

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2020-9-3-59-66>  
УДК 615.19.072



Оригинальная статья/Research article

## Определение антиоксидантной активности извлечений из листьев крапивы двудомной различными методами

О. В. Тринева<sup>1\*</sup>, А. И. Сливкин<sup>1</sup>, Е. Ф. Сафонова<sup>2</sup>

1 – ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет» (ВГУ), фармацевтический факультет, кафедра фармацевтической химии и фармацевтической технологии, 394006, Россия, Воронеж, Университетская пл., д. 1

2 – БПОУ ВО «Воронежский базовый медицинский колледж», 394055, Россия, г. Воронеж, ул. Космонавтов, д. 46

\*Контактное лицо: Тринева Ольга Валерьевна. E-mail: trineevaov@mail.ru

ORCID: О. В. Тринева – <https://orcid.org/0000-0002-1421-5067>; А. И. Сливкин – <https://orcid.org/0000-0001-6934-0837>; Е. Ф. Сафонова – <https://orcid.org/0000-0003-0081-1113>.

Статья поступила: 13.03.2020. Статья принята в печать: 15.06.2020. Статья опубликована: 28.08.2020

### Резюме

**Введение.** В последнее время первичной оценке фармакологического эффекта различных препаратов с использованием тестов *in vivo* и *in vitro* в литературе уделяется большое внимание. Постоянно растет интерес к определению антиоксидантной активности (АОА) лекарственных препаратов, в том числе фитопрепаратов, лекарственного растительного сырья и входящих в их состав биологически активных веществ. Известно, что такое официальное лекарственное растение, как крапива двудомная, по своему фитохимическому составу богата природными антиоксидантами: флавоноиды, каротиноиды, аскорбиновая кислота и др. В отдельных публикациях имеются сведения об антиоксидантной активности листьев крапивы и препаратов на ее основе. Однако, информации о сравнительной характеристике применения различных методов для определения антиоксидантной активности данного вида лекарственного растительного сырья и полученных результатов, в научной литературе не обнаружено.

**Цель.** Целью настоящей работы являлось сравнительное определение антиоксидантной активности лекарственного растительного сырья крапивы двудомной различными методами.

**Материалы и методы.** Объектом исследования являлось готовое измельченное сырье листьев крапивы двудомной (*Folia Urticae*) в фильтр-пакетах, выпускаемое отечественным производителем. АОА водных и водно-спиртовых извлечений определяли титриметрически по методике, разработанной Т. В. Максимовой с соавторами; по способности ингибировать аутоокисление адреналина *in vitro*. Культура клеток *Paramecium caudatum* была также использована в качестве биологической модели для определения антиоксидантного действия водных извлечений из изучаемого сырья на живую клетку. Определение качественного и количественного состава фенольных АО проводили методом ВЭЖХ-ДМД-МС.

**Результаты и обсуждение.** Определена суммарная антиоксидантная активность водных и водно-спиртовых извлечений из листьев крапивы двудомной с использованием различных методик, рекомендуемых в литературе. Исследовано влияние полярности экстрагента на величину антиоксидантной активности и выявлена обратно пропорциональная зависимость. Установлено, что наибольшее содержание антиоксидантов в извлечении наблюдается при использовании 96 % этанола в качестве экстрагента. Оценку антиоксидантного действия исследуемого объекта биологическим методом проводили в соответствии со значениями индекса биологической активности. ВЭЖХ-ДМД-МС анализ водно-метанольного извлечения из листьев крапивы показал присутствие 17 веществ – представителей группы фенольных соединений.

**Заключение.** При помощи четырех независимых методов показана перспективность использования листьев крапивы двудомной и препаратов на ее основе в качестве источника АО. Полученные данные, несомненно, открывают новые возможности применения давно известного растения и подтверждают целесообразность и перспективность его использования для получения новых лекарственных форм.

**Ключевые слова:** крапива двудомная, антиоксидантная активность.

**Конфликт интересов:** конфликта интересов нет.

**Вклад авторов.** Авторы О. В. Тринева и А. И. Сливкин осуществляли проведение экспериментальных исследований. Автор Е. Ф. Сафонова участвовал в написании текста статьи, в том числе заключения и обсуждения результатов.

**Для цитирования:** Тринева О. В., Сливкин А. И., Сафонова Е. Ф. Определение антиоксидантной активности извлечений из листьев крапивы двудомной различными методами. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2020;9(3):59–66. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2020-9-3-59-66>

## Determination of Nettle Leaves Extracts Antioxidant Activity by Various Methods

Olga V. Trineeva<sup>1\*</sup>, Aleksey I. Slivkin<sup>1</sup>, Elena F. Safonova<sup>2</sup>

1 – Voronezh State University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmaceutical Technology, 1, University Square, Voronezh, 394006, Russia

2 – Voronezh Basic Medical College, 46, Cosmonauts str., Voronezh, 394055, Russia

\*Corresponding author: Olga V. Trineeva. E-mail: trineevaov@mail.ru

ORCID: Olga V. Trineeva – <https://orcid.org/0000-0002-1421-5067>; Aleksey I. Slivkin – <https://orcid.org/0000-0001-6934-0837>; Elena F. Safonova – <https://orcid.org/0000-0003-0081-1113>.

Received: 13.03.2020. Revised: 15.06.2020. Published: 28.08.2020

### Abstract

**Introduction.** Recently, much attention has been paid in the literature to the primary assessment of the pharmacological effect of various drugs using *in vivo* and *in vitro* tests. Great interest in determining the antioxidant activity (AA) of drugs, including herbal remedies, medicinal plant materials and their biologically active substances (BAS). It is known that such an officinal medicinal plant, like dioica nettle, is rich in natural antioxidants (AO) in its phytochemical composition: flavonoids, carotenoids, ascorbic acid, etc. In some publications, there is information about the AA of nettle leaves and preparations based on it. However, information on the comparative characteristics of the use of various methods for determining the AA of this type of medicinal plant material and the results obtained are not found in the scientific literature.

© Тринева О. В., Сливкин А. И., Сафонова Е. Ф., 2020

© Trineeva O. V., Slivkin A. I., Safonova E. F., 2020

**Aim.** The aim of this work was a comparative determination of the AA of medicinal plant raw materials of nettle dioica by various methods.

**Materials and methods.** The object of the study was the finished crushed raw material of dioica nettle leaves (*Folia Urticae*) in filter bags produced by a domestic manufacturer. AA of water and water-alcohol extracts was determined titrimetrically according to the method developed by T. V. Maksimova with co-authors; the ability to inhibit the autooxidation of adrenaline *in vitro*. The *Paramecium caudatum* cell culture was also used as a biological model to determine the AA of aqueous extracts from the studied raw material on a living cell. The determination of the qualitative and quantitative composition of phenolic AO was determined by HPLC-DMD-MS.

**Results and discussion.** The total AA of water and water-alcohol extracts from dioica nettle leaves was determined using various techniques recommended in the literature. The effect of the extractant polarity on the value of AA was investigated and an inversely proportional relationship was revealed. It was found that the highest content of AO in the extraction is observed when using 96% ethanol as an extractant. Evaluation of the AA of the test object by the biological method was carried out in accordance with the values of the index of biological activity. HPLC-DMD-MS analysis of water-methanol extraction from nettle leaves showed the presence of 17 substances – representatives of the group of phenolic compounds.

**Conclusion.** Using four independent methods, the prospects of using dioica nettle leaves and preparations based on it as a source of AO are shown. The data obtained undoubtedly open up new possibilities for the use of a long-known plant and confirm the feasibility and prospects of its use for obtaining new dosage forms.

**Keywords:** *Nettle leaves* L., antioxidant activity.

**Conflict of interest:** no conflict of interest.

**Contribution of the authors.** Authors Olga V. Trineeva and Aleksey I. Slivkin carried out experimental studies. The author Elena F. Safonova participated in the writing of the text of the article, including the conclusion and discussion of the results.

**For citation:** Trineeva O. V., Slivkin A. I., Safonova E. F. Determination of nettle leaves extracts antioxidant activity by various methods. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2020;9(3):59–66. (In Russ.). <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2020-9-3-59-66>

## ВВЕДЕНИЕ

В последнее время первичной оценке фармакологического эффекта различных препаратов с использованием тестов *in vivo* и *in vitro* в литературе уделяется большое внимание. Постоянно растет интерес к определению антиоксидантной активности (АОА) лекарственных препаратов, в том числе фитопрепаратов, лекарственного растительного сырья (ЛРС) и входящих в их состав биологически активных веществ (БАВ). Основные природные антиоксиданты (АО) – это витамины Е и С, каротиноиды, флавоноиды, ароматические оксикислоты, антоцианы и др. Особую значимость представляют биофлавоноиды, обладающие антиканцерогенными, антисклеротическими, противовоспалительными и антиаллергическими свойствами. Биофлавоноиды по антиоксидантной активности в десятки раз превосходят витамины С и Е. Известно, что такое официальное лекарственное растение, как крапива двудомная, по своему фитохимическому составу богата природными АО: флавоноиды, каротиноиды, аскорбиновая кислота и др. [1–6]. В отдельных публикациях имеются сведения об АОА листьев крапивы и препаратов на ее основе, изготовленных как в домашних условиях, так и в условиях заводского производства [6–8]. Однако информации о сравнительной характеристике применения различных методов для определения АОА данного вида ЛРС и полученных результатов в научной литературе не обнаружено.

**Целью работы** – сравнительное определение антиоксидантной активности извлечений из лекарственного растительного сырья крапивы двудомной различными методами.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовали готовое измельченное сырье листьев крапивы двудомной (*Folia Urticae*) в фильтр-пакетах, выпускаемое отечественным производителем, соответствующее требованиям нормативной документации. Извлечения готовили путем нагревания ЛРС с экстрагентом в соотношении 1,5:100 на водяной бане с обратным холодильником в течение 20 минут. Полученные извлечения декантировали с остатка сырья и фильтровали через бумажный фильтр, отбрасывая первые порции фильтрата. Для оценки влияния полярности экстрагента на АОА получаемого извлечения использовали воду, 40 %, 70 % и 96 % этиловый спирт. Полученные извлечения представляет собой сложную смесь БАВ, а также сопутствующих компонентов, извлекаемых из сырья в ходе экстракции.

По данным литературы, самыми широко используемыми методами для определения АОА являются спектральные, самыми простыми и доступными – титриметрические, самыми точными и наиболее полно отражающими реальное содержание БАВ-АО – хроматографические, а наиболее близкими к оценке действия на макроорганизм – биологические [7–19], что обусловило выбор методов ведения эксперимента в данной работе.

АОА водных и водно-спиртовых извлечений определяли, во-первых, титриметрически по методике, разработанной Т. В. Максимовой с соавторами [20]. В качестве растворов сравнения использовали такие известные АО, как кверцетин и рутин. Суммарную АОА (мг/г), соответствующую содержанию БАВ восстанавливающего характера в пересчете на указанные АО, рассчитывали по известной формуле [20].

АОА водных извлечений, во-вторых, изучали по их способности ингибировать аутоокисление адреналина *in vitro* и тем самым предотвращать образование активных форм кислорода [21]. Анализ проводили по известной методике, выражая результат в процентах ингибирования аутоокисления адреналина. Величина АОА > 10 % свидетельствует о наличии АОА.

Культура клеток *Paramecium caudatum* была также использована в качестве биологической модели для определения антиоксидантного (регулирующего перекисное окисление липидов) действия водных извлечений из изучаемого ЛРС на живую клетку [22]. Извлечения готовили по типу настоя в соответствии с требованиями ОФС ГФ РФ «Настои и отвары» [23–24]. Из нескольких существующих методик нами был выбран «Метод разрешающего воздействия» с использованием культуры инфузорий *Paramecium caudatum*. Определение проводили по известной методике [22]. В качестве разрешающего фактора использовали 3 % раствор водорода пероксида, вызывающего 100%-ю гибель клеток в течение 5 минут. В работе использовали культуру инфузорий, содержащую в экспоненциальной фазе не менее 2500–3000 особей в мл среды, а в стационарной не менее 6500–7500 особей [22].

Определение качественного и количественного состава фенольных АО определяли методом ВЭЖХ-ДМД-МС (ВЭЖХ Agilent 1100 (Agilent Technologies, США; МС-детектор (Agilent 6200 TOF LC/MS) по методике [25]. Обработка данных осуществлялась с помощью программного обеспечения Agilent MassHunter Workstation Software. Идентификация индивидуальных соединений основывалась на хроматографической подвижности, УФ- и масс-спектрах, путем сравнения с имеющимися стандартами. Содержание данных групп БАВ определяли методом абсолютной калибровки.

Статистическую обработку результатов проводили по ОФС ГФ РФ XIV изд. «Статистическая обработка результатов химического эксперимента» [24].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты определения АОА водных и водно-спиртовых извлечений из листьев крапивы двудомной по методике перманганатометрического титрования представлены в таблице 1.

Установлено, что наибольшее содержание АО в извлечении наблюдается при использовании 96 % этанола в качестве экстрагента. Полученные данные согласуются с результатами, свидетельствующими о наибольшем выходе флавоноидов и других полифенольных БАВ – известных природных АО в извлечение при использовании данного растворителя [7]. Статистическая обработка полученных результатов представлена в таблице 2.

При оценке влияние полярности экстрагента на значение суммарной АОА полученных извлечений (рисунок 1), выявлена обратно пропорциональная за-

висимость величины АОА от полярности экстрагента. Полученная зависимость позволит определить АОА извлечений, полученных с применением экстрагентов различной полярности. Уравнение линейной зависимости и коэффициент корреляции приведены на рисунке 1.

**Таблица 1.** АОА водных и водно-спиртовых извлечений из листьев крапивы двудомной (n = 6, P = 95 %)

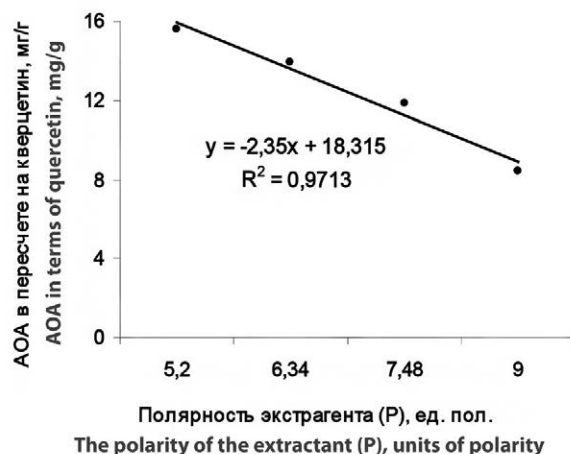
**Table 1.** AOA of water and water-alcohol extracts from dioecious nettle leaves (n = 6, P = 95 %)

№ п/п № p/p	Экстрагент Extractant	АОА, мг/г AOA, mg/g	
		в пересчете на кверцетин in terms of on quercetin	в пересчете на рутин in terms of on routine
1	Вода Water	8,43 ± 0,38	17,80 ± 0,81
2	40 % этанол 40 % ethanol	11,84 ± 0,54	25,00 ± 1,14
3	70 % этанол 70 % ethanol	13,92 ± 0,63	29,38 ± 1,34
4	96 % этанол 96 % ethanol	15,57 ± 0,71	32,87 ± 1,49

**Таблица 2.** Метрологическая характеристика определения АОА (P = 95 %; n = 6)

**Table 2.** Metrological characteristics of the determination of AOA (P = 95 %; n = 6)

f	$\bar{x}_{\text{cp}}$ $\bar{x}_{\text{average}}$	S <sup>2</sup>	S	$Sx_{\text{cp}}$ $Sx_{\text{average}}$	t(P, t)	$\Delta x$	$\Delta x_{\text{cp}}$ $\Delta x_{\text{average}}$	$\epsilon, \%$	$\epsilon_{\text{cp}} \%$ $\epsilon_{\text{average}} \%$
5	11,84	0,262	0,512	0,209	2,57	1,32	0,54	11,11	4,55



**Рисунок 1.** Влияние полярности экстрагента на АОА извлечений из листьев крапивы двудомной

**Figure 1.** Effect of extractant polarity on AOA extracts from dicotyledonous nettle leaves

В таблице 3 представлены литературные данные значений АОА извлечений из различных природных объектов (экстрагент – 96 % спирт этиловый), получен-

ные по аналогичной методике, в сравнении с результатами собственных исследований по определению АОА извлечений из листьев крапивы.

**Таблица 3.** АОА различных природных объектов в пересчете на кверцетин [8]

**Table 3.** AOA of various natural objects in terms of quercetin [8]

№ п/п № p/p	Наименование сырья Name of raw materials	АОА, мг/г AOA, mg/g
1	Листья крапивы Nettle leaves	15,57
2	Кора дуба Oak bark	41,67
3	Плоды черники Blueberries	12,50
3	Чай «Майский» Tea «May»	43,61
4	Плоды шиповника Dog-rose fruit	43,55

Данные таблицы 3 указывают на достаточно высокое содержание АО в спиртовом извлечении из листьев крапивы двудомной, сравнимое с таким известным источником фенольных АО, как плоды черники.

Несомненными достоинствами метода являются простота выполнения, экспрессность, доступность, малая ошибка определения и минимальная стоимость одного анализа, так как отсутствует необходимость использования специального дорогостоящего оборудования. Недостатком данной методики, основанной на окислении веществ-АО перманганатом калия в кислой среде, является то, что способ позволяет определить только суммарное количественное содержание всех веществ, обладающих АОА в пересчете чаще всего на рутин, кверцетин, галловую и аскорбиновую кислоты, а также пирокатехин, но не дифференцировать их по группам [10]. Следует отметить, что данная методика оценивает не АОА, как таковую, а способность объектов восстанавливать перманганат ( $MnO_4^-$ ) в кислой среде. Такими свойствами обладают многие органические соединения, в том числе такие восстановители, как боргидрид натрия  $NaBH_4$  или литийалюмогидрид  $LiAlH_4$ , являющиеся сильнейшими токсикантами для живой клетки. Тем не менее в фармации данный метод широко используется многими исследователями и может быть применен для первичной оценки АОА растительных объектов.

В работе также использован метод оценки АОА на начальных этапах свободнорадикального окисления по ингибированию супероксидрадикала в реакции аутоокисления адреналина в щелочной среде при длине волны 347 нм [21]. Величина АОА водных извлечений из листьев крапивы двудомной, определенная указанным способом, составила 52,45 %, что свидетельствует о наличии АОА (таблица 4). Полученные данные в сравнении с другими известными источниками АО (с применением аналогичной методики) приведены в таблице 4. Результаты свидетельствуют о

перспективности использования данного вида ЛРС и препаратов на его основе в практической медицине в качестве источника АО.

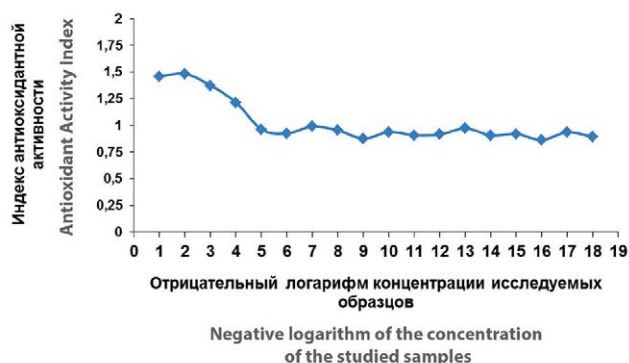
**Таблица 4.** Значения АОА различных растительных объектов, определенных методом аутоокисления адреналина [8]

**Table 4.** AOA values of various plant objects determined by the method of autooxidation of adrenaline [8]

№ п/п № p/p	ЛРС Medicinal plant material	АОА, % AOA, %
1	Трава мяты перечной Peppermint Herb	50,00
2	Листья крапивы двудомной (экспериментальные данные) Nettle leaves dioecious (experimental data)	52,45
3	Плоды облепихи крушиновидной Sea buckthorn fruits	53,86
4	Трава зверобоя продырявленного Hypericum perforatum herb	92,96
5	Листья шалфея лекарственного Sage Leaves	88,28

Однако следует отметить, что наряду с положительными моментами (доступность и экспрессность) данный метод имеет и недостатки. Результаты, полученные в разное время экспозиции, сильно разнятся между собой, что обуславливает большую ошибку определения. Тем не менее данный метод также может быть применен для первичной оценки АОА растительных объектов.

Оценку антиоксидантного действия исследуемого объекта биологическим методом проводили в соответствии со значениями индекса биологической активности (рисунок 2). Анализируя полученные данные, можно отметить, что настой листьев крапивы



**Рисунок 2.** Зависимость индекса антиоксидантной активности\* настоя листьев крапивы двудомной от концентрации в растворе

\* $I_{BA}$  от 1,000 + 0,100 объект активностью не обладает;  
 $I_{BA} > 1,000 + 0,100$  объект повышает жизнеспособность клеток;  
 $I_{BA} < 1,000$  объект снижает жизнеспособность клеток

**Figure 2.** The dependence of the index of antioxidant activity\* infusion of nettle leaves dioecious on the concentration in solution

\* $I_{BA}$  from 1.000 + 0.100 the object does not have activity;  
 $I_{BA} > 1.000 + 0.100$  object increases cell viability;  $I_{BA} < 1.000$  object reduces cell viability



двудомной проявляет активность в концентрациях от  $1 \cdot 10^{-1}$  –  $1 \cdot 10^{-4}$ , повышая устойчивость клеток к воздействию процессов свободнорадикального окисления примерно на 20–30 %. Сравнение результатов, полученных для извлечений из листьев крапивы двудомной, с результатами других исследований по аналогичной методике приведены в таблице 5. Полученные данные свидетельствуют о возможности использования водных извлечений из листьев крапивы двудомной в качестве источника АО, так как значения индексов биологической активности сравнимы с таковыми для природных концентратов БАВ-АО, как плоды рябины черноплодной и облепихи крушиновидной.

**Таблица 5.** Значения АОА различных растительных объектов, определенных биологическим методом

**Table 5.** AOA values of various plant objects determined by the biological method

№ п/п № p/p	ЛРС Medicinal plant material	$I_{\text{БА}}$ ( $1 \cdot 10^{-1}$ – $1 \cdot 10^{-4}$ )
1	Трава горца перечного [26] Highlander Herb [26]	1,82–3,25
2	Листья крапивы двудомной (экспериментальные данные) Nettle leaves dioecious (experimental data)	1,21–1,48
3	Плоды облепихи крушиновидной высушенные [9] Dried sea buckthorn fruits [9]	1,26–1,30
4	Плоды рябины черноплодной [27] Aronia fruits [27]	1,16–1,45

Основным достоинством данного метода наряду с доступностью и минимальной стоимостью одного анализа, является использование живой культуры инфузорий (тест *in vivo*), что дает возможность ожидать максимальной корреляции полученных результатов с действием исследуемых объектов на более сложно устроенные многоклеточные биологические организмы. Сущность метода заключается в выявлении характера действия исследуемого вещества на механизмы адаптации и резистентности клетки на воздействие на нее разрешающего внешнего неблагоприятного фактора, в частности перекиси водорода. Однако к недостаткам следует отнести трудоемкость и длительность данной методики, а также первичность получаемых результатов, требующих дополнительных исследований.

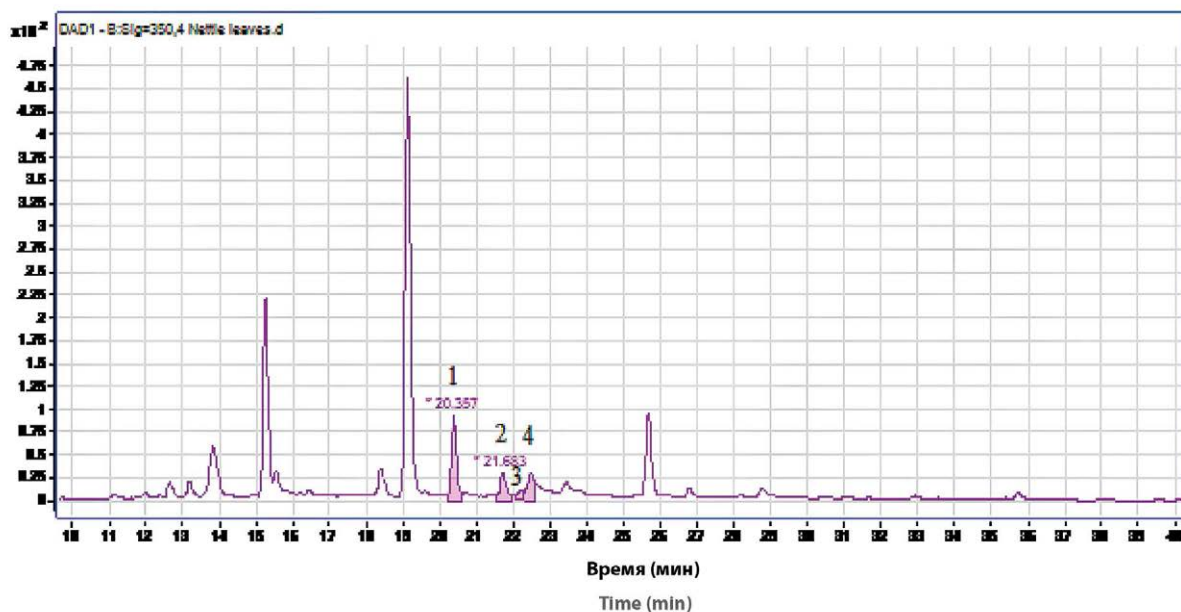
Одной из самых перспективных групп БАВ, обладающей АОА, являются растительные фенольные соединения, среди которых ведущее место занимают полифенолы. В некоторых работах [10] описан ВЭЖХ-метод определения АОА по общему содержанию АО фенольной группы (оксикислот, флавоноидов). ВЭЖХ-ДМД-МС анализ водно-метанольного извлечения из листьев крапивы показал присутствие 13 производных гидроксикоричных кислот (ГКК) и 4 представителя группы флавоноидов. Следует отметить, что основной ГКК была установлена не хлорогеновая кислота (18,2 от суммы производных ГКК

%), а 2-кофеоиляблочная кислота (37,2 %). Обнаружено также существенное количество розмариновой кислоты (10,2 %). По результатам ВЭЖХ-ДМД-МС флавоноиды в изучаемом образце листьев крапивы двудомной представлены гликозидами кверцетина, кемпферола и изорамнетина, среди которых преобладал рутин (50,9 % от суммы флавоноидов). Идентифицированы также изорамнетин-3-О-рутинозид или нарциссин (25,2 %), изокверцитрин (17,1 %) и кемпферол-3-О-рутинозид или никотифлорин (6,8 %). Результаты (в пересчете на абсолютно сухое сырье) представлены в таблице 6. ВЭЖХ извлечения из листьев крапивы двудомной показаны на рисунках 3 и 4.

**Таблица 6.** Результаты ВЭЖХ-ДМД-МС анализа фенольных соединений в листьях крапивы двудомной

**Table 6.** The results of HPLC-DMD-MS analysis of phenolic compounds in the leaves of dioecious nettle

№	Представитель фенольной фракции БАВ Representative phenolic fraction of biologically active substances	Содержание, мг/г Content, mg/g
1	Кофеилхинная кислота Caffeoylquinic Acid	0,22
2	Неохлорогеновая кислота Neochlorogenic acid	0,23
3	Кафтаровая кислота Kaftaric acid	0,68
4	Хлорогеновая кислота Chlorogenic acid	1,82
5	Криптохлорогеновая кислота Cryptochlorogenic Acid	0,28
6	Кофейная кислота Coffee acid	0,33
7	2-кофеоиляблочная кислота 2-caffeoylmalic acid	3,72
8	п-кумаровая кислота p-coumaric acid	0,47
9	Производное феруловой кислоты Ferulic Acid Derivative	0,19
10	Розмариновая кислота Rosmarinic acid	1,02
11	Неидентифицированное производное кофейной кислоты Unidentified Caffeic Acid Derivative	0,28
12	Неидентифицированное производное ГКК Unidentified Derivative of HCA	0,26
13	Неидентифицированное производное ГКК Unidentified Derivative of HCA	0,52
14	Рутин Routine	0,67
15	Изокверцитрин Isoquercitrine	0,22
16	Никотифлорин Nicotiflorine	0,09
17	Нарциссин Narcissine	0,33
Суммарное содержание Total content		11,33

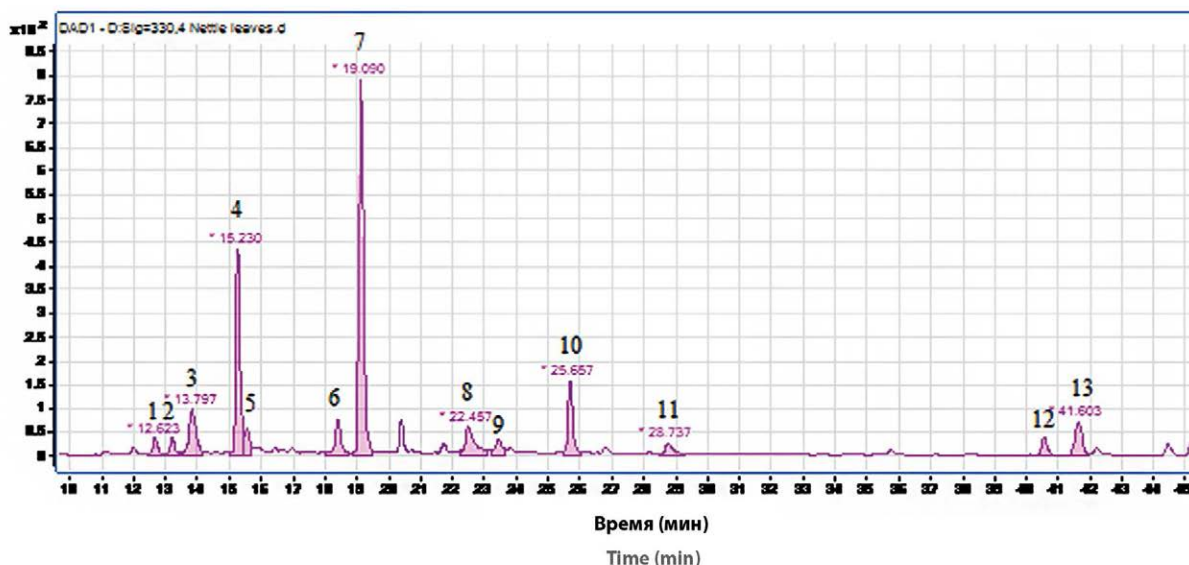


**Рисунок 3.** Хроматограмма извлечения из листьев крапивы двудомной при  $\lambda = 350$  нм. Номера пиков флавоноидов на хроматограмме:

1 – рутин; 2 – изокверцитрин; 3 – никотифлорин; 4 – нарциссин

**Figure 3.** Chromatogram of extraction of dioecious nettle leaves from  $\lambda = 350$  nm. Chromatogram peak numbers for flavonoids:

1 – routine; 2 – isoquercitrine; 3 – nicotiflorine; 4 – narcissine



**Рисунок 4.** Хроматограмма извлечения из листьев крапивы двудомной при  $\lambda = 330$  нм. Номера пиков производных ГКК на хроматограмме соответствуют номерам в таблице 6

**Figure 4.** Chromatogram of extract from the leaves of nettle dioecious at  $\lambda = 330$  nm. The peak numbers of the HCA derivatives in the chromatogram correspond to the numbers in table 6

Основным достоинством данного метода является возможность определить качественный и количественный состав всех представителей группы фенольных АО в изучаемом ЛРС. Это наиболее точный метод исследований из представленных в данной работе. В настоящее время ВЭЖХ-хроматографы с масс-детекторами становятся все более доступными для лабораторий.

Однако, к недостаткам следует отнести достаточно высокую стоимость выполнения одного анализа, а также трудность корреляции полученных результатов с другими широко применяемыми методами определения АОА. Данное обстоятельство объясняется тем, что не все БАВ фенольной природы обладают АОА, различными механизмами действия БАВ-АО, а также

неодинаковым вкладом каждого отдельного АО в проявление общей суммарной АОА извлечений, а, следовательно, и лекарственных растительных препаратов. Метод является уточняющим, применяется для проведения более глубоких исследований по оценке АОА, и не используется для первичной оценки данных свойств ЛРС. Этим, по всей видимости, обусловлено редкое использование данного метода анализа для исследования АОА растительных объектов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, определена суммарная АОА водных и водно-спиртовых извлечений из листьев крапивы двудомной с использованием различных методик, предлагаемых в научной литературе. Установлено, что наибольшее содержание АО в извлечении наблюдается при использовании 96 % этанола в качестве экстрагента. Исследовано влияние полярности экстрагента на значение суммарной АОА полученных извлечений. Выявлена обратно пропорциональная зависимость величины АОА от полярности экстрагента. ВЭЖХ-ДМД-МС анализ водно-метанольного извлечения из листьев крапивы показал присутствие 13 производных ГКК и 4 представителя группы флавоноидов. При помощи четырех независимых методов показана перспективность использования листьев крапивы двудомной и препаратов на ее основе в качестве источника АО. Полученные данные, несомненно, открывают новые возможности применения давно известного растения и подтверждают целесообразность и перспективность его использования для получения новых лекарственных форм.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Копытько Я. Ф., Лапинская Е. С., Сокольская Т. А. Применение, химический состав и стандартизация сырья и препаратов *Urtica* (обзор). *Химико-фармацевтический журнал*. 2011;45(10):32–40.
2. Дмитрука С. Е., ред. Лекарственные растения, сырье и фитопрепараты. Томск: СибГМУ. 2004; Ч. 1: 116.
3. Gülçina I. Ö., Küfrevioğlu I., Oktayb M., Büyükkokuroğlu M. E. Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of Nettle (*Urtica dioica* L.). *Journal of Ethnopharmacology*. 2004;90:205–215.
4. Maaroufi L., Hossain M. S., Wiem Tahri, Landoulsi A. New insights of Nettle (*Urtica urens*): Antioxidant and antimicrobial activities. *J. Med. Plants Res.* 2017;11(4):73–86.
5. Knežević V., Pezo L. L., Lončar B. Lj., Filipović V. S., Nićetin M. R., Gorjanović S. Ž., Šuput D. Antioxidant Capacity of Nettle Leaves During Osmotic Treatment. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*. 2019;63(3):491–498.
6. Ghaima K. K., Hashim N. M., Ali S. A. Antibacterial and antioxidant activities of ethyl acetate extract of nettle (*Urtica dioica*) and dandelion (*Taraxacum officinale*). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2013;3(05):96–99.
7. Тринеева О. В. Теоретические и методологические подходы к стандартизации и оценке качества лекарственного растительного сырья и масляных экстрактов на его основе. Дис. ... д. фарм. н. 2017. 441 с.
8. Тринеева О. В., Сафонова Е. Ф., Воропаева С. С., Сливкин А.И. Антиоксидантная активность водно-спиртовых извлечений листьев крапивы двудомной. *Фармация*. 2013;1:11–12.
9. Тринеева О. В., Сливкин А. И. Исследование мембраностабилизирующей, антиоксидантной и антитоксической активности водных извлечений из лекарственного растительного сырья (на примере плодов облепихи крушиновидной и листьев крапивы двудомной) на тест-системе *Paramecium caudatum*. *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2016;1:165–169.
10. Тринеева О. В. Методы определения антиоксидантной активности объектов растительного и синтетического происхождения в фармации (обзор). *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2017;4(21):180–197.
11. Кайшев А. Ш., Реккандт С. А., Кайшева Н. Ш., Челомбитко В. А. Антиоксидантная активность биоконпозиций на основе спиртовых отходов. *Фармация*. 2009;5:7–10.
12. Хайруллина В. Р., Гарифуллина Г. Г., Герчиков А. Я. Антиоксидантная активность экстрактов растений сем. *Geraniaceae*, *Rosaceae* на примере модельной реакции окисления изопропилового спирта. *Химико-фармацевтический журнал*. 2005;3:28–30.
13. Хасанов В. В., Рыжова Г. Л., Мальцева Е. В. Методы исследования антиоксидантов. *Химия растительного сырья*. 2004;3:63–75.
14. Лапин А. А., Борисенков М. Ф., Карманов А. П., Бердник И. В., Кочева Л. С., Мусин Р. З., Магдеев И. М. Антиоксидантные свойства продуктов растительного происхождения. *Химия растительного сырья*. 2007;2:79–83.
15. Самусенко А. Л. Исследование антиоксидантной активности эфирных масел лимона, розового грейпфрута, кориандра, гвоздики и их смесей методом капиллярной газовой хроматографии. *Химия растительного сырья*. 2011;3:107–112.
16. Конкина И. Г., Грабовский С. А., Муринов Ю. И., Кабальнова Н. Н. Сравнительная оценка реакционной способности кверцетина и дигидрокверцетина по отношению к пероксильным радикалам. *Химия растительного сырья*. 2011;3:207–208.
17. Огай М. А., Степанова Э. Ф., Холодов Д. Б., Николаевский В. А. Антиоксидантный и мембраностабилизирующий эффект таурина. *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2011;1:186–191.
18. Шадрин И. А. Токсикологический анализ некоторых кормов по реакции выживаемости инфузории *Paramecium caudatum*. *Вестник Красноярского государственного аграрного университета*. 2008;2:128–134.
19. Хасанова С. Р., Плеханова Т. И., Гашимова Д. Т., Галияхметова Э. Х., Клыш Е. А. Сравнительное изучение антиоксидантной активности растительных сборов. *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2007;1: 163–166.
20. Максимова Т. В., Никулина И. Н., Пахомов В. П. и др. Способ определения антиоксидантной активности. Номер патента: 2170930. Дата публикации: 20.07.2001 г. Заявитель(и) и патентообладатель: Московская медицинская академия им. И. М. Сеченова.
21. Рябинина Е. И., Зотова Е. Е., Ветрова Е. Н. и др. Новый подход в оценке антиоксидантной активности растительного сырья при исследовании процесса аутоокисления адреналина. *Химия растительного сырья*. 2011;3:117–121.
22. Бузлама В. С. Способ отбора веществ – адаптогенов: Авт. свид. СССР № 9901189. 1982.
23. Государственная фармакопея Российской Федерации XIII издание. М. 2015;2:1004. Available at: [http://193.232.7.120/feml/clinical\\_ref/pharmacopoeia\\_1/HTML/](http://193.232.7.120/feml/clinical_ref/pharmacopoeia_1/HTML/).
24. Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV издание. М. 2018;4:7019. Available at: <http://femb.ru/femb/pharmacopoea.php>.
25. Тринеева О. В., Перова И. Б., Сливкин А. И., Эллер К. И. Исследование состава фенольной фракции листьев крапивы двудомной. *Биофармацевтический журнал*. 2017;9(3):44–48.
26. Мальцева А. А., Чистякова А. С., Юрова Е. Ю. Антиоксидантная активность травы горца перечного, заготовленной в воронежской области. В сборнике: «Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Создание новых физиологически активных веществ материалы 6-й Международной научно-методической конференции «Фармобразование-2016». ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет». 2016. 382–384 с.
27. Логвинова Е. Е. Исследование групп биологически активных веществ плодов рябины черноплодной различных сортов. Автореф. канд. фарм. н. М., 2017. 22 с.

## REFERENCES

1. Kopyt'ko Ya. F., Lapinskaya E. S., Sokol'skaya T. A. Application, chemical composition and standardization of raw materials and preparations of *Urtica* (review). *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal = Pharmaceutical chemistry journal*. 2011;45(10):32–40. (In Russ.).
2. Dmitruka S. E., editor. Medicinal plants, raw materials and herbal remedies. Tomsk: Siberian State Medical University. 2004; Part 1: 116. (In Russ.).
3. Gülçina I. Ö., Küfrevioğlu I., Oktayb M., Büyükokuroğlu M. E. Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of Nettle (*Urtica dioica* L.). *Journal of Ethnopharmacology*. 2004;90:205–215.
4. Maaroufi L., Hossain M. S., Wiem Tahri, Landoulsi A. New insights of Nettle (*Urtica urens*): Antioxidant and antimicrobial activities. *J. Med. Plants Res.* 2017;11(4):73–86.
5. Knežević V., Pezo L. L., Lončar B. Lj., Filipović V. S., Nićetin M. R., Gorjanović S. Ž., Šuput D. Antioxidant Capacity of Nettle Leaves During Osmotic Treatment. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*. 2019;63(3):491–498.
6. Ghaima K. K., Hashim N. M., Ali S. A. Antibacterial and antioxidant activities of ethyl acetate extract of nettle (*Urtica dioica*) and dandelion (*Taraxacum officinale*). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2013;3(05):96–99.
7. Trineeva O. V. T Theoretical and methodological approaches to standardization and quality assessment of medicinal plant materials and oil extracts based on it. The dissertation ... Dr. of Sci. (Pharm.). 2017. 441 p. (In Russ.).
8. Trineeva O. V., Safonova E. F., Voropaeva S. S., Slivkin A. I. Antioxidant activity of water-alcohol extracts of dioica nettle leaves. *Farmatsiya = Pharmacy*. 2013;1:11–12. (In Russ.).
9. Trineeva O. V., Slivkin A. I. Study of the membrane-stabilizing, antioxidant and antitoxic activity of aqueous extracts from medicinal plant materials (for example, buckthorn buckthorn fruits and dioica nettle leaves) using the *Paramecium caudatum* test system. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya = Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*. 2016;1:165–169. (In Russ.).
10. Trineeva O. V. Methods of determination of antioxidant activity of plant and synthetic origins in pharmacy (review). *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2017;4(4):180–197. (In Russ.).
11. Kaishev A. Sh., Rekkandt S. A., Kaisheva N. Sh., Chelombit'ko V. A. Antioxidant activity of biocomposites based on alcohol waste. *Farmatsiya = Pharmacy*. 2009;5:7–10. (In Russ.).
12. Khairullina V. R., Garifullina G. G., Gerchikov A. Ya. Antioxidant activity of plant extracts of the family. Geranlaceae, Rosaceae on the example of a model reaction of oxidation of isopropyl alcohol. *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal = Pharmaceutical chemistry journal*. 2005;3:28–30. (In Russ.).
13. Khasanov V. V., Ryzhova G. L., Mal'tseva E. V. Methods for the study of antioxidants. Chemistry of plant materials. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*. 2004;3:63–75. (In Russ.).
14. Lapin A. A., Borisenkov M. F., Karmanov A. P., Berdnik I. V., Kocheva L. S., Musin R. Z., Magdeev I. M. Antioxidant properties of plant products. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*. 2007;2:79–83. (In Russ.).
15. Samusenko A. L. Study of the antioxidant activity of essential oils of lemon, pink grapefruit, coriander, cloves and their mixtures by capillary gas chromatography. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*. 2011;3:107–112. (In Russ.).
16. Konkina I. G., Grabovskii S. A., Murinov Yu. I., Kabal'nova N. N. Comparative evaluation of the reactivity of quercetin and dihydroquercetin with respect to peroxide-strong radicals. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*. 2011;3:207–208. (In Russ.).
17. Ogai M. A., Stepanova E. F., Kholodov D. B., Nikolaevskii V. A. Antioxidant and membrane-stabilizing effect of taurine. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya = Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*. 2011;1:186–191. (In Russ.).
18. Shadrin I. A. Toxicological analysis of some feeds according to the survival reaction of the ciliates *Paramecium caudatum*. *Vestnik Krasnoyarskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta = The Bulletin of KrasGAU*. 2008;2:128–134. (In Russ.).
19. Khasanova S. R., Plekhanova T. I., Gashimova D. T., Galiakhmetova E. Kh., Klysh E. A. Comparative study of antioxidant activity of plant collections. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya = Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*. 2007;1:163–166. (In Russ.).
20. Maksimova T. V., Nikulina I. N., Pakhomov V. P. et al. Method for determining antioxidant activity. Patent number: 2170930. Date of publication: July 20, 2001. Applicant(s) and patent holder: Moscow Medical Academy named after I. M. Sechenova. (In Russ.).
21. Ryabinina E. I., Zotova E. E., Vetrova E. N. et al. A new approach to assessing the antioxidant activity of plant materials in the study of the process of autooxidation of adrenaline. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*. 2011;3:117–121. (In Russ.).
22. Buzlama B. C. Method of selection of substances – adaptogens: Auth. testimonial. USSR No. 9901189. 1982. (In Russ.).
23. Russian Federation State Pharmacopoeia XIII ed. Moscow. 2015;2:1004. Available at: [http://193.232.7.120/feml/clinical\\_ref/pharmacopoeia\\_1/HTML/](http://193.232.7.120/feml/clinical_ref/pharmacopoeia_1/HTML/) (In Russ.).
24. Russian Federation State Pharmacopoeia XIV ed. M. 2018;4:7019. Available at: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php> (In Russ.).
25. Trineeva O. V., Perova I. B., Slivkin A. I., Eller K. I. Study of the composition of the phenolic fraction of dioica nettle leaves. *Biofarmatsevticheskii zhurnal = Biopharmaceutical journal*. 2017;9(3):44–48. (In Russ.).
26. Mal'tseva A. A., Chistyakova A. S., Yurova E. Yu. Antioxidant activity of the grass of the mountaineer pepper harvested in Voronezh region. In the collection: «Ways and forms of improving pharmaceutical education. Creation of new physiologically active substances. Materials of the 6th International Scientific and Methodological Conference «Pharmaceutical Education-2016». Voronezh State University. 2016. 382–384 p. (In Russ.).
27. Logvinova E. E. Study of the groups of biologically active substances of chokeberry fruits of various varieties. Abstract Cand. of Sci. (Chem.). Moscow, 2017. 22 p. (In Russ.).