## А.И. Попов, Д.Н. Шпанько, Е.А. Черкасова

## НЕКОТОРЫЕ ТОВАРОВЕДЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИСЫРЬЯ КРАПИВЫ ДВУДОМНОЙ И КРАПИВЫ КОНОПЛЕВИДНОЙ

На основании сравнительного описания макро- и микродиагностических особенностей, проведения фито-химического и элементного анализа установлены товароведческие характеристики для сырья крапивы коноплевидной, позволяющие разработать стандартные критерии, определяющие его подлинность и качество.

Крапива двудомная, крапива коноплевидная, растительное сырье, диагностические признаки, фитохимия, элементный состав, стандартизация, подлинность, качество.

Виды рода крапивы являются ценными пищевыми и лекарственными растениями, а также имеют важное хозяйственное значение. Листья этих растений, собранные во время цветения, используют в виде настоев при различных заболеваниях органов пищеварения, дыхательных путей, мочеполовой системы и кожных покровов в качестве кровостанавливающего, противовоспалительного, бактериостатического, регенерирующего, иммуномодулирующего и противоопухолевого средства. В медицине зарубежных стран в качестве сырья крапивы используют траву [1-3].

В официнальной медицине широко используется крапива двудомная (Urtica dioica L.), заросли которой на территории Кемеровской области ограничены [4]. Для расширения сырьевой базы путем введения к использованию ботанически близкого и родственного вида, в качестве объекта исследования была выбрана крапива коноплевидная (Urtica cannabina L.) — наиболее широко распространенное, образующие промышленно значимые заросли и обладающее большой биомассой, растение [5]. Поэтому представляет исследовательский и научный интерес провести сравнительный анализ надземной части крапивы коноплевидной с официальным видом сырья.

Для введения крапивы коноплевидной в научную медицину и пищевую практику необходимо проведение подробнейших всесторонних изучений и исследований, первым этапом которых является описание морфолого-анатомического строения используемых в качестве сырья органов. Работы в этом направлении явились первоочередными при выполнении ряда задач для осуществления исследовательских целей настоящей работы.

Как известно, крапива двудомная представляет собой многолетнее травянистое растение с длинным тонким ползучим корневищем. Стебель четырехгранный, прямостоячий, бороздчатый. Листья простые, черешковые, супротивно расположенные, яйцевидно-продолговатой формы с заостренной верхушкой, сердцевидным основанием и крупнозубчатым краем. Прилистники свободные, ланцетовидные. Соцветия ветвистые, прерывистые, висячие колосья в пазухах верхних листьев. Плод – эллиптический орешек.

Крапива коноплевидная - травянистый многолетник с толстым ползучим корневищем. Стебель прямой, крепкий, не ветвистый, с многочисленными жгучими волосками, 70-180 см высотой. Листья 3-15 см длиной и 4-13 см шириной, крупные простые длинночерешковые, в очертании яйцевидные пальчато-рассеченные на 3-5 перисто-надрезанных сегмента, с обеих сторон с простыми волосками, жгучими снизу. Прилистники в длину 0,5-1,7 см, пленчатые, ланцетовидные, свободные. Цветки однополые, однодомные, мужские – в пучках по 4 в пазухах верхних листьев, женские – в густых пучках в пазухах верхних листьев. Околоцветник женских цветков сросшийся. Плод – плоский, яйцевидный орешек 2-3 мм длиной, заключенный в разросшиеся внутренние доли околоцветника. Цветет с мая до поздней осени.

В процессе изучения морфологического строения крапивы коноплевидной было установлено, что оно в целом характерно для видов семейства крапивные. Вместе с тем выявлены особенности строения, имеющие систематическое значение: листья пальчато-рассеченные на 3-5 длинных, перисто-надрезанных сегментов. Основные морфологические отличия крапивы двудомной и крапивы коноплевидной также заключаются в форме и строении листьев.

Анатомические исследования проводили на фиксированном материале крапивы двудомной и крапивы коноплевидной, собранном в различные фазы вегетации во время ресурсоведческих экспедиций на территории Кемеровской области. Свежесобранное сырье (листья) фиксировали в смеси вода — глицерин - спирт этиловый 96 % (в соотношении 1:1:1). Готовили поверхностные препараты, изучение которых проводили на микроскопе марки «Биолам». Рисунки выполняли с помощью рисовального аппарата РА-4М [4, 5].

Проведенный микроскопический анализ позволил выявить следующие диагностические признаки в анатомическом строении листьев крапивы коноплевидной: эпидермальные клетки извилистые, имеют значительное количество точечных цистолитов с хорошо различимой ножкой, погруженных в палисадную ткань. Характерно наличие нескольких видов волосков по всей поверхности эпидермиса листа: жгучие волоски, расположенные на высоком многоклеточном постаменте, представляют собой клетки продолговатой формы, расширенные у основания и суженным кверху кончиком в виде легко обламывающегося шаровидного вздутия; простые одноклеточные волоски остроконечной

формы с расширенным основанием; ретортовидные волоски с бородавчатой кутикулой; головчатые волоски с короткой одноклеточной ножкой и 4-клеточной головкой. Эпидермис нижней стороны листовой пластинки отличается наличием большого количества устьиц аномоцитного типа и сильно выступающими жилками, выступ которых образован проводящим пучком и паренхимой. Волоски нижней и верхней эпидермы идентичны. В мезофиле листа встречаются остроконечные друзы оксалата кальция, ориентированные чаще вдоль жилок.

При сравнительном анализе анатомических картин листьев двух исследуемых видов крапивы выделены характерные диагностические признаки анатомического строения листьев крапивы коноплевидной, позволяющие отличить их от листьев крапивы двудомной. Таковыми являются наличие ретортовидных волосков с бородавчатой кутикулой, а также большое количество цистолитов точечной структуры.

Подводя итоги первого этапа исследований, учитывая описание морфолого-анатомического строения листьев изучаемых видов крапив в сравнительном аспекте, следует заключить, что диагностическими критериями подлинности листьев крапивы коноплевидной являются форма и строение листьев, а также наличие ретортовидных волосков с бородавчатой кутикулой и большое количество цистолитов точечной структуры.

Дальнейший товароведческий анализ и фитохимические исследования проводили согласно общепринятым и фармакопейным методикам [4, 6-8].

Известно, что основными действующими веществами листьев крапивы двудомной являются витамины, а также флавоноиды, оксикоричные и фенолкарбоновые кислоты, кумарины и другие вещества фенольной природы [1, 8]. Близкое ботаническое и филогенетическое родство двух изучаемых видов растений позволяет обоснованно предположить наличие в листьях крапивы коноплевидной тех же групп биологически активных веществ.

Для идентификации витаминов в листьях крапивы коноплевидной использовали метод хроматографии в тонком слое сорбента на пластинках «Силуфол». При анализе были подобраны и применены системы растворителей различной полярности: бензол - эфир петролейный (1:1), этилацетат - кислота уксусная ледяная (80:20), гексан - спирт этиловый (9:1). Хроматограммы проявляли в УФ-свете после предварительной обработки их 0,04 %-ым раствором натрия 2,6-дихлорфенолиндофенолята. Извлечение витаминов из растительного материала осуществляли водой очищенной и гексаном.

Результаты экспериментов показали, что крапива коноплевидная содержит кислоты аскорбиновой до 0,4 %, каротиноидов до 42 мг%, а также витамин К, что является близким химическому составу крапивы двудомной и подтверждает выдвинутые ранее относительные гипотетические предположения.

Для качественного анализа веществ фенольной природы (кумарины, флавоноиды, оксикоричные и фенольные кислоты) использовали бумажную, тон-

кослойную и колоночную хроматографию. Идентификацию веществ осуществляли по величинам Rf, свечению пятен в УФ-свете до и после обработки хроматограмм 5%-ыми спиртовыми растворами натрия гидроксида, алюминия хлорида (III), парами аммиака, а также реакции азосочетания.

Количественное содержание флавоноидов (в пересчете на рутин), кумаринов (в пересчете на умбеллиферон), оксикоричных кислот (в пересчете на хлорогеновую кислоту) определяли спектрофотометрически.

Элементный состав растительного сырья определяли на базе нескольких аккредитованных независимых специализированных лабораторий с помощью отечественных спектрографов ИСП-30, ДФС-8-1, а также PegS-2 (Германия). Фотометрирование спектрограмм проводили на спектропроекторе ДСП-1, а определение элементов — с помощью атласа спектральных линий и спектров-стандартов квалификации «спектральные чистые», «Мегк» и «Исари».

Извлечения получали по методике исчерпывающей экстракции, где в качестве экстрагента использовали спирт этиловый различных концентраций (20, 40 и 70 %) и воду очищенную. Выбор оптимального экстрагента проводили путем анализа суммарных извлечений, полученных при использовании каждого из выбранных растворителей. Так, установлено, что наибольшее количество биологически активных веществ извлекается из растительного материала спиртом этиловым 70 %.

Параллельно при проведении данных исследований обращали внимание на зависимость полноты извлечения биологически активных веществ от размера частиц растительного сырья, подверженного экстракции. Так, наибольший выход действующих веществ и, как следствие, наилучшие и благоприятные условия для получения жидких вытяжек, содержащих максимум биологически активных соединений, достигается при использовании сильно измельченных листьев с размером частиц не более 1 мм.

Химическое изучение флавоноидов и фенолкарбоновых кислот проводили бумажнохроматографическим и спектрофотометрическим методом. Для этого извлечение из 5 г растительного сырья упаривали досуха, разбавляли спиртом этиловым и исследовали способом двумерной бумажной хроматографии с использованием бумаги Ленинградской фабрики № 2 им. Володарского марок С и М и систем растворителей: кислота уксусная 15 %, спирт бутиловый - кислота уксусная - вода (БУВ) (4:1:2). Проявителями служили пары аммиака, раствор алюминия хлорида 5 %, раствор железа хлорида 1 % [7, 8].

Обнаруженные при хроматографировании соединения идентифицировали по величине Rf и окраске пятен различными хромогенными реактивами в видимом и УФ-свете в сравнении со стандартными образцами. Для выяснения структуры флавоноидов использовали УФ-спектральный анализ с применением различных ионизирующих и комплексообразующих добавок. Такие реагенты, как

алюминия хлорид, натрия этилат, натрия метилат, натрия ацетат, кислота борная, вызывают сдвиг максимума поглощения в соответствии с расположением функциональных групп в молекуле флавоноида [7, 8].

Природа сахара в гликозидах флавоноидов была установлена с помощью ферментативного и кислотного гидролиза и применения бумажной хроматографии. В результате проведения данного анализа методом двумерной бумажной хроматографии на бумаге «FN-7а» в системах кислота уксусная 15 %, бутанол - кислота уксусная - вода (4:1:5), в листьях выбранных растительных объектов установлено наличие 5-ти веществ флавоноидной природы, из которых идентифицированы кверцетина-3ругинозид, кемпферола-3-ругинозид, изорамнетин-3-рутинозид, а также фенолкарбоновые и оксикоричные кислоты. Среди распознанных флавоноидов (рутин, кверцетин, гиперозид) рутин является преобладающим, поскольку хроматографическое пятно, ему соответствующее, больше остальных по площади. Именно по этой причине количественное содержание флавоноидов проводили в пересчете на рутин, содержание которого в листьях обеих крапив составляло более 2 %.

Методом бумажной хроматографии на бумаге «FN-7а» в системе кислота уксусная 2 % в листьях крапивы двудомной и крапивы коноплевидной установлено наличие 5-ти оксикоричных кислот, идентифицированные как 3,4-диоксикоричная (кофейная), 3,5-диметокси-4-оксикоричная (синаповая), хлорогеновая, 3-метокси-4-оксикоричная (феруловая), транскоричная и одной фенолкарбоновой кислоты – 3,4,5-триоксибензойная (галловая). Хлорогеновая кислота является преобладающей, о чем свидетельствует самое большое по площади, насыщенное и яркое по окраске пятно на хроматограмме, а также совпадения максимумов ультрафиолетового спектра суммарного извлечения с максимумами спектров хлорогеновой кислоты. В этой связи количественное содержание оксикоричных кислот целесообразно проводить в пересчете на хлорогеновую кислоту, количество которой в растительном сырье составляет около 1,4 %.

Растительное сырье – листья - составляют 35 % от всей надземной части крапивы, тогда как стебли – 60 %, соцветия – 5 %. Поэтому для доказательства рациональности выбора сырья определяли количественное содержание биологически активных веществ в надземных органах крапивы двудомной/крапивы коноплевидной (в % на абсолютно сухое сырье): флавоноидов: стебли – 0.47/0.49; листья – 1.5/1.7; соцветия – 1.8/0.57; трава – 1.3/1.4; оксикоричных кислот: стебли – 0.51/0.49; листья – 1.5/1.3; соцветия – 2.1/0.8; трава – 1.4/1.1; кумаринов: стебли – 0.4/0.3; листья – 0.85/0.8; соцветия – 1.24/0.58; трава – 0.83/0.67.

Проведенный сравнительный анализ показал, что по качественному составу и количественному содержанию витаминов, флавоноидов, кумаринов и оксикоричных кислот крапива коноплевидная и крапива двудомная особых различий не имеют. В качестве растительного сырья целесообразно использовать всю надземную часть растений, так как помимо листьев, стебли и соцветия также накапливают значительные количества органических биологически активных веществ. Кроме того, такие научно обоснованные и рациональные подходы относительно выбора части растения в качестве сырья позволят решить некоторые проблемы ресурсосбережения.

Неорганические элементы наряду с органическими веществами также играют весомую роль в проявлении фармакологического эффекта. Поэтому представляет интерес провести сравнительную характеристику их накопления в листьях того и другого вида крапивы, установив их содержание по органам (листья, стебли, цветки) и в траве.

Проведению элементного анализа предшествовало измельчение и озоление растительного материала в муфельной печи. Полученные спектрограммы фотометрировали с помощью атласа спектральных линий и спектров-стандартов. Количественные результаты представлены в виде таблицы.

Таблица

Содержание химических элементов в листьях крапивы двудомной и надземной части крапивы коноплевидной (мкг/г абсолютно сухого сырья)

Элемент	Крапива двудомная, листья	Крапива коноплевидная			
		листья	трава	стебли	соцветия
Бор	$44 \pm 2$	$43 \pm 2$	$27 \pm 1$	$14 \pm 5$	$31 \pm 1,5$
Натрий	$78 \pm 3,5$	$100 \pm 5$	202±10	$52 \pm 2$	$147 \pm 7$
Магний	$3739 \pm 180$	7193±350	3445±170	$733 \pm 35$	$2685 \pm 130$
Фосфор	$6635 \pm 330$	$4261 \pm 211$	$4124 \pm 213$	$2879 \pm 142$	$6404 \pm 325$
Калий	$30157 \pm 1504$	$1402 \pm 709$	$19619 \pm 987$	$22885 \pm 1145$	$18342 \pm 917$
Кальций	$41619 \pm 2080$	$93294 \pm 4660$	$41945 \pm 2090$	$9529 \pm 470$	$25242 \pm 1261$
Марганец	$72 \pm 3$	27 ± 1	$30 \pm 1,5$	$15 \pm 0.5$	28 ± 1
Железо	$336 \pm 15$	$594 \pm 29$	$499 \pm 25$	$109 \pm 6$	$371 \pm 15$
Цинк	$57 \pm 3$	$12 \pm 0,5$	$16 \pm 0.5$	$9,3 \pm 0,5$	27 ± 1
Медь	$11 \pm 0.5$	$4,2 \pm 0,2$	$4.8 \pm 0.2$	$4.8 \pm 0.2$	$6,4 \pm 0,3$
Кремний	$4224 \pm 213$	$2975 \pm 142$	$2455 \pm 121$	$374 \pm 15$	$1924 \pm 96$
Мышьяк	$2,1 \pm 0,1$	$2,4 \pm 0,1$	$5,2 \pm 0,2$	$3,9 \pm 0,2$	$5,1 \pm 0,2$
Ртуть	$0,007 \pm 0,0003$	$0,003 \pm 0,00015$	< 0,0001	< 0,0001	$0,002 \pm 0,0001$
Свинец	$1,37 \pm 0,06$	$0.33 \pm 0.015$	$0,37 \pm 0,015$	$0.13 \pm 0.006$	$0,31 \pm 0,015$

Анализ результатов элементного состава листьев крапивы двудомной и крапивы коноплевидной в очередной раз подтверждает систематическую и генетическую близость этих двух видов. Кроме того, с целью дополнительного доказательства обоснованности и единственно верного решения относительно выбора рационального и оптимального вида растительного сырья было определено содержание элементов по отдельным органам надземной части крапивы коноплевидной. Так, выяснено, что рациональнее использовать в качестве растительного сырья траву, заготовленную в период цветения.

Содержание токсических химических элементов в растительном сырье обоих видов крапивы не превышает нормативов, разработанных для БАД на растительной основе.

Товароведческий анализ является главенствующим этапом при стандартизации и контроле качества Доказана возможность перспективной замены листьев крапивы двудомной травой крапивы коноплевидной, идентичной по качественному и количественному содержанию основных биологически активных веществ используемого в настоящее время официаль-

растительного сырья, поэтому на основании результатов проведенных анализов были определены числовые показатели для листьев крапивы коноплевидной: содержание влаги не более 10 %, золы общей – 11 %, золы, не растворимой в 10 % растворе хлористоводородной кислоты – 1,8 %, частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 7 мм – не более 10 %, частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 0,5 мм – не более 15 %, почерневших и выцветших частей сырья – не более 3 %, органической примеси – не более 2 %, минеральной примеси – не более 2 %, экстрактивных веществ – не менее 20 %.

Таким образом, с помощью использования описанных выше методов исследования определены основные параметры подлинности и числовые показатели, характеризующие качество нового вида растительного сырья – травы крапивы коноплевидной.

ного вида растительного сырья, затрагивая тем самым проблемную область рационального использования природных ресурсов дикорастущих лекарственных растений.

## Список литературы

- 1. Ратахина Л.В. Противоопухолевая активность препаратов Urtica dioica L. в эксперименте / Л.В. Ратахина, В.Г. Пашинский // Растительные ресурсы. Л.: Наука, 1990. С. 234-239.
- 2. Характеристика крапивы коноплевидной как биологически активного сырья / З.А. Пластина [и др.] // Тибетская медицина: состояние и перспективы исследований: сб. научных работ СО РАН. Улан-Удэ, 1994. С. 68-76.
  - 3. British Herbal Pharmacopoeia, 1996. P. 212.
- 4. Государственная фармакопея СССР: Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / M3 СССР. 11-е изд., доп. М.: Медицина, 1987. Вып. 1. С. 95-113, 267-275, 277-282, 285-286, 295-296. Вып. 2. С. 274-275.
  - 5. Флора Западной Сибири / П. Крылов [и др.]. Томск, 1930. С. 809-810.
- 6. Никитин А.А. Анатомический атлас полезных и некоторых ядовитых растений/ А.А. Никитин, И.А. Панкова. Л.: Наука, 1982. С. 3-49.
- 7. Максютина И.П. Методы выделения и исследования флавоноидных соединений / И.П. Максютина, В.И. Литвиненко // Фенольные соединения и их биологические функции. М.: Наука, 1968. С. 7-26.
- 8. Биологически активные вещества растительного происхождения/ Б.Н. Головин [и др.]. М.: Наука, 2002. 764 с.

ФГОУ ВПО «Кемеровский государственный сельскохозяйственный институт», 650056, Россия, г. Кемерово, ул. Марковцева, 5

Кемеровская медицинская академия, 650056, Россия, г. Кемерово, ул. Ворошилова, 22a

ГОУ ВПО «Кемеровский технологический институт пищевой промышленности», 650056, г. Кемерово, б-р Строителей, 47

## **SUMMARY**

A.I. Popov, D.N. Shpanko, E.A. Tcherkasova

Some standardization indicators of raw materials Urtica dioica L. and Urtica cannabina L.

On the basis of the description macro- and microdiagnostic features, realisations of the phytochemical and element analysis established characteristics for raw materials of Urtica dioica L. and Urtica cannabina L., allowing to develop the standard criteria advancing their authenticity and quality.

Urtica dioica L., Urtica cannabina L., vegetative raw materials, morphological and anatomo-diagnostic signs, phytochemistry, element structure, standardization, analysis, authenticity, quality.