ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ

БИООРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

КАЧЕСТВЕННОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И ФЛАВОНОИДОВ НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ РАСТЕНИЯ URTICA DIOICA L.

Раимова Камола Вахабджанова

мл. науч. сотр. лаборатории низкомолекулярных биологических активных соединений Института Биоорганической химии имени А. Садыкова АН РУз., Узбекистан, г. Ташкент
E-mail: k.raimova_81@mail.ru

Собирова Фотима Азамжоновна

базовый докторант Института Биоорганической химии имени А. Садыкова АН РУз., Узбекистан, г. Ташкент

Эсанов Рахмат Султон угли

базовый докторант Института Биоорганической химии имени А. Садыкова АН РУз., Узбекистан, г. Ташкент

Матчанов Алимжан Давлатбаевич

д-р хим. наук, ведущий научный сотрудник, лаборатории низкомолекулярных биологических активных соединений Института Биоорганической химии имени А. Садыкова АН РУз., Узбекистан, г. Ташкент

Абдуллажонова Нодира Ганиевна

д-р хим. наук, ведущий научный сотрудник экспериментально-технологической лаборатории Института Биоорганической химии имени А. Садыкова АН РУз., Узбекистан, г. Ташкент

Тошпулатов Фаррух Назимович

младший научный сотрудник, лаборатории низкомолекулярных биологических активных соединений Института Биоорганической химии имени А. Садыкова АН РУз., Узбекистан, г. Ташкент

Гафуров Махмуджон Бакиевич

д-р хим. наук, ведущий научный сотрудник, лаборатории низкомолекулярных биологических активных соединения Института Биоорганической химии имени А. Садыкова АН РУз., Узбекистан, г. Ташкент

QUALITY STUDY OF PHENOL COMPONENTS AND FLAVONOIDS OF THE ULTRA-TERM PART OF PLANT URTICA DIOICA L

Kamola Raimova

Junior Researcher, Laboratory of Low Molecular Biological Active Compounds, Institute of Bioorganic Chemistry named after A.Sadykov ASRUz, Uzbekistan, Tashkent

Fotima Sobirova

Basic doctoral student of the Institute of Bioorganic Chemistry named after A.Sadykov ASRUz, Uzbekistan, Tashkent

Библиографическое описание: Качественное исследование фенольных соединений и флавоноидов надземной части растения *Urtica dioica L* // Universum: Химия и биология : электрон. научн. журн. Раимова К.В. [и др.]. 2019. № 5(59). URL: *http://7universum.com/ru/nature/archive/item/7237*

Rakhmat Sulton's son Esanov
Basic doctoral student of the Institute of Bioorganic Chemistry named after A.Sadykov ASRUz, Uzbekistan, Tashkent

Alimjon Matchanov
Dr. of Chemical Sciences, Leading Researcher, Laboratory of Low Molecular Biological Active Compounds of the Institute of Bioorganic Chemistry named after A.Sadykov ASRUz, Uzbekistan, Tashkent

Nodira Abdullajonova
Dr. Chemistry. Sci., Leading Researcher at the Experimental Technological Laboratory of the Institute of Bioorganic Chemistry named after A. Sadykov ASRUz, Uzbekistan, c. Tashkent

Farrukh Toshpulatov
Junior Researcher, Laboratory of Low Molecular Biological Active Compounds, Institute of Bioorganic Chemistry named after A.Sadykov ASRUz, Uzbekistan, c.Tashkent

Makhmudjon Gafurov
Dr. Chemistry. Science, Leading Researcher, Laboratory of Low Molecular Biological Active Compounds, Institute of Bioorganic Chemistry named after A.Sadykov ASRUz, Uzbekistan, c. Tashkent

АННОТАЦИЯ

Проведены хроматографические и структурные исследования надземной части растения *Urtica dioica L.* на содержание фенольных соединений и флавоноидов. Полученный экстракт разделили на фракции (диэтилэфирная, этилацетатная, н-бутанольная), идентифицировали методом двухмерной бумажной хроматографии. Для определения химической структуры выделенных индивидуальных соединений использовали метод хромато-масс-спектрометрии. Результаты приведенных анализов дают возможность предположить о наличии в растении *Urtica dioica L.* следующих классов флавоноидов: флавонолы, флавононы и гликозиды флавоноидов. Сравнительный анализ полученных результатов показал, что флавоноидный состав надземной части растения *Urtica dioica,* произрастающего в горных районах Республики отличается от данных, представленных в литературе, что по всей вероятности, объясняется различием почвенно-климатических условий произрастания.

ABSTRACT

Chromatographic and structural studies of the aerial part of the plant *Urtica dioica L.* on the content of phenolic compounds and flavonoids were carried out. The extract obtained was divided into fractions (diethyl ether, ethyl acetate, n-butanol), identified by the method of two-dimensional paper chromatography. Chromato-mass spectrometry was used to determine the chemical structure of the isolated individual compounds. The results of these analyzes suggest the presence of the following classes of flavonoids in the plant *Urtica dioica L.*: flavonols, flavonones and flavonoid glycosides. A comparative analysis of the results showed that the flavonoid composition of the aboveground part of the plant *Urtica dioica*, which grows in the mountainous regions of the Republic, differs from the data presented in the literature, which is likely due to the difference in soil and climatic growing conditions.

Ключевые слова: фракция, двухмерная бумажная хромотография, метод хромато-масс-спектрометрии, флавоноид.

Keywords: fraction, two-dimensional paper chromatography, chromatography-mass spectrometry, flavonoid.

ВВЕДЕНИЕ

Крапива двудомная (*Urtica dioica L., сем. Urticaceae*-крапивные) - одно из самых популярных лекарственных растений в традиционной и народной медицине [1]. Это многолетнее травянистое растение высотой от 60 до 100 сантиметров. Оно произрастает почти по всей европейской части России и Центральный Азии [2]. Препараты из листьев крапивы используют в качестве кровоостанавливающего, противовоспалительного, противоопухолевого, а также желчегонного средства [3-5]. Лекарственные препараты на основе крапивы двудомной «Простафортон» и «Базотон» применяются для лечения аденомы предстательной железы и простатита, которые являются одними из наиболее распространенных заболеваний у мужчин [6].

Полезные свойства лекарственных растений зависят от содержания в них так называемых действующих веществ, такие как, макро- и микроэлементы, витамины, флавоноиды, сапонины, алкалоиды, эфирные масла, органические вещества. Настой, жидкий экстракт, порошок и сок листьев крапивы применяют при острых и хронических энтероколитах при кишечных, маточных кровотечениях и в качестве поливитаминного и мочегонного средства [7].

У крапивы двудомной наиболее используемой частью являются листья. В листьях крапивы двудомной содержатся витамины К, В2, С, флавоноиды, каротин, пантотеновая кислота, фитонциды, белки, сахара, хлорофилл, дубильные вещества, кремниевая и муравьиная кислоты, макро- и микроэлементы (железо, ванадий, марганец, хром, медь, алюминий) [8].

В качестве лекарственного сырья используют как отдельные части растения, так и все растение в целом, с учетом антропогенных воздействий. На химический состав лекарственного растения существенное влияние оказывает состояние окружающей среды, место произрастания и природно-климатические условия [9].

Исходя из вышеизложенного изучение, в сравнительном аспекте, минерального и химического состава вегетативных органов растения *Urtica dioica L.,* произрастающего в горных районах Республики Узбекистана является актуальной задачей.

Целью работы является качественное сравнительное химическое исследование растения *Urtica dioica L.*, произрастающего в горных районах Джизакской области.

Объектом исследования служила крапива двудомная (*Urtica dioica L.*), собранная в период цветения, то есть в апреле месяце, 2018 года. Место отбора, проб высокогорные районы Республики Узбекистан (1500-2000м).

МЕТОДЫ И МАТЕРИАЛЫ:

150 г сырья высушивали до постоянного веса в сушильном шкафу и измельчали до размера не более 2-4 миллиметра. Высушенное сырьё экстрагировали в 90% этиловом спирте, в соотношении сырья и экстрагента 1:10. Экстракция проводилась на водяной бане, снабженной обратным холодильником в течение 12 часов при температуре 40-50 ^{0}С. Процесс экстракции повторялся 5-6 раз, до исчезновения цвета экстрагента. Далее объединенные экстракты (этиловый спирт) концентрировали на роторном испарителе до остатка 1/10 части растворителя. Затем в концентрат заливали 150 мл горячей воды (водное извлечение) и охлаждали до комнатной температуры. Для извлечения остатка липофильных веществ и хлорофилла, водное извлечение экстрагировали хлороформом в соотношении 1:2. Образующиеся расслоенные части растворителей разделяли на делительной воронке. Очищенное водное извлечение 2 раза фракционировали сначала эфиром, этилацетатом и н-бутанолом. Диэтил эфирную фракцию перемешивали в соотношении растворителей 1:2 и разделили на делительной воронке. После этого этилацетатные и бутанольные фракции в соотношении 1:2 разделены таким же способом, как и диэтил эфирная фракция. Все вышеперечисленные фракции концентрировали на роторном испарителе до остатка 1/10 [10]. Полученные экстракты идентифицировали методом двухмерной бумажной хроматографии (Filtrak FN/16) в системе (III), (IV). Высушивали и обрабатывали раствором гексацианоферрата (III) калия (растворённой в 70% этиловом спирте). После обработки все пятна приобретают жёлто-зелёную флюоресценцию. По величине Rf и характеру флюоресценции идентифицированные вещества были экстрагированы из хроматографической бумаги и дальнейший анализ проводили методом хромато-масс-спектрометрии. По молекулярному распаду анализируемых веществ были идентифицированы индивидуальные соединения.

Хроматографические условия были подобраны следующим образом:

Подвижная фаза (в градиенте с ацетонитрилом):

0,5 мин. 0% B;

0,5-10 мин. 60% B;

10-12 мин. 85% B;

12-13 мин. 90% B;

13-14 мин. 0% B;

Температура колонки была 35ºС.

Масс-спектрометрию с ионизацией электронным ударом (HESI-II) проводили в следующих условиях:

Спрей напряжение – 4000 V, при мониторинге отрицательных ионов;

Температура испарителя – 250 ºС,

Давление газа оболочки – 20 psi,

Давление вспомогательного газа – 10 psi ;

Температура капилляра – 100 ºС;

Давление столкновения– 1.5 mTorr;

Энергия ионизации – 20 eV.

Для идентификации флавоноидов использована ТСХ хроматография на пластинках марки «SILUFOL». Системы растворителей для ТСХ: хлороформ: метанол 3:1 (I) или хлорофором: этанол 9:2 (II). В качестве проявителя применяли пары йода. Для бумажной хроматографии была использована хроматографическая бумага Filtrak FN/16. Для колоночной хроматографии применяли силикагель (L) размером частиц 40\100. А для определения молекулярных масс флавоноидов Urtica dioica использовалась ультра высокоэффективная жидкостная хроматография - масс спектрометрии (УВЭЖХ-МС/МС). УВЭЖХ Ultimate 3000, Thermo Fisher Scientific (США), снабженный автоматическим пробоотборником, колонка Hypersil GOLDaQ 100мм х 2.1мм, размер частиц 1,9мкм. В качестве подвижной фазы использована ультрачистая вода, подкисленная 0,01% муравьиной кислотой (А) и ацетонитрил (В), скорость потока 0,1 мл/мин.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для исследований были использованы стебли и листья растения *Urtica dioica L.*. Качественные реакции на фенольные соединения проводили по общепринятой методике [10]. Общая схема выделения фенольных соединений из растения *Urtica dioica L.* приведена на схеме 1.

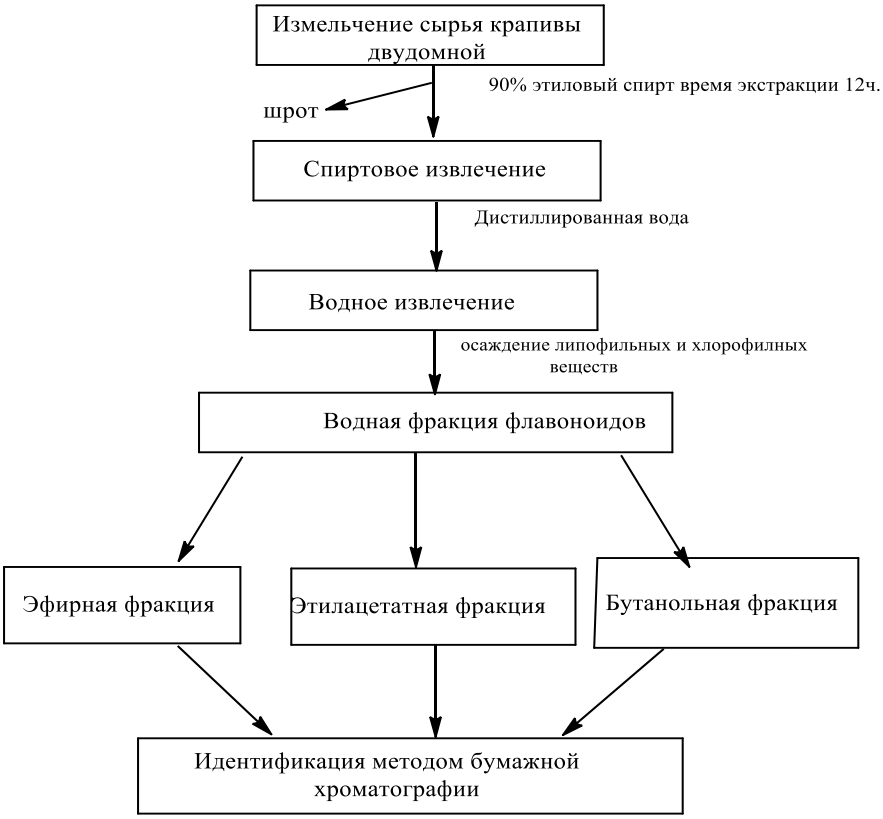

Рисунок 1. Схема выделения фенольных соединений крапивы двудомной

Измельченное до 2-4 мм сырьё высушивали под навесом. Экстракцию проводили в соотношении сырья и экстрагента 1:10. В качестве экстрагента использовали этиловый спирт 90%, при температуре 40-50^{0}С. Полученный экстракт концентрировали на роторном испарителе и остаток растворяли в горячей воде с последующей декантацией хлороформом. Далее суммы флавоноидов извлекали последовательно, с использованием диэтилового эфира, этилацетата и н-бутанола [7]. Полученные экстракты концентрировали в роторном испарителе. Концентраты экстрактов идентифицировали методом двухмерной бумажной хроматографии. Полученные данные приведены в таблице 1.

Таблица 1.

Некоторые физико-химические показатели экстрактов *Urtica dioica L.*

Фракция	**R_f**	**M\z**	**Название**
Диэтил эфир	R_f=0,61	223	3-фенилхромен-4-он
	R_f=0,73	270	4`,5,7 тригидроксифлавон
	R_f=0,88	242	5,6,7 тригидроксифлавон
	R_f=0,95	340	5,7-дигидрокси 2-(4-гидроксифенил)
	R_f=0,73	448	3,3`,4`,5,7 пента-гидроксифлавон
	R_f=0,52	464	гиперин
	R_f=0,68	170	Эфир галловой кислоты
	R_f=0,62	149	Эфир коричной кислоты
	R_f=0,27	110	Резорцин
	R_f=0,36	148	Фенилпропановая кислота
Этилацетат	R_f=0,66	222	2-фенил4-бензопирон
	R_f=0,72	302	кверцетин
	R_f=0,84	464	гиперин
	R_f=0,58	270	апигенин
Н-бутанол	R_f=0,68	302	Кверцетин
	R_f=0,41	270	Апигенин

Система: бутанол:уксусная кислота:вода (4:1:5) (III), 2%-ная уксусная кислота (IV)

Проведенные исследования показали, что листья и стебли крапивы двудомной содержат флавоноиды, которые также были изучены методом тонкослойной хроматографии и сопоставлены с литературными данными [10].

По литературным данным разделение и идентификация проводилась методом колоночной хроматографии на силикагеле марки 100/160 [9]. Для определения химических структур выделенных индивидуальных соединений использовали метод хромато-масс-спектрометрии [9]. Следует отметить, что в нашем случае использование силикагеля марки 100/160 при колоночной хроматография оказалось не эффективной. Поэтому нами был использован силикагель (L) марки 40/100, при которой было получено кристаллическое вещество с R_f 0,65 в системе (I).

Результаты проведенных качественных анализов дают возможность предположить о наличии в растениях *Urtica dioica L.* следующих флавоноидов: флавонолы, флавононы и гликозиды флавоноидов.

Для идентификации флавоноидов методом бумажной хроматографии разработан оптимальный состав растворителей и показано, что оптимальной системой растворителей является система III. Методом бумажной хроматографии идентифицирована эфирная фракция. После обработки их раствором гексацианоферрата (III) калия (в 70% этиловом спирте), обнаружено вещество со значением R_f 0,61, с характерным молекулярным ионом m/z 223, которое соответствует изофлаванону (3-фенилхромен-4-он). Также идентифицировано вещество со значением R_f 0,73 с молекулярной массой m/z 270, которому соответствует 4`,5,7- тригидроксифлавон. Вещество со значением R_f 0,88 и с характерным молекулярным ионом m/z 242, которое соответствует веществу 5,6,7-тригидроксифлавон. Следующее вещество с R_f 0,95 с характерным молекулярным ионом m/z 340 соответствует 5,7-дигидрокси-2-(4-гидроксифенил). Вещество со значением R_f 0,73 с молекулярным ионом m/z 448, идентифицировано как 3,3`,4`,5,7-пентагидроксифлавон. Вещество с R_f 0,41 идентифицировано как гиперозид, которое характеризуется молекулярным ионом m/z 464, соответствующее к гиперину. В литературных источниках показано, что эфирная фракция растения *Urtica dioica L.* содержит следующие флавоноиды: резорцин, эфир коричной кислоты, эфир галловой кислоты, и фенилпропановая кислоты [10]. В нашем случае эти вещества были определены и кроме этого были идентифицированы 3-фенилхромен-4-он, 4`,5,7 тригидроксифлавон, 5,6,7 тригидроксифлавон, 5,7-дигидрокси 2-(4-гидроксифенил), 3,3`,4`,5,7 пента-гидроксифлавон и гиперин в эфирной фракции исследуемого растения.

В этилацетатной фракции наблюдалось вещество со значением R_f 0,66 и с характерным молекулярным ионом m/z 222, которое идентифицировано как 2-фенил-4-бензопирен. Также определено вещество со значением R_f 0,72 с молекулярным ионом m/z 302, которое по молекулярному распаду соответствует кверцетину. Следующее вещество с R_f 0,84 и характерным молекулярным ионом m/z 464, которое согласно молекулярному распаду соответствует гиперину. Также определено вещество со значением R_f 0,58 с молекулярной массой m/z 270, которое соответствует апигенину. По литературным данным показано, что этилацетатная фракция растения *Urtica dioica L* содержит следующие флавоноиды: гиперозид m/z 464 и кверцетрин m/z 302 [10]. В нашем случае кроме них были обнаружены 2-фенил4-бензопирон, кверцетин, гиперин и апигенин.

В н-бутанольной фракции растения идентифицировано вещество со значением R_f 0,68 с молекулярным ионом m/z 302, соответствующий кверцетину, также определено вещество со значением R_f 0,41 и молекулярной массой m/z 270, которое представляет собой апигенин.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

Сравнительный анализ полученных результатов показал, что флавоноидный состав надземной части растения *Urtica dioica* произрастающего в горных районах Республики отличается от данных, представленных в литературе, что по всей вероятности, объясняется различием почвенно-климатических условий произрастания.

Список литературы:

1. Государственная фармакопея СССР. Одиннадцатое издание. МЗ СССР. Вып.2. М.: Медицина, 1990. С. 400.
2. Акопов И.Э. «Важнейшие отечественные лекарственные растения и их применение» Медицина. 1986 год. С. 414-415.
3. Куркин В.А. Фармакогнозия. Учебник для студентов фармацевтических вузов (факультетов). 2-е изд., перераб. и доп. Самара; ООО “Офорт”, ГОУ ВПО «Сам ГМУ Росздрав», 2007. С. 1239.
4. Муравьёва Д.А., Самылина И.А., Яковлев Г.П. Фармакогнозия. Учебник. М. Медицина, 2002 С. 656
5. Пастушенков Л.В., Пастушенков А.Л., Пастушенков В.Л. Лекарственные растения: использование в народной медицине и быту// Л. Лениздат, 1990 С. 284.
6. Тринеева О.В., Сливкин А.И. Исследование микроэлементного состава листьев крапивы двудомной // Фармация. 2015. Вып. №22 (219).
7. Кирьякова В.О. Фармакогностическое изучение некоторых видов рода Urtica, произрастающих на территории Алтайского края.// Вып. 14.04.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия. Пермь-2013. С. 3-14.
8. Балагозян Э.А. Фармакогностическое исследование корневищ с корнями крапивы двудомной (Urtica dioica) //Спец. Вып. Самарского государственного медицинского университета. Самара-2017. С.26-27.
9. Ушанова В.М., Лебедева О.И., Репих С.М. Исследование влияния условий произрастания на химический состав крапивы двудомной (Urtica dioica L.) // Вып. Химия растительного сырья. 2001. №3. С.98.
10. Федосеева Л.М., Кирьякова В.О. Изучение некоторых фенольных соединений крапивы коноплевой травы, произрастающей на территории Алтайского края// Химия растительного сырья. 2012. Вып. №2. С133-134.