

ХРОМАТО-МАСС–СПЕКТРОМЕТРИЯ ХЛОРОФОРМНОГО ЭКСТРАКТА ТЫСЯЧЕЛИСТНИКА ОБЫКНОВЕННОГО (*ACHILLEA MILLEFOLIUM L.*, СЕМЕЙСТВО АСТРОВЫЕ — *ASTERACEAE*) (сообщение III)

А. А. ХАДАРЦЕВ², Г. Т. СУХИХ³, В. В. ПЛАТОНОВ¹,
М. В. ВОЛОЧАЕВА³, В. А. ДУНАЕВ², В. Е. ФРАНКЕВИЧ³, Ф. С. ДАТИЕВА⁴

¹ ООО «Террапроминвест», Тула

² Тульский государственный университет, медицинский институт, Тула

³ Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии
и перинатологии им. В. И. Кулакова, Москва

⁴ ИМБИ Владикавказского научного центра РАН, Владикавказ, Респ. Северная Осетия-Алания

Цель исследования — детализация сведений об особенностях химического состава и структурной организации различных групп соединений органического вещества тысячелистника обыкновенного, выявление влияния природы экстрагента на качественный состав и количественное содержание экстрагируемых соединений, в полученном хлороформном экстракте, а также определение новых направлений фармакологического действия последнего, расширение набора соединений к уже известным в литературе по фитотерапии. **Материалы и методы исследования.** Химический состав хлороформного экстракта исследовался хромато-масс-спектрометрией при следующих условиях. Химический состав этанольного экстракта тысячелистника обыкновенного использовался хромато-масс-спектрометрией при следующих условиях. Газовый хроматограф GC-2010, соединенный с тройным квадрупольным масс-спектрометром GCMS-TQ-8030 под управлением программного обеспечения GCMS Solution 4.11. Идентификация и количественное определение содержания соединений осуществлялись при следующих условиях хроматографирования: ввод пробы с делением потока (1:10), колонка ZB-5MS (30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм), температура инжектора 280 °С, газ-носитель — гелий, скорость газа через колонку 29 мл/мин. **Результаты и их обсуждение.** Проведены результаты исследования химического состава хлороформного экстракта тысячелистника обыкновенного методом хромато-масс-спектрометрии, позволившей идентифицировать 94 индивидуальных соединения, для которых определено количественное содержание, получены масс-спектры и структурные формулы, выполнен расчет структурно-группового состава экстракта. Характерной особенностью данного экстракта является доминирование углеводов — 36,00 и кремнийорганических соединений — 27,24 (масс.% от экстракта), соответственно. Остальные группы соединений распределились следующим образом (масс.% от экстракта): сложные эфиры — 17,91; карбоновые кислоты — 6,93; стерины — 4,71; спирты — 3,99; кетоны — 0,99; азот- и серосодержащие — 4,34; отсутствуют глюкозиды и фенолы. Обогащенность экстракта терпенами, *n*-и-изоалканами, алкинами, ненасыщенными карбоновыми кислотами и спиртами, эфирами щавелевой и бензойной кислот, наличие в их составе брома и фтора, а также широким набором кремнийорганических соединений предполагает специфичность фармакологического действия хлороформного экстракта тысячелистника обыкновенного. **Заключение.** Впервые изучен химический состав хлороформного экстракта — продукта последовательной исчерпывающей экстракции тысячелистника обыкновенного методом хромато-масс-спектрометрии, позволяющий идентифицировать 94 индивидуальных соединений, для которых получены масс-спектры и структурные формулы, определено количественное содержание, выполнен расчет структурно-груп-

пового состава экстракта. Основу состава хлороформного экстракта определяют углеводороды, обогащенные аренами, алкенами и алкинами, сложные эфиры, образованные, в основном, щавелевой и бензойной кислотами, полиненасыщенные жирные карбоновые кислоты, стероидные соединения, спирты, азотсодержащие структуры, включающие отдельные фрагменты природных алкалоидов, а также разнообразные кремнийорганические соединения, которые определяют основные направления фармакологического действия различных препаратов тысячелистника обыкновенного, в том числе и хлороформного экстракта.

Ключевые слова: тысячелистник обыкновенный, хлороформный экстракт, хромато-масс-спектрометрия.

Цель исследования — детализация сведений об особенностях химического состава и структурной организации различных групп соединений органического вещества тысячелистника обыкновенного, выявление влияния природы экстрагента на качественный состав и количественное содержание экстрагируемых соединений, в полученном хлороформном экстракте, а также определение новых направлений фармакологического действия последнего, расширение набора соединений к уже известным в литературе по фитотерапии.

Пробная характеристика химического состава и фармакологического действия тысячелистника обыкновенного дана в [1–9].

Материалы и методы исследования. Твердый остаток сырья, после его исчерпывающей последовательной экстракции н-гексаном и толуолом, высушивался до постоянной массы, взвешивался и подвергался экстракции при температуре кипения хлороформа в экстракте Сокслета, которая продолжалась до достижения значения коэффициента преломления экстрагента, равного его исходному значению. Продолжительность экстракции — 32 часа. Затем хлороформ отгонялся с использованием вакуумного роторного испарителя, полученный остаток в виде темно-зеленого маслянистого продукта дополнительно выдерживался в вакуумном сушильном шкафу до полного удаления хлороформа, охлаждался и взвешивался с определением выхода экстракта.

Химический состав хлороформного экстракта исследовался хромато-масс-спектрометрией при следующих условиях.

Химический состав этанольного экстракта тысячелистника обыкновенного использовался хромато-масс-спектрометрией при следующих условиях.

Газовый хроматограф GC-2010, соединенный с тройным квадрупольным масс-спектрометром GCMS-TQ-8030 под управлением программного обеспечения (ПО) GCMS Solution 4.11.

Идентификация и количественное определение содержания соединений осуществлялись при следующих условиях хроматографирования: ввод пробы с делением потока (1:10), колонка ZB-5MS (30м × 0.25 мм × 0.25 мкм), температура инжектора 280 °С, газ-носитель — гелий, скорость газа через колонку 29 мл/мин.

Регистрация аналитических сигналов проводилась при следующих параметрах масс-спектрометра: температура переходной линии и источника ионов 280 и 250 °С, соответственно, электронная ионизация (ЭИ), диапазон регистрируемых масс от 50 до 500 Да.

Результаты и их обсуждение. Хроматограмма хлороформного экстракта дана на рис.

Перечень идентифицированных индивидуальных соединений, их количественное содержание приведены в табл., которая была использована для расчета структурно-группового состава экстракта.

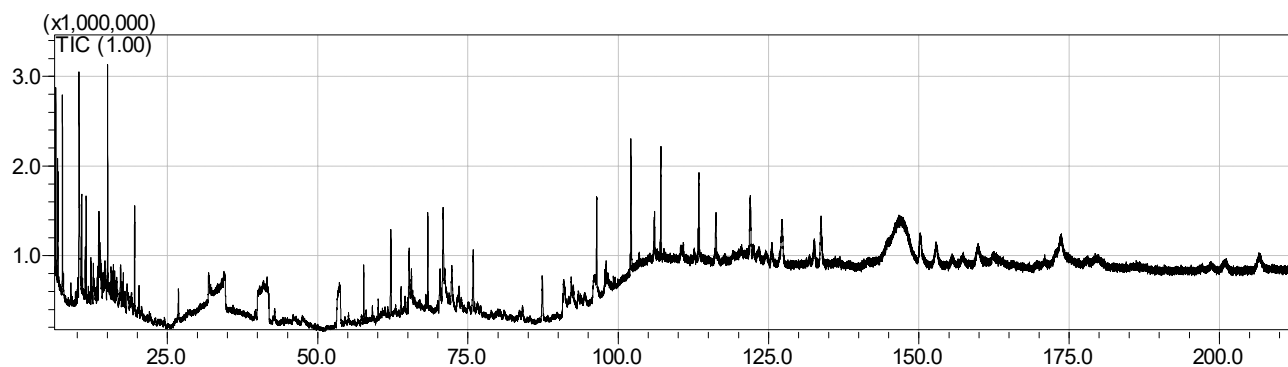


Рис. Хроматограмма

Таблица

Список соединений

1	6.432	2,23	Ethylbenzene
2	6.751	1,41	<i>o</i> -Xylene
3	6.790	1,1	Benzeneethanol, α , β -dimethyl-
4	7.534	2,69	<i>o</i> -Xylene
5	7.739	0,19	Oxalic acid, isobutyl nonyl ester
6	8.963	0,29	Octane, 2,3,7-trimethyl-
7	10.006	0,15	2-Propyl-1-pentanol
8	10.077	0,27	Benzene, 1-ethyl-3-methyl-
9	10.142	0,24	Oxalic acid, isobutyl nonyl ester
10	10.297	5,72	Phenylglyoxal
11	10.768	1,42	Cyclotetrasiloxane, octamethyl-
12	10.879	0,31	Cyclopentane, 1,2-dimethyl-3-(1-methylethyl)-
13	11.029	0,15	Cyclopentane, 2-isopropyl-1,3-dimethyl-
14	11.134	0,14	5-Hepten-1-ol, 2-ethenyl-6-methyl-
15	11.340	0,71	Benzene, 1,2,4-trimethyl-
16	11.483	1,14	Oxalic acid, isobutyl octyl ester
17	11.846	0,11	Bicyclo[4.1.0]hept-3-ene, 7,7-dimethyl-3-vinyl-
18	12.135	0,14	Nonane
19	12.267	0,51	Oxalic acid, 2-ethylhexyl ethyl ester
20	12.327	0,42	Benzene, 1-ethyl-2-methyl-
21	12.461	0,25	Benzene, 1-methyl-3-(1-methylethyl)-
22	12.668	0,51	Cyclohexanemethanol
23	12.857	0,28	Sulfurous acid, butyl nonyl ester
24	12.914	0,19	5-Undecene, 4-methyl-
25	13.385	0,65	Benzene, 1-methyl-3-propyl-
26	13.572	1,87	Nitrous acid, 3-phenylpropyl ester
27	13.642	1,93	<i>p</i> -Octyloxybenzonnitrile
28	13.810	0,83	1-Decene, 4-methyl-
29	13.895	0,99	Benzene, (1-methylpropyl)-
30	14.024	0,84	Octane, 3-ethyl-2,7-dimethyl-
31	14.284	0,54	Benzene, 1-ethyl-2,3-dimethyl-
32	14.391	0,53	1,3,8- <i>p</i> -Menthatriene
33	14.532	0,67	Cyclopentane, 1-hexyl-3-methyl-
34	14.606	0,87	Benzene, 4-ethyl-1,2-dimethyl-
35	14.725	0,92	1-Cyclohexyl-1-(4-methylcyclohexyl)ethane
36	14.965	0,55	7-Oxabicyclo[4.1.0]heptan-2-one, 6-methyl-
37	15.073	3,04	Oxalic acid, isobutyl nonyl ester
38	15.269	0,44	Spiro[3.5]nona-5,7-dien-1-one, 5,9,9-trimethyl-
39	15.637	0,81	<i>trans</i> -2-Undecen-1-ol
40	15.771	0,63	Farnesene epoxide, E-
41	15.913	0,4	Benzene, 1,2,4,5-tetramethyl-
42	16.013	0,7	1-Undecene, 4-methyl-
43	16.431	0,56	Vinylcyclohexyl ether
44	16.579	0,58	7-Heptadecene, 17-chloro-
45	16.692	0,41	4-Phenyl-2-butanol
46	17.053	0,26	1 <i>H</i> -Indene, 2,3-dihydro-5-methyl-
47	17.218	1,13	1,7,7-Trimethyl-2-vinylbicyclo[2.2.1]hept-2-ene
48	17.426	0,37	Benzeneacetic acid, 2-tridecyl ester
49	17.669	0,49	Decane, 3-methyl-
50	17.803	0,18	Benzene, 1,2-diethyl-
51	17.960	0,26	Hydroxylamine, O-decyl-
52	18.265	0,67	Allyl <i>o</i> -tolyl ether
53	18.786	0,47	3-Trifluoroacetoxypentadecane
54	19.551	1,96	Tridecane
55	20.264	0,68	Decane, 2,6,7-trimethyl-
56	22.013	0,23	Octanoic acid, cyclohexyl ester
57	24.498	0,11	Octane, 2,3,3-trimethyl-
58	26.834	0,64	Oxalic acid, isobutyl nonyl ester
59	31.861	1,08	Hydrocoumarin
60	40.027	0,77	Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl-
61	42.846	0,33	Ylangene
62	57.665	1,36	3-Tridecene
63	58.067	0,33	1,2- <i>trans</i> -1,5- <i>trans</i> -2,5-dihydroxy-4-methyl-1-(1-hydroxy-1-isopropyl)cyclohex-3-ene
64	59.095	0,33	7-Octadecyne, 2-methyl-
65	60.059	0,45	7-Octadecyne, 2-methyl-
66	62.154	2,49	Cyclodecasiloxane, eicosamethyl-
67	63.858	0,57	Dibutyl phthalate
68	64.538	0,37	Caryophyllene
69	65.190	2,24	<i>n</i> -Hexadecanoic acid
70	65.606	1,45	Ethyl 14-methyl-hexadecanoate
71	65.801	0,5	Decane, 3,7-dimethyl-
72	68.338	1,95	Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl-
73	69.973	0,18	10-Heneicosene (c, t)
74	70.876	4,45	10,12,14-Nonacosatriynoic acid
75	73.513	0,94	Bicyclo[10.1.0]tridec-1-ene
76	75.854	2,16	Cyclononasiloxane, octadecamethyl-
77	84.082	0,48	2-Bromo dodecane
78	87.377	1,83	Cyclononasiloxane, octadecamethyl-
79	92.190	1,38	9-Tricosene, (Z)-
80	92.495	0,83	Octadecane, 1-chloro-
81	96.416	2,66	Cyclononasiloxane, octadecamethyl-
82	97.764	0,59	9-Tricosene, (Z)-

83	97.994	0,87	<i>Tridecanol, 2-ethyl-2-methyl-</i>
84	99.199	0,24	<i>2-((Octan-2-yloxy)carbonyl)benzoic acid</i>
85	99.464	0,3	<i>9-Eicosyne</i>
86	102.118	3,3	<i>Cyclononasiloxane, octadecamethyl-</i>
87	106.036	1,37	<i>2-methylhexacosane</i>
88	107.093	2,68	<i>Cyclononasiloxane, octadecamethyl-</i>
89	113.412	2,89	<i>Cyclononasiloxane, octadecamethyl-</i>
90	116.242	1,99	<i>Tetracontane</i>
91	121.924	3,03	<i>Tetracosamethyl-cyclododecasiloxane</i>
92	127.215	3,3	<i>Cholest-5-en-3-ol (3.beta.)-, carbonochloridate</i>
93	132.577	1,47	<i>2-methylhexacosane</i>
94	150.238	2,06	<i>Tetracosamethyl-cyclododecasiloxane</i>

Группы соединений по их количественному содержанию в экстракте распределились соответственно (масс.% от экстракта): углеводороды — 36,00; кремнийорганические соединения — 27,24; сложные эфиры — 17,91; карбоновые кислоты — 6,93; стеринны — 4,71; азот- и серосодержащие соединения — 4,34; спирты — 3,99; кетоны — 0,99, гликозиды и фенолы — отсутствовали.

В составе углеводородов — 11,61 аренов, представленных производными бензола с различным расположением алкильных заместителей от (C1 до C4) нормального и изостроения: n-алканы (C9-C34) — 5,40; изоалканы — 5,75; n-и изоалканы (C11-C23) — 6,34, отдельные из которых содержат в углеводородной цепи до трех двойных связей; алкины (C19, C20) — 1,08; терпены (*Fornesen epoxid* и *Caryophyllen*) — 1,00; циклоалканы — 4,82 (масс.% от экстракта), соответственно.

Кремнийорганические соединения имеют достаточно сложный структурный состав: от *Cylotrasiloxam octamethyl* до *Tetracosamethyl cyclo dodecascloxan*.

Сложные эфиры на 25,8% образованы *Oxalic acid*, до 31,90% *Phngnylgt* остальные — *Benzeneacacetic*, *Octonoic*, *Nitrous u Sulfurous acid* большинство которых образуются в живом организме в результате биохимических ферментативных и гидролитической переэтерификации, принимая участие в различных физиологических процессах.

Среди свободных карбоновых кислот важное значение имеет 10,12,14 — *Nonacosatriynoic acid*, содержащая три тройные связи, ее содержание составляет — 64,21 (масс.% от суммы кислот), также присутствуют: *Hexadecanoic* (32.32%) и 2 — (*octan — 2-yloxy) carbobonyl) benzoic acid* (3.47%).

Роль стериннов, в основном, будет определяться в фармакологическом действии хлороформного экстракта: *Cholest — 5-en — 3-ol, (3.β) —, Carbonochloridat*, на долю которого приходится (70,0%) (масс.% от стериннов).

Спирты имеют сложное строение, являясь производными бутанола, пентанола, ун- и тридеканола; также присутствуют: *Cyclohexametanol*, *Benzeneethanol*, α , β , — *dimethyl*.

Сложное строение характерно для кетонов, представленных двумя соединениями: *7-oxabicyclo [4.1.0].heptan — z-jne-6-methyl u spiro [3.5].nona — 5,7 — dien-1-one-5,99- trimethyl*, содержащиеся в количестве 0,55 и 0,44 (масс.% от экстракта), соответственно.

Азот- и серосодержащие соединения (масс.% от экстракта) *n — Octyloxybenxonitril* — (1,93); *Nitrous acid, 3- phenylpropyl ester* (1,87); *Hidroxyamin, O-decyl* (0,26) и *Sulfurous acid, butyl nonyl ester* (0,28).

Представленный выше набор соединений различных классов, идентифицированных в хлороформном экстракте, существенно отличается структурой их молекул, указывает на достаточно сложный состав органического вещества тысячелистника обыкновенного, и как результат этого, отмечающийся широкий спектр фармакологического действия препаратов, полученных с использованием данного лекарственного растения.

Особое значение в направлении фармакологического действия, именно, хлороформного экстракта тысячелистника обыкновенного имеет наличие в его составе различных по структуре углеводородов, кремний-, азот- и серосодержащих соединений, сложных эфиров, карбоновых кислот, стериннов и спиртов. Каждая из этих групп соединений проявляет определенное воздействие, на тот или иной, орган живого организма, но обязательно, при строгой взаимосвязи друг с другом, так как, только в этом случае, достигается необходимое физиологическое действие на организм человека в целом.

Выводы.

1. Впервые изучен химический состав хлороформного экстракта — продукта последовательной исчерпывающей экстракции тысячелистника обыкновенного методом хромато-масс-спектрометрии, позволяющий идентифицировать 94 индивидуальных соединений, для которых получены масс-спектры и структурные формулы, определено количественное содержание, выполнен расчет структурно-группового состава экстракта.

2. Основу состава хлороформного экстракта определяют углеводороды, обогащенные аренами, алкенами и алкинами, сложные эфиры, образованные, в основном, щавелевой и бензойной кислотами, полиненасыщенные жирные карбоновые кислоты, стероидные соединения, спирты, азотсодержащие структуры, включающие отдельные фрагменты природных алкалоидов, а также разнообразные кремнийорганические соединения,

которые определяют основные направления фармакологического действия различных препаратов тысячелистника обыкновенного, в том числе и хлороформного экстракта.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Дьякова Н.А., Великанова Л.А., Шишорина Л.А., Бобина Е.А. Особенности накопления флавоноидов травой тысячелистника обыкновенного синантропной флоры центрального черноземья. В книге: *Фундаментальная наука и клиническая медицина — человек и его здоровье. XXIII Международная медико-биологическая конференция молодых исследователей, посвященная 25-летию медицинского факультета СПбГУ. Материалы научной конференции.* 2020. С. 248–249.
2. Колпакова М.А. Химико-фармакогностическая характеристика сырья тысячелистника обыкновенного // *Бюллетень медицинских интернет-конференций.* 2019. Т. 9. № 2. С. 66.
3. Кузьмина Н.В., Платонов Т.А., Ньюканов А.Н. Применение тысячелистника обыкновенного при лечении желудочно-кишечных заболеваний телят. В сборнике: *Современные вопросы ветеринарии Республики Саха (Якутия). Сборник материалов научно-методической конференции факультета ветеринарной медицины, посвященной 75-летию Победы в Великой Отечественной войне.* Под редакцией М.Ф. Сидорова. 2020. С. 187–188.
4. Курченко В.П., Сушинская Н.В., Чубарова А.С., Тарун Е.И., Куприянов А.Н., Хрусталева И.А., Бондарук А.М., Цыганков В.Г., Журихина Л.Н., Филонюк В.А., Шабуня П.Г. Состав биологически активных веществ экстрактов цветов тысячелистников аборигенной флоры Беларуси, Казахстана и России, их антиоксидантные свойства и токсичность // *Экобиотех.* 2019. Т. 2. № 3. С. 286–292.
5. Лекарственные растения в онкологии./В.Ф. Корсун, К.А. Трескунов, Е.В. Корсун, А. Мицконас, ред. В.Ф. Корсун — 2-е изд. испр. И дополненное Эко-Вектор, 2017. — 432.: ил.
6. Луковикова А.И., Ким Н.Е. Влияние способа и сроков хранения на содержание эфирных масел в образцах тысячелистника обыкновенного (*achillea millefolium* L.) и полыни понтийской (*artemisia pontica* L.). В сборнике: *Химия и жизнь. Сборник XVII Международной научно-практической студенческой конференции.* 2018. С. 189–195.
7. Мешкова А.Д. Изучение сырья тысячелистника, как источника биологически активных веществ. В сборнике: *ИНСТРУМЕНТЫ И МЕХАНИЗМЫ УСТОЙЧИВОГО ИННОВАЦИОННОГО РАЗВИТИЯ.* сборник статей по итогам Всероссийской научно-практической конференции. Стерлитамак, 2020. С. 57–60.
8. Чемарев А.П. Фармакогностический анализ сырья лекарственных растений, применяемых для лечения заболеваний печени и желчевыводящих путей: бессмертника песчаного (*helychrisum arenarium* L. moench.), пижмы обыкновенной (*tanacetum vulgare* L.), тысячелистника обыкновенного // *Бюллетень медицинских интернет-конференций.* 2017. Т. 7. № 6. С. 1255.
9. Чусовитина К.А., Карпунин М.Ю. Фармакологические особенности тысячелистника обыкновенного (*achillea millefolium* L.) // *Аграрное образование и наука.* 2019. № 4. С. 31.

CHROMATOGRAPHY AND MASS SPECTROMETRY OF CHLOROFORM EXTRACT OF YARROW (ACHILLED MILLEFOLIUM L. COMMON DANDELION) (message III)

A. A. KHADARTSEV, G. T. SUKHIKH, V. V. PLATONOV,
M. V. VOLOCHAEV, V. A. DUNAEV, V. E. SHE, F. S. DATIEVA

The purpose of the study is to detail the information about the peculiarities of the chemical composition and structural organization of different groups of compounds of organic matter, yarrow, revealing the influence of nature of the extractant on the qualitative composition and quantitative content of extractable compounds in the obtained chloroform extract, and identifying new pharmacological actions of the latter, the extension of the range of compounds already known in the literature on herbal medicine. Materials and methods of research. The chemical composition of the chloroform extract was studied by chromatography-mass spectrometry under the following conditions. The chemical composition of the ethanol extract of yarrow was used by chromatography-mass spectrometry under the following conditions. GC-2010 gas chromatograph connected to a triple quadrupole mass spectrometer GCMS-TQ-8030 running GCMS Solution 4.11 software. Identification and quantitative determination of the content of compounds were performed under the following chromatography conditions: sample input with flow division (1:10), ZB-5MS column (30m × 0.25 mm × 0.25 mm), injector temperature 280 °C, carrier gas-helium, gas velocity through the column 29 ml/min. Results and discussion. The results of the study of the chemical composition of chloroform extract of yarrow by chromatography-mass spectrometry, which allowed to identify 94 individual compounds for which the quantitative

content was determined, mass spectra and structural formulas were obtained, and the structural group composition of the extract was calculated. A characteristic feature of this extract is the dominance of carbohydrates-36.00 and organosilicon compounds-27.24 (wt.% of the extract), respectively. The remaining groups of compounds were distributed as follows (mass.% of extract): esters –17.91; carboxylic acids-6.93; sterols-4.71; alcohols-3.99; ketones-0.99; nitrogen-and sulfur-containing-4.34; no glucosides and phenols. The richness of the extract with terpenes, n-and-isoalkenes, alkynes, unsaturated carboxylic acids and alcohols, esters of oxalic and benzoic acids, the presence of bromine and fluorine in their composition, as well as a wide range of organosilicon compounds suggests the specificity of the pharmacological action of chloroform extract of yarrow. Conclusion. For the first time, the chemical composition of chloroform extract, a product of sequential exhaustive extraction of yarrow by chromatography — mass spectrometry, was studied, which allows identifying 94 individual compounds for which mass spectra and structural formulas were obtained, the quantitative content was determined, and the structural and group composition of the extract was calculated. The basis of the composition of the chloroform extract is determined by hydrocarbons enriched with arenes, alkenes and alkynes, esters formed mainly by oxalic and benzoic acids, polyunsaturated fatty carboxylic acids, steroid compounds, alcohols, nitrogen-containing structures that include individual fragments of natural alkaloids, as well as a variety of organosilicon compounds that determine the main directions of pharmacological action of various yarrow preparations, including chloroform extract.

Keywords: yarrow, chloroform extract, chromatography and mass spectrometry.