

УДК: 615.1:665.12:665.334.82



## РЕЗУЛЬТАТЫ СРАВНИТЕЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ СОСТАВА МАСЕЛ СЕМЯН *NIGELLA SATIVA* L.

С.В. Горяинов, А.В. Хромов, Г. Бакуреца, Эспарса Сесар, В.А. Ивлев, А.Н. Воробьев,  
Р.А. Абрамович, О.Г. Потанина, О.О. Новиков

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования «Российский университет дружбы народов»  
117198, Россия, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6

E-mail: goryainovs@list.ru

Получено 09.10.2019

Рецензия (1) 15.11.2019

Рецензия (2) 01.12.2019

Принята к печати 30.12.2019

В данной статье представлены результаты исследования химического состава липидного комплекса из семян черного тмина, выращенного в различных географических условиях. Актуальной остается задача всестороннего изучения химического состава растения и его отдельных частей, обусловленная широким спектром его фармакологической активности.

**Цель данной работы** – сравнительное исследование жирнокислотного состава, неомыляемой фракции и состава эфирных масел семян чёрного тмина, выращенного в различных регионах мира.

**Материалы и методы.** Совокупностью методов хромато-масс-спектрометрии и спектроскопии ЯМР <sup>1</sup>H изучен качественный и количественный состав липидного комплекса семян чёрного тмина. Все эксперименты проводили в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи XIV издания, приведенными в соответствующих общих фармакопейных статьях.

**Результаты.** Установлены профили и оценено содержание жирных кислот, стеринов, тритерпеновых спиртов, эфирных масел и тимохинона, обнаруженных в липидном комплексе. Омыляемая часть комплекса представлена триглицеридами (81,7–95,3%), присутствуют ди- (3,9–15,2%) и моноглицериды (0,7–4,1%). Они содержат в составе преимущественно линолевую (55,8–60,6%), олеиновую (21,8–24,6%), пальмитиновую (10,0–12,8%), стеариновую (2,4–3,2%) и *цис*-11,14-эйкозадиеновую (2,3–2,6%) кислоты. Содержание стеринов и тритерпеновых спиртов в липидном комплексе составило 0,4–0,7%, до 70% фракции представлено β-ситостерином (22,5–29,2%), циклоартенолом (20,1–36,6%) и 24-метилциклоартенолом (9,5–19,9%). В следовых количествах (до 1,0%) во всех образцах был обнаружен холестерин. Содержание тимохинона в липидных комплексах варьировалось в пределах 0,7–2,6%.

**Заключение.** Проведено сравнительное изучение липидного комплекса из семян черного тмина, выращенного в различных географических условиях, выявлены соединения-маркеры, а также нормы их содержания для определения подлинности сырья (тимохинон, пара-цимен, *цис*-11,14-эйкозадиеновая кислота).

**Ключевые слова:** чёрный тмин, *Nigella sativa* L., жирное масло, эфирное масло, хромато-масс-спектрометрия, спектроскопия ЯМР

## RESULTS OF A COMPARATIVE STUDY OF *NIGELLA SATIVA* L. SEEDS OILS COMPOSITION

S.V. Goryainov, A.V. Khromov, G. Bakureza, Esparsa Cesar, V.A. Ivlev, A.N. Vorobyev,  
R.A. Abramovich, O.G. Potanina, O.O. Novikov

Federal State Autonomous Educational Institution for Higher Education  
“Peoples’ Friendship University of Russia”  
6, Miklouho-Maclay St., Moscow, Russia 117198

E-mail: goryainovs@list.ru

Received 9 October 2019

Review (1) 15 November 2019

Review (2) 1 December 2019

Accepted 30 December 2019

**Для цитирования:** С.В. Горяинов, А.В. Хромов, Г. Бакуреца, Эспарса Сесар, В.А. Ивлев, А.Н. Воробьев, Р.А. Абрамович, О.Г. Потанина, О.О. Новиков. Результаты сравнительного исследования состава масел семян *Nigella Sativa* L. *Фармация и фармакология*. 2020;8(1):29-39. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-1-29-39

© С.В. Горяинов, А.В. Хромов, Г. Бакуреца, Эспарса Сесар, В.А. Ивлев, А.Н. Воробьев, Р.А. Абрамович, О.Г. Потанина, О.О. Новиков, 2020

**For citation:** S.V. Goryainov, A.V. Khromov, G. Bakureza, Esparsa Cesar, V.A. Ivlev, A.N. Vorobyev, R.A. Abramovich, O.G. Potanina, O.O. Novikov. Results of a comparative study of *Nigella Sativa* L. seeds oils composition. *Pharmacy & Pharmacology*. 2020;8(1):29-39. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-1-29-39

This article presents results of the chemical composition study of the seeds oils lipid complex of *Nigella Sativa* L. grown under various geographic conditions. The task of the comprehensive study of the chemical composition of the plant and its individual parts remains relevant due to the wide spectrum of its pharmacological activity.

**The aim** of this work is a comparative study of the fatty acid composition, a non-saponifiable fraction and the composition of essential oils of *Nigella Sativa* L. seeds grown in different regions of the world.

**Materials and methods.** The combination of chromatography-mass spectrometry and <sup>1</sup>H-NMR spectroscopy methods made it possible to study the qualitative and quantitative composition of *Nigella Sativa* L. lipid complex seeds. All the experiments were carried out in accordance with the requirements of the State Pharmacopoeia, 14th Ed, given in the corresponding general pharmacopoeial monographs.

**Results.** Profiles have been established and the content of fatty acids, sterines, triterpene alcohols, essential oils and thymoquinone found out in the lipid complex, has been estimated. The saponifiable portion of the complex is represented by triglycerides (81.7–95.3%), di- (3.9–15.2%) and monoglycerides (0.7–4.1%). They mainly contain linoleic (55.8–60.6%), oleic (21.8–24.6%), palmitic (10.0–12.8%), stearic (2.4–3.2%) and cis-11.14-eicosadiene (2.3–2.6%) acids. In the lipid complex, the contents of sterines and triterpene alcohols were 0.4–0.7%; up to 70% of the fraction was represented by β-sitosterol (22.5–29.2%), cycloartenol (20.1–36.6%) and 24 methylenecycloartanol (9.5–19.9%). In the trace amounts (up to 1.0%), cholesterol has been detected in all the samples. In the lipid complexes, the content of thymoquinone ranged from 0.7 to 2.6%.

**Conclusion.** A comparative study of the seeds lipid complex of *Nigella Sativa* L. grown under various geographic conditions, has been carried out. The marker compounds as well as their content standards for determining the authenticity of raw materials (thymoquinone, paracimen, cis-11.14-eicosadienic acid), have been identified.

**Keywords:** *Nigella sativa* L., fatty oil, essential oil, chromatography-mass spectrometry, NMR spectroscopy

## ВВЕДЕНИЕ

Черный тмин (*Nigella sativa* L.) с античных времён культивируется в Средиземноморье, в Северной Африке, в Средней Азии, в Индии, на Ближнем востоке. На территории России он может произрастать и вызревать на Северном Кавказе, в Татарстане [1–4].

Семена черного тмина используют в качестве пряности (нигелла) и масличного сырья. Они могут содержать до 70% масла [5].

Масло чёрного тмина обладает широким спектром фармакологической активности и поэтому широко применяется в народной медицине стран Востока. Сегодня существует большое количество научных работ, посвящённых изучению фармакологической активности данного растительного сырья [6–11].

Жирное масло семян чёрного тмина богаче подсолнечного масла пальмитиновой кислотой и относительно редко встречающимися жирными кислотами группы C20. По сравнению с пальмовым маслом, оно гораздо богаче полиненасыщенными жирными кислотами и также содержит достаточно много пальмитиновой кислоты [5, 12, 13].

Неомыляемые компоненты масел чёрного тмина представлены комплексом стеринов, монотерпенов, дитерпенов и тритерпенов. В свою очередь, чёрный тмин является ценным источником эфирного масла, которое состоит из терпенов и продуктов их окисления, конденсации и циклизации – фенолов, тимогидрохинона и тимохинона. Общее содержание эфирного масла в семенах чёрного тмина составляет от 0,5 до 3% от воздушно-сухого сырья [3, 14, 15].

Для изучения фитохимического состава чёрного тмина использованы современные инструментальные методы, в т. ч. газовая хроматография и высокоэффективная жидкостная хроматография с

различными видами детекции [14–20], метод ядерного-магнитного резонанса [21].

В составе эфирного масла чёрного тмина отмечается достаточно высокое содержание тимохина, которое связано с тем, что тимохин является конечным продуктом окисления в этой цепочке превращений терпенов, поэтому он и накапливается в масле в наибольшем количестве. Тимохин может испытывать дальнейшие превращения, например, на свету он димеризуется, образуя дитимохин, что говорит о его фоточувствительности. Дитимохин – продукт димеризации тимохина менее изучен и предположительно, также как тимохин может обладать противоопухолевым действием [22–25].

В настоящее время сведения о сравнительном химическом составе семян *Nigella sativa* L. в зависимости от региона произрастания в доступных нам литературных источниках отсутствуют. В этой связи актуальным представляется проведение данных исследований

**ЦЕЛЬЮ** данной работы явилось сравнительное исследование жирнокислотного состава, неомыляемой фракции и состава эфирных масел семян черного тмина, выращенного в различных регионах мира.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Образцы семян черного тмина были получены из 7 различных эколого-экономических районов земного шара: Йемен, Российская Федерация (респ. Татарстан), Индия, Таджикистан, Эфиопия, Египет, Израиль в период 2017–2018 гг. Подлинность сырья проверяли микроскопическим методом в соответствии с требованиями ГФ XIV издания, ОФС.1.5.3.0003.15 «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» и

ОФС.1.2.1.0009.15 «Оптическая микроскопия». Исследуемые масла были получены из семян чёрного тмина методом циркуляционной экстракции в аппарате Сокслета. Семена были предварительно измельчены до размера частиц, проходящих сквозь сито 0,5 мм. Исследуемые образцы в количестве 50,0 г помещались в патрон и загружались в аппарат Сокслета. Экстракция осуществлялась н-гексаном. После экстракции экстрагент отгонялся на испарителе ротационном ИР-1МЗ при температуре 40°C.

При таком способе получения масел извлекались как липидный комплекс семян чёрного тмина, так и эфирная составляющая масла [26]. Затем липидный комплекс был омылен и превращён в смесь метиловых эфиров.

**Исследование жирнокислотного состава масел методом газовой хроматографии.** Режим работы хроматографа *Agilent 7890A (Agilent Technologies, США)*: капиллярная колонка VF-23 ms (*Agilent Technologies, США*, длина 30 м, внутренний диаметр 0,32 мм, толщина фазы 0,25 мкм), газ-носитель – гелий, скорость газа-носителя 1,5 мл/мин, температура инжектора 280°C, начальная температура печи хроматографа – 50°C, затем изотерма в течении 2 мин, после чего нагрев со скоростью 10°C/мин до 180°C, выдержка 5 мин, затем до 240°C со скоростью 5°C/мин. Общее время анализа – 32 мин. Пробу инжестировали в режиме деления потока (1:10). Идентификацию жирных кислот проводили путём сравнения времён удерживания пиков на хроматограммах испытуемых образцов с временами удерживания пиков на хроматограмме стандартного образца смеси 37 метиловых эфиров жирных кислот (*Supelco® 37 component FAME mix*, 10 мг/мл, метиленхлорид, кат. № CRM47885, *Sigma-Aldrich, США*). Каждый образец анализировали трижды.

Пробоподготовка: метиловые эфиры жирных кислот получали переэтерификацией глицеридов. Навеску образца массой около 10,0 мг помещали в 7,0 мл стеклянную виалу с завинчивающейся крышкой, затем добавляли 1,0 мл метанола и 100,0 мкл ацетилхлорида.

Виалу закрывали и помещали в лабораторный нагреватель на 60 мин при 80°C. После охлаждения реакционной смеси в виалу добавляли 3,0 мл бидистиллированной воды, а затем 1,0 мл н-гексана и встряхивали. 1 мкл верхнего слоя н-гексана инжестировали в газовый хроматограф.

**Исследование состава неомыляемых компонентов масел из семян чёрного тмина** велось методом хромато-масс-спектрометрии.

Режим работы хроматографа *Agilent 6890N (Agilent Technologies, США)*: капиллярная колонка VF-5MS (*Agilent Technologies, США*, длина 30 м, внутренний диаметр 0,25 мм, толщина фазы 0,25 мкм), газ-носитель – гелий, скорость газа-носителя 1,5 мл/мин. температура инжектора 280°C, началь-

ная температура печи хроматографа – 60°C, затем изотерма в течении 3 мин., после чего нагрев со скоростью 10°C/мин. до 290°C, выдержка при 290°C в течение 20 мин. Общее время анализа – 46 мин. Режим регистрации масс-спектров: магнитно-секторный масс-детектор *JMS GCMate II (JEOL, Япония)*, энергия ионизации 70 эВ, температура источника 270°C, сканирование в диапазоне 40–400 Да со скоростью 2 скан/с. Объем вводимой пробы – 1 мкл.

Для идентификации использовали стандартные образцы индивидуальных соединений и масс-спектральную базу данных *NIST 14*; в случае отсутствия в ней масс-спектров обнаруженных компонентов установление структуры проводилось на основе характеристичных процессов фрагментации и данных о хроматографических свойствах изучаемых соединений. Для расчёта индексов удерживания проводили анализ смеси нормальных углеводородов (C6–C35) в выбранных хроматографических условиях. При определении относительного процентного содержания компонентов эфирных масел в пересчете на их суммарное содержание коэффициенты ионизации приравнивались. При определении количественного содержания стеринов и тритерпеновых спиртов в пересчете на внутренний стандарт их коэффициенты ионизации приравнивались.

Пробоподготовка: 10 мкл эфирного масла отбирали с помощью автоматического пипет-дозатора и помещали в 2,0 мл стеклянную виалу для хроматографии, добавляли 1 мл хлороформа, интенсивно встряхивали виалу. Затем 1 мкл раствора инжестировали в ГХ-МС.

Для выделения неомыляемой фракции 100,0 мг образца помещали в стеклянную виалу объёмом 5 мл, добавляли 1 мл калия гидроксида раствор 2М и 20 мкл раствора внутреннего стандарта (холестанол, 10,0 мг/мл). Затем образцы выдерживали при температуре 80°C в течение часа и после охлаждения реакционной массы добавляли 3 мл воды бидистиллированной. Неомыляемую фракцию экстрагировали тремя порциями по 1 мл диэтилового эфира, экстракты объединяли, пропускали через патрон с натрия сульфатом, отдували досуха под током азота и силировали перед проведением анализа. Для этого к сухому остатку добавляли 300 мкл смеси BSTFA: ацетонитрил (1:2) и выдерживали в течение 30 минут при 80°C, затем 1 мкл раствора инжестировали в прибор ГХ-МС.

**Исследование состава масел методом ЯМР спектроскопии.** Количественные спектры ЯМР липидных комплексов из семян чёрного тмина регистрировались и обрабатывались с помощью программы *Delta (JEOL, Япония)*, обеспечивающей управление прибором, сбор и анализ данных.

Для определения содержания тимохинона и соотношения насыщенных, моно-, ди-, триненасыщенных кислот, а также моно-, ди- и триглицеридов

в образцах масел навеску липидного комплекса около 80,0 мг (точная навеска) растворяли в 600,0 мкл дейтерированного хлороформа, откалиброванного по содержанию остаточного протонсодержащего изотопомера (CDCl<sub>3</sub>, 99,8 atom % D), переносили пипеткой в стандартную ЯМР-ампулу диаметром 5 мм. Регистрировали спектры ЯМР <sup>1</sup>H в количественных условиях (32K точек на спектр, 16 накоплений, 90° импульс, 40 с задержкой между импульсами). Для количественного определения интегральную интенсивность сигнала хлороформа принимали за 1. Содержание тимохинона в навеске определяли по следующей формуле:

$$m(T) = n(\text{CHCl}_3) * I(T) * M(T),$$

где:

m(T) – масса тимохинона в навеске,

n(CHCl<sub>3</sub>) – содержание остаточного протонсодержащего изотопомера дейтерохлороформа в молях,

I(T) – интегральная интенсивность сигнала тимохинона при 6.51 или 6.57 м.д.,

M(T) – молекулярная масса тимохинона, равная 166 Да.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Физико-химические свойства полученных липидных комплексов семян чёрного тмина представлены в таблице 1.

Содержание липидного комплекса в семенах чёрного тмина в пересчете на абсолютно сухое сырье составило порядка 30,4–37,8%. Наибольший выход наблюдался для семян из России (Татарстан). Наименьший выход наблюдался для семян из Эфиопии.

На рисунке 1 приведены типичные хроматограммы метиловых эфиров жирных кислот, полученных переэтерификацией триглицеридов, содержащихся в липидном комплексе семян чёрного тмина и метиловых эфиров смеси Supelco® 37 component FAME mix.

Как видно из рисунка 1, в образцах выявлено 5 основных компонентов, составляющих в сумме 98,7–98,9% от общего содержания жирных кислот, остальные компоненты выявлены в следовых количествах. Содержание преобладающих ненасыщенных кислот (линолевая C18:2 и олеиновая C18:1) в образцах составляет в сумме от 80,4% до 83,9%. Содержание их транс-изомеров (элаидиновая – C18:1n9t и линолеидиновая – C18:2n6t кислоты) весьма незначительно и не превышает 0,05%. Масло чёрного тмина по своему жирно-кислотному составу (табл. 2) близко к подсолнечному маслу, но содержит гораздо больше пальмитиновой кислоты. По этому показателю оно в 2 раза превосходит пальмовое масло. Также в липидных комплексах обнаружена цис-11,14-эйкозодиеновая кислота, ее содержание в образцах варьировалось в пределах 2,3–2,6%. Этот компонент можно рассматривать как один из маркеров подлинности масел из семян черного тмина.

В таблице 2 приведены результаты исследования

жирнокислотного состава семи образцов семян чёрного тмина из разных регионов мира.

Результаты, представленные в таблице 2, свидетельствуют о наличии во всех изученных образцах сопоставимых количеств жирных кислот. Заметная разница наблюдается только в случае кислоты пальмитиновой – до 3,0%. Результаты исследования неомыляемой фракции липидных комплексов семян чёрного тмина методом ГХ-МС представлены в таблице 3.

Из приведенных данных видно, что содержание стеринов и тритерпеновых спиртов зависит от страны происхождения семян, однако характеристичный профиль сохраняется во всех образцах масел. Общее содержание стеринов и тритерпеновых спиртов составило 400,3–719,7 мкг/100,0 мг (0,4–0,7%). Обнаружено, что β-ситостерин является главным компонентом фракции, его содержание составило порядка 22,5–29,2%, кампестерин и стигмастерин выявлены в количествах 4,8–6,0% и 7,7–9,6% соответственно. Циклоартенол (20,1–36,0%) и 24-метиленициклоартанол (9,5–19,9%) являются доминирующими тритерпеновыми спиртами, обнаруженными в составе липидных комплексов семян чёрного тмина. Также в следовых количествах (до 1,0%) во всех образцах был обнаружен холестерин.

Низкомолекулярная фракция неомыляемых веществ представлена набором монотерпенов и их продуктов окисления: пинены, лимонен, p-цимол, карвакол, тимохинон, в следовых количествах представлены свободные жирные кислоты – пальмитиновая, стеариновая, линолевая, олеиновая и цис-11,14-эйкозодиеновая. Наличие свободных жирных кислот говорит об остаточной активности фермента липазы, присутствующей в семенах чёрного тмина, вызывающего гидролиз ацилглицеридов.

Типичная хроматограмма эфирного масла чёрного тмина приведена на рисунке 3, а состав эфирных масел семян, выращенных в различных регионах мира, показан в таблице 4.

В состав эфирных масел входит более 40 соединений, однако до 99,0% представлены 16 соединениями. Наиболее распространенным компонентом эфирных масел всех образцов является пара-цимол. Его содержание составляет 38,2–52,0%. Значительная часть (16,2–23,9%) представлена монотерпенами – углеводородами, образованными сочетанием двух изопреновых фрагментов с общей брутто-формулой C<sub>10</sub>H<sub>16</sub> (136 Да). Тимол, который является гидроксипроизводным пара-цимола выявлен на уровне 2,5–4,9%. Доля тимохинона в эфирных маслах составила от 10,1 до 22,9%.

Типичный количественный спектр ЯМР <sup>1</sup>H масла чёрного тмина представлен на рисунке 4. В отличие от пиков на ГХ- или ВЭЖХ-хроматограммах, где сигналы соответствуют, как правило, индивидуальным компонентам, сигналы в спектрах ЯМР связаны с наличием у соединений определенных функциональных групп.

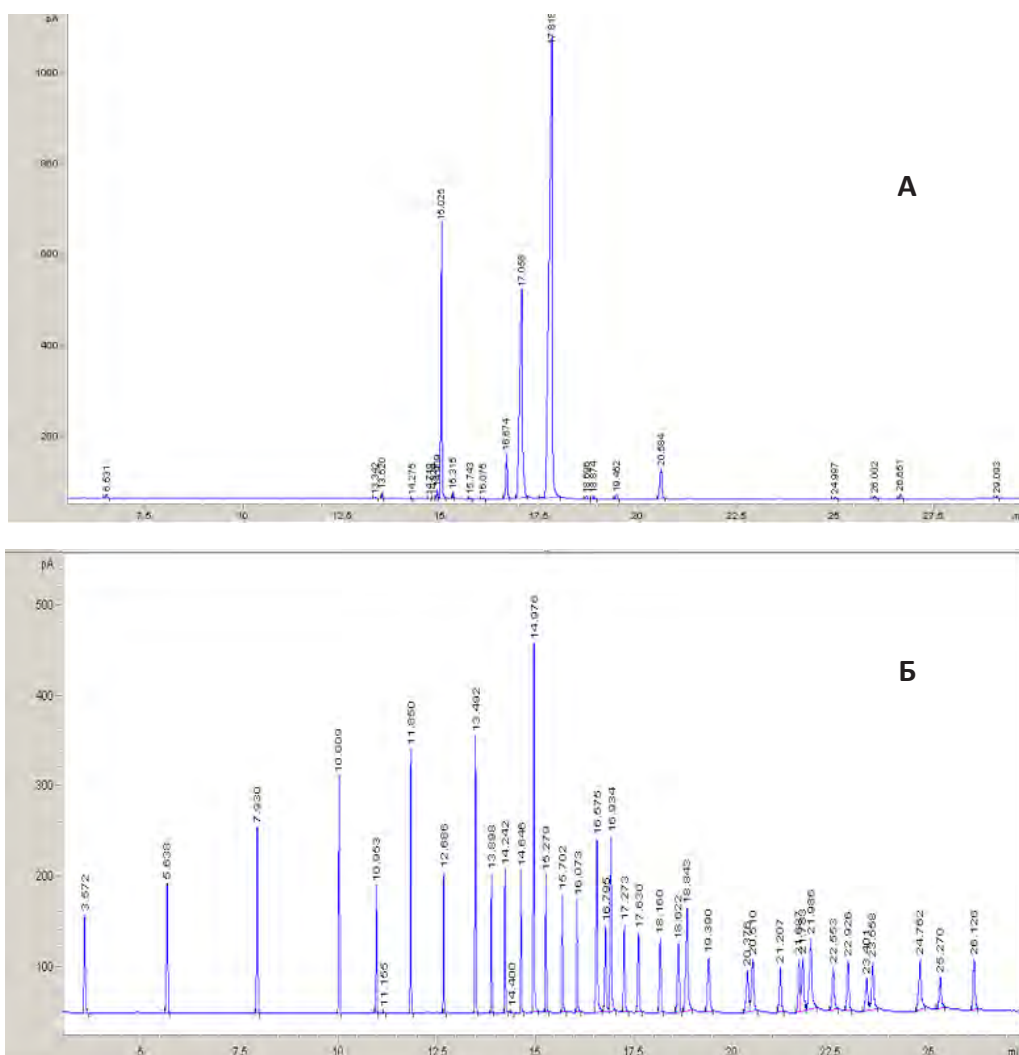


Рисунок 1 – Хроматограмма метиловых эфиров ЖК из липидного комплекса семян *Nigella sativa* L. (а), хроматограмма метиловых эфиров смеси Supelco® 37 component FAME mix (б)

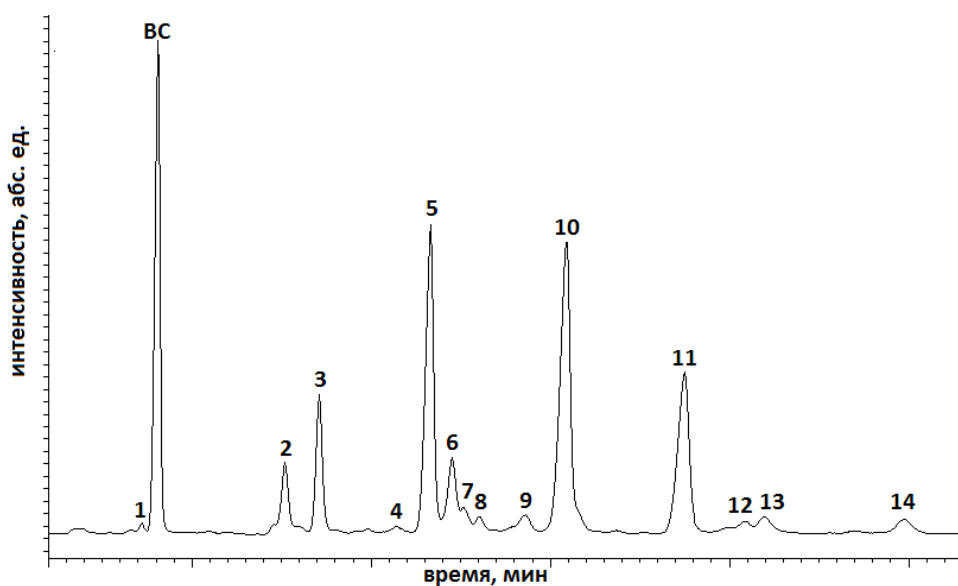


Рисунок 2 – Типичная хроматограмма по полному ионному току неомыляемой фракции *Nigella sativa* L. (область выхода стерина и тритерпеновых спиртов)

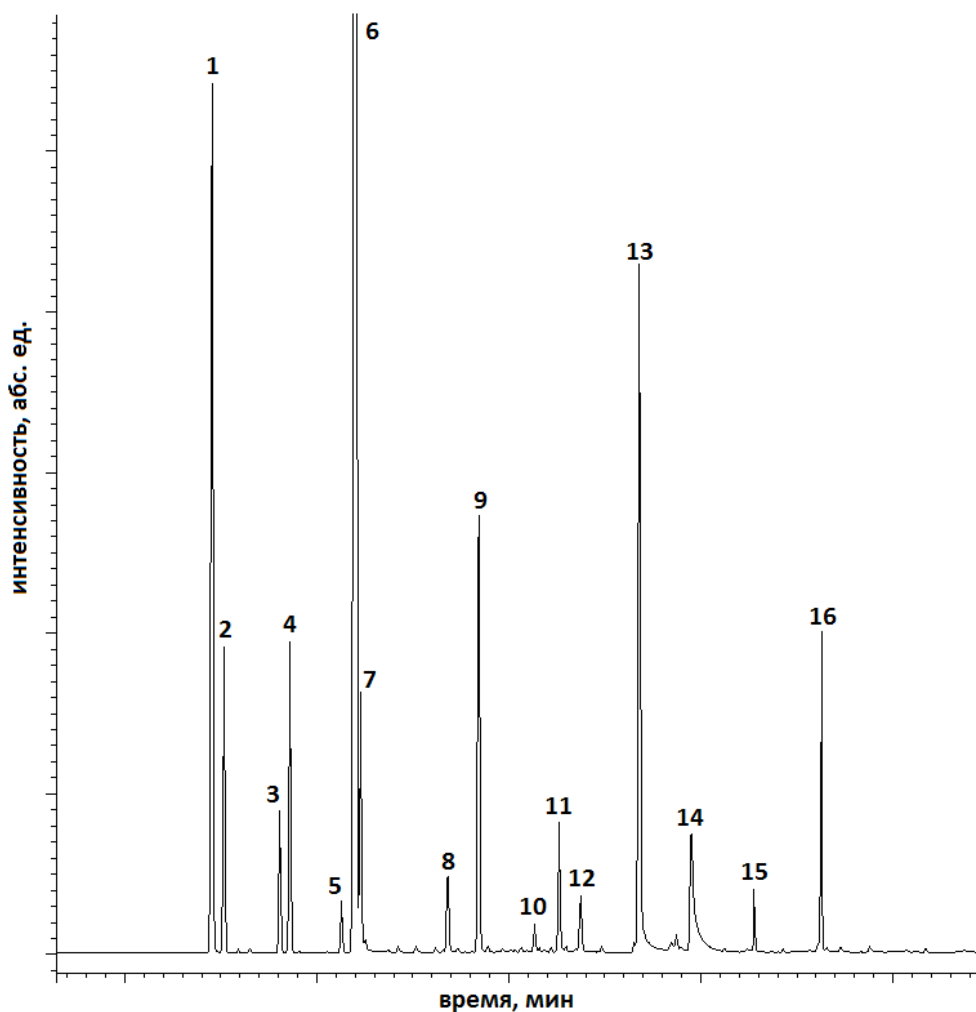


Рисунок 3 – Типичная хроматограмма по полному ионному току эфирного масла *Nigella sativa* L.

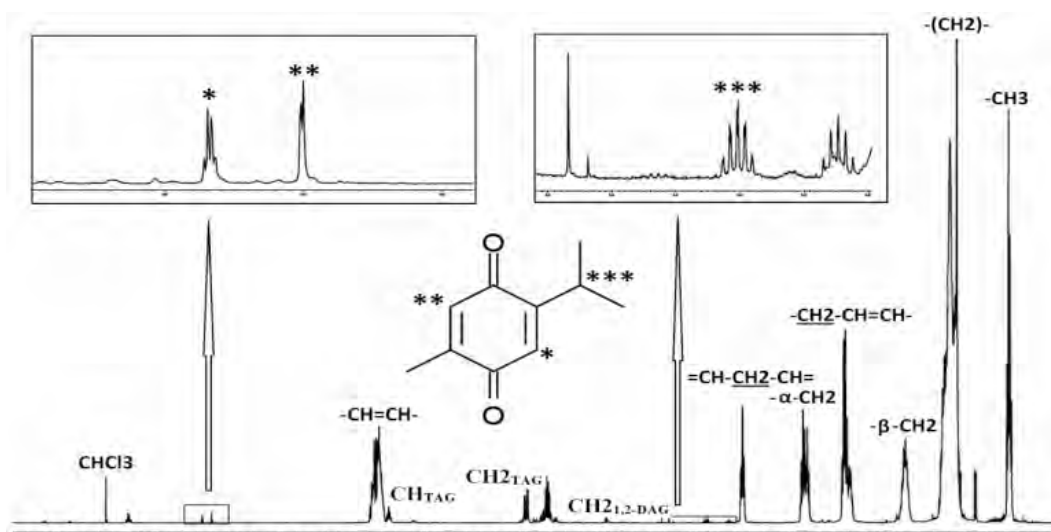


Рисунок 4 – Типичный количественный спектр ЯМР <sup>1</sup>H масла *Nigella sativa* L.

Таблица 1 – Физико-химические свойства полученных липидных комплексов семян *Nigella sativa* L.

№ п/п	Страна происхождения	Содержание масла, %	Характеристики масла			Внешний вид
			Вязкость, спз	Коэффициент преломления	Плотность, мг/см <sup>3</sup>	
1	Йемен	35,8	39,3	1,4688	906,592	Вязкая опалесцирующая жидкость желто-оранжевого цвета с ароматическим запахом и горьким пряно-острым вкусом
2	Татарстан	37,8	40,8	1,4654	908,924	
3	Индия	34,8	41,1	1,4675	903,945	
4	Таджикистан	37,2	39,2	1,4644	892,137	
5	Эфиопия	30,4	37,0	1,4638	897,590	
6	Египет	35,5	38,2	1,4677	908,304	
7	Израиль	32,4	37,5	1,4687	907,865	

Таблица 2 – Жирнокислотный состав липидных комплексов семян *Nigella sativa* L. по результатам ГХ-ПИД

№№	Название кислоты	Формула	Образец, регион произрастания, относительное содержание ЖК в липидном комплексе, %						
			Йемен	Россия (Татарстан)	Индия	Таджикистан	Эфиопия	Египет	Израиль
1	Пальмитиновая	C16:0	12,1	10,0	12,2	12,8	12,3	12,4	12,3
2	Стеариновая	C18:0	2,6	2,4	2,7	3,2	3,1	2,8	2,9
3	Олеиновая	C18:1	23,3	23,3	24,4	24,6	24,7	21,8	22,2
4	Линолевая	C18:2	58,3	60,6	57,1	55,8	56,3	59,4	59,0
5	Цис-11,14-эйкозодиеновая	C20:2	2,6	2,5	2,3	2,3	2,3	2,4	2,5
6	Другие жирные кислоты	–	1,1	1,2	1,3	1,3	1,3	1,2	1,1
7	Сумма		100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

\* В таблице представлены средние значения трех параллельных определений

Таблица 3 - Стерины и тритерпеновые спирты, входящие в состав липидных комплексов семян *Nigella sativa* L. по результатам ГХ-МС

№ на хроматограмме (рис. 2)	Соединение	Образец, регион произрастания, содержание, мкг / 100 мг						
		Йемен	Россия (Татарстан)	Индия	Таджикистан	Эфиопия	Египет	Израиль
ВС	Холестанол	200,0	200,0	200,0	200,0	200,0	200,0	200,0
1	Холестерин	2,6	1,4	2,7	3,7	9,0	4,3	2,5
2	Кампестерин	34,7	30,9	25,4	26,6	31,3	25,7	21,0
3	Стигмастерин	57,6	49,4	37,1	37,0	45,2	39,1	38,3
4	Клеростерин	3,6	5,8	4,1	2,4	1,3	3,3	2,6
5	Ситостерин + Ланостерин (следы)	165,6	143,7	108,4	117,3	119,9	129,2	116,9
6	Δ5-Авенастерин + ситостанол (следы)	44,1	41,9	28,6	37,5	35,1	39,5	20,3
7	β-Амирин	13,6	12,6	9,3	0,0	5,6	6,9	7,4
8	Обтусифолиол	7,6	8,0	6,6	4,4	5,5	3,9	5,9
9	Грамистерин	13,3	16,4	11,2	4,5	5,1	6,6	7,6
10	Циклоартенол + Δ7-авенастерин	210,7	190,8	120,9	164,6	188,8	89,9	95,1
11	24-Метиленициклоартанол	126,1	106,3	69,5	54,6	49,9	89,1	73,0
12	Эритродиол	10,6	8,8	6,4	2,5	2,0	3,7	3,9
13	Цитростадиенол	14,8	12,1	7,2	5,3	4,0	3,4	3,9
14	Уваол	14,8	11,0	3,8	17,7	21,2	2,9	1,9
	Итого	719,7	639,1	441,2	478,1	523,9	447,5	400,3

\* В таблице представлены средние значения трех параллельных определений

Таблица 4 – Соединения, входящие в состав эфирных масел семян *Nigella sativa* L., по результатам ГХ-МС

№ на хроматограмме (рис. 3)	Соединение	Образец, регион произрастания, относительное содержание компонента в эфирном масле, %						
		Йемен	Россия (Татарстан)	Индия	Таджикистан	Эфиопия	Египет	Израиль
1	альфа-Туйен	8,8	7,9	12,9	12,1	7,6	9,3	8,6
2	альфа-Пинен	0,6	1,9	3,3	3,2	1,7	1,8	1,8
3	Сабинен	1,3	0,8	0,9	1,7	0,7	0,9	1,2
4	бета-Пинен	3,2	2,2	3,3	3,4	2,9	2,5	3,7
5	бета-Мирцен	0,3	0,4	0,2	0,6	0,1	0,2	0,5
6	пара-Цимол	44,6	38,2	47,9	46,6	49,2	52,0	49,9
7	Лимонен	2,0	3,4	1,8	2,9	2,3	1,9	1,6
8	цис-Метокситуйен	0,8	1,0	1,0	1,2	1,3	0,9	1,3
9	транс-Метокситуйен	4,4	5,3	1,3	6,4	5,3	5,3	4,7
10	Неидентифицированное соединение	0,3	0,2	0,3	0,3	0,1	0,1	0,2
11	Терпинен-4-ол	1,2	0,8	0,8	1,5	1,5	0,9	1,4
12	Камфара	0,9	0,6	1,1	0,8	0,8	0,7	1,1
13	Тимохинон	19,8	22,9	14,5	10,1	17,9	13,5	12,7
14	Тимол	4,3	4,9	2,9	3,8	2,5	2,7	3,4
15	альфа-Лонгипинен	0,7	1,7	2,7	0,7	0,9	0,8	0,5
16	альфа-Лонгифолен	6,0	6,8	4,3	3,6	4,5	5,6	6,3
	Другие соединения	0,8	1,1	0,8	0,9	0,7	0,9	1,1
	Сумма	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

\* В таблице представлены средние значения трех параллельных определений

Таблица 5 – Состав липидных комплексов семян *Nigella sativa* L. из разных регионов мира по результатам количественной спектроскопии ЯМР <sup>1</sup>H

Соединение	Образец, регион произрастания, содержание, %						
	Йемен	Россия (Татарстан)	Индия	Таджикистан	Эфиопия	Египет	Израиль
Пальмитиновая + Стеариновая кислоты	15,2	16,3	16,0	15,9	14,3	15,6	14,7
Олеиновая	28,4	26,2	28,0	27,3	30,2	26,3	27,1
Линолевая	56,4	57,5	56,0	56,9	55,5	58,1	58,2
Линоленовая	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Сумма кислот	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Триацилглицериды	87,3	86,4	95,3	94,5	85,1	84,1	81,7
1,2-Диацилглицериды	4,7	5,7	1,7	1,9	5,5	5,6	7,2
1,3-Диацилглицериды	6,4	6,0	2,2	2,9	5,3	6,6	8,0
1-Моноацилглицериды	1,4	1,9	0,7	0,7	2,0	2,1	2,5
2-Моноацилглицериды	0,2	0,0	0,1	0,0	2,1	1,6	0,6
Сумма глицеридов	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Тимохинон	1,5	0,7	1,0	2,6	2,2	2,4	2,5

\* В таблице представлены средние значения трех параллельных определений



Спектры ЯМР  $^1\text{H}$  растительных масел содержат, как правило, 9 основных сигналов, соответствующих функциональным группам жирных кислот, входящих в их состав:  $-\text{CH}_3$  (0.82–0.94 м.д.),  $-(\text{CH}_2)_n-$  (1.20–1.43 м.д.),  $-\text{OCO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$  (1.55–1.69 м.д.),  $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$  (1.93–2.13 м.д.),  $-\text{OCO}-\text{CH}_2-$  (2.25–2.36 м.д.),  $=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$  (2.73–2.87 м.д.),  $-\text{CH}=\text{CH}-$  (5.29–5.43 м.д.), а также метиленовым и метиновому протонам глицеринового фрагмента  $-\text{CH}_2\text{OCOR}$  (4.10–4.35 м.д.) и  $\text{CHOCOR}$  (5.23–5.29 м.д.). При условии корректного выполнения эксперимента наблюдается строгая линейная связь площадей сигналов с содержанием в исследуемом образце ответственных за эти сигналы фрагментов молекул, основанная на физическом принципе спектроскопии ЯМР. Исходя из соотношений между площадями сигналов можно рассчитать содержание различных компонентов масел. Состав липидных комплексов семян чёрного тмина, определённый методом ЯМР  $^1\text{H}$ , приведен в таблице 5.

Результаты по жирнокислотному составу, полученные методом ЯМР  $^1\text{H}$ , достаточно близки к результатам, полученным методом ГХ-ПИД. Также заметны незначительные колебания в жирнокислотном составе масел из разных регионов мира. Регистрация спектра ЯМР  $^1\text{H}$  стандартного образца тимохинона позволила выявить характеристичные для него сигналы в спектре, не перекрывающиеся с основными сигналами функциональных групп жирных кислот и глицерина. Для идентификации тимохинона в маслах подходит три различных сигнала (рис. 4), расположенных при 6,57, 6,51 и 3,01 м.д. соответственно. Для целей количественной оценки содержания тимохинона были выбраны два сигнала, расположенные около 6,5 м.д. Спектроскопия ЯМР – прямой метод количественного анализа, не требующий использования стандартных образцов определяемых соединений для оценки их содержания в объектах различного генезиса. Результаты ЯМР  $^1\text{H}$  показывают, что содержание тимохинона в образцах варьируется в диапазоне 0,7–2,6%.

Данные химического состава показывают, что доминирующей жирной кислотой в составе липидного комплекса является кислота линолевая, что может свидетельствовать о потенциальной перспективности данного растительного сырья для создания препаратов, влияющих на липидный обмен.

Результаты сравнительного анализа липидного комплекса *Nigella sativa* L. получены впервые, данные аналогичных исследований в доступной литературе не выявлены.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, установлены профили и оценено содержание жирных кислот, стероидов, тритерпеновых спиртов, эфирных масел и тимохинона, обнаруженных в липидных комплексах семян черного тмина. Компонентный состав липидных комплексов, полученных из сырья, выращенного в разных регионах мира, является очень схожим, их омыляемая часть представлена триглицеридами (81,7–95,3%), присутствуют ди- (3,9–15,2%) и моноглицериды (0,7–4,1%). Они содержат в составе преимущественно линолевую (55,8–60,6%), олеиновую (21,8–24,6%), пальмитиновую (10,0–12,8%), стеариновую (2,4–3,2%) и *цис*-11,14-эйкозодиеновую (2,3–2,6%) кислоты. Содержание стероидов и тритерпеновых спиртов в липидном комплексе составило 0,4–0,7%, до 70% фракции представлено  $\beta$ -ситостерином (22,5–29,2%), циклоартенолом (20,1–36,6%) и 24-метиленциклоартанолом (9,5–19,9%). Содержание тимохинона в липидных комплексах варьировалось в пределах 0,7–2,6%.

Химический состав семян *Nigella sativa* L. позволяет рекомендовать данное растительное сырьё в качестве источника эссенциальных жирных кислот, тимохинона и эфирных масел с поливалентной фармакологической целью. Это определяет необходимость дальнейшего углубленного исследования *Nigella sativa* L. с позиции фармакологии и фармацевтической разработки.

### БЛАГОДАРНОСТЬ

Публикация подготовлена при поддержке Программы РУДН «5-100».

### АВТОРСКИЙ ВКЛАД

Все авторы в равной степени внесли свой вклад в исследовательскую работу.

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы публикации заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Исакова А.Л., Прохоров В.Н. Посевные качества семян нигеллы // Современные технологии сельскохозяйственного производства: сборник научных статей по материалам XVIII Международной научно-практической конференции. Гродно: Изд-во ГГАУ. 2015. С. 46–48.
- Лебедева А.Ф. Лекарственные растения. М.: Изд-во АСТ-Пресс Книга. 2004. 907 с.
- Нурмагомедова П.М., Омариёва М.Г. Обзор статей. Свойства чернушки посевной (*Nigella sativa*) // Медицина и здравоохранение: материалы II Междунар. науч. конф. Уфа: Изд-во Лето. 2014. С. 62–65.
- Кораблёва О. Целительница чернушка // Огородник. 2008. №8. С. 10–12.
- Гарипова А.Ф., Леонтьева М.А., Насрутдинова Р.А., Ямашев Т.А., Решетник О.А. Применение пряности

- Nigella sativa* в технологии хлебобулочных изделий из пшеничной муки // Вестник Казанского технологического университета. 2014. Т. 22. С. 241–243.
6. Sabira Sultana. *Nigella sativa*: Monograph // Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 2015. Vol. 4. No 4. P. 103–106.
  7. Halil Ibrahim Tuna, Burcu Babadag, Ayse Ozkaraman, Guler Balci Alparslan. Investigation of the effect of black cummin oil on pain in osteoarthritis geriatric individuals // Complementary Therapies in Clinical Practice. 2018. Vol. 31. P. 290–294. DOI: 10.1016/j.ctcp.2018.03.013
  8. Ahmad Khonche, Hasan Fallah Huseini, Mahdi Gholamian, Reza Mohtashami, Farzaneh Nabati, Saeed Kianbakht. Standardized *Nigella sativa* seed oil ameliorates hepatic steatosis, aminotransferase and lipid levels in non-alcoholic fatty liver disease: A randomized, double-blind and placebo-controlled clinical trial // Journal of Ethnopharmacology. 2019. Vol. 234. P. 106–111. DOI: 10.1016/j.jep.2019.01.009
  9. Mina Darand, Zahra Darabi, Zahra Yari, Saeedeh Saadati, Mehdi Hedayati, Ahmad Khoncheh, Behnam Hosseini-Ahangar, Seyed moayyed Alavian, Azita Hekmatdoost. *Nigella sativa* and inflammatory biomarkers in patients with non-alcoholic fatty liver disease: Results from a randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial // Complementary Therapies in Medicine. 2019. Vol. 44. P. 204–209. DOI: 10.1016/j.ctim.2019.04.014
  10. Bahareh Amin, Hossein Hosseinzadeh. Black Cummin (*Nigella sativa*) and Its Active Constituent, Thymoquinone: An Overview on the Analgesic and Anti-inflammatory Effects // Planta Medica. 2016. Vol. 82. P. 8–16. DOI: 10.1055/s-0035-1557838
  11. Wesam Kooti, Zahra Hasanzadeh-Noohi, Naim Sharafi-Ahvazi, Majid Asadi-Samani, Damoon Ashtary-Larky. Phytochemistry, pharmacology, and therapeutic uses of black seed (*Nigella sativa*) // Chinese Journal of Natural Medicines. 2016. Vol. 14. No 10. P. 732–745. DOI: 10.1016/S1875-5364(16)30088-7
  12. Said Gharby, Hicham Harhar, Dominique Guillaume, Aziza Roudani, Samira Boulbaroud, Mohamed Ibrahim, Mushtaq Ahmad, Shazia Sultana, Taibi Ben Hadda, Imane Chafchaoui-Moussaoui, Zoubida Charrouf. Chemical investigation of *Nigella sativa* L. seed oil produced in Morocco // Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences. 2015. Vol. 14. No 2. P. 172–177. DOI: 10.1016/j.jssas.2013.12.001
  13. Гогуэ Д.О., Сидоров Р.А., Цыдендамбаев В.Д., Холодова В.П., Кузнецов Вл.В. Жирнокислотный состав липидов вегетативных органов чернушки при разном уровне засоления среды // Известия РАН. Серия биологическая. 2014. № 3. С. 264–270.
  14. Давитанян Н.А., Рудь Н.К., Якуба Ю.Ф., Сампиев А.М. Разработка методики количественного определения тимохинона в семенах чернушки посевной // Кубанский медицинский научный вестник. 2015. №2. С. 56–62.
  15. Феськова Е.В., Игнатовец О.С., Тычина И.Н., Савич И.М., Святячук Д.С. Определение компонентного состава семян чернушки посевной (*Nigella sativa*) // Труды БГТУ. 2018. №2. С. 167–170.
  16. Eman Shawky, Nihal M. El Newehy, Amira M. Beltagy, Mohammad M. Abd-Alhaseeb, Gamal A. Omran, Fathallah M. Harraz Fingerprint profile and efficacy-associated markers of *Nigella sativa* oil for geographical origin determination using targeted and untargeted HPTLC-multivariate analysis // Journal of Chromatography B. 2018. Vol. 1087–1088. P. 108–117. DOI: 10.1016/j.jchromb.2018.04.042
  17. Hadad G.M., Salam R.A., Soliman P.M., Mesbah M.K. High performance liquid chromatography quantification of principal antioxidants in black seed (*Nigella Sativa* L.) phytopharmaceuticals // J. AOAC. 2012. Vol. 95. No 4. P. 1043–1047.
  18. Delphine Margout, Mary T. Kelly, Sylvie Meunier, Doris Auinger, Yves Pelissier, Michel Larroque. Morphological, microscopic and chemical comparison between *Nigella sativa* L. cv (black cummin) and *Nigella damascena* L. cv // Journal of Food, Agriculture & Environment. 2013. Vol. 11. P. 165–171.
  19. Mohamed A. Farag, Haidy A. Gad, Andreas G. Heiss, Ludger A. Wessjohann. Metabolomics driven analysis of six *Nigella species* seeds via UPLC-qTOF-MS and GC-MS coupled to chemometrics // Food Chemistry. 2014. Vol. 151. P. 333–342. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.11.032
  20. Aftab A.K. Gas chromatography coupled mass spectroscopic study of fatty acids composition of *Nigella sativa* L. (Kalonji) commercially available in Pakistan // International Food Research Journal. 2014. Vol. 21. No 4. P. 1533–1537.
  21. Скаковский Е.Д., Тычинская Л.Ю., Шиш С.Н., Шутова А.Г., Ламоткин С.А. ЯМР-анализ хлороформенных экстрактов семян чернушки // Труды БГТУ. 2015. №4. С. 234–239.
  22. Yehualashet Belete, Ermias Dagne. HPTLC assay of thymoquinone in black seed and black seed oil (*Nigella Sativa* Linn.) and identification of thymoquinone conversion with Uv-Vis // Journal of drug delivery & Therapeutics. 2014. No 4. P. 1–5. DOI: 10.22270/jddt.v4i4.895
  23. Abou-Basha L., Rashed M.S., Aboul-Enein H.Y. Thin layer chromatographic assay of thymoquinone in black seed oil and identification of dithymoquinone and thymol // Journal of liquid chromatography. 1995. No 18. P. 105–115. DOI: 10.1080/10826079508009224
  24. Herman Lutterodt, Marla Luther, Margaret Slavin, Jun-Jie Yin, John Parry, Jin-Ming Gao, Liangli (Lucy) Yu. Fatty acid profile, thymoquinone content, oxidative stability, and antioxidant properties of cold-pressed black cummin seed oils // LWT – Food Science and Technology. 2010. Vol. 43. P. 1409–1413. DOI: 10.1016/j.lwt.2010.04.009
  25. Maulidiani M., Bassem Y. Sheikh, Ahmed Mediani, Leong Sze Wei, Intan Safinar Ismail, Faridah Abas, Nordin H. Lajis. Differentiation of *Nigella sativa* seeds from four different origins and their bioactivity correlations based on NMR-metabolomics approach // Phytochemistry Letters. 2015. Vol. 13. P. 308–318. DOI: 10.1016/j.phytol.2015.07.012
  26. Бакуреза Г., Хромов А.В., Абрамович Р.А., Потанина О.Г., Горяинов С.В. Изучение методов получения различных фракций масел из семян чернушки посевной *Nigella Sativa* // Гармонизация подходов к фармацевтической разработке: сборник тезисов международной научно-практической конференции. М.: Изд-во РУДН. 2018. С. 55–57.

## АВТОРЫ

**Горяинов Сергей Владимирович** – без степени, без звания, заведующий лабораторией масс-спектрометрии высокого разрешения и спектроскопии ЯМР Центра прецизионных инструментальных методов анализа («ПРИМА») ЦКП (НОЦ), Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Российский университет дружбы народов. ORCID: 0000-0002-7625-9110. E-mail: goryainovs@list.ru

**Хромов Аркадий Валентинович** – кандидат технических наук, без звания, директор ЦФСИБТ ЦКП (НОЦ), Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Российский университет дружбы народов. ORCID: 0000-0002-6355-5615. E-mail: arkadiy18@ya.ru

**Бакуреца Гохара** – без степени, без звания, аспирант, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Российский университет дружбы народов. E-mail: gwohara2016@gmail.com

**Сесар Эспарса** – кандидат химических наук, без звания, инженер лаборатории масс-спектрометрии высокого разрешения и спектроскопии ЯМР Центра прецизионных инструментальных методов анализа («ПРИМА») ЦКП (НОЦ), Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Российский университет дружбы народов. ORCID: 0000-0002-8200-6208. E-mail: cesaug@yandex.ru

**Ивлев Василий Александрович** – без степени, без звания, инженер лаборатории масс-спектрометрии высокого разрешения и спектроскопии ЯМР

Центра прецизионных инструментальных методов анализа («ПРИМА») ЦКП (НОЦ), Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Российский университет дружбы народов. ORCID: 0000-0001-9664-9506. E-mail: chemistron@mail.ru

**Воробьев Александр Николаевич** – кандидат фармацевтических наук, заведующий лабораторией промышленной фармацевтической технологии ЦКП (НОЦ), Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Российский университет дружбы народов. ORCID: 0000-0002-7182-9911. E-mail: alek\_san2007@mail.ru

**Абрамович Римма Александровна** – доктор фармацевтических наук, доцент, директор ЦКП (НОЦ), Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Российский университет дружбы народов. ORCID: 0000-0003-1784-881X. E-mail: abr-rimma@yandex.ru

**Потанина Ольга Георгиевна** – доктор фармацевтических наук, без звания, заведующий кафедрой фармацевтической химии и фармакогнозии ЦКП (НОЦ), Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Российский университет дружбы народов. ORCID: 0000-0002-0284-419X. E-mail: microly@mail.ru

**Новиков Олег Олегович** – доктор фармацевтических наук, профессор, директор ЦККЛС ЦКП (НОЦ), Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Российский университет дружбы народов. ORCID: 0000-0003-3145-6783. E-mail: novikov\_oo@rudn.university