. 10С). Последующая гистохимическая обработка 10% раствором сульфата анилина позволила визуализировать лигнифицированные клеточные оболочки сосудов

ксилемы, которые окрасились в желтый цвет в видимом свете и демонстрировали яркую зеленую вторичную флуоресценцию в УФ-спектре (рис. 10D, 10E). Кроме того, в образце наблюдалось розовое флуоресцентное свечение (рис. 10D), что согласуется с литературными данными о присутствии флороглюцинов в тканях данного вида растения [46, 50].

В центральной зоне черешка отчетливо идентифицируется люминесценция элементов ксилемы проводящего пучка (Приложение №2, рис. 5.1А, 5.1В). Сосуды ксилемы расположены радиально и характеризуются неравномерным утолщением клеточных стенок [46]. При экспозиции в УФ-свете с длиной волны 360 нм стенки ксилемных клеток демонстрируют интенсивную голубую флуоресценцию (PMS#6699ff) (Приложение №2, рис. 5.1С, 5.1D) [46]. Облучение светом с длиной волны 420 нм вызывает слабую желто-зеленую флуоресценцию ксилемы и оранжевое свечение элементов флоэмной ткани пучка (Приложение №2, рис. 5.2Н, 5.2I) [46, 50].

3.1.3. Анатомия и гистология листовой пластинки

Листья мирта обыкновенного дорзовентральные. С поверхности они покрыты эпидермой (рис. 11А). Наблюдаются многочисленные эфиромасличные схизогенные вместилища с ЭМ (рис. 11В-11D). Клетки верхней и нижней эпидермы отличаются размером и степенью извилистости клеточной стенки. Клетки верхней эпидермы мельче по размеру и в длину достигают – 33 мкм, а в ширину – 23 мкм (рис. 11Е, 11G). Их клеточные стенки менее извилистые и заметно утолщены чем у клеток нижней эпидермы.

Лист мирта – гипостоматический, на верхнем эпидермисе полностью отсутствуют устьичные аппараты (рис. 11Е, 11G). С нижней стороны листа эпидермальные клетки крупнее и имеют волнистые очертания (рис. 11F, 11H). Устьица аномоцитного типа обильно расположены только на абаксиальной стороне по основной эпидерме, реже по жилкам (Приложение №2, рис. 4А). Замыкающие клетки устьичного аппарата мелкие. В длину достигают – 21 мкм, а в ширину – 14 мкм (рис. 11H). Они имеют колпачковидную форму,

диагностируемую по характерным торцевым утолщениям клеточной стенки (рис. 11Н) [64]. Уголковая колленхима над центральной жилкой проиллюстрирована в Приложении №2 на рисунках 1D-1F, пучок центральной жилки – в Приложении №2 на рисунках 4A-4D.

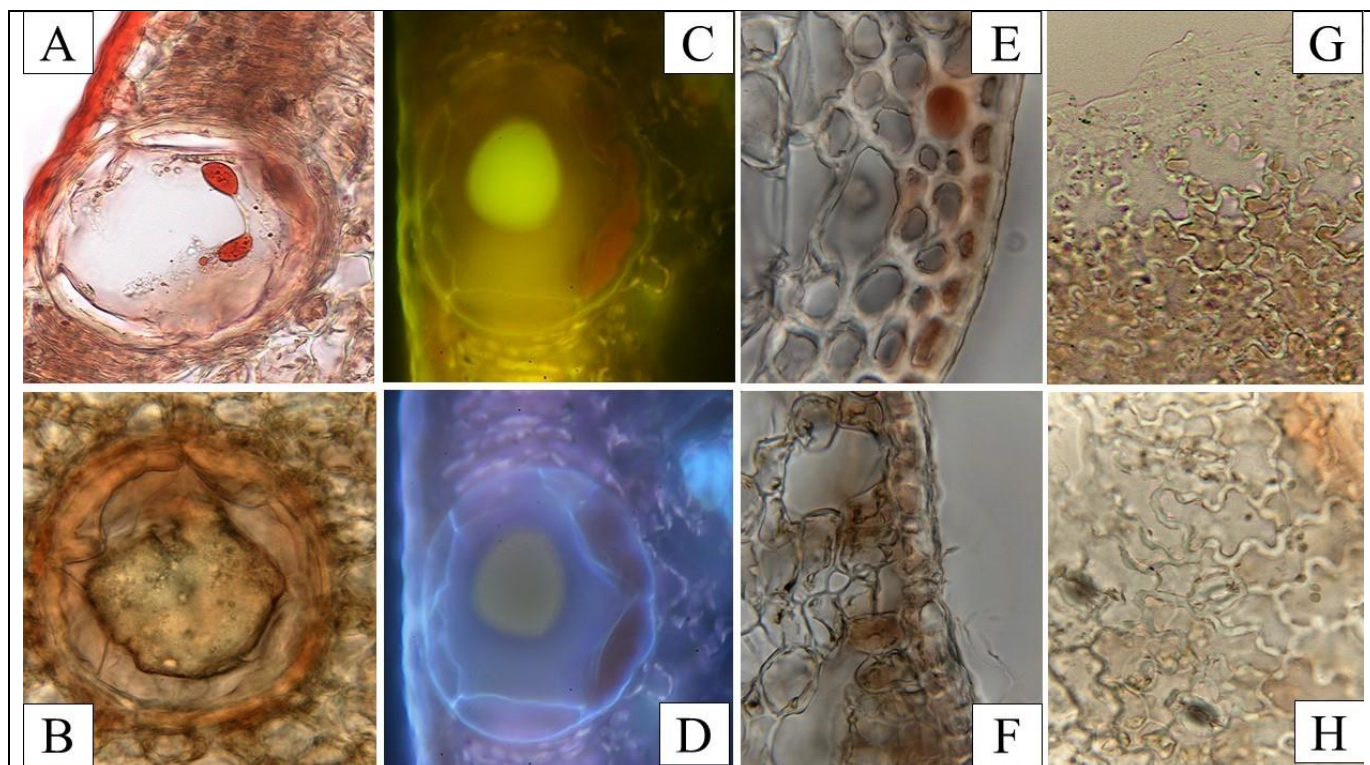


Рисунок 11 – Гистологическое строение выделительных тканей эпидермиса листовой пластинки мирта обыкновенного на поперечном и продольном срезах: **A** – схизогенное вместилище на поперечном сечении листовой пластинки. Окраска раствором Судана III (400×); **B** – капля ЭМ в схизогенном вместилище. Вид с поверхности на просвете эпидермы (1000×); **C, D**— люминесценция капли ЭМ в схизогенном вместилище при возбуждении в диапазонах 420–500 нм (C) и 330–400 нм (D) (400×); **E, F**— поперечный срез листовой пластинки: клетки верхней (E) и нижней (F) эпидермы (400×); **G, H**— поверхностный вид клеток верхней (G) и нижней (H) эпидермы (400×)

Диагностическим признаком нижней эпидермы листовой пластинки мирта обыкновенного является извилистость (волнистость) клеточных стенок. В длину достигают достигают 31 – мкм, а в ширину 12 – мкм (рис. 11F, 11H). Поперечный и продольный срезы листовой пластинки мирта обыкновенного представлены в Приложении №2 на рисунках 3A-3E.

Поверхность листовой пластинки мирта голая. Кутикула имеет слабо заметную продольную морщинистость (Приложение №2, рис. 5.1B, 5.1C, 5.2I).

Свечение кутикулы эпидермиса на поверхности черешка и листа мирта одинаковое: ярко-желтого цвета при $\lambda = 420$ нм (PMS#999933) (Приложение №2, рис. 5.1В, 5.2Н) и бело-голубого цвета при $\lambda = 360$ нм (PMS#99ccff) (Приложение №2, рис. 5.1С, 5.2I). В ребрах черешков есть каленхимные клетки до четырех рядов (Приложение №2, рис. 5.1А). Каленхима пигментированная, бурого цвета. При облучении светом $\lambda = 420$ нм наблюдается слабое светло-желтое свечение (Приложение №2, рис. 5.1В), а при облучении светом $\lambda = 360$ нм каленхима практически не светится (Приложение №2, рис. 5.1С). В структуре ребер имеется крупноклеточная паренхима мезофилла со смятой неравномерной формой клеток, у которых имеется специфическая синяя (PMS#336699) люминесценция клеточных стенок (Приложение №2, рис. 5.1С). Клетки живые, протопласт светится светло-желтым цветом [46, 50].

На поперечном сечении листа мирта обыкновенного наблюдаются столбчатый (Приложение №2, рис. 5.2I) и губчатый (Приложение №2, рис. 5.2Н) мезофилл. За свечение мезофилла листовой пластинки в большей степени ответственен хлорофилл [46]. При рассмотрении с поверхности на эпидермисе при $\lambda = 360$ нм обнаруживаются устьичные аппараты с неоднородным ярко-голубым свечением (PMS #6699ff) клеточных стенок за счет утолщенности в месте смыкания устьичной щели и вероятной частичной лигнификации замыкающих клеток устьиц (Приложение №2, рис. 5.3К) [46].

При контрастировании в поляризационном микроскопе с λ -светофильтром под эпидермисом часто диагностируются кристаллические включения (рис. 12А-12D). С верхней стороны кристаллические включения встречаются реже (рис. 12С). С нижней стороны обильное скопление друз и призматических кристаллов оксалата кальция отмечается особенно вдоль жилок листовой пластинки мирта обыкновенного (рис. 12А-12С; Приложение №2, рис. 1А-1С, 5.3J-5.3К). Характер кристаллических включений аналогичен описанному ранее для черешков (Приложение №2, рис. 5.3J-5.3К). Друзы оксалата кальция лучше всего детектируются в тканях листа мирта обыкновенного при поляризационной микроскопии (рис. 12А-12D) [46, 50].

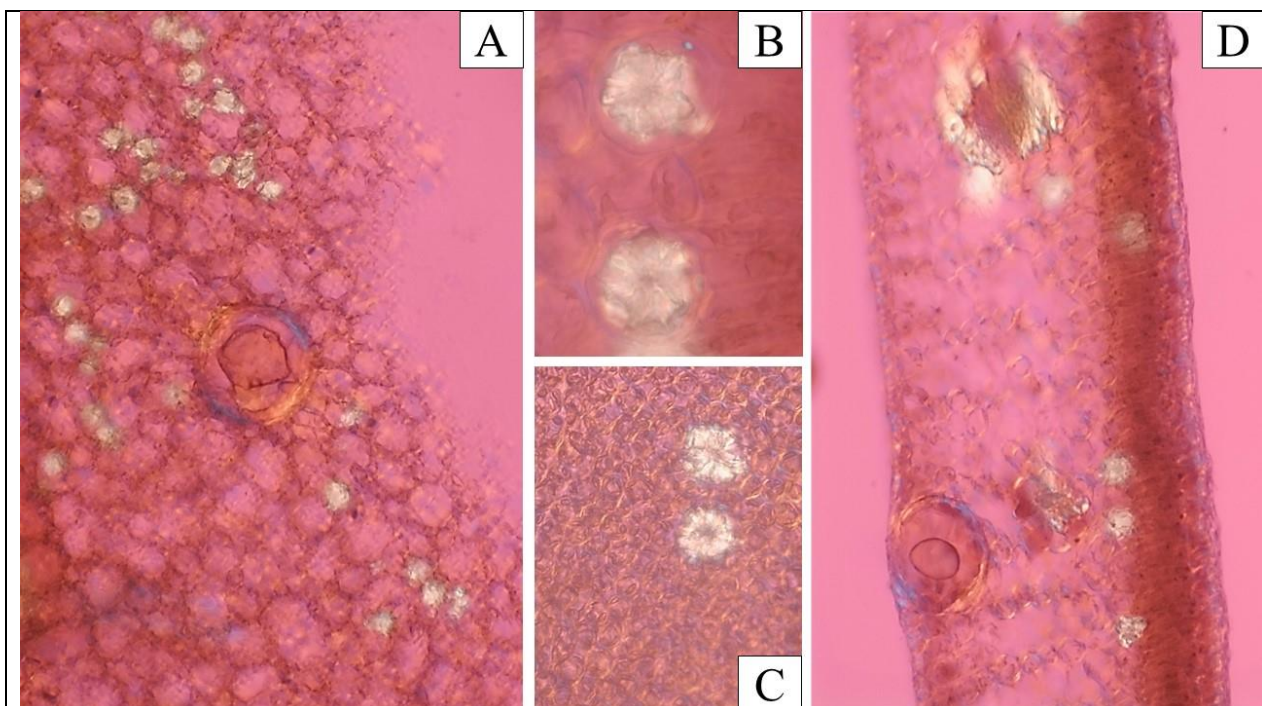


Рисунок 12 – Поляризационная микроскопия листовой пластинки мирта обыкновенного: **A** – друзы оксалата кальция в поперечном сечении, вид сверху (100×); **B** – друзы оксалата кальция в поперечном сечении (400×); **C** – друзы оксалата кальция в поперечном сечении, вид сверху (400×); **D** – поперечное сечение, вид сверху (100×)

Таким образом, проведенный микроскопический анализ показал соответствие морфолого-анатомических характеристик российского сырья мирта обыкновенного литературным данным. Диагностическими признаками являются дорсовентральное строение листовой пластинки мирта обыкновенного, наличие устьиц аномоцитного типа только на абаксиальной стороне, схизогенные вместилища с эфирным маслом, друзы и призматические кристаллы оксалата кальция [1, 7, 20, 46, 50, 68-70].

3.1.4. Диагностика порошка листьев

ГФ РФ в своих ФС на ЛРС в обязательном порядке включает разделы «Микроскопические признаки» с требованием микроскопии порошка ЛРС [15]. Актуальность применения микроскопического метода анализа порошка в рамках разработки проекта ФС на новый вид ЛРС обусловлена комплексом современных научных, регуляторных и рыночных требований. Микроскопия

порошка ЛРС – это ключевой первичный метод идентификации, позволяющий установить подлинность измельченного сырья по специфическим диагностическим признакам, исключить фальсификацию и примеси на этапах входного контроля. В отличие от высокотехнологичных методов анализа, требующих дорогостоящего оборудования и реактивов, микроскопия порошка ЛРС остается быстрым, доступным и высокоинформативным методом, применимым в любой контрольно-аналитической лаборатории.

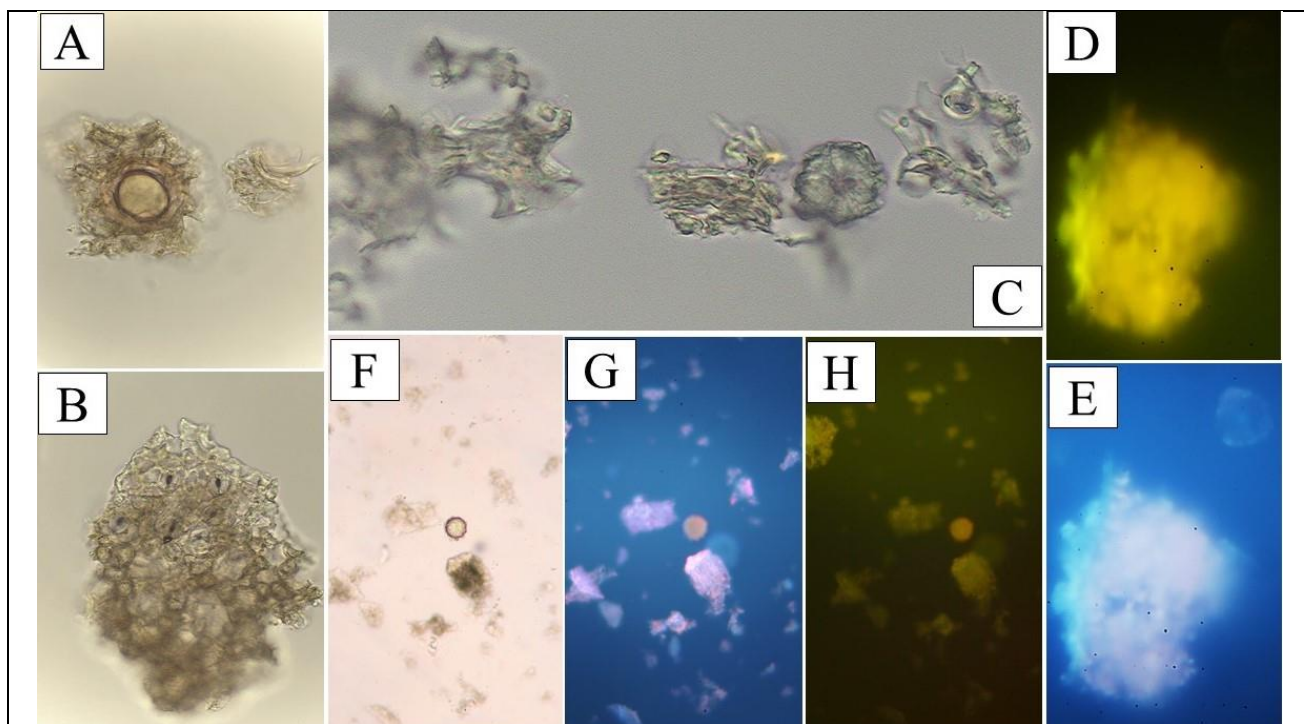


Рисунок 13 – Диагностические признаки микроскопии порошка (размер менее 0,25 см) листьев мирта (400×): **А** – фрагмент эфиромасличного вместилища с каплей эфирного масла; **В** – фрагмент эпидермиса; **С** – друзы; **Д** – фрагмент мезофилла и друзы оксалата кальция при облучении $\lambda=360$ нм; **Е** – фрагмент мезофилла и друзы оксалата кальция при облучении $\lambda=420$ нм; **Ф** – капля эфирного масла при дневном свете; **Г** – капля эфирного масла при облучении $\lambda=360$ нм; **Н** – капля эфирного масла при облучении $\lambda=420$ нм

Микропрепараты порошка листьев мирта обыкновенного готовили по регламенту ОФС.1.5.3.0003 ГФ РФ [15]. Внешний вид порошка листьев мирта различной калибровки представлен на рисунке 2 Приложения №2.

При микроскопировании порошка заведомо известного сырья мирта обыкновенного размером менее 0,25 см (пыль) (Приложение №2, рис. 2А)

основным диагностическим признаком является большое количество схизогенных эфиромасличных вместилищ с ЭМ, либо капли ЭМ (рис.13А, 13F-13Н). В порошке к тому же встречаются такие диагностические признаки, как фрагменты эпидермиса с особыми эпидермальными особенностями (извилистая форма клеток и их размер) (рис. 11G, 11Н), устьица аномоцитного типа и элементы устьичного аппарата (рис. 13В), друзы (рис. 13С-13Е), элементы мезофилла (рис. 13D, 13Е). В порошке листьев мирта можно встретить призматические кристаллы оксалата кальция в мезофилле листа [1]. При рассмотрении под микроскопом на увеличении 400× порошка листьев мирта более крупного калибра (размером 0,25–0,5 см, 0,5–1 см) (рис. 13В, 13С) достаточно часто в дополнении встречаются элементы жилок.

3.2. Детектирование биологически активных субстанций и их локализация в тканях листа

ГФ РФ в обязательном порядке включает разделы «Люминесцентная микроскопия», «Основные группы биологически активных веществ» с требованием микроскопии БАВ растительного сырья [15].

Выбор 1,8-цинеола в исследовании в качестве стандартного образца обусловлен его статусом ключевого компонента ЭМ мирта обыкновенного [46], чье присутствие и количественное содержание, наряду с такими соединениями, как α -пинен, D-лимонен, миртенилацетат, является характерным для данного вида, несмотря на географическую изменчивость компонентного состава [17, 44, 46, 53, 92].

Эувималь-1, относящийся к классу эуглобалей (фенолоальдегидных терпеноидов) из группы флороглюцинов, представляет собой вторую по значимости группу БАВ листьев эвкалипта, обладающих выраженной антимикробной активностью, сопоставимой с рядом антибиотиков [36, 46, 99]. Это обуславливает методологическую значимость поиска структурных аналогов среди других растений. В частности, диагностический интерес в отношении сырья мирта обыкновенного представляют миртокоммулоны —

специфические для рода *Myrtus* флороглюциновые соединения, которые характеризуются высокой антимикробной активностью [46, 94, 126]. Следовательно, флороглюцины могут рассматриваться в качестве ключевых хемотаксономических маркеров для мирта обыкновенного [46].

Мирицитрин, будучи доминирующим флавоноидом листьев мирта обыкновенного [32, 47], был исследован с целью оценки его диагностического потенциала при использовании методов люминесцентного анализа [46].

В сравнительном анализе в качестве референс-образца использовано ЭМ эвкалипта прутовидного, что обусловлено близостью его компонентного состава к составу масла мирта обыкновенного в рамках одного семейства *Myrtaceae*. Данный подход позволяет выявлять возможную фальсификацию или примесь сырья эвкалипта к сырью мирта [17, 46, 78, 102]. Анализ люминесцентных свойств проводился для ЭМ *Myrtus communis* (рис. 14.1А–14.1С) и ЭМ *Eucalyptus viminalis* (рис. 14.3А–14.3С), а также для ключевых терпеновых компонентов – 1,8-цинеола (рис. 14.2А–14.2С) и эувималия-1 (рис. 14.4А–14.4С; Приложение №2, рис. 5.1Е). Исследование выполнялось методом микрокопирования капель «эмульсия-в-воде» [46, 50].

Результаты анализа люминесцентных свойств показали, что капли эмульсий исследуемых эфирных масел мирта и эвкалипта характеризуются слабой интенсивностью свечения в идентичных условиях освещения [46]. Критическим диагностическим признаком выступило различие в спектральных характеристиках люминесценции эфирных масел мирта обыкновенного и эвкалипта прутовидного при длине волны 360 нм [46].

Для ЭМ *Myrtus communis* характерно сине-голубое свечение (рис. 14.1В) [46]. В то же время ЭМ *Eucalyptus viminalis* демонстрировало слабое беловатое свечение без выраженного голубого оттенка (рис. 14.3В) [46]. 1,8-цинеол – проявил крайне низкую интенсивность люминесценции (рис. 14.2В) [46]. Это свидетельствует о том, что 1,8-цинеол не является ключевым компонентом, определяющим люминесцентные характеристики ЭМ мирта обыкновенного. Однако сравнительный анализ выявил значимые различия в цветности

люминесценции между эфирными маслами близкородственных видов семейства *Myrtaceae* – мирта и эвкалипта – при УФ возбуждении, что указывает на их видовую специфичность [46].

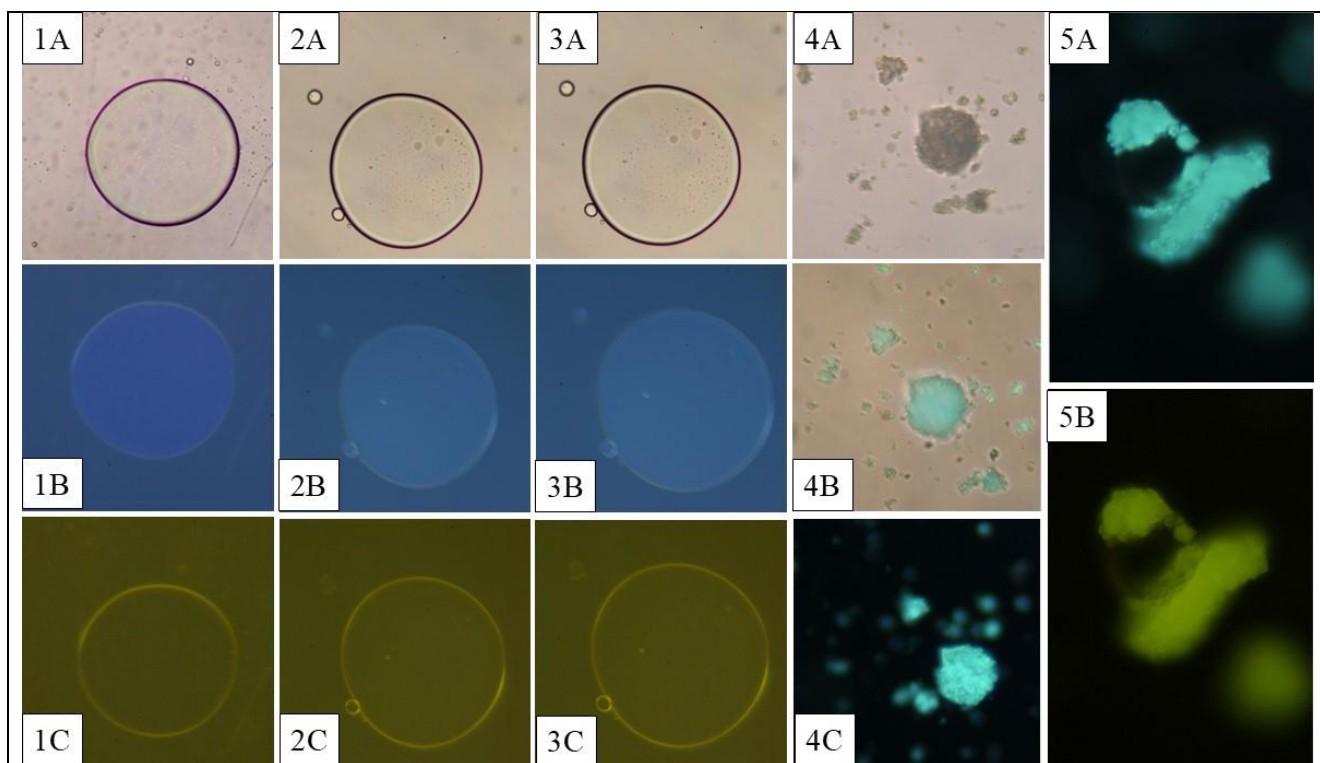


Рисунок 14 – Сравнительная микроскопия субстанций: **1** – эфирное масло *Myrtus communis*: **A** – изображение в видимом свете; **B** – люминесценция при $\lambda=360$ нм; **C** – люминесценция при $\lambda=420$ нм; **2** – 1,8-цинеол: **A** – изображение в видимом свете; **B** – люминесценция при $\lambda=360$ нм; **C** – люминесценция при $\lambda=420$ нм; **3** – эфирное масло *Eucalyptus viminalis*: **A** – изображение в видимом свете; **B** – люминесценция при $\lambda=360$ нм; **C** – люминесценция при $\lambda=420$ нм; **4** – стандартный образец эувималья-1 (суспензия в воде): **A** – изображение в видимом свете; **B** – люминесценция при $\lambda=360$ нм (белый фон); **C** – люминесценция при $\lambda=360$ нм (темный фон); **5** – стандартный образец мирицитрина (суспензия в воде): **A** – люминесценция при $\lambda=360$ нм; **B** – люминесценция при $\lambda=420$ нм

Люминесценция стандартных образцов эувималья-1 (рис. 14.4А-14.4С; Приложение №2, рис. 5.1Е) и мирицитрина (рис. 14.5А-14.5В; Приложение №2, рис. 5.1F) при облучении $\lambda=360$ нм, характеризуется близкими спектральными параметрами. Наблюдаемая флуоресценция в сине-зеленой области спектра соответствовала цветовым координатам PMS#33cc99 и

PMS#35a195 соответственно [46], что визуально указывает на сходство их люминесцентных свойств при данном режиме возбуждения [46].

При люминесцентной микроскопии одревесневшие клеточные структуры листа мирта – стенки проводящих элементов ксилемы (Приложение №2, рис. 5.1D) и склеренхимных волокон (Приложение №2, рис. 5.1G) – выявляются по ярко-голубой флуоресценции (PMS#6699ff), обусловленной присутствием в их составе лигнина [46]. В живых клетках флоэмы (PMS#336666) (Приложение №2, рис. 5.1G) и сердцевинных лучей ксилемы (PMS#669999) (Приложение №2, рис. 5.1D) наблюдается протопласт, который имеет особенности сине-зеленого свечения, связанные, вероятнее всего, с присутствием в нем флороглюцинов (PMS#33cc99) (Приложение №2, рис. 5.1E) и флавоноидов (PMS#35a195) (Приложение №2, рис. 5.1F). Схожие по сине-зеленой цветности люминесценции флороглюцины, флавоноиды и их производные, содержатся в протопластах клеток сердцевинных лучей ксилемы (Приложение №2, рис. 5.1D), мягкого луба флоэмы (Приложение №2, рис. 5.2H) и в клетках мезофилла черешка (Приложение №2, рис. 5.1C) [46].

Отсутствие выраженного селективного люминесцентного свечения у 1,8-цинеола не позволяет рекомендовать его в качестве стандартного образца для целей идентификации и установления видовой принадлежности сырья мирта [46, 50]. Вероятно, характерное сине-голубое люминесцентное свечение ЭМ *M. communis* обеспечивают специфические для данного вида терпеновые компоненты (миртенилацетат, гумулен, линалилацетат, β -мирцен и их производные), которые отсутствуют в ЭМ эвкалипта [53].

Очевидно, люминесцентный метод микроскопии обладает определенными преимуществами, а именно, позволяет обнаружить локализацию действующих веществ в тканях листа мирта обыкновенного благодаря их характерному свечению. Данный метод ранее не применялся для качественного анализа тканей листьев мирта обыкновенного [46, 50].

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3

1. В результате морфолого-анатомического исследования подтверждены ключевые диагностические признаки листьев мирта обыкновенного: дорзовентральное строение мезофилла, локализация аномоцитных устьиц исключительно на абаксиальной эпидерме, наличие схизогенных секреторных вместилищ с эфирным маслом, множественные друзы и призматические кристаллы оксалата кальция.

2. Установлены новые диагностически значимые признаки листового черешка *Myrtus communis*, имеющие ключевое значение для стандартизации ЛРС. К ним относятся: резкий переход от черешка к листовой пластинке; наличие по периметру черешка характерных эфиромасличных вместилищ, проявляющих специфичное сине-голубое свечение при люминесцентной микроскопии ($\lambda=360$ нм); присутствие чечевичек на эпидерме.

3. Установлено, что люминесцентная микроскопия является эффективным диагностическим методом для дифференциации эфирных масел мирта обыкновенного (*Myrtus communis* L.) и эвкалипта прутовидного (*Eucalyptus viminalis* L.). Сравнительный анализ спектров люминесценции цельных масел и их основных компонентов выявил характерные диагностические признаки: эфирное масло мирта обладает интенсивной сине-голубой люминесценцией, в то время как масло эвкалипта и его доминирующий компонент 1,8-цинеол (эвкалиптол) характеризуются слабым белесым свечением без выраженной окраски.

4. Методом люминесцентной микроскопии доказано, что 1,8-цинеол (эвкалиптол) не обладает выраженной флуоресценцией и, следовательно, не может служить диагностическим признаком в люминесцентно-микроскопическом анализе для идентификации мирта обыкновенного и дифференциации его от близкородственных видов (в частности, эвкалипта).

5. Флороглюциновые соединения, в частности, эувималь-1, характерные для растений семейства *Myrtaceae*, являются диагностически значимыми

соединениями мирта обыкновенного. Их идентификация в тканях растительного сырья мирта обыкновенного подтверждена методом микроскопии в ультрафиолетовом свете по характерному розовому свечению, что позволяет рекомендовать данный параметр в качестве одного из критериев установления подлинности растительного сырья.

6. Специфическая пигментация и люминесцентные характеристики эпителия схизогенных вместилищ являются диагностически значимым видовым признаком мирта обыкновенного. Этот признак предлагается в качестве одного из ключевых дифференциально-диагностических критериев для дифференциации сырья *Myrtus communis* от возможных примесей.

7. Впервые доказана целесообразность применения люминесцентной микроскопии для качественного анализа тканей листовой пластинки и черешка мирта обыкновенного. Установлено, что данный метод позволяет выявлять специфическую локализацию биологически активных веществ в растительных тканях мирта обыкновенного, что определяет его высокую диагностическую ценность.

ГЛАВА 4. ИССЛЕДОВАНИЕ ФИТОХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ЛИСТЬЕВ МИРТА ОБЫКНОВЕННОГО (*MYRTUS COMMUNIS* L.)

Химический состав листьев мирта обыкновенного изучен зарубежными исследователями достаточно хорошо [82, 109, 125, 144, 151, 188, 193]. В России интерес к *Myrtus communis* наблюдается только в последние 10 лет [1-8, 19, 68-70, 166]. Листья мирта являются источником целого ряда ценных БАВ, среди которых ведущими группами являются полифенольные соединения, терпеноиды, миртокоммулоны [8, 18, 94]. В мирте обыкновенном зарубежными учеными идентифицировано 15 миртокоммулонов и их структурных производных [94, 171]. Высокое содержание в мирте обыкновенном монотерпеновых углеводов, таких как α -пинен, лимонен, 1,8-цинеол (эвкалиптол), линалоол, терпинеол и др., а также флавоноидов, миртокоммулонов, фенолкарбоновых и аминокислот, обуславливает широкий спектр фармакологического действия данного растения [77, 79, 182]. Кроме того, листья мирта являются источником дубильных веществ, сапонинов, аминокислот, микро- и макроэлементов [4, 12, 17, 85, 159, 194].

В Российской Федерации на сегодняшний день актуальной задачей является проведение дополнительных исследований фитохимического компонентного состава российского сырья *Myrtus communis*.

4.1. Методика выделения индивидуальных соединений

Процесс выделения БАВ из листьев *Myrtus communis* российского происхождения включал стадию жидкостной адсорбционной колоночной хроматографии (см. раздел 2.2.3. *Хроматографические методы анализа*). Последовательность основных этапов пробоподготовки листьев мирта к проведению хроматографического разделения представлена в таблице 8.

Далее хроматографическая колонка элюировалась в режиме градиента полярности. В качестве элюента последовательно использовались системы растворителей: от 100% хлороформа до 100% этанола 96% с промежуточными градациями, последовательность которых указана в таблице 9.

Таблица 8 – Основные этапы пробоподготовки к адсорбционной жидкостной колоночной хроматографии

Основные этапы	Содержание этапа
<i>Подготовка исходного сырья</i>	Высушенные листья мирта обыкновенного измельчают до размера частиц 2–3 мм, отвешивают 300 г сырья (навеска).
<i>Получение извлечения</i>	Получают извлечение из листьев мирта объемом около 1500 мл методом трехэтапной дробной мацерации в соотношении «сырье-экстрагент» 1:5 на 70% этаноле.
<i>Упаривание извлечения</i>	На ротационном испарителе <i>Labtex IP-1 ЛТ</i> извлечение упаривают до ориентировочного объема 30-50 мл.
<i>Нанесение извлечения на сорбент</i>	Упаренное извлечение смешивают с силикагелем (КСК 50/100) до однородного состояния (~30–40% от массы навески), затем высушивают в естественных условиях.
<i>Подготовка хроматографической колонки</i>	В хроматографическую колонку (объемом 1 л) вносят чистый силикагель (в количестве равном силикагелю с нанесенным извлечением), путем формирования слоя сорбента в хлороформе. Далее вносят силикагель с нанесенным извлечением, хроматографируют.

Схема процесса элюирования хроматографической колонки и упаривания полученных фракций представлена на рисунке 15.

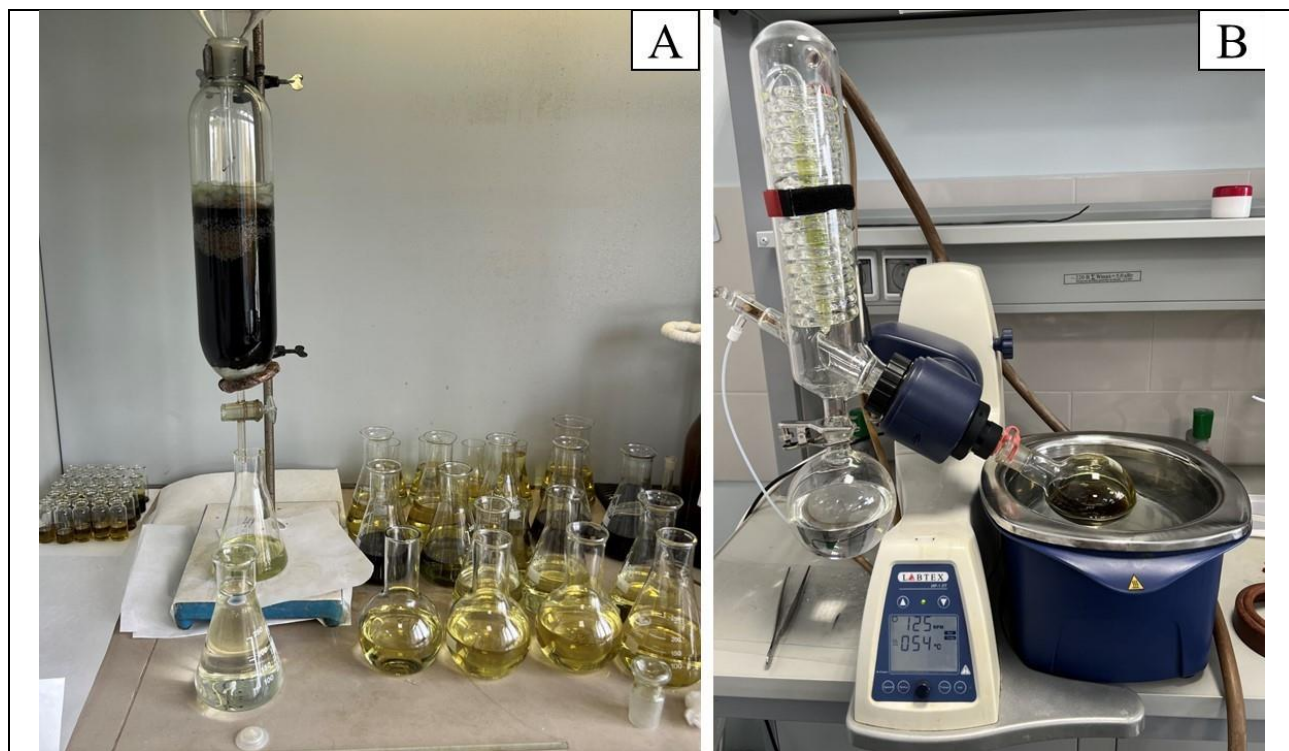


Рисунок 15 – Процесс проведения адсорбционной жидкостной колоночной хроматографии: А – последовательное элюирование хроматографической колонки; В – упаривание полученных фракций.

На заключительном этапе — элюация хроматографической колонки водой дистиллированной (табл. 9). Средний объем собираемых фракций варьировал в интервале 150–200 мл.

Таблица 9 – Протокол градиентного элюирования и фракционирования

Элюирующая система, об. %		Общий объем, мл	Номера фракций
<i>Хлороформ, %</i>	<i>Спирт этиловый, %</i>		
100	0	1000	1-19
99	1	1000	20-25
98	2	1000	26-31
97	3	1000	32-38
95	5	1000	39-43
93	7	1000	44-50
90	10	1000	51-55
85	15	1000	56-63
80	20	1500	64-69
70	30	1000	70-75
60	40	1000	76-80
50	50	1000	81-90
40	60	1200	91-95
0	96	1200	96-103
<i>Вода дистиллированная</i>		1000	104-106

Выделенные фракции концентрировали до объема 5–10 мл на ротационном испарителе. Ход процесса элюирования и состав получаемых фракций контролировали визуально по изменению окраски элюата и параллельно методом ТСХ с использованием в качестве внутреннего стандарта исходной настойки листьев мирта обыкновенного. Фракции, содержащие кристаллические включения, подвергали перерекристаллизации из подходящих растворителей. Для дальнейшей очистки отдельных фракций применяли рехроматографию на сорбентах (полиамид, силикагель).

4.2. Характеристика выделенных индивидуальных соединений

Выделенные из листьев мирта индивидуальные соединения были идентифицированы. Для дальнейших исследований были отобраны фракции, представляющие наибольший научный и практический интерес:

1. *Миртокоммулон D (1)* был выделен в составе *фракций 11–13* (основная хроматографическая колонка). Объединенные фракции, элюированные 100% хлороформом, подвергли очистке последовательной обработкой ацетоном и 96% этанолом. В результате был получен кристаллический порошок светло-желтого цвета.

2. *Мирицитрин (2)*. Объединенные *фракции 78–79* очищали методом микроколоночной адсорбционной хроматографии на полиамиде (градиентное элюирование смесью хлороформ–этанол). Элюированием системой растворителей хлороформ–этанол (60:40) выделили *фракции 21–23*. После их объединения, очистки и перекристаллизации получили кристаллы желтого цвета с кремовым оттенком.

3. *Мирицетин (3)*. Мирицетин был получен из выделенного мирицитрина методом кислотного гидролиза. Кислотный гидролиз мирицитрина осуществляли в присутствии 2% хлористоводородной кислоты на кипящей водяной бане в течение 2 ч. Выпавший из кислотного гидролизата осадок светло-желтого цвета отделяли, промывали очищенной водой до нейтральной реакции и подвергали перекристаллизации из водного спирта.

4. *Галловая кислота (4)*. В водных фракциях 104–106 в минорных количествах путем химических превращений выделена галловая кислота.

4.3. Установление химической структуры выделенных соединений

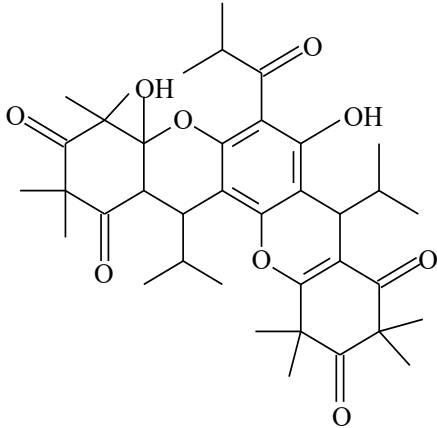

Установление химической структуры и идентификацию выделенных соединений осуществляли с применением спектральных методов: УФ-, ¹H-ЯМР-, ¹³C-ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии. Подлинность и степень чистоты установленных веществ дополнительно подтверждали методом

ВЭЖХ путем сравнения с аттестованными стандартными образцами. Степень чистоты выделенных соединений составила не менее 98,0%.

Регистрацию спектров проводили на оборудовании и с критериями, указанными в разделе 2.2.4. *Методы спектрального исследования.*

1. Миртокоммулон D / Myrtucommulone D ((4aS,8R,14S,14aR)-1,4 а,7-тригидрокси-2,2,4,4,10,10,12,12-октаметил-6-(2-метилпропаноил)-8,14-ди(пропан-2-ил)-1,8,14,14 а-тетрагидрохромено(2,3-а)ксантен-3,9,11-трион).

Аморфное вещество желтого цвета без запаха состава $C_{38}H_{50}O_9$, λ_{max} EtOH 206, 230 пл., 292 нм (рис. 16, 17). Нерастворимо растворимо в воде, с нагреванием растворимо в этиловом спирте, хорошо растворимо в диэтиловом эфире, ацетоне.

	
<p>Рисунок 16 – Структурная формула миртокоммулона D</p>	<p>Рисунок 17 – Внешний вид порошка миртокоммулона D</p>

1H -ЯМР-спектр (399.78 МГц, DMSO- d_6 , δ , м.д., J/Гц): 8.26 (1H, с, сигнал протона фенольной OH-группы), 1.38-5.12 (8H, м, сигналы 4 алициклических протонов, 3 алифатических протонов и 1 протона алициклической OH-группы), 1,35 (3H, с, CH₃), 1,29 (3H, с, CH₃), 1,24 (3H, с, CH₃), 1,19 (3H, с, CH₃), 1,12 (3H, с, CH₃), 1,07 (3H, с, CH₃), 0,99 (3H, с, CH₃), 0,85 (6H, с, CH₃), 0,82 (6H, с, CH₃), 0,77 (3H, с, CH₃), 0,66 (6H, с, 2CH₃).

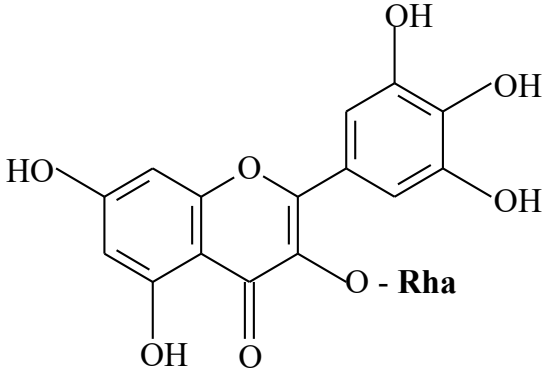
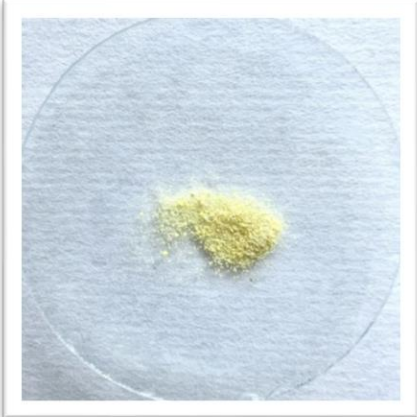
^{13}C -ЯМР-спектр (100.52 МГц, DMSO- d_6 , δ_c , м.д.): 211.22 (C=O), 198.43 (C=O), 179.43 (C=O), 178.20 (2 C=O), 144.33 (C-Ar), 143.56 (C-Ar), 138.69 (C-Ar), 131.59 (C-Ar), 125.11 (C-Ar), 122.05 (C-Ar), 96.50, 79.69, 79.04, 77.36, 55.32,

52.89, 52.17, 47.34, 45.96, 39.03, 38.98, 38.89, 38.84 (сигналы 3 алифатических и 10 алициклических углеродных атомов), 38.76 (CH₃), 37.04 (CH₃), 30.90 (CH₃), 30.72 (CH₃), 28.77 (CH₃), 28.06 (CH₃), 27.50 (CH₃), 24.24 (CH₃), 23.78 (CH₃), 21.60 (CH₃), 17.53 (CH₃), 17.41 (CH₃), 16.59 (CH₃), 15.74 (CH₃) (Приложение №3, рис. 7).

Масс-спектр: HR-ESI-MS m/z 649.37 [M-H]⁻ (Приложение №4, рис. 8).

Приведенная брутто-формула миртокоммулона D, выделенного ранее зарубежными учеными, а также результаты масс-спектрометрии соответствуют данным, описанным в литературе [93, 109, 198]. В литературе, в том числе справочной, отсутствуют данные ЯМР-спектроскопии для миртокоммулона D.

2. Мирицитрин / Myricitrin (мирицетин-3-*O*- α -L-рамнопиранозид, 3,5,7,3',4',5'-гексагидроксифлавоон 3-*O*-рамнозид, мирицетин 3-*O*- α -L-рамнопиранозид, мирицетин 3-*O*-рамнозид, мирицитрозид, 3,5,7,3',4',5'-Hexahydroxyflavone 3-*O*-rhamnoside, Myricetin 3-*O*- α -L-rhamnopyranoside, Myricetin 3-*O*-rhamnoside, Myricitroside) (рис. 18, 19).

	
<p>Рисунок 18 – Структурная формула мирицитрина</p>	<p>Рисунок 19 – Внешний вид порошка мирицитрина</p>

Кристаллическое вещество светло-желтого цвета состава C₂₁H₂₀O₁₂ с т.пл. 202-205 °С (водный спирт), УФ-спектр (EtOH, λ_{max} , нм): 212, 260, 358; + NaOAc 268, 366; + NaOAc + H₃BO₃ 260, 382; +AlCl₃ 278, 416; +AlCl₃ + HCl

270, 406. Плохо растворимо в воде, легко растворимо в этиловом, метиловом спирте, ацетоне, диметилсульфоксиде (ДМСО).

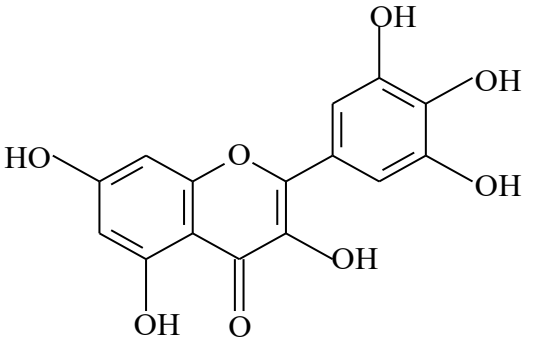

¹H-ЯМР-спектр (399,78 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J/Гц): 12,64 (1H, с, 5-OH-группа), 10,79 (1H, уш. С, 7-OH-группа), 9,19 (3H, уш. С, 3'-OH-группа, 4'-OH-группа и 5'-OH-группа), 6,84 (2H, с, H-2' и H-6'), 6,33 (1H, д, 2,5 Гц, H-8), 6,16 (1H, д, 2,5 Гц, H-6), 5,16 (1H, д, 1,5 Гц, H-1'' равнозы), 3,11-4,89 (м, 4H равнозы), 0,81 (3H, д, 6 Гц, CH₃ равнозы) (Приложение №4, рис. 9).

¹³C-ЯМР спектр (100,52 МГц, DMSO-d₆, δC, м.д.): 178,30 (C-4), 164,24 (C-7), 161,83 (C-5), 158,01 (C-2), 156,93 (C-9), 146,29 (C-3' и C-5'), 136,98 (C-4'), 134,79 (C-3), 120,12 (C-1'), 108,41 (C-2' и C-6'), 104,54 (C-10), 102,45 (C-1'' равнозы), 99,19 (C-6), 94,05 (C-8), 71,78 (C-3''), 71,08 (C-5''), 70,89 (C-4''), 70,53 (C-2''), 18,05 (C-6'' - CH₃) (Приложение №3, рис. 6).

Масс-спектр (HR-ESI-MS, 180°C, *m/z*): *m/z* 465,1028 [M+H]⁺, *m/z* 487,0847 [M+Na]⁺, *m/z* 503,0586 [M+K]⁺ (Приложение №4, рис. 10).

3. Мирицетин / Myricetin (3,3',4',5,5',7-гексагидроксифлавоон, 3,3',4',5,5',7-Нexahydroxyflavone, Myricetol) (рис. 20, 21).

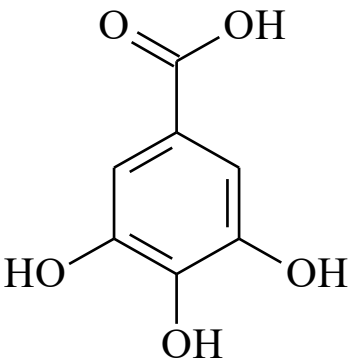
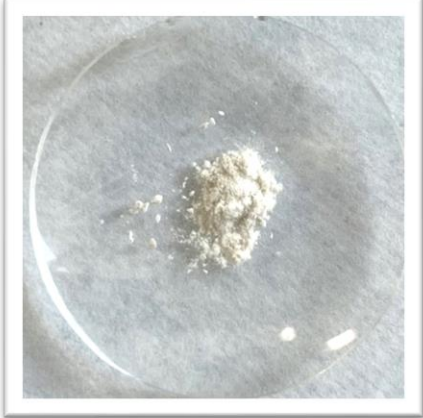
Кристаллическое вещество светло-желтого цвета состава C₁₅H₁₀O₈. Т.пл. 357°C (водный спирт), УФ-спектр (EtOH, λ_{max}, нм): 254, 377; + NaOAc 275, 382; + NaOAc + H₃BO₃ 258, 392; +AlCl₃ 266, 440; +AlCl₃ + HCl 266, 440.

	
Рисунок 20 – Структурная формула мирицетина	Рисунок 21 – Внешний вид порошка мирицетина

Плохо растворимо в воде, легко растворимо в этиловом, метиловом спирте, ацетоне, диметилсульфоксиде (ДМСО).

Масс-спектр: HR-ESI-MS m/z 316.68 [M-H]⁻ (Приложение №4, рис. 11).

4. Галловая кислота / Gallic acid (3,4,5-тригидроксибензойная кислота, 3,4,5-триоксибензойная кислота, 3,4,5-Trihydroxybenzoic acid) (рис. 22, 23).

	
Рисунок 22 – Структурная формула галловой кислоты	Рисунок 23 – Внешний вид порошка галловой кислоты

Бесцветное кристаллическое вещество, темнеющее на свету, без запаха состава $C_6H_2(OH)_3COOH$; т.пл. $240^{\circ}C$ (с разложением). М.г. 170.12 г/моль. Хорошо растворимо в горячей воде, этиловом спирте, глицерине, ацетоне, плохо растворимо в холодной воде, диэтиловом эфире, нерастворимо в хлороформе, бензоле. УФ-спектр (EtOH, λ max, нм): 275, 305.

Проведенный спектрофотометрический анализ позволил выявить, что выделенные из листьев мирта обыкновенного индивидуальные соединения вносят вклад в характер кривой оптического поглощения в УФ области настойки листьев мирта обыкновенного (рис. 24А, 24В).

Соответственно, фитохимический скрининг листьев мирта обыкновенного с применением адсорбционной колоночной хроматографии позволил выделить ряд индивидуальных соединений, чья химическая структура была установлена с использованием спектральных методов анализа.

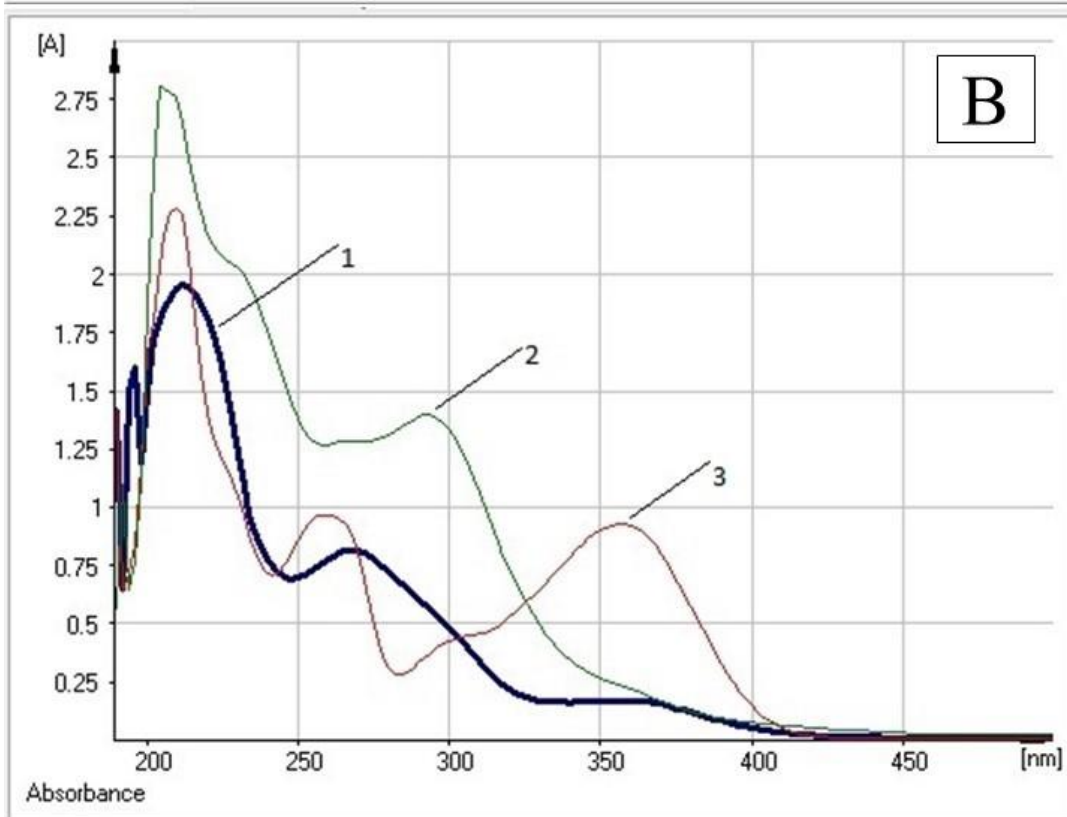
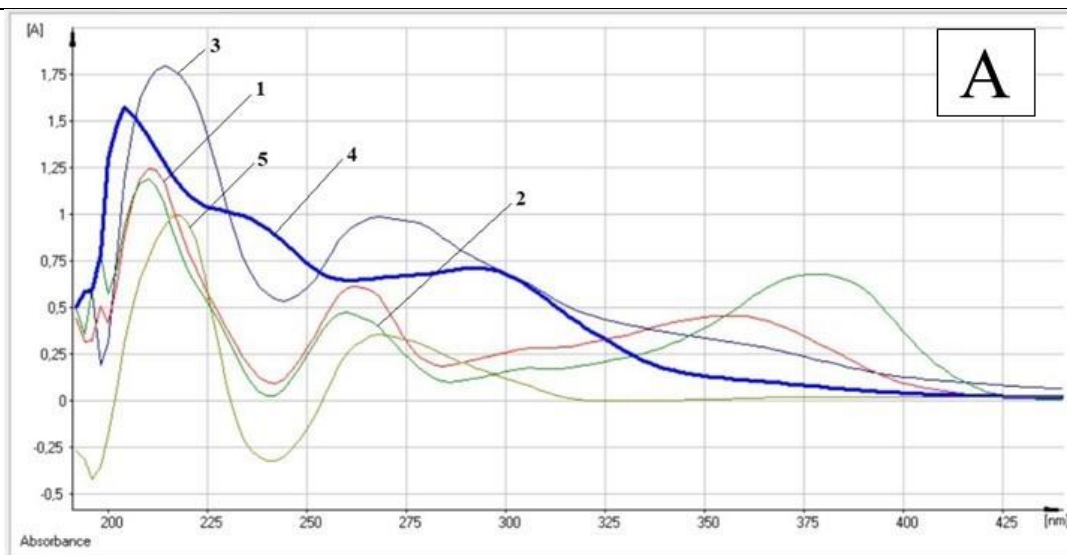


Рисунок 24 – Спектры оптического поглощения в УФ области спиртовых растворов

Обозначения **A**: **1** – настойка листьев *Myrtus communis* 70%;

2 – мирицитрин; **3** – мирицетин; **4** – миртокоммулон D; **5** – галловая кислота.

Обозначения **B**: **1** – настойка листьев *Myrtus communis* 70%;

2 – миртокоммулон D; **3** – мирицитрин.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4

1. Из листьев мирта обыкновенного российского происхождения методом адсорбционной колоночной хроматографии впервые выделен доминирующий флавоноид – мирицитрин (мирицетин-3-*O*- α -L-рамнопиранозид). Структурная идентификация выделенного соединения была осуществлена УФ-, ¹H-ЯМР, ¹³C-ЯМР-спектроскопией и масс-спектрометрией.

2. Впервые методом адсорбционной колоночной хроматографии из листьев мирта обыкновенного российского происхождения выделено индивидуальное соединение – миртокоммулон D. Структура соединения выделенного вещества, принадлежащего к классу флороглюцинов, подтверждена комплексом спектральных методов: УФ-, ¹H-ЯМР-, ¹³C-ЯМР-спектроскопией и масс-спектрометрией.

3. Мирицетин был получен из выделенного мирицитрина путем кислотного гидролиза. Структура соединения была подтверждена УФ-, ¹H-ЯМР-, ¹³C-ЯМР-спектроскопией и масс-спектрометрией.

4. В листьях мирта обыкновенного идентифицирована галловая кислота методом ВЭЖХ путем сравнения с аттестованным стандартным образцом.

5. Подлинность и степень чистоты выделенных веществ дополнительно подтверждали методом ВЭЖХ путем сравнения с аттестованными стандартными образцами. Степень чистоты выделенных соединений составила не менее 98,0%.

5. Полученные в ходе диссертационного исследования экспериментальные данные о фитохимическом составе отечественного сырья мирта обыкновенного (*Myrtus communis* L.) легли в основу разработки и валидации методов его стандартизации. На их базе были установлены регламентируемые числовые показатели качества, что позволило сформировать проект фармакопейной статьи на новый вид лекарственного растительного сырья «Мирта обыкновенного листа».

ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА МЕТОДИК КАЧЕСТВЕННОГО И КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА ЛИСТЬЕВ МИРТА ОБЫКНОВЕННОГО (*MYRTUS COMMUNIS* L.)

Листья мирта обыкновенного, содержащие широкий спектр БАВ, представляют собой значительный интерес в качестве нового вида ЛРС в Российской Федерации ввиду актуальной государственной повестки импортозамещения, стратегии на развитие отечественной медицинской и фармацевтической промышленности, увеличению объема производства отечественных ЛП [27, 127].

Стандартизация растительного сырья играет ключевую роль при включении нового вида растения в Государственную фармакопею Российской Федерации, обеспечивая качество, подлинность, безопасность, эффективность и воспроизводимость ЛРП на основе данного растительного сырья, является основой для получения активной фармацевтической субстанции (API) растительного происхождения, соответствующей критериям для производства ЛС и БАД на его основе [23].

Данный раздел посвящен разработке и валидации методик качественного и количественного определения основных групп БАВ в листьях *Myrtus communis* с применением комплекса аналитических методов: классических (химические реакции) и современных инструментальных (хроматографических и спектрофотометрических).

5.1. Качественный анализ пробирочными химическими методами

Флавоноидные соединения в растительном сырье мирта обыкновенного обнаруживают качественными реакциями [29, 133]. Для этих целей применяют цианидиновую реакцию, а также реакции с боргидратом натрия, хлоридом железа (III), хлоридом циркония, щелочным раствором и другими реактивами. Основные характерные качественные реакции на диагностически значимые группы БАВ приведены в таблице 10.

Таблица 10 – Качественные химические реакции на группы биологически активных веществ листьев мирта обыкновенного

№ п/п	Реактивы (реакция)/группа БАВ	Описание методики	Аналитический эффект
1.	1% раствор ванилина / катехины, производные флороглюцина [29]	К ~2 мл водно-спиртового извлечения добавляют 2 мл 1% спиртового раствора ванилина в концентрированной хлористоводородной кислоте	Малиново-красная окраска раствора
2.	3% раствор хлорида алюминия (III) / фенольные соединения [36, 133]	К ~2 мл водно-спиртового извлечения добавляют 2 мл 3% спиртового раствора алюминия (III) хлорида (AlCl ₃)	Желтая окраска раствора. Люминесценция раствора в УФ-свете
3.	Щелочной гидролиз / фенольные соединения [36, 133]	К ~2 мл извлечения добавляют 2 мл 2% водного раствора гидроксида натрия или калия (NaOH или KOH) или 10% водного раствора аммиака (NH ₃)	Желтое окрашивание раствора, при нагревании переходящее в оранжевое/красное
4.	Щелочной раствор ДСК / фенольные соединения [36, 133]	К ~2 мл водно-спиртового извлечения добавляют 1–2 капли раствора ДСК.	Темно-желтое окрашивание раствора
5.	Цианидиновая проба или проба Шинода / флавоноиды [29, 133]	К ~2 мл водно-спиртового извлечения добавляется магний (Mg) в концентрированной хлористоводородной кислоте	Красное или розовое окрашивание раствора
6.	Цианидиновая реакция по Брианту / флавоноиды [29, 133]	К окрашенному раствору продукта цианидиновой реакции прибавляют равный объем <i>n</i> -октанола (CH ₃ (CH ₂) ₇ OH) и взбалтывают	Темно-коричневое окрашивание раствора
7.	5% раствор алюминия хлорида (III) и 2% раствор циркония хлорида (III) / флавоноиды [29, 133]	К ~2 мл извлечения добавляют 2 мл 5% спиртового раствора AlCl ₃ и 2% спиртового раствора циркония хлорида (III) (ZrCl ₃)	Желтое окрашивание раствора
8.	Реакция кислотного гидролиза /	К ~5 мг порошка гликозида добавляют ~3 мл 3–5% раствора хлористоводородной кислоты с	Выпадение кристаллического осадка

	<i>флавоноловые гликозиды</i> [36, 133]	последующим нагреванием на водяной бане в течение 1 ч	
9.	Борно-лимонная реакция (реакция Вильсона) / <i>5-оксифлавоны и 5-оксифлавонолы</i> [29]	К ~2 мл водно-спиртового извлечения добавляют 1 мл 3% спиртового раствора борной кислоты (H_3BO_3) и 1 мл 3% водного раствора лимонной кислоты ($C_6H_8O_7$)	Ярко-желтое окрашивание раствора с желто-зеленой флуоресценцией в УФ-свете
10.	10% раствор хлорида сурьмы (III) / <i>5-оксифлавоны и 5-оксифлавонолы</i> [29]	К ~2 мл водно-спиртового извлечения добавляют 2 мл 10% спиртового раствора сурьмы (III) хлорида ($SbCl_3$)	Желтая или красная окраска раствора

Разработанная система качественного анализа на основе пробирочных цветных реакций обеспечивает получение первичных диагностических маркеров, описывающих ожидаемый аналитический эффект водно-спиртовых экстрактов из листьев мирта обыкновенного на специфичные реактивы.

5.2. Качественный анализ методами тонкослойной хроматографии и УФ-спектрофотометрии

В рамках решения задачи стандартизации нового вида лекарственного растительного сырья впервые разработана методика ТСХ (см. раздел 2.2.3. *Хроматографические методы анализа*) и УФ-спектрофотометрии (см. раздел 2.2.4. *Спектральные методы анализа*) для качественного анализа экстракционных препаратов из листьев мирта обыкновенного. Метод основан на детекции ранее идентифицированных и установленных в качестве диагностически значимых соединений: флавоноида мирицитрина и флороглюцина миртокоммулона D [47–49, 129]. В качестве нового подхода для детекции предложено применение стандартных образцов указанных веществ в качестве «свидетелей» (маркерных соединений), что обеспечивает специфичность и достоверность анализа (рис. 25).

При анализе настойки листьев *Myrtus* методом ТСХ в системе растворителей хлороформ–этанол–вода (25:18:2, об.) были выявлены

хроматографические зоны, соответствующие по значениям R_f СО мирицитрина (0,40), миртокоммулона D (0,68), что подтверждает наличие данных соединений в исследуемом образце (рис. 25).

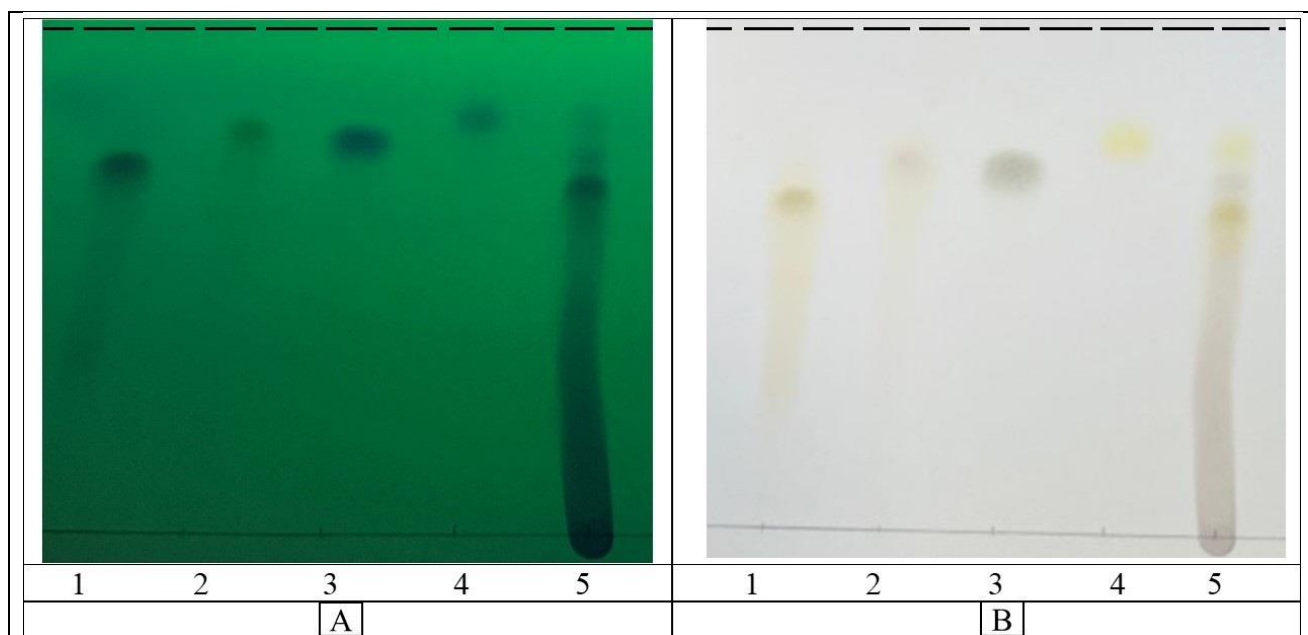


Рисунок 25 – ТСХ-анализ фракций из листьев мирта обыкновенного. Система растворителей: хлороформ–этанол–вода (25:18:2, об.). **А** – хроматограмма в УФ-свете ($\lambda=254$ нм); **В** – хроматограмма в видимом свете после проявления щелочным раствором ДСК.

Обозначения: 1 – мирицитрин; 2 – мирицетин; 3 – галловая кислота;

4 – миртокоммулон D; 5 – настойка листьев мирта обыкновенного 70%

Методика идентификации индивидуальных соединений в сырье и экстракционных препаратах мирта обыкновенного методом тонкослойной хроматографии. На линию старта аналитической хроматографической пластинки (силикагель) с помощью микропипетки наносят пробы (~20 мкл): водно-спиртовое извлечение из листьев мирта обыкновенного, спиртовые растворы стандартных образцов мирицитрина и миртокоммулона D. Нанесенные пробы фиксируют 96% этанолом. После высушивания пластинку помещают в хроматографическую камеру, предварительно насыщенную парами подвижной фазы – смеси хлороформ–этанол–вода (25:18:2, об.), и хроматографируют восходящим способом. По достижении фронтом элюента расстояния ~8 см (90%) от длины пластинки ее

извлекают, высушивают для удаления остатков растворителей и подвергают последовательной детекции: 1. Просмотр в УФ-свете при $\lambda=254$ нм и в видимом свете [36]. 2. Обработка 3% спиртовым раствором $AlCl_3$ с последующим просмотром в УФ-свете при $\lambda=365$ нм [36]. 3. Обработка щелочным раствором ДСК с последующим просмотром в видимом свете. Основные аналитические параметры и наблюдаемые визуальные эффекты при использовании указанных методов детекции приведены в таблице 11.

Таблица 11 – Методы детекции при ТСХ-анализе

Метод детекции	Параметры анализа и наблюдаемые эффекты
Детекция в видимом свете (до и после проявления щелочным раствором ДСК) [36]	<p><u>До проявления:</u> Зоны адсорбции желтого цвета на уровне <i>СО мирицитрина</i> и <i>СО миртокоммулона D</i>.</p> <p><u>После проявления:</u> - зона адсорбции, соответствующая <i>СО мирицитрина</i> – желто-оранжевого цвета; - зона адсорбции, соответствующая <i>СО миртокоммулона D</i> – светло-желтого цвета.</p>
Детекция при $\lambda=254$ нм [36]	Зоны адсорбции ярко-зеленого и бело-голубого цвета.
Детекция при $\lambda=365$ нм (до и после проявления 3% спиртовым раствором $AlCl_3$) [36]	<p><u>До проявления:</u> - зона адсорбции, соответствующая <i>СО мирицитрина</i> – темно-коричневого цвета; - зона адсорбции, соответствующая <i>СО миртокоммулона D</i> – желтого цвета.</p> <p><u>После проявления:</u> - зона адсорбции, соответствующая <i>СО мирицитрина</i> – свечение ярко-желтого цвета; - зона адсорбции, соответствующая <i>СО миртокоммулона D</i> – зелено-синее свечение.</p>

Следовательно, полученные ТСХ-данные служат обоснованием выбора индивидуальных веществ мирицитрина и миртокоммулона D в качестве маркерных соединений (стандартных образцов) для оригинального метода качественного контроля подлинности экстракционных препаратов из листьев мирта обыкновенного, в том числе российского происхождения.

5.3. Усовершенствование методики количественного определения суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного

Имеется методика количественного определения суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного российского происхождения в пересчете на рутин с использованием дифференциальной спектрофотометрии при аналитической длине волны 414 нм [34]. В данной методике установлено, что содержание суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного варьирует от $2,48 \pm 0,12\%$ до $3,64 \pm 0,15\%$ [34]. Однако, с учетом того, что доминирующим флавоноидом в *Myrtus communis* является мирицитрин [32, 47], в ходе диссертационного исследования были уточнены параметры методики и проведена валидация в соответствии с требованиями ГФ РФ XV изд. [15]. С целью совершенствования методики количественного определения суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного проводилось спектрофотометрическое детектирование и анализ УФ-спектров водно-спиртовых извлечений из листьев *Myrtus communis*, используя стандартный образец мирицитрина [35].

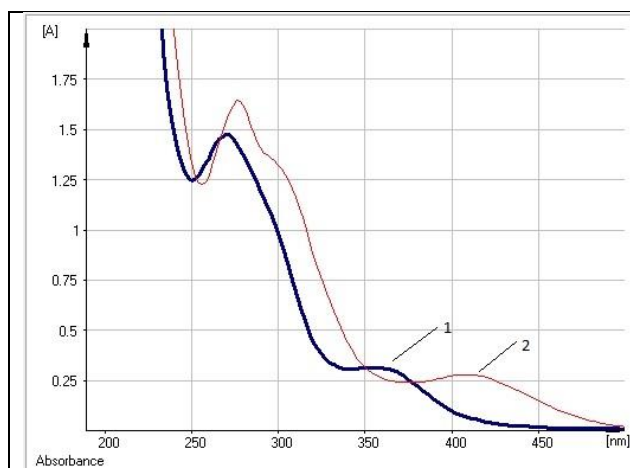


Рисунок 26 – Электронные спектры растворов 80% водно-спиртового извлечения из листьев *Myrtus communis*. Обозначения: 1 – раствор извлечения; 2 – раствор извлечения с добавлением $AlCl_3$

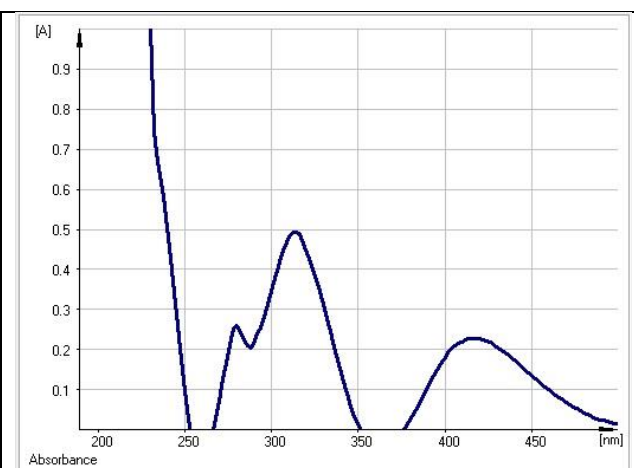
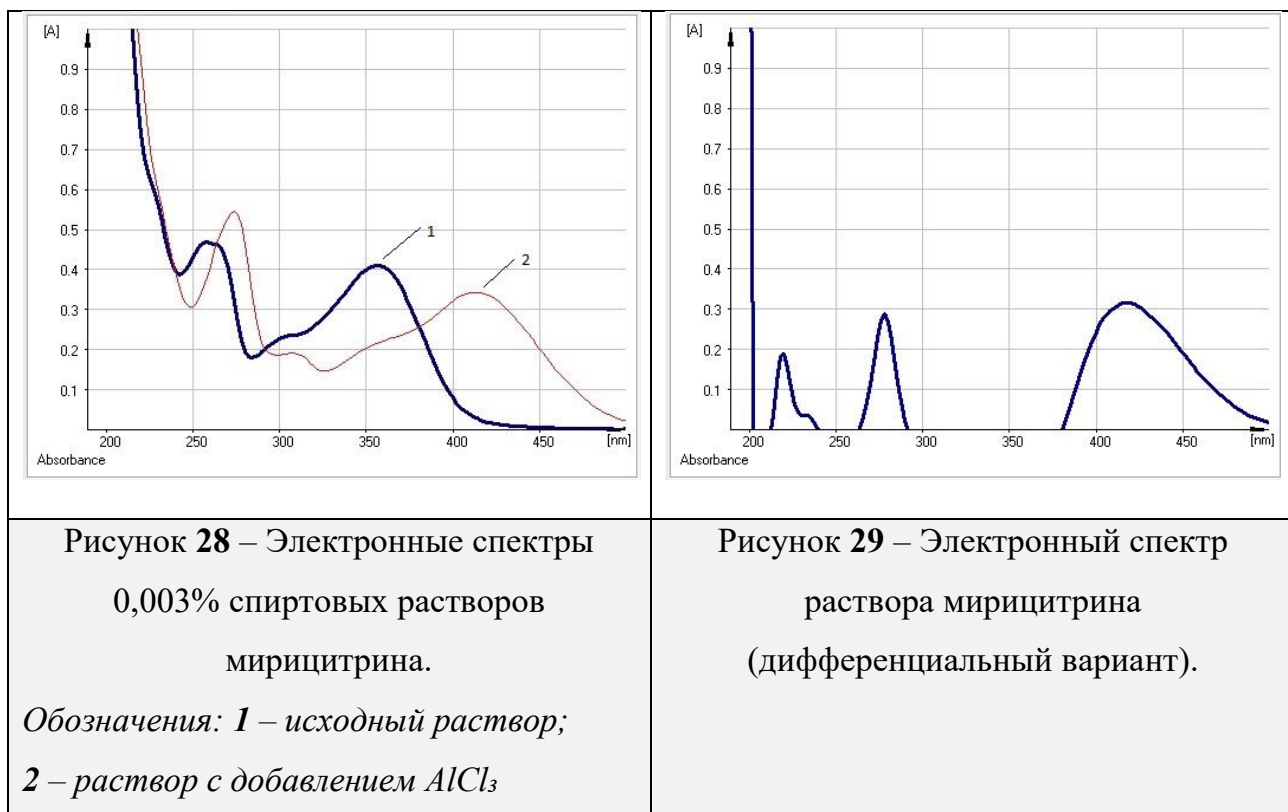


Рисунок 27 – Электронный спектр раствора 80% водно-спиртового извлечения из листьев *Myrtus communis* (дифференциальный вариант).

При сравнении электронных спектров водно-спиртовых извлечений из листьев мирта обыкновенного обнаруживаются характерные для флавоноидов [36], в частности, флавонолов, два максимума поглощения около 260 нм и 360 нм, что подтверждается батохромным сдвигом длинноволновой полосы в присутствии алюминия хлорида (III) и данными дифференциальных спектров с максимумом поглощения в области 410-420 нм (рис. 26, 27) [35].

Нами было выявлено, что выделенный из листьев мирта обыкновенного флавоноид во многом определяет характер кривой поглощения водно-спиртового извлечения из листьев мирта обыкновенного, а значит, является доминирующим (рис. 28) и диагностически значимым веществом для данного вида сырья, что соответствует литературным данным [85].



Принимая во внимание тот факт, что максимумы поглощения раствора выделенного флавоноида и водно-спиртового извлечения листьев мирта имеют длину волны 418 нм (дифференциальный вариант), определение содержания суммы флавоноидов в пересчете на доминирующий флавоноид проводилось при аналитической длине волны 418 нм (рис. 27, 29) [35].

В ходе разработки методики ранее определено, что оптимальными параметрами являются: 80% этиловый спирт, соотношение «сырье-экстрагент» – 1:50, время экстракции 90 минут [34], однако аналитическая длина волны в ходе нашего исследования была изменена и составляет 418 нм вместо ранее используемой 414 нм ввиду проведенного эксперимента с добавкой стандартного образца мирицитрина (рис. 30, 31) [35].

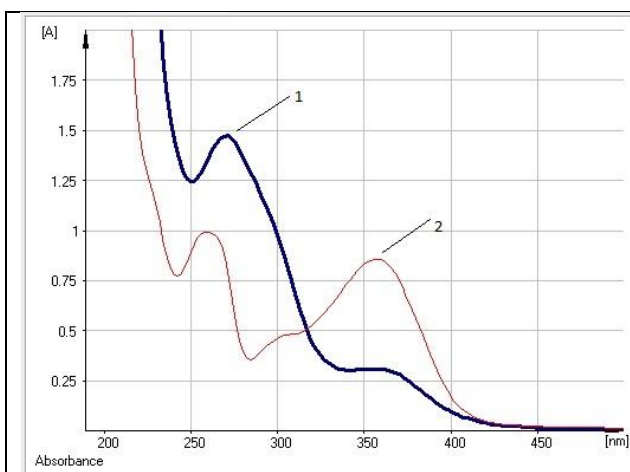


Рисунок 30 – Спектрофотометрический анализ выделенного из *Myrtus communis* флавоноида.

Электронные спектры поглощения в этаноле: кривая 1 – исходное соединение; кривая 2 – соединение в присутствии $AlCl_3$.

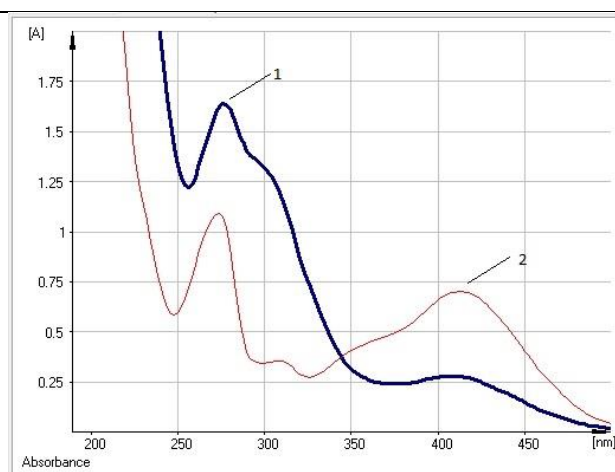


Рисунок 31 – Спектрофотометрический анализ раствора выделенного из *M. communis* флавоноида с добавкой мирицитрина.

Электронные спектры поглощения в этаноле: кривая 1 – раствор; кривая 2 – раствор в присутствии $AlCl_3$.

Методика количественного определения суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного. Аналитическую пробу сырья измельчают до размера 1–2 мм. Около 1 г измельченного сырья (точная навеска) помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл этанола 80%. 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 90 мин. Затем колбу охлаждают в течение 30 мин при комнатной температуре, закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр

(«Красная лента»). Испытуемый раствор для анализа флавоноидов готовят следующим образом: 1 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 2 мл 3% спиртового раствора $AlCl_3$, и доводят объем раствора до метки этанолом 96% (испытуемый раствор А). Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 418 нм через 40 мин после приготовления. Раствор сравнения готовят следующим образом: 1 мл полученного извлечения (1:50) помещают в мерную колбу на 50 мл и доводят объем раствора до метки этанолом 96% [35].

Приготовление раствора стандартного образца мирицитрина. Около 0,004 г (точная навеска) порошка мирицитрина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 15 мл этилового спирта 96% при нагревании на водяной бане. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем раствора этиловым спиртом 96% до метки (раствор А мирицитрина).

В качестве раствора сравнения используют раствор, который готовят следующим образом: 5 мл раствора А мирицитрина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 96% (раствор сравнения Б мирицитрина) [35]. Измеряют оптическую плотность раствора Б на спектрофотометре при $\lambda=418$ нм.

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

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

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

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

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

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

Метрологические характеристики методики количественного определения содержания суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного представлены в таблице 12.

Таблица 12 – Метрологические характеристики методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на мирицитрин в листьях мирта обыкновенного

n	f	\bar{X} , %	S^2	S	$S_{\bar{X}}$	P, %	t (P, f)	ΔX	$\Delta \bar{X}$	E, %	\bar{E} , %
11	10	1,80	0,017	0,130	0,039	95	2,23	±0,29	±0,09	±16,05	±4,84

Результаты статистической обработки проведенных опытов свидетельствуют о том, что ошибка единичного определения суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного с доверительной вероятностью 95% составляет ±16,05% и средняя ошибка определения суммы флавоноидов в пересчете на мирицитрин в листьях мирта обыкновенного с доверительной вероятностью 95% составляет ±4,84% (табл. 12) [35].

Валидационная оценка разработанной методики проводилась по показателям: специфичность, линейность, правильность и прецизионность [11, 15]. Специфичность методики определялась по соответствию максимумов поглощения комплекса флавоноидов в листьях мирта обыкновенного и выделенного доминирующего БАС с $AlCl_3$. Линейность методики определяли для серии растворов мирицитрина (с концентрациями в диапазоне от 0,25 до 1,25 мг/мл). Коэффициент детерминации составил 0,9981 (рис. 32).

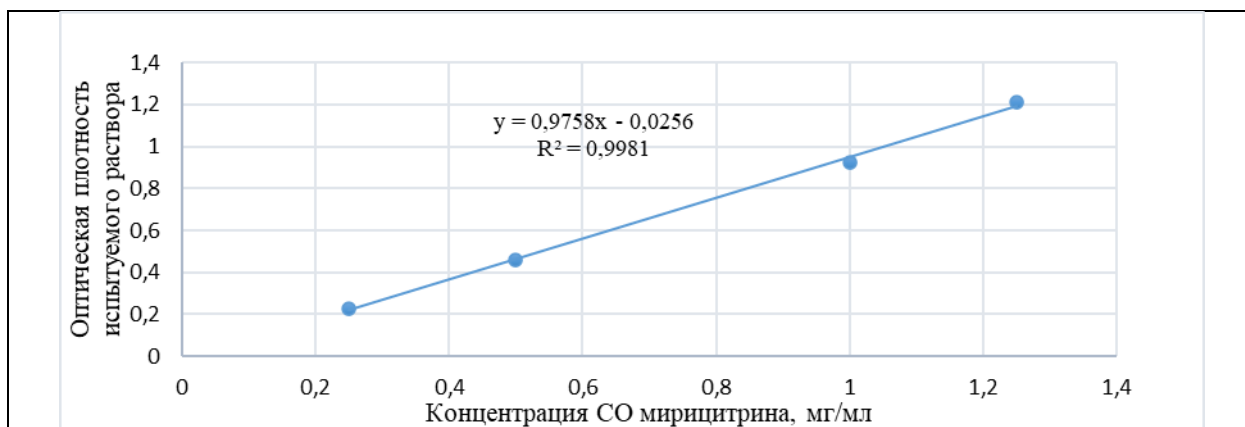


Рисунок 32 – Градуировочный график зависимости оптической плотности испытуемого раствора от концентрации мирицитрина методом спектрофотометрии

Правильность методики определяли методом добавок путем добавления раствора выделенного вещества мирицитрина с известной концентрацией (80%, 100% и 120%) к испытуемому раствору. При этом средний процент восстановления составил 98%. Опыты с добавками СО мирицитрина к навеске сырья показали, что ошибка анализа находится в пределах ошибки единичного определения, что свидетельствует об отсутствии систематической ошибки разработанной методики (табл. 13) [35].

Таблица 13 – Содержание суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного в зависимости от добавления мирицитрина

Исходное содержание суммы флавоноидов, мг/мл	Добавлено мирицитрина, мг/мл	Содержание суммы флавоноидов, мг/мл		Ошибка	
		расчетное	найденное	абсолютная, мг/мл	относительная, %
0,28	0,16	0,44	0,42	-0,02	-4,55
0,28	0,25	0,53	0,56	+0,03	+5,66
0,28	0,40	0,68	0,65	-0,03	-4,41

Следовательно, предложенная методика количественного определения флавоноидов в листьях мирта обыкновенного отвечает параметрам валидации была использована в проекте фармакопейной статьи на новый вид ЛРС «Мирта обыкновенного листа».

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на мирицитрин в листьях *Myrtus communis*, определенное методом дифференциальной спектрофотометрии при аналитической длине волны 418 нм, представлено в таблице 14 и варьирует от $1,57 \pm 0,06\%$ до $1,99 \pm 0,11\%$ [35].

Таблица 14 – Содержание суммы флавоноидов в образцах листьев мирта обыкновенного в зависимости от времени сбора сырья

№ п/п	Образец сырья (место сбора, время сбора)	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на мирицитрин и абсолютно сухое сырье, %
1.	Листья мирта обыкновенного (Никитский Ботанический сад, июнь 2021)	$1,57 \pm 0,06$
2.	Листья мирта обыкновенного (Никитский Ботанический сад, июль 2021)	$1,85 \pm 0,09$
3.	Листья мирта обыкновенного (Никитский Ботанический сад, июль 2022)	$1,99 \pm 0,11$

5.4. Разработка методики количественного определения мирицитрина в листьях мирта обыкновенного

В ходе разработки методики количественного определения мирицитрина в листьях мирта обыкновенного изучены УФ-спектры водно-спиртовых извлечений из данного сырья (рис. 26), а также раствора СО мирицитрина (рис. 28). Как видно из представленных данных, мирицитрин является доминирующим флавоноидом и вносит вклад в кривую поглощения извлечения из листьев мирта в области 360 ± 2 нм. Анализируемое вещество имеет максимум поглощения при длине волны 360 ± 2 нм, которая и была выбрана нами для детекции при проведении ВЭЖХ-анализа [32, 129].

Ранее были определены оптимальные параметры экстракции суммы флавоноидов из листьев мирта обыкновенного [34], которые и были использованы в методике количественного определения мирицитрина в сырье

данного растения методом ВЭЖХ. При этом проведенные нами дополнительные исследования позволили подтвердить, что оптимальным экстрагентом как для определения суммы флавоноидов [35], так и мирицитрина в листьях мирта является 80% этиловый спирт (табл. 15).

Таблица 15 – Содержание суммы флавоноидов в пересчете на мирицитрин в листьях мирта обыкновенного в зависимости от концентрации экстрагента

Концентрация этилового спирта (экстрагента), %	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на мирицитрин и абсолютно сухое сырье, %
60	1,29±0,06
70	1,37±0,04
80	1,48±0,05
90	1,24±0,04

Условия хроматографического разделения. Хроматографический анализ осуществляли методом обращенно-фазовой ВЭЖХ в градиентном режиме на хроматографе «Милихром-6» в следующих условиях: стальная колонка «Separon SGX C18», 2 мм x 80 мм; 5 мкм; ПФ - элюентная система: ацетонитрил (ПФА) – 1% раствор уксусной кислоты (ПФБ), скорость элюирования – 100 мкл/мин, объем элюента – 2500 мкл. Детекцию веществ осуществляли при длине волны 360 нм. Объемы инжестируемых проб 4 мкл [32, 129]. Профиль градиента представлен в таблице 16.

Таблица 16 – Профиль градиента хроматографического разделения

Время, мин	ПФА, %	ПФБ, %
0-7,5	30	70
7,5-15	60	40
15-25	80	20

С целью оценки пригодности хроматографической системы проводили 5-кратное хроматографирование 4 мкл раствора извлечения из листьев мирта обыкновенного. В дальнейшем рассчитывали следующие показатели:

эффективность колонки, разрешение между пиками, фактор асимметрии [32, 129]. В результате расчетов были получены следующие результаты (табл. 17).

Таблица 17 – Оценка эффективности хроматографической колонки

Параметры хроматографической колонки	Формула расчета	Значение показателя	Регламентируемый показатель
Эффективность колонки	$N = \frac{5,54 \cdot t_R^2}{W_{0,5}^2}$, где t_R – время удерживания пика; $W_{0,5}$ – ширина пика на 0,5 высоты	5877	≥ 5000 теоретических тарелок
Разрешение между пиками	$RS = \frac{2 \cdot (t_{R2} - t_{R1})}{(W_2 + W_1)}$, где t_{R1} , t_{R2} – времена удерживания, W_1 , W_2 – ширина пиков образцов при основании	1,68	Не менее 1,5
Фактор асимметрии	$T = \frac{W_{0,05}}{2a}$, где $W_{0,05}$ – ширина пика на высоте 5%; a – расстояние от фронта пика до высоты, измеренное на высоте 5% от основания	1,46	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 мирицитрина в листьях мирта обыкновенного.

Валидационный анализ. Специфичность методики оценивали по соответствию времени удерживания рабочего стандартного раствора мирицитрина и пика на хроматограмме извлечения. Для построения градуировочного графика серию разведения мирицитрина (250–1250 мкг/мл) хроматографировали в описанных условиях. Для определения линейности строили градуировочный график серии разведения мирицитрина (в диапазоне концентраций от 0,25 до 1,25 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 из листьев мирта обыкновенного введением аликвоты образца раствора стандартного образца мирицитрина в количестве от 80% до 120% от исходного содержания [32, 129].

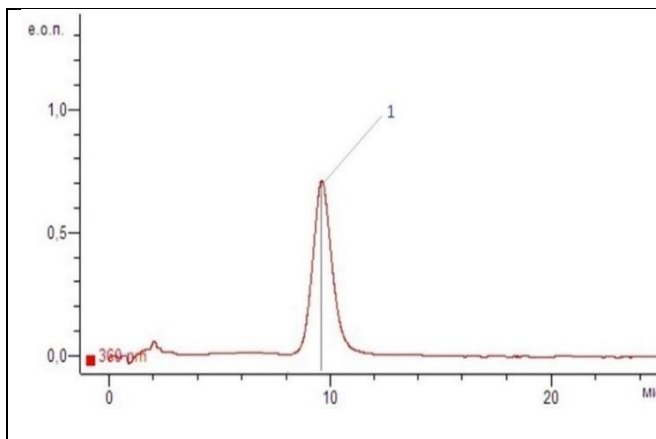


Рисунок 33 – Результат ВЭЖХ-анализа стандартного образца мирицитрина.

Обозначения: 1 – пик мирицитрина

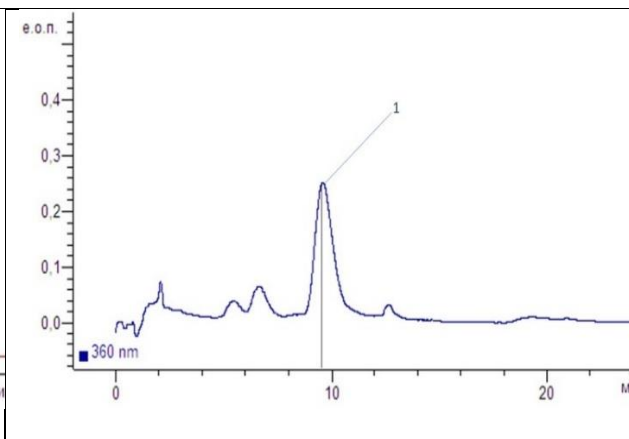


Рисунок 34 – Результат ВЭЖХ-анализа водно-спиртового извлечения из листьев *Myrtus communis* 80%.

Обозначения: 1 – пик мирицитрина

В результате проведения ВЭЖХ-анализа выявлено, что в указанных условиях хроматографирования раствор стандартного образца мирицитрина имеет время удерживания $9,52 \pm 0,02$ мин (рис. 33, табл. 18). В водно-спиртовом извлечении из листьев мирта обыкновенного время удерживания мирицитрина составляет $9,50 \pm 0,04$ мин (рис. 34, табл. 18) [32, 129].

Таблица 18 – Параметры удерживания компонентов водно-спиртового извлечения из листьев *Myrtus* и стандартного образца при ВЭЖХ-анализе

Флавоноид	Время удерживания на хроматограмме, мин	
	Стандартный образец	Извлечение мирта
Мирицитрин (пик 1)	9,52	9,50

На рисунке 35 приводится хроматограмма водно-спиртового извлечения из листьев мирта обыкновенного 80% и хроматограмма водно-спиртового извлечения мирта с добавкой стандартного раствора мирицитрина [32, 129].

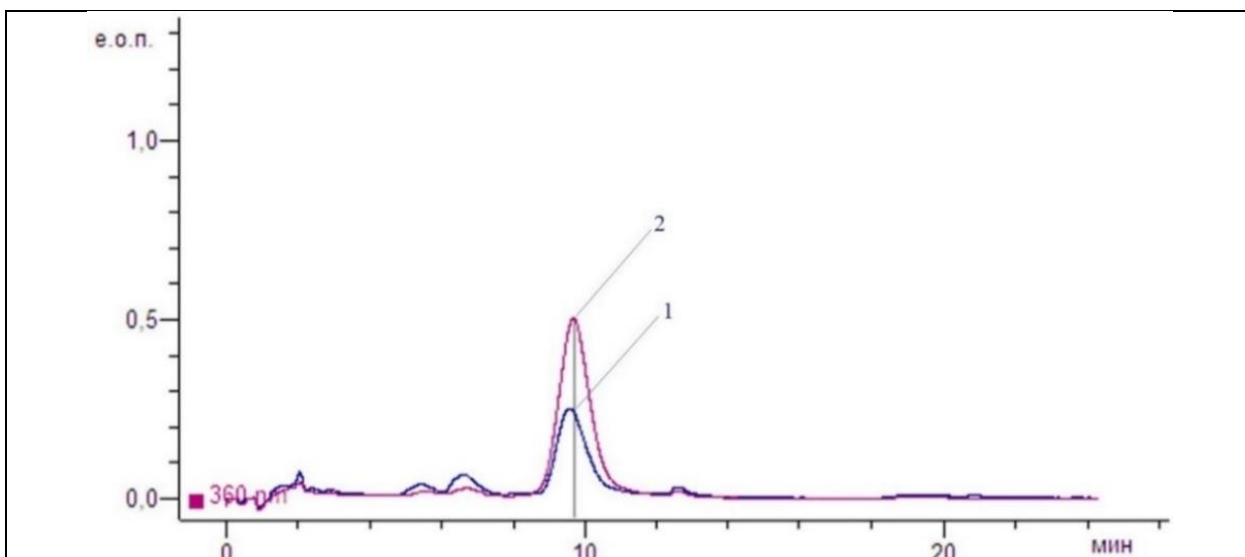


Рисунок 35 – ВЭЖХ-хроматограмма извлечения из листьев мирта обыкновенного 80% с добавлением стандартного образца мирицитрина.
 Обозначения: 1 – извлечение; 2 – извлечение после добавления СО мирицитрина

Зависимость высоты и площади хроматографического пика от концентрации мирицитрина описывалась линейной регрессией в диапазоне концентраций от 0,25 до 1,25 мг/мл (рис. 36). Коэффициент детерминации (R^2) для зависимости высоты пика от концентрации мирицитрина составил 0,7786, для зависимости площади пика от концентрации – 0,9935. Поэтому определение содержания мирицитрина проводили по площади.

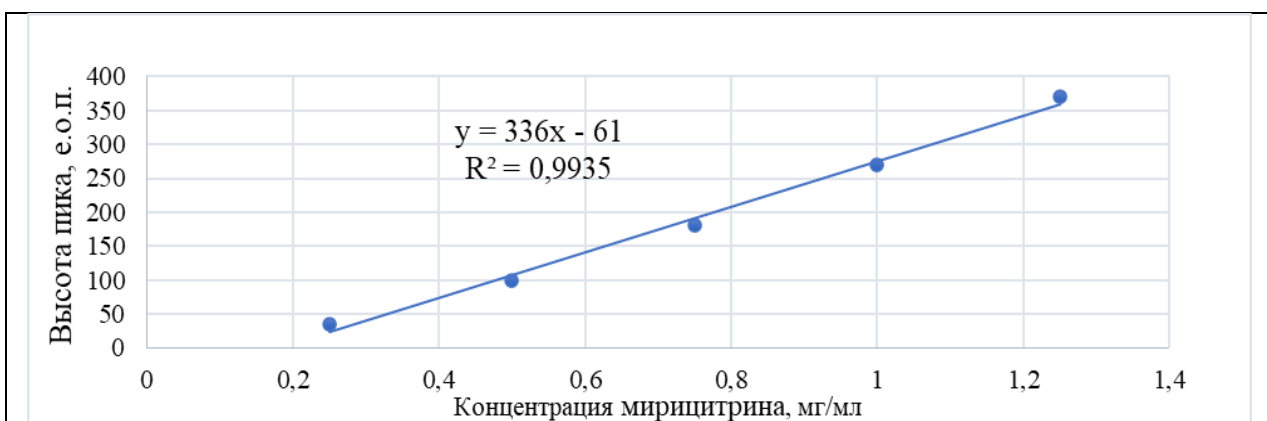


Рисунок 36 – Калибровочный график зависимости высоты пика от концентрации мирицитрина

Правильность методики подтверждали на образце водно-спиртового извлечения из листьев мирта обыкновенного 80% введением аликвоты раствора СО мирицитрина в количестве от 80% до 120% от исходного содержания. Точность методики составила 98,04–103,57% (табл. 19) [32, 129].

Таблица 19 – Результаты оценки правильности методики количественного определения мирицитрина в листьях мирта обыкновенного

Исходное содержание мирицитрина, мг/мл извлечения	Добавлено мирицитрина, мг/мл	Содержание мирицитрина, мг/мл		Ошибка	
		Расчетное	Найденное	Абсолютная, мг/мл	Относительная, %
0,28	0,23	0,51	0,50	-0,01	-1,96
0,28	0,28	0,56	0,58	+0,02	+3,57
0,28	0,33	0,61	0,63	+0,02	+3,28

Методика количественного определения мирицитрина в листьях мирта обыкновенного. Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм. Около 1 г измельченного сырья мирта обыкновенного (точная навеска) помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл 80% этилового спирта. Колбу закрывают пробкой и взвешивают на тарированных весах с точностью до $\pm 0,01$ г. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 60 мин. Затем колбу охлаждают в течение 30 мин, закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр («Красная лента»). Перед хроматографическим анализом дополнительно фильтруют через мембранный фильтр Milipore (0,22 мкм) [32, 129].

В жидкостной хроматограф «Миличром-6» с УФ-детектором вводят 4 мкл полученного раствора. Хроматографируют в условиях обращенно-фазовой хроматографии в градиентном режиме на стальной колонке «Serapon SGX C18», 2 мм x 80 мм; 5 мкм; элюентная система: ацетонитрил (ПФА) – 1% раствор уксусной кислоты (ПФБ), скорость элюирования – 100 мкл/мин, объем пробы испытуемого раствора – 4 мкл. Профиль градиента представлен в таблице 16. Проводят УФ-детектирование при длине волны 360 нм, диапазон чувствительности 0,5. Проводят не менее 3 определений. Параллельно 4 мкл

раствора мирицитрина вводят в хроматограф и хроматографируют, как описано выше. Определяют время удерживания и идентифицируют пик мирицитрина на хроматограмме испытуемого раствора. Вычисляют площадь пика мирицитрина на хроматограмме и рассчитывают среднюю площадь пика по 3 параллельным определениям [32, 129].

Содержание мирицитрина в листьях мирта обыкновенного в пересчете на абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$x = \frac{S \cdot m_0 \cdot V \cdot V_2 \cdot 100 \cdot 100}{S_0 \cdot m \cdot V_0 \cdot V_1 \cdot (100 - W)}$$

где S – среднее значение площади пика мирицитрина испытуемого раствора, вычисленное из хроматограмм раствора испытуемого образца; S_0 – среднее значение площади пика раствора СО мирицитрина, вычисленное из хроматограмм раствора СО мирицитрина; V – объем извлечения, мл; V_2 – объем вводимой пробы раствора испытуемого образца, мкл; V_0 – объем раствора СО мирицитрина, мл; V_1 – объем вводимой пробы раствора СО мирицитрина, мкл; m – масса сырья, г; m_0 – масса СО мирицитрина г; W – потеря в массе при высушивании сырья, %.

Приготовление стандартного раствора мирицитрина. Точную навеску (около 0,004 г) порошка мирицитрина переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют при нагревании в 15 мл этанола 96% и доводят объем раствора до метки тем же растворителем.

С использованием разработанной методики определено, что содержание мирицитрина в листьях мирта обыкновенного варьирует от 0,98±0,02% до 1,51±0,07% в зависимости от времени сбора сырья (табл. 20) [32, 129].

Таблица 20 – Содержание мирицитрина в листьях мирта обыкновенного

№	Характеристика сырья (место, время сбора)	Содержание мирицитрина, %
1.	Листья мирта обыкновенного (Никитский Ботанический сад, июнь 2021)	0,98±0,02
2.	Листья мирта обыкновенного (Никитский Ботанический сад, июль 2021)	1,51±0,07
3.	Листья мирта обыкновенного (Никитский Ботанический сад, июль 2022)	1,27±0,03

Метрологические характеристики разработанной методики ВЭЖХ-анализа свидетельствуют о том, что ошибка единичного определения содержания мирицитрина в листьях мирта обыкновенного с доверительной вероятностью 95% составляет $\pm 15,81\%$ и средняя ошибка определения содержания мирицитрина в листьях мирта обыкновенного с доверительной вероятностью 95% составляет $\pm 4,77\%$ (табл. 21) [32, 129].

Таблица 21 – Метрологические характеристики методики количественного определения мирицитрина в листьях мирта обыкновенного

n	f	$\bar{X}, \%$	S^2	S	$S_{\bar{X}}$	P, %	t (P, f)	ΔX	$\Delta \bar{X}$	E, %	$\bar{E}, \%$
11	10	1,51	0,011	0,107	0,032	95	2,23	$\pm 0,24$	$\pm 0,07$	$\pm 15,81$	$\pm 4,77$

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют о целесообразности стандартизации листьев *Myrtus communis* путем определения содержания доминирующего и диагностически значимого флавоноида – мирицитрина с использованием метода ВЭЖХ и детектированием на УФ-детекторе при длине волны 360 нм [32, 129].

5.5. Разработка методики количественного определения мирицитрина в экстракционных препаратах из листьев мирта обыкновенного

Мирицитрин имеет максимум поглощения при $\lambda=360$ нм, которая и была выбрана для детекции в ВЭЖХ-анализе. Данная длина волны оптимальна согласно результатам проведенных исследований ранее [32, 129].

Условия хроматографического разделения. Хроматографический анализ осуществляли методом обращенно-фазовой ВЭЖХ в градиентном режиме на хроматографе «Милихром-6» в следующих условиях: стальная колонка «Separon SGX C18», 2 мм x 80 мм; 5 мкм; ПФ - элюентная система: ацетонитрил (ПФА) – 1% раствор уксусной кислоты (ПФБ), скорость элюирования – 100 мкл/мин, объем элюента – 2500 мкл. Детекцию веществ осуществляли при длине волны 360 нм. Объемы инжестируемых проб 4 мкл. Профиль градиента представлен в таблице 22 [49].

Таблица 22 – Профиль градиента хроматографического разделения

Время, мин	ПФА, %	ПФБ, %
0-10	20	80
10-20	30	70
20-25	60	40

С целью оценки пригодности хроматографической системы проводили 5-кратное хроматографирование 4 мкл раствора испытуемого препарата листьев мирта. В дальнейшем рассчитывали следующие показатели: эффективность колонки, разрешение между пиками, фактор асимметрии. В результате расчетов были получены следующие результаты (табл. 23).

Таблица 23 – Оценка эффективности хроматографической колонки

Параметры хроматографической колонки	Формула расчета	Значение показателя	Регламентируемый показатель
Эффективность колонки	$N = \frac{5,54 \cdot t_R^2}{W_{0,5}^2}$, где t_R – время удерживания пика; $W_{0,5}$ – ширина пика на 0,5 высоты	5765	≥ 5000 теоретических тарелок
Разрешение между пиками	$R_s = \frac{2 \cdot (t_{R2} - t_{R1})}{(W_2 + W_1)}$, где t_{R1} , t_{R2} – времена удерживания, W_1 , W_2 – ширина пиков образцов при основании	1,76	Не менее 1,5
Фактор асимметрии	$T = \frac{W_{0,05}}{2a}$, где $W_{0,05}$ – ширина пика на высоте 5%; a – расстояние от фронта пика до высоты, измеренное на высоте 5% от основания	1,39	Не более 1,5

Полученные данные при хроматографировании позволяют оценить пригодность данной хроматографической системы, и сделать заключение о пригодности данной системы для количественного определения мирцитрина в экстракционных препаратах из листьев *Myrtus communis* [49].

Валидационный анализ методик проводили на примере настойки листьев мирта обыкновенного. Специфичность методики оценивали по соответствию времени удерживания СО мирцитрина и пика на хроматограмме извлечения.

Для определения линейности строили градуировочный график серии разведения мирицитрина (в диапазоне концентраций от 0,25 до 1,25 мг/мл) и хроматографировали в вышеописанных условиях. 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 введением аликвоты образца раствора СО мирицитрина в количестве от 80% до 120% от исходного содержания. Точность методики составила 96,00%–104,41% (табл. 24) [49].

Таблица 24 – Результаты оценки правильности методики количественного определения мирицитрина в настойке *Myrtus communis*

Исходное содержание мирицитрина, мг/мл	Добавлено мирицитрина, мг/мл	Содержание мирицитрина, мг/мл		Ошибка	
		Расчетное	Найденное	Абсолютная, мг	Относительная, %
0,34	0,27	0,61	0,59	-0,02	-3,28
0,34	0,34	0,68	0,71	+0,03	+4,41
0,34	0,41	0,75	0,72	-0,03	-4,00

В результате проведения ВЭЖХ-анализа выявлено, что в указанных условиях хроматографирования раствор СО мирицитрина имеет время удерживания $15,84 \pm 0,03$ мин (рис. 37, табл. 25).

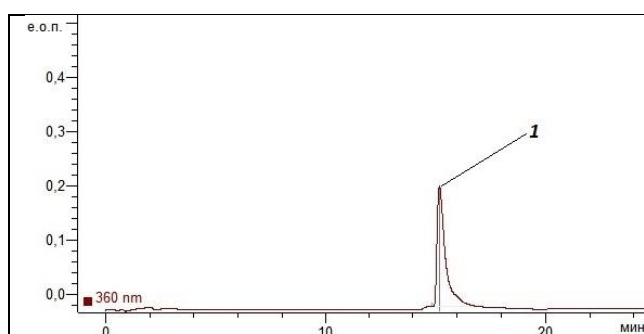


Рисунок 37 – ВЭЖХ-хроматограмма стандартного образца мирицитрина.
Обозначения: 1 – мирицитрин

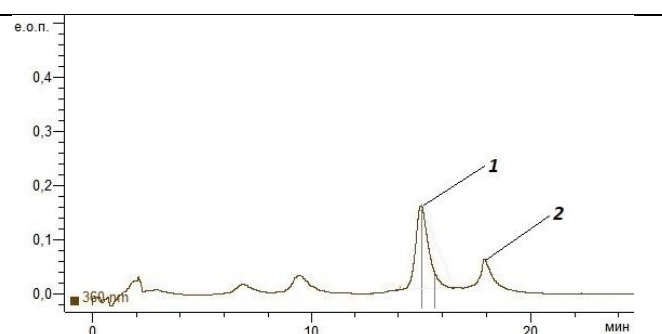


Рисунок 38 – ВЭЖХ-хроматограмма настойки листьев *Myrtus communis*.
Обозначения: 1 – мирицитрин;
2 – мирицетин

В настойке *Myrtus communis* время удерживания мирицитрина составляет $15,76 \pm 0,04$ мин (рис. 38, табл. 25). Кроме того, раствор СО мирицетина имеет время удерживания $17,78 \pm 0,02$ мин, в настойке мирта время удерживания мирицетина составляет $17,71 \pm 0,04$ мин (табл. 25) [49]. Определено, что в ГЭ и настое *Myrtus communis*, как и в случае настойки 70%, доминирующим флавоноидом является мирицитрин [49].

Таблица 25 – Параметры удерживания компонентов экстракционных препаратов *Myrtus communis* и стандартного образца мирицитрина

Флавоноид	Время удерживания на хроматограмме, мин			
	Стандартный образец	Настойка	Настой	Густой экстракт
Мирицитрин (пик 1)	15,84	15,76	15,67	15,88
Мирицетин (пик 2)	17,78	17,71	17,63	17,85

На рисунке 39 приводится хроматограмма настойки листьев мирта и хроматограмма настойки листьев мирта с добавленным СО мирицитрина [49].

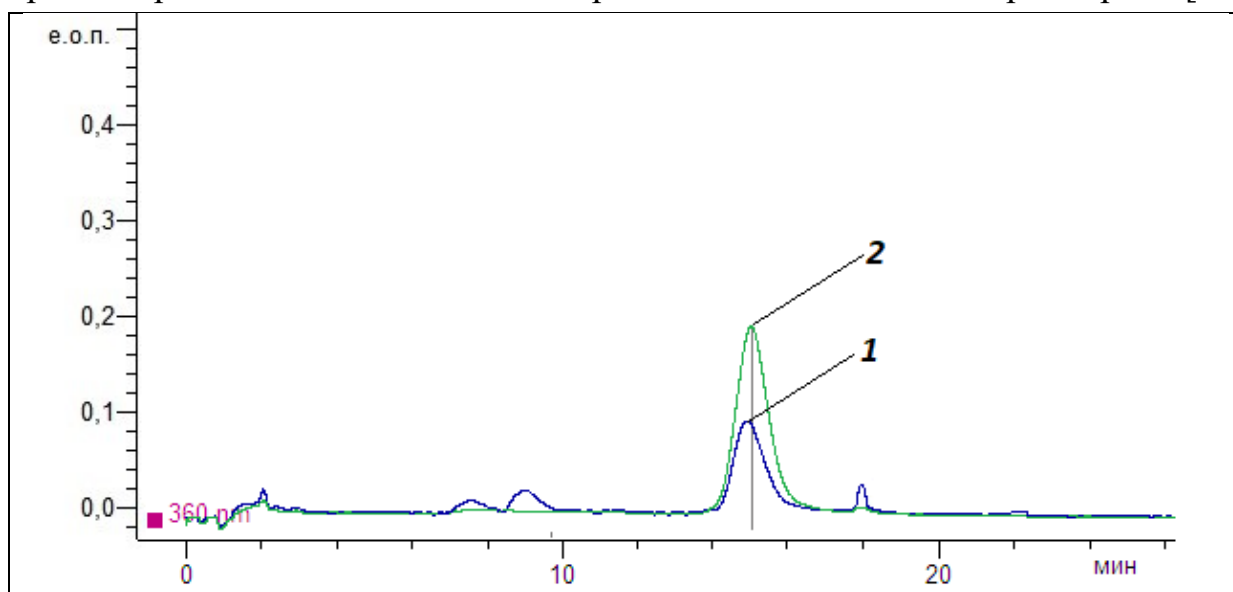


Рисунок 39 – ВЭЖХ-хроматограмма настойки листьев мирта с добавлением стандартного образца мирицитрина.

Обозначения: 1 – настойка листьев мирта обыкновенного; 2 – настойка листьев мирта обыкновенного после добавления СО мирицитрина

Зависимость высоты и площади хроматографического пика от концентрации мирицитрина описывали линейной регрессией в диапазоне концентраций от 0,25 до 1,25 мг/мл (рис. 40) [49].

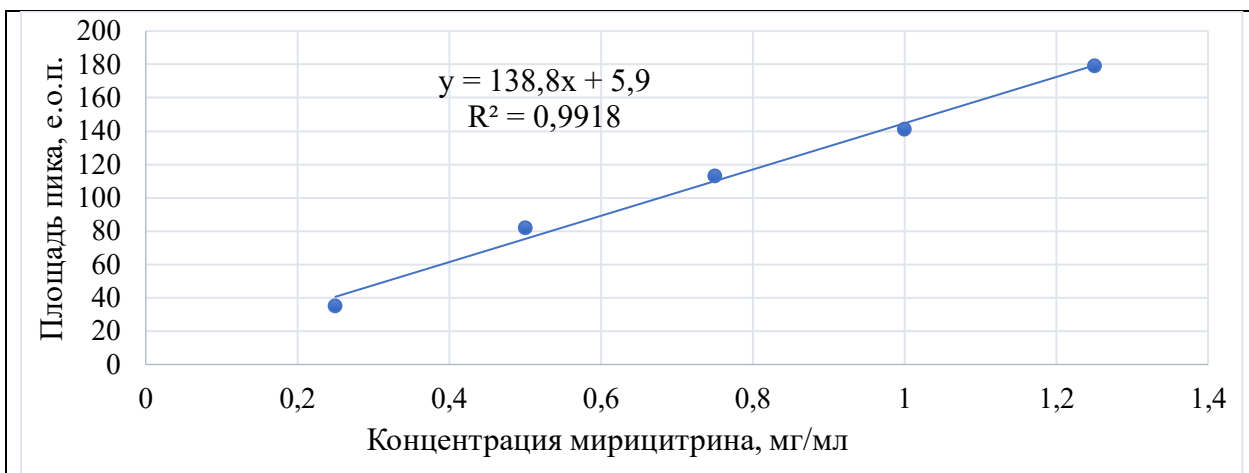


Рисунок 40 – Калибровочный график зависимости высоты пика от концентрации мирицитрина

Коэффициент детерминации для зависимости высоты пика от концентрации мирицитрина составил 0,7988, для зависимости площади (S) пика от концентрации – 0,9918. Поэтому определение содержания мирицитрина проводили с использованием S пика [49].

Методика количественного определения мирицитрина в настойке листьев мирта обыкновенного. 5 мл полученной настойки листьев мирта обыкновенного помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора до метки 70% этиловым спиртом (испытуемый раствор) и фильтруют через мембранный фильтр Milipore (0,22 мкм).

В жидкостной хроматограф «Миличром-6» с УФ-детектором вводят 4 мкл испытуемого раствора. Хроматографируют в условиях обращенно-фазовой хроматографии в градиентном режиме на стальной колонке «Separon SGX C18», 2 мм x 80 мм; 5 мкм; элюентная система: ацетонитрил (ПФА) – 1% раствор уксусной кислоты (ПФБ), скорость элюирования – 100 мкл/мин, объем пробы испытуемого раствора – 4 мкл. Профиль градиента представлен в таблице 22. Проводят УФ-детектирование при длине волны 360 нм, диапазон чувствительности 0,5. Проводят не менее трех параллельных определений.

Параллельно 4 мкл стандартного образца мирицитрина вводят в хроматограф и хроматографируют, как описано выше. Определяют время

удерживания и идентифицируют пик мирицитрина на хроматограмме испытуемого раствора. Вычисляют площадь пика мирицитрина на хроматограмме и рассчитывают среднюю площадь пика по результатам трех определений [49].

Содержание мирицитрина в настойке листьев мирта обыкновенного вычисляют по формуле:

$$x = \frac{S \cdot m_0 \cdot V \cdot V_2 \cdot 100 \cdot 100}{S_0 \cdot V_3 \cdot V_0 \cdot V_1 \cdot 100},$$

где S – среднее значение площади пика мирицитрина испытуемого раствора, вычисленное из хроматограмм раствора испытуемого образца; S_0 – среднее значение площади пика раствора мирицитрина, вычисленное из хроматограмм раствора мирицитрина; V – объем растворителя для разведения испытуемого раствора, мл; V_2 – объем вводимой пробы испытуемого раствора, мкл; V_0 – объем раствора мирицитрина, мл; V_1 – объем вводимой пробы раствора мирицитрина, мкл; V_3 – объем аликвоты настойки, мл; m_0 – масса мирицитрина г.

Приготовление стандартного раствора мирицитрина. Точную навеску (около 0,004 г) порошка мирицитрина переносили в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяли при нагревании в 15 мл этанола с концентрацией 96% и доводили объем раствора до метки тем же растворителем [49].

Методика количественного определения мирицитрина в настое листьев мирта обыкновенного. 5 мл полученного настоя листьев мирта обыкновенного помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора до метки 70% этиловым спиртом (испытуемый раствор) и фильтруют через мембранный фильтр Milipore (0,22 мкм). В жидкостной хроматограф «Милихром-6» с УФ-детектором вводят 4 мкл испытуемого раствора и хроматографируют в вышеописанных условиях обращено-фазовой хроматографии [49]. Расчет содержания мирицитрина в настое из листьев мирта обыкновенного осуществляют по вышеприведенной формуле [49].

Методика количественного определения мирицитрина в ГЭ листьев мирта обыкновенного. Точную навеску (0,1236 г) ГЭ листьев мирта помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 30 мл 70% этанола, доводят объем раствора тем же растворителем до метки (испытуемый раствор) и фильтруют через мембранный фильтр Milipore (0,22 мкм).

В жидкостной хроматограф «Миличром-6» с УФ-детектором вводят 4 мкл испытуемого раствора и хроматографируют в вышеописанных условиях обращено-фазовой хроматографии [49].

Расчет содержания мирицитрина в ГЭ листьев мирта обыкновенного осуществляется по следующей формуле:

$$x = \frac{S \cdot m_0 \cdot V \cdot V_2 \cdot 100 \cdot 100}{S_0 \cdot m \cdot V_0 \cdot V_1 \cdot 100},$$

где S – среднее значение площади пика мирицитрина испытуемого раствора, вычисленное из хроматограмм раствора испытуемого образца; S_0 – среднее значение площади пика раствора мирицитрина, вычисленное из хроматограмм раствора мирицитрина; V – объем растворителя для пробоподготовки, мл; V_2 – объем вводимой пробы испытуемого образца, мкл; V_0 – объем раствора мирицитрина, мл; V_1 – объем вводимой пробы раствора мирицитрина, мкл; m – масса навески ГЭ, г; m_0 – масса мирицитрина г.

Таблица 26 – Метрологические характеристики методики количественного определения мирицитрина в экстракционных препаратах из листьев *Myrtus*

Образец	n	f	$\bar{X},\%$	S^2	S	$S_{\bar{X}}$	P,%	t (P, f)	ΔX	$\Delta \bar{X}$	E,%	$\bar{E},\%$
Настойка	11	10	0,68	0,0002	0,014	0,0042	95	2,23	$\pm 0,31$	$\pm 0,009$	$\pm 1,39$	$\pm 4,61$
ГЭ	11	10	12,75	0,018	0,13	0,04	95	2,23	$\pm 0,30$	$\pm 0,090$	$\pm 0,70$	$\pm 2,33$
Настой	11	10	0,17	0,00002	0,0045	0,0013	95	2,23	$\pm 0,01$	$\pm 0,003$	$\pm 1,77$	$\pm 5,87$

Метрологические характеристики разработанной методики ВЭЖХ-анализа свидетельствуют о том, что ошибка единичного определения содержания мирицитрина в настойке листьев мирта обыкновенного с доверительной вероятностью 95% составляет $\pm 4,61\%$ и средняя ошибка

определения содержания мирицитрина в настойке листьев мирта с доверительной вероятностью 95% составляет $\pm 1,39\%$ (табл. 26) [49].

С использованием разработанных методик определено содержание мирицитрина в настойке, настое и ГЭ листьев мирта обыкновенного $0,68 \pm 0,02\%$, $0,17 \pm 0,01\%$ и $12,75 \pm 0,51\%$ соответственно (табл. 27) [49].

Таблица 27 – Оценка содержания мирицитрина в экстракционных препаратах из листьев мирта обыкновенного

Экстракционный препарат из листьев мирта обыкновенного	Содержание мирицитрина, %
Настойка (1:5)	$0,68 \pm 0,02$
Настой (1:10)	$0,17 \pm 0,01$
Густой экстракт	$12,75 \pm 0,51$

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют о целесообразности стандартизации экстракционных препаратов из листьев мирта обыкновенного (настойка, настой, густой экстракт) по содержанию доминирующего и диагностически значимого флавоноида – мирицитрина с использованием метода ВЭЖХ и детектированием на УФ-детекторе при длине волны 360 нм [49].

5.6. Сравнительный анализ компонентного состава эфирных масел мирта обыкновенного и эвкалипта прутовидного

Основными компонентами ЭМ *Myrtus communis* являются α -пинен, 1,8-цинеол (эвкалиптол), лимонен, миртенилацетат, линалоол [17, 44, 54, 78, 85]. Имеются данные о различии фитохимического состава листьев *Myrtus communis* в зависимости от ареала произрастания [44, 94, 178]. Состав ЭМ фармакопейного растения эвкалипта прутовидного (*Eucalyptus viminalis* Labill.) семейства *Myrtaceae* [15, 17, 23, 148] схож с ЭМ мирта обыкновенного, ввиду чего в эксперименте использовались лабораторные и промышленные образцы ЭМ эвкалипта как возможного примесного вида [53].

Для полученных в лаборатории ЭМ образцов листьев мирта и эвкалипта были определены количественное содержание (по методике 2 ОФС.1.5.3.0010 «Определение содержания эфирного масла в лекарственном растительном сырье...») и цветность (в сравнении со стандартной шкалой цветности по методу 1 ОФС.1.2.1.0006 «Степень окраски жидкостей» ГФ РФ XV изд.) [15, 53], результаты которых приведены в таблице 28.

Таблица 28 – Определение количественного содержания и цветности эфирных масел листьев мирта обыкновенного и эвкалипта прутовидного

№	Объект исследования	Количественное содержание ЭМ, %	Описание цветности эфирного масла
1.	Мирт обыкновенный (Россия) <i>Myrtus communis</i>	0,80±0,03	бледный, светло-желтый
2.	Мирт обыкновенный (Алжир) <i>Myrtus communis</i>	0,86±0,04	бледный, светло-желтый
3.	Эвкалипт прутовидный (Абхазия) <i>Eucalyptus viminalis</i>	1,43±0,05	насыщенный, светло-желтый

Методика определения содержания эфирного масла листьев мирта обыкновенного. Точную навеску измельченного растительного сырья мирта массой около 50,0 г помещали в круглодонную колбу (1000 мл), снабженную шлифом, и заливали 750 мл очищенной воды. Колбу соединяли с аппаратом для отгонки ЭМ (клемангидротипом), предварительно заполнив градуированную трубку и сифон водой через запорный кран с помощью резинового шланга и воронки. Через боковой канал в приемник вносили приблизительно 1,0 мл декалина (инертного носителя), точно измеряя его объем путем регулировки уровня жидкости в градуированном отсеке. Содержимое колбы нагревали до кипения, поддерживая скорость дистилляции на уровне ~65 капель/мин в течение 2 ч. По окончании перегонки, после 5 мин выдержки, открывали кран для медленного слива водного дистиллята до момента, когда ЭМ полностью заняло градуированную часть трубки. Спустя дополнительные 5 мин проводили окончательное измерение объема ЭМ.

Сравнительное изучение компонентного состава ЭМ *M. communis* и *E. viminalis* проводили высокотехнологичным методом ГХ-МС с предварительной пробоподготовкой (см. 2.2.3. Хроматографические методы анализа). В результате исследования были идентифицированы 192 терпеновых соединения ЭМ мирта и эвкалипта [53]. Компонентный состав ЭМ *Myrtus communis* и *Eucalyptus viminalis* приведен в таблице №3 Приложения №5.

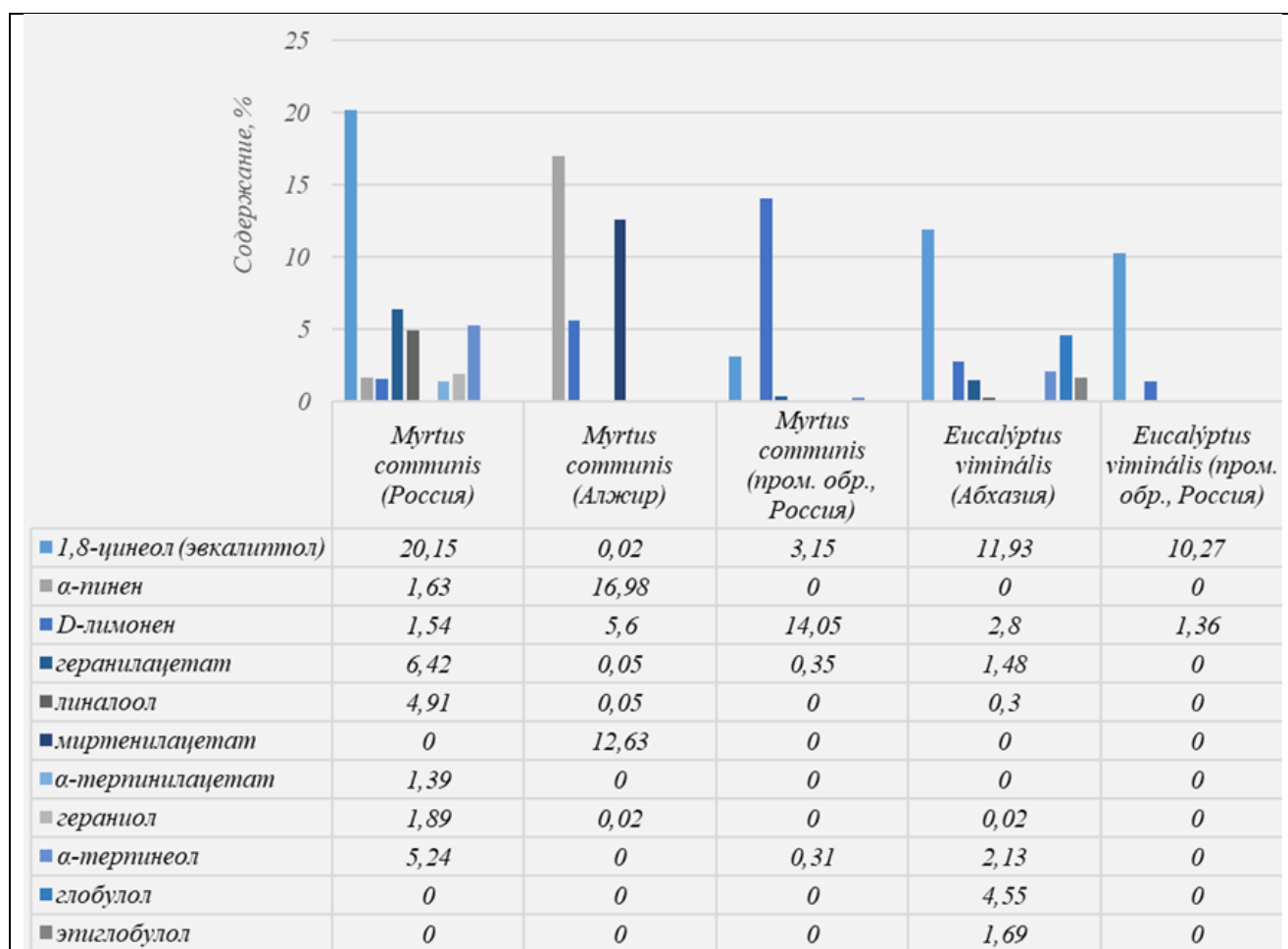


Рисунок 41 – Доминирующий компонентный состав эфирных масел *Myrtus communis* различного ареала произрастания и *Eucalyptus viminalis*

В результате исследования ЭМ листьев мирта обыкновенного (Россия) идентифицированы 19 основных компонентов (рис. 41; рис. 12 в Приложении №6). Преобладающими компонентами являлись моно- и бициклические монотерпены. Доминирующим компонентом ЭМ является 1,8-цинеол (20,15%). Также в качестве основных соединений можно выделить

геранилацетат (6,42%), α -терпинеол (5,24%), линалоол (4,91%), гераниол (1,89%), α -пинен (1,63%), гумулен (0,90%) (табл. №3 в Приложении №5) [53].

В ЭМ листьев мирта обыкновенного (провинция Релизан, Алжир) идентифицированы 20 основных компонентов (рис. 13 в Приложении №6). В отличие от *Myrtus communis*, произрастающего в Крыму, доминирующим компонентом ЭМ является бициклический монотерпен α -пинен (16,98%), тогда как 1,8-цинеол обнаруживается в малом количестве (0,02%) (рис. 41). Также в качестве основных соединений можно выделить миртенилацетат (12,63%), D-лимонен (5,60%), линалилацетат (0,72%), β -мирцен (0,72%), терпинен-4-ол (0,61%), гумулен (0,25%) (табл. №3 в Приложении №5) [53].

В ЭМ листьев мирта промышленного образца было выявлено 10 компонентов (рис. 14 в Приложении №6), из которых преобладающим являлся D-лимонен (14,05%) (рис. 41). Кроме того, в качестве основных соединений можно выделить α -фелландрен (5,99%), 1,8-цинеол (3,15%), геранилацетат (0,35%), α -терпинеол (0,31%) (табл. №3 в Приложении №5) [53].

В ЭМ эвкалипта прутовидного (Абхазия) установлены 13 терпеновых компонентов (рис. 16 в Приложении №6). В отличие от ЭМ мирта обыкновенного, ЭМ эвкалипта характеризуется отсутствием β -мирцена, линалилацетата (рис. 41). Отмечено высокое содержание 1,8-цинеола (11,93%) (рис. 41). Также в качестве основных соединений выделяются α -пинен (9,90%), глобулол (4,55%), D-лимонен (2,80%), α -терпинеол (2,13%), эпиглобулол (1,69%) (рис. 41; табл. №3 в Приложении №5) [53].

В промышленном ЭМ эвкалипта идентифицировано 9 основных компонентов (табл. №3 в Приложении №5; рис. 15 в Приложении №6), из которых доминирующим являлся 1,8-цинеол (10,27%). Из преобладающих соединений установлены *n*-мента-1,5,8-триен (4,05%), (+)-2-борнанон (3,31%), D-лимонен (1,36%), α -фелландрен (1,05%), α -пинен (0,59%) [53].

В целом, ЭМ листьев представителей семейства Миртовых характеризуется высоким содержанием моно- и бициклических монотерпенов, однако значительно отличается по доминирующим компонентам в

зависимости от территории произрастания, о чем ранее докладывалось в некоторых исследованиях [43, 88]. В нашем исследовании показано, что в образце ЭМ листьев крымского *Myrtus communis* доминирует 1,8-цинеол (20,15%), а в образце из листьев алжирского мирта – α -пинен (16,98%).

В исследовании было обнаружено, что некоторые идентифицированные компоненты ЭМ мирта обыкновенного, такие как миртенилацетат, гумулен, линалилацетат, β -мирцен и их производные, отсутствуют в ЭМ эвкалипта (табл. 3 в Приложении №5), что может служить диагностическим признаком для вида *Myrtus*. Напротив, наличие в терпеновом составе ЭМ глобулола и его производных установлено только у образцов вида *Eucalyptus*. Данный третичный спирт и его производные не определяются в ЭМ мирта исследуемых ареалов произрастания (табл. №3 в Приложении №5) [53].

С учетом результатов исследования была подтверждена информация из литературных источников по отличию качественного и количественного соотношения компонентного состава ЭМ мирта обыкновенного различного ареала произрастания (рис. 41) [44, 92]. На вариабельность компонентного состава ЭМ *M. communis* значительное влияние оказывают генетические, экологические и географические факторы [80, 101]. Проведенный анализ литературных данных также показал наличие миртенилацетата, линалилацетата, гумулена, β -мирцена и отсутствие глобулола и его производных в составе ЭМ листьев мирта обыкновенного [54, 78, 85, 102].

Промышленные образцы ЭМ характеризуются отсутствием либо минорным содержанием множества важных компонентов ЭМ видов семейства *Myrtaceae*, таких, как α -пинен, глобулол, миртенилацетат, гераниол, линалоол, терпинен-4-ол, гумулен и др. (рис. 41). К тому же α -фелландрен обнаруживается только в промышленных образцах ЭМ мирта и эвкалипта [53]. Бициклический монотерпен α -пинен в относительно большом количестве содержится в лабораторных образцах ЭМ *M. communis* и *E. viminalis*, в то время как в промышленных ЭМ не обнаруживается (рис. 41) [53].

Анализируя полученные результаты исследования, можно сделать следующие выводы [53]:

1. Содержание ЭМ в листьях мирта обыкновенного варьирует от $0,80 \pm 0,03\%$ до $0,86 \pm 0,04\%$. Установлен предельный минимум содержания ЭМ в листьях мирта обыкновенного в пересчете на сухое сырье - не менее 0,8%.

2. Доминирующими компонентами ЭМ мирта обыкновенного являются либо 1,8-цинеол, либо α -пинен, в зависимости от ареала произрастания растения, что подтверждает литературные данные.

3. Миртенилацетат, гумулен, линалилацетат, β -мирцен и их производные могут служить диагностическими компонентами ЭМ для определения видовой специфичности мирта обыкновенного и вида *Myrtus*, ввиду их отсутствия в ЭМ эвкалипта прутовидного.

4. В отличие от ЭМ листьев растений вида *Myrtus*, в составе ЭМ *E. viminalis* L. обнаруживался глобулол и его производные.

5. Промышленные образцы ЭМ мирта обыкновенного и эвкалипта прутовидного характеризуются отсутствием полноценного качественного и количественного компонентного состава терпеноидов.

Таким образом, видовая специфичность мирта обыкновенного может быть подтверждена методом ГХ-МС по компонентному составу его эфирного масла для определения критериев подлинности, чистоты и доброкачественности российского сырья *Myrtus communis* и его вторичных метаболитов [53].

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 5

1. Впервые разработана комплексная методика качественного анализа листьев мирта обыкновенного (*Myrtus communis* L.), объединяющая систему специфичных цветных химических реакций и ТСХ-идентификацию в стандартизированной системе растворителей хлороформ–этанол–вода (25:18:2) с использованием стандартных образцов мирицитрина и миртокоммулона D.

2. Для листьев мирта обыкновенного (*Myrtus communis* L.) российского происхождения усовершенствована и валидирована методика количественного определения суммы флавоноидов методом дифференциальной спектрофотометрии. Оптимизация условий (пересчет на мирицитрин, а не на рутин; $\lambda=418$ нм вместо ранее используемой 414 нм) позволила повысить точность анализа, проводимого при параметрах: 80% этиловый спирт в качестве экстрагента, соотношение сырье:экстрагент 1:50, время экстракции 90 мин. Установлено, что относительная погрешность единичного определения не превышает 16,05%, а погрешность среднего значения составляет 4,84% ($p<0,05$). Содержание суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного в пересчете на мирицитрин варьирует от $1,57\pm 0,06\%$ до $1,99\pm 0,11\%$. Установлен числовой показатель качества листьев *Myrtus communis* по содержанию суммы флавоноидов в пересчете на мирицитрин – не менее 1,5%.

3. Разработана методика количественного определения мирицитрина в листьях *Myrtus communis* методом ВЭЖХ и детектированием на УФ-детекторе при аналитической длине волны 360 нм. Ошибка единичного определения содержания мирицитрина в листьях мирта обыкновенного с доверительной вероятностью 95% составляет $\pm 15,81\%$, и средняя ошибка определения содержания мирицитрина в листьях мирта обыкновенного с доверительной вероятностью 95% составляет $\pm 4,77\%$. Содержание мирицитрина в листьях мирта обыкновенного варьирует от $0,98\pm 0,02\%$ до $1,51\pm 0,07\%$. Установлен

числовой показатель качества листьев мирта обыкновенного по содержанию мирицитрина – не менее 0,9%.

4. Разработана методика количественного определения мирицитрина в экстракционных препаратах из листьев *Myrtus communis* методом ВЭЖХ и детектированием на УФ-детекторе при аналитической длине волны 360 нм. Ошибка единичного определения содержания мирицитрина в настойке листьев *Myrtus communis* с доверительной вероятностью 95% составляет $\pm 4,61\%$, и средняя ошибка определения содержания мирицитрина в настойке листьев *Myrtus communis* с доверительной вероятностью 95% составляет $\pm 1,39\%$. Содержание мирицитрина в настойке, настое и густом экстракте листьев мирта обыкновенного составляет $0,68 \pm 0,02\%$, $0,17 \pm 0,01\%$ и $12,75 \pm 0,51\%$ соответственно.

5. Установлено, что видовая специфичность, доброкачественность и подлинность эфирного масла *Myrtus communis* могут быть определены методом ГХ-МС посредством детектирования миртенилацетата, гумулена, линалилацетата, β -мирцена и их производных ввиду отсутствия данных компонентов в эфирном масле возможного примесного вида эвкалипта прутовидного. Параллельно этому, присутствие в эфирном масле растения глобулола и его производных исключает его принадлежность к роду *Myrtus*. Содержание эфирного масла листьев мирта обыкновенного варьирует от $0,80 \pm 0,03\%$ до $0,86 \pm 0,04\%$. Установлен предельный минимум содержания эфирного масла в листьях мирта обыкновенного в пересчете на сухое сырье - не менее 0,8%.

ГЛАВА 6. НАУЧНОЕ ОБОСНОВАНИЕ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ ИЗ ЛИСТЬЕВ МИРТА ОБЫКНОВЕННОГО (*MYRTUS COMMUNIS* L.)

Актуальной задачей современной фармации является постоянный поиск БАВ из растительного сырья с выраженной антимикробной активностью для разработки инновационных эффективных антимикробных препаратов [130]. На сегодняшний день производимые фармацевтическими компаниями антибиотики во всем мире достигают около 100.000 тонн ежегодно, что способствует постепенной мутации бактерий, вирусов, грибков и утраты ими восприимчивости к противомикробным и химиотерапевтическим препаратам [43, 150], формируя множественную лекарственную резистентность [157, 165, 186, 189]. В этой ситуации все больший интерес научного и медицинского сообщества обращается к фитотерапии, предлагающей комплексные решения с более низкой токсичностью, широким спектром действия и потенциалом для преодоления устойчивости патогенов благодаря комбинации различных БАВ [33, 36]. Растения, являясь продуктом длительной коэволюции с патогенами, синтезируют сложные ансамбли вторичных метаболитов, обладающих защитной функцией, что открывает ученым перспективы для создания новых эффективных ЛП на основе ЛРС для комплексной терапии различных заболеваний [26, 51, 189].

Терапевтический потенциал мирта обыкновенного обусловлен его уникальным и богатым фитохимическим составом [3, 19, 85, 105, 151]. Современные зарубежные исследования подтвердили и значительно расширили представления о спектре его биологической активности, доказав не только традиционные антимикробные и противогрибковые свойства, но и выраженное антиоксидантное, противовоспалительное, нейропротективное, анксиолитическое, антиноцицептивное действие [79, 86, 98, 116, 118, 125, 131, 134, 137, 139, 150, 157, 175, 176, 182]. Данные литературы свидетельствуют о

том, что доминирующий в *Myrtus communis* флавоноид мирицитрин обладает полифармакологической активностью [71-73, 151, 165]. Его способность ингибировать оксид азота и протеинкиназу С обуславливает выраженные антипсихотические и анксиолитические эффекты, подтвержденные на соответствующих животных моделях [117]. Кроме того, для мирицитрина установлено антиноцицептивное действие в экспериментальных моделях как острой, так и хронической боли [77]. Его агликон мирицетин, по результатам исследований японских ученых, оказывает сильнейшее ингибирующее действие на трансформацию клеток, активируемых эпидермальным фактором роста (Epidermal Growth Factor) ячейки JB6 P (+) *in vivo*, превосходя по противоопухолевому эффекту флавоноиды кверцетин и кемпферол [128]. Галловая кислота и ее производные, содержащиеся в мирте обыкновенном, в зарубежных исследованиях продемонстрировали значительные антиоксидантные, антиканцерогенные, антимуtagenные, антимикробные свойства, обеспечивают защиту клеток от окислительного стресса [97].

Имеются достаточно зарубежных исследований, доказывающих сильную АОА водно-спиртовых экстрактов и ЭМ листьев мирта обыкновенного [80, 87, 105]. Однако метод FRAP в оценке АОА российского сырья мирта и БАВ, выделенных из него, не использовался.

Однако, несмотря на растущую доказательную базу и включение мирта в ряд зарубежных фармакопей, в Российской Федерации он до сих пор не имеет официального фармакопейного статуса [15, 25, 114]. Это связано, в первую очередь, с отсутствием комплексных исследований отечественного сырья. Фитохимический состав и, как следствие, фармакологическая активность растений могут существенно варьировать в зависимости от ареала произрастания [44, 107, 147, 188]. Сырье мирта, культивируемое в субтропических регионах России (Республика Крым, Краснодарский край), представляет собой особый интерес, поскольку его биохимический профиль и, соответственно, терапевтический потенциал могут отличаться от хорошо изученного средиземноморского растительного сырья [7, 20, 53]. Российские

исследования указывают на исключительно высокое содержание полифенолов, в частности мирицитрина, в крымском сырье мирта, что предопределяет его мощный антиоксидантный потенциал [2, 12]. При этом глубокое и систематическое изучение именно антимикробной, противогрибковой, антиоксидантной и нейротропной активности российского сырья, а также вклад в эти эффекты индивидуальных выделенных соединений (миртокоммулона D, мирицитрина, мирицетина, галловой кислоты) до настоящего времени не проводилось.

Комплексная оценка антимикробной (включая активность против резистентных и мукоидных штаммов микроорганизмов), противогрибковой, антиоксидантной и нейротропной активности экстрактов и индивидуальных БАВ из листьев *M. communis* российского происхождения является актуальной и практически значимой научной задачей. Решение данной задачи позволит не только восполнить пробел в фундаментальных знаниях, но и создать научную основу для стандартизации нового вида отечественного ЛРС и разработки на его основе инновационных фитопрепаратов с комплексным действием, соответствующих стратегическим приоритетам импортозамещения и укрепления фармацевтического суверенитета страны [52].

Целью данной главы является комплексная экспериментальная оценка ключевых видов биологической активности (антимикробной, противогрибковой, антиоксидантной, нейротропной, диуретической) водно-спиртовых экстрактов и индивидуальных БАВ, выделенных из листьев мирта обыкновенного российского происхождения.

6.1. Компьютерное прогнозирование спектра биологической активности мирицитрина с использованием программы PASS

Для экстракционных препаратов из листьев мирта обыкновенного, помимо решения вопросов о стандартизации, необходимо спрогнозировать и обосновать основные виды биологического действия. Перед планированием предварительных испытаний, было принято решение о скрининге биологической активности доминирующего флавоноида в листьях *Myrtus*

communis мирицитрина, выделенного методом колоночной хроматографии из российского растительного сырья мирта [32].

Современной тенденцией в прогнозировании фармакологического потенциала БАС является применение методов компьютерного моделирования, устанавливающих корреляцию между химической структурой соединения и его ожидаемыми свойствами, что важно как для оценки самого вещества, так и для перспектив создания на его основе ЛП [27]. Одним из наиболее актуальных подходов в этой области являются методы, основанные на вероятностной модели Байеса [162].

В диссертационной работе для прогнозирования спектра возможной биологической активности мирицитрина был применен специализированный алгоритм PASS (табл. 29) [162]. Данное программное обеспечение (версия 11.4.12) позволяет прогнозировать более 4300 типов биологической активности с точностью ~95%, используя для анализа обучающую базу данных, содержащую информацию о свыше 250000 фармацевтических субстанций (API) и индивидуальных природных соединений [162].

Анализ с использованием системы прогнозирования биологической активности PASS (табл. 29) выявил для мирицитрина (мирицетин-3-*O*- α -L-рамнопиранозида) широкий прогнозируемый спектр фармакологических эффектов с высокой вероятностью реализации (P_a) и низкой вероятностью побочных действий (P_i). Ключевыми прогнозируемыми видами активности являются ингибирование процессов окисления, включая активность в качестве поглотителя свободных радикалов и ингибитора липоксигеназы, что коррелирует с высоким потенциалом АОА. Кроме того, для данного соединения предполагаются антибактериальный, противогрибковый и противовоспалительный эффекты.

Важным аспектом прогноза является установленная связь механизма действия мирицитрина с модуляцией синтеза оксида азота, что создает теоретическую основу для целенаправленного экспериментального изучения его предполагаемой анксиолитической активности.

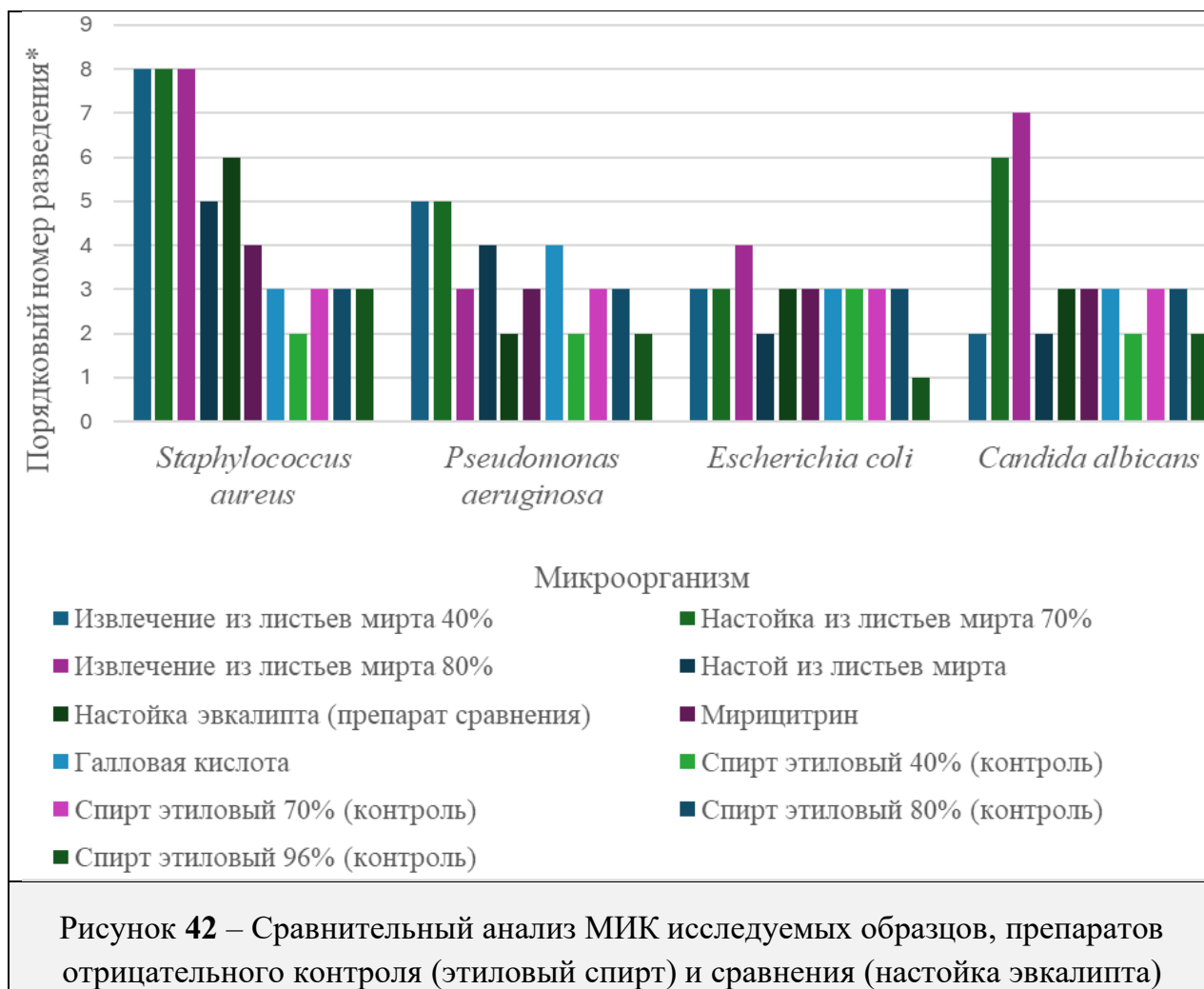
Таблица 29 – Прогнозируемые виды биологической активности
мирицитрина на основе анализа методом PASS

Прогнозирование фармакологической активности мирицитрина	Вероятность проявления активности	Вероятность нежелательных явлений
Ингибитор мембранной проницаемости	0,986	0,002
Агонист целостности мембраны	0,984	0,002
Кардиопротектор	0,982	0,001
Поглотитель свободных радикалов	0,979	0,002
Ингибитор липидной пероксидазы	0,973	0,001
Ингибитор йодид пероксидазы	0,966	0,001
Вазопротектор	0,961	0,001
Антиканцерогенный	0,956	0,002
Антиоксидант	0,941	0,002
Противовоспалительный	0,927	0,001
Лечение пролиферативных заболеваний	0,915	0,002
Антигеморрагический	0,890	0,001
Гепатопротектор	0,763	0,008
Противогрибковый	0,752	0,006
Антимикробный	0,746	0,006
Антагонист оксида азота	0,742	0,007
Антигиперхолестеринемический	0,731	0,004

6.2. Скрининг антимикробного, фунгицидного действия экстрактов и фенольных соединений листьев мирта обыкновенного

Антимикробная и противогрибковая активность водно-спиртовых экстрактов из российского сырья мирта обыкновенного оценивалась в отношении ряда клинически значимых патогенных и условно-патогенных микроорганизмов по методикам, описанным в таблицах 4 и 5 Приложения №7, в соответствии с ГОСТ (см. раздел 2.2.6. *Фармакологические методы анализа*) [13]. Эксперименты скрининга антимикробной активности водно-спиртовых извлечений из листьев мирта обыкновенного проводились компаративно с

препаратами отрицательного контроля (этанол различных концентраций) и препаратом сравнения (настойка официального эвкалипта с доказанной антимикробной активностью) [15, 22, 156]. Все водно-спиртовые извлечения мирта в проведенных экспериментах проявляли антимикробный эффект, подавляя рост штаммов микроорганизмов, взятых для исследования, в том числе мукоидных (рис. 42–43; Приложение №8, рис. 17) [45, 51, 52].



*Примечание: указана кратность разведения исходного образца: 1 – 1:2; 2 – 1:4; 3 – 1:8; 4 – 1:16; 5 – 1:32; 6 – 1:64; 7 – 1:128; 8 – 1:256; 9 – 1:512.

Самую выраженную антимикробную активность показало 80% водно-спиртовое извлечение (1:5) из листьев мирта обыкновенного, которое превосходило по результатам препараты контроля (этиловый спирт) (рис. 42; табл. 8 в Приложении №8) и сравнения (настойка эвкалипта) (рис. 42; табл. 9 в Приложении №8). Извлечение из листьев мирта 80% подавляло видимый

рост штаммов *S. aureus* и *C. albicans* (рис. 42; табл. 10 в Приложении №8) при семикратном разведении, а штамм *E. coli* - при пятикратном разведении (рис. 42; табл. 10 в Приложении №8) [45, 51, 52]. Одновременно с этим, настойка листьев мирта 70% (1:5) продемонстрировала более высокую антимикробную активность, чем препараты контроля и сравнения, в отношении *S. aureus*, *P. aeruginosa* и *C. albicans* (рис. 42, 43; табл. 6, 8, 9 в Приложении №8). Антимикробная активность настойки мирта в отношении микроорганизма *E. coli* была сопоставима с настойкой эвкалипта и этиловым спиртом (рис. 42, 43; табл. 6, 8, 9 в Приложении №8) [45, 51, 52]. Возможно, данный результат связан с максимальной экстракцией миртокоммулонов и флавоноидов этиловым спиртом в концентрациях 70% и 80%, что было доказано ранее в исследовании [129]. Миртокоммулоны, в частности, миртокоммулон А, в компонентном составе листьев мирта обыкновенного, продемонстрировали высокую антибиотическую активность в проведенных зарубежными учеными исследованиях [122]. Кроме того, 70% концентрация этилового спирта позволяет не только максимально экстрагировать флавоноиды из флавоноидсодержащих растений, но и обладает лучшей проникающей способностью в глубокие слои эпидермиса по сравнению с другими концентрациями [172]. Данный факт и полученные результаты исследования, позволяют сделать выбор в пользу данной концентрации этилового спирта для разработки в перспективе ЛРП на основе листьев *Myrtus communis* [45, 51, 52].

При тестировании водно-спиртового извлечения из листьев мирта обыкновенного на 40% этаноле (1:5) наблюдалась значимая бактериостатическая активность в отношении штаммов *S. aureus* и *P. aeruginosa* при семикратном и шестикратном разведении соответственно, что превосходило результаты препаратов контроля и сравнения (рис. 42) [45, 52].

Настой из листьев мирта обыкновенного (1:10) продемонстрировал значимую противомикробную активность, превышая результаты препаратов контроля и сравнения на один-два разведения, в отношении *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* (рис. 42). Возможно, это связано с максимальным

экстрагированием галловой кислоты из водного экстракта мирта [45]. Однако как монокомпонент, стандартный образец галловой кислоты не проявил выраженного антимикробного эффекта, и результаты были сопоставимы с препаратами отрицательного контроля (рис. 42). Антимикробные свойства галловой кислоты и ее производных, по-видимому, взаимосвязаны с гидролизом эфирной связи между галловой кислотой и полиолами, такими как танины, которые гидролизуются в вегетационный период растений [45, 51, 52]. Галловая кислота служит естественным защитным механизмом растений против микробных инфекций и модулирует иммунные реакции только в присутствии других БАС, например, танинов [97].

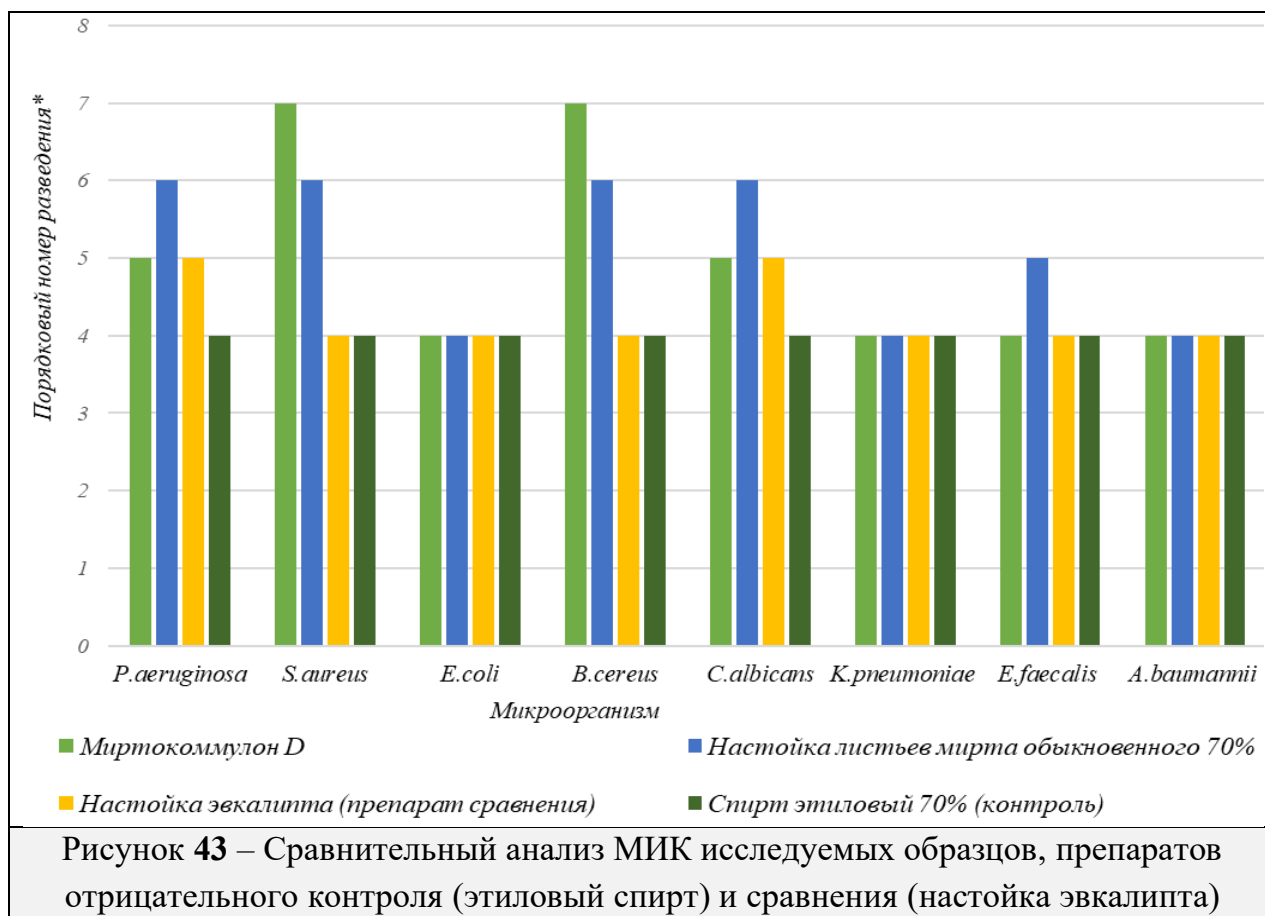
Мирицитрин, как индивидуальное БАС, не проявил антимикробную активность выше, чем настойка эвкалипта, но превзошел контрольные образцы этилового спирта в отношении штаммов *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* (рис. 42) [51, 52].

В отношении штамма *E. coli* результаты исследования антимикробной активности тестируемых образцов, за исключением водно-спиртового извлечения из листьев мирта на 80% этаноле, были сопоставимы с МИК препаратов отрицательного контроля и сравнения (рис. 42) [51].

Бактериостатическое действие настойки эвкалипта показывает его более высокую активность только в отношении золотистого стафилококка (*S. aureus*) в сравнении с результатами водно-спиртовых извлечений из листьев мирта в разведении 1:64 (рис. 42). Однако антимикробная активность водно-спиртовых извлечений листьев мирта на 40% и 80% этаноле превосходят настойку эвкалипта по МИК на один шаг разведения (рис. 42) [51, 52].

Миртокоммулон D (рис. 43; табл. 7 Приложения №8), выделенный из российского сырья мирта обыкновенного, в эксперименте продемонстрировал мощную бактериостатическую активность. Он превзошел в скрининговом тестировании МИК препараты контроля (рис. 43; табл. 8 Приложения №8), сравнения (рис. 43; табл. 9 Приложения №8) и саму настойку листьев мирта обыкновенного (рис. 43; табл. 6 Приложения №8), которая в ранее

проведенном эксперименте показала наибольшую антимикробную активность из всех тестируемых образцов (рис. 42).



*Примечание: указана кратность разведения исходного образца: 1 – 1:2; 2 – 1:4; 3 – 1:8; 4 – 1:16; 5 – 1:32; 6 – 1:64; 7 – 1:128; 8 – 1:256.

Проявленная в исследовании значительная антимикробная активность миртокоммулона D соответствует литературным данным относительно данной активности миртокоммулонов в целом [51, 52, 126, 138]. Например, немецкие ученые обнаружили, что миртокоммулон A влияет на рост грамположительных бактерий в той же степени, что пенициллин или стрептомицин [94]. Скрининговое исследование именно миртокоммулона D было проведено в впервые в данной диссертационной работе (рис. 43). Зарубежные ученые подчеркивают особую важность фенольной природы для антимикробной активности миртокоммулона A, поскольку его пентациклическое производное миркокоммулон B, в котором было удалено несколько фенольных гидроксильных групп, проявляло значительно меньшее

бактерицидное действие [80, 122]. Таким образом, можно предположить, что миртокоммулон D проявляет свою антимикробную активность, в том числе благодаря своей фенольной природе [51, 52].

В отношении клинических мукоидных штаммов микроорганизмов исследование антимикробной активности экстрактов из листьев *Myrtus communis* проводилось по методике ГОСТ, описанной в таблице №4 Приложения №7 [13]. Результаты исследования показали, что все водно-спиртовые извлечения из листьев мирта обыкновенного проявляют антимикробную активность, превосходящую препараты отрицательного контроля (этанол 40%, 70%, 96%) и сравнения (настойку эвкалипта) в отношении мукоидных штаммов микроорганизмов *B. ceposerasia*, *S. maltophilia* и *P. aeruginosa* (штамм 2) (Приложение №8, рис. 17, табл. №10, 11). По штаммам *P. aeruginosa* (штамм 1) и *C. indologenes* не было выявлено антимикробной активности в объектах исследования и эффект был сопоставим с препаратами контроля (Приложение №8, рис. 17, табл. №10, 11) [45].

В отношении мукоидных штаммов из исследуемых объектов по выраженности антимикробного эффекта выделяются настойка листьев мирта и настой листьев мирта (1:10) (Приложение №8, рис. 17, табл. №10). Им уступают препараты контроля и сравнения, а также извлечения из листьев мирта обыкновенного на 40% и 96% этаноле (Приложение №8, табл. №10, 11).

Настойка листьев мирта обыкновенного на 70% этаноле (1:5) показывает самую широкую среди других исследуемых объектов антимикробную активность в отношении клинических мукоидных штаммов *B. ceposerasia*, *S. maltophilia* и *P. aeruginosa* (штамм 2) (Приложение №8, рис. 17, табл. №10). В отношении штамма *B. ceposerasia* антимикробный эффект настойки листьев мирта сопоставим с настойкой эвкалипта, но превышает антимикробную активность эвкалипта по другим двум штаммам. Вместе с тем, настойка листьев мирта превосходит препараты контроля по всем трем штаммам на несколько позиций разведений (Приложение №8, рис. 17, табл. №10, 11) [45].

Настой из листьев *Myrtus communis* (1:10) превзошел по антимикробной активности препараты контроля и сравнения в отношении штаммов *S. maltophilia* и *B. cenocepacia* (Приложение №8, рис. 17, табл. №10).

Таким образом, впервые установлена бактериостатическая и противогрибковая активность водно-спиртовых извлечений из листьев мирта обыкновенного в отношении мукоидных штаммов [45]. Настойка российского сырья мирта обыкновенного демонстрирует выраженную селективную активность в отношении клинически значимых патогенов – *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* (включая мукоидный фенотип) и *Candida albicans*. Ее антимикробная и противогрибковая эффективность достоверно превышает таковую у фармакопейной настойки эвкалипта прутовидного (*Eucalyptus viminalis*), широко применяемой в медицинской практике [15, 17, 22, 148, 156]. Флороглюцин миртокоммулон D, как индивидуальное БАС, обладает высокой антибактериальной активностью в отношении патогенных штаммов микроорганизмов *Staphylococcus aureus* и *Bacillus cereus*, превосходящей другие исследуемые объекты, препараты контроля и сравнения. Полученные результаты создают научную основу для разработки новых отечественных антибактериальных и противогрибковых препаратов на основе листьев мирта обыкновенного и выделенных БАС, что соответствует стратегическим задачам импортозамещения и укрепления фармацевтического суверенитета Российской Федерации [45, 51, 52].

6.3. Исследование нейротропной активности мирицитрина и густого экстракта листьев мирта обыкновенного

Исследование нейротропной активности мирицитрина (дозы 0,5, 1,0, 5,0 мг/кг) и ГЭ из листьев мирта обыкновенного (доза 10,0 мг/кг) проводили с использованием теста принудительного плавания (теста Порсолта) на взрослых белых беспородных крысах обоего пола, рандомно разделенных на основную и контрольную группы по 10 особей (см. раздел 2.2.6. *Фармакологические методы анализа*) [67]. Мирицитрин и ГЭ вводили крысам однократно внутрижелудочно через зонд на фоне 1% водной нагрузки.

Поведенческое тестирование принудительного плавания крыс выполняли через 2 ч после введения экспериментальных образцов [67]. В течение 5 мин регистрировали индивидуальное время активного поведения животных, направленной на попытку покинуть воду. Статистическую обработку данных проводили с использованием непараметрического U-критерия Манна–Уитни для независимых выборок [10] (табл. 30).

В ходе эксперимента при однократном внутрижелудочном введении ГЭ из листьев мирта обыкновенного в дозе 10 мг/кг отмечалось достоверное снижение двигательной активности подопытных животных на 28% ($p < 0,05$) относительно водного контроля (табл. 30), что свидетельствует о психоседативном действии исследуемого экстракционного препарата.

В результате оценки нейротропной активности мирицитрина в тесте принудительного плавания была выявлена дозозависимая модуляция двигательного поведения крыс. Однократное внутрижелудочное введение стандартного образца мирицитрина в дозе 0,5 мг/кг приводило к статистически значимому ($p < 0,05$) увеличению двигательной активности на 25% относительно группы водного контроля. В то же время повышение дозы до 5 мг/кг вызывало достоверное ($p < 0,05$) снижение данного показателя на 46% по сравнению с контролем (табл. 30). Полученные данные свидетельствуют о выраженном нейротропном действии мирицитрина, характер которого (психостимулирующий или седативный) определяется вводимой дозой. Мирицитрин, как доминирующий флавоноид в листьях мирта обыкновенного, вносит достоверный вклад в нейротропный эффект экстракционных препаратов из листьев мирта обыкновенного.

Экстракционные препараты из листьев мирта обыкновенного, являются перспективными объектами дальнейшего изучения и проведения доклинических исследований в отношении психоседативного действия.

Таблица 30 – Результаты исследования нейротропной активности мирицитрина и густого экстракта из листьев мирта обыкновенного по методике теста Порсолта

№ проводимого опыта	Опыт №1		Опыт №2		Опыт №3		Опыт №4	
Вводимое вещество	Контроль Вода	Мирицитрин, 0,5 мг/кг	Контроль Вода	Мирицитрин, 1,0 мг/кг	Контроль Вода	Мирицитрин, 5,0 мг/кг	Контроль Вода	ГЭ листьев мирта обыкновенного, 10,0 мг/кг
Двигательная активность животных за 5 мин, сек	92,57±5,85	115,43±7,83*	97,00±7,15	104,00±10,17	97,29±12,29	52,29±10,97*	28,14±3,27	20,29±1,17*
Изменение двигательной активности относительно контроля, %	100%	125%	100%	107%	100%	54%	100%	72%
Статистическая значимость результатов эксперимента	О/К	p=0,038	О/К	p=0,584	О/К	p =0,018	О/К	p=0,043

Примечание: p<0,05 - достоверность отличий данных опытной и контрольной групп.

6.4. Исследование диуретической активности густого экстракта листьев мирта обыкновенного

Исследование диуретической активности ГЭ из листьев *Myrtus communis* проводили на половозрелых беспородных белых крысах обоего пола (n=20) (см. раздел 2.2.6. Фармакологические методы анализа). Животных методом рандомизации распределяли на опытную и контрольную группы по 10 особей. За 24 часа до начала опыта всем животным создавали водную нагрузку путем однократного внутрижелудочного введения очищенной воды в объеме, эквивалентном 3% массы тела. Содержание осуществляли в стандартных условиях вивария со свободным доступом к воде и пище.

Непосредственно перед тестированием животным контрольной группы вводили 3% водную нагрузку повторно. Животным опытной группы однократно внутрижелудочно вводили исследуемый ГЭ в дозе 10,0 мг/кг на фоне аналогичной водной нагрузки. После введения препарата крыс помещали в индивидуальные метаболические клетки на 24 часа для сбора мочи. Мочу собирали отдельно за два временных интервала: в первые 4 часа и за последующие 20 часов эксперимента (суммарно за 24 часа). Определялся диурез, регистрировался креатининурез методом колориметрии на фотометре фотоэлектрическом концентрационном КФК-3.

При оценке диуретического эффекта ГЭ листьев мирта (доза 10,0 мг/кг) в 4- и 24-часовых экспериментах статистически значимых изменений в выделении мочи и экскреции креатинина выявлено не было (табл. 31). Полученные результаты эксперимента свидетельствуют об отсутствии диуретического действия у исследуемого экстракционного препарата, что подтверждают предварительные прогнозы биологического действия программы PASS (табл. 29).

Таким образом, впервые проведено исследование диуретической активности ГЭ из листьев мирта обыкновенного *in vivo*, которое не подтвердило данного фармакологического действия у исследуемого растительного объекта.

Таблица 31 – Влияние однократного внутрижелудочного введения густого экстракта листьев мирта обыкновенного на диурез у интактных крыс

Время, ч	Показатели	Контроль	ГЭ листьев мирта обыкновенного, 10,0 мг/кг
4	Диурез, ($M \pm m$), мл	2,13±0,11	1,78±0,13
	Диурез, в % к контролю	100	84
	Достоверность	-	p=0,063
	Экскреция креатинина, ($M \pm m$), мг	0,14±0,03	0,11±0,02
	Экскреция креатинина, в % к контролю	100	79
	Достоверность	-	p=0,458
24	Диурез, ($M \pm m$), мл	2,75±0,16	2,36±0,19
	Диурез, в % к контролю	100	86
	Достоверность	-	p=0,149
	Экскреция креатинина, ($M \pm m$), мг	3,17±0,32	2,76±0,36
	Экскреция креатинина, в % к контролю	100	87
	Достоверность	-	p=0,405

6.5. Исследование общей антиоксидантной активности настойки и фенольных соединений листьев мирта обыкновенного

Исследование общей АОА объектов проводили методом FRAP (см. раздел 2.2.6. Фармакологические методы анализа). Объектами исследования служили настойка листьев мирта обыкновенного и индивидуальные фенольные соединения - мирицитрин, мирицетин, миртокоммулон D, галловая кислота, выделенные ранее из листьев *Myrtus communis* [32, 49]. В качестве стандарта в исследовании использовали аскорбиновую кислоту [88].

Пробоподготовка. Способ приготовления препаративных растворов представлен в таблице 12 Приложения №9. Способ приготовления рабочих растворов для метода FRAP [88] представлен в таблице 13 Приложения №9.

Методика. В фотометрическую кювету наливают 3,9 мл рабочего реактива FRAP, добавляют 100 мкл пробы и измеряют оптическую плотность раствора при 593 нм и через 5 минут повторно. Все опыты повторяли не менее трех раз, результаты обрабатывали с использованием критерия Стьюдента (доверительный интервал 95%) [11, 15].

Относительную антиоксидантную активность (АОА) рассчитывают по формуле [88]:

$$AOA = \frac{A_i \cdot 0,2}{C_i \cdot A_{\text{аск.к-та } 0,2 \text{ мг/мл}}},$$

где A_i – оптическая плотность, измеренная для исследуемого образца (i) при длине волны 593 нм с реактивом FRAP;

0,2 – концентрация стандартного раствора аскорбиновой кислоты (0,2 мг/мл), использованного для построения градуировочного графика;

C_i – концентрация исследуемого образца (i) в мг/мл в пробе;

$A_{\text{аск.к-та } 0,2 \text{ мг/мл}}$ – оптическая плотность, измеренная для раствора стандартного образца аскорбиновой кислоты (0,2 мг/мл).

Силу FRAP рассчитывают по формуле [88]:

$$\text{Сила } FRAP = \frac{A_i \cdot 0,2}{C_i \cdot A_{\text{аск.к-та } 0,2 \text{ мг/мл}}} \cdot FRAP(\text{аск.к-та}),$$

где A_i – оптическая плотность, измеренная для исследуемого образца (i) при длине волны 593 нм с реактивом FRAP;

0,2 – концентрация стандартного раствора аскорбиновой кислоты (0,2 мг/мл), использованного для построения градуировочного графика;

C_i – концентрация исследуемого образца (i) в мг/мл, которая в пробе;

$A_{\text{аск.к-та } 0,2 \text{ мг/мл}}$ – оптическая плотность, измеренная для раствора СО аскорбиновой кислоты с концентрацией 0,2 мг/мл.

FRAP (аск.к-та) – это известная, предварительно рассчитанная «Сила FRAP» для аскорбиновой кислоты при концентрации 0,2 мг/мл.

Результаты определения АОА в нормированных значениях по аскорбиновой кислоте (стандарту) и силе FRAP исследуемых соединений и настойки листьев мирта обыкновенного представлены в таблице 32.

Таблица 32 – Результаты исследования антиоксидантной активности настойки листьев мирта обыкновенного и индивидуальных соединений

Образец	Концентрация, мг/мл	Значения оптических плотностей *	Среднее значение (СО)	АОА, в нормированных значениях по аскорбиновой кислоте (СО)*	Сила FRAP
<i>Аскорбиновая кислота</i>	0,2	1,983 1,961 1,939	1,961±0,055	1,00±0,03	2327±65
<i>Настойка листьев мирта обыкновенного (1:5)</i>	0,2	0,883 0,897 0,905	0,895 ± 0,027	0,46±0,01	1062±32
<i>Мирицитрин</i>	0,2	13,387 13,471 13,529	13,459±0,177	6,86±0,09	15963±209
<i>Мирицетин</i>	0,2	0,821 0,837 0,849	0,835 ± 0,035	0,43±0,02	991±41
<i>Миртокоммулон D</i>	0,2	0,328 0,334 0,339	0,333± 0,015	0,17±0,01	395±17
<i>Галловая кислота</i>	0,2	3,186 3,258 3,312	3,252±0,157	1,66±0,08	3860±186

*Примечание: значения оптических плотностей для концентрации 0,2 мг/мл изучаемых образцов рассчитаны по уравнениям соответствующих градуировочных графиков.

Полученные в ходе исследования результаты демонстрируют существенные различия в антиоксидантной силе исследуемых объектов (табл. 32). Наиболее высокой АОА, выраженной в нормированных значениях по аскорбиновой кислоте и по показателю силы FRAP, обладает флавоноид мирицитрин (рис. 44). Его активность превышает активность стандарта аскорбиновой кислоты (рис. 49) почти в 7 раз (табл. 32), что делает его мощным природным антиоксидантом. Это согласуется с данными литературы о том, что мирицитрин является обладает выраженными антиоксидантными свойствами, превосходящими стандарты АОА - витамины С и Е [117].

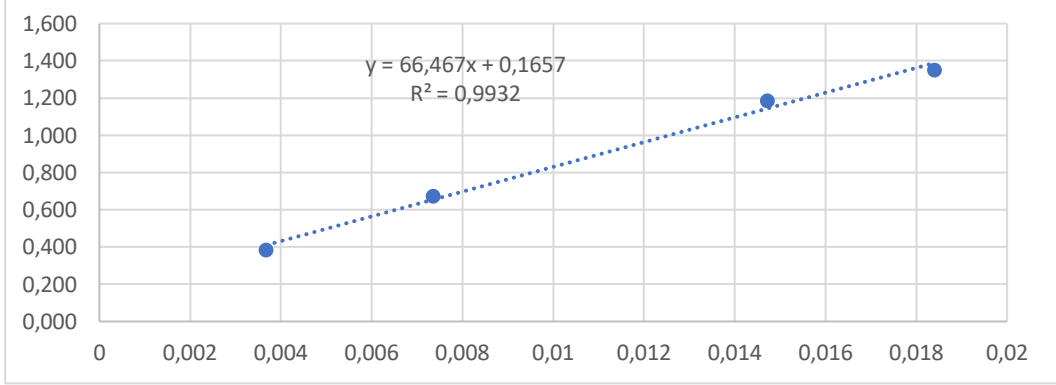


Рисунок 44 – Градуировочный график зависимости разницы оптической плотности раствора от концентрации мирицитрина (мг/мл) в пробе

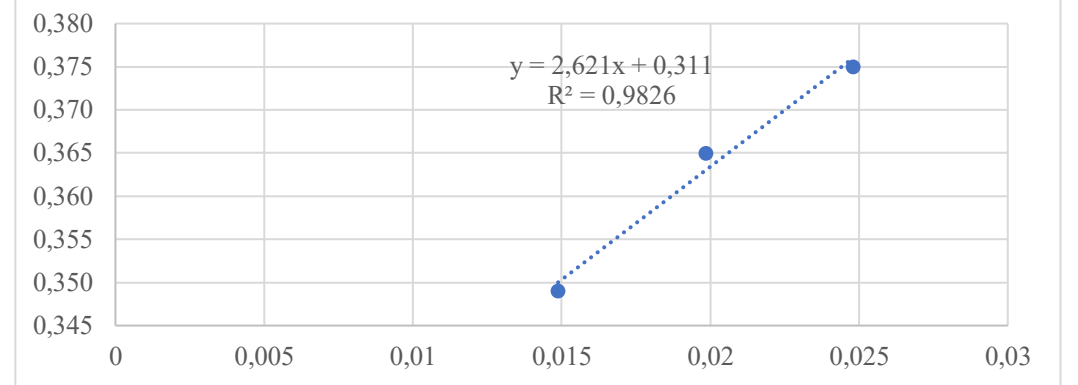


Рисунок 45 – Градуировочный график зависимости разницы оптической плотности раствора от концентрации мирицетина (мг/мл) в пробе

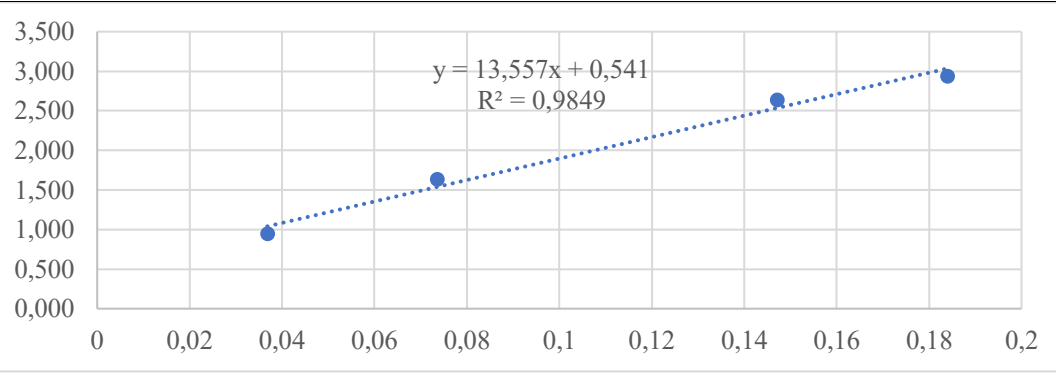


Рисунок 46 – Градуировочный график зависимости разницы оптической плотности раствора от концентрации галловой кислоты (мг/мл) в пробе

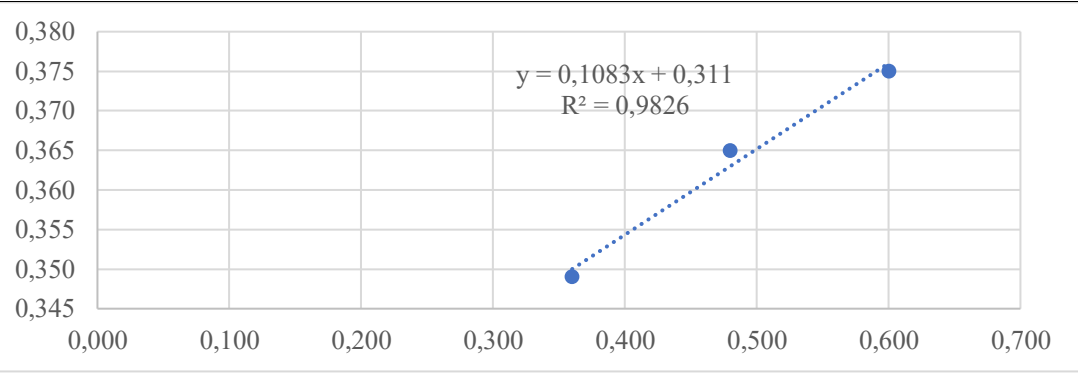


Рисунок 47 – Градуировочный график зависимости разницы оптической плотности раствора от концентрации миртокоммулона D (мг/мл) в пробе

Ключевой вклад в демонстрируемую АОА исследуемой настойки листьев мирта обыкновенного (сила FRAP=1062±32) (рис. 48), по-видимому, вносит доминирующий флавоноид – мирицитрин. Количественное содержание мирицитрина в настойке листьев мирта составляет 0,68±0,02% [49]. Содержание мирицитрина в исследуемом препарате настойки составляет 0,011 мг/мл, а собственная восстановительная сила мирицитрина (сила FRAP=15963±209) является наибольшей среди всех протестированных индивидуальных соединений, существенно превышая АОА аскорбиновой кислоты (сила FRAP=2327±65). Это позволяет предположить, что мирицитрин является одним из основных БАС, проявляющих антиоксидантные свойства в данном извлечении из листьев *Myrtus communis*, что объясняет как полученные нами результаты, так и литературные данные о высокой АОА экстракционных препаратов листьев мирта [76, 87, 105, 119, 146, 190].

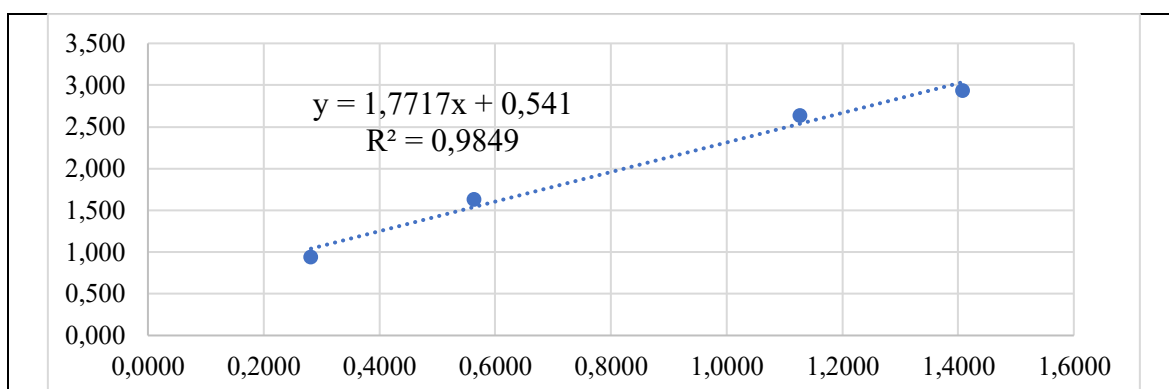


Рисунок 48 – Градуировочный график зависимости разницы оптической плотности раствора от концентрации настойки листьев мирта обыкновенного (мг/мл) в пробе

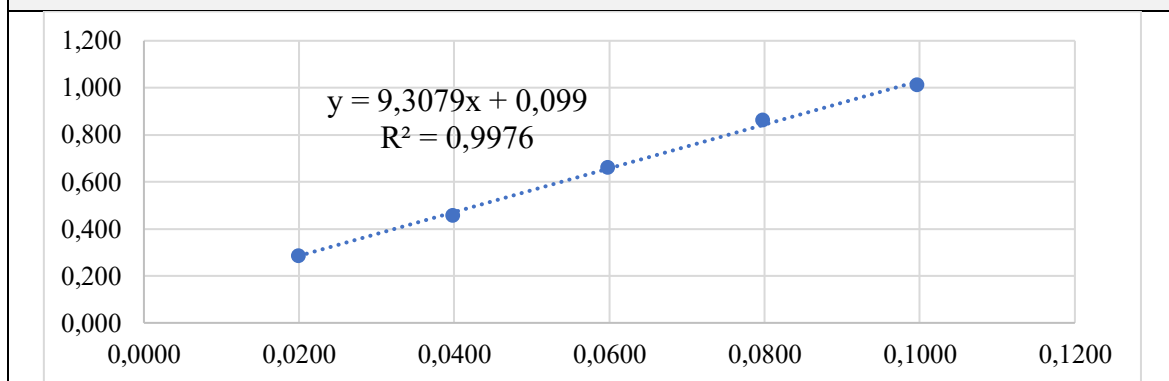


Рисунок 49 – Градуировочный график зависимости разницы оптической плотности раствора от концентрации аскорбиновой кислоты (мг/мл) в пробе

Галловая кислота (сила FRAP=3860±186), в свою очередь, продемонстрировала АОА (рис. 46), более чем в 1,5 раза превышающую показатель аскорбиновой кислоты (табл. 32), что также демонстрирует ее вклад в общую АОА настойки листьев *Myrtus communis*.

Исследуемые агликон мирицетин (сила FRAP=991±41) (рис. 45) и флороглюциновое соединение миртокоммулон D (сила FRAP=395±17) (рис. 47) проявили меньшую восстановительную способность в условиях FRAP-теста по сравнению с аскорбиновой кислотой (табл. 32).

Важно отметить, что высокая АОА настойки листьев мирта обыкновенного, в 2 раза превышающая АОА стандарта в пересчете на содержание мирицитрина, является результатом синергического действия входящих в ее состав фенольных соединений, прежде всего мирицитрина и галловой кислоты, что подтверждается их доминирующим содержанием и вкладом в спектр оптического поглощения в УФ области их спиртовых растворов (рис. 23). Использование 70% концентрации этилового спирта в качестве экстрагента обеспечивает максимальный выход мирицитрина [32].

Таким образом, в ходе проведенного исследования впервые методом FRAP была оценена АОА настойки российского сырья *Myrtus communis* и индивидуальных фенольных соединений, выделенных из данного сырья. Наибольшей общей АОА среди изученных соединений обладает флавоноид мирицитрин, чья восстановительная сила в условиях FRAP-теста примерно в 7 раз превышает АОА аскорбиновой кислоты (стандарта). Можно предположить, что высокий уровень АОА настойки *Myrtus communis*, превосходящий в 2 раза АОА стандарта, обеспечивается преимущественно мирицитрином и галловой кислотой. Результаты исследования подтверждают перспективность использования листьев *Myrtus communis*, произрастающего в России, в качестве растительного сырьевого источника для создания эффективных отечественных фитопрепаратов с комплексной АОА.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 6

1. Впервые экспериментально подтверждено антимикробное действие водно-спиртовых экстрактов мирта обыкновенного в отношении клинических резистентных штаммов *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cenocepacia* и мукоидного штамма *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных от пациентов с муковисцидозом.
2. Впервые установлен антимикробный эффект водно-спиртовых извлечений из листьев *Myrtus communis* российского происхождения в отношении патогенного штамма микроорганизмов *Bacillus cereus*, которые превосходили по результатам МИК препараты отрицательного контроля (этиловый спирт различных концентраций) и препарат сравнения - настойку эвкалипта прутовидного, фармакопейного близкородственного мирту растения семейства *Myrtaceae*. Кроме того, проведенные исследования подтвердили, что экстракты листьев мирта обыкновенного российского происхождения обладают выраженной антимикробной и противогрибковой активностью в отношении клинически значимых патогенов: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* и *Enterococcus faecalis*, что согласуется с опубликованными международными данными об этом фармакологическом действии растения.
3. Впервые результатами микробиологического исследования доказано, что флороглюцин миртокоммулон D, выделенный из российского сырья мирта обыкновенного, проявляет значительную антимикробную активность в отношении патогенных штаммов микроорганизмов *Staphylococcus aureus* и *Bacillus cereus*, превосходящую препараты контроля (этиловый спирт различных концентраций) и сравнения (настойка эвкалипта прутовидного) на несколько порядков разведений. Установлено, что миртокоммулон D вносит ключевой вклад в антимикробную активность настойки мирта обыкновенного.

4. Впервые проведено исследование по нейротропному действию *in vivo* густого экстракта из российского растительного сырья мирта обыкновенного, а также флавоноида мирицитрина, выделенного из данного сырья. Выявлено, что мирицитрин вносит весомый вклад в психоседативную активность экстракционного препарата из листьев мирта обыкновенного.

5. Впервые проведено исследование диуретического действия густого экстракта из листьев мирта *in vivo*, и экспериментально установлено, что диуретическим эффектом исследуемый растительный объект не обладает.

6. Впервые методом FRAP проведена сравнительная оценка общей антиоксидантной активности настойки, полученной из листьев мирта обыкновенного российского происхождения, и фенольных индивидуальных соединений – мирицитрина, мирицетина, галловой кислоты и миртокоммулона D. Полученные данные подтверждают, что мирицитрин является ведущим носителем АОА в данном сырье, демонстрируя восстановительную способность, примерно в 7 раз превышающую активность аскорбиновой кислоты (стандарта). При этом высокая АОА настойки мирта (в 2 раза выше стандарта) определяется не только вкладом мирицитрина, но и синергическим действием комплекса фенольных соединений, включая галловую кислоту. Установленный уровень антиоксидантного потенциала российского сырья согласуется с опубликованными зарубежными данными о высокой АОА экстрактов *Myrtus communis*, что дополнительно обосновывает его ценность как перспективного источника для создания стандартизированных фитопрепаратов с антиоксидантными свойствами.

7. Установленный комплекс биологической активности листьев мирта обыкновенного (антимикробной, противогрибковой, антиоксидантной, анксиолитической) формирует доказательную основу для включения данного растительного сырья в промышленную фармацию в качестве сырьевого источника для получения стандартизированных экстрактов, субстанций (API) и готовых лекарственных форм.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам проведенного комплексного фармакогностического исследования листьев мирта обыкновенного (*Myrtus communis folia*) были сформулированы следующие **основные выводы**:

1. Впервые разработана комплексная система диагностических признаков для идентификации и стандартизации листьев мирта обыкновенного, основанная на данных люминесцентной микроскопии. Установлены новые высокоспецифичные критерии, включая уникальную яркую сине-голубую флуоресценцию эфирного масла мирта обыкновенного, отличающую его от близкородственных видов семейства *Myrtaceae*. Вместе с тем, наблюдается специфичное розовое свечение производных флороглюцина в проводящих тканях листа *Myrtus communis*. Подтверждены основные диагностические признаки листовой пластинки мирта, такие как дорсовентральное строение, наличие устьиц аномоцитного типа только на абаксиальной стороне, схизогенные эфиромасличные вместилища с эфирным маслом, друзы и призматические кристаллы оксалата кальция.

2. Впервые методом адсорбционной колоночной хроматографии из российского сырья мирта обыкновенного выделены доминирующий флавоноид – мирицитрин и флороглюциновое соединение миртокоммулон D, идентифицированные по результатам современных аналитических методов: УФ-, ¹H-ЯМР, ¹³C-ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии.

3. Впервые разработан оригинальный комплексный подход к качественному анализу листьев мирта обыкновенного, включающий систему специфических пробирочных реакций и метод тонкослойной хроматографии в стандартизированной системе растворителей хлороформ–этанол–вода (25:18:2, об.) с использованием стандартных образцов мирицитрина и миртокоммулона D в качестве реперных маркеров.

4. Усовершенствована и валидирована методика количественного определения суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного в пересчете

на доминирующий флавоноид мирицитрин методом дифференциальной спектрофотометрией при аналитической длине волны 418 нм. Методика защищена патентом Российской Федерации на изобретение №2847875. Установлен числовой показатель качества листьев мирта обыкновенного по содержанию суммы флавоноидов в пересчете на мирицитрин - не менее 1,5%.

5. Разработана и валидирована оригинальная методика количественного определения мирицитрина в листьях мирта обыкновенного методом ВЭЖХ и детектированием на УФ-детекторе при аналитической длине волны 360 нм. Установлен числовой показатель качества листьев мирта обыкновенного по содержанию мирицитрина - не менее 0,9%.

6. Установлены критерии видовой специфичности, подлинности и доброкачественности эфирного масла мирта обыкновенного методом ГХ-МС с детектированием специфических терпеновых компонентов (миртенилацетата, гумулена, линалилацетата, β -мирцена и их производных) наряду с компонентами, исключаяющими причастность эфирного масла к виду *Myrtus* (глобулол и его производные). Установлен предельный минимум содержания эфирного масла в листьях мирта обыкновенного в пересчете на сухое сырье - не менее 0,8%.

7. В результате проведенных микробиологических исследований установлено, что водно-спиртовые извлечения из листьев мирта обыкновенного превосходят по антимикробной и фунгицидной активности препарат сравнения – «эвкалипта настойка», причем наибольший вклад в антибактериальную активность исследуемых экстракционных препаратов вносит флороглюцин миртокоммулон D.

8. Впервые проведен скрининг густого экстракта из российского сырья мирта обыкновенного *in vivo* на нейротропную и диуретическую активность, в результате которых выявлено, что мирицитрин вносит весомый вклад в психоседативную активность данного экстракционного препарата. При этом густой экстракт из листьев мирта обыкновенного диуретического действия не продемонстрировал.

9. Впервые методом FRAP в сравнительном плане изучена общая антиоксидантная активность настойки листьев мирта обыкновенного и выделенных индивидуальных соединений, и при этом выявлено, что антиоксидантная активность увеличивается в следующем порядке: миртокоммулон D, мирицетин, галловая кислота, настойка листьев мирта обыкновенного, мирицитрин. Значительный вклад в антиоксидантную активность листьев мирта обыкновенного вносит мирицитрин. Определено, что настойка листьев мирта обыкновенного и мирицитрин превосходят по своей общей антиоксидантной активности аскорбиновую кислоту (стандарт) в 2 и 7 раз соответственно.

10. Разработан проект фармакопейной статьи на новый вид лекарственного растительного сырья «Мирта обыкновенного листа».

Практические рекомендации, вытекающие из результатов диссертационного исследования:

1. *Внедрение нормативной документации.* Разработанный проект фармакопейной статьи на новый вид лекарственного растительного сырья «Мирта обыкновенного листа» рекомендуется представить на рассмотрение в установленном порядке для включения в последующие издания Государственной фармакопеи Российской Федерации. Это обеспечит нормативно-правовую основу для легального оборота, стандартизации и контроля данного вида растительного сырья.

2. *Применение в контрольно-аналитической практике.* Разработанный комплекс методик (микроскопических, химических, физико-химических, физических), а также установленные числовые показатели качества рекомендуется внедрить в практическую деятельность контрольно-аналитических лабораторий, центров контроля качества лекарственных средств и производственно-аналитических отделов фармацевтических предприятий. Это позволит обеспечить достоверную идентификацию и оценку чистоты и доброкачественности ЛРС мирта и препаратов на его основе.

3. Использование в образовательном процессе. Материалы и результаты диссертационной работы рекомендуется интегрировать в учебные программы, лабораторные практикумы и научно-исследовательскую работу студентов по специальностям «Фармация», «Биотехнология» и смежным дисциплинам. Полученные данные могут быть использованы при изучении разделов «Фармакогнозия», «Фармацевтическая химия», «Стандартизация лекарственных средств» для иллюстрации современных подходов к комплексному изучению и стандартизации нового вида ЛРС и экстракционных препаратов на его основе.

Перспективы дальнейшей разработки темы. Результаты настоящего диссертационного исследования формируют основу для последующего решения ряда актуальных научно-практических задач в области фармакогнозии и фармацевтической химии. Перспективными направлениями являются углубленное изучение фитохимического профиля российского сырья *Myrtus communis*, включая расширение идентификации биологически активных веществ и оценку их вклада в общую фармакологическую активность. Полученные данные стандартизации открывают путь для разработки полного пакета нормативной документации на новый вид лекарственного растительного сырья «Мирта обыкновенного листа». Дальнейшая работа должна быть направлена на оптимизацию технологических регламентов получения стандартизированных экстрактов (API) и доклинические исследования комплексных лекарственных растительных препаратов на их основе с целью создания инновационных эффективных и безопасных отечественных лекарственных средств.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бакова, Е.Ю. Анатомо-морфологическая характеристика листьев мирта обыкновенного, произрастающего в условиях южного берега Крыма / Е.Ю. Бакова, Ф.М. Меликов, Д.А. Коновалов, Н.В. Бобкова // Фармация. – 2021. – Т. 70, № 2. – С. 29–35. DOI 10.29296/25419218-2021-02-05.
2. Бакова, Е.Ю. Антиоксидантные свойства и токсичность водного извлечения и сиропа мирта обыкновенного / Е.Ю. Бакова, Н.Н. Бакова, Д.И. Поздняков // Современная наука и инновации. – 2022. – Т. 40, № 4. – С. 108–115. DOI: 10.37493/2307-910X.2022.4.11.
3. Бакова, Е.Ю. Биологически активные вещества подвидов и разновидностей *Myrtus communis* L., культивируемых в условиях влажных субтропиков России / Е.Ю. Бакова, Н.Н. Бакова, Г.А. Солтани // Интеграционные связи фармацевтической экологии - 2023 : сборник материалов Первой международной конференции, Москва, 14–16 ноября 2023 года. – Москва: ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), 2024. – С. 19–21.
4. Бакова, Е.Ю. Минеральный и аминокислотный состав листьев *Myrtus communis* L. / Е.Ю. Бакова, Ю.В. Плугатарь, Н.Н. Бакова, Д.А. Коновалов // Химия растительного сырья. – 2019. – № 3. – С. 217–223. DOI: 10.14258/jcprm.2019034917.
5. Бакова, Е.Ю. О фенольных соединениях мирта обыкновенного *Myrtus communis* L / Е.Ю. Бакова, А.Е. Палий, Н.Н. Бакова // Фенольные соединения: свойства, активность, инновации: Сборник научных статей по материалам X Международного симпозиума, Москва, 14–19 мая 2018 года / Ответственный редактор Н.В. Загоскина. – Москва: PRESS-BOOK.RU, 2018. – С. 222–226.
6. Бакова, Е.Ю. Особенности компонентного состава эфирного масла *Myrtus communis* L., выращиваемого в условиях Южного берега Крыма / Е.Ю. Бакова, А.Е. Палий, Н.Н. Бакова, И.А. Федотова // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2018. – Т. 21, № 11. – С. 30–35. DOI: 10.29296/25877313-2018-11-04.

7. Бакова, Е.Ю. Сравнительный анализ микроскопического строения листовой пластинки мирта обыкновенного и листа эвкалипта прутовидного / Е.Ю. Бакова, Ф.М. Меликов, Д.А. Коновалов // Ароматические и лекарственные растения: интродукция, селекция, агротехника, биологически активные вещества, влияние на человека : тезисы международной научно-практической конференции, Ялта, 21–25 июня 2021 года / Никитский ботанический сад - Национальный научный центр РАН. – Симферополь: Общество с ограниченной ответственностью «Издательство Типография «Ариал», 2021. – С. 34.
8. Бакова, Н.Н. Биологически активные соединения *Myrtus communis* L / Н.Н. Бакова, Е.Ю. Бакова, А.Е. Палий, Д. А. Коновалов // Биотехнология как инструмент сохранения биоразнообразия растительного мира (физиолого-биохимические, эмбриологические, генетические и правовые аспекты) : Материалы VIII Международной научно-практической конференции, Yalta, 01–05 октября 2018 года. – Yalta: Общество с ограниченной ответственностью «Издательство Типография «Ариал», 2018. – С. 121–122.
9. Белодубровская Г.А. Энциклопедический словарь лекарственных растений и продуктов животного происхождения: Учеб. пособие. – СПб.: Специальная литература, 1999. – С. 196.
10. Бондарева, Е.В. Статистическая обработка малых выборок в адаптивной физической культуре с использованием критерия Манна - Уитни / Е.В. Бондарева, Н.В. Стеценко // Математическая физика и компьютерное моделирование. – 2017. – Т. 41, № №4. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/statisticheskaya-obrabotka-malyh-vyborok-v-adaptivnoy-fizicheskoy-kulture-s-ispolzovaniem-kriteriya-manna-uitni> (дата обращения: 30.08.2025).
11. Воронин, А.В. Использование компьютерной программы «Chemmetr 1.0» для метрологической оценки методик фармацевтического анализа / А.В. Воронин, И.В. Сынбулатов. — Текст: непосредственный // Национальная ассоциация ученых. — 2020. — Вып. 52, Т. 3. — С. 45–49.

12. Голубкина, Н.А. Биохимическая характеристика перспективных лекарственных растений из коллекции Никитского ботанического сада / Н.А. Голубкина, А.В. Молчанова, О.М. Шевчук, Л.А. Логвиненко, Л.А., Л.А. Хлыпенко // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2018. – Т. 21, № 1. – С. 7–11. DOI: 10.29296/25877313-2018-01-02.
13. ГОСТ 5818-78. Реактивы. Анилин серноокислый. Технические условия. URL: <https://www.rst.gov.ru/portal/gost> (дата обращения: 01.12.2025).
14. ГОСТ Р ИСО 20776-1-2022. Исследование чувствительности инфекционных агентов и оценка функциональных характеристик изделий для исследования чувствительности к антимикробным средствам. URL: <https://www.rst.gov.ru/portal/gost> (дата обращения: 06.12.2025).
15. Государственная Фармакопея Российской Федерации. XV издание / Министерство здравоохранения Российской Федерации. URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/> (дата обращения: 09.01.2026).
16. Государственный реестр лекарственных средств. URL: <http://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx>. (дата обращения: 25.12.2025).
17. Дегтярева, А.П. Об антимикробных веществах мирта (обыкновенного) и эвкалиптов (левопиненового и Вилькинсона): автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / А.П. Дегтярева. – Киев, 1962. – 22 с.
18. Джалетова, К.Н. Эффекты вторичных метаболитов мирта обыкновенного (*myrtus communis*) на суммарную электрическую активность головного мозга крыс при моделировании ишемии-реперфузии / К.Н. Джалетова, Е.С. Савенкова, М.Ю. Раваева // Agrotech и fooddesing (foodtech) : Электронный сборник материалов III Международного саммита молодых ученых, Краснодар, 30 ноября – 02 2024 года. – Краснодар: Кубанский государственный технологический университет, 2024. – С. 18–21.
19. Дмитриева, В.Л. Мирт обыкновенный *Myrtus communis* L. Метод газо-жидкостной хроматографии для определения компонентного состава / В.Л.

Дмитриева, Е.Ю. Бакова, Л.Б. Дмитриев, Н.Н. Бакова // Доклады ТСХА: Сборник статей, Москва, 05–07 декабря 2017 года. Том Выпуск 290, Часть IV. – Москва: Российский государственный аграрный университет - МСХА им. К.А. Тимирязева, 2018. – С. 345–347.

20. Дунаевская, Е.В. Содержание эссенциальных элементов в сырье *Myrtus communis* L. в основные фенофазы / Е.В. Дунаевская, Л.А. Логвиненко // Аграрный вестник Урала. – 2018. – Т. 172, № 5. – С. 20–26.

21. Зайчикова, С.Г. Анатомо-морфологическое изучение *Myrtus communis* L. семейства *Myrtaceae* / С.Г. Зайчикова, Д.А. Володий, А.М. Анцышкина, Т.В. Простодушева // Интеграционные связи фармацевтической экологии - 2023: сборник материалов Первой международной конференции, Москва, 14–16 ноября 2023 года. – Москва: ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), 2024. – С. 37–39.

22. Зилфикаров, И.Н. Основные аспекты сквозной стандартизации сырья и лекарственных препаратов эвкалипта прутовидного / И.Н. Зилфикаров, Ж.В. Дайронас, И.И. Бочкарева, Б.Г. Бочкарев // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. – 2022. – Т. 12, № 2. – С. 183–192. DOI: 10.30895/1991-2919-2022-12-2-183-192.

23. Зилфикаров, И.Н. Ресурсосберегающие технологии в фармации: Современные методы стандартизации и комплексной переработки эфирномасличного сырья / И.Н. Зилфикаров. – Германия: LAP LAMBERT, 2011. – 234 с.

24. КиберЛенинка. URL: <https://cyberleninka.ru> (дата обращения: 06.01.2026).

25. Киселева, Т.Л. Лекарственные растения в мировой медицинской практике: государственное регулирование номенклатуры и качества / Т.Л. Киселева, Ю.А. Смирнова. - М.: Издательство Профессиональной ассоциации натуротерапевтов, 2009. – 295 с.

26. Козлов, Р.С. Антибиотикорезистентность грамотрицательных возбудителей осложненных интраабдоминальных инфекций в России / Р.С. Козлов, А.В. Голуб, А.В. Дехнич, М.В. Сухорукова // КМАХ. – 2015. – Т. 17, № 3. – С. 227–231.
27. Колсанов, А.В. Нейрокомпьютерный интерфейс: фундаментальные и клинические аспекты развития и применения технологии / А.В. Колсанов, Е.В. Авдеева // Наука и инновации в медицине. – 2017. – № 4(8). – С. 6–12.
28. Корзина, Н.В. Клональное микроразмножение как способ ускоренного получения генетически однородного посадочного материала *Myrtus communis* сорта Южнобережный / Н.В. Корзина, Л.А. Логвиненко, Н.Н. Иванова [и др.] // Таврический вестник аграрной науки. – 2024. – № 4(40). – С. 111–124. DOI: 10.5281/zenodo.14184578.
29. Кузнецов, П.В. Именные (цветные) реакции в фармацевтическом и химико-токсикологическом функциональном анализе: учебное пособие / П.В. Кузнецов. – Кемерово: АИ «Кузбассвуиздат», 2016. – 167 с.
30. Куркин, В.А. Анатомио-морфологическое исследование корней щавеля конского (*Rumex confertus* Willd.) / В.А. Куркин, Н.В. Зайцева, Е.В. Авдеева, В.М. Рыжов, Л.В. Тарасенко // Медицинский альманах. – 2013. – Т. 25, №1. – С. 196–198. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/anatomo-morfologicheskoe-issledovanie-korney-schavelya-konskogo-r-mex-conf-rtus-willd> (дата обращения: 24.07.2025).
31. Куркин, В.А. Научное обоснование использования лекарственных растений в оториноларингологии / В.А. Куркин, Е.В. Авдеева, О.Е. Правдивцева, А.В. Куркина, Н.Р. Варина, В.В. Стеняева, А.С. Цибина, С.В. Первушкин // Наука и инновации в медицине. - 2021. - Т. 6, №2. - С. 54–59. DOI: 10.35693/2500-1388-2021-6-2-54-59.
32. Куркин, В.А. Определение содержания мирицитрина в листьях мирта обыкновенного (*Myrtus communis* L.) методом ВЭЖХ / В.А. Куркин, В.Д. Маслова, А.Р. Мубинов // Химико-фармацевтический журнал. – 2024. – Т. 58, № 5. – С. 30–34. DOI: 10.30906/0023-1134-2024-58-5-30-34.

33. Куркин, В.А. Основы фитотерапии: учебное пособие / В.А. Куркин. - 4-е изд., перераб. и доп. – Самара: ООО «Офорт», ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, 2025. - 1963 с.
34. Куркин, В.А. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного / В.А. Куркин, А.И. Хусаинова, А.В. Куркина [и др.] // Химия растительного сырья. – 2021. – № 1. – С. 159–166. DOI: 10.14258/jcprm.2021017423.
35. Куркин, В.А. Совершенствование методики количественного определения суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного (*Myrtus communis* L.) / В.А. Куркин, В.Д. Маслова, А.Р. Мубинов // Химия растительного сырья. – 2025. – № 2. – С. 236–244. DOI: 10.14258/jcprm.20250214847.
36. Куркин, В.А. Фармакогнозия: Учебник для фармацевтических вузов (факультетов) / В. А. Куркин. – 5-е изд., перераб. и доп. – Самара: ООО «Офорт»: ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, 2020. – 1278 с.
37. Логвиненко, Л.А. Биохимические особенности морфоформ *Myrtus communis* L. В условиях культуры на Южном берегу Крыма / Л.А. Логвиненко, О.М. Шевчук, Н.А. Голубкина, А.А. Коростылев // Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада. – 2023. – № 147. – С. 63–71. DOI: 10.25684/0513-1634-2023-147-63-71.
38. Логвиненко, Л.А. Культура мирт обыкновенный (*Myrtus communis* L.) в условиях Южного берега Крыма / Л.А. Логвиненко // Аграрный вестник Урала. – 2017. – Т. 163, № 9. – С. 3.
39. Логвиненко, Л.А. Особенности биологии роста и развития многолетней и порослевой формы мирта обыкновенного (*Myrtus communis* L.) в условиях Южного берега Крыма / Л.А. Логвиненко // Уральский аграрный вестник. – 2017. - Т. 165, № 11. – С. 45–49.
40. Логвиненко, Л.А. Особенности прорастания семян *Myrtus communis* L. var. *Belgica*, полученных в условиях культуры южного берега Крыма / Л.А.

Логвиненко // Аграрный вестник Урала. – 2019. – Т. 185, № 6. – С. 15–21. DOI: 10.32417/article_5d47f7f2cc7a67.55851754.

41. Логвиненко, Л.А. Перспективы возделывания *Myrtus communis* L. // Дендрология, цветоводство и садово-парковое строительство: Материалы Международной научной конференции, посвященной 200-летию Никитского ботанического сада. - Ялта: Никитский ботанический сад - Национальный научный центр. – 2012. – Т. 1. – С. 119.

42. Логвиненко, Л.А. Содержание биологически активных веществ в листьях *Myrtus communis* L. в условиях южного берега Крыма / Л.А. Логвиненко, Е.В. Дунаевская // Аграрный вестник Урала. – 2020. – Т. 192, № 1. – С. 60–68. DOI 10.32417/1997-4868-2020-192-1-60-68.

43. Макарова, М.А. Современное представление о диареогенных *Escherichia coli* — возбудителях острых кишечных инфекций / М.А. Макарова // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. - 2023. - Т. 100, №4. - С. 333–344. DOI: 10.36233/0372-9311-410.

44. Мамедова, И.О. Состав эфирных масел листьев *Myrtus communis* L. на востоке Азербайджана / И.О. Мамедова, Т.С. Мамедов // Hortus Botanicus. – 2022. – Т. 17. – Р. 204–216. DOI: 10.15393/j4.art.2022.8467.

45. Маслова, В. Д. Антимикробная активность водно-спиртовых извлечений из листьев мирта обыкновенного в отношении штаммов, выделенных от пациентов с муковисцидозом / В.Д., Маслова, В.А., Куркин, В.М., Рыжов, А.В., Лямин, О.В., Кондратенко, Н.Н., Бакова, Е.Ю., Бакова // Фармация и Фармакология. – 2024. – Т. 12, № 6. – С. 410–419. DOI: 10.19163/2307-9266-2024-12-6.

46. Маслова, В.Д. Морфолого-анатомическое исследование листьев мирта обыкновенного (*Myrtus communis* L.) / В.Д. Маслова, Е.Р. Державина, В.А. Куркин, В.М. Рыжов // Аспирантский вестник Поволжья. – 2024. – Т. 24, № 2. – С. 93–101. DOI 10.35693/avp636473.

47. Маслова, В.Д. Определение доминирующего флавоноида в листьях мирта обыкновенного (*Myrtus communis* L.) / В.Д. Маслова, 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, ООО "Полиграфическое объединение "Стандарт", 2024. – С. 171–174.

48. Маслова, В.Д. Определение компонентного состава флавоноидов настойки листьев *Myrtus communis* L. методом ВЭЖХ / В.Д. Маслова, В.А. Куркин // Достижения и перспективы создания новых лекарственных растительных препаратов: Сборник научных статей по материалам Международного научного Симпозиума, Москва, 04–06 июня 2025 года. – Москва: Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений, 2025. – С. 406–410. DOI: 10.52101/9785870191164-2025-1-406.

49. Маслова, В.Д. Определение содержания мирицитрина в экстракционных препаратах из листьев мирта обыкновенного методом ВЭЖХ / В.Д. Маслова, В.А. Куркин // Химико-фармацевтический журнал. – 2025. – Т. 59, № 11. – С. 46–51. DOI: 10.30906/0023-1134-2025-59-11-46-51.

50. Маслова, В.Д. Петиолярная анатомия листьев мирта обыкновенного (*Myrtus communis* L.) / В.Д. Маслова // 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: ООО "Полиграфическое объединение "Стандарт", 2024. – С. 364–367.

51. Маслова, В.Д. Сравнительная антимикробная активность водно-спиртовых извлечений из листьев мирта обыкновенного (*Myrtus communis* L.) в отношении штаммов, выделенных от пациентов с муковисцидозом / В.Д. Маслова // 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. 710–715.

52. Маслова, В.Д. Сравнительное исследование антимикробной активности водных и водно-спиртовых извлечений и эфирного масла листьев мирта обыкновенного (*Myrtus communis* L.) / В.Д. Маслова, С.Д. Колпакова, В.А. Куркин, А.Р. Мубинов, О.В. Кондратенко, Н.Н. Бакова, Е.Ю. Бакова // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2025. – Т. 24, № 3. – С. 210–221. DOI: 10.37903/vsgma.2025.3.27.

53. Маслова, В.Д. Сравнительный качественный и количественный анализ эфирных масел мирта обыкновенного и эвкалипта прутовидного / В.Д. Маслова, В.А. Куркин, Т.К. Рязанова // Фармация. – 2025. – Т. 74, № 1. – С. 22–29. – DOI 10.29296/25419218-2025-01-03.

54. Мозуль, В.И. Исследование эфирного масла *Myrtus communis* L. / В.И. Мозуль, В.С. Доля, Л.И. Слобожан // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2011. – Т. 24, № 2. – С. 30–32.

55. Научная электронная библиотека eLIBRARY.RU. URL: <http://www.e-library.ru> (дата обращения: 08.01.2026).

56. Николаевский В.В. Ароматерапия // Справочник. – М.: Медицина. – 2000. – С. 52.

57. Официальный сайт Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

URL: <https://www.rospotrebnadzor.ru/> (дата обращения: 21.10.2025).

58. Работягов, В.Д. Аннотированный каталог видов и сортов эфиромасличных, пряно-ароматических и пищевых растений коллекции Никитского ботанического сада / Работягов В.Д., Хлыпенко Л.А., Бакова Н.Н., Машанов В.И. – Ялта: НБС-ННЦ. Т. 48, 2007. – 287 с.

59. Рамазанова, Ж.И. Исследование петиолярных признаков листьев мирта обыкновенного *Myrtus communis* L. / Ж.И. Рамазанова // Студенческая наука и медицина XXI века: традиции, инновации и приоритеты : XIV Всероссийская

(88-я Итоговая) студенческая научная конференция СНО с международным участием, посвященная 90-летию Клиник СамГМУ, Самара, 14 октября 2020 года. – Самара: ООО «Офорт», 2020. – С. 271.

60. Руководство по инструментальным методам исследований при разработке и экспертизе качества лекарственных препаратов / Под ред. С.Н. Быковского [и др.]. - М.: Изд-во Перо, 2014. - 656 с.

61. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под ред. Р.У. Хабриева. - 2-е изд., перераб. и доп. М.: ОАО Издательство «Медицина», 2005. - 832 с.

62. Савенкова, Е.С. Влияние вторичных метаболитов мирта на микроциркуляцию у крыс при моделировании ишемии головного мозга / Е.С. Савенкова, К.Н. Джалетова, М.Ю. Раваева // Agrotech и fooddesing (foodtech) : Электронный сборник материалов III Международного саммита молодых ученых, Краснодар, 30 ноября – 02 декабря 2024 года. – Краснодар: Кубанский государственный технологический университет, 2024. – С. 49–53.

63. Самбукова, Т.В. Перспективы использования фитопрепаратов в современной фармакологии // Т.В. Самбукова, Б.В. Овчинников, В.П. Ганапольский, А.Н. Ятманов, П.Д. Шабанов // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2017. – Т. 15, №2. – С. 55–62.

64. Самылина, И.А. Фармакогнозия. Атлас: учебное пособие для студентов, обучающихся по специальности 060108 (040500) - Фармация: в 2 томах / И.А. Самылина, О.Г. Аносова, И.А. Самылина, О.Г. Аносова. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 30 с.

65. Соколов, С.Я. Деревья и кустарники СССР: Дикорастущие, культивируемые и перспективные для интродукции / Ред.: д-р биол. наук проф. С.Я. Соколов. чл.-кор. АН СССР Б.К. Шишкин. – АН СССР. Ботан. ин-т им. В. Л. Комарова. - Москва; Ленинград: Изд-во АН СССР, 1960 (Ленинград). Т. 5: Покрытосеменные. Семейства Миртовые-Маслиновые, 1960. – 543 с.

66. Фурст, Т.Г. Методы анатомо-гистохимического исследования тканей / Т.Г. Фурст // М.: Наука, 1979. – 155 с.
67. Чайка, А.В. Тест Порсолта как лонгитюдный метод оценки динамики эмоционального состояния крыс в модели хронического непредсказуемого умеренного стресса / А.В. Чайка, Е.В. Коношенко, Д.Р. Хусаинов, В.И. Шахматова, И.А. Можаровская, И.В. Черетаев // Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского. Биология. Химия. – 2018. – №2. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/test-porsolta-kak-longityudnyy-metod-otsenki-dinamiki-emotsionalnogo-sostoyaniya-krysv-v-modeli-hronicheskogo-nepredskazuemogo> (дата обращения: 30.08.2025).
68. Черятова, Ю.С. Анатомо-диагностические признаки листьев мирта обыкновенного (*Myrus Communis* L.) / Ю.С. Черятова // Доклады ТСХА: Сборник статей, Москва, 31 января 2015 года. Том Выпуск 288, Часть I. – Москва: Российский государственный аграрный университет - МСХА им. К.А. Тимирязева, 2016. – С. 403–407.
69. Черятова, Ю.С. Особенности строения и формирования эфирномасличных вместилищ *Myrtus communis* L. / Ю.С. Черятова // Разнообразие растительного мира. – 2023. – Т. 17, № 2. – С. 5–11. DOI: 10.22281/2686-9713-2023-2-5-11.
70. Черятова, Ю.С. Секреторные структуры *Myrtus communis* L. / Ю.С. Черятова // Симбиоз-Россия 2022: сборник статей XIII Международной конференции ученых-биологов, Пермь, 24–25 октября 2022 года. – Пермь: Пермский государственный национальный исследовательский университет, 2023. – С. 500–503.
71. Чиряпкин, А.С. Мирицетин как перспективный флавоноид с мультитаргетной биологической активностью / А.С. Чиряпкин // *Juvenis scientia*. – 2024. – Т. 10, №1. – С. 5–18. DOI: 10.32415/jscientia_2024_10_1_5-18.
72. Чуян, Е.Н. Вазоактивное действие вторичных метаболитов мирта / Е.Н. Чуян, И.С. Миронюк, И.В. Черетаев // Ученые записки Крымского

- федерального университета имени В.И. Вернадского. Биология. Химия. – 2024. – Т. 10, № 2. – С. 254–273. DOI: 10.29039/2413-1725-2024-10-2-254-273.
73. Чуян, Е.Н. Показатели центральной гемодинамики при действии вторичных метаболитов мирта / Е.Н. Чуян, И.С. Миронюк, М.Ю. Раваева [и др.] // Космос и биосфера : тезисы докладов XV международной крымской конференции, посвященной 160-летию со дня рождения В.И. Вернадского, Симферополь, 09–12 октября 2023 года. – Симферополь: Общество с ограниченной ответственностью «Издательство Типография «Ариал», 2023. – С. 53–55.
74. Adham, A.M. Analysis of Genetic Diversity of Myrtle (*Myrtus Communis* L.) by Using SSR Technique / A. M. Adham, S.Sh. Sabah, M.R. Mahmoud, O. F. Fabel // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. – 2021. – Vol. 923, No. 1. – P. 012011. DOI: 10.1088/1755-1315/923/1/012011.
75. Akin, M. Antibacterial activity and composition of the essential oils of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. and *Myrtus communis* L. Growing in Northern Cyprus / M. Akin, A. Aktumsek, A. Nostro // African Journal of Biotechnology. – 2010. – Vol. 9. – P. 531-535. DOI: 10.5897/AJB09.1562.
76. Aleksic, V. Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis* L. / V. Aleksic, P. Knezevic // Microbiological Research. – 2014. – Vol. 169, No. 4. – P. 240-254.
77. Alipour, G. Review of Pharmacological Effects of *Myrtus communis* L. and its Active Constituents / G. Alipour, S. Dashti, H. Hosseinzadeh // Phototherapy Research. – 2014. – Vol.28, No. 8. – P. 1125-1136. DOI: 10.1002/ptr.5122.
78. Al-Maharik, N. *Myrtus communis* L.: essential oil chemical composition, total phenols and flavonoids contents, antimicrobial, antioxidant, anticancer, and α -amylase inhibitory activity/ N. Al-Maharik, N. Jaradat, N. Al-Hajj // Chemical and Biological Technologies in Agriculture. – 2023. – Vol. 10, No. 41. DOI: 10.1186/s40538-023-00417-4.

79. Al-Snafi, A.E. The therapeutic value of *Myrtus communis* L.: an updated review / A.E. Al-Snafi, J.O. Teibo, H.M. Shaheen // Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology. – 2024. – Vol. 397. – P. 4579-4600.
80. Appendino, G. Antibacterial galloylated alkylphloroglucinol glucosides from myrtle (*Myrtus communis*) / G. Appendino, L. Maxia, P. Bettoni, M. Locatelli, C. Valdivia, M. Ballero, M. Stavri, S. Gibbons, O. Sterner // Journal of Natural Products. – 2006. – Vol. 69, No. 2. – P. 251–254. DOI: 10.1021/np050462w.
81. Appendino, G. Oligomeric acylphloroglucinols from myrtle (*Myrtus communis*) / G. Appendino, F. Bianchi, A. Minassi, O. Sterner, M. Ballero, S. Gibbons // Journal of Natural Products. – 2002. – Vol. 65, No. 3. – P. 334–338. DOI: 10.1021/np010441b.
82. Asgarpanah, J. Phytochemistry and pharmacological properties of *Myrtus communis* L. / J. Asgarpanah, A. Ariamanesh // Indian Journal of Traditional Knowledge. – 2015. – Vol. 14. – P. 82-87.
83. Atef, N.M. Evaluation of antimicrobial activity of some plant extracts against antibiotic susceptible and resistant bacterial strains causing wound infection / N.M. Atef, S.M. Shanab, S.I. Negm, Y.A. Abbas // Bulletin of the National Research Centre. – 2019. – Vol. 43, No. 144. DOI: 10.1186/s42269-019-0184-9.
84. Atiyah, A.J. Effect of oral administration of *Myrtus communis* extract on reducing the negative impacts of feed contaminated with mycotoxins on productive performance and some blood characteristics in local male rabbits / A.J. Atiyah, S.J. Mahmood, A.J. Atiyah, // Open Veterinary Journal. – 2025. – Vol. 15, No. 3. – P. 1217–1225. DOI: 10.5455/OVJ.2025.v15.i3.13.
85. Bakova, N.N. Chemical compositions of *Myrtus communis* L. / N.N. Bakova, E.Y. Bakova, A.E. Paliy, D.A. Konovalov // Acta Horticulturae. – 2021. – Vol. 1324. – P. 361-365. DOI: 10.17660/ActaHortic.2021.1324.56.
86. Barboucha, G. Comprehensive *in vitro* and *in silico* Analysis of Antimicrobial and Insecticidal Properties of Essential Oil of *Myrtus communis* L. from Algeria / G. Barboucha, N. Rahim, A. Bramki, H. Boulebd, A. Andolfi, K. Boulacheb, A.

- Boulacel, M.M. Salvatore, M. Masi // International Journal of Molecular Sciences. – 2025. – Vol. 26, No. 10. – P. 4754. DOI: 10.3390/ijms26104754.
87. Benchikh, F. The Evaluation of Antioxidant Capacity of Different Fractions of *Myrtus communis* L. Leaves / F. Benchikh, S. Amira, B. Hassiba // Annual Research & Review in Biology. – 2018. – Vol. 22, No. 5. – P. 1-14. DOI: 10.9734/ARRB/2018/39217.
88. Benzie, I.F. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration / I.F. Benzie, J.J. Strain // Methods Enzymol. – 1999. Vol. 299. – P. 15-27. DOI:10.1016/s0076-6879(99)99005-5.
89. Besufekad, S.Y. The Antimicrobial Activity of Leaf Extracts of *Myrtus communis* / S.Y. Besufekad, M. Mekdes, M. Abebech, D. Delesa, D. Tekalign, K. Demitu, B. Birtukan // Journal of Microbial & Biochemical Technology. – 2017. – Vol. 9. – P. 290-292. DOI: 10.4172/1948-5948.1000380.
90. Biodiversity Heritage Library. URL: <https://www.biodiversitylibrary.org/page/50764807#page/445/mode/1up> (accessed: 07.01.2026).
91. Blakely, J. Myrtle: The Provenance and Meaning of a Plant / J. Blakely // Smithsonian Libraries and Archives. – 2018. URL: <https://blog.library.si.edu/blog/2018/06/28/myrtle-the-provenance-and-meaning-of-a-plant/> (accessed: 07.01.2026).
92. Bouzabata, A. The Genus *Myrtus* L. in Algeria: Composition and Biological Aspects of Essential Oils from *M. communis* and *M. nivellei*: A Review / A. Bouzabata, J. Casanova, A. Bighelli, C. Cavaleiro, L. Salgueiro, F. Tomi // Chemistry & Biodiversity. – 2016. – Vol. 13, No.6. – P. 672–680. DOI: 10.1002/cbdv.201500342.
93. Celaj, O. Phloroglucinols from *Myrtaceae*: attractive targets for structural characterization, biological properties and synthetic procedures / O. Celaj, A. García Durán, P. Cennamo, M. Scognamiglio, A. Fiorentino, A. Esposito, B. D'Abrosca //

Phytochemistry Reviews. – 2021. – Vol. 20, No. 16. – P. 259-299. DOI: 10.1007/s11101-020-09697-2.

94. Charpentier, M. Asymmetric synthesis of myrtucommulone derivatives and synthesis of a biotin-linked myrtucommulone for affinity-based target identification [Text]: diss. ... des Doktors der Naturwissenschaften / Charpentier Maël. – Saarbrücken, 2015. – 217 p.

95. ChEMBL. URL: <https://www.ebi.ac.uk/chembl/> (accessed: 06.01.2026).

96. ChemSpider. URL: <https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.9168567.html> (accessed: 20.12.2025).

97. Choubey, S. Probing Gallic Acid for Its Broad-Spectrum Applications / S. Choubey, S. Goyal, L.R. Varughese, V. Kumar, A.K. Sharma, V. Beniwal // Mini Reviews in Medicinal Chemistry. – 2018. – Vol. 18, No. 15. – P. 1283–1293. DOI: 10.2174/1389557518666180330114010.

98. Choudhary, M.I. New inhibitors of ROS generation and T-cell proliferation from *Myrtus communis* / M.I. Choudhary, N. Khan, M. Ahmad, S. Yousuf, H.K. Fun, S. Soomro, M. Asif, M.A. Mesaik, F. Shaheen // Organic Letters. – 2013. – Vol. 15, No. 8. – P. 1862–1865. DOI: 10.1021/ol4002976.

99. Cottiglia, F. Cytotoxic phloroglucinols from the leaves of *Myrtus communis* / F. Cottiglia, L. Casu, M. Leonti, P. Caboni, C. Floris, B. Busonera, P. Farci, A. Ouhtit, G. Sanna // Journal of Natural Products. – 2012. – Vol. 75, No. 2. – P. 225–229. DOI: 10.1021/np2009219.

100. Dabbaghi, M.M. A review of the biological effects of *Myrtus communis* / M.M. Dabbaghi, M.S. Fadaei, H.S. Roudi // Physiological Reports. – 2023. – Vol. 11, No. 14. – P. 15770. DOI: 10.14814/phy2.15770.

101. Dessena, L. Phenological and morphological characteristics of new selections of myrtle (*Myrtus communis* L.) / L. Dessena, L. Sale, S. Melito, M. Mulas // Acta Hort. – 2017. – 1172. – P. 171-178. DOI:10.17660/ActaHortic.2017.1172.33.

102. Djenane, D. Chemical composition and antimicrobial effects of essential oils of *Eucalyptus globulus*, *Myrtus communis* and *Satureja hortensis* against *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus* in minced beef / D. Djenane,

J. Yangüela, T. Amrouche, S. Boubrit, N. Boussad, P. Roncalés // Food Science and Technology International. - 2011. - Vol. 6, No. 17. – P. 505-515. DOI: 10.1177/1082013211398803.

103. Elbouzidi, A. Formulation of a Three-Component Essential Oil Mixture from *Lavandula dentata*, *Rosmarinus officinalis*, and *Myrtus communis* for Improved Antioxidant Activity / A. Elbouzidi, M. Taibi, N. El Hachlafi, M. Haddou, M. Jeddi, A. Baraich, A. Aouraghe, R. Bellaouchi, R. A. Mothana, M.F. Hawwal, F. Mesnard, C. Hano, A. Asehraou, K. Chaabane, B. El Guerrouj, M. Addi // Pharmaceuticals (Basel, Switzerland). - 2024. - Vol. 17, No. 8. – P. 1071. DOI: 10.3390/ph17081071.

104. Ertik, O. The protective effects of *Myrtus communis* subsp. on ovariectomized diabetic rats' renal and intestinal tissues: *in vivo* and *in silico* approaches / O. Ertik, B. Kadioğlu-Yaman, A. Şen, G. Şener, R. Yanardag // Archives of Physiology and Biochemistry. - 2025. - Vol. 131, No. 2. – P. 210–226. DOI: 10.1080/13813455.2024.2406895.

105. Eslami, Sh. Antioxidant activity of polyphenol and flavonoid rich extracts from leaves of Myrtle (*Myrtus communis* L.) / Sh. Eslami, Sh. Mozdastan, M.A. Ebrahimzadeh // PharmacologyOnline. – 2016. – No. 2. – P. 132–136.

106. Falleh, H. Application of the mixture design for optimum antimicrobial activity: combined treatment of *Syzygium aromaticum*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Myrtus communis*, and *Lavandula stoechas* essential oils against *Escherichia coli* / H. Falleh, M. Ben Jemaa, K. Djebali, S. Abid, M. Saada, R. Ksouri // Journal of Food Processing and Preservation. – 2019. – Vol. 43, No. 12. DOI: 10.1111/jfpp.14257.

107. Flamin, G. Phytochemical typologies in some populations of *Myrtus communis* L. on Caprione Promontory (East Liguria, Italy) / G. Flamin, P.L. Cioni, I. Morelli, S. Maccioni, R. Baldini // Food Chemistry. – 2004. – Vol. 85, No. 4. – P. 599-604. DOI: 10.1016/j.foodchem.2003.08.005.

108. Food and Drug Administration. URL: <https://www.fda.gov> (accessed: 03.08.2025).

109. Gerbeth, K. Myrtucommulone from *Myrtus communis*: Metabolism, Permeability, and Systemic Exposure in Rats / K. Gerbeth, J. Hüscher, J. Meins, A. Rossi, L. Sautebin, K. Wiechmann, O. Werz, C. Skarke, J.S. Barrett, M. Schubert-Zsilavec, M. Abdel-Tawab // *Planta Medica*. – 2012. – Vol. 78, No. 18. – P. 1932–1938. DOI: 10.1055/s-0032-1327881.
110. Golus, J. The agar microdilution method – a new method for antimicrobial susceptibility testing for essential oils and plant extracts / J. Golus, R. Sawicki, J. Widelski, G. Ginalska // *Journal of Applied Microbiology*. – 2016. – Vol 121, No. 5. – P. 1291-1299. DOI: 10.1111/jam.13253.
111. González-Varo, J.P. Effects of fragmentation on pollinator assemblage, pollen limitation and seed production of Mediterranean myrtle (*Myrtus communis*) / J.P. González-Varo, J. Arroyo, A. Aparicio // *Biological Conservation*. – 2009. – Vol. 142. – P. 1058–1065. DOI: 10.1016/j.biocon.2009.01.017.
112. González-Varo, J.P. Linking genetic diversity, mating patterns and progeny performance in fragmented populations of a Mediterranean shrub: Fragmentation effects on plant progeny performance / J.P. González-Varo, R.G. Albaladejo, A. Aparicio, J. Arroyo // *Journal of Applied Ecology*. – 2010. – Vol. 47. – P. 1242–1252. DOI: 10.1111/j.1365-2664.2010.01879.x.
113. Google Scholar. URL: [http:// https://scholar.google.com](http://https://scholar.google.com) (accessed: 05.01.2026).
114. Hammiche, V. Traditional medicine in Central Sahara: pharmacopeia of Tassili N'ajjer. / V. Hammiche, K. Maiza // *Journal of Ethnopharmacology*. – 2006. – Vol. 105. – P. 358–367. DOI: 10.1016/j.jep.2005.11.028.
115. Hans, M. Stereoisomeric Composition of Natural Myrtucommulone A / M. Hans, M. Charpentier, V. Huch, J. Jauch, T. Bruhn, G. Bringmann, D. Quandt // *Journal of Natural Products*. – 2015. – Vol. 78, No. 10. – P. 2381–2389. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.5b00358.
116. Hardy, E. Quorum-Quenching Activity of *Myrtus communis* Corsican Essential Oil Against the Marine Bacterium *Aliivibrio fischeri*. / E. Hardy, J.P. Poli,

- A. Bighelli, M. Paoli, T. Maroselli, L. Berti, E. Guinoiseau // *Microorganisms*. – 2025. – Vol. 13, No. 6. – P. 1325. DOI: 10.3390/microorganisms13061325.
117. Hayder, N. *in vitro* Antioxidant and Antigenotoxic Potentials of Myricetin-3-O-galactoside and Myricetin-3-O-rhamnoside from *Myrtus communis*: Modulation of Expression of Genes Involved in Cell Defence System Using cDNA Microarray / N. Hayder, I. Bouhlel, I. Skandrani, M. Kadri, R. Steiman, P. Guiraud, A.M. Mariotte, K. Ghedira, M.G. Dijoux-Franca, L. Chekir-Ghedira // *Toxicology in vitro*. – 2008. – Vol. 22, No. 3. – P. 567–581. DOI: 10.1016/j.tiv.2007.11.015.
118. Hedayati, A. Assessing the Antimicrobial Effect of the Essential Oil of *Myrtus communis* on the Clinical Isolates of *Porphyromonas gingivalis*: An *in vitro* Study / A. Hedayati, H. Khosropanah, A. Bazargani, M. Abed, A. Emami // *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*. – 2013. – Vol. 8, No. 4. – P. 165-168. DOI: 10.17795/jjnpp-12253.
119. Henna, A. Antioxidant Activity of *Myrtus communis* L. and *Myrtus nivellei* Batt.&Trab. Extracts: A Brief Review / A. Henna, M.G. Miguel, S. Nemmiche // *Medicines (Basel)*. – 2018. – Vol. 5, No. 3. – P. 89. DOI: 10.3390/medicines5030089.
120. INaturalist. URL: https://www.inaturalist.org/taxa/1082910-Myrtus-nivellei/browse_photos (accessed: 09.12.2025).
121. International project EasyScape.
URL: <https://easyscape.com/species/Myrtus-communis%28Common-Myrtle%29> (accessed: 10.01.2026).
122. Iskender, B. Myrtucommulone-A Induces both Extrinsic and Intrinsic Apoptotic Pathways in Cancer Cells / B. Iskender, J. Jauch, S. Sezen, M. Çakır, M. Charpentier, H. Halit, C. Sakalar // *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*. – 2015. – Vol. 29. DOI: 10.1002/jbt.21716.
123. Kamali, M. Evaluation of the Efficacy of Medicinal Plants in Treating Bacterial Vaginosis: A Comprehensive Systematic Review of Interventional Studies / M. Kamali, Z. Sarhadynejad, H. Tajadini, M. Keikha, Z. Salari, T. Dehesh, M.

- Lashkarizadeh, M. Esmaili // Iranian Journal of Nursing and Midwifery Research. – 2024. – Vol. 29, No. 6. – P. 649–659. DOI: 10.4103/ijnmr.ijnmr_311_23.
124. Kashman, Y. The structure determination of two new acylphloroglucinols from *Myrtus communis* L. / Y. Kashman, A. Rotstein, A. Lifshitz // Tetrahedron. – 1974. – Vol. 30, No. 8. – P. 991–997. DOI: 10.1016/S0040-4020(01)97486-1.
125. Khadraoui, N. *Myrtus communis* leaf compounds as novel inhibitors of quorum sensing-regulated virulence factors and biofilm formation: *in vitro* and *in silico* investigations / N. Khadraoui, R. Essid, B. Damergi, N. Fares, D. Gharbi, A. M. Forero, J. Rodríguez, G. Abid, E.B. Kerekes, F. Limam, C. Jiménez, O. Tabben e // Biofilm. – 2024. – Vol. 8. – P.1-14. DOI: 10.1016/j.bioflm.2024.100205.
126. Khan, N. A new antibacterial dibenzofuran-type phloroglucinol from *Myrtus communis* Linn. / N. Khan, S. Rasool, S. Ali Khan, S. Bahadar Khan // Natural product research. – 2020. – Vol. 34, No. 22. – P. 3199–3204. DOI: 10.1080/14786419.2018.1556657.
127. Kotelnikov, G.P. Development of Information Technologies in Medicine at the University Base: experience of the Samara State Medical University / G.P. Kotelnikov, A.V. Kolsanov, E.V. Avdeeva // Population and Economics. – 2018. – Vol. 2, No. 2. – P. 190-212. DOI: 10.3897/popecon.2.e36053.
128. Kumamoto, T. Myricetin directly targets JAK1 to inhibit cell transformation / T. Kumamoto, M. Fujii, D.X. Hou // Cancer Letters. – 2009. – Vol. 275, No. 1. – P. 17–26. DOI: 10.1016/j.canlet.2008.09.027.
129. Kurkin, V.A. HPLC Determination of Myricitrin in Leaves of Common Myrtle (*Myrtus communis* L.) / V.A. Kurkin, V.D. Maslova, A.R. Mubinov // Pharmaceutical Chemistry Journal. – 2024. – Vol. 58, No. 5. – P. 828-832. DOI: 10.1007/s11094-024-03211-0.
130. Larsson, D.G.J. Antibiotic resistance in the environment / D.G.J. Larsson, C.F. Flach // Nature Reviews Microbiology. – 2022. – Vol. 20, No. 5. - P. 257-269. DOI: 10.1038/s41579-021-00649-x.
131. Li, D.Y. *Myrtus communis* L. Essential Oil Exhibits Antiviral Activity against Coronaviruses / D.Y. Li, M.G. Donadu, T. Shue, G. Dangas, A. Athanasiadis, S.

- Lan, X. Wen, B. Battah, S. Zanetti, V. Mazzarello, S.G. Sarafianos, M. Ferrari, E. Michailidis // *Pharmaceuticals (Basel)*. – 2024. – Vol. 17, No. 9. – P.1189. DOI: 10.3390/ph17091189.
132. Liu, Ch. Meroterpenoids with New Skeletons from *Myrtus communis* and Structure Revision of Myrtucommulone K / Ch. Liu, S. Ang, X.-J. Huang, H.-Y. Tian, Y.-Y. Deng, D.-M. Zhang, Y. Wang, W.-C. Ye, L. Wang // *Organic Letters*. – 2016. – Vol. 18, Is. 16. – P. 4004-4007. DOI: 10.1021/acs.orglett.6b01817.
133. Mabry, T.J. The Systematic Identification of Flavonoids / T.J. Mabry, K.R. Markham, M.B. Thomas // Berlin-Heidelberg-New York: Springer Verlag, 1970. – 354 p.
134. Mahboubi, M. *Myrtus communis* L. and its application in treatment of Recurrent Aphthous Stomatitis / M. Mahboubi // *Journal of Ethnopharmacology*. – 2016. – Vol. 193. – P. 481–489. DOI: 10.1016/j.jep.2016.09.054.
135. Mansour, A. A new cineol derivative, polyphenols and norterpenoids from Saharan myrtle tea (*Myrtus nivellei*): Isolation, structure determination, quantitative determination and antioxidant activity / A. Mansour, R. Celano, T. Mencherini, P. Picerno, A.L. Piccinelli, Y. Foudil-Cherif, D. Csupor, G. Rahili, N. Yahi, S.M. Nabavi, R.P. Aquino, L. Rastrelli // *Fitoterapia*. – 2017. – Vol. 119. – P. 32-39. DOI: 10.1016/j.fitote.2017.03.013.
136. Mansour, A. Photoprotective potential of Saharan myrtle (*Myrtus nivellei*) Leaves / A. Mansour, G. Rahili, C. Bensouici // *Research Journal Topical and Cosmetic Sciences*. – 2020. – Vol. 11, No. 1. – P. 12-14. DOI: 10.5958/2321-5844.2020.00003.5.
137. Mansour, R.B. *Myrtus communis* L. Ellagitannins and Flavonoids Protect Cardiomyoblast Cells against CoCl₂ - Induced Hypoxia and H₂O₂ Stress by Improving Oxidative Balance / R.B. Mansour, W. Megdiche-Ksouri, N. Nefzi, S. Bourgou, R. Ksouri, M.-A. Giroux-Metges, H. Talarmin // *Austin Journal of Nutrition & Metabolism*. – 2022. – Vol. 9, No. 1. – P. 1211.
138. Mansouri, S. Antibacterial activity of the crude extracts and fractionated constituents of *Myrtus communis* / S. Mansouri, A. Foroumadi, T. Ghaneie, A.G.

- Najar // *Pharmaceutical Biology*. – 2001. – Vol. 39. – P. 399-401. DOI: 10.1076/phbi.39.5.399.5889.
139. Mastrogiovanni, F. Testings of *Myrtus communis* leaf extracts on mammalian and bacteria cells / F. Mastrogiovanni, E. Ovidi, N.Z. Mamadalieva, A. Tiezzi // *New Aspects in Medicinal Plants and Pharmacognosy*. – 2017. – P. 147–159. DOI: 10.5281/zenodo.833147.
140. Maurizio, M. First observations on biology and organ morphology of myrtle (*Myrtus communis* L.) flower / M. Maurizio, A. Fadda // *Journal of Agromedicine*. – 2004. – Vol. 134, No. 3. – P. 223-235.
141. Mendonça, S.C. Myrtucommulones and Related Acylphloroglucinols from *Myrtaceae* as a Promising Source of Multitarget SARS-CoV-2 Cycle Inhibitors / S.C. Mendonça, B.A. Gomes, M.F. Campos, T.S. da Fonseca, M.E.A. Esteves, B.V. Andriolo, C.F.d.A.R. Cheohen, L.E.C. Constant, S. da Silva Costa, P.T. Calil // *Pharmaceuticals*. – 2024. – Vol. 17, No. 4. – P. 436. DOI: 10.3390/ph17040436.
142. Migliore, J. From Mediterranean shores to central Saharan mountains: Key phylogeographical insights from the genus *Myrtus* / J. Migliore, A. Baumel, M. Juin, F. Médail // *Journal of Biogeography*. – 2012. – No. 39. – P. 942–956. DOI: 10.2307/41496071.
143. Mimica-Dukic, N. Essential Oil of *Myrtus communis* L. as a Potential Antioxidant and Antimutagenic Agents / N. Mimica-Dukic, D. Bugarin, S. Grbovic, D. Mitic-Culafic, B. Vukovic- Gacic, D. Orcic, E. Jovin, M. Couladis // *Molecules*. – 2010. – Vol. 4. – P. 2759–2770. DOI:10.4172/1948-5948.1000380.
144. Mir, M.A. *Myrtus communis* leaves: source of bio-actives, traditional use, their biological properties, and prospects / M.A. Mir // *Boletin Latinoamericano Y Del Caribe De Plantas Medicinales Y Aromaticas*. – 2024. – Vol. 23, No. 4. – P. 487 - 515. DOI: 10.37360/blacpma.24.23.4.33.
145. Moreno-Jiménez, E. Phytostabilisation with Mediterranean shrubs and liming improved soil quality in a pot experiment with a pyrite mine soil / E. Moreno-Jiménez, E. Esteban, R.O. Carpena-Ruiz, M.C. Lobo, J.M. Peñalosa // *Journal of*

- Hazardous Materials. – 2012. – Vol. 201. – P. 52–59. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2011.11.013.
146. Mozdastan, S. Effect of increasing the polarity of solvent on total phenol and flavonoid contents and antioxidant activity of Myrtle (*Myrtus communis* L.) / S. Mozdastan, M.A. Ebrahimzadeh, S. Eslami // Journal of Mazandaran University of Medical Sciences. – 2015. – Vol. 25, No. 126. – P. 68–81.
147. Mulas, M. The myrtle (*Myrtus communis* L.) case, from a wild shrub to a new fruit crop / M. Mulas // Acta Hortic. – 2012. – No. 948. – P. 235–242. DOI: 10.17660/ActaHortic.2012.948.27.
148. Mulyaningsih, S. Antibacterial activity of essential oils from *Eucalyptus* and of selected components against multidrug-resistant bacterial pathogens / S. Mulyaningsih, F. Sporer, J. Reichling, M. Wink // Pharmaceutical Biology. – 2011. – Vol. 49, No. 9. – P. 893–899. DOI: 10.3109/13880209.2011.553625.
149. Naghibi, F. *In vitro* and *in vivo* antimalarial evaluations of myrtle extract, a plant traditionally used for treatment of parasitic disorders / F. Naghibi, S. Esmaili, N. R. Abdullah, M. Nateghpour, M. Taghvai, S. Kamkar, M. Mosaddegh // BioMed Research International. – 2013. 316185. DOI: 10.1155/2013/316185.
150. Najib – Zadeh, T. Antifungal Efficacy of *Myrtus communis* Essential Oils on Oral Candidiasis in Immunosuppressed Rats / T. Najib – Zadeh, M. Yadegari, H. Naghdi Badi, A. Salehnia // Journal of Medicinal Plants. – 2011. – Vol. 10, Is.38. – P. 102–116. DOI: 10.52547/ppp.11.1.74.
151. Nassar, M.I. Secondary metabolites and bioactivities of *Myrtus communis* / M.I. Nassar, el-S.A. Aboutabl, R.F. Ahmed, E.D. El-Khrisy, K.M. Ibrahim, A.A. Sleem // Pharmacognosy Research. – 2010. – Vol. 2, No. 6. – P. 325–329. DOI: 10.4103/0974-8490.75449.
152. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 9888014, Myrtucommulone B. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Myrtucommulone-B> (accessed: 31.07.2025).

153. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 44587062, Myrtucommulone A. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Myrtucommulone-A> (accessed: 30.07.2025).
154. Nicoletti, R. Myrtucommulone production by a strain of *Neofusicoccum australe* endophytic in myrtle (*Myrtus communis* L.) / R. Nicoletti, P. Ferranti, S. Cairra, G. Misso, M. Castellano, G. Di Lorenzo, M. Caraglia // *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. – 2014. – No. 30. – P. 1047–1052. DOI: 10.1007/s11274-013-1523-x.
155. Nicoletti, R. Structures and Bioactive Properties of Myrtucommulones and Related Acylphloroglucinols from *Myrtaceae* / R. Nicoletti, M.M. Salvatore, P. Ferranti, A. Andolfi // *Molecules (Basel, Switzerland)*. – 2018. – Vol. 23, No. 12. – P. 3370. DOI: 10.3390/molecules23123370.
156. Nourzadeh, M. Comparative Antimicrobial Efficacy of *Eucalyptus Galbie* and *Myrtus communis* L. Extracts, Chlorhexidine and Sodium Hypochlorite against *Enterococcus Faecalis* / M. Nourzadeh, A. Amini, F. Fakoor, M. Raoof, F. Sharififar // *The Iranian Endodontic Journal*. – 2017. – Vol. 12, No. 2. – P. 205-210. DOI: 10.22037/iej.2017.40.
157. Owlia, P. Antimicrobial characteristics of some herbal oils on *Pseudomonas aeruginosa* with special reference to their chemical compositions / P. Owlia, H. Saderi, I. Rasooli, F. Sefidkon // *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. – 2009. – Vol. 8. – P. 107–114. DOI: 10.22037/ijpr.2010.797.
158. Oxford plants. URL: <https://herbaria.plants.ox.ac.uk/bol/plants400/Profiles/MN/Myrtus> (accessed: 02.12.2025).
159. Ozcan, M.M. Estimation of Minerals, Nitrate and Nitrite Contents of Medicinal and Aromatic Plants Used as Spices, Condiments and Herbal Tea / M.M. Ozcan, M. Akbulut // *Food Chemistry*. – 2007. – Vol. 106, No. 2. – P. 852-858. DOI: 10.1016/j.foodchem.2007.06.045.

160. Ozenda, P. Flore et vegetation du Sahara. C.N.R.S. 3rd Edition, T.III / P. Ozenda. – Paris, 1991. – 660 p.
161. Pantone Matching System. URL: <https://colorscheme.ru/pantone-colors.html> (accessed: 18.11.2025).
162. PASS Online. URL: <http://pharmaexpert.ru/PASSOnline> (accessed:12.08.2025).
163. Pat. FR2783425A1. Extract of myrtle containing acylphloroglucinols, especially myrtucommulone B, for treating psoriasis and keratinization disorders / C. Puybaret, B. David, M. Charveron, S. Mamatas; Pierre Fabre Dermo Cosmetique SA. – Institut national de la propriété industrielle, Paris, République Française, 1998.
164. Pinterest. URL: <https://ru.pinterest.com/> (accessed: 08.01.2026).
165. Pinto, H.B. The antivirulence compound myricetin possesses remarkable synergistic effect with antibacterials upon multidrug resistant *Staphylococcus aureus* / H.B. Pinto, F.R. Brust, A.J. Macedo, D.S. Trentin // Microbial Pathogenesis. – 2020. – Vol. 149. – P. 104571. DOI: 10.1016/j.micpath.2020.104571.
166. Plugatar, Y.V. Biochemical characteristics of medicinal raw materials of *Myrtus communis* L. in conditions of the Southern coast of the Crimea / Y.V. Plugatar, E.Y. Bakova, O.M. Shevchuk [et al.] // X International Scientific Agriculture Symposium "AGROSYM 2019": BOOK OF PROCEEDINGS, Jahorina, 03–06 октября 2019 года. – Jahorina: Без издательства, 2019. – P. 1059-1064.
167. PubChem. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> (accessed: 02.01.2026).
168. PubMed. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/> (accessed: 02.01.2026).
169. Putra, N.R. A comparative review of Myrtle oil extraction methods and their impact on bioactive composition. / N.R. Putra, S. Suharmiati, L. Junaidi, J.E. Loppies, R. Rosniati, N.W. Trisnawati, I. Irianto // Separation Science and Technology. – 2025. – Vol. 60, No. 12. – P. 1521–1546. DOI: 10.1080/01496395.2025.2512351.

170. Research Gate. URL: <https://www.researchgate.net/search/publication> (accessed: 12.12.2025).
171. Rossi, A. Myrtucommulone from *Myrtus communis* exhibits potent anti-inflammatory effectiveness *in vivo* / A. Rossi, R. Di Paola, E. Mazzon, T. Genovese, R. Caminiti, P. Bramanti, C. Pergola, A. Koeberle, O. Werz, L. Sautebin, S. Cuzzocrea // *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. – 2009. – Vol. 329, No. 1. – P. 76–86. DOI: 10.1124/jpet.108.143214.
172. Ryabov, N.A. Methods for quantitative determination of total flavonoids in *Quercus robur* L. buds / N.A. Ryabov, V.M. Ryzhov, V.A. Kurkin // *Pharmacy & Pharmacology*. – 2021. – Vol. 9, No. 5. – P. 356-366. DOI: 10.19163/2307-9266-2021-9-5-356-366.
173. Saber, F.R. Family *Myrtaceae*: The treasure hidden in the complex/diverse composition. / F.R. Saber, P.E.S. Munekeata, K. Rizwan, H.A.S. El-Nashar, N.M. Fahmy, S.H. Aly, M. El-Shazly, A. Bouyahya, J.M. Lorenzo // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. – 2024. – Vol. 64, No. 19. – P. 6737–6755. DOI: 10.1080/10408398.2023.2173720.
174. Samareh Fekri, M. Protective effect of standardized extract of *Myrtus communis* L. (myrtle) on experimentally bleomycin-induced pulmonary fibrosis: biochemical and histopathological study / M. Samareh Fekri, A. Mandegary, F. Sharififar, H.R. Poursalehi, M.H. Nematollahi, A. Izadi, M. Mehdipour, A. Asadi, M. Samareh Fekri // *Drug and Chemical Toxicology*. – 2018. – Vol. 41, No. 4. – P. 408–414. DOI: 10.1080/01480545.2018.1459670.
175. Sarwar, H.R. Regenerative Therapy for Deep Burn Injury using Mesenchymal Stem Cells and Myrtle (*Myrtus Communis*) in a Rat Model / H.R. Sarwar, T. Maqbool, S. Akhtar, A. Altaf, A.B. Waqar, M.S. Majeed, M. Iftikhar, M. Zahra, M. Atif, F. Hadi // *Current Stem Cell Research & Therapy*. Advance online publication. – 2025. DOI: 10.2174/011574888X351632250529121312.
176. Sayre, R.M. Comparison of *in vivo* and *in vitro* testing of sunscreens formulas / R.M. Sayre, P.P. Agin, G.J. Levee, E.A. Marlowe // *Photochemistry and*

- Photobiology. – 2008. – Vol. 29, No. 3. – P. 559-566. DOI: 10.1111/j.1751-1097.1979.tb07090.x.
177. ScienceDirect. URL: www.sciencedirect.com (accessed: 16.11.2025).
178. Shahbazian, D. Essential Oil Variability of Superior Myrtle (*Myrtus communis* L.) Accessions Grown under the Same Conditions / D. Shahbazian, A. Karami, F. Raouf Fard, S. Eshghi, F. Maggi // Plants. – 2022. – Vol. 11, No. 22. – P. 3156. DOI: 10.3390/plants11223156.
179. Shaheen, F. New α -Glucosidase Inhibitors and Antibacterial Compounds from *Myrtus communis* L. / F. Shaheen, M. Ahmad, S. Khan, S. Hussain, S. Anjum, B. Tashkhodjaev, K. Turgunov, M. Sultankhodzhaev, M. Choudhary, A. Rahman // European Journal of Organic Chemistry. – 2006. – P. 2371 - 2377. DOI: 10.1002/ejoc.200500936.
180. Springer Nature Link. URL: <https://link.springer.com/> (accessed: 09.11.2025).
181. Sumbul, S. *Myrtus communis* Linn. - A review / S. Sumbul, M. Ahmad, M. Asif, M. Akhtar // Indian Journal of Natural Products and Resources. – 2011. – Vol. 2, No. 4. – P. 395-402.
182. Sy, B. The Antimicrobial Activity of Leaf Extracts of *Myrtus communis* / B. Sy, M. Mekdes, M. Abebech, D.A. Delesa, D. Tekalign, K. Demitu, B. Birtukan // Journal of Microbial & Biochemical Technology. – 2018. – Vol. 9. – P. 290-292. DOI: 10.4172/1948-5948.1000380.
183. Tanaka, N. Phloroglucinol derivatives and a chromone glucoside from the leaves of *Myrtus communis* / N. Tanaka, Y. Jia, K. Niwa, K. Imabayashi, Y. Tatano, H. Yagi, Y. Kashiwada // Tetrahedron. – 2018. – Vol. 74. – P. 117–123. DOI: 10.1016/J.TET.2017.11.044.
184. The Cochrane Library. URL: <http://www.cochranelibrary.com> (accessed: 03.01.2026).
185. The European pharmacopoeia (Ph. Eur.). 11th Edition. URL: <https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia-ph.-eur.-11th-edition> (accessed: 19.12.2025).

186. Tohidpour, A. Antibacterial effect of essential oils from two medicinal plants against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) / A. Tohidpour, M. Sattari, R. Omidbaigi, A. Yadegar, J. Nazemi // *Phytomedicine*. – 2010. – Vol. 17, No. 2. – P. 142-145. DOI: 10.1016/j.phymed.2009.05.007.
187. Tretiakova, I. Myrtucommulone from *Myrtus communis* induces apoptosis in cancer cells via the mitochondrial pathway involving caspase-9 / I. Tretiakova, D. Blaesius, L. Maxia, S. Wesselborg, K. Schulze-Osthoff, J. Cinatl, M.Jr. Michaelis, O. Werz // *Apoptosis: an International Journal on Programmed Cell Death*. – 2008. – Vol. 13, No. 1. – P. 119–131. DOI: 10.1007/s10495-007-0150-0.
188. Tuberoso, C.I. Chemical composition of volatiles in Sardinian myrtle (*Myrtus communis* L.) alcoholic extracts and essential oils / C.I. Tuberoso, A. Barra, A. Angioni, E. Sarritzu, F.M. Pirisi // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2006. – Vol. 54, No. 4. – P. 1420-1426. DOI:10.1016/j.foodchem.2010.05.094.
189. Walusansa, A. Antibiotic-resistance in medically important bacteria isolated from commercial herbal medicines in Africa from 2000 to 2021: a systematic review and meta-analysis / A. Walusansa, S. Asimwe, J.L. Nakavuma, J.E. Ssenku, E. Katuura, H.M. Kafeero, D. Aruhomukama, A. Nabatanzi, G. Anywar, A.K. Tugume, E.K. Kakudidi // *Antimicrobial Resistance and Infection Control*. – 2022. – Vol. 11, No.1 - P. 11. DOI: 10.1186/s13756-022-01054-6.
190. Wannes, W.A. Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis* var. *italica* L.) leaf, stem and flower / W.A. Wannes, B. Mhamdi, J. Sriti, M.B. Jemia, O. Ouchikh, G. Hamdaoui, M.E. Kchouk, B. Marzouk // *Food and Chemical Toxicology*. – 2010. – Vol. 5. – P. 1362–1370. DOI: 10.1016/j.fct.2010.03.002.
191. Wen-Li, Z. Biomimetic total synthesis and structure confirmation of myrtucommulone K / Z. Wen-Li, T. Hai-Bo, Q. Sheng-Xiang, C. Guang-Ying, L. Hong-Xin, Z. Chao // *Tetrahedron Letters*. – 2017. – Vol. 58, No. 19. – P. 1817-1821. DOI: 10.1016/j.tetlet.2017.03.059.
192. Yang, H. Discovery, synthesis, and antibacterial activity of novel myrtucommulone analogs as inhibitors of DNA gyrase and topoisomerase IV / H.

- Yang, J. Li, B.L. Wang, X.Y. Yang, Y. Zhang // European Journal of Medicinal Chemistry. – 2025. – Vol. 283. – P. 117138. DOI: 10.1016/j.ejmech.2024.117138.
193. Yarahmadi, R. Natural Diversity in Total Phenol, Flavonoids, Antioxidant Properties, and Essential Oil Composition of Iranian Populations of *Myrtus communis* L. / R. Yarahmadi, H. Mumivand, A. Ehtesham Nia, M.R. Raji, S. Argento // Plants (Basel, Switzerland). – 2024. – Vol. 13, No. 24. – P. 3458. DOI: 10.3390/plants13243458.
194. Yıldırım, F. Mineral Composition of Leaves and Fruit in Some Myrtle (*Myrtus communis* L.) Genotypes / F. Yıldırım, B. San, A. Yildirim, M. Polat, S. Ercisli // Erwerbs-Obstbau. – 2015. – Vol. 57, No. 3. DOI: 10.1007/s10341-015-0243-9.
195. Yong, P.H. Role of medicinal plants in ameliorating the lipid and glucose levels in diabetes: A systematic literature review / P.H. Yong, T.Y. Qing, M. Azzani, D. Anbazhagan, Z.X. Ng // Endocrine Regulations. – 2025. – Vol. 59, No. 1. – P. 57–77. DOI: 10.2478/enr-2025-0008.
196. Yoshimura, M. Polyphenolic compounds isolated from the leaves of *Myrtus communis* / M. Yoshimura, Y. Amakura, M. Tokuhara, T. Yoshida // Journal of Natural Medicines. – 2008. – Vol. 62, No. 3. – P. 366–368. DOI: 10.1007/s11418-008-0251-2.
197. Zayani, R. Optimization of Tunisian *Myrtus communis* L. Essential Oil Extraction by Complete Factorial Experimental Design / R. Zayani, E. BenSalem, M. Khouja, A. Bouhjar, M. Boussaid, C. Messaoud // Metabolites. – 2025. – Vol. 15, No. 6. – P. 369. DOI: 10.3390/metabo15060369.
198. Zhang, Y. Synthesis of Myrtucommulone D: A Selective Inhibitor of Tyrosyl-DNA Phosphodiesterase 2 Promoting Drug Resistance Reversal in Lung Cancer Cells / Y. Zhang, L. Xiao, X. Peng, H. Yang, Z. Wang // Revista Brasileira de Farmacognosia. – 2024. – Vol. 34. – P. 595-608. DOI: 10.1007/s43450-023-00509-0.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение №1. Оборудование, материалы, программное обеспечение

Таблица 1 – Перечень оборудования и расходных материалов

№ п/п	Тип прибора	Марка, модель, страна производства
1.	Цифровой микроскоп (кратность увеличения: 40×, 100×, 400×)	Zeiss Primo Star, Германия
2.	Цифровой стереомикроскоп (кратность увеличения: 20×, 40×)	Motic DM-39C-N9GO-A, Китай
3.	Люминесцентный микроскоп (светофильтры – 420–550 нм и 330–400 нм, кратность увеличения: 40×, 100×, 400×) с источником света – высоковольтной ртутной лампой (НВО 100Вт)	Альтами ЛЮМ-2, Россия
4.	Спектрофотометр	Analytik Jena «Specord 40», Германия; ОКБ Спектр, Россия; «СФ-2000», Россия; ПЭ-5400ВИ, Россия
5.	Фотометр фотоэлектрический концентрационный	КФК-3, РФ
6.	Спектрометры: • для ¹ H-ЯМР спектроскопии (399,78 МГц) • для ¹³ C-ЯМР спектроскопии (100,52 МГц)	JNM-ECX 400, Япония
7.	Масс-спектрометр (HR-ESI-MS)	Bruker micrOTOF II, США; EXPEC L-Chrom MS WR, Китай
8.	Газовый хроматограф с масс-спектрометрическим детектором (капиллярная кварцевая колонка HP-5ms 30 м×0,25 мм×0,25 мкм, неподвижная фаза: 5%-дифенил-95%-диметилсилоксан)	МАЭСТРО 7820 (хроматограф), Россия; Agilent 5975 (детектор), США; Agilent (колонка), США
9.	Хемиллюминометр	ОАО Бикап, ХЛМ-3, Россия
10.	Весы аналитические	«Mettler Toledo XS 204» (с дискретностью 0,0001 г), Швейцария
11.	Весы технические	ВСМ-1, ВСМ-5, ВСМ-20, ВСМ-100, Россия
12.	Облучатель ультрафиолетовый	ТСХ-254/365, Россия
13.	Аквадистилятор	ЭМО ДЭ-4-02, Россия

14.	Термостат лабораторный	СПУ ТС-1/80, Россия
15.	Шкафы сушильные	2В-151 (Одесский экспериментальный завод лабораторной медицинской техники, СССР), ШС80-01МК СПУ (ОАО «Смоленское СКТБ СПУ», Россия)
16.	Ротационный испаритель	Labtex ИР-1ЛТ, Россия
17.	Пластины для ТСХ	Sorbfil Plates 100x150 mm, ПТСХ-АФ-А-УФ, Россия
18.	Лабораторная посуда ГОСТ 25336-82	ПАО Химлаборприбор и др. (стаканы, колбы, цилиндры и пр.), Россия
19.	Фильтры обеззоленные для анализов	ООО «МЕЛИОР ХХИ» «Красная лента» (партия ФБ-III-22), «Синяя лента» (партия ФБ-III-23) (ТУ 2642-001-68085491-2011), Россия; ООО «Бавер» «Красная лента» (партия ФБ 08.09 Л), «Синяя лента» (партия ФБ 04.11 В) (ТУ 2642-001-13927158-2003), Россия
20.	Фильтровальная бумага для хроматографии	FN-11 и FN-15, Россия
21.	Набор сит (1, 2, 3, 5 мм)	Химприбор, Россия

Таблица 2 – Основное программное обеспечение

№ п/п	Наименование
1.	Пакет Microsoft Office 2016
2.	Программы для работы с цифровыми микроскопами: Zen Imaging Software – ZEN 3.0 (blue edition) и Motic Images Plus 2.0 ML
3.	Программы для работы со спектрофотометром: WinASPECT (version 2.1.1.0) и «Сканирование для спектрофотометра СФ-2000» (версия 4.06)
4.	Встроенное программное обеспечение для других приборов (МАЭСТРО 7820, Agilent 5975, JNM-ECX 400, Bruker micrOTOF II, EXPEC L-Chrom MS WR, ХЛМ-3)
5.	Библиотека масс-спектров NIST 2.0 MS Search Software
6.	PASS Online (11.4.12)
7.	KingDraw v3.0 for Windows и другие

Приложение №2. Микроскопия листовой пластинки и биологически активных соединений мирта обыкновенного

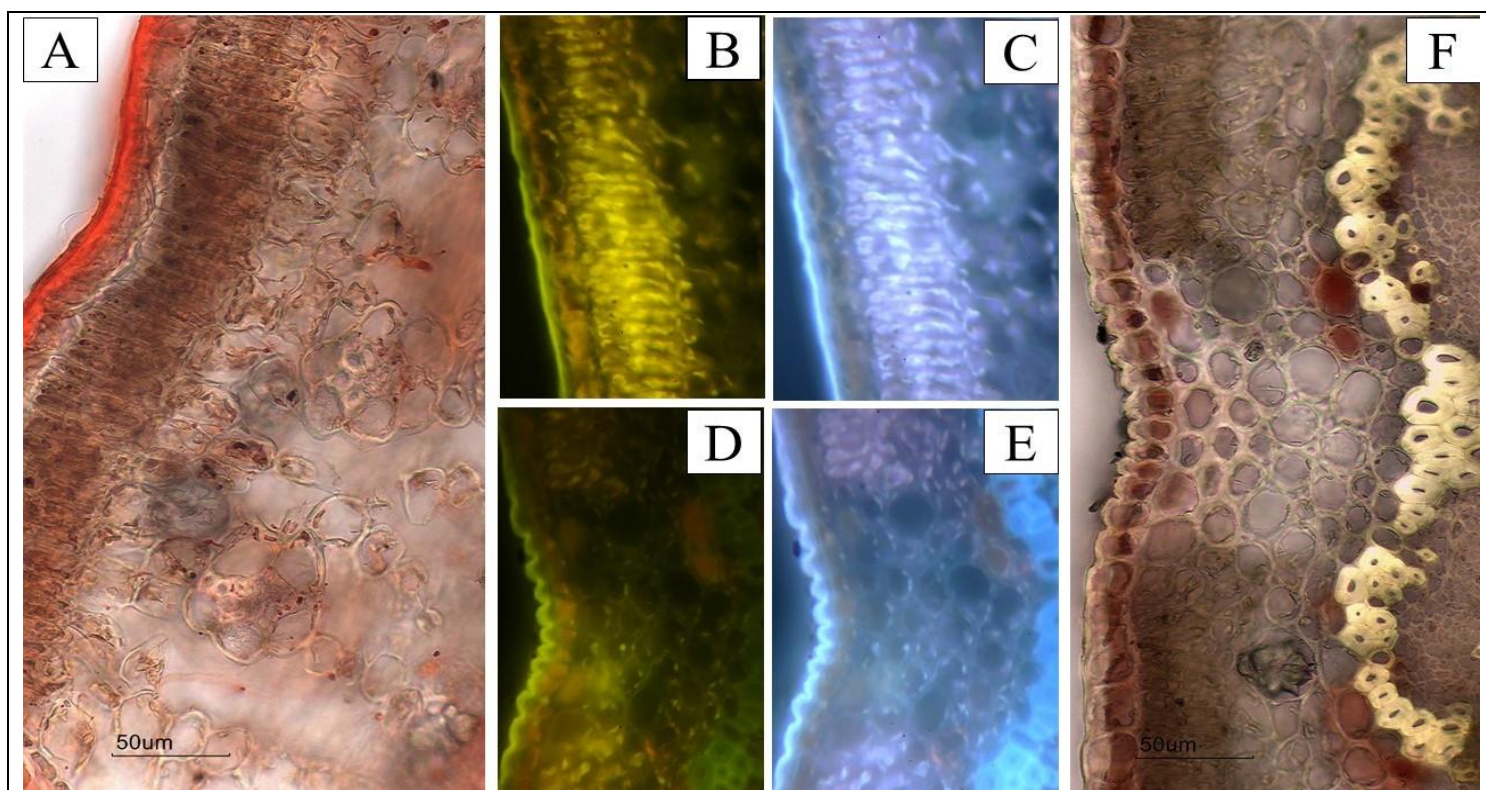


Рисунок 1 – Анатомия листовой пластинки мирта обыкновенного: **А** – мезофил с друзами, окрашенный Суданом III ($\times 400$); **В** – мезофил с друзами при облучении $\lambda=420$ нм ($\times 400$); **С** – мезофил с друзами при облучении $\lambda=360$ нм ($\times 400$); **Д** – уголковая колленхима над центральной жилкой при облучении $\lambda=420$ нм ($\times 400$); **Е** – уголковая колленхима над центральной жилкой при облучении $\lambda=360$ нм ($\times 400$); **Ф** – уголковая колленхима над центральной жилкой при дневном свете ($\times 400$)

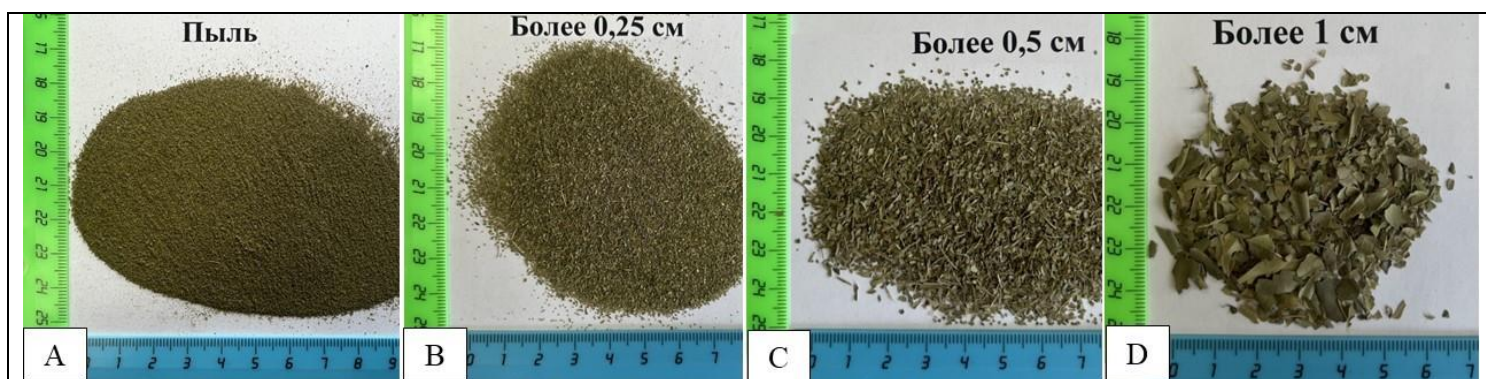


Рисунок 2 – Внешний вид порошка листьев мирта обыкновенного: **А** – пыль, проходящая сквозь сито с отверстиями размером 0,25 см; **В** – порошок, проходящий сквозь сито с отверстиями размером 0,5 см; **С** – порошок, проходящий сквозь сито с отверстиями размером 1 см; **Д** – порошок с частицами листьев более 1 см

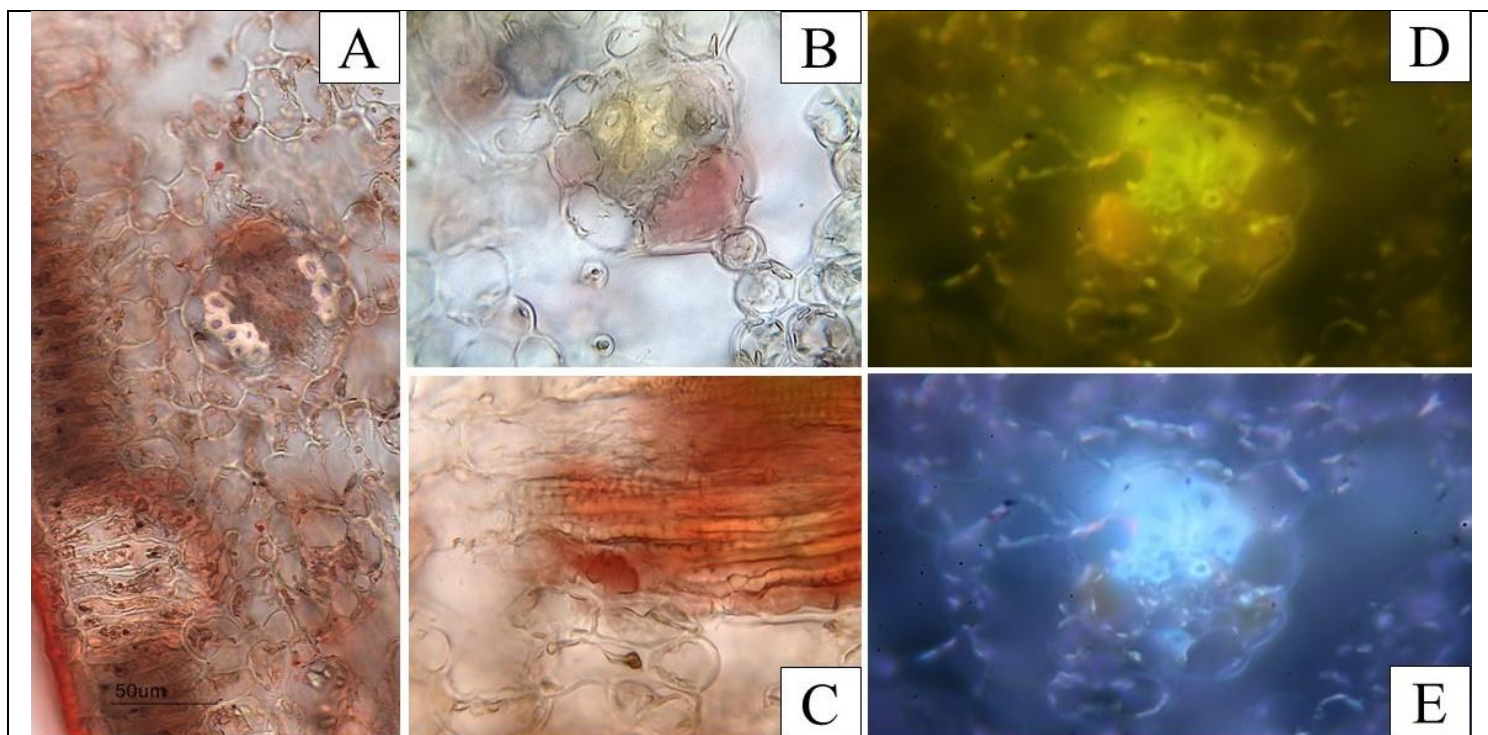


Рисунок 3 – Поперечный и продольный срезы листовой пластинки мирта обыкновенного: **A** – вторичная жилка в поперечном сечении листа, окрашенный Суданом III ($\times 400$); **B** – поперечное сечение листа, окрашенное сернокислым анилином ($\times 1000$); **C** – продольное сечение листа с пигментированными клетками, окрашенное сернокислым анилином ($\times 1000$); **D** – свечение пигмента в продольном сечении листа при $\lambda=420$ нм ($\times 1000$); **E** – свечение пигмента в продольном сечении листа при $\lambda=360$ нм ($\times 1000$)

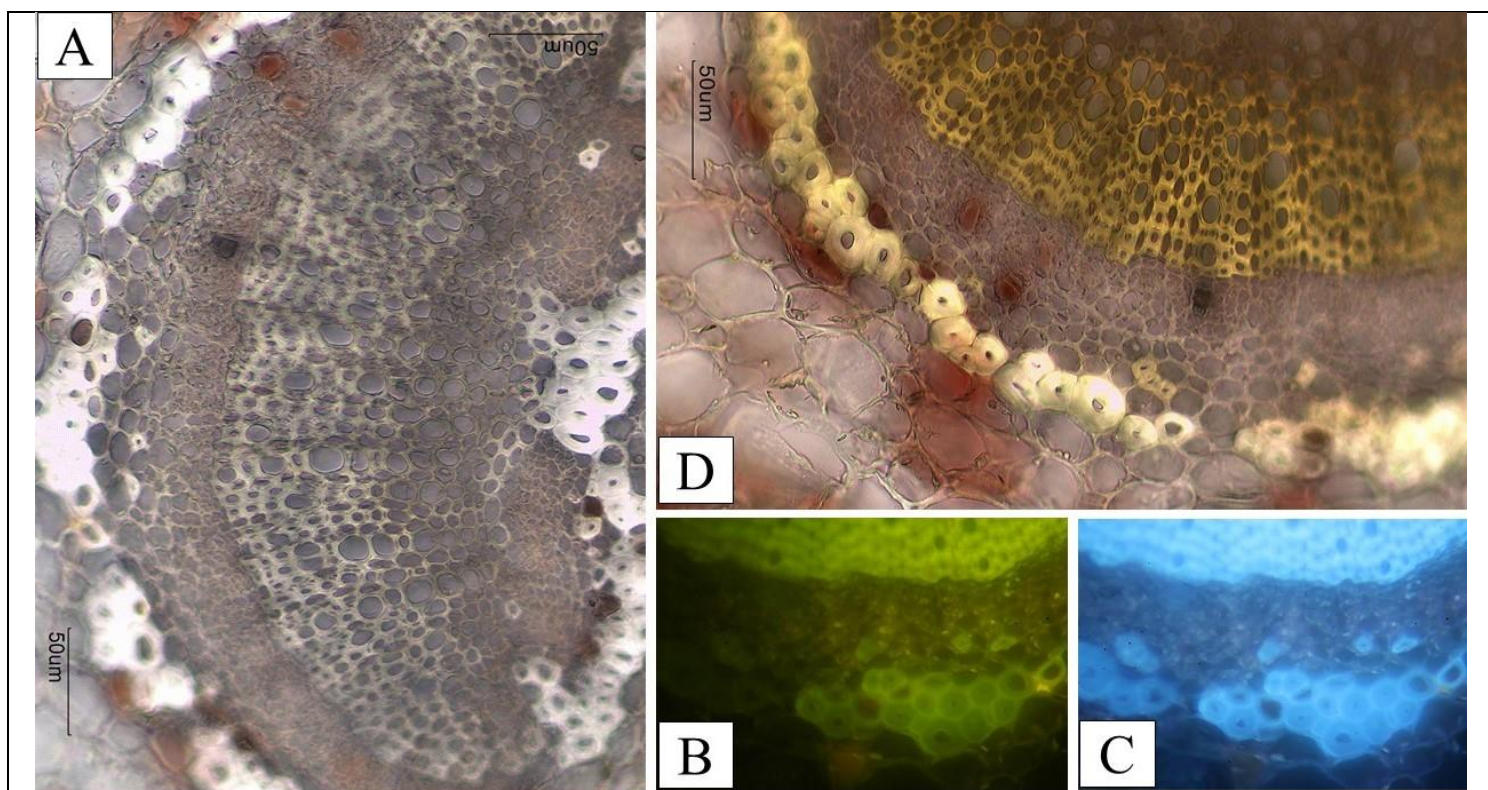


Рисунок 4 – Особенности гистологии и люминесценции ксилемных и флоэмных проводящих элементов пучка листовой пластинки мирта обыкновенного ($\times 400$): **A** – пучок центральной жилки; **B** – люминесценция пучка центральной жилки при $\lambda = 420$ нм; **C** – люминесценция пучка центральной жилки при $\lambda = 360$ нм; **D** – Окраска лигнифицированных оболочек склеренхимных и ксилемных элементов центральной жилки раствором сернокислого анилина

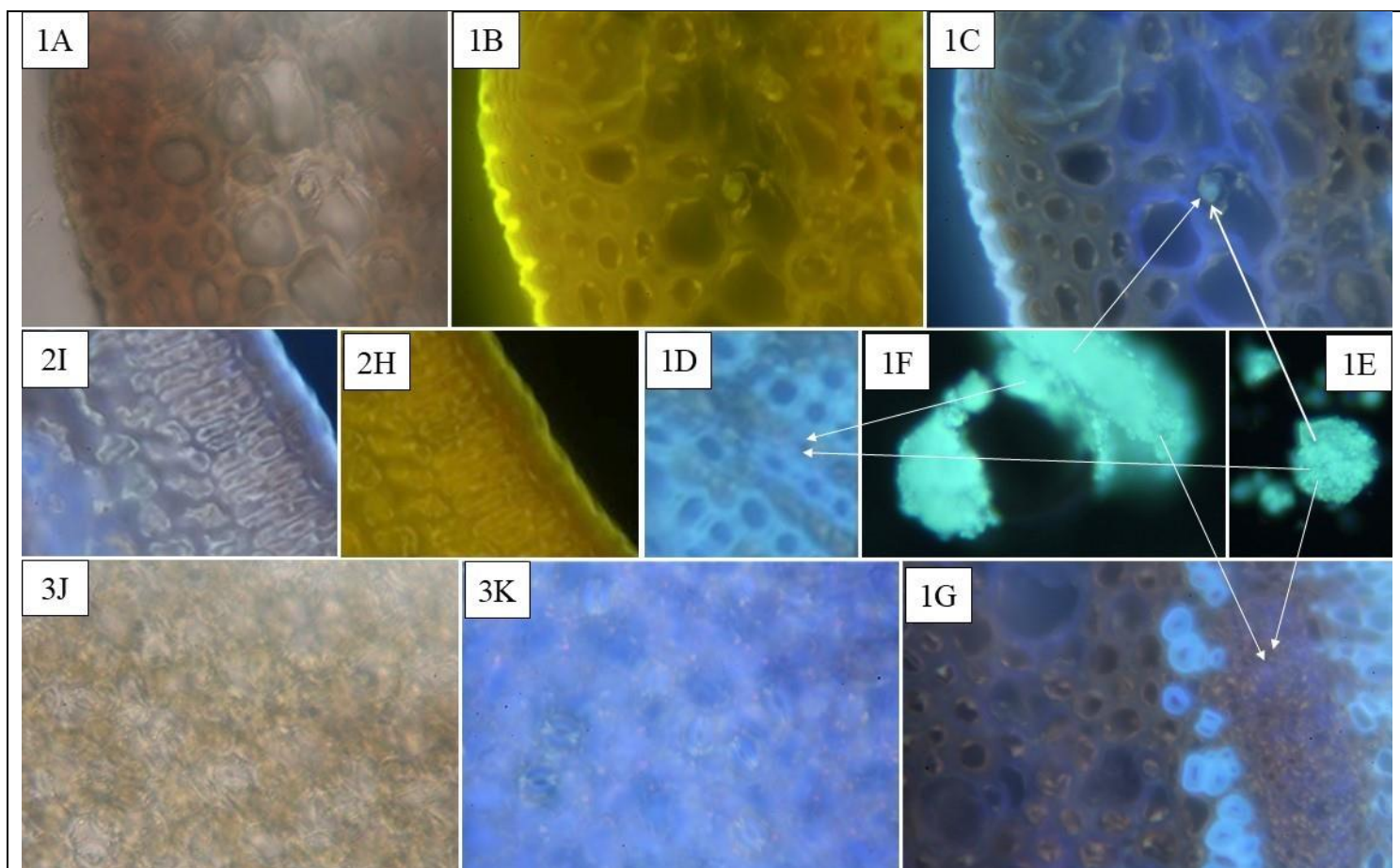


Рисунок 5 – Люминесценция биологически активных веществ и их локализация в тканях листьев мирта обыкновенного ($\times 400$): **1** – поперечное сечение черешка (**A** – видимый свет, **B** – облучение при $\lambda = 420$ нм, **C** - облучение при $\lambda = 360$ нм); **D** – ксилема, облучение при $\lambda = 360$ нм; **E** - эуглобали (эувималь-1) суспензия, облучение при $\lambda = 360$ нм на темном фоне; **F** - мирицитрин суспензия, облучение при $\lambda = 360$ нм; **G** – флоэма, облучение при $\lambda = 360$ нм; **2** – поперечное сечение листа (**H** – облучение при $\lambda = 420$ нм; **I** – облучение при $\lambda = 360$ нм); **3** – поверхность эпидермиса (**J** – видимый свет; **K** – облучение при $\lambda = 360$ нм)

Приложение №3. ^{13}C -ЯМР-спектры мирицитрина и миртокоммулона D

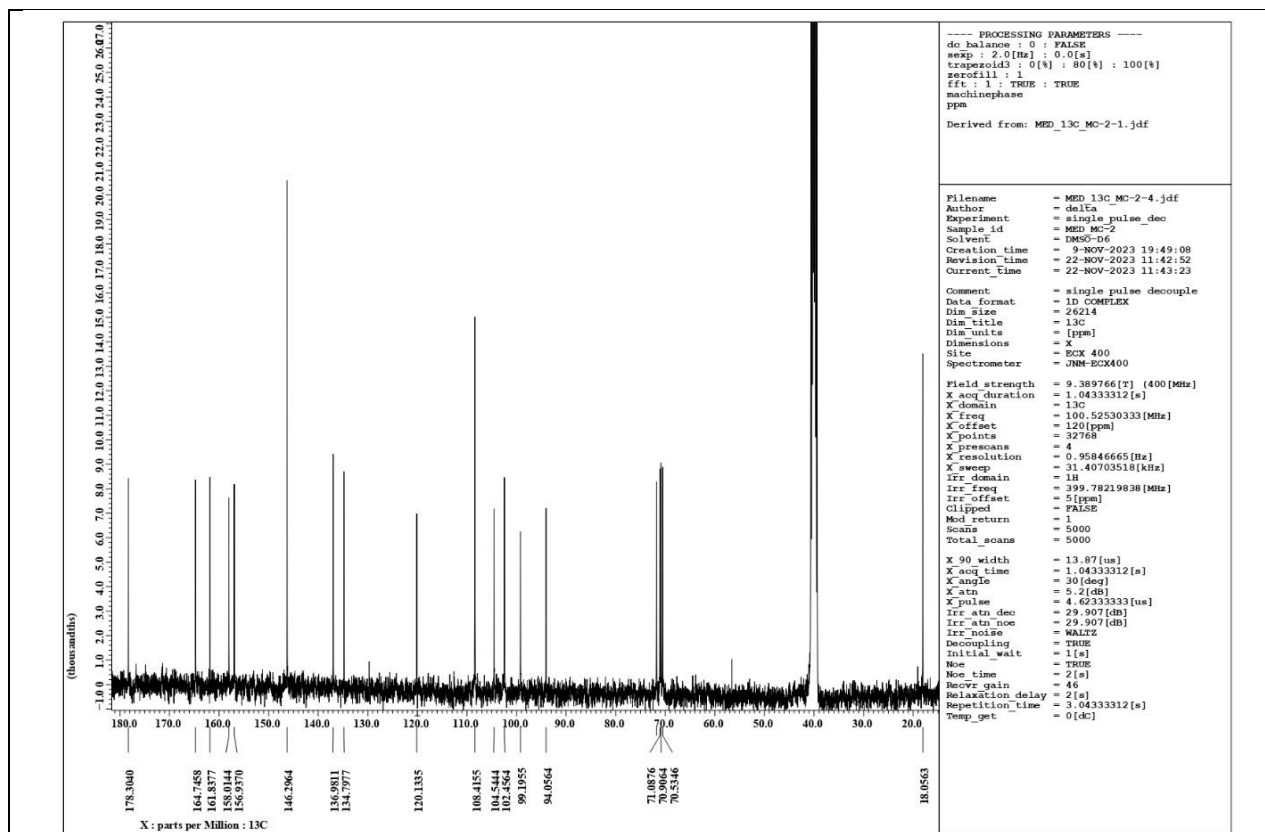


Рисунок 6 – ^{13}C -ЯМР-спектр мирицитрина

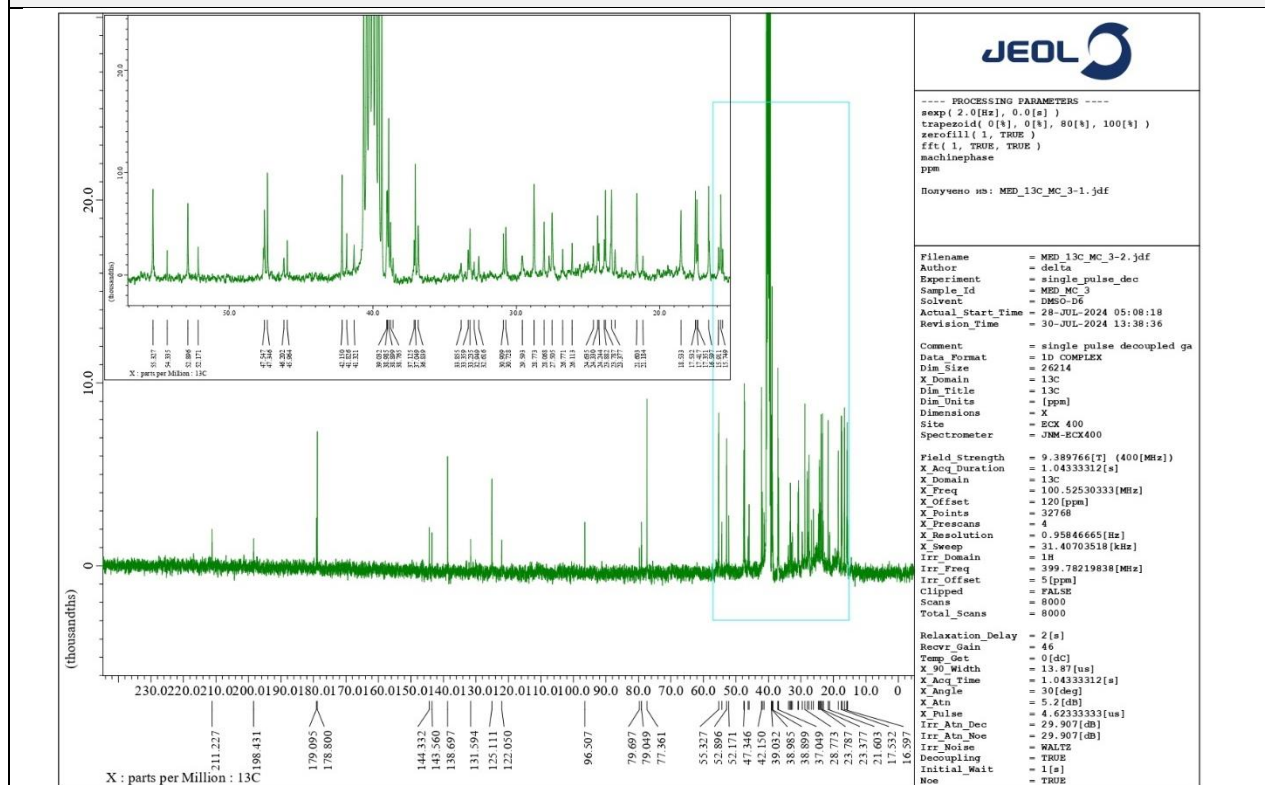


Рисунок 7 – ^{13}C -ЯМР-спектр миртокоммулона D

Приложение №4. ¹H-ЯМР-спектр мирицитрина.

Масс-спектры миртокоммулона D, мирицитрина, мирицетина

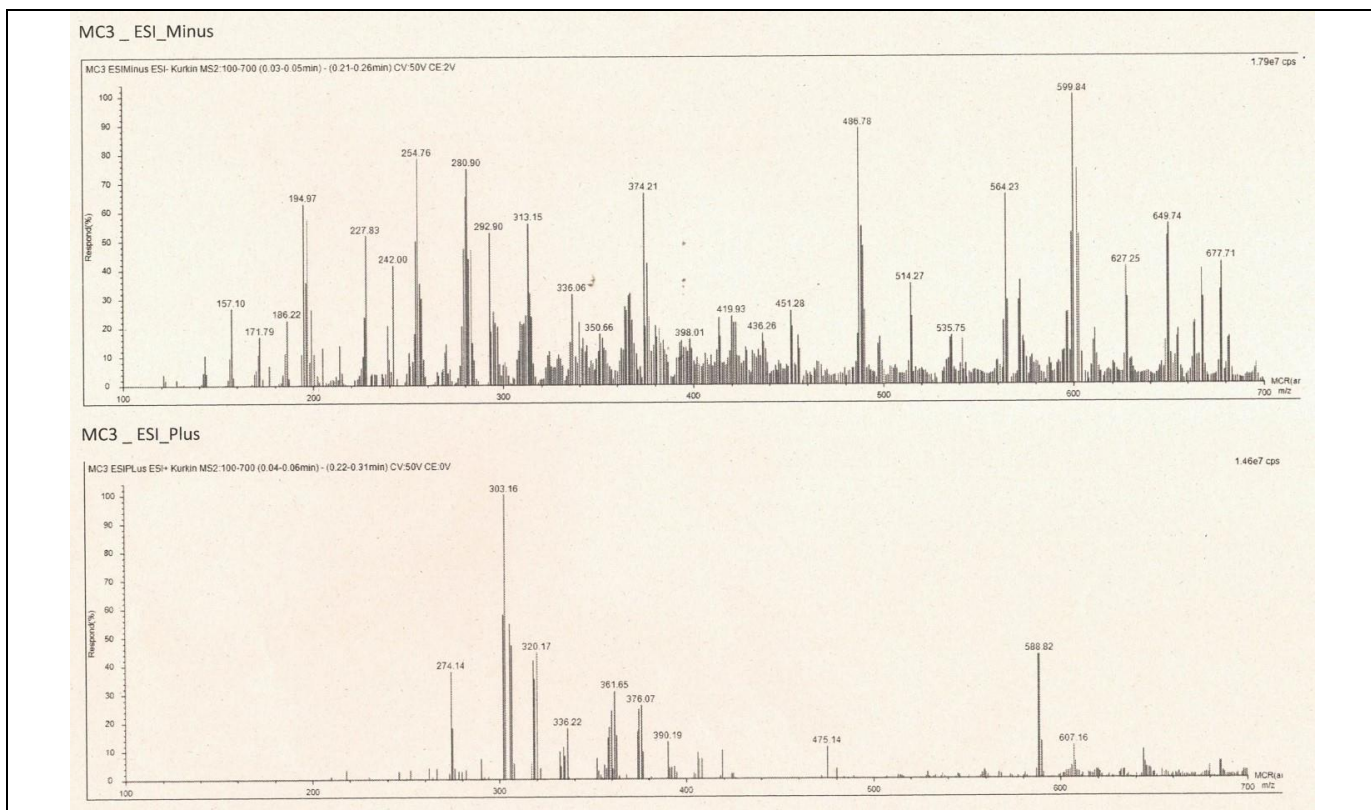


Рисунок 8 – Масс-спектр миртокоммулона D

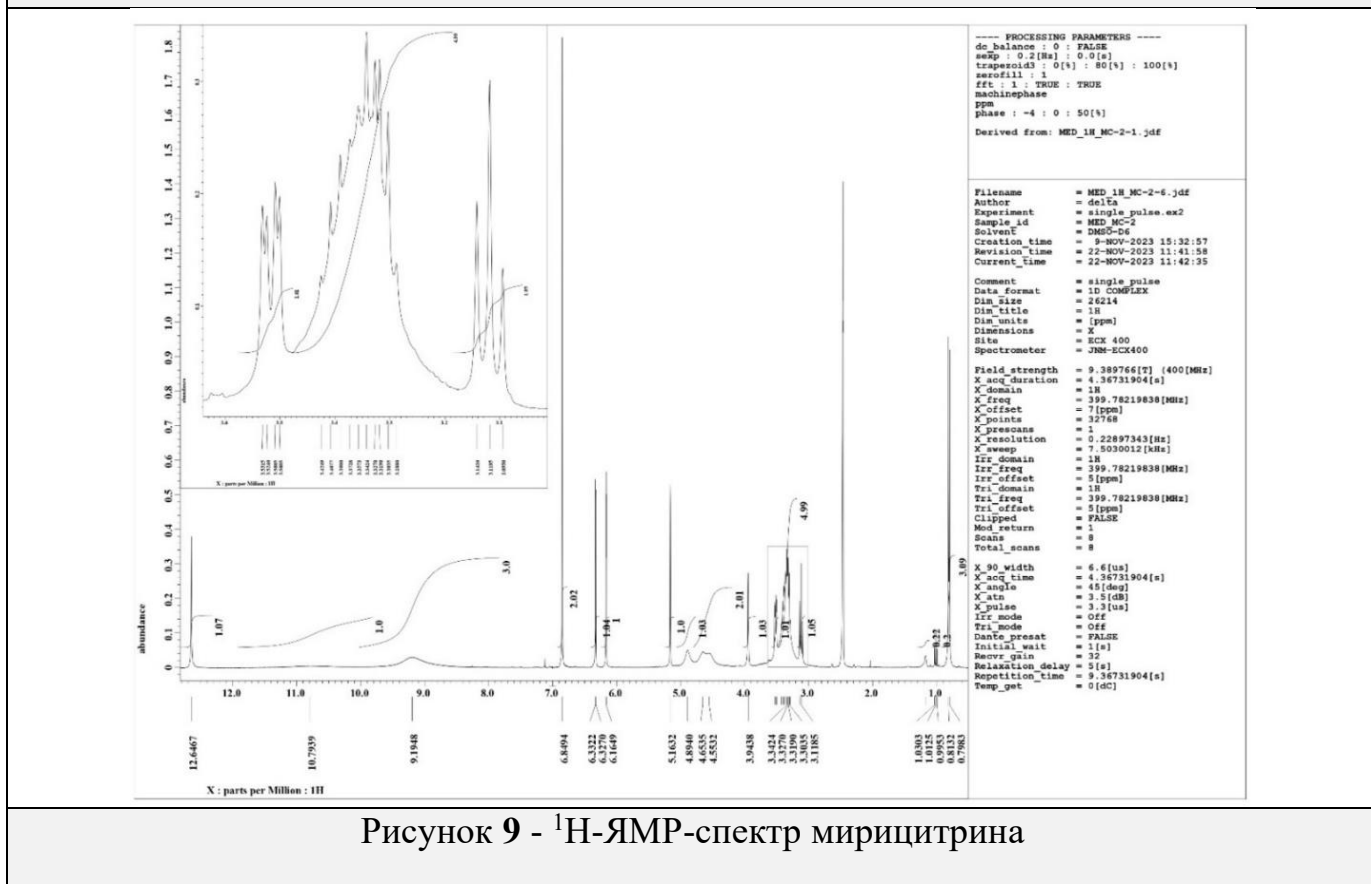


Рисунок 9 - ¹H-ЯМР-спектр мирицитрина

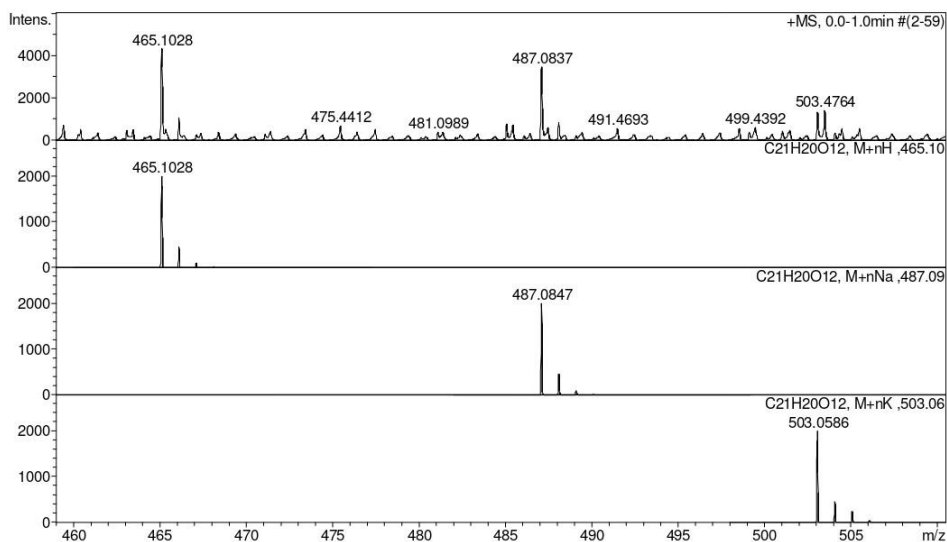
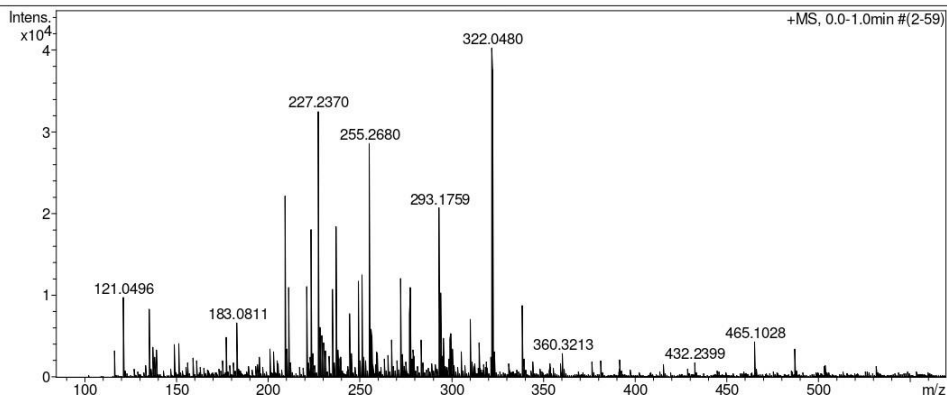
Display Report

Analysis Info

Analysis Name	D:\Data\Chizhov\Miscellaneous\Kurkin\Oct_27_2023\mc-1_&clblow.d	Acquisition Date	27.10.2023 15:42:32
Method	tune_low.m	Operator	BDAL@DE
Sample Name	/CHIZ MC-1	Instrument / Ser#	micrOTOF 10248
Comment	CH3CN:H2O 50/50 %, dil. 200, low conc. calibrant added		

Acquisition Parameter

Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Set Nebulizer	0.4 Bar
Focus	Not active			Set Dry Heater	180 °C
Scan Begin	50 m/z	Set Capillary	4500 V	Set Dry Gas	4.0 l/min
Scan End	3000 m/z	Set End Plate Offset	-500 V	Set Divert Valve	Waste



Bruker Compass DataAnalysis 4.0

printed: 27.10.2023 15:59:01

Page 1 of 1

Рисунок 10 – Масс-спектр мирицитрина

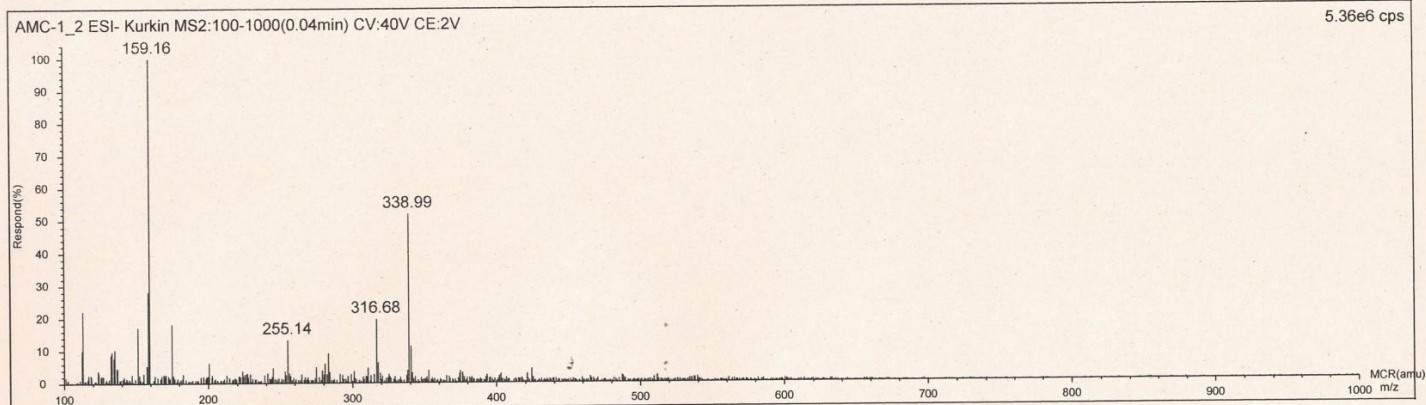


Рисунок 11 – Масс-спектр мирицетина

**Приложение №5. Сравнительный ГХ-МС анализ компонентного состава эфирных масел
листьев мирта обыкновенного и эвкалипта прутовидного**

Таблица 3 – Сравнительный анализ компонентного состава эфирных масел *Myrtus communis* и *Eucalyptus viminalis*

№ п/п	Идентифицированные компоненты	Время удерживания, мин	<i>Myrtus communis</i> (Россия), %	<i>Myrtus communis</i> (Алжир), %	<i>Myrtus communis</i> (промышленный образец), %	<i>Eucalyptus viminalis</i> (Абхазия), %	<i>Eucalyptus viminalis</i> (промышленный образец), %
1.	(+)-2-борнанон <i>(+)-2-bornanone</i>	23.28	-	-	-	-	3.31
2.	(±)-борнеолацетат <i>(±)-borneol acetate</i>	28.53	-	0,04	-	-	-
3.	(-)-карвон <i>(-)-carvone</i>	27.28	-	-	0,22	-	-
4.	(-)-миртенол <i>(-)-myrtenol</i>	25.85	-	0,02	-	-	-
5.	1,8-цинеол (эвкалиптол) <i>1,8-cineol (eucalyptol)</i>	17.48	20,15	0,02	3,15	11,93	10,27
6.	α-камфоленал <i>α-campholenal</i>	22.31	0,15	-	-	-	-
7.	α-пинен <i>α-pinene</i>	12.22	1,63	16,98	-	9,90	0,59

8.	α-терпинилацетат <i>α-terpinyl acetate</i>	30.77	1,39	-	-	-	-
9.	α-терпинеол <i>α-terpineol</i>	25.27	5,24	-	0,31	2,13	-
10.	α- фелландрен <i>α-phellandrene</i>	12.13	-	-	5,99	-	1,05
11.	β-мирцен <i>β-myrcene</i>	15.22	0,43	0,72	0,16	-	-
12.	<i>n</i>-мента-1,5,8-триен <i>n-menta-1,5,8-triene</i>	17.16	-	-	-	-	4,05
13.	γ-терпинен <i>γ-terpinene</i>	18.83	-	0,27	-	1,03	-
14.	D-лимонен <i>D-limonene</i>	17.27	1,54	5,60	14,05	2,80	1,36
15.	виридифлорол <i>viridiflorol</i>	38.85	-	-	-	1,41	-
16.	геранилацетат <i>geranyl acetate</i>	31.84	0,05	0,35	1,48	-	6,42
17.	гераниол <i>geraniol</i>	27.34	0,02	-	0,02	-	1,89
18.	глобулол <i>globulol</i>	38.65	-	-	4,55	-	-

19.	гуаиол <i>guaiol</i>	39.87	-	-	-	0,83	-
20.	кариофиллен <i>caryophyllene</i>	33.18	-	0,17	0,37	-	1,71
21.	кариофиллен оксид <i>caryophyllene oxide</i>	38.39	-	-	-	-	1,59
22.	каротол <i>carotol</i>	39.00	0,11	-	-	-	-
23.	линалилацетат <i>linalyl acetate</i>	27.15	0,72	0,16	-	-	0,83
24.	линалоол <i>linalool</i>	21.01	0,05	-	0,30	-	4,91
25.	метилэвгенол <i>methyl eugenol</i>	32.83	0,02	-	-	-	5,04
26.	миртенилацетат <i>myrtenyl acetate</i>	30.09	12,63	-	-	-	-
27.	терпинен-4-ол <i>terpinen-4-ol</i>	24.58	0,61	-	1,39	-	-
28.	транс-карвеол <i>trans-carveol</i>	22.21	-	-	-	-	0,14

29.	тридеcanoиновая кислота <i>tridecanoic acid</i>	42.17	-	-	-	0,27	-
30.	гумуленол-II <i>humulenol-II</i>	40.00	0,25	-	-	-	-
31.	гумулен <i>humulen</i>	34.35	0,25	-	-	-	0,90
32.	циперолактон <i>cyperolactone</i>	41.34	-	-	-	-	0,77
33.	цитронеллол <i>citronellol</i>	26.68	0,02	-	-	-	-
34.	эндо-борнеол <i>endo-borneol</i>	24.40	0,02	-	-	-	-
35.	эпиглобулол <i>epiglobulol</i>	37.83	-	-	1,69	-	-
36.	эстрагол <i>estragol</i>	25.41	-	-	-	-	0,34

Приложение №6. ГХ-МС-хроматограммы эфирных масел
мирта обыкновенного и эвкалипта прутовидного

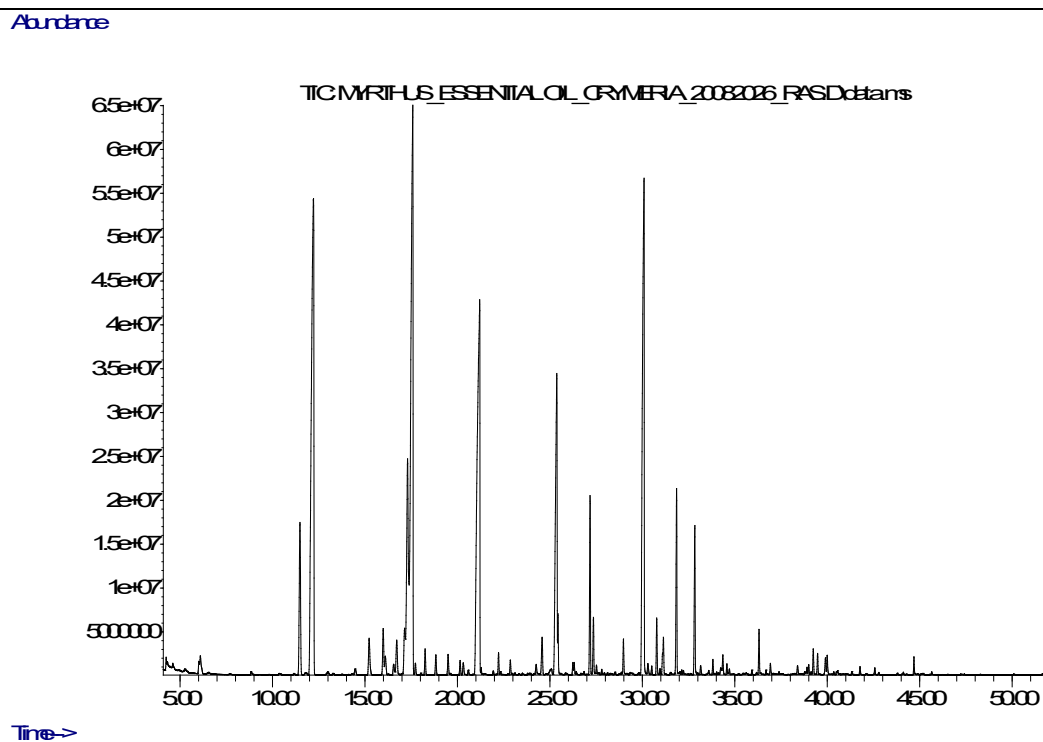


Рисунок 12 – Хроматограмма эфирного масла мирта обыкновенного
(Республика Крым, Россия)

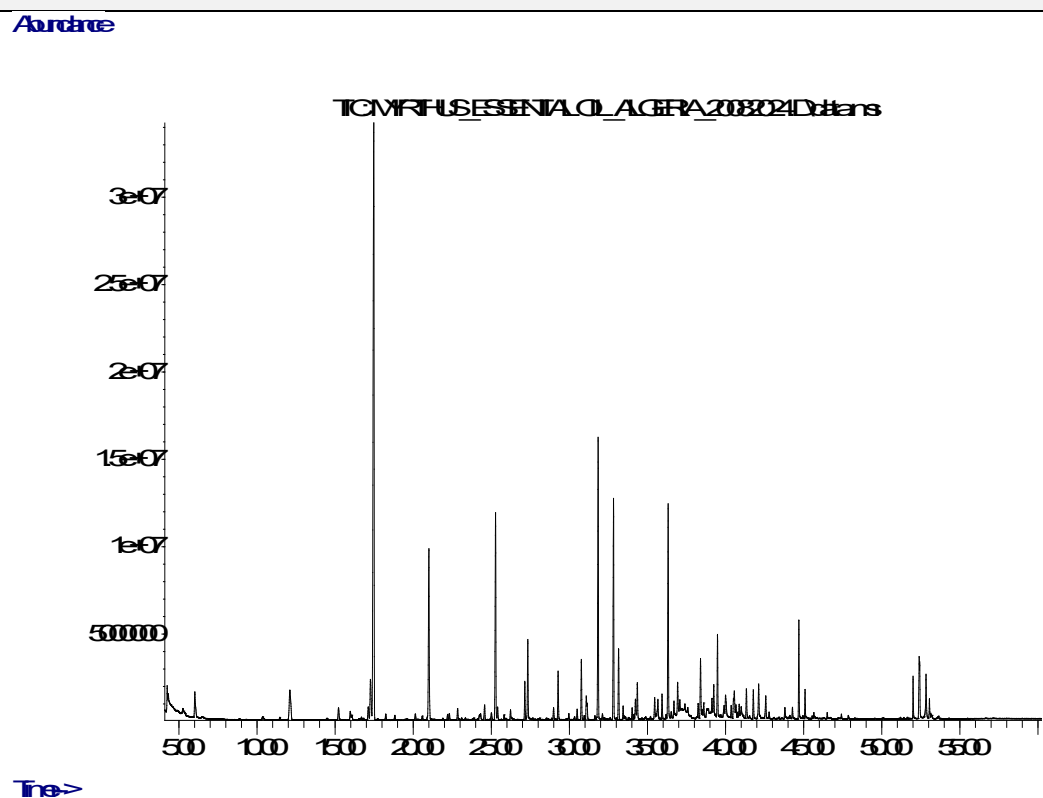


Рисунок 13 – Хроматограмма эфирного масла мирта обыкновенного
(провинция Релизан, Алжир)

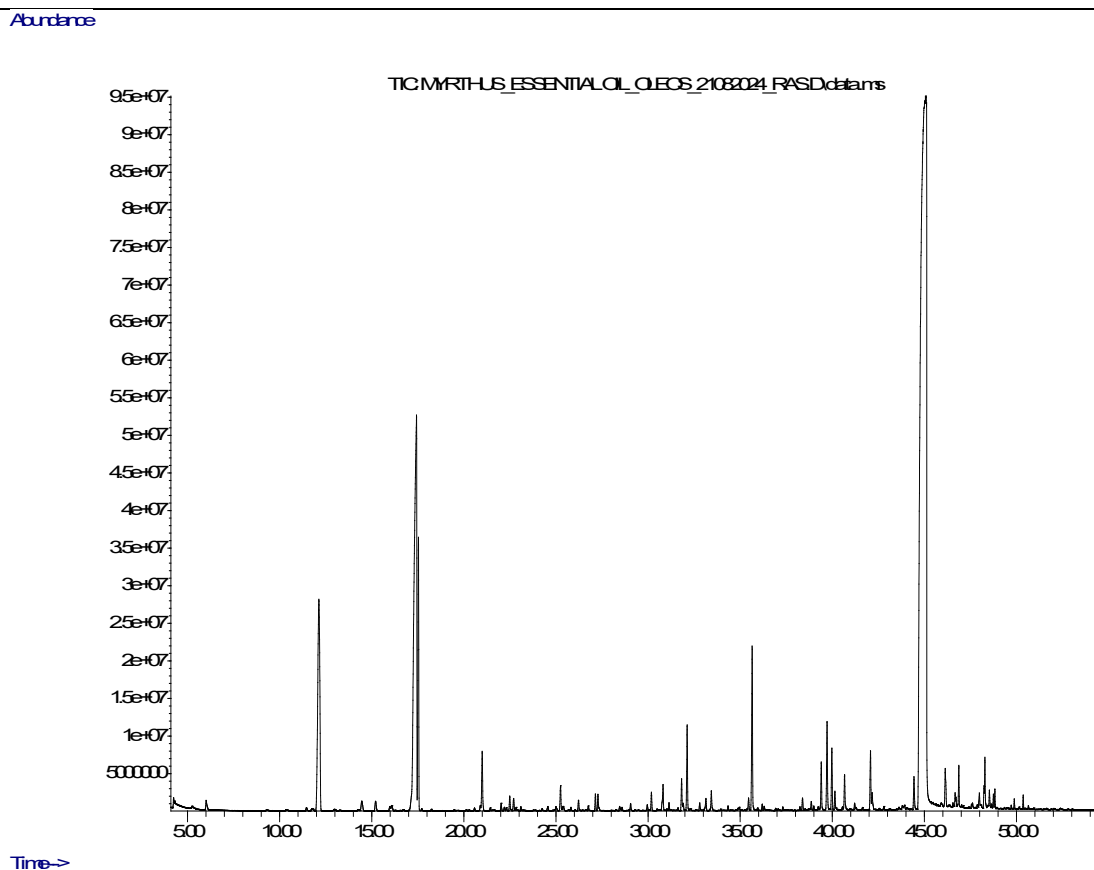


Рисунок 14 – Хроматограмма эфирного масла мирта обыкновенного
(промышленный образец, производство Россия)

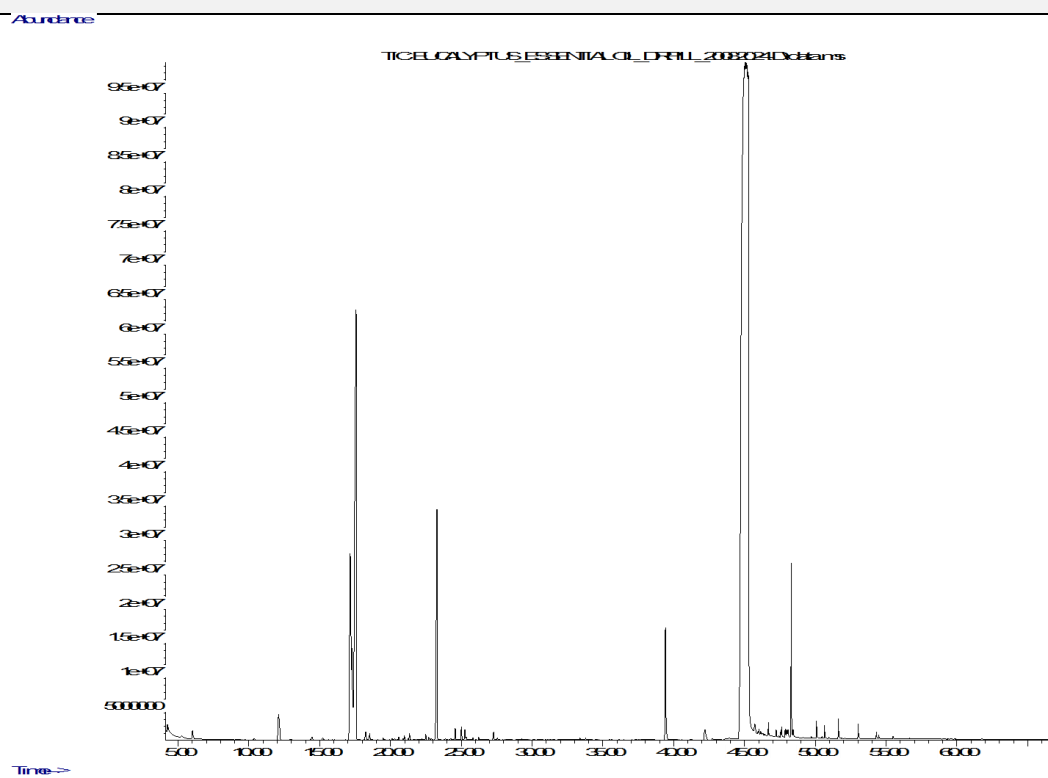


Рисунок 15 – Хроматограмма эфирного масла эвкалипта прутовидного
(промышленный образец, производство Россия)

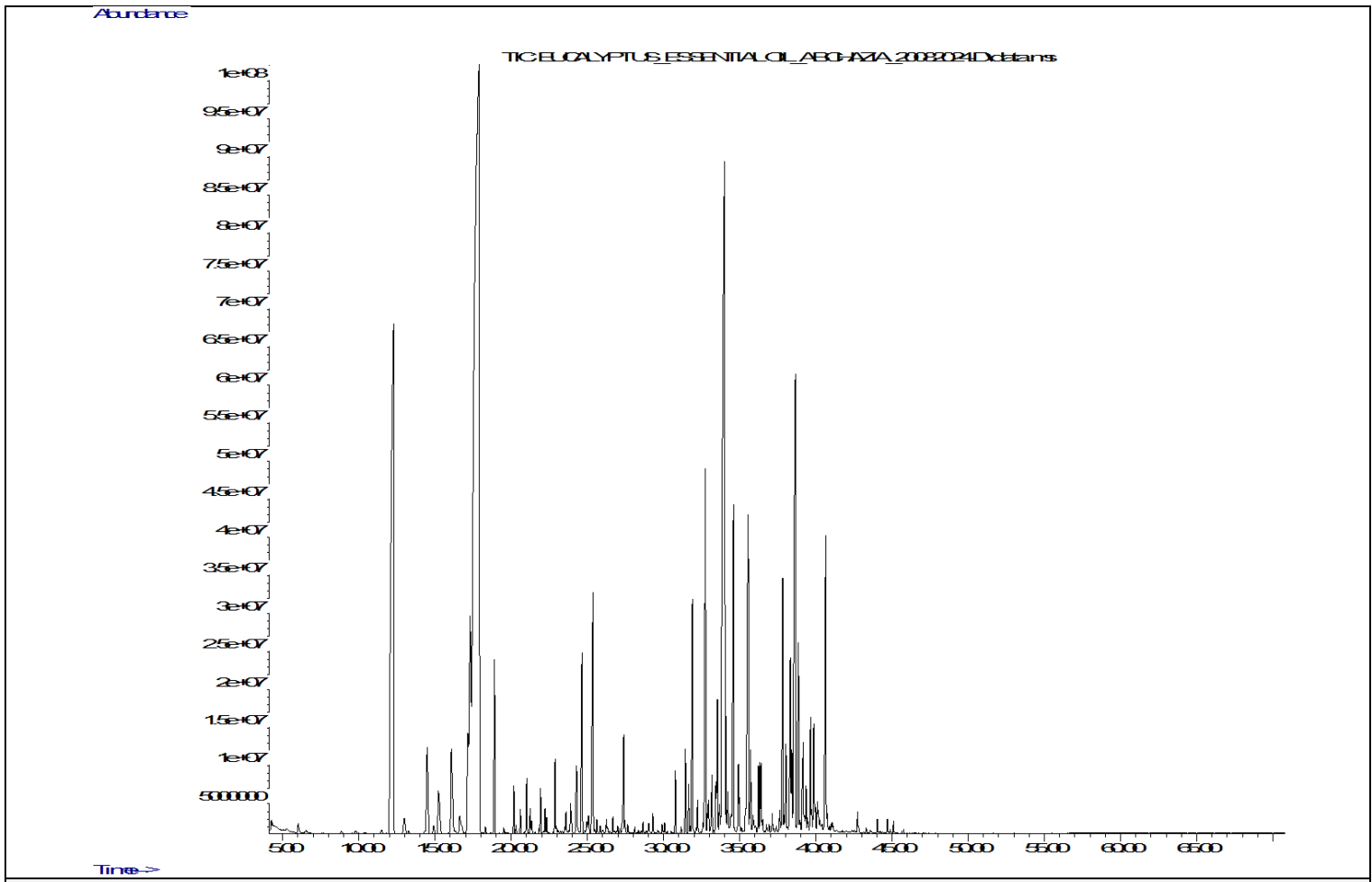


Рисунок 16 – Хроматограмма эфирного масла эвкалипта прутовидного (Абхазия)

Приложение №7. Методики определения антимикробной и противогрибковой активности

Таблица 4 – Методика проведения анализа на антимикробную и противогрибковую активность в отношении патогенных штаммов микроорганизмов, выделенных из мокроты пациентов с муковисцидозом

Стадии эксперимента	Описание стадии эксперимента
<i>Приготовление рабочего раствора</i>	Для проведения исследования использовали микрометод: тестирование проводили при величине конечного объема 100 мкл. Рабочие растворы вносили в планшеты для микроразведений по 50 мкл на лунку. При помощи многоканальных пипеток 96-луночный стерильный планшет для иммунологических исследований (с плоским дном) с крышкой заполняли двойными серийными разведениями исследуемых извлечений. Таким образом получали ряд разведений от 1:2 до 1:256. Затем разведения инокулировали приготовленной суспензией исследуемого микроорганизма. Инкубацию проводили в обычной атмосфере при температуре 36°C. При проведении инкубации планшет закрывали крышкой для предотвращения высыхания содержимого лунок.
<i>Приготовление инокулюма</i>	Инокулюм готовили путем суспендирования колоний, отобранных из ночной культуры, выросшей на 5% кровяном агаре (HiMedia, Индия). Окончательная микробная нагрузка в инокулюме составляла 5×10^5 КОЕ/мл. Для приготовления инокулюма с необходимой концентрацией микроорганизмов использовали 100 мкл суспензии эквивалентной 0,5 по стандарту МакФарланда, которую переносили в пробирку, содержащую 9,9 мл (разведение 1:100) бульона, что позволяло получить суспензию с концентрацией клеток 1×10^6 КОЕ/мл, при добавлении 50 мкл которой к равному

	<p>объему (50 мкл) исследуемого раствора получали окончательный состав инокулюма. Инокулюм вносился в пробирки с разведениями образца не позднее 15 мин с момента его приготовления. Планшеты с тестируемыми штаммами инкубировали при температуре 36,8°C в течение 24 ч.</p>
<p>Оценка роста микроорганизмов</p>	<p>Определение МИК и противомикробной активности проводили методом двойных серийных разведений в бульоне на тестовых культурах. Для определения наличия роста микроорганизма лунки планшетов с посевами просматривали в проходящем свете. Рост культуры в присутствии тестируемого образца наблюдали при сравнении с лункой «отрицательного» контроля. МИК определяли по наименьшей концентрации тестируемого образца, которая подавляет видимый рост микроорганизмов.</p>
<p>Оценка результатов эксперимента</p>	<p>Учет результатов микробиологического анализа осуществлялся через 48–72 ч после инкубации при температуре 36°C. Из лунок с соответствующими разведениями исследуемых образцов с видимой задержкой роста осуществлялся высев на питательные среды (5% кровяной агар-агар (HiMedia, Индия)). Через 24 часа отсутствие роста оценивалось как бактерицидный эффект, а появление видимого роста, но с его задержкой, — как бактериостатический. При этом, согласно требованиям ГОСТ Р ИСО 20776-1-2010 и рекомендациям Стандарта производительности для тестов на чувствительность к антимикробным препаратам (CLSI), наличие мутности, и обнаружение незначительного количества микроорганизмов (1 колония) не учитывали при регистрации результата эксперимента. Количество повторений каждого эксперимента было равнялось 3.</p>

Таблица 5 – Методика проведения анализа на антимикробную и противогрибковую активность в отношении наиболее распространенных патогенных штаммов микроорганизмов

Стадии эксперимента	Описание стадии эксперимента
<i>Приготовление рабочего раствора</i>	<p>Для определения чувствительности питательный бульон разливался по 1 мл в каждую пробирку. Помимо количества пробирок, необходимых для разведения образца, одна пробирка использовалась для постановки «отрицательного» контроля. Рабочий раствор тестируемого образца готовили из основного раствора с использованием жидкой питательной среды (питательный бульон Мюллера-Хинтона). Концентрация рабочего раствора рассчитывали исходя из необходимой максимальной концентрации в ряду серийных разведений, с учетом фактора разбавления препарата при последующей инокуляции. Рабочий раствор в количестве 1 мл при помощи микропипетки со стерильным наконечником вносили в первую пробирку, содержащую 1 мл бульона. Затем тщательно перемешивали и новым стерильным наконечником переносили 1 мл раствора тестируемого образца в бульоне во вторую пробирку, содержащую первоначально 1 мл бульона. Процедуру повторяли до тех пор, пока не был приготовлен весь необходимый ряд разведений. Из последней пробирки 1 мл бульона удаляли. Таким образом, получали ряд пробирок с растворами тестируемых образцов водно-спиртовых извлечений, концентрации которых отличаются в соседних пробирках в 2 раза в диапазоне от 1:2 до 1:512. Одновременно готовили дополнительные ряды серийных разведений образцов для тестирования контрольных штаммов.</p>
<i>Приготовление инокулюма</i>	<p>Для инокуляции использовали стандартную микробную взвесь, эквивалентную 0,5 ед. по стандарту МакФарланда, разведенную в 100 раз на питательном бульоне, после чего</p>

	<p>концентрация микроорганизма в ней составили примерно 10^6 КОЕ/мл. По 1 мл инокулюма вносили в каждую пробирку, содержащую по 1 мл соответствующего разведения тестируемого образца и в одну пробирку с 1 мл питательного бульона без образца («отрицательный» контроль). Конечная концентрация микроорганизма в каждой пробирке достигала необходимой концентрации около 5×10^5 КОЕ/мл. Инокулюм вносился в пробирки с разведениями образца не позднее 30 мин с момента его приготовления. Пробирки закрывали стерильными ватно-марлевыми пробками. Все пробирки с тестируемыми штаммами и с «отрицательным» контролем инкубировали при температуре $36,8^\circ\text{C}$ в течение 24 ч.</p>
<p><i>Оценка роста микроорганизмов</i></p>	<p>Для определения наличия роста микроорганизма пробирки с посевами просматривали в проходящем свете. Рост культуры в присутствии тестируемого образца проводили при сравнении с пробиркой «отрицательного» контроля, содержащей исходный инокулюм и хранившейся в холодильнике. МИК определяли по наименьшей концентрации тестируемого образца, которая подавляет видимый рост микроорганизма.</p>
<p><i>Оценка результатов эксперимента</i></p>	<p>Оценка результатов проводили визуально по наличию/отсутствию роста микроорганизмов в пробирках с соответствующими разведениями исследуемых образцов. МИК являлась самая низкая концентрация изучаемого образца, которая полностью подавляла рост штамма микроорганизмов. При этом, согласно требованиям Методических указаний (МУК 4.2.1890-04) по определению чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам и рекомендациям Стандарта производительности для тестов на чувствительность к антимикробным препаратам (CLSI), наличие мутности и обнаружение незначительного количества микроорганизмов (1 колония) не учитывали при регистрации результата эксперимента. Количество повторений каждого эксперимента было равно трем.</p>

Приложение №8. Результаты сравнительного микробиологического исследования водно-спиртовых извлечений из листьев мирта обыкновенного, препаратов контроля и сравнения

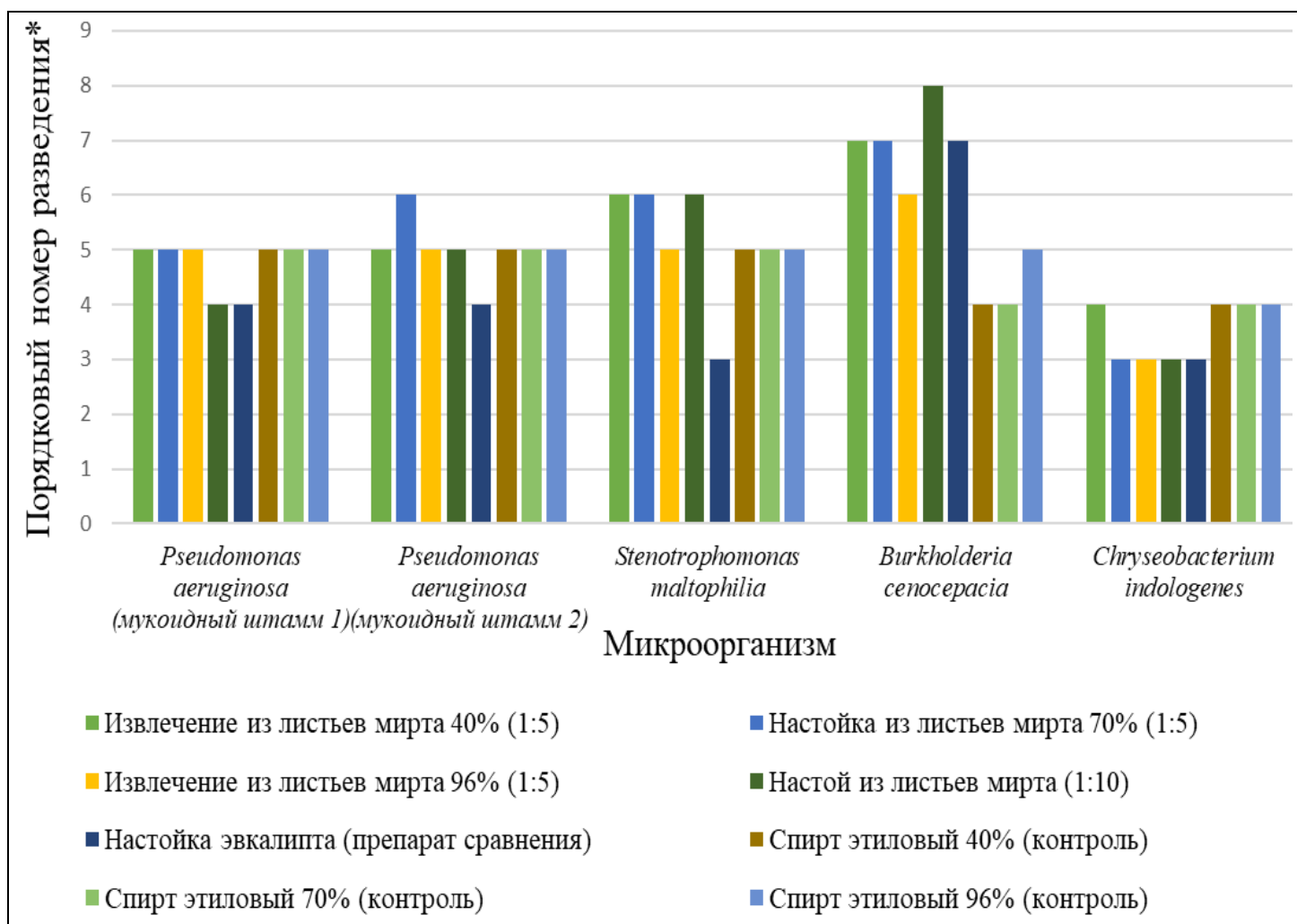


Рисунок 17 – Сравнительный анализ МИК исследуемых образцов, препаратов отрицательного контроля (этиловый спирт) и сравнения (настойка эвкалипта) в отношении мукоидных штаммов микроорганизмов.

Обозначения: 1 – настойка эвкалипта (препарат сравнения); 2 – настой листьев мирта; 3 – водно-спиртовое извлечение из листьев мирта 40%; 4 – водно-спиртовое извлечение из листьев мирта 70%; 5 – водно-спиртовое извлечение из листьев мирта 96%; 6 – спирт этиловый 40% (контроль); 7 – спирт этиловый 70% (контроль); 8 – спирт этиловый 96% (контроль).

**Примечание: На оси указана кратность разведения исходного образца: 1 – 1:2; 2 – 1:4; 3 – 1:8; 4 – 1:16; 5 – 1:32; 6 – 1:64; 7 – 1:128; 8 – 1:256; 9 – 1:512.*

Таблица 6 – Результаты тестирования извлечения из листьев мирта обыкновенного на 70% этиловом спирте (1:50)

Штамм микроорганизмов	Кратность разведения*							
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	–	–	–	–	–	–	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	–	–	–	–	–	–	+	+
<i>Escherichia coli</i>	–	–	–	–	+	+	+	+
<i>Bacillus cereus</i>	–	–	–	–	–	–	+	+
<i>Candida albicans</i>	–	–	–	–	–	–	+	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	–	–	–	–	+	+	+	+
<i>Enterococcus faecalis</i>	–	–	–	–	–	+	+	+
<i>Acinetobacter baumannii</i>	–	–	–	–	+	+	+	+

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

Таблица 7 – Результаты тестирования 0,3% спиртового раствора миртокоммулона D

Штамм микроорганизмов	Кратность разведения*							
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	–	–	–	–	–	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	–	–	–	–	–	–	–	+
<i>Escherichia coli</i>	–	–	–	–	+	+	+	+
<i>Bacillus cereus</i>	–	–	–	–	–	–	–	+
<i>Candida albicans</i>	–	–	–	–	–	+	+	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	–	–	–	–	+	+	+	+
<i>Enterococcus faecalis</i>	–	–	–	–	+	+	+	+
<i>Acinetobacter baumannii</i>	–	–	–	–	+	+	+	+

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

Таблица 8 – Результаты тестирования раствора этанола 70% концентрации (отрицательный контроль)

Штамм микроорганизмов	Кратность разведения*				
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	–	–	–	–	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	–	–	–	–	+
<i>Escherichia coli</i>	–	–	–	–	+
<i>Bacillus cereus</i>	–	–	–	–	+
<i>Candida albicans</i>	–	–	–	–	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	–	–	–	–	+
<i>Enterococcus faecalis</i>	–	–	–	–	+
<i>Acinetobacter baumannii</i>	–	–	–	–	+

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

Таблица 9 – Результаты тестирования препарата сравнения (настойка эвкалипта)

Штамм микроорганизмов	Кратность разведения*							
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	–	–	–	–	–	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	–	–	–	–	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i>	–	–	–	–	+	+	+	+
<i>Bacillus cereus</i>	–	–	–	–	+	+	+	+
<i>Candida albicans</i>	–	–	–	–	–	+	+	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	–	–	–	–	+	+	+	+
<i>Enterococcus faecalis</i>	–	–	–	–	+	+	+	+
<i>Acinetobacter baumannii</i>	–	–	–	–	+	+	+	+

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

Таблица 10 – Результаты тестирования водно-спиртовых извлечений из листьев мирта обыкновенного и препарата сравнения (настойка эвкалипта) в отношении мукоидных штаммов микроорганизмов

Объект	Кратность разведения*							
	1	2	3	4	5	6	7	8
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (штамм 1)								
Извлечение мирта 40%	–	–	–	–	–	+	+	+
Извлечение мирта 70%	–	–	–	–	–	+	+	+
Извлечение мирта 96%	–	–	–	–	–	+	+	+
Водный настой мирта	–	–	–	–	+	+	+	+
Настойка эвкалипта 70%	–	–	–	–	+	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (штамм 2)								
Извлечение мирта 40%	–	–	–	–	–	+	+	+
Извлечение мирта 70%	–	–	–	–	–	–	+	+
Извлечение мирта 96%	–	–	–	–	–	+	+	+
Водный настой мирта	–	–	–	–	–	+	+	+
Настойка эвкалипта 70%	–	–	–	–	+	+	+	+
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>								
Извлечение мирта 40%	–	–	–	–	–	–	+	+
Извлечение мирта 70%	–	–	–	–	–	–	+	+
Извлечение мирта 96%	–	–	–	–	–	+	+	+
Водный настой мирта	–	–	–	–	–	–	+	+
Настойка эвкалипта 70%	–	–	–	+	+	+	+	+
<i>Burkholderia cenocepacia</i>								
Извлечение мирта 40%	–	–	–	–	–	–	–	+
Извлечение мирта 70%	–	–	–	–	–	–	–	+
Извлечение мирта 96%	–	–	–	–	–	–	+	+
Водный настой мирта	–	–	–	–	–	–	–	–
Настойка эвкалипта 70%	–	–	–	–	–	–	–	+

<i>Chryseobacterium indologenes</i>								
Извлечение мирта 40%	–	–	–	–	+	+	+	+
Извлечение мирта 70%	–	–	–	+	+	+	+	+
Извлечение мирта 96%	–	–	–	+	+	+	+	+
Водный настой мирта	–	–	–	+	+	+	+	+
Настойка эвкалипта 70%	–	–	–	+	+	+	+	+

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

Таблица 11 – Результаты тестирования препаратов отрицательного контроля (растворы спирта этилового с 40%, 70%, 96% концентрацией) в отношении мукоидных штаммов микроорганизмов

Объект	Кратность разведения*							
	1	2	3	4	5	6	7	8
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (штамм 1)								
Спирт этиловый 40%	–	–	–	–	–	+	+	+
Спирт этиловый 70%	–	–	–	–	–	+	+	+
Спирт этиловый 96%	–	–	–	–	–	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (штамм 2)								
Спирт этиловый 40%	–	–	–	–	–	+	+	+
Спирт этиловый 70%	–	–	–	–	–	+	+	+
Спирт этиловый 96%	–	–	–	–	–	+	+	+
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>								
Спирт этиловый 40%	–	–	–	–	–	+	+	+
Спирт этиловый 70%	–	–	–	–	–	+	+	+
Спирт этиловый 96%	–	–	–	–	–	+	+	+
<i>Burkholderia cenocepacia</i>								
Спирт этиловый 40%	–	–	–	–	+	+	+	+
Спирт этиловый 70%	–	–	–	–	+	+	+	+
Спирт этиловый 96%	–	–	–	–	–	+	+	+
<i>Chryseobacterium indologenes</i>								
Спирт этиловый 40%	–	–	–	–	+	+	+	+
Спирт этиловый 70%	–	–	–	–	+	+	+	+
Спирт этиловый 96%	–	–	–	–	+	+	+	+

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

Приложение №9. Способы приготовления растворов для метода FRAP

Таблица 12 – Способ приготовления препаративных растворов

Раствор	Способ приготовления
<i>Аскорбиновая кислота (стандарт)</i>	2,5 мг (точная навеска) аскорбиновой кислоты отвешивают в мерную колбу объемом 25 мл, растворяют в 10 мл воды очищенной, доводят до метки тем же растворителем, перемешивают.
<i>Мирицитрин</i>	2,5 мг (точная навеска) мирицитрина в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют при нагревании в 10 мл этилового спирта 70%, доводят объем раствора до метки тем же растворителем, перемешивают. Затем 1 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят этиловым спиртом 70% до метки, перемешивают.
<i>Мирицетин</i>	2,3 мг (точная навеска) мирицетина переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют при нагревании в 10 мл этилового спирта 70%, доводят объем раствора до метки тем же растворителем, перемешивают.
<i>Миртокоммулон D</i>	3,0 мг (точная навеска) миртокоммулона D переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют при нагревании в 10 мл этилового спирта 70%, доводят объем раствора до метки тем же растворителем, перемешивают.
<i>Галловая кислота</i>	4,6 мг (точная навеска) галловой кислоты переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 10 мл этилового спирта 70%, доводят объем раствора до метки тем же растворителем, перемешивают.
<i>Настойка листьев мирта обыкновенного</i>	1 мл настойки листьев мирта обыкновенного переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят этиловым спиртом 70% до метки, перемешивают. 1 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят до метки тем же растворителем, перемешивают.

Таблица 13 – Способ приготовления рабочих растворов

Рабочий раствор	Способ приготовления
<i>Ацетатный буфер рН 3,6</i>	1,55 г натрия ацетата растворяют в 200 мл воды очищенной, добавляют рН до 3,6 потенциометрически с помощью ледяной уксусной кислоты и доводят объем раствора водой очищенной до 500 мл, перемешивают.
<i>Раствор железа хлорида (III) (FeCl₃)</i>	0,27 г FeCl ₃ отвешивают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 20 мл воды очищенной и доводят объем раствора тем же растворителем до метки, перемешивают.
<i>40 мМ раствор хлористоводородной кислоты (HCl)</i>	1,7 мл HCl растворяют переносят в мерную колбу вместимостью 500 мл, доводят объем раствора водой очищенной до метки, перемешивают.
<i>Раствор 10 мМ трипиридилгидразина (TPTZ)</i>	Около 30 мг TPTZ помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл. Растворяют в 3мл 40мМ раствора HCl при нагревании на водяной бане, затем доводят объем раствора тем же растворителем до метки, перемешивают.
<i>Рабочий реактив FRAP</i>	Смешивают ацетатный буфер, раствор железа хлорида (III) и раствор TPTZ в соотношении 10:1:1 соответственно. Реактив годен в течение одного дня.

Приложение №10. Акты о внедрении результатов

«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 Масловой Веры Дмитриевны
«Фармакогностическое исследование листьев мирта обыкновенного (*Myrtus communis* 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 В.Д. Масловой, посвященного изучению вопросов фитохимической и морфолого-диагностической диагностики, обоснованию подходов к стандартизации растительного сырья и экстракционных препаратов на основе листьев мирта обыкновенного в учебном процессе при проведении практических занятий со студентами и ординаторами, а также в научно-исследовательской работе.

Внедренные результаты способствуют решению вопросов стандартизации растительного сырья мирта обыкновенного.

Члены комиссии:

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


В.А. Куркин

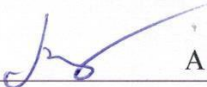
Профессор кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, д.фарм.н.


О.Е. Правдивцева

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


В.М. Рыжов

Директор Института фармации, д.фарм.н., профессор


А.В. Воронин

443099, г. Самара, ул. Чапаевская, 89

«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 Масловой Веры Дмитриевны
«Фармакогностическое исследование листьев мирта обыкновенного (*Myrtus communis* 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 — базовой кафедры «Озон
Фармацевтики» ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России

Комиссия в составе сотрудников кафедры фармацевтической технологии с курсом биотехнологий — базовой кафедры «Озон Фармацевтики»: зав. кафедрой, д. фарм. н., профессора Куркиной А.В., доцента кафедры, к. фарм. н. Желонкина Н.Н., доцента кафедры, к. фарм. н., доцента Климовой Л.Д. подтверждает использование материалов диссертационного исследования В.Д. Масловой, посвященного изучению химического состава и обоснованию использования в медицине растительного сырья и экстракционных препаратов на основе листьев мирта обыкновенного 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 «Мирта обыкновенного листа».

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 — базовой кафедры «Озон Фармацевтики», д. фарм. н., профессор

А.В. Куркина

Доцент кафедры фармацевтической технологии с курсом биотехнологий — базовой кафедры «Озон Фармацевтики», к. фарм. н.

Н.Н. Желонкин

Доцент кафедры фармацевтической технологии с курсом биотехнологий — базовой кафедры «Озон Фармацевтики», к. фарм. н., доцент

Л.Д. Климова

Директор Института фармации, д. фарм. н., профессор

А.В. Воронин

443099, г. Самара, ул. Чапаевская, 89

«Утверждаю»

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

Н.Л. Давыдкин

« 17 июля » 2025 г.

АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы Масловой Веры Дмитриевны «Фармакогностическое исследование листьев мирта обыкновенного (*Myrtus communis* L.)» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки) в научно-образовательном центре «Фармация» ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России

Комиссия в составе сотрудников научно-образовательного центра «Фармация» (НОЦ «Фармация»): директора, д.фарм.н. Рязановой Т.К., главного специалиста, к.фарм.н. Мубинова А.Р., главного специалиста Качалкиной И.В. подтверждает использование материалов диссертационного исследования В.Д. Масловой, посвященного определению диагностических признаков, изучению химического состава с использованием современных инструментальных методов анализа и обоснованию подходов к стандартизации растительного сырья мирта обыкновенного в научно-исследовательской работе по изучению растительного сырья, содержащего терпены, флавоноиды, флороглюцины.

Внедренные результаты диссертационного исследования способствуют решению вопроса стандартизации растительного сырья и экстракционных препаратов на основе листьев мирта обыкновенного.

Члены комиссии:

Директор НОЦ «Фармация»,
д. фарм. н.

Т.К. Рязанова

Главный специалист НОЦ «Фармация»,
к. фарм. н.

А.Р. Мубинов

Главный специалист НОЦ «Фармация»

И.В. Качалкина

«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 Масловой Веры Дмитриевны «Фармакогностическое исследование листьев мирта обыкновенного (*Mirtus communis* 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., профессора 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 В.Д. Масловой, посвященного изучению химического состава, определению диагностических признаков и обоснованию подходов к стандартизации растительного сырья и экстракционных препаратов на основе листьев мирта обыкновенного в учебном процессе при проведении практических занятий со студентами, а также в научно-исследовательской работе в области изучения лекарственного растительного сырья, содержащего терпены, флавоноиды, флороглюцины.


Внедренные результаты способствуют решению вопроса стандартизации растительного сырья и экстракционных препаратов на основе листьев мирта обыкновенного.

Члены комиссии:

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


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

Директор Института фармации, д.фарм.н., профессор


А.В. Воронин

443099, г. Самара, ул. Чапаевская, 89

«Утверждаю»
Директор Средне-Волжского филиала
ФГБНУ "Всероссийский научно-
исследовательский институт
лекарственных и ароматических растений"



В.Н. Сетин

2025 г.

АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы Маслова Вера Дмитриевна «Фармакогностическое исследование листьев мирта обыкновенного (*Myrtus communis* L.)» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки) в Средне-Волжском филиале ФГБНУ "Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений"

Комиссия в составе сотрудников Средне-Волжского филиала ФГБНУ "Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений": научного сотрудника Акутиной С.Ю., научного сотрудника Загорянского А.Н., подтверждает использование материалов диссертационного исследования, посвященного изучению химического состава, а также разработке методик качественного и количественного анализа сырья листьев мирта обыкновенного, определению диагностических признаков и обоснованию подходов к стандартизации нового вида лекарственного растительного сырья – «Мирта обыкновенного листа» и лекарственного растительного препарата – «Мирта обыкновенного листьев настойка» в работе института.

Разработанные методики качественного и количественного анализа апробированы в процессе работы института. Внедренные результаты способствуют повышению объективности стандартизации сырья и лекарственных препаратов на основе мирта обыкновенного.

Члены комиссии:

Научный сотрудник Средне-Волжского филиала
ФГБНУ "Всероссийский
научно-исследовательский институт лекарственных
и ароматических растений"

С.Ю. Акутина

Научный сотрудник Средне-Волжского филиала
ФГБНУ "Всероссийский
научно-исследовательский институт лекарственных
и ароматических растений"

А.Н. Загорянский



«Утверждаю»

Начальник ГБУЗ

Центр контроля качества
лекарственных средств
Самарской области

О.А. Обходская

2025 г.

АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы Масловой Веры Дмитриевны «Фармакогностическое исследование листьев мирта обыкновенного (*Myrtus communis* L.)» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки) в ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области»

Комиссия в составе сотрудников ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области»: начальника Центра Обходской О.А., провизора-аналитика Мироновой Е.Е., провизора-аналитика Шарымовой О.А., подтверждает использование материалов исследования В.Д. Масловой, посвященного изучению химического состава и разработке подходов к стандартизации растительного сырья и экстракционных препаратов на основе листьев мирта обыкновенного 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 листьев мирта обыкновенного, а также методики определения суммы флавоноидов в листьях мирта обыкновенного воспроизводимы и удобны в работе.

Внедрение результатов диссертационного исследования В.Д. Масловой будет способствовать решению вопроса стандартизации листьев мирта обыкновенного (*Myrtus communis* L.), а также растительных препаратов на основе данного вида сырья.

Члены комиссии:

Начальник ГБУЗ «Центр контроля качества
лекарственных средств Самарской области»

О.А. Обходская

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

Е.Е. Миронова

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

О.А. Шарымова

«Утверждаю»

Генеральный директор
ЗАО «Самаралектравы»

Н.Д. ЛУЖНОВ

2024 г.



АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы Масловой Веры Дмитриевны «Фармакогностическое исследование листьев мирта обыкновенного (*Myrtus communis* L.)» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки) 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 В.Д. Масловой, посвященного исследованию химического состава, а также разработке методик анализа сырья мирта обыкновенного, определению диагностических признаков и обоснованию подходов к стандартизации нового вида лекарственного растительного сырья - «Мирта обыкновенного листа» в работе предприятия.

Разработанные методики качественного и количественного анализа сырья мирта обыкновенного апробированы в процессе работы предприятия. Внедренные результаты способствуют повышению объективности стандартизации сырья и лекарственных препаратов на основе листьев мирта обыкновенного.

Члены комиссии:

Заведующий производством ЗАО «Самаралектравы»

А.Н. ЗАГОРЯНСКИЙ

Главный инженер ЗАО «Самаралектравы»

А.В. НИКИТЕНКОВ

446554, Самарская обл., Сергиевский район, с. Антоновка, ул. Полевая, д. 19А

Приложение №11. Патент на изобретение Российской Федерации
«Методика количественного определения суммы флавоноидов
в листьях мирта обыкновенного»

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2847875

МЕТОДИКА КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
СУММЫ ФЛАВОНОИДОВ В ЛИСТЯХ МИРТА
ОБЫКНОВЕННОГО

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Самарский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU)*

Авторы: *Маслова Вера Дмитриевна (RU), Куркин Владимир Александрович (RU)*

Заявка № 2024125690

Приоритет изобретения **02 сентября 2024 г.**
Дата государственной регистрации
в Государственном реестре изобретений
Российской Федерации **15 октября 2025 г.**
Срок действия исключительного права
на изобретение истекает **02 сентября 2044 г.**

*Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности*

ДОКУМЕНТ ПОДПИСАН ЭЛЕКТРОННОЙ ПОДПИСЬЮ
Сертификат 00a570e4f7ad38d531b4b8818e75f29506
Владелец **Зубов Юрий Сергеевич**
Действителен с 04.07.2025 по 28.11.2026

Ю.С. Зубов



Приложение №12. Проект фармакопейной статьи на новый вид ЛРС

«Мирта обыкновенного листа»

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 РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

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

**Мирта обыкновенного
листа**

ФС.2.5.
Вводится впервые

Myrtus communis folia

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

Собранные в фазу цветения высушенные листья культивируемого многолетнего кустарникового растения мирта обыкновенного – *Myrtus communis* Linn., сем. Миртовые – *Myrtaceae*.

ИЗДАНИЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ

ПЕРЕПЕЧАТКА ВОСПРЕЩЕНА

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Собранные в июне-июле высушенные листья культивируемого вечнозеленого кустарника мирта обыкновенного – *Myrtus communis* Linn., сем. Миртовых – *Myrtaceae*.

Содержит:

цельное сырье, измельченное сырье:

- не менее 0,8% эфирного масла в пересчете на сухое сырье;
- не менее 1,5% суммы флавоноидов в пересчете на мирицитрин в сухом сырье;
- не менее 0,9% мирицитрина в сухом сырье.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

Внешние признаки. Сырье рассматривается невооруженным глазом с помощью лупы (10×) или под микроскопом (8×, 16×, 20×, 40×) в соответствии с ОФС «Методы анализа лекарственного растительного сырья, лекарственных средств растительного происхождения».

Цельное сырье. Цельные или частично измельченные листья до 3–5 см. Листья 2–5 см, простые, супротивные, без прилистников, короткочерешковые с яйцевидной или, реже, ланцетной листовой пластинкой.

Листовая пластинка цельнокрайняя, заостренная к верхушке, у основания широко клиновидная или почти округлая, плотная и ароматная. Поверхность листьев мирта кожистая, голая, блестящая, покрытая многочисленными железками. Сверху листья окрашены темно-зеленым цветом, снизу светлее. Жилкование листовой пластинки перистое, сверху малозаметное, снизу с выпуклыми жилками. Черешок листа мирта обыкновенного очень короткий, от 2 до 3 мм в длину. Размеры листьев варьируют от 2 до 5 см в длину и от 1 до 2,5 см в ширину

Измельченное сырье. Кусочки листьев, проходящие сквозь сито с отверстиями 2 мм.

Органолептические свойства лекарственного растительного сырья: цвет от темно- до светло-зеленого, запах ароматный пряный, при растирании усиливается до выраженного камфорно-смолистого.

Органолептические свойства водного извлечения из листьев мирта обыкновенного: янтарно-коньячная прозрачная с зеленоватыми бликами жидкость с камфорно-смолистым запахом. Вкус горько-пряный вяжущий.

Микроскопические признаки. Определение проводят в соответствии с ОФС «Микроскопический и микрохимический анализ лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения».

Цельное, измельченное сырье. Листья дорзовентральные. С поверхности они покрыты эпидермой. Клетки верхней и нижней эпидермы отличаются размером и степенью извилистости клеточной стенки (рис. 1G, 1H). Клетки верхней эпидермы мельче по размеру и в длину достигают – 33 мкм, а в ширину – 23 мкм (рис. 1G). Их клеточные стенки менее извилистые и заметно утолщены чем у клеток нижней эпидермы. Клетки нижней эпидермы имеют волнисто-извилистые клеточные стенки. В длину достигают достигают 31 – мкм, а в ширину 12 – мкм (рис. 1H).

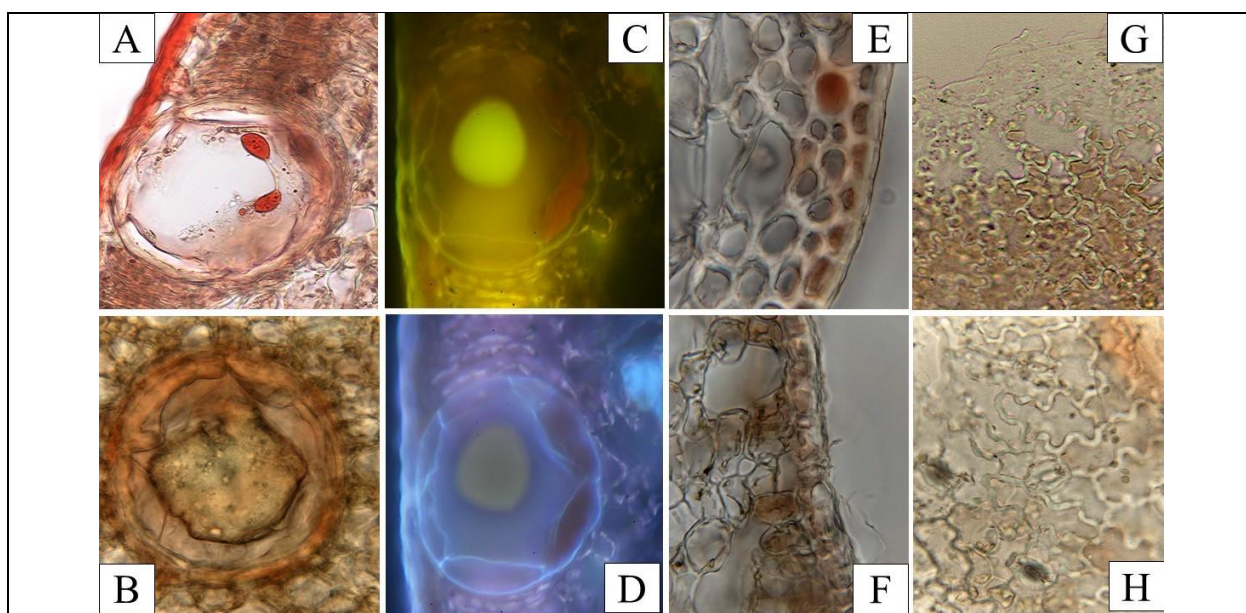


Рисунок 1 – Выделительные ткани эпидермиса на поперечном и продольном сечениях листовой пластинки мирта обыкновенного
А – схизогенное вместилище на поперечном сечении листовой пластинки. Окраска раствором Судана III (400×); В – капля эфирного масла в схизогенном вместилище. Вид

с поверхности на просвете эпидермы (1000×); С – люминесценция капли эфирного масла схизогенногоместилища в диапазоне возбуждения 420-500 нм (400×); D – люминесценция капли эфирного масла схизогенногоместилища в диапазоне возбуждения 330-400 нм (400×); E – эпидермальные клетки верхней стороны листовой пластинки на поперечном сечении(400×); F – эпидермальные клетки нижней стороны листовой пластинки на поперечном сечении (400×) ; G – Клетки верхней эпидермы. Вид с поверхности (400×); H – клетки нижней эпидермы. Вид с поверхности (400×).

Лист гипостоматический, на верхнем эпидермисе полностью отсутствуют устьичные аппараты (рис. 1G). С нижней стороны листа эпидермальные клетки крупнее и имеют волнистые очертания (рис. 1H). Устьица аномоцитного типа обильно расположены только на абаксиальной стороне по основной эпидерме, реже по жилкам. Замыкающие клетки устьичного аппарата мелкие. В длину достигают – 21 мкм, а в ширину – 14 мкм (рис. 1H). Они имеют колпачковидную форму, диагностируемую по характерным торцевым утолщениям клеточной стенки.

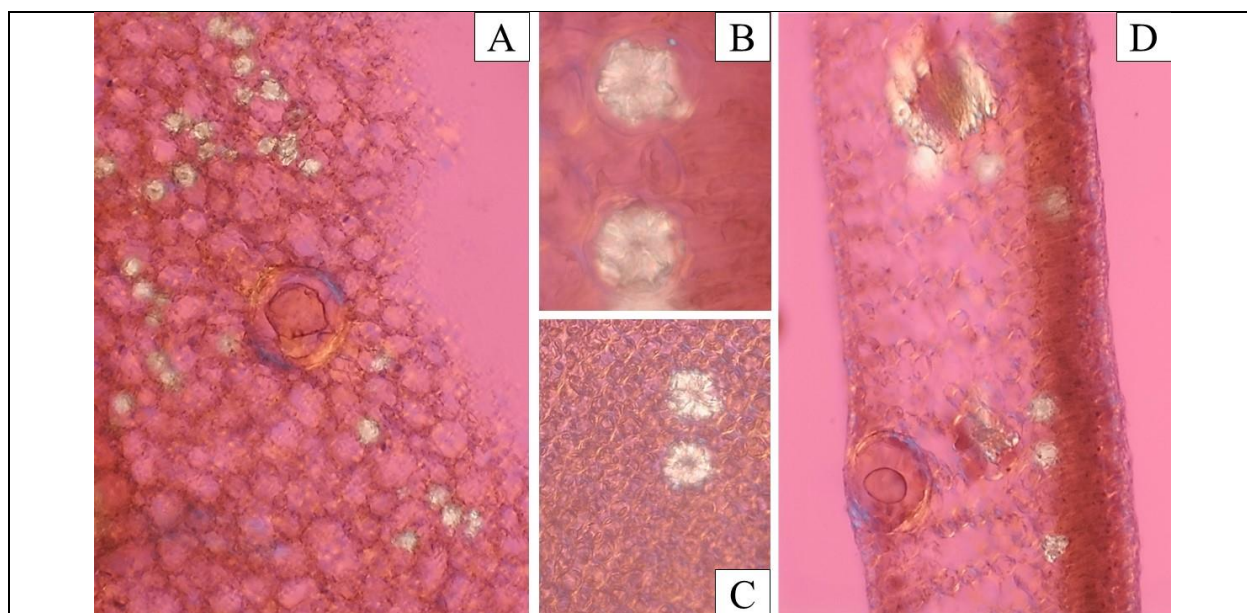
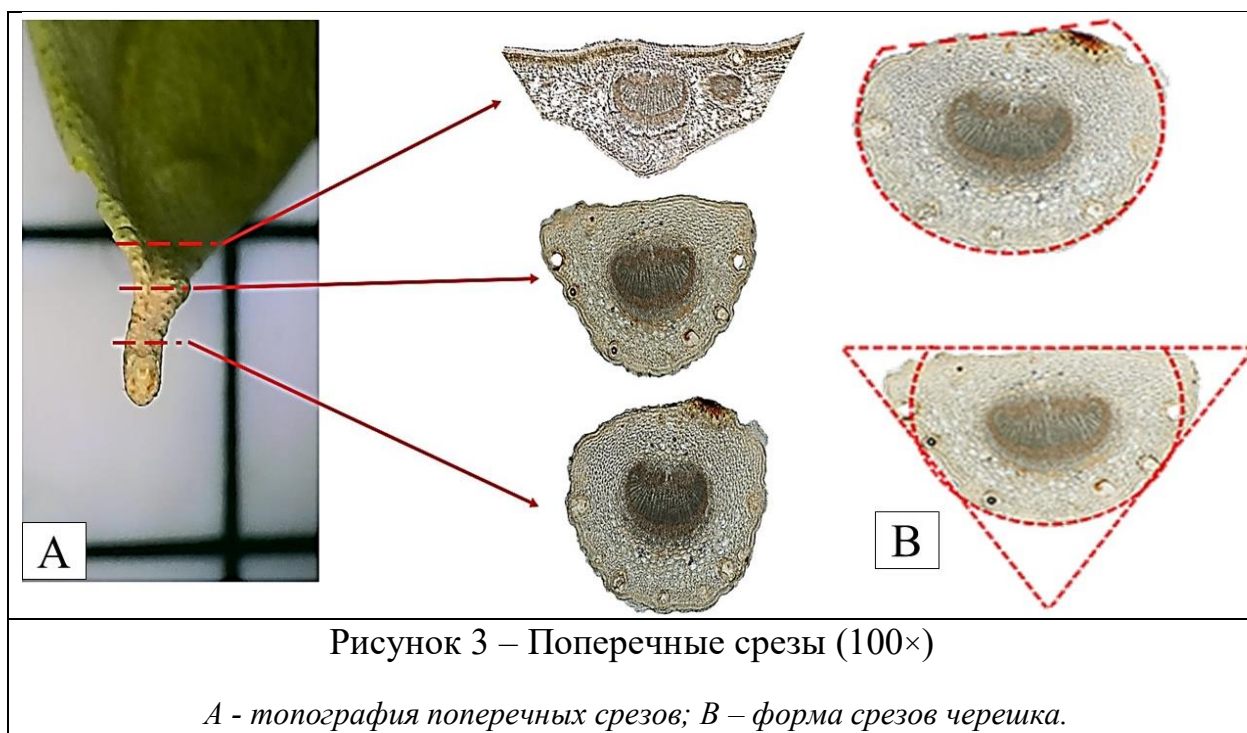


Рисунок 2 – Поляризационная микроскопия листовой пластинки
A – друзы оксалата кальция в поперечном сечении, вид сверху (100×); B – друзы оксалата кальция в поперечном сечении (400×); C – друзы оксалата кальция в поперечном сечении, вид сверху (400×); D – поперечное сечение, вид сверху (100×).

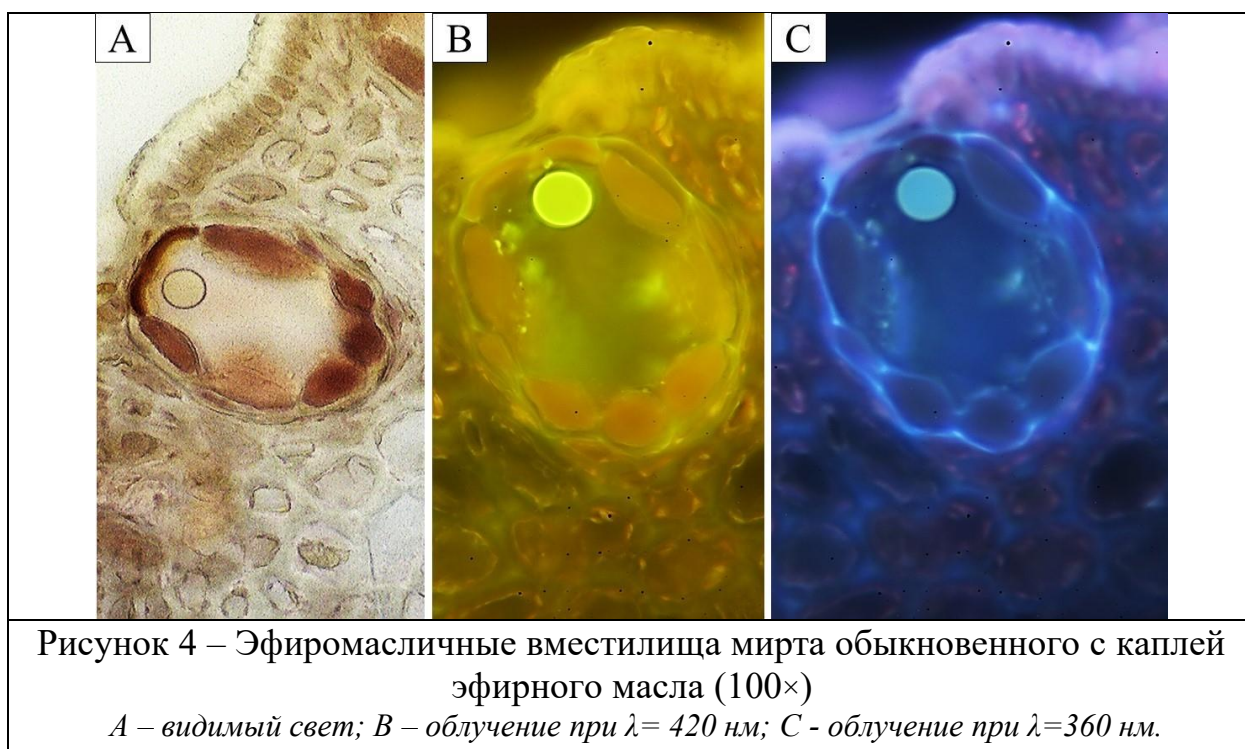
Должны выявляться особенности диагностических морфолого-анатомических признаков:местилища с эфирным маслом, друзы и призматические кристаллы оксалата кальция (рис. 1A-1F, 2A).

При контрастировании в поляризационном микроскопе с λ -светофильтром под эпидермисом должны диагностироваться кристаллические включения (рис. 2А). С верхней стороны кристаллические включения могут встречаться реже (рис. 2В). С нижней стороны обильное скопление друз должно отмечаться в основном вдоль жилок листовой пластинки (рис. 2С, 2D). Поверхность листовой пластинки голая. Кутикула имеет слабо заметную продольную морщинистость.

Петиолярная анатомия. Черешок быстро переходит в листовую пластинку без каких-либо изменений в структуре. Характерные особенности центральной жилки представлены степенью развитости склеренхимных волокон в области флоэмной части пучка (рис. 3А). В базальной части поперечное сечение пучка имеет округлую форму, приплюснутую с адаксиальной стороны. В медиальной части листового черешка мирта обыкновенного поперечный срез имеет широкоугольную форму с округлыми ребрами; причем с абаксиальной стороны черешка ребра значительно шире, чем боковые ребра (рис. 3В).

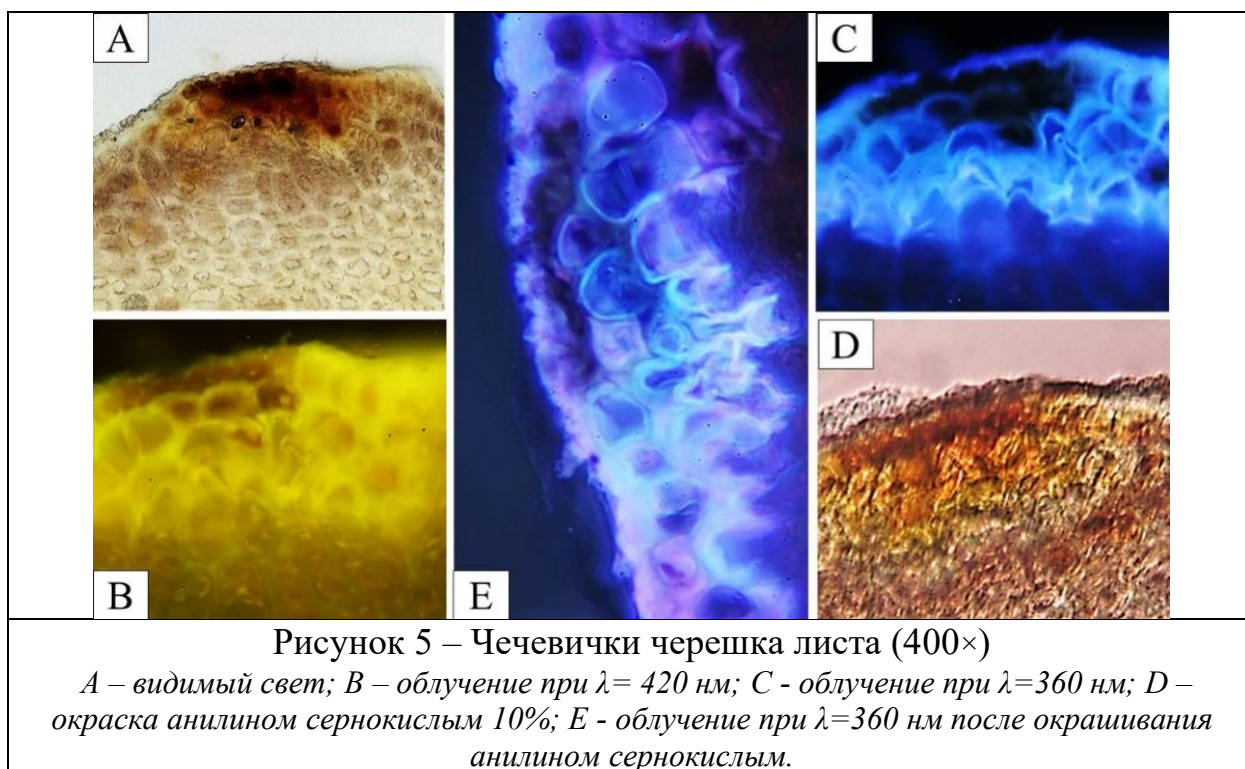


По периметру черешка листовой пластинки, на поперечном срезе, наблюдаются схизогенные вместилища или смолянистые ходы, которые имеют по периферии округлые клетки эпителия. Анализ тканей при дневном свете должен показывать протопласты клеток эпителия темно-бурого цвета (рис. 4А), но при облучении светом с длиной волны (λ) 360 нм клеточные стенки эпителиальных клеток должны иметь голубое свечение. Протопласты клеток не светятся. В эфиромасличных вместилищах эфирное масло ярко светится сине-голубой флуоресценцией (рис. 4С). Облучение черешков светом с $\lambda=420$ нм должно давать ярко-желтое свечение клеточных стенок складчатой паренхимы и ярко-оранжевое свечение протопластов этих клеток (рис. 4В).



При микроскопировании черешков должны выявляться чечевички на поверхности покровной ткани (пробковые пятна). Чечевички мелкие, при рассмотрении в спектре дневного света должна наблюдаться темно-бурая окраска вершины чечевичек (рис. 5А). Облучение должно показывать значительную степень свечения тканей чечевички, как в ультрафиолетовом свете с $\lambda=360$ нм (рис. 5В), так и при облучении светом с $\lambda=420$ нм (рис. 5С). После окрашивания препарата раствором 10% сернокислого анилина должно

наблюдается ярко-желтое окрашивание оболочек сосудов ксилемы, а при облучении ультрафиолетовым светом - ярко-зеленое (рис. 5D, 5E).



Свечение кутикулы эпидермиса на поверхности черешка и листа одинаковое: ярко-желтого цвета при $\lambda=420$ нм (рис. 6.1B, 6.2H) и белоголубого цвета при $\lambda=360$ нм (рис. 6.1C, 6.2I). В ребрах черешков есть каленхимные клетки до четырех рядов (рис. 6.1A). Каленхима пигментированная, бурого цвета. При этом при облучении исследуемой области светом $\lambda=420$ нм должно наблюдаться слабое светло-желтое свечение (рис. 6.1B), а при облучении светом $\lambda=360$ нм каленхима свечения не наблюдается (рис. 6.1C). В структуре ребер имеется крупноклеточная паренхима мезофилла со смятой неравномерной формой клеток, у которых имеется синяя люминесценция клеточных стенок (рис. 6.1C). Клетки живые, протопласт светится светло-желтым цветом (рис. 6.3K).

Одревесневшие клеточные стенки сосудов ксилемы (рис. 6D) и клеточные стенки склеренхимных волокон (рис. 6G) светятся ярко-голубым цветом. В живых клетках флоэмы (рис. 6G) и сердцевинных лучей ксилемы (рис. 6D) наблюдается протопласт, который имеет особенности сине-зеленого

свечения. Сине-зеленая цветность люминесценции должна наблюдаться в протопластах клеток сердцевинных лучей ксилемы (рис. 6D), мягкого луба флоэмы (рис. 6H) и в клетках мезофилла черешка (рис. 6.1C), которые должны коррелировать с яркой сине-зеленой цветностью свечения при $\lambda=360$ нм флороглюцинов, например, эувималья-1 (рис. 6.1E) и флавоноидов, например, мирицитрина (рис. 6.1F). На поперечном сечении листа наблюдаются столбчатый (рис. 6.2I) и губчатый (рис. 6.2H) мезофилл. При рассмотрении с поверхности на эпидермисе при $\lambda=360$ нм обнаруживаются устьичные аппараты с неоднородным ярко-голубым свечением клеточных стенок за счет утолщенности в месте смыкания устьичной щели и частичной лигнификации замыкающих клеток устьиц (рис. 6.3K).

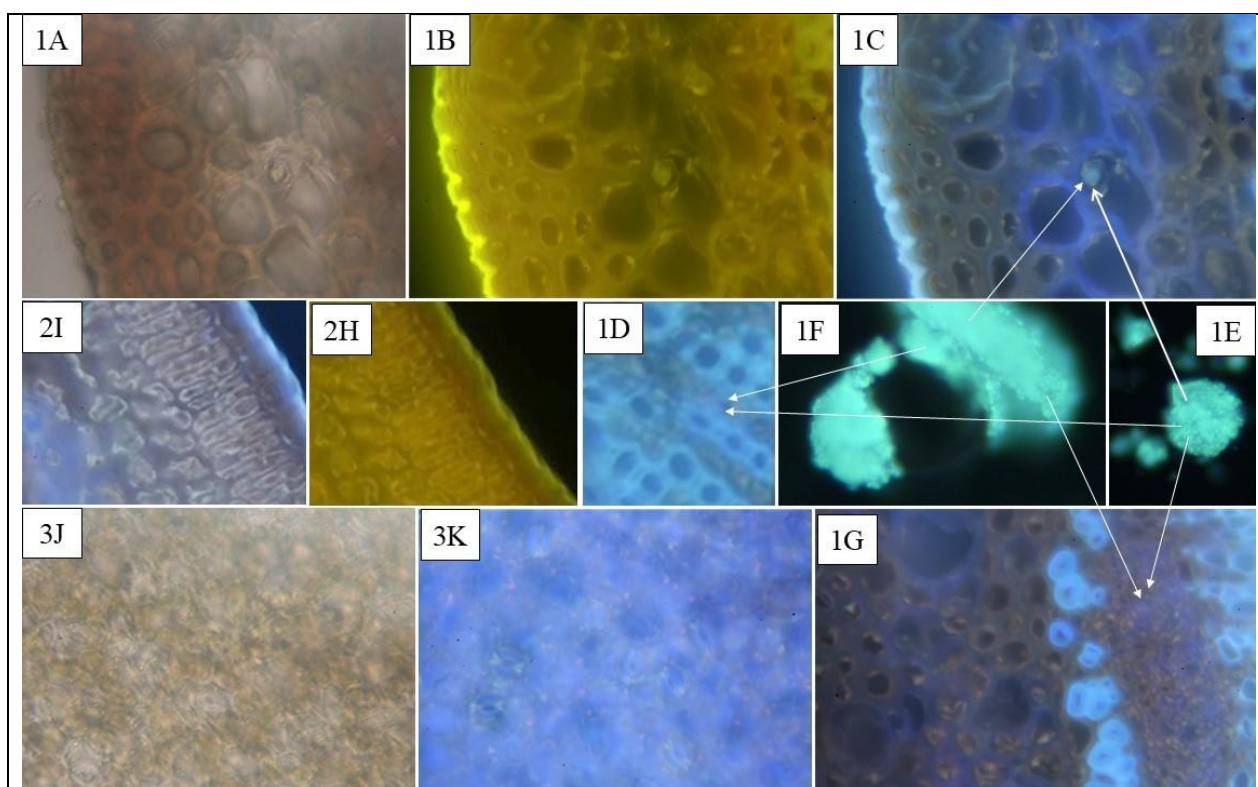


Рисунок 6 – Люминесценция биологически активных соединений и их локализация в тканях листьев мирта обыкновенного (400×)

1 – поперечное сечение черешка (*A* – видимый свет, *B* – облучение при $\lambda=420$ нм, *C* – облучение при $\lambda=360$ нм); *D* – ксилема, облучение при $\lambda=360$ нм; *E* – эуглобали (эувималья-1) суспензия, облучение при $\lambda=360$ нм на темном фоне; *F* – мирицитрин суспензия, облучение при $\lambda=360$ нм; *G* – флоэма, облучение при $\lambda=360$ нм; *2* – поперечное сечение листа (*H* – облучение при $\lambda=420$ нм; *I* – облучение при $\lambda=360$ нм); *3* – поверхность эпидермиса (*J* – видимый свет; *K* – облучение при $\lambda=360$ нм).

В центре черешка листа хорошо заметно люминесцентное свечение элементов ксилемы пучка проводящих тканей. Сосуды ксилемы расположены равномерно, имеют неравномерно утолщенные клеточные стенки. При облучении этого препарата ксилемы УФ-светом с $\lambda=360$ нм клеточные стенки ткани ярко светятся голубым цветом (рис. 6.1D). При облучении $\lambda=360$ нм флавоноида мирицитрина (рис. 6.1F), и производного флороглюцина эувималия-1(рис. 6.1D) должно наблюдаться яркое сине-зеленое свечение, обнаруживаемое в тканях листовой пластинки и черешка. При облучении ксилемы светом с $\lambda=420$ нм наблюдается слабое желто-зеленое свечение (рис. 6.1E) и оранжевое свечение элементов флоэмной ткани пучка (рис. 6.1G).

Порошок. При микроскопировании порошка размером менее 0,25 см (пыль) (рис. 7A) основным диагностическим признаком является большое количество эфиромасличных вместилищ с эфирным маслом либо капли эфирного масла (рис. 7A, 7F-7H).

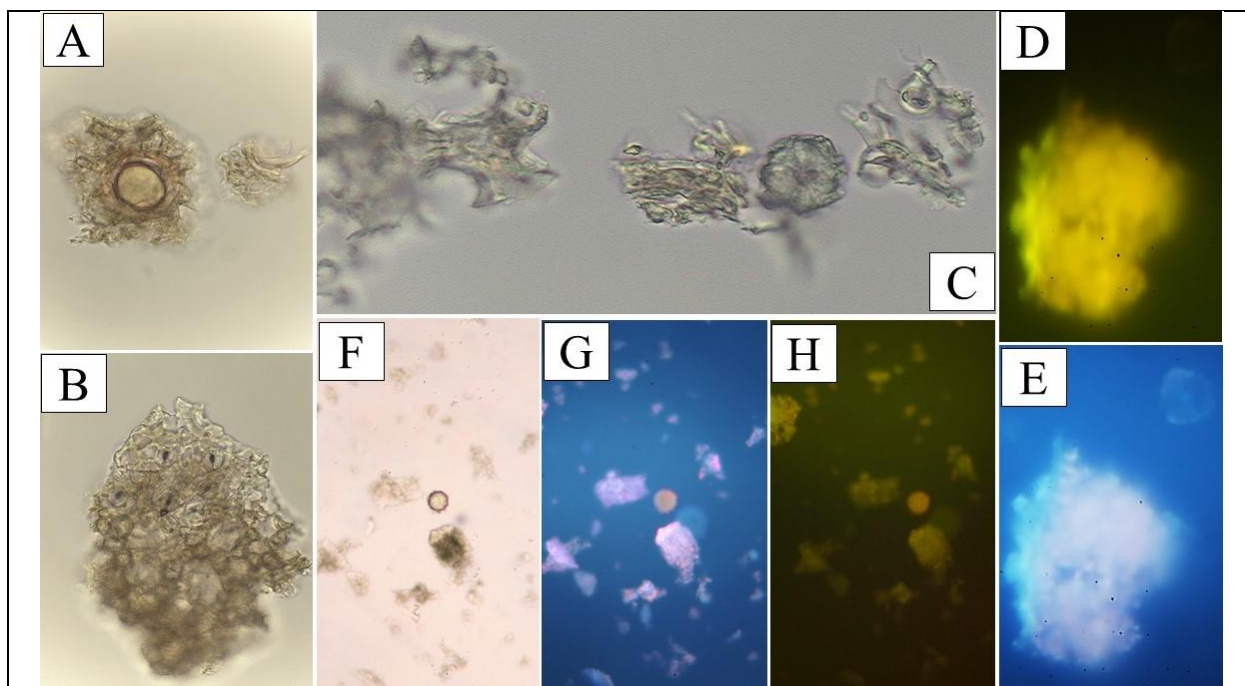


Рисунок 7 – Диагностические признаки микроскопии порошка (размер менее 0,25 см) листьев мирта обыкновенного (400×)

A – фрагмент эфиромасличного вместилища с каплей эфирного масла; B – фрагмент эпидермиса; C – друзы; D – фрагмент мезофилла и друзы оксалата кальция при облучении $\lambda=360$ нм; E – фрагмент мезофилла и друзы оксалата кальция при облучении $\lambda=420$ нм; F – капля эфирного масла при дневном свете; G – капля эфирного масла при облучении $\lambda=360$ нм; H – капля эфирного масла при облучении $\lambda=420$ нм.

Также в порошке листьев встречаются такие диагностические признаки, как фрагменты эпидермиса с особыми эпидермальными особенностями (извилистая форма клеток и их размер) (рис. 7B), устьица аномоцитного типа и элементы устьичного аппарата (рис. 7B), друзы оксалата кальция (рис. 7C–7E), элементы мезофилла (рис. 7D, 7E).

Определение основных групп биологически активных веществ

1. *Качественные реакции.* К 1 мл полученного извлечения, приготовленного как указано в разделе «Количественное определение», прибавляют 2 мл 3% спиртового раствора алюминия (III) хлорида, через 20–30 минут появляется желтое окрашивание (флавоноиды).

К 1 мл полученного извлечения, приготовленного как указано в разделе «Количественное определение», прибавляют 2 мл 1% спиртового раствора ванилина в концентрированной хлористоводородной кислоте, сразу появляется малиново-красное окрашивание (катехины, производные флороглюцина).

2. *УФ-спектроскопия.* Испытуемый раствор, приготовленный как указано в разделе «Количественное определение», имеет максимум поглощения в длинноволновой области УФ-спектра в условиях прямой (в присутствии 3% спиртового раствора $AlCl_3$) и дифференциальной спектрофотометрии при длине волны 418 ± 2 нм (рис. 8 и 9).

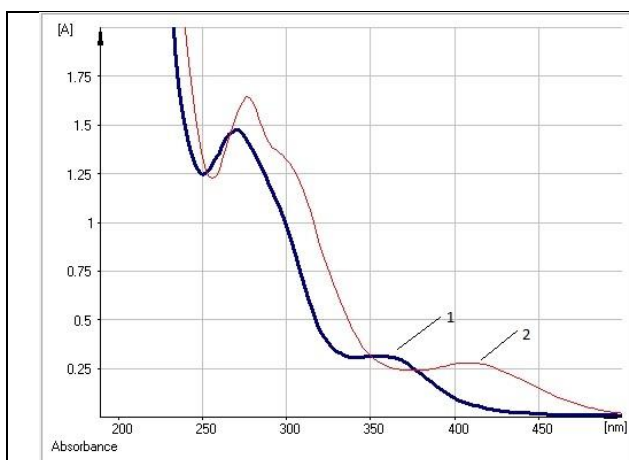


Рисунок 8 – Электронные спектры растворов 80% водно-спиртового извлечения из листьев мирта обыкновенного

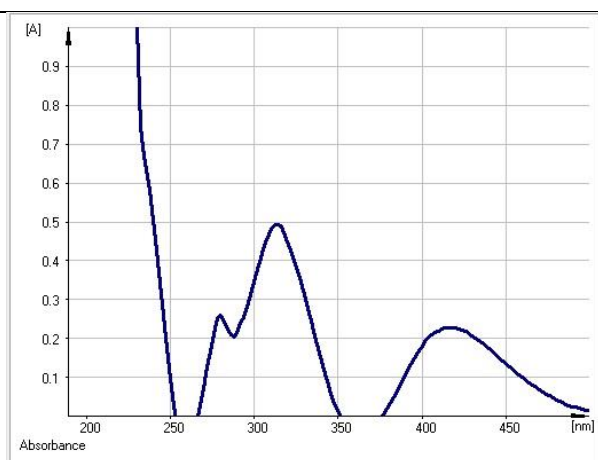


Рисунок 9 – Электронный спектр раствора 80% водно-спиртового извлечения из листьев мирта обыкновенного (дифференциальный вариант)

<i>1 – раствор извлечения; 2 – раствор извлечения с добавлением раствора $AlCl_3$</i>	
--	--

3. *Тонкослойная хроматография.* Определение проводят методом ТСХ (ОФС «тонкослойная хроматография»)

Пластинка. ТСХ пластинка со слоем силикагеля.

Подвижная фаза (ПФ). Хлороформ : этанол : вода (25:18:2).

Реактив для детектирования. Диазобензолсульфокислоты (ДСК) раствор щелочной, алюминия хлорид (III) раствор спиртовой 3%.

Вещества-свидетели. Стандартные образцы (СО) мирицитрина и миртокоммулона D.

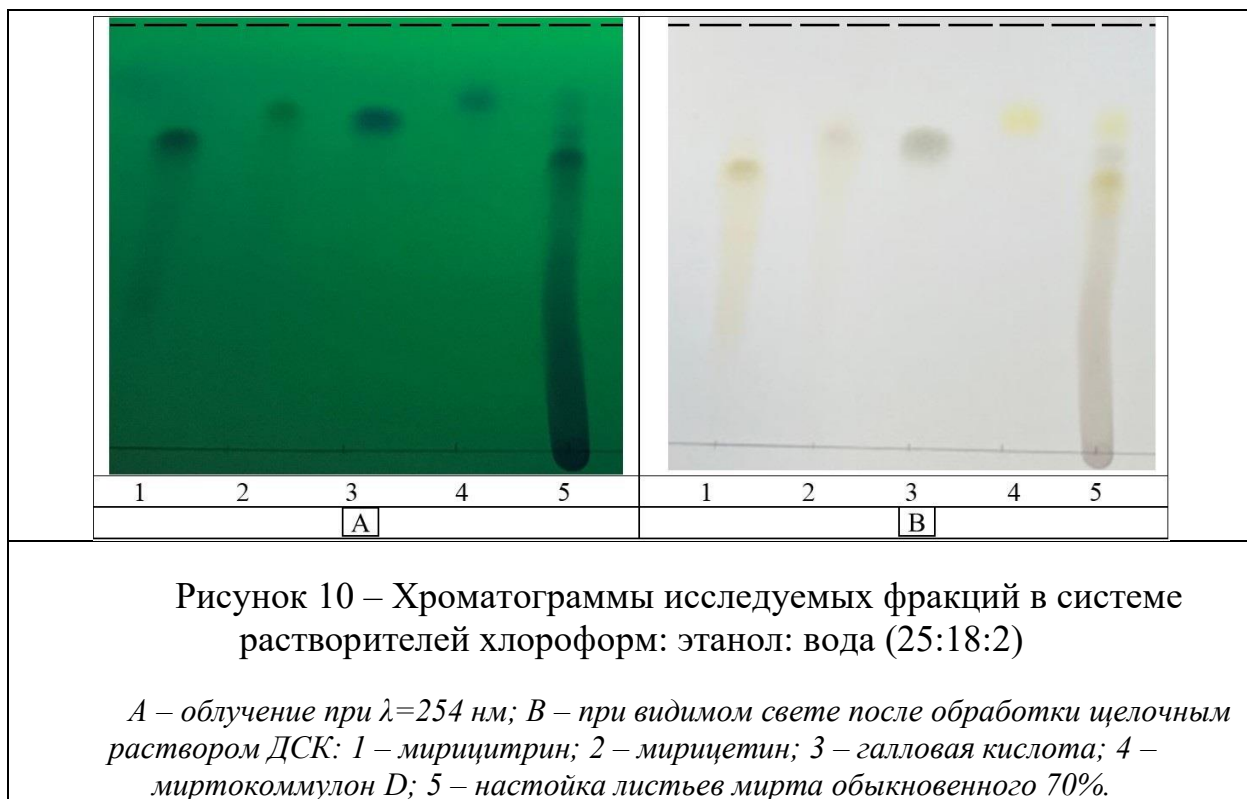
Испытуемый раствор. Настойка из листьев мирта обыкновенного на 70% этиловом спирте.

На линию старта пластинки полосами длиной 10 мм и шириной не более 2 мм наносят 5 мкл испытуемого раствора и по 5 мкл растворов веществ-свидетелей спиртовых 3%.

Пластинку с нанесенными пробами сушат на воздухе, помещают в камеру, выложенную изнутри фильтровальной бумагой, предварительно насыщенную в течение не менее 24 ч ПФ 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 сразу просматривают при дневном свете и при длине волны 254 нм. Далее пластинку обрабатывают раствором $AlCl_3$ и просматривают в лампе при $\lambda=365$ нм. Затем ТСХ-пластинку обрабатывают раствором ДСК и просматривают при дневном видимом свете.

Результат. Хроматографические зоны адсорбции для веществ-свидетелей должны определяться: R_f мирицитрина ($R_f=0,40$) и R_f миртокоммулона D ($R_f=0,68$) (рис. 10).



Основные параметры определения и аналитические эффекты метода ТСХ при использовании физических и химических методов детекции испытуемого раствора представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Способы детектирования испытуемого раствора при ТСХ

Способ детекции	Описание и аналитический эффект
Детекция в видимом свете (до и после проявления раствором ДСК)	До проявления: Зоны адсорбции желтого цвета на уровне R_f мирицитрина и R_f миртокоммулона D. После проявления: - зона адсорбции, соответствующая R_f мирицитрина – желто-оранжевого цвета; - зона адсорбции, соответствующая миртокоммулона D – светло-желтого цвета.
Детекция при $\lambda=254$ нм	Зоны адсорбции ярко-зеленого и бело-голубого цвета

<p>Детекция при $\lambda=365$ нм (до и после проявления раствором $AlCl_3$)</p>	<p><u>До проявления:</u> - зона адсорбции, соответствующая <i>СО мирицитрина</i> – темно-коричневого цвета; - зона адсорбции, соответствующая <i>СО миртокоммулона D</i> – желтого цвета.</p> <p><u>После проявления:</u> - зона адсорбции, соответствующая <i>СО мирицитрина</i> – свечение ярко-желтого цвета; - зона адсорбции, соответствующая <i>СО миртокоммулона D</i> – свечение зелено-синего цвета.</p>
--	---

ИСПЫТАНИЯ

Влажность. Не более 14,0% (ОФС «Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения»).

Зола общая. Не более 5,0% (ОФС «Зола общая»).

Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. Не более 2,0% (ОФС «Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте»).

Измельченность сырья. Определение проводят в соответствии с ОФС «Определение подлинности, измельченности и содержания примесей в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Измельченное сырье: частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 5 мм, не более 5%; частиц, проходящих сквозь сито с отверстием размером 0,5 мм, не более 5%.

Допустимые примеси. Определение проводят в соответствии с ОФС «Определение подлинности, измельченности и содержания примесей в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Сырье, изменившее окраску (потемневшее и почерневшее). Не более 3%.

Другие части растения (веточек, цветков, плодов). Не более 2%.

Органическая примесь. Не более 0,5%.

Минеральная примесь. Не более 0,5%.

Тяжелые металлы и мышьяк. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Радионуклиды. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания радионуклидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Зараженность вредителями запасов. В соответствии с требованиями ОФС «Определение степени зараженности лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов вредителями запасов».

Остаточные количества пестицидов. В соответствии с ОФС «Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Микробиологическая чистота. В соответствии с ОФС «Микробиологическая чистота».

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

1. *Эфирное масло.* Определение содержания эфирного масла проводят в соответствии с ОФС «Определение содержания эфирного масла в лекарственном растительном сырье и лекарственных средствах растительного происхождения» (метод 1 или 2, из 10,0 г сырья, измельченного до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм, время перегонки 1ч.).

2. *Сумма флавоноидов.* Определение проводят методом спектрофотометрии (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

Приготовление раствора алюминия хлорида спиртового 3%. 3 г алюминия хлорида помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в спирте 96% и доводят объем раствора тем же спиртом до метки. Срок годности раствора 3 мес.

Приготовление раствора СО мирицитрина. Около 0,004 г (точная навеска) мирицитрина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл,

растворяют в 15 мл 96 % этилового спирта при нагревании на водяной бане. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем раствора 96 % этиловым спиртом до метки (раствор А мирицитрина). 5 мл раствора А мирицитрина помещают в мерную колбу на 25 мл, прибавляют 2 мл 3% спиртового раствора алюминия хлорида и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 96% (испытуемый раствор Б мирицитрина). Измеряют оптическую плотность раствора Б на спектрофотометре при длине волны 418 нм. В качестве раствора сравнения используют раствор, который готовят следующим образом: 5 мл раствора А мирицитрина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 96% (раствор сравнения Б мирицитрина).

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

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

где D – оптическая плотность испытуемого раствора;

D_0 – оптическая плотность раствора РСО мирицитрина;

m – масса сырья, г;

m_0 – масса СО мирицитрина, г;

W – потеря в массе при высушивании сырья, %.

Допускается вычислять содержание суммы флавоноидов в пересчете на мирицитрин с использованием удельного показателя поглощения мирицитрина при длине волны 418 нм, который равен 363:

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

где D – оптическая плотность испытуемого раствора;

m – масса сырья, г;

363 – удельный показатель поглощения мирицитрина при длине волны 418 нм, ($E_{1\text{ см}}^{1\%}$);

W – потеря в массе при высушивании сырья, %.

3. *Содержание мирицитрина.* 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 80% 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 («Красная лента»). Перед хроматографическим анализом дополнительно фильтруют через мембранный фильтр Milipore (0,22 мкм).

Приготовление стандартного раствора мирицитрина. Точную навеску (0,004 г) предварительно высушенного мирицитрина (содержание основного вещества $\geq 98\%$) переносили в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяли в 96% этиловом спирте и доводили объем раствора до метки тем же растворителем.

В жидкостной хроматограф «Милихром-6» (НПАО «Научприбор») с УФ-детектором вводят 4 мкл полученного раствора. Хроматографируют в условиях обращенно-фазовой хроматографии в градиентном режиме на стальной колонке «Separon SGX C18», 2 мм x 80 мм; 5 мкм; элюентная система: ацетонитрил (ПФА) – 1% раствор уксусной кислоты (ПФБ), скорость элюирования – 100 мкл/мин, объем пробы испытуемого раствора – 4 мкл. Профиль градиента представлен в таблице 2.

Таблица 2 – Профиль градиента хроматографического разделения

Время, мин	ПФА, %	ПФБ, %
0-7,5	30	70
7,5-15	60	40
15-25	80	20

Проводят УФ-детектирование при длине волны 360 нм, диапазон чувствительности 0,5. Проводят не менее 3 параллельных определений.

Параллельно 4 мкл раствора мирицитрина вводят в хроматограф и хроматографируют, как описано выше. Определяют время удерживания и идентифицируют пик мирицитрина на хроматограмме испытуемого раствора. Вычисляют площадь пика мирицитрина на хроматограмме и рассчитывают среднюю площадь пика по 3 параллельным определениям.

Содержание мирицитрина в листьях мирта обыкновенного в пересчете на абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$x = \frac{S * m_0 * V * V_2 * 100 * 100}{S_0 * m * V_0 * V_1 * (100 - W)}$$

где S – среднее значение площади пика мирицитрина испытуемого раствора, вычисленное из хроматограмм раствора испытуемого образца;

S_0 – среднее значение площади пика раствора мирицитрина, вычисленное из хроматограмм раствора мирицитрина;

V – объем извлечения, мл;

V_2 – объем вводимой пробы раствора испытуемого образца, мкл;

V_0 – объем раствора мирицитрина, мл;

V_1 – объем вводимой пробы раствора мирицитрина, мкл;

m – масса сырья, г;

m_0 – масса мирицитрина г;

W – потеря в массе при высушивании сырья, %.

Примечания

1. Содержание эфирного масла определяют в сырье, предназначенном для получения водных, водно-спиртовых и спиртовых извлечений.

2. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на мирицитрин определяют в сырье, предназначенном для получения водно-спиртовых и спиртовых извлечений.

3. Содержание мирицитрина определяют в сырье, предназначенном для получения водно-спиртовых и спиртовых извлечений.

Упаковка, маркировка и транспортирование. В соответствии с требованиями ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» (ГФ РФ XV издания).

Хранение. В соответствии с требованиями ОФС «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

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



И.Л. Давыдкин
«10» 11 2025

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

В.А. Куркин

«10» 11 2025

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

В.Д. Маслова

«10» 11 2025