

© Яцюк В.Я., Чалый Г.А., Сошникова О.В. 2006

УДК 615.322

Я 949

## **БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА ТРАВЫ КРАПИВЫ ДВУДОМНОЙ**

*В.Я. Яцюк, Г.А. Чалый, О.В. Сошникова*

Курский государственный медицинский университет

**Установлен качественный состав и количественное содержание биологически активных веществ травы крапивы двудомной. Впервые изучен аминокислотный состав, моносахаридный набор ПСК и ПВ, выявлено присутствие 4 макро- и 18 микроэлементов, определено их количественное содержание. Изучение содержания состава травы крапивы двудомной методом ВЭЖХ показало, присутствие в сырье помимо ранее описанных галловой, кофейной кислот, рутина и кверцетина также гиперозида, лютеолин – 7 – гликозида, 3,4-изорамнетина дигликозида, хлорогеновой кислоты. Впервые определено суммарное содержание водорастворимых полисахаридов, пектиновых веществ, дубильных веществ, пигментов (каротиноидов и хлорофиллов), витамина К1, тритерпеновых соединений и сапонинов тритерпенового типа.**

Официальным видом сырья является лист крапивы двудомной. С целью рационального использования сырья и оптимизации заготовки, целесообразно изучить возможность использования травы крапивы двудомной. В литературе приводятся сведения о том, что трава крапивы двудомной содержит некоторые одно- и двухосновные карбоновые кислоты (муравьиную, масляную, щавелевую, янтарную, фумаровую), некоторые оксикислоты (молочную, лимонную, хинную, галловую). Содержание суммы органических кислот в пересчете на малат составляет  $18,2 \pm 0,39\%$  [10]. В траве присутствует аминокислоты, азотсодержащие соединения, эфирное масло в том числе метилгептенон, ацетофенон; стероиды – ситостерин; витамины: В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, С, Е, К, РР, каротин; дубильные вещества, флавоноиды; кумарины, а так же порфирины – протопорфирин, копропорфирин I; тритерпеновые вещества и лигнаны [12, 6]. Кавторадзе Н.Ш. с соавт. (2001) [6] из надземной части крапивы двудомной выделили кофейную кислоту, рутин,

кверцетин, гиперин, изокверцетин. Однако, в доступной нам научной литературе не приводятся в полном объеме сведения о качественном составе и количественном соотношении в данном виде сырья веществ первичного и вторичного синтеза. В связи с этим детальное исследование основных классов биологически активных веществ травы крапивы двудомной является актуальным, что и послужило целью наших исследований.

### **Материал и методы**

Для анализа использовали воздушно-сухое сырье заготовленное в 2003-2004 гг. на территории Курской области.

Наличие аминокислот определяли в водном извлечении нингидриновой пробой, по появлению красно-фиолетового окрашивания, усиливающегося при охлаждении [8,13].

Хроматографическое определение аминокислот в очищенном водном извлечении проводили на пластинках «Silufol» в системах растворителей н-бутанол-уксусная кислота ледяная – во-

да (4:1:2), (12:3:5), н-бутанол-диэтиловый эфир-уксусная кислота ледяная – вода (9:6:3:1), н-бутанол-пиридин-вода (6:4:3). Хроматографические пластинки обрабатывали 0,2% раствором нингидрина в ацетоне, нагревали в сушильном шкафу при температуре 105°C в течение 2-3 минут. Аминокислоты в видимом свете визуализировались в виде розово-пурпурных пятен.

Количественное содержание аминокислот в траве крапивы двудомной проводили на аминокислотном анализаторе ААА-339 (ЧССР), в стандартных условиях, используемых обычно для разделения белковых гидролизатов [14]. В качестве внутреннего стабилизатора использовали смесь, состоящую из 12 аминокислот. Количественную оценку осуществляли автоматически площади пиков удержания идентифицированных аминокислот.

Часть исследований была посвящена исследованию элементного состава крапивы двудомной. Элементный состав определяли при помощи спектрального анализа. Анализируемые образцы высушивали, измельчали и подвергали озолению в муфельной печи при температуре 450°C–500°C. Полученную золу анализировали при помощи спектрографа PegS (Германия). Фотометрирование спектрограмм проводили на спектропроекторе ДФС-8-1. Для определения отдельных элементов использовали атлас спектральных линий и спектров стандартов. [1].

В траве крапивы двудомной качественными реакциями и хроматографически было установлено присутствие моно- и полисахаридов.

Определение содержания водорастворимого полисахаридного комплекса (ВПСК), в траве крапивы двудомной проводили гравиметрическим методом, основанном на осаждении полисахаридов из водного извлечения 96% этанолом, с последующим взвешиванием су-

хого остатка [5,11]. Пектиновые вещества (ПВ) извлекали из шрота, оставшегося после получения ВПСК, смесью 0,5% растворов щавелевой кислоты и оксалата аммония в соотношении 1:1, в течение 2,5 часов. Осаждали пятикратным объемом 96% этилового спирта. Идентификацию и количественное определение моносахаридов, входящих в состав ВПСК, осуществляли после 8 ч гидролиза 2н серной кислотой, ПВ, после 24 ч кислотного гидролиза. Идентификацию моносахаридов проводили методом хроматографии на бумаге и в тонком слое сорбента. Нейтральные моносахара хроматографировали в системах растворителей этилацетат-пиридин-вода (12:5:4), н-бутанол – уксусная кислота – вода (3:1:1), н-бутанол-пиридин-вода (6:4:3), кислые в системе этилацетат-уксусная кислота-муравьиная кислота-вода (8:3:1:4). После разделения сахаров хроматограммы обрабатывали анилинфталатным реактивом, сахара проявлялись в виде пятен красно-коричневой окраски.

Качественный состав органических кислот в траве крапивы двудомной определяли методом тонкослойной хроматографии в системе растворителей (спирт этиловый 95% – аммиак концентрированный (16:4,5)). Органические кислоты на хроматограммах обнаруживали с использованием достоверных образцов после обработки раствором бромкризолового зеленого по желтым пятнам на зеленом фоне.

Количественное определение суммы свободных органических кислот и аскорбиновой кислоты проводили титрометрическими методами по ГФ XI [4]. Количественное определение дубильных веществ приводили с использованием фармакопейной методики (ГФХI) – перманганатометрии [3].

Фенольный состав травы крапивы двудомной изучен методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

(ВЭЖХ). Количественное содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин осуществляли спектрофотометрическим методом [2].

Пигменты качественно определяли в ацетоновом извлечении с помощью тонкослойной, мономерной хроматографии восходящим способом на пластинках «Силуфол», в различных системах растворителей: хлороформ – этанол (9:1), бензол – этанол (8:2). Пятна на хроматограммах обнаруживали по флюоресценции в УФ-свете и визуально. Количественное определение осуществляли методом спектрофотометрии позволяющим определять каротиноиды и хлорофиллы при их совместном присутствии. [9].

Наличие стероидных соединений устанавливали качественными реакциями и хроматографически, методом ТСХ в системах растворителей: петролейный эфир – бензол – этанол (60:10:1); гексан – ацетон (8:2); хлороформ – этанол (95:5). В качестве проявителей исполь-

зовали раствор треххлористой сурьмы, реактив Шталя. Тритерпеновые соединения хроматографировали в системе растворителей бензол-ацетон (8:1); хлороформ – ацетон (4:1); бутанол-ацетон-вода (4:5:1), с последующим проявлением 20% спиртовым раствором фосфорновольфрамовой кислоты. Количественное содержание тритерпеновых соединений проводили гравиметрическим методом [11]. Содержание тритерпеновых сапонинов в траве крапивы двудомной определяли фотоколориметрически. Содержание витамина К<sub>1</sub> устанавливали хроматоспектрофотометрическим методом предложенным Кавтадзе Н.Ш. [7].

#### Результаты и их обсуждение

Результаты исследований количественного состава травы крапивы двудомной показали наличие в ней различных групп биологически активных веществ, приведенных в таблице 1.

Таблица 1

Содержание биологически активных веществ в траве крапивы двудомной

Название БАВ	Содержание БАВ
Аминокислоты, %	1,83±0,04
Полисахариды (водорастворимые), %	6,80±0,17
Пектиновые вещества, %	16,69±0,61
Органические кислоты, %	8,30±0,17
Аскорбиновая кислота, %	0,14±0,002
Дубильные вещества, %	3,22±0,05
Флавоноиды, %	1,55±0,05
Хлорофиллы, мг/100г	211,30±6,89
Каротиноиды, мг/100г	108,00±1,09
Тритерпеновые соединения, %	0,97±0,04
Тритерпеновые сапонины, %	0,09±0,003
Витамин К <sub>1</sub> , мг%	218,63±8,46

Качественный и количественный аминокислотный анализ травы крапивы двудомной показал, что содержание таких аминокислот как треонин и серин

составляет 43% от суммарного содержание аминокислот, аланина 10%, лизина 14%, гистидина 10%, аспарагиновой кислоты 5%, таблица 2.

Таблица 2

Содержание свободных и связанных аминокислот в траве крапивы двудомной,  
мг% (мкг/мг)

Аминокислота	свободные	связанные	Аминокислота	свободные	связанные
Аспарагиновая	1,754	35,865	Лейцин*	1,456	3,157
Треонин*+серин	16,526	28,635	Фенилаланин*	2,420	2,828
Глутаминовая	0,190	16,415	Лизин*	5,518	4,175
Глицин	0,246	3,245	Гистидин*	3,980	19,335
Аланин	3,770	13,370	Аргинин*	1,194	23,856
Валин*	1,009	1,293	Тирозин	0,411	1,913
Сумма			38,474	154,09	

Примечание: \* – незаменимая аминокислота

В результате проведенных исследований в траве крапивы двудомной обнаружены макро- (К – 1,0%, Са – 1,0%, Р – 0,3%, Na – 0,01%) и микро-элементы (Mg – 0,5%, Fe – 0,1%, В – 0,003%, Al – 0,05%, Si – 0,5%, Cu – 0,001%, Zn – 0,003%, Pb – 0,0006%, Ag –  $0,1 \cdot 10^{-4}\%$ , Mo –  $0,1 \cdot 10^{-3}\%$ , Ba – 0,02%, Sr – 0,03%, Mn – 0,06%, Ni –  $0,1 \cdot 10^{-3}\%$ , Ti – 0,02%, V –  $0,1 \cdot 10^{-3}\%$ , Cr –  $0,6 \cdot 10^{-3}\%$ , Zr –  $0,5 \cdot 10^{-3}\%$ ).

Методом тонкослойной хроматографии в системе растворителей изопропанол-вода (4:1), установлено присутствие альдоз (глюкозы, галактозы, рамнозы, сахарозы), кетозы в траве крапивы двудомной не обнаружены. В составе ПСК травы крапивы двудомной обнаружили 5 веществ нейтрального характера: арабинозу, рамнозу, глюкозу, галактозу и фруктозу, а также вещество кислого характера – глюкуроновую кислоту. ПВ содержат 5 веществ нейтрального характера: глюкозу, арабинозу, рамнозу, фруктозу, мальтозу и вещество кислого характера – глюкуроновую кислоту. Установлено присутствие 6 органических кислот, пять из которых идентифицировано с достоверными образцами как щавелевая, аскорбиновая, молочная, янтарная, яблочная; выявлено 4 вещества тритерпеновой и 6 стероидной природы; б-, в- и г-каротиноидов, дубильных веществ конденсированного

типа.

Фенольный состав травы крапивы двудомной представлен 42 веществами, из них идентифицированы галловая (0,0034%), кофейная (0,0057%), хлорогеновая кислоты (0,3092%), гиперозид (0,0092%), кверцетин (0,0069), лютеолина-7-гликозид (0,082%) рутин (0,3678%), 3,4,-изорамнетина дигликозид (0,1540%), эскулетин (0,7977%).

### Заключение

Установлен качественный состав и количественное содержание биологически активных веществ травы крапивы двудомной. Впервые изучен аминокислотный состав, моносахаридный набор ПСК и ПВ, выявлено присутствие 4 макро- и 18 микроэлементов, определено их количественное содержание. Изучение фенольного состава травы крапивы двудомной методом ВЭЖХ показало, присутствие в сырье помимо ранее описанных галловой, кофейной кислот, рутина и кверцетина также гиперозида, лютеолина-7-гликозида, 3,4-изорамнетина дигликозида, хлорогеновой кислоты, эскулетина. Впервые определено суммарное содержание водорастворимых полисахаридов, пектиновых веществ, дубильных веществ, пигментов (каротиноидов и хлорофиллов), витамина К<sub>1</sub>, тритерпеновых соединений и сапонинов тритерпенового типа.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Атлас спектральных линий для кварцевого спектрографа: [Текст]/ С.А. Калинин [и др.] – М., 1959, – 53с
2. Барковский В.Ф. Дифференциальный спектрофотометрический анализ [Текст] / В.Ф. Барковский, В.И. Ганопольский // М., 1989. – 245с.
3. Государственная фармакопея СССР: Вып .1. Общие методы анализа. / МЗ СССР[Текст]. – 11-е изд., доп.– М.: Медицина, 1987.– 336с.
4. Государственная фармакопея СССР: Вып .2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье/ МЗ СССР[Текст]. – 11-е изд., доп.– М.: Медицина, 1989.– 400с.
5. Дорогойченков, В.Н. Количественное определение восстанавливающих моносахаридов в водорастворимом полисахаридном комплексе из цветков липы сердцевидной [Текст] / В.Н.Дорогойченков, В.Н. Чушенко // Фармация. – 1988.– т.37, № 9. – С. 39–40.
6. Кавторадзе Н.Ш. Химические компоненты *Urtica dioica*, произрастающей в Грузии: [Текст] / Н.Ш. Кавторадзе, М.Д. Алания, Дж.Н. Анели // Химия природных соединений.- 2001. – №3. – С.244.
7. Кавтарадзе, Н.Ш. Хроматоспектрофотометрический метод определения витамина К<sub>1</sub> в листьях *Urtica dioica* L.: [Текст] / Н.Ш. Кавтарадзе, М.Д. Алания // Растительные ресурсы., 2002.– Т.38, вып.4. – С. 118–120
8. Лебедев, А.В. Аминокислотный состав зверобоя четырехгранного [Текст]/ А.В. Лебедев // Современные проблемы фармакогнозии и фитотерапии: межвуз. сб. науч. трудов, посвящ. 15-летию каф. фармакогнозии ЯГМА. – Ярославль: ЯГТУ, 1999. – С. 21–22.
9. Литвиненко В.И. Количественное определение каротиноидов и хлорофиллов хладонового экстракта валерианы лекарственной [Текст]/ В.И. Литвиненко, С.В. Талашова, Т.П. Попова //Состояние и перспективы современного лекарствоведения. – Ярославль, 1997. – С.65–66
10. Николаева Н.А. Влияние препаратов крапивы на морфолого-функциональное состояние слизистой желудка: [Текст] / // автореф дисс... канд. биол. наук. Н.А. Николаева – Улан-Удэ, 1997. – 20с.
11. Растительные лекарственные средства: [Текст] / под. ред. проф. Н.П. Максютинской,- Киев.; Здоров'я. – 1985. – 280с
12. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Magnoliaceae– Limoniaceae [Текст]/ [редкол.: П.Д. Соколов (гл.ред.) и др.] .– Л.: Наука, 1984– 460 с.
13. Яцюк, В.Я. Исследование аминокислотного состава растений рода крапива [Текст] / В.Я. Яцюк [и др.] / /Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сборник научных труд./ (ПГФА). – Пятигорск, 2005. – вып. 60.- С.75-76.
14. Benson Y.R. Some recent advances in amino acid sequence analysis: [Text]/ Y.R. Benson // Instrumentation in amino acid sequence analysis. – London; New-York; San-Francisco, 1975. – P. 1-40

### BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES OF THE HERB OF *URTICA DIOICA*

V.Ya.Yatziuk, G.A.Chaly, O.V.Soshnikova

We have established the qualitative composition and the quantitative content of biologically active substances of the herb of *Urtica dioica*.

Aminoacid composition, monosaccharide set of PSK and PV, the presence of 4 macro- and 18 microelements and their quantitative content have been studied for the first time. Investigating the phenol composition of the herb of *Urtica dioica* by HPLC has revealed in the raw material alongside with the previously described gallic, caffeic acids, rutin and quercetin the presence of hyperoside, luteolin-7-glycoside, 3,4-isorhamnetin diglycoside, chlorogenic acid, aesculetin. We were the first to determine the total content of water-soluble polysaccharides, pectin substances, astringent substances, pigments (carotenoids and chlorophylls), vitamin K<sub>1</sub>, triterpene compounds and saponins of the triterpene type.