

Н. К. Дуйшеналиев (асп.)¹, С. Р. Хасанова (д.фарм.н., проф.)²,
Н. В. Кудашкина (д.фарм.н., проф., зав. каф.)², А. Д. Мураталиева (к. фарм. н., доц., зав. каф.)¹,
Т. В. Булгаков (к.фарм.н., вед. спец.)³, Д. Р. Сулейманова (студ.)², П. А. Андросова (студ.)²

ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИПОФИЛЬНОЙ ФРАКЦИИ ТРАВЫ *ARTEMISIA ANNUA L. (ROSACEAE)* МЕТОДОМ ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ С МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИМ ДЕТЕКТИРОВАНИЕМ

¹ Кыргызская государственная медицинская академия имени И.К. Ахунбаева,
кафедра фармакогнозии и химии лекарственных средств

720020, Кыргызская Республика, г. Бишкек, ул. И. Ахунбаева, 92; e-mail: akhunbaev@kgma.kg

² Башкирский государственный медицинский университет Минздрава России, кафедра фармакогнозии
с курсом ботаники и основ фитотерапии 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3; e-mail: svet-khasanova@yandex.ru

³ Национальная антидопинговая лаборатория (Институт)

Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова

105005, г. Москва, Елизаветинский переулок, дом 10, стр. 1; e-mail: tricster@inbox.ru

N. K. Duishenaliev¹, S. R. Khasanova², N. V. Kudashkina², A. D. Muratalieva¹,
T. V. Bulgakov³, D. R. Suleymanova², P. A. Andresova²

STUDY OF THE LIPOPHILIC FRACTION OF THE HERB *ARTEMISIA ANNUA L. (ROSACEAE)* BY GAS CHROMATOGRAPHY WITH MASS SPECTROMETRIC DETECTION

¹ Kyrgyz State Medical Academy I.K. Akhhunbayev

92, I. Akhunbayeva Str., 720020, Bishkek, Kyrgyz Republic; e-mail: akhunbaev@kgma.kg

² Bashkir state medical University of the Ministry of health of the Russian Federation
3, Lenina Str., 450008, Ufa, Russia; e-mail: svet-khasanova@yandex.ru

³ National Anti-Doping Laboratory (Institute) of Lomonosov Moscow State University
house 10, building 1, Elizavetinskiy Pereulok Str., 105005, Moscow, Russia; e-mail: tricster@inbox.ru

Приводятся данные экспериментальных исследований химического состава липофильных веществ *Artemisia annua L.* методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. Получено 48 сигналов веществ, из которых идентифицировано 19 соединений. Преобладающими соединениями являются артеаннуиновая кислота, артеаннуин B и 4-гидрокси-5-метокси-5-метилбензальдегид, концентрация которых более 7%. Основными сесквитерпеновыми лактонами *A. annua*, согласно полученным данным, являются: артемизин кетон, β -селинен, дигидроартемизиновая, артеаннуиновая, гидроксивалериановая кислоты, 4-эпикубедол, чьяпин B, дезоксиартемизинин, артеаннуин B, артемизин D.

Ключевые слова: *Artemisia annua*; артеаннуин B; артемизин; артемизиновая кислота; газовая хроматография; дигидроартемизиновая кислота; липофильная фракция; масс-спектрометрия; сесквитерпеновые лактоны; хемотип.

The article discusses experimental studies on the chemical composition of lipophilic substances *Artemisia annua L.* The studies were carried out using the method of gas chromatography with mass spectrometry. 48 signals of substances were received, of which 19 compounds were identified. The main compounds are arteanuic acid, arteannuin B and 4-hydroxy-5-methoxy-5-methylbenzaldehyde (about 7%). The main sesquiterpene lactones are *A. annua*, are artemisia ketone, β -selinene, dihydroartemisinic acid, arteanuic acid, hydroxyverenic acid, 4-epicubedol, chiapin B, deoxyartemisinin, arteannuin B, artemisin D.

Key words: *Artemisia annua*; arteannuin B; artemisic acid; artemisin; chemotype; dihydroartemisinic acid; gas chromatography; lipophilic fraction; mass spectrometry; sesquiterpene lactones.

Дата поступления 12.05.22

Одной из групп природных веществ, имеющих большое структурное разнообразие, являются сесквитерпеновые γ -лактоны. В течение последних десятилетий они являются объектами для огромного числа научных исследований, главным образом из-за того, что многие из них проявляют различные виды биологической активности и имеют низкую токсичность¹. В настоящий момент, сесквитерпеновые γ -лактоны одна из самых больших биогенетически однородных групп биологически активных вторичных метаболитов. В настоящее время известно около 6000 различных сесквитерпеновых структур. Большая часть данных соединений накапливается в основном в растениях семейства *Asteraceae*, которое по праву считается основным «хранилищем» структурного разнообразия сесквитерпеновых γ -лактонов. Представители сесквитерпеновых γ -лактонов широко применяются в медицине для лечения воспалительных заболеваний. В последние годы противораковые свойства различных сесквитерпеновых γ -лактонов привлекают большой интерес ученых и исследователей всего мира². С целью изучения механизмов противоопухолевого действия и возможности применения для химиопрофилактики сесквитерпеновых лактонов проводятся обширные фармакологические исследования, о чем свидетельствует большое число публикаций, посвященных данной теме^{3, 4}. Также структурное разнообразие данного класса соединений позволяет использовать их в качестве исходных объектов для изучения механизмов и стереохимии многих органических реакций, а также синтезировать на их основе большое число веществ с потенциальной биологической активностью.

Полынь однолетняя *Artemisia annua* L. – растение семейства *Asteraceae* имеет широкий ареал произрастания и встречается повсеместно. В последние годы ученые всего мира изучают как химический состав, так и фармакологические свойства этого растения^{5, 6}. Одной из причин этого является тот факт, что китайскими учеными из этого растения был выделен основной компонент эфирного масла – сесквитерпеновый лактон артемизинин, и впоследствии установлены его противомаларийные свойства. За это открытие они получили Нобелевскую премию по медицине в 2015 г.⁷. Также у данного вида полыни обнаружен целый ряд фармакологических свойств, обусловленные преимущественно сесквитерпеновыми лактонами^{8–14}.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования стала трава полыни однолетней *Artemisia annua* L. семейства *Asteraceae*. Трава *A. annua* представляла собой

верхнюю наземную часть (20–25 см) дикорастущего растения, заготовленного в Кыргызской Республике в период цветения растения в 2019 г. Идентификацию *A. annua* проводили по определителю видов¹⁵. Наземную часть *A. annua* высушивали воздушно-теньевым способом. Пробы наземной части *A. annua* заливали петролейным эфиром в соотношении 1:10 и выдерживали 7 дней в защищенном от света месте при комнатной температуре. Затем полученные извлечения фильтровали и использовали для исследования методом хромато-масс-спектрометрии.

Исследование объектов проводили на газовом хроматографе Agilent Technologies модели 6890N с масс-селективным детектором фирмы Agilent Technologies модели 5973, при следующих условиях: колонка – кварцевая капиллярная DB-5MS (30 м × 0.25 мм, толщина пленки фазы – 0.25 мм); температура инжектора 280 °C; температура интерфейса детектора 280 °C; температурная программа анализа – нагрев от 60 °C (выдержка 3 мин) до 250 °C (выдержка 10 мин), скорость нагрева колонки 10 °C / мин; газ-носитель – гелий (марка 6.0 (99.95%)); объем пробы – 1 мкл с делением потока (1:30); режим работы детектора – ионизация электронным ударом (70 эВ), регистрация масс-спектров в диапазоне m/z 40–1050 а.е.м.; задержка детектирования на разрывитель – 3 мин.

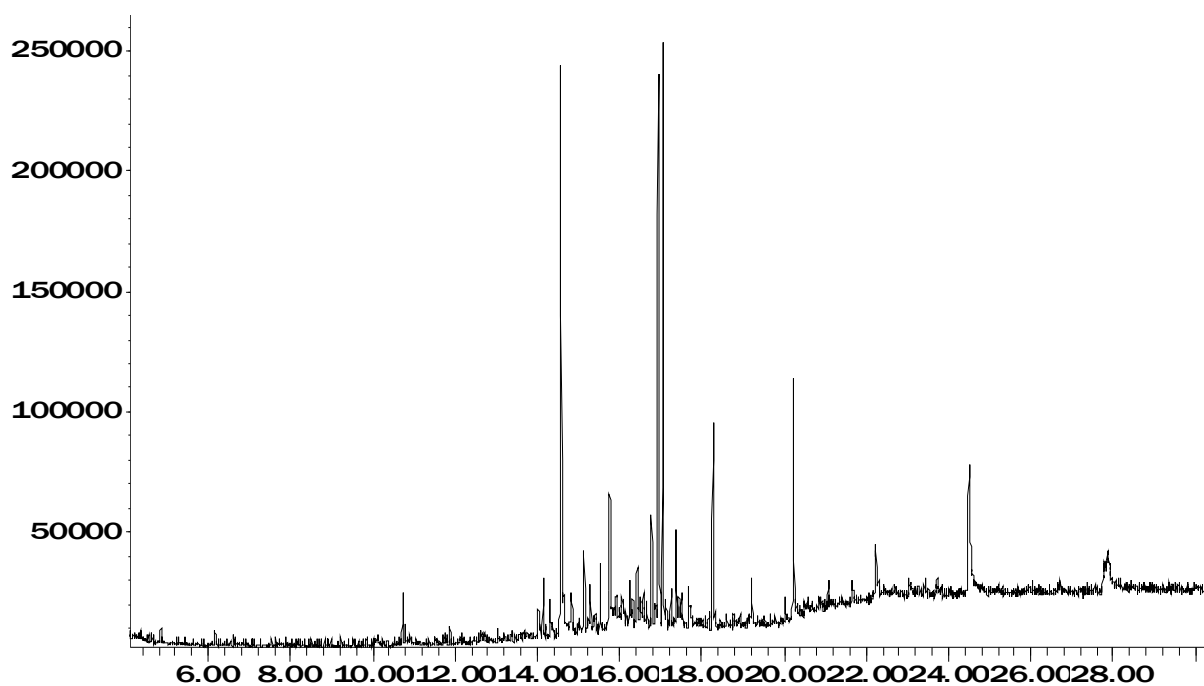
Полученные масс-спектры сравнивались с масс-спектрами из спектральной библиотеки NIST 14. Масс-спектры обрабатывались с использованием поискового модуля NIST MS Search 2.2 на основе указанных спектральных библиотек.

Результаты и обсуждение

В результате исследования пробы травы *A. annua* методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией было обнаружено 48 сигналов веществ (рис. 1). Участок хроматограммы, на котором наблюдалось больше всего сигналов, был увеличен (рис. 2). Наибольшее количество соединений обнаружено в области со временами удерживания от 14 до 18 мин. По совпадению с библиотечными масс-спектрами идентифицировано 19 веществ (табл.).

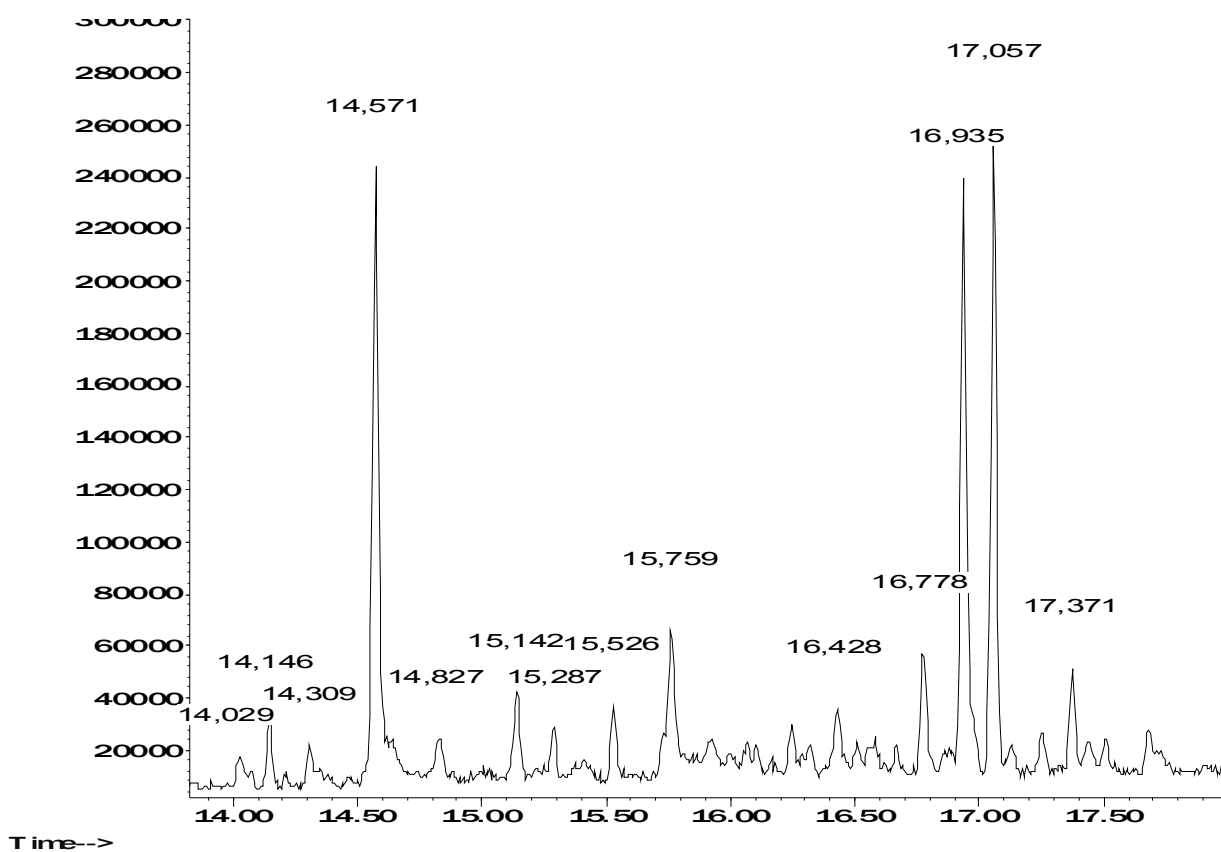
Преобладающими соединениями в извлечении травы *A. annua*, полученном с использованием петролейного эфира, являются артеануинная кислота, артеаннуин *B* и 4-гидрокси-5-метокси-5-метилбензальдегид, концентрация которых более 7% (рис. 2). Также достаточно высоким является содержание артемизина *D* (2.6%).

Рядом исследователей описаны два основных хемотипа *A. annua*: первый хемотип – с преоблада-



Time-->

Рис. 1. Хроматограмма пробы травы *A. aptia*



Time-->

Рис. 2. Хроматограмма пробы травы *A. aptia* в интервале от 14 до 18 мин.

Идентифицированные вещества травы *A. annua*

№	Время удерживания	Концентрация вещества в пробе, %	Наименование вещества
1	3.268	0.02%	Артемизиа кетон
2	4.220	0.02%	Камфора
3	10.734	0.5%	β -селинен
4	14.029	0.3%	4-Камфенилбутан-2-он
5	14.146	0.8%	Скопарон
6	14.309	0.5%	Дигидроартемизиновая кислота
7	14.571	7.8%	Артеануинная кислота
8	15.142	1.0%	Гидроксивалериановая кислота
9	15.287	0.5%	7,9-ди- <i>трет</i> -бутил-1-оксапино(4,5)-дека-6,9-диен-2,8-дион
10	15.526	0.8%	4-Эпикубедол
11	15.759	1.8%	Пальмитиновая кислота
12	16.428	0.5%	Чьяпин В
13	16.778	1.3%	Дезоксиартемизинин
14	16.935	7.5%	Артеаннуин В
15	17.057	7.9%	4-гидрокси-5-метокси-5-метилбензальдегид
16	17.371	1.2%	Метилстеарат
17	18.268	2.6%	Артемизин D
18	20.026	3.2%	Пентадеканаль
19	24.492	1.8%	1-Тетракозанол

нием дигидроартемизиновой кислоты и артемизина и второй хемотип – с преобладанием артемизиновой кислоты и артеаннуина В и низким содержанием артемизина ¹⁶. Следовательно, исследуемый тип *A. annua*, произрастающий и заготовленный в Кыргызской Республике, относится ко второму хемотипу. Согласно данным исследования, основными компонентами липофильной фракции травы *A. annua* в основном являются сесквитерпеновые лактоны – артемизиа кетон, β -селинен, дигидроартемизиновая кислота, артеануинная кислота, гидроксивалериановая кислота, 4-эпикубедол, чьяпин В, дезоксиартемизинин, артеаннуин В, артемизин D. Суммарно их содержание составило более 22%.

Также в траве *A. annua* обнаружен впервые найденный в другом виде полыни – *Artemisia scoparia* – оксикумарин скопарон, у которого было обнаружено и изучено иммуносупрессивное и ва-

зодилатирующее действие ^{17, 18}. Обнаруженный в траве *A. annua* лактон 7,9-ди-*трет*-бутил-1-оксапино[4,5]дека-6,9-диен-2,8-дион представляет интерес в связи с тем, что он ранее был обнаружен в некоторых морских водорослях, обладающих противоопухолевой и противовирусной активностью ¹⁹.

Таким образом, в результате изучения химического состава липофильной фракции, полученной из наземной части *A. Annua*, и идентификации основных ее компонентов, относящихся, в основном, к группе сесквитерпеновых лактонов, установлено, что исследуемый вид принадлежит к хемотипу с преобладанием артемизиновой кислоты и артеаннуина В и низким содержанием артемизина. Липофильная фракция может быть использована для выделения данных соединений и стать основой для получения эффективного лекарственного препарата.

Литература

1. Fraga B. M. Natural sesquiterpenoids // Nat. Prod. Rep. – 2005. – №22. – Pp.465-486.
2. Коновалов Д.А., Шевчук О.М., Логвиненко Л.А., Хамилоннов А.А. Биологически активные соединения полыни однолетней. Сесквитерпеновые лактоны // Фармация и фармакология. – 2016. – Т.4, №5. – С.4-35.
3. Gopal Y. N. V., Arora T. S., Van Dyke M. W Parthenolide Specifically Depletes Histone Deacetylase 1 Protein and Induces Cell Death through Ataxia Telangiectasia Mutated // Chem. Biol. – 2007. – V.14(7). – Pp.813-823.
4. Kang S. N., Kim S. W, Chung S. H. et al. Enhancement of 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃-induced differentiation of human leukaemia HL⁺ cells into monocytes by parthenolide via inhibition of NF-kappa B activity // Br. J. Pharmacol. – 2002. – V.135(5). – Pp.1235-1244.
5. Шпретер А. И., Рыбалко К. С., Коновалова О. А. и др. Содержание артемизинина в *Artemisia annua* // Растительные ресурсы. – 1988. – Т.24, Вып.1. – С.66-72.

References

1. Fraga B. M. [Natural sesquiterpenoids]. Nat. Prod. Rep., 2005, no.22, pp.465-486.
2. Konovalov D.A., Shevchuk O.M., Logvinenko L.A., Khamilonov A.A. *Biologicheski aktivnyye soyedineniya polyni odnoletney. Seskviterpenovyye laktony* [Biologically active compounds of wormwood annual. Sesquiterpene lactones]. *Farmatsiya i farmakologiya* [Pharmacy and Pharmacology], 2016, vol.4, no.5, pp.4-35.
3. Gopal Y.N.V., Arora T.S., Van Dyke M.W. [Parthenolide Specifically Depletes Histone Deacetylase 1 Protein and Induces Cell Death through Ataxia Telangiectasia Mutated]. *Chem. Biol.*, 2007, vol.14(7), pp.813-823.
4. Kang S.N., Kim S.W, Chung S.H. et al. [Enhancement of 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃-induced differentiation of human leukaemia HL⁺ cells into monocytes by parthenolide via inhibition of NF-kappa B activity]. *Br. J. Pharmacol.*, 2002, vol.135(5), pp.1235-1244.

6. Haynes R., Vonwiller K. Progress in the research of artemisinin and its analogues as antimalarials // *Tranc. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* – 1994. – V.88 (1). – Pp.23-26.
7. <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2015/tu/facts>.
8. Alesaeidi S., Miraj S. A Systematic Review of Antimalarial Properties, Immunosuppressive Properties, Anti-inflammatory Properties, and Anti-cancer Properties of *Artemisia annua* // *Electron. Physician.* – 2016. – №8(10). – Pp.3150-3155.
9. Baek H.K., Shim H., Lim H., Shim M., Kim C.K., Park S.K., Lee Y.S., Song K.D., Kim S.J., Yi S.S. Anti-adipogenic effect of *Artemisia annua* in diet-induced-obesity mice model // *J. Vet. Sci.* – 2015. – №16(4). – Pp.389-396.
10. Breuer E., Efferth T. Treatment of Iron-Loaded Veterinary Sarcoma by *Artemisia annua* // *Nat. Prod. Bioprospect.* – 2014. – №4(2). – Pp.113-118.
11. Cala A.C., Ferreira J.F., Chagas A.C., Gonzalez J.M., Rodrigues R.A., Foglio M.A., Oliveira M.C., Sousa I.M., Magalhaes P.M., Barioni Junior W. Anthelmintic activity of *Artemisia annua* L. extracts in vitro and the effect of an aqueous extract and artemisinin in sheep naturally infected with gastrointestinal nematodes // *Parasitol. Res.* – 2014. – №113(6). – Pp.2345-2353.
12. Chougouo R.D., Nguekeu Y.M., Dzoyem J.P., Awoufack M.D., Kouamouo J., Tane P., McGaw L.J., Eloff J.N. Anti-inflammatory and acetylcholinesterase activity of extract, fractions and five compounds isolated from the leaves and twigs of *Artemisia annua* growing in Cameroon // *Springerplus.* – 2016. – №5(1). – Pp.15-25.
13. De Donno A., Grassi T., Idolo A., Guido M., Papadia P., Caccioppola A., Villanova L., Merendino A., Bagordo F., Fanizzi F.P. First time comparison of the in vitro antimalarial activity of *Artemisia annua* herbal tea and artemisinin // *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* – 2012. – №106(11). – Pp.696-700.
14. Efferth T., Romero M.R., Wolf D.G., Stamminger T., Marin J.J., Marschall M. The antiviral activities of artemisinin and artesunate // *Clin. Infect. Dis.* – 2008. – №47(6). – Pp.804-811.
15. Определитель растений Средней Азии. Критический конспект флоры / Под ред. Т.А. Адыловой и Т.И. Цукерваник. Т.10. – Ташкент: Изд-во «Фан», 1993. – 692 с.
16. Wallaart T.E., Pras N., Beekman A.C., Quax W.J. Seasonal variation of artemisinin and its biosynthetic precursors in plants of *Artemisia annua* of different geographical origin; proof for the existence of chemotypes // *Planta Med.* – 2000. – V.66. – Pp. 57-62.
17. Huei-Chen Huang, Shu-Hsun Chu, Pei-Dawn Lee Chao PD. Vasorelaxants from Chinese herbs, emodin and scoparone, possess immunosuppressive properties // *European Journal of Pharmacology.* – 1991. – №198 (2-3). – Pp.211-213.
18. Huang Huei-Chen, Lee Chai-Rong, Weng Yu-I, Lee Ming-Chih, Lee Yuan-Teh. Vasodilator effect of scoparone (6,7-dimethoxycoumarin) from a Chinese herb // *European Journal of Pharmacology.* – 1992. – №218(1). – Pp.123-128.
19. Tatipamula, V. B.; Killari, K. N.; Prasad, K.; Rao, G. S. N. K.; Talluri, M. R.; Vantaku, S.; Bilakanti, D.; Srilakshmi, N., Cytotoxicity Studies of the Chemical Constituents from Marine Algae *Chara baltica* // *Indian J Pharm Sci.* – 2019. – №81(5). – Pp.815-823.
5. Shreter A. I., Rybalko K. S., Konovalova O. A. et al. *Soderzhaniye artemizinin v Artemisia annua* [Artemisinin content in *Artemisia annua*]. *Rastitel'nyye resursy* [Plant Resources], 1988, vol.24, is.1, pp.66-72.
6. Haynes R., Vonwiller K. [Progress in the research of artemisinin and its analogues as antimalarials]. *Tranc. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1994, vol.88(1), pp.23-26.
7. <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2015/tu/facts>.
8. Alesaeidi S., Miraj S. [A Systematic Review of Antimalarial Properties, Immunosuppressive Properties, Anti-inflammatory Properties, and Anti-cancer Properties of *Artemisia annua*]. *Electron. Physician*, 2016, no.8(10), pp.3150-3155.
9. Baek H.K., Shim H., Lim H., Shim M., Kim C.K., Park S.K., Lee Y.S., Song K.D., Kim S.J., Yi S.S. [Anti-adipogenic effect of *Artemisia annua* in diet-induced-obesity mice model]. *J. Vet. Sci.*, 2015, no.16(4), pp.389-396.
10. Breuer E., Efferth T. [Treatment of Iron-Loaded Veterinary Sarcoma by *Artemisia annua*]. *Nat. Prod. Bioprospect.*, 2014, no.4(2), pp.113-118.
11. Cala A.C., Ferreira J.F., Chagas A.C., Gonzalez J.M., Rodrigues R.A., Foglio M.A., Oliveira M.C., Sousa I.M., Magalhaes P.M., Barioni Junior W. [Anthelmintic activity of *Artemisia annua* L. extracts in vitro and the effect of an aqueous extract and artemisinin in sheep naturally infected with gastrointestinal nematodes]. *Parasitol. Res.*, 2014, no.113(6), pp.2345-2353.
12. Chougouo R.D., Nguekeu Y.M., Dzoyem J.P., Awoufack M.D., Kouamouo J., Tane P., McGaw L.J., Eloff J.N. [Anti-inflammatory and acetylcholinesterase activity of extract, fractions and five compounds isolated from the leaves and twigs of *Artemisia annua* growing in Cameroon]. *Springerplus*, 2016, no.5(1), pp.15-25.
13. De Donno A., Grassi T., Idolo A., Guido M., Papadia P., Caccioppola A., Villanova L., Merendino A., Bagordo F., Fanizzi F.P. [First time comparison of the in vitro antimalarial activity of *Artemisia annua* herbal tea and artemisinin]. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 2012, no.106(11), pp.696-700.
14. Efferth T., Romero M.R., Wolf D.G., Stamminger T., Marin J.J., Marschall M. [The antiviral activities of artemisinin and artesunate]. *Clin. Infect. Dis.*, 2008, no.47(6), pp.804-811.
15. *Opredelitel' rasteniy Sredney Azii. Kriticheskiy konspekt flory* [Key to plants of Central Asia. Critical abstract of flora]. Ed. T.A. Adylova and T.I. Tsukervanik. Vol.10. Tashkent, Fan Publ, 1993, 692 p.
16. Wallaart T.E., Pras N., Beekman A.C., Quax W.J. [Seasonal variation of artemisinin and its biosynthetic precursors in plants of *Artemisia annua* of different geographical origin; proof for the existence of chemotypes]. *Planta Med.*, 2000, vol.66, pp.57-62.
17. Huei-Chen Huang, Shu-Hsun Chu, Pei-Dawn Lee Chao PD. [Vasorelaxants from Chinese herbs, emodin and scoparone, possess immunosuppressive properties]. *European Journal of Pharmacology*, 1991, no.198(2-3), pp.211-213.
18. Huang Huei-Chen, Lee Chai-Rong, Weng Yu-I, Lee Ming-Chih, Lee Yuan-Teh. [Vasodilator effect of scoparone (6,7-dimethoxycoumarin) from a Chinese herb]. *European Journal of Pharmacology*, 1992, no.218(1), pp.123-128.
19. Tatipamula V.B., Killari K.N., Prasad K., Rao G.S.N. K., Talluri M.R., Vantaku S., Bilakanti D., Srilakshmi N. [Cytotoxicity Studies of the Chemical Constituents from Marine Algae *Chara baltica*]. *Indian J Pharm Sci.*, 2019, no.81(5), pp.815-823.