

ФАРМАЦЕВТИЧНІ НАУКИ

УДК 615.322:582.998.16].07:577.161.5

НАКОПИЧЕННЯ ВІТАМІНУ K_1 У ТРАВІ ПЕРСПЕКТИВНИХ ВИДІВ РОДУ *ACHILLEA* L.

Дуюн І.Ф., Мазулін О.В., Лукіна І.А.
Запорізький державний медичний університет

Перспективним рослинним джерелом одержання сучасних фітопрепаратів з кровоспинною дією є види роду *Achillea* L. Цей від активності пов'язаний з накопиченням у сировині філохінону (вітаміну K_1). При нестачі речовини спостерігають порушення згортання крові та виникнення кровотеч. Методом спектрофотометрії за запропованою методикою встановлено накопичення вітаміну K_1 в траві видів роду *Achillea* L. Заготовлена рослинна сировина, потребує контролю якості за даним показником.

Ключові слова: кровоспинна дія, вітамін K_1 , спектрофотометричний аналіз, види роду *Achillea* L.

Постановка проблеми. Рід *Achillea* L. (Деревій) відносять до родини Asteraceae L. (Айстрові), триби Anthemideae Cass., підтриби Anthemidae O. Hoffm. Надзвичайно широко розповсюджений в Північній півкулі, де на наш час ідентифіковано до 140 основних видів. Відрізняється надзвичайною морфологічною різноманітністю, яка у світі нараховує більш ніж 200 представників [4, 9, 16, 20]. У сучасній флорі України налічують понад 23 основних виду роду *Achillea* L. В науковий та народній медицині вони широко застосовуються для покращення травлення, прискорення загоєння ран, зупинення кровотеч різної етіології, в якості протизапальних, антигельмінтних засобів [5, 6]. Види роду *Achillea* L. є фармакопейними для медичного та гомеопатичного застосування в Україні, Британії, Швейцарії, Румунії, Австралії, Російській Федерації, Нідерландах, Швеції, Фінляндії [2, 8, 13, 15, 18].

Великий теоретичний і практичний інтерес для заготівлі, вирощування в спеціалізованих господарствах та отримання протизапальних та ранозагоюючих лікарських засобів мають види пізнього терміну цвітіння (липень-жовтень), які накопичують найбільші концентрації біологічно активної ефірної олії.

До них слід віднести види секції *Millefolium* (Mill.) Koch. Ser. *Millefoliatae* DC.: *A. collina* J. Becker ex Reichenh. (д. пагорбовий), *A. inundata* Kondr. (д. заплашний), *A. pannonica* Scheele (д. панонський), *A. styposa* Klok. et Krytzka (д. степовий), *A. nobilis* L. (д. благородний); секції *Micrantha* Klok. et Krytzka: *A. micrantha* Willd. (д. дрібноквітковий); секції *Ochroleuca* Klok. et Krytzka: *A. micranthoides* Klok. et Krytzka (д. подвійний), *A. taurica* Bieb. (д. кримський) [7, 11, 12].

Це багаторічні трав'янисті рослини з цілісним, перисто-розсіченим або перисто-лопатовим листям. Мають висхідні прямостоячі стебла. Суцвіття багатоквіткові, дрібні кошики, які зібрані в загальні щиткові дні суцвіття, рідше поодинокі. Крайові квітки маточкові, язичкові, білі, жовті, рожеві, червоні. Середні двостатеві, трубчасті. Під сім'янка, що не має летючки.

Рослини широко розповсюджені всієї території Європи, Азії, Сибіру, Північній Америці.

Найчастіше зустрічаються: на луках, по степах, лужках, узліссях, пасовищах, біля доріг, на пустирях.

В сучасній офіційній та народній медицині траву рослин та фітопрепарати застосовують в якості лікарських засобів при зупинці кишкових, легневих, носових, маткових, гемороїдальних, ранових кровотеч. Вони також ефективні при лікуванні запальних процесів, фіброміом, надмірних менструацій. Підвищують секреторну активність шлунка, розширюють жовчні протоки та таким чином підвищують жовчовиділення. Нормалізують діяльність моторики шлунково-кишкового тракту, зменшують метеоризм. Препарати з рослинної сировини видів роду *Achillea* L. також призначають при поганому апетиті, гіпоацидному гастриті, виразкових хворобах шлунка та дванадцятипалої кишки, виразкових спастичних колітах, захворюваннях січового міхура, нирок, печінки. Зовнішньо використовують як бактерицидний, кровоспинний, тонізуючий шкіру, протизапальний засіб при надмірній жирності шкіри, герпесі, геморої. Встановлено ефективну терапевтичну дію при загоєнні свіжих і нагноєних ран, виразок, фурункулів, лускатого лишая, стимулюванні росту волосся [5, 6, 13, 14, 15, 17].

В сучасній медицині призначають комплексні препарати з рослинної сировини видів роду *Achillea* L.: настій з трави (1:10), екстракт дерев'я, масляний екстракт дерев'я, протипроносний, протигемороїдальний, апетитний та шлунковий чай (Україна); Ротокан, Вундехил, фитобальзам «Старый рецепт», настойка складна Панкова, Фітон СД (Російська Федерація); Menodoron-Tropfe, Origanal grosser Bittner balsam, (Австрія); Floradix Multipretten Kruuter-Dragees, Siligutal-Tropfen, Doppelherz, Stomachysat Burger, Salus Schafgraben-Tropfen, Befelka-Tinctur, Schamill Schafgarbe-Extrakt, Alasenn Krutergranulat, Dr. Kleinschrod's Cor-Insuffin-Tropfen, Tonzilgon, Salus Schafgraben-Tropfen, Chtsranthol, Kneipp Schafgarbe-Pflanzensaft Frauentrost, Chelidophyt N, Marianon «Dr. Klein» N, Diacur, Cesrasanol, Gallexier (Німеччина); ЛІВ-52 (Індія), Sanofi (Польща), Romazulan (Румунія), Cicaderma (Франція) [10].

Доцільним і обґрунтованим є розробка вдосконалення методики та дослідження накопичення вітаміну K_1 в траві видів роду *Achillea L.* з метою оцінки її потенційної кровоспинної ефективності для отримання екстракційних фітопрепаратів.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Встановлено, що трава видів роду *Achillea L.* містить: ефірну олію, моно-, ди-, три-, сесквітерпеноїди, вітамін K_1 , флавоноїди, дубильні речовини, гіркоти, органічні кислоти, феноли, амінокислоти, жирні кислоти, кумарини, лігніни, ізовалеріанову кислоту, неорганічні елементи [2, 8, 13, 14, 18, 20].

Вітамін K це продукт біологічного синтезу рослин та бактерій, який виявляє виражену протигеморагічну дію, тобто запобігає витіканню крові з судин та попереджає крововиливи й кровотечі. Відомі дві різновиди вітаміну K природного походження. Це K_1 (філохінон), синтезований зеленими рослинами. З хімічної точки зору являє собою 2-метил-3-фітил-1,4-нафтохінон. Вітамін K_2 (менахінон), являє собою продукт синтезу деяких видів мікроорганізмів. Встановлено, що менахінон-4 відтворюється в тканинах тварин з філохінону, які постачається організму з їжею. На наш час відомо ряд похідних нафтохінону, які отримані шляхом синтезу. До них слід віднести вітамін K_3 (2-метил-1,4-нафтохінон), вітамін K_4 (2-метил-1,4-нафтогідрохінон), вітамін K_5 (2-метил-4-аміно-1-нафтогідрохінон), вітамін K_6 (2-метил-1,4-діамінонафтохінон), вітамін K_7 (3-метил-4-аміно-1-нафтогідрохінон).

Вітаміни групи K в дозі 1 мкг/кг ваги тіла людини протягом доби, необхідні організму для нормального утворення в печінці білків плазми крові: проконвертину, протромбіну, факторів Стюарта та Крісмаса. При нестачі речовини, в організмі синтезуються так звані дефектні молекули протромбіну, які не здатні створювати комплекси з іонами кальцію [19].

Вітамін K_1 відносять до поширених у рослинному світі. З лікарських та сільськогосподарських рослин найчастіше застосовують в медицині: деревій звичайний, кропиву дводомну, грицики звичайні, листя люцерна, слані ламінарії, листя шпинату, кукурудзяні рильця, листя люцерна, пагоні вівса, плоди шипшини [10, 19].

За фізико-хімічними властивостями вітамін K_1 являє собою в'язку жовту рідину, т. пл. 20° С, т. кіп. 115-145° С / 0,0002 мм рт. ст.; n_D^{20} 1,5263; $[\alpha]_D^{20} + 8,0^\circ$ (хлороформ); добре розчиняється в петролейному ефірі, хлороформі, етанолі, обмежено у воді. Має максимуми поглинання ($\lambda_{\text{макс.}} = 243, 249, 265, 270, 325$ нм).

Але на наш час не було досліджено накопичення вітаміну K_1 в рослинній сировині багатьох видів вітчизняної флори сучасними фізико-хімічними методами.

Постановка задачі та її розв'язання. Метою роботи є дослідження накопичення вітаміну K_1 методом спектрофотометричного аналізу у траві перспективних видів роду *Achillea L.* пізнього терміну заготівлі (липень-жовтень).

Виклад основного матеріалу дослідження. Траву досліджуваних видів рослин (суцвіття та прилеглі листя) заготовляли під час цвітіння (липень-жовтень) в умовах півдня та південного сходу України (2015-2017 рр.) відповідно до вимог

ДФУ [3]. Сушіння проводили у сушильний шафі «Termolab СНОЛ 24/350» ($t=30-35^\circ$ С) протягом 10 год. Для визначення вмісту вітаміну K_1 у рослинній сировині застосовували метод спектрофотометрії з використанням якості стандартного зразку речовину фірми «Superleko Analytical, Sigma-Aldrich» (USA).

Ідентифікацію вітаміну K_1 у траві досліджуваних видів роду *Achillea L.* здійснювали методом ТШХ на пластинах «Silufol UV-254», «Silufol UV-366», «Sorbfil» ПТСХ-А-УФ та «Merk silica gel F₂₅₄» у системі розчинників бензол: петролейний ефір (1:1). Наважку (1,0 г) подрібненої рослинної сировини до діаметру частинок ($d=1$ мм), вносили до колби місткістю 15 мл, додавали 10 мл н-гексану і перемішували на механічному струшувальному пристрої протягом 10 хв., випарювали на киплячому водяному огрівнику «ВБ-4 micromed» ($t=100^\circ$ С) протягом 5 хв. до 1 мл. 0,1 мл витягу наносили на старту смугу хроматографічних пластин. Підсушували на повітрі 3-5 хв., проводили хроматографічне розділення протягом 30-40 хв. Після закінчення процесу, висувували на пристрої «УСП-2» ООО «ИМИД» при температурі 40° С протягом 2-3 хв. і проглядали в УФ-промені протягом 2 хв. На пластинках спостерігали плями з жовто-зеленою флюоресценцією, що свідчило про присутність вітаміну K_1 ($R_f=0,67$). Паралельно вимірювали R_f 1% розчину стандартного зразку вітаміну K_1 фірми «Superleko Analytical, Sigma-Aldrich» (USA). При подальшому обприскуванні одержаних хроматограм 5% розчином фосфорно-молібденової кислоти спостерігали буре-цегляне забарвлення плям.

Кількісний вміст вітаміну K_1 визначали методом спектрофотометрії на пристрої «Specord-200 Analytic Jena UV-vis» [1].

Точну наважку (0,5 г) досліджуваної рослинної сировини, попередньо подрібненої до діаметру часток ($d=1$ мм), вносили в конічну колбу місткістю 100 мл та екстрагували тричі по 25 мл розчином спирту етилового 96% на киплячому водяному огрівнику «ВБ-4 micromed» ($t=100^\circ$ С) протягом 15 хв., охолоджували. Об'єднані витяги фільтрували крізь фільтр «Filtrak (FN 7)» у колбу місткістю 100 мл, запобігаючи потрапляння рослинної сировини на фільтр, який промивали 10 мл спирту етилового 96%.

У витяг додавали 4 мл розчину свинцю ацетату 10%, нагрівали на киплячому водяному огрівнику «ВБ-4 micromed» ($t=100^\circ$ С) протягом 3 хв. до коагуляції осаду, охолоджували та фільтрували крізь фільтр «Filtrak (FN 7)» у мірну колбу місткістю 100 мл, додавали спирт етиловий 96% до позначки.

5 мл отриманого розчину переносили у мірну колбу місткістю 100 мл та доводили тим же розчинником до позначки.

Оптичну густину розчину вимірювали на спектрофотометрі «Specord-200 Analytic Jena UV-vis» при довжині хвилі ($\lambda=265$ нм) у кюветі з товщиною шару 10 мм. В якості розчину порівняння використовували спирт етиловий 96%.

Паралельно в ідентичних умовах визначали оптичну густину розчину стандартного зразку вітаміну K_1 фірми «Superleko Analytical, Sigma-Aldrich» (USA) (10 мкг/мл). Отримані результати

Таблиця 1

**Кількісний вміст вітаміну К₁ у траві видів роду *Achillea* L. у %, ($\bar{X} \pm \Delta \bar{X}$), n=6,
(липень-серпень), 2015-2017 рр.**

№ з/п	Назва виду	Місце заготівлі	Вміст вітаміну К ₁
1.	Д. пагорбовий (<i>A. collina</i> J. Becker ex Reichenh.)	м. Запоріжжя, о-в Хортиця, 2016 р.	3,31±0,18
2.	Д. заплашний (<i>A. inundata</i> Kondr.)	Дніпропетровська обл., м. Новомосковськ (довк.), 2015 р.	3,68±0,19
3.	Д. панонський (<i>A. pannonica</i> Scheele.)	Запорізька обл., м. Токмак (довк.), 2015 р.	3,71±0,18
5.	Д. степовий (<i>A. steposa</i> Klok. et Krytzka)	Донецька обл., м. Краматорськ (довк.), 2017 р.	2,92±0,14
6.	Д. благородний (<i>A. nobilis</i> L.)	Херсонська обл., м. Новоолексіївка (довк.), 2016 р.	3,14±0,17
7.	Д. дрібноквітковий (<i>A. micrantha</i> Willd.)	Запорізька обл., с. Бабурка, 2015 р.	3,11±0,17
8.	Д. подовий (<i>A. micranthoides</i> Klok et Krytzka)	м. Запоріжжя, о-в Хортиця, 2017 р.	3,92±0,19
9.	Д. кримський (<i>A. taurica</i> Bieb)	Херсонська обл., м. Генічеськ (довк.), 2015 р.	3,07±0,15
10.	<i>A. millefolium</i> L. (д. звичайний)	Зразок ЧАО «Фармацевтична фабрика Віола», м. Запоріжжя, сер. 081017	3,58±0,18

визначення кількісного вітаміну К₁ у траві видів роду *Achillea* L. наведено в таблиці 1.

В результаті проведених досліджень встановлено накопичення вітаміну К₁ під час цвітіння в траві видів роду *Achillea* L. пізнього терміну заготівлі (липень-жовтень). Концентрація речовини коливалась в досліджуваних видах від 2,92±0,14% (д. степовий, *A. steposa* Klok. et Krytzka) до 3,92±0,19% (д. подовий, *A. micranthoides* Klok.).

У більшості досліджуваних видів роду *Achillea* L. накопичення вітаміну К₁ було на рівні або перевищувало показники для трави офіційного виду деревію звичайного (*A. millefolium* L.) (до 3,58±0,18%).

Найбільш перспективними видами, які можуть розширити асортимент лікарських засобів протигеморагічної дії з деревію звичайного є трава деревію подового, панонського, пагорбового.

В зв'язку з високою біологічною активністю вітаміну К₁ доцільним та обґрунтованим є визна-

чення вмісту цієї речовини в траві видів роду *Achillea* L.

Висновки. 1. Методом спектрофотометрії в траві видів роду *Achillea* L. пізнього терміну заготівлі (липень-жовтень) встановлено накопичення вітаміну К₁ в траві рослин від 2,92±0,14% (д. степовий, *A. steposa* Klok. et Krytzka) до 3,92±0,19% (д. подовий, *A. micranthoides* Klok.).

2. У більшості досліджуваних видів роду *Achillea* L. накопичення вітаміну К₁ було на рівні або перевищувало показники для трави офіційного виду деревію звичайного (*A. millefolium* L.) (до 3,58±0,18%).

3. Перспективними видами для розширення асортименту лікарських засобів протигеморагічної дії є трава деревію подового, панонського, пагорбового.

4. В зв'язку з високою біологічною активністю вітаміну К₁ доцільним та обґрунтованим є визначення вмісту речовини в траві видів роду *Achillea* L.

Список літератури:

1. Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств / Под ред. член-кор. НАН Украины В. П. Георгиевского. – Х.: НТМТ, 2011. – Т. 3. – 520 с.
2. Верникова Н. А. Идентификация и хроматографическое определение фенольных соединений в тысячелистнике обыкновенном / Н. А. Верникова, З. А. Темердашев // Аналитика и контроль. – 2012. – Т. 16, № 2. – С. 188-195.
3. Державна Фармакопея України. Доповнення 2 / Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х.: РІРЕГ, 2004. – 617 с.
4. Коротченко І. А. Степова рослинність Київського плато / Т. В. Коротченко, Т. В. Фіцайло // Наукові записки. – 2003. – Т. 21: Біологія та екологія. – С. 20-25.
5. Кортиков В. Н. Полная энциклопедия лекарственных растений / В. Н. Кортиков, А. В. Кортиков. – Ростов н/Д: Феникс, 2008. – 797 с.
6. Кюсев П. А. Лекарственные растения: самый полный справочник / П. А. Кюсев. М.: Эксмо-Пресс, 2011. – 939 с.
7. Определитель высших растений Украины / Д. Н. Доброчаева [и др.]; под. ред. Ю. Н. Прокудина. – К.: Наук. Думка, 1987. – 548 с.
8. Содержание некоторых биологически активных веществ в траве тысячелистника обыкновенного (*Achillea millefolium*), произрастающего в Красноярском крае / Н. В. Шаталина, Г. Г. Первышина, А. А. Ефремов, Г. П. Гордиенко и др. // Химия растительного сырья. – 2002. – № 4. – С. 13-16.
9. Тысячелистники / К. М. Сытник, А. Ф. Андрощук, М. В. Клоков и др. – Киев: Наук. думка, 1984. – 272 с.
10. Фармакогнозія: базовий підруч. для студ. вищ. фармац. навч. закл. (фар мац. ф-тів) IV рівня акредитації / В. С. Кисличенко, І. О. Журавель, С. М. Марчишин та ін.; за ред. В. С. Кисличенко. – Харків: НФаУ: Золоті сторінки, 2015. – 736 с.
11. Цвелев Н. Н. Определитель сосудистых растений Северо-Западной России / Н. Н. Цвелев. – СПб.: Изд-во СПУВА, 2000. – 781 с.
12. Черепанов С. К. Сосудистые растения России и сопредельных государств (в пределах бывшего СССР). Русское издание / С. К. Черепанов. – СПб., 1995. – 992 с.

13. A review on phytochemistry and medicinal properties of the genus *Achillea* / S. Saednia, A. R. Gohari, N. Mokhber-Dezfuli, F. Kluchi // *Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2011. – Vol. 19, № 3. – P. 173-186.
14. Characterization of Volatile Compounds of Eleven *Achillea* Species from Turkey and Biological Activities of Essential Oil and Methanol Extract of *A. hamzaoglu* Arabact & Budak / F. P. Turkmenoglu, O. T. Agar, G. Akaydin, M. Hayran et al. // *Molecules*. – 2015. – Vol. 26, № 20. – P. 11432-11458.
15. Chemical composition and biological activity of the volatile extracts of *Achillea millefolium* / D. Fakconieri, A. Piras, S. Porsedda, B. Marongiu et al. // *Nat. Prod. Commun.* – 2011. – Vol. 6, № 10. – P. 1527-1530.
16. Intraspecific variability of yarrow (*Achillea millefolium* L. s.l.) in respect of developmental and chemical traits / K. Baczek, O. Kosakowska, J. L. Przybyl, P. Kuzma et al. // *Herba Polonica*. – 2015. – Vol. 61, № 3. – P. 37-52.
17. In Vitro Antioxidant and Antifungal Properties of *Achillea millefolium* L. / I. Fierascu, C. Ungureanu, S. M. Avramescu, R. C. Fierascu et al. // *Romanian Biotechnological Letters*. – 2015. – Vol. 20, № 4. – P. 10626-10636.
18. Phenolic compounds from *Achillea millefolium* L. and their bioactivity / S. Vitalini, G. Beretta, M. Iriti, S. Orsenigo et al. // *Acta Biochimica Polonica*. – 2011. – Vol. 58, № 2. – P. 203-209.
19. Phylloquinone (vitamin K₁) content of vegetables / M. Damon, N. Z. Zhang, D. B. Haytowitz, S. L. Booth // *Journal of Food Composition and Analysis*. – 2005. – Vol. 18, № 8. – P. 751-758.
20. The Essential Oil of *Achillea millefolium* L. Cultivated under Tropical Condition in India / M. M. Nadin, A. A. Malik, J. Ahmad, S. K. Bakshi // *World Journal of Agricultural Sciences*. – 2011. – Vol. 7, № 5. – P. 561-565.

Дуюн И.Ф., Мазулин А.В., Лукина И.А.

Запорожский государственный медицинский университет

НАКОПЛЕНИЕ ВИТАМИНА K₁ В ТРАВЕ ПЕРСПЕКТИВНЫХ ВИДОВ РОДА *ACHILLEA* L.

Аннотация

Перспективным растительным источником для получения современных фитопрепаратов с кровоостанавливающим действием являются виды рода *Achillea* L. Этот вид активности связан с накоплением в сырье филлохинона (витамина K₁). При недостатке вещества наблюдают нарушение свертываемости крови и возникновение кровотечений. Методом спектрофотометрии установлено накопление витамина K₁ в траве видов рода *Achillea* L. Заготовленное растительное сырье необходимо контролировать по данному показателю.

Ключевые слова: кровоостанавливающее действие, витамин K₁, спектрофотометрический анализ, виды рода *Achillea* L.

Duyn I.F., Mazulin O.V., Lukina I.A.

Zaporozhye State Medical University

THE ACCUMULATION OF VITAMIN K₁ IN HERBS OF PROMISING SPECIES OF THE *ACHILLEA* L. GENUS

Summary

By a perspective herbal source for the receipt of the modern herbal preparations with haemostatic action there are species of *Achillea* L. genus. This pharmacological activity is related with accumulation in herbal raw material of phylloquinone (vitamin K₁). At the lack of substance the coagulability of blood is violated and there are bleeding. The spectrophotometric method of analysis is set for accumulation of vitamin K₁ in the species of *Achillea* L. genus. The herbal raw material must be controlled for this index.

Keywords: haemostatic action, vitamin K₁, spectrophotometric method of analysis, species of *Achillea* L. genus.