

# Identification of phytosterins in *Urtica dioica* L. (overground part)

G. P. Smoylovska

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

**Key words:**

*Urtica dioica* L.,  
chromato-mass-  
spectrometry,  
phytosterins.

Long since *Urtica dioica* L. was used in folk medicine as vitamin and hemostatic agents. Nowadays hypotensive, diuretic, antitumoral effects of medicines obtained from plant based raw materials from *Urtica* were experimentally proved. Pharmacologic activity is due to vitamins K<sub>1</sub> and C, flavonoids, hydroxycinnamic acids, carbonic acids, polysaccharides containing in the leaves of plant. Using underground organs of plant as antineoplastic drugs is connected with phytosterins accumulation. Studying composition and assessment of phytosterins in overground part of plant is urgent now.

**The aim** of research is to identify components and to assess phytosterins content in leaves and herb of *Urtica dioica* L. in Ukrainian flora.

Zaporozhye  
medical journal  
2017; 19 (1),  
90–93

DOI:  
10.14739/2310-1210.  
2017.1.91723

E-mail:  
smoilovskaj@ukr.net

**Materials and Methods.** For chromato-mass spectrometry leaves and herb gathered in blossoming period have been used. The samples have been extracted with methylene chloride in presence of tridecane inner standard, and then the samples have been concentrated and submitted to chromatography on chromatograph Agilent Technology 6890N. The components have been identified using register for mass spectra NIST02 and WILEY 2007 in combination with identification programs AMDIS and NIST.

**Results and Discussion.** In both types of raw materials from *Urtica dioica* L. it has been revealed identical compounds related to olefins, higher aliphatic carbohydrates, phytosterins and so on. The total amount of biologically active substances extracted from the leaves is 529.76 mg/kg, from herbs it is 516.91 mg/kg. Untriacontane, nonocosane and trans-neophytadiene were predominant. Phytosterins stigmas-3,5,7-triene, campesterol,  $\beta$ -sitosterol presented in leaves 16.14 mg/kg, in herb they presented 15.42 mg/kg, that forms 3 % approximately

**Conclusions.** Composition and amount of phytosterins containing in leaves and herb of *Urtica dioica* L. study has been performed by chromato-mass-spectrometry. As a result three compounds of steroid nature have been identified: stigmas-3,5,7-trien, campesterol,  $\beta$ -sitosterol. Amount of phytosterins is approximately 3 %.

**Ключові слова:**

кропива дводомна,  
хромато-мас-  
спектрометрія,  
фітостерини.

Запорізький  
медичний  
журнал. – 2017. –  
Т. 19, № 1(100). –  
С. 90–93

## Визначення вмісту фітостеринів у надземній частині кропиви дводомної (*Urtica dioica* L.)

Г. П. Смойловська

Кропива дводомна здавна застосовується в народній медицині як вітамінний і кровоспинний засіб. На сьогодні експериментально доведена гіпотензивна, сечогінна, протиракова активність препаратів, що вироблені з лікарської рослинної сировини кропиви. Фармакологічна активність листя кропиви зумовлена вмістом вітамінів К<sub>1</sub>, С, флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, карбонових кислот, полісахаридів. Використання підземних органів рослини при виготовленні препаратів антинеопластичної дії пов'язане передусім із накопиченням фітостеринів. Актуальним є вивчення складу та кількісного вмісту фітостеринів у надземній частині рослини.

**Мета роботи** – визначення складу та кількісного вмісту фітостеринів у листі та траві кропиви дводомної флори України.

**Матеріали та методи.** Для здійснення хромато-мас-спектрометричного дослідження використовували повітряно-суху надземну частину кропиви дводомної: листя і траву рослини, що заготовлена в період цвітіння. Під час аналізу зразки екстрагували хлористим метилом у присутності внутрішнього стандарту тридекану, концентрували та хроматографували за допомогою хроматографа Agilent Technology 6890N. Компоненти ідентифікували за використанням бібліотеки мас-спектрів NIST02 і WILEY 2007 у поєднанні з програмами ідентифікації AMDIS і NIST.

**Результати.** Під час досліджень в обох видах сировини кропиви дводомної виявили ідентичні з'єднання, що належать до олефінів, вищих аліфатичних вуглеводнів, фітостеринів тощо. Загальний вміст виділених біологічно активних речовин для листя становив 529,76 мг/кг, для трави – 516,91 мг/кг. Серед них переважали унтріаконтан, нонакозан і транс-неофітадієн. На частку фітостеринів стігмаста-3,5,7-трієна, кампестеролу,  $\beta$ -сітостеролу припадає 16,14 мг/кг для листя та 15,42 мг/кг для трави рослини, що становить майже 3 %.

**Висновки.** Методом хромато-мас-спектрометрії вивчили склад та кількісний вміст фітостеринів у листі та траві кропиви дводомної (*Urtica dioica* L.). У результаті експерименту ідентифіковано три з'єднання стероїдної природи: стігмаста-3,5,7-трієн, кампестерол,  $\beta$ -сітостерол. Кількісний вміст фітостеринів становить майже 3 %.

**Ключевые слова:**

крапива  
двудомная,  
хромато-мас-  
спектрометрия,  
фитостерини.

## Определение содержания фитостеринов в надземной части крапивы двудомной (*Urtica dioica* L.)

Г. П. Смойловская

Крапива двудомная издавна применяется в народной медицине в качестве витаминного и кровоостанавливающего средства. В настоящее время экспериментально доказана гипотензивная, мочегонная, противораковая активность препаратов, произведенных из лекарственного растительного сырья крапивы. Фармакологическая активность листьев крапивы обусловлена содержанием витаминов К<sub>1</sub>, С, флавоноидов, гидроксикоричных кислот, карбоновых кислот, полисахаридов. Использование подземных органов растения в производстве препаратов антинеопластического действия связано в первую очередь

с накоплением фитостероидов. Актуальным является изучение состава и количественного содержания фитостероидов в надземной части растения.

**Цель работы** – определение состава и количественного содержания фитостероидов в листьях и траве крапивы двудомной флоры Украины.

**Материалы и методы.** Для хромато-масс-спектрометрического исследования использовали воздушно-сухую надземную часть крапивы двудомной: листья и траву растения, заготовленного в период цветения. При проведении анализа образцы экстрагировали хлористым метилом в присутствии внутреннего стандарта тридекана, концентрировали и хроматографировали на хроматографе Agilent Technology 6890N. Компоненты идентифицировали с использованием библиотеки масс-спектров NIST02 и WILEY 2007 в сочетании с программами идентификации AMDIS и NIST.

**Результаты.** При исследовании в обоих видах сырья крапивы двудомной были обнаружены идентичные соединения, которые относятся к олефинам, высшим алифатическим углеводородам, фитостеринам и другим. Общее содержание выделенных биологически активных веществ для листьев составило 529,76 мг/кг, для травы – 516,91 мг/кг. Среди них преобладали унтриаконтан, нонакозан и транс-неофитадие. На долю фитостероидов стигмаса-3,5,7-триена, кампестерола,  $\beta$ -ситостерола приходится 16,14 мг/кг для листьев и 15,42 мг/кг для травы растения, что составляет около 3%.

**Выводы.** Методом хромато-масс-спектрометрии проведено изучение состава и количественного содержания фитостероидов в листьях и траве крапивы двудомной (*Urtica dioica* L.). В результате эксперимента идентифицировано три соединения стериоидной природы: стигмаса-3,5,7-триен, кампестерол,  $\beta$ -ситостерол. Количественное содержание фитостероидов составляет около 3%.

Nettle (*Urtica dioica* L.) is a widely-distributed plant, that long-since has been used in folk medicine as vitamin and hemostatic agents [1,2]. Medicinal raw material based on *Urtica dioica* is official in many pharmacopoeias: article «Leaves of *Urtica*» is included in State pharmacopoeia of Ukraine (SPU) second edition, in European pharmacopoeia (8.1), in Britain pharmacopoeia, article «Leaves of *Urtica dioica*» is included in State pharmacopoeia of Russian Federation (13-th edition), article «Rhizome with roots of *Urtica*» is included in American pharmacopoeia, article «Roots of *Urtica*» is in European pharmacopoeia 8.7 [3,4].

Nowadays hypotensive, diuretic and anticarcinogenic effects of drugs manufactured from plant based raw materials of *Urtica* have been experimentally proved. It forms a part of gastric, polyvitaminic and purgative teas.

Pharmacologic activity of *Urtica* leaves is due to the presence of vitamins K<sub>1</sub>, C, flavonoids, hydroxycinnamic acids, carbonic acids, polysaccharides, lectins, macro- and microelements [1,2,5,6]. Using underground parts of plant as antineoplastic drugs is connected with phytosterins accumulation [7,8].

Biological value of phytosterins is determined by their role as precursor for steroids, bile acids and vitamins B in human body. Phytosterins can compete with cholesterol at the period of biological modification and decrease its assimilation.

Phytosterins containing *Urtica dioica* and *Urtica urens* influence positively on testosterone synthesis, its transport and metabolism contributing normalization of prostate function. Moreover carotene and vitamin E content in the plant increases efficiency of phytosterins, normalizes activity of sexual glands and further maintaining of reproductive function. Besides, enteral intake of drugs based on *Urtica* has antibacterial, reparative and tonic properties, stimulates sexual activity, diuretic properties help to decrease edema and toxins elimination from the body, that is, they have complex influence [7,8].

According to references all researches in this option are connected with accumulation of steroids compounds in underground parts of the plant. Thus, study of composition and phytosterins amount in overground part of *Urtica dioica* L. is urgent now.

## Aim

Identification of components and assessment of phytosterins amount in leaves and herb of *Urtica dioica* in Ukrainian flora.

## Materials and Methods

Overground part of *Urtica dioica* L. gathered within blossoming period (July – August) in the South of Ukraine has been used as object for research. Raw materials have been dried in dryer at temperature 50 °C. Air-dry raw materials have been used for analysis.

Identification and assessment of phytosterins amount have been done by gas chromatography-mass spectrometry in a certified center of food products quality control of the National Institute of Grapes and Wine “Magarach”. To realize it accurate amount of raw materials was placed into vial 2 ml volume, then tridecane as internal standard and methylene chloride as vehicle were added. The sample was sustained at temperature 50 °C within 3 hours. The obtained extract was concentrated using especially pure nitrogen to volume 10 ml and was submitted to chromatography on chromato-

**Table 1.** Results of mass-spectrometric research of *Urtica dioica* L. leaves and herb

№ n/n	Compound	Leaves		Herb	
		Mg/kg	% to total	Mg/kg	% to total
1	trans-neophytadiene	125.11	23.62	116.78	22.59
2	cis-trans-neophytadiene	18.07	3.41	16.42	3.18
3	cis-neophytadiene	38.59	7.28	35.91	6.95
4	pentacosane	6.15	1.16	5.71	1.10
5	heptacosane	21.48	4.05	23.32	4.51
6	squalene	19.92	3.76	21.04	4.07
7	nonacosane	101.82	19.22	107.28	20.75
8	stigmas-3,5,7-triene	4.31	0.81	4.12	0.80
9	untriacontane	162.79	30.73	156.47	30.27
10	vitamin E	6.39	1.21	6.49	1.26
11	dotriacontane	6.81	1.29	6.17	1.19
12	tritriacontane	6.49	1.23	5.90	1.14
13	campesterol	2.33	0.44	2.27	0.44
14	$\beta$ -sitosterol	9.50	1.79	9.03	1.75
Total amount		529.76		516.91	

graph Agilent Technology 6890N with mass-spectrometric detector 5973, adapted for the work with capillary columns in programmed conditions. It was used capillary columns DB-5 inner diameter 0.25 mm and length 30 m. Temperature in thermostat was from 50 °C to 320 °C in programmed conditions 4 °C/min. Temperature for heater of leading-in sample was 250 °C. Helium stream rate was 1.2 ml/min. Leading-in of sample into chromatographic column was carried out in splitless conditions.

The components were identified with using register for mass-spectra NIST02 and WILEY 2007 (470000 compounds) in combination with identifying programs AMDIS and NIST. To determine amount (X, mg/kg) the method of inner standard was used.

### Results and Discussion

It was identified 14 compounds in the study of *Urtica dioica* L. overground part (Table 1, Fig. 1, 2), which belong to different groups: olefins (trans-neophytadiene, cis-trans-neophytadiene, cis-neophytadiene), higher aliphatic carbohydrates (pentacosane, heptacosane, nonacosane, untriacontane, dotriacontane, tritriacontane) phytosterins (stigmas-3,5,7-triene, campesterol, β-sitosterol), vitamin E and squalene, intermediate products of cholesterol and steroids metabolism.

Components of *Urtica dioica* L. leaves and herb were the same. The total amount of biologically active substances extracted from the leaves was 529.76 mg/kg, from the herb

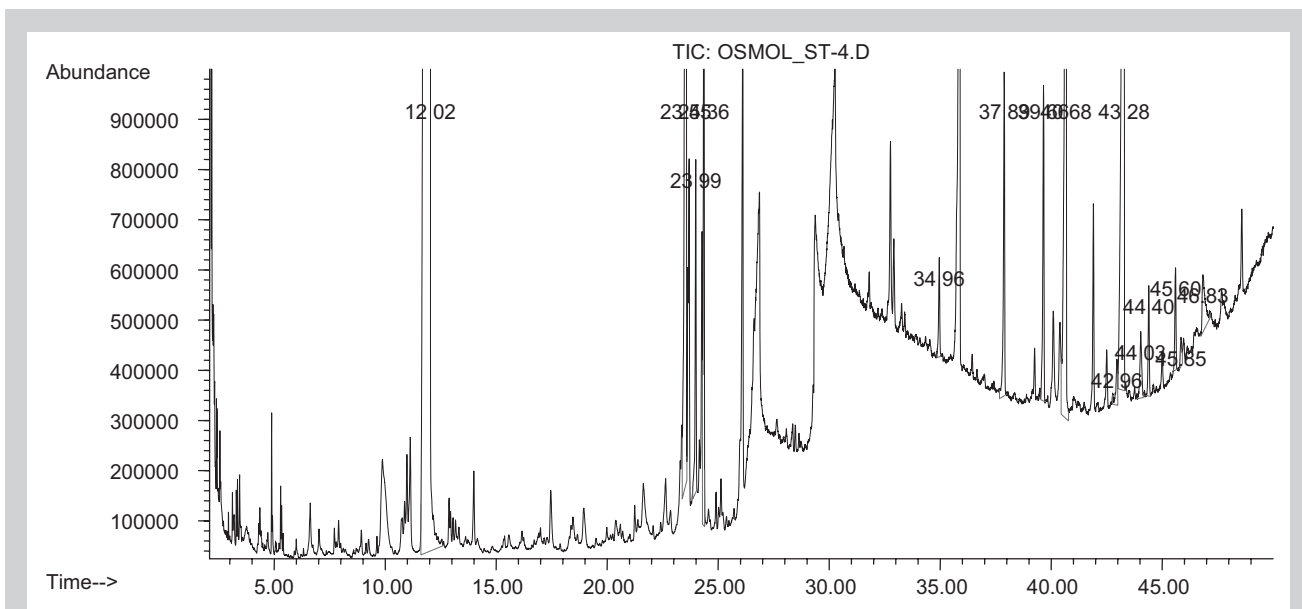


Fig. 1. Chromatogram of *Urtica dioica* L. extract from leaves.

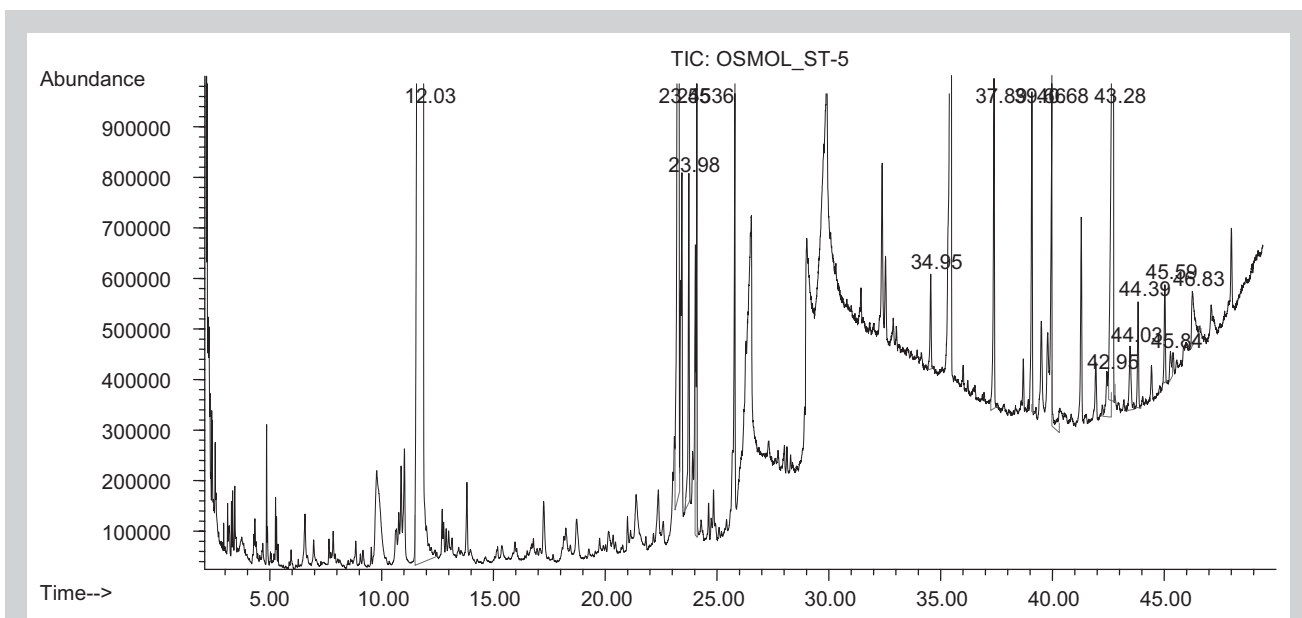


Fig. 2. Chromatogram of *Urtica dioica* L. extract from herb.

was 516.91 mg/kg. Two higher aliphatic carbohydrates were predominant: untriacontane – 162.79 mg/kg for the leaves and 156.47 mg/kg for herb and nonacosane – 101.82 mg/kg and 107.28 mg/kg respectively, then olefin trans-neophytadiene (125.11 mg/kg and 116.78 mg/kg). The least amount has been established for stigmas -3,5,7-triene (0.44 %) and campesterol (0.80–0.81 %)

The leaves contain 16.14 mg/kg phytosterins, the herb contains 15.42 phytosterins, that forms approximately 3 %. Despite slight amount phytosterins are of great importance in physiologic processes, prevent oncologic diseases in prostate and in mammary glands.

The amount of squalene in the leaves of *Urtica dioica* L. is from 19.92 to 21.04 mg/kg, it takes part in steroids synthesis. Its properties are used in the therapy for cardio-vascular diseases and for improving immune response of organism.

## Conclusions

1. Study of composition and amount of phytosterins in herb and leaves of *Urtica dioica* L. has been carried out by chromat-mass-spectrometry.

2. Following experiment three compounds of sterins by nature were identified: stigmas-3,5,7-triene, campesterol,  $\beta$ -sitosterol. Phytosterins amount is 15.42 mg/kg – 16.14 mg/kg that forms approximately 3%.

Findings of the experiments may be used in techniques for monitoring of plant-based medicinal raw materials of *Urtica dioica* L. quality and plant-based medicines for treatment of prostate adenoma in future.

## References

- [1] Nencu, I., Vlase, L., Istudor, V., & Mircea, T. (2015). Preliminary research regarding *Urtica urens* L. and *Urtica dioica* L. *Farmacia*, 63(5), 710–714. [in Russian].
- [2] Smoilovska, G. P. (2015). Doslidzhennia yakisnoho skladu ta kilkisnoho vmistu karbonovykh kyslot v lysti *Urtica dioica* L. [Study for quality and amount of carbonic acids in the leaves of *Urtica dioica* L.]. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*, 3(19), 48–51 [in Ukrainian]. doi: <http://dx.doi.org/10.14739/2409-2932.2015.3.52675>.
- [3] Derzhavne pidpriemstvo „Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv“ (2015). *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy* [State Pharmacopoeia of Ukraine]. Kharkiv [in Ukrainian].
- [4] (2014). *European Pharmacopoeia*. Strasbourg.
- [5] Trineeva, O. V., Slivkin, A. I., & Safonova, E. F. (2015). Opredelenie gidroksikorichnykh kislot, karotinoidov i khlorofilla v list'akh krapivy dvudomnoj (*Urtica dioica* L.) [Determination of hydroxycinnamic acids, carotenoids and chlorophyll in the leaves of stinging nettle (*Urtica dioica* L.)]. *Khimiya rastitel' nogo syr'ya*, 3, 105–110 [in Russian].
- [6] Skalozubova, T. A., Marakhova, A. I., Sorokina, A. A., & Fedorovsky, N. N. (2012). Polisakharidy v list'yakh i nastoe krapivy dvudomnoj [Polysaccharides in stinging nettle (*urtica dioica*) leaves and infusion]. *Farmaciya*, 2, 5–7 [in Russian].
- [7] Balagozyan, E. A., Kurkin, V. A., & Pravdivceva, O. E. (2016). Soderzhanie sterinov v syr'e krapivy dvudomnoj [The content of sterols in the raw materials of *Urtica dioica* L.]. *Khimiya rastitel' nogo syr'ya*, 2, 67–71 [in Russian].
- [8] Balagozyan, E. A., Kurkin, V. A., Pravdivceva, O. E., & Ryzhov, V. M. (2016). *Razrabotka podkhodov k standartizatsii korenevishch s kornyami krapivy dvudomnoj* [Development of approaches to the standardization of the rhizomes and roots of *Urtica dioica* L.]. *Aspirantskiy vestnik Povolzh'ya*, 1–2, 239–241 [in Russian].

## Information about author:

Smoilovska G. P., PhD., Associate Professor, Department of Pharmacognosy, Pharmaceutical Chemistry and Medicinal Preparations Technology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

## Відомості про автора:

Смойловська Г. П., канд. фарм. наук, доцент каф. фармакогнозії, фармхімії і технології ліків, Запорізький державний медичний університет, Україна.

## Сведения об авторе:

Смойловская Г. П., канд. фарм. наук, доцент каф. фармакогнозии, фармхимии и технологии лекарств, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Conflicts of Interest:** author has no conflict of interest to declare.

Надійшло до редакції / Received: 07.12.2016

Після доопрацювання / Revised: 28.12.2016

Прийнято до друку / Accepted: 11.01.2017