

ИДЕНТИФИКАЦИЯ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНА К₁ В ЩАВЕЛЯ КИСЛОГО ТРАВЕ, ЗАГОТОВЛЕННОЙ НА ТЕРРИТОРИИ АЛТАЙСКОГО КРАЯ

Кутателадзе Г. Р.

Научный руководитель - д. фарм. н., профессор Федосеева Л. М.

ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет», кафедра
фармации, г. Барнаул

Ключевые слова: щавеля кислого трава, витамин К₁, идентификация, количественное содержание.

Резюме: В результате проведенной химической реакции и тонкослойной хроматографии в щавеля кислого траве идентифицирован витамин К₁ (филлохинон). Количественное содержание витамина К₁, установленное хроматоспектрофотометрическим методом, составило от 26,67 до 30,25 мг%.

Summary: As a result of the chemical reaction and thin-layer chromatography, vitamin K₁ (phylloquinone) has been identified in the common sorrel herba. The quantitative content of vitamin K₁, established by the chromato-spectrophotometric method – 26,67 to 30,25 mg%.

Актуальность. Из опыта народной медицины известно, что настой травы щавеля кислого обладает кровоостанавливающим действием и ослабляет повышенную кровоточивость [1]. Согласно данным литературы в траве содержится витамин К₁ (филлохинон) [2]. Доказано, что витамин К₁ (антигеморрагический фактор) участвует в биосинтезе фактора свертывания крови (протромбинового комплекса) [4]. В связи с этим является актуальным провести исследования по обнаружению и количественному определению витамина К₁ в щавеля кислого траве, заготовленной на территории Алтайского края.

Цель: идентификация и количественное определение витамина К₁ в щавеля кислого траве, произрастающего на территории Алтайского края.

Задачи:

1. Идентифицировать витамин К₁ в щавеля кислого траве качественными реакциями и методом тонкослойной хроматографии (ТСХ);
2. Определить количественное содержание витамина К₁ в щавеля кислого траве хроматоспектрофотометрическим методом.

Материалы и методы. В качестве объекта исследования использовали траву щавеля кислого, заготовленную в фазу цветения в 2016-2018 гг. в Алтайском крае.

Для установления наличия витамина К₁ к 5 мл гексанового извлечения (соотношение сырье - экстрагент – 1:10) добавляли 2-3 капли калия гидроксида спиртового раствора и 3 капли 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия раствора водного (2,6 - ДХФИФН) [5].

Фармацевтические науки

Для дальнейшей идентификации витамина K_1 использовали метод ТСХ в системе бензол – петролейный эфир 1:1 [4]. В качестве стандартного образца (СО) использовали 0,1% гексановый раствор рабочего стандартного образца (РСО) витамина K_1 .

Витамин K_1 на хроматограмме детектировали по характерной окраске пятна в УФ-свете при длине волны (λ) 360 нм (желто-зеленая флюоресценция) и по совпадению R_f с пятном СО.

Количественное содержание устанавливали хроматоспектрофотометрическим методом по Кавтарадзе Н.Ш.[6]

Методика: около 1,0 г сырья (точная навеска) помещали в колбу с притертой пробкой вместимостью 50 мл, приливали 10 мл гексана и экстрагировали при неярком свете, встряхивая в течение 1 ч. Полученное извлечение фильтровали через бумажный фильтр, смоченный гексаном. Экстракцию сырья повторяли аналогичным образом еще трижды. Объединенные извлечения сгущали до 2 мл. Остаток количественно переносили в мерную колбу объемом 10 мл и доводили растворителем до метки. На пластинки «Sorbfil» наносили по 0,15 мл полученного извлечений в виде полосы шириной 15 мм. Хроматографию проводили восходящим способом в системе бензол - петролейный эфир (1:1). После прохождения фронтом растворителя примерно 13 см, пластинки вынимали, сушили на воздухе до удаления запаха растворителя и разрезали на 2 части. Одну полосу проявляли в УФ свете при длине волны 365 нм, отмечали положение витамина K_1 (проявился через 2-3 мин в виде желто-зеленого флюоресцирующего пятна). Затем, используя проявленную полосу, на непроявленной отмечали зону, соответствующую витамину K_1 . С отмеченных участков пластинок соскабливали сорбент в колбы, элюировали гексаном дважды (по 2 и 3 мл гексана), встряхивая по 5 мин. Объединенные элюаты фильтровали через бумажный фильтр. Оптическую плотность объединенных элюатов измеряли на спектрофотометре Shimadzu UV-mini 1240 при длине волны (λ) 250 ± 1 нм. В качестве раствора сравнения использовали гексан.

Исследования проводили в пяти повторности. Результаты статистически обрабатывали согласно ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов эксперимента» с использованием ПО «Excel» и статистического пакета «Statistica 7.0» [3].

Результаты и их обсуждение. При проведении качественной реакции с 2,6 - ДХФИФН в щелочной среде калия гидроксида с гексановым извлечением наблюдали появление изумрудно – зеленой окраски, что подтверждает присутствие витамина K_1 в щавеля кислого траве.

При рассмотрении хроматографической пластинки в УФ-свете ($\lambda=360$ нм) в гексановом извлечении из травы щавеля кислого обнаружено пятно желто – зеленого цвета со значением $R_f=0,61 \pm 0,02$, которое совпало с пятном СО витамина K_1 $R_f=0,6 \pm 0,01$ (рисунок 1).

Фармацевтические науки

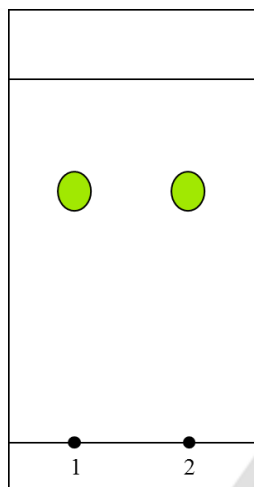


Рис.1 - Хроматограмма гексанового извлечения травы щавеля кислого в системе бензол – петролейный эфир 1:1 в УФ-свете: 1 – гексановое извлечение, 2 – СО витамина К₁

Установлено, что количественное содержание витамина К₁ в щавеля кислого траве, определенное хроматоспектрофотометрическим методом, составило от 26,67 до 30,25 мг% (таблица 1).

Табл. 1 – Результаты определения количественного содержания витамина К₁ в щавеля кислого траве, заготовленной на территории Алтайского края в разные годы

Год заготовки	Метрологические характеристики (n = 5; P = 95%; t _p = 2,78)		
	$\bar{x} \pm \Delta x$ (мг%)	Sx	ε, %
2016	27,45±0,24	0,5781	0,87
2017	30,25±0,21	0,6524	0,70
2018	26,67±0,19	0,5410	0,71

Выводы. По результатам исследования в щавеля кислого траве обнаружен витамин К₁; количественное содержание витамина К₁ в сырье - от 26,67 до 30,25 мг%.

Литература

1. Акопов И.Э. Кровоостанавливающие растения: кровоостанавливающие и другие их лечебные свойства. - Т.: Медицина, 1981. - 296 с.
2. Буданцев А. Л. Растительные ресурсы России. Т 1: Семейства Magnoliaceae - Juglandaceae, Ulmaceae, Moraceae, Cannabaceae, Urticaceae. – СПб.; М.: Товарищество науч. изд. КМК, 2008. – 421 с.
3. Государственная фармакопея Российской Федерации XIII издания [Электронный ресурс] : в 3-х т. – М., 2015. – т. 1. – Режим доступа : http://193.232.7.120/feml/clinical_ref/pharmacopoeia_1/HTML/
4. Дайронас Ж.В., Зилфикаров И.Н. Природные нафтохиноны: перспективы медицинского применения. - Щёлково: Издатель Мархотин П. Ю., 2011. - 252 с.
5. Талыкова Н.М., Беспалова А.К. Обнаружение и количественное определение витамина К₁ в горца птичьего траве // Актуальные проблемы фармакологии и фармации. Ежегодн. сб. науч. и метод. раб. препод., молод. уч. и студ. фармац. фак-та. – 2017 – Вып.14. - С.107 - 112.

Фармацевтические науки

6. Кавторадзе, Н.Ш. Хроматоспектрофотометрический метод определения витамина К₁ в листьях *Urtica dioica* L.// Растительные ресурсы. – 2002 - 38 (4) - С.118-120.

РЕПОЗИТОРИЙ БГМУ