

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

УДК 547.9+615.322

© Коллектив авторов, 2022

А.Р. Мубинов¹, Е.В. Авдеева¹, Г.М. Латыпова², Ю.Л. Борцова²

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ КОМПЛЕКСНОЙ ПЕРЕРАБОТКИ ЧЕРНУШКИ ПОСЕВНОЙ

¹ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет»

Минздрава России, г. Самара

²ФГБОУ ВО «Башкирский медицинский государственный университет»

Минздрава России, г. Уфа

Цель исследования: изучение химического состава и антиоксидантной активности жирного масла и надземной части чернушки посевной (*Nigella sativa* L.). для обоснования разработки ресурсосберегающих технологий переработки растения.

Материал и методы. Объектами исследования служили коммерческие образцы масла чернушки посевной и трава чернушки посевной (*Nigella sativa* L.), выращенной на территории Ульяновской области. Оценку антиоксидантной активности масла чернушки проводили методом регистрации хемилюминесценции в модельных системах *in vitro*. Фитохимический анализ водно-спиртовых извлечений из травы чернушки посевной проводили методом прямой и дифференциальной спектрофотометрии.

Результаты. Масло чернушки оказывает существенное ингибирование процессов свободнорадикального окисления в модельных системах: проявляет себя в системе, генерирующей выработку активных форм кислорода в 6 раз активнее, чем препарат сравнения (альфа-токоферола ацетат), и в 2 раза активнее – в системе перекисного окисления липидов. Спектрофотометрический анализ извлечений на 40, 70 и 96% спирте этиловом подтвердил содержание суммы флавоноидов в траве чернушки посевной. Нами была предложена жидкая лекарственная форма – настойка травы чернушки посевной на 70% спирте этиловом (1:5).

Выводы. Полученные данные показывают перспективность сырья чернушки посевной (*Nigella sativa* L.) для комплексной переработки и пути рационального использования потенциала растения, используемого в медицине и фармации.

Ключевые слова: *Nigella sativa* L., чернушка посевная, жирное масло, трава, флавоноиды, спектрофотометрия.

A.R. Mubinov, E.V. Avdeeva, G.M. Latypova, Y.L. Bortsova

STUDY OF THE POSSIBILITY OF COMPLEX PROCESSING OF NIGELLA SATIVA L.

The aim of the study: to study the chemical composition and antioxidant activity of the fatty oil and the aerial part of *Nigella sativa* L. to substantiate the development of resource-saving plant processing techniques.

Material and methods. The objects of the study were a commercial sample of Black cumin seed oil and the *Nigella sativa* L. herb grown in the Ulyanovsk region. The antioxidant activity of oil of black cumin was evaluated by registration of chemiluminescence in model systems *in vitro*. Phytochemical analysis of aqueous-alcoholic extracts from *Nigella sativa* L. herb was performed with direct and differential UV-spectrophotometry.

Results. Black cumin seed oil shows a significant inhibition of free radical oxidation processes in model systems: 6 times more active in the system generating the production of reactive oxygen species than the reference preparation (alpha-tocopherol acetate), and 2 times more active in the system of lipid peroxidation. Spectrophotometric analysis of extracts on 40/70/96% ethyl alcohol confirmed the presence of the sum of flavonoids in the herb of *Nigella sativa* L. A liquid dosage form was offered – *Nigella sativa* L. 70% ethanolic herb tincture (1:5).

Conclusions. The obtained data show the potential of all raw materials of *Nigella sativa* L. for the complex and rational use of the plant potential in medicine and pharmacy.

Key words: *Nigella sativa* L., black cumin, fatty oil, herb, flavonoids, spectrophotometry.

Лекарственное растительное сырьё (ЛРС) широко используется в современной фармацевтической промышленности для получения целого ряда лекарственных растительных препаратов (ЛРП), эффективных при многих заболеваниях и, при грамотном использовании, оказывающих минимальные побочные действия [1]. Перспективным растительным объектом является представитель семейства Лютиковые (*Ranunculaceae*), рода Чернушка (*Nigella* L.) чернушка посевная (*Nigella sativa* L.) [3,6].

Наибольшее изученность и популярность имеют как семена чернушки, так и масло чернушки (в нативном виде и в капсулах они особенно популярны на коммерческом

рынке биологически активных добавок (БАД)). Для них описан широкий спектр фармакологической активности: липолитическое, антиатеросклеротическое, антиастматическое, гепатопротекторное, противомикробное, противовирусное (в том числе против COVID-19) и другие виды фармакологического действия [6,8,9,11]. Столь разнообразное действие может быть объяснено общей природой одного из звеньев саногенеза – антиоксидантной активностью, что нуждается в экспериментальном подтверждении.

Несмотря на большую популярность чернушки посевной у исследователей, преобладающая фитомасса сырья – трава чернушки посевной – недостаточно изучена и требует

углубленного фитохимического изучения и решения вопроса стандартизации. Данный вид сырья имеет ценные группы биологически активных соединений (БАС) – фенольные соединения (доминирующая группа), для которых описаны антиоксидантное, антибактериальное, а также антидиабетическое действие [2,10]. Поэтому необходимо уточнение химического состава и установление взаимосвязи химический состав – фармакологическая активность, что позволит использовать весь потенциал растения, используемого в медицинской и фармацевтической практике, в том числе с позиции комплексной переработки лекарственного растения. В этой связи целью исследования явилось изучение химического состава и антиоксидантной активности жирного масла и надземной части чернушки посевной (*Nigella sativa* L.) для обоснования разработки ресурсосберегающих технологий переработки растения.

Материал и методы

Материалом исследования служили коммерческие образцы жирного масла чернушки посевной (*син. чёрный тмин*,) (Египет), а также водно-спиртовые извлечения из травы чернушки посевной с использованием различных концентраций спирта этилового марки ХЧ (40%, 70%, 96%) (Спирт этиловый 96%, ООО «Гиппократ», серия: 360917) в соотношении сырье – экстрагент (1:30).

Способ и время экстракции – извлечение на кипящей водяной бане в течение 45 минут, степень измельчения сырья – 2 мм. Также для изучения фитохимического состава чернушки была получена настойка из травы чернушки посевной на 70% спирте этиловом в соотношении сырье – экстрагент (1:5) методом дробной мацерации с нагреванием до 70°C в течение 30 минут на заключительной стадии.

Для получения извлечений и настойки из чернушки использовалась трава чернушки посевной, культивируемая из ее семян чернушки посевной (Египет) и выращенная в Ульяновской области (Чердаклинский район, рабочий поселок Чердаклы). Сырьё было заготовлено в период цветения – начала плодоношения (июль – август 2021 г.).

Регистрация хемилюминесценции проводилась на хемилюминометре «ХЛМ-003» (Россия) в 2-х модельных системах (МС), моделирующих процессы выработки активных форм кислорода (АФК) и перекисного окисления липидов (ПОЛ) для проверки антиоксидантной активности масла [5]. В качестве контроля служили МС без добавления иссле-

дуемых препаратов (в тех же объемах добавляли физиологический раствор), а также с добавлением диметилсульфоксида (ДМСО) (контроль+ДМСО). Исследуемый образец масла добавляли в МС в виде раствора в ДМСО. В качестве препарата сравнения использовали масляный раствор альфа-токоферола ацетата («Марбиофарм», Россия). Для каждой системы была подобрана оптимальная дозировка - для определения АФК было оптимально подобрано и выбрано добавление по 0,5 мл раствора приготовленных образцов, а для определения реакции ПОЛ – 0,1 мл раствора приготовленных образцов масел (как минимально эффективные и имеющие аналитический эффект концентрации).

Также использовались методы прямой и дифференциальной спектрофотометрии для изучения фитохимического состава извлечений и настойки из травы чернушки посевной, проведенные по ОФС.1.2.1.1.0003.15 «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях» [1]. Электронные спектры были получены на спектрофотометре «СФ-2000» (ОКБ «Спектр») в кюветах толщиной слоя 10 мм. Математическая и статистическая обработки результатов исследования осуществлялись с использованием программного обеспечения Microsoft Office Excel (2016) 16.0.5278.1000 MSO 16.0.5278.1000 и Statistica 6.0. Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Регистрация хемилюминесценции в модельных системах выявила существенное ингибирование процессов свободнорадикального окисления в образования АФК и ПОЛ исследуемым образцом масла чернушки посевной в сравнении с препаратом сравнения (табл. 1).

Препарат сравнения (альфа-токоферола ацетат – витамин Е) имел менее выраженную активность – в 6 раз меньше в АФК-системе, в 2 раза меньше в ПОЛ-системе. Показательная характеристика хемилюминесценции – светосумма свечения – является наиболее информативным показателем в данном анализе [5]. Также стоит отметить, что ранее авторами было установлено высокое содержание непредельных жирных кислот в составе масла чернушки – около 88,42%, что, возможно, вместе с терпеноидной фракцией в составе масла обуславливает антиоксидантную активность масел чернушки [7].

Учитывая, что большую фитомассу растения представляют не семена, а другие надземные органы данного растения (трава),

проводилось изучение спектральных характеристик извлечений из травы чернушки. Выявлены характерные для веществ группы флавоноидов максимумы поглощения. В качестве стандартного образца был выбран рутин, так как раствор СО рутина в присутствии алюми-

ния хлорида имеет сходие с исследуемым объектом максимумы поглощения в интервалах 274-276 нм (коротковолновый диапазон) и 406-408 нм (длинноволновый диапазон), наблюдается характерный видимый батохромный сдвиг (рис. 1) [4].

Таблица 1

Хемилюминесценция в модельных системах АФК и ПОЛ жирного масла чернушки				
№	Объект исследования	Объем, мл	Светосумма абсол./относит. контроля (ПОЛ)	Светосумма абсол./относит. контроля (АФК)
1	Контроль		69±0,1/104,5%	123±0,2/102,5%
2	Контроль+ДМСО		66±0,2/100%	120±0,1/100%
3	Масло чёрного тмина	0,1 (ПОЛ) 0,5 (АФК)	19±0,2/28,8%	18±0,1/15%
6	Препарат сравнения (альфа-токоферола ацетат)	0,1 (ПОЛ) 0,5 (АФК)	33±0,2/50,0%	115±0,3/95,8%

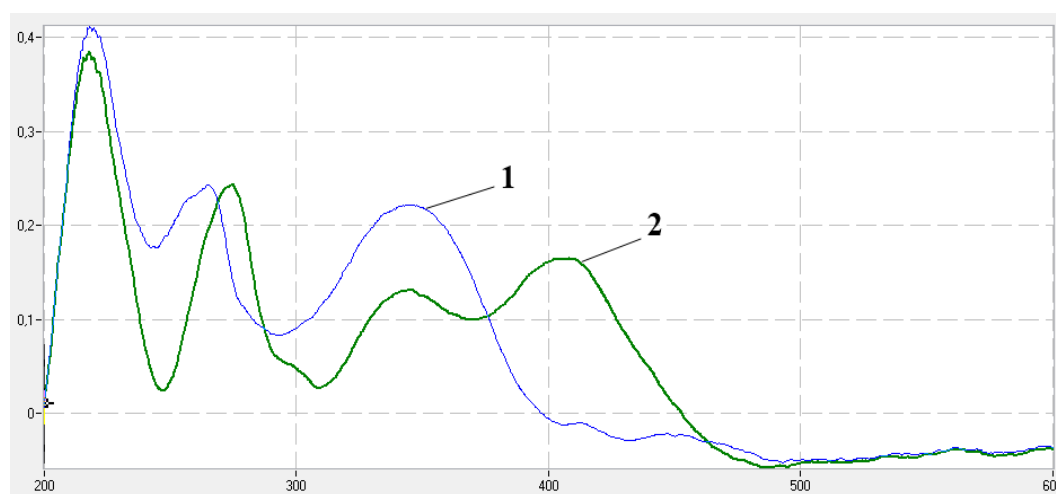


Рис. 1. Электронные спектры поглощения 70% водно-спиртового извлечения травы чернушки посевной:
1 – раствор исходного извлечения; 2 – раствор извлечения с добавлением алюминия хлорида

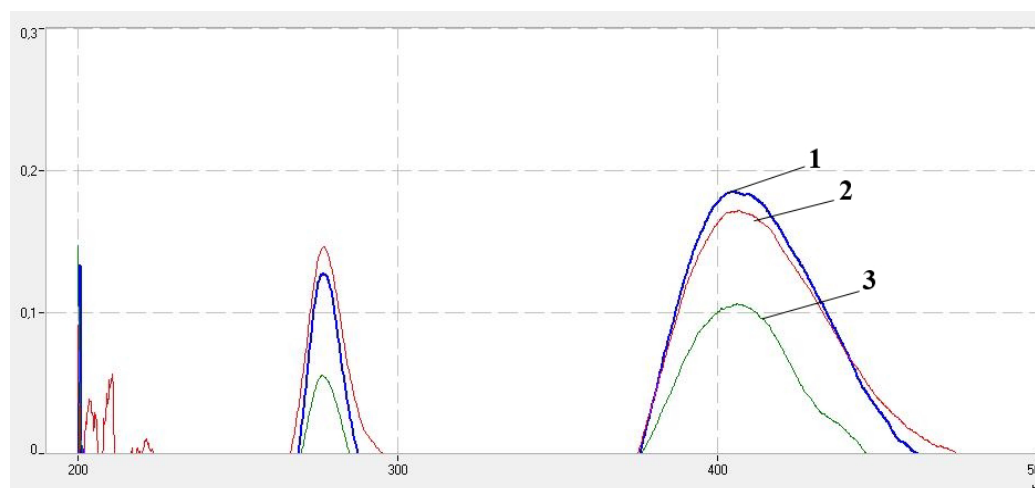


Рис. 2. Электронные дифференциальные спектры поглощения водно-спиртовых извлечений из травы чернушки посевной:
1 – 70% этиловый спирт; 2 – 96% этиловый спирт; 3 – 40% этиловый спирт

В УФ-спектре водно-спиртового извлечения из травы чернушки посевной в дифференциальном варианте обнаруживается максимум поглощения при длине волны около 410 нм, который практически соответствует максимуму спиртового раствора рутина (рис. 2). Это позволяет утверждать, что в исследуемом объекте присутствует группа веществ – флавоноидов и выбрать

рутин в качестве внешнего стандартного образца [3,4].

В ходе сравнительного изучения и установления содержания суммы флавоноидов в извлечениях с различной концентрацией спирта была выбрана оптимальная концентрация для создания перспективной жидкой лекарственной формы – настойки травы чернушки посевной на 70% спирте этиловом

(1:5), полученной методом дробной мацерации. При данной концентрации экстрагента происходит наиболее эффективная экстракция целевой группы БАС – флавоноидов (табл. 2).

Таблица 2
Сравнительное содержание суммы флавоноидов в водно-спиртовых извлечениях и настойке травы чернушки посевной

Объект исследования	Содержание суммы флавоноидов, %
Трава чернушки и 40% спирт этиловый	0,32±0,02
Трава чернушки и 70% спирт этиловый	0,58±0,03
Трава чернушки и 96% спирт этиловый	0,55±0,03
Настойка травы чернушки и 70% спирт этиловый	0,96±0,04

Примечание. Количество измерений – не менее 5 с $p=0,95$.

В этой связи считаем целесообразным продолжить дальнейшее изучение данного растения в плане последовательной переработки (с уточнением сроков заготовки): заготовка семян с целью получения масла с антиоксидантной активностью и одновременная или последующая заготовка травы с целью

получения экстракционных препаратов, содержащих флавоноиды и выяснения специфической фармакологической активности.

Заключение

Таким образом, полученные данные показывают перспективность рассмотрения чернушки посевной (*Nigella sativa* L.) для комплексного использования ее потенциала в медицине и фармации. Для жирного масла чернушки посевной, получаемого из ее семян, доказана антиоксидантная активность – подавление генерации активных форм кислорода и перекисного окисления липидов с использованием специфических модельных систем *in vitro*. Установлена основная группа БАС для преобладающей фитомассы растения (травы чернушки посевной) – флавоноиды. Предложена жидкая лекарственная форма – настойка травы чернушки посевной на 70% спирте этиловом (1:5), в которой доминирующим классом БАС являются флавоноиды.

Сведения об авторах статьи:

Мубин Артур Рустемович – аспирант кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, главный специалист НОЦ «Фармация» ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. Адрес: 443079, г. Самара, ул. Гагарина, 18. E-mail: a.g.mubinov@samsmu.ru.

Авдеева Елена Владимировна – д.фарм.н., профессор кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. Адрес: 443099, г. Самара, ул. Чапаевская, 89. E-mail: e.v.avdeeva@samsmu.ru.

Латышова Гузель Минулловна – д.фарм.н., профессор кафедры фармации ИДПО ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. Тел.: 8(347)272-62-95. E-mail: 79177525174@yandex.ru.

Борцова Юлия Львовна – к.б.н., доцент кафедры фундаментальной и прикладной микробиологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. Тел.: 8(347)276-19-60. E-mail: juliabaim@yandex.ru.

ЛИТЕРАТУРА

1. Государственная Фармакопея Российской Федерации. Министерство здравоохранения РФ. XIV изд. Т.1–4. М., 2018. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://femb.ru/record/pharmacopeia14> (дата обращения: 24.03.2022).
2. Исследование антидиабетических свойств надземных частей чернушки посевной (*Nigella sativa* L.) / М.У. Шарофова [и др.] // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2018. – Т.21, №10. – С. 112-118. DOI 10.29296/25877313-2018-10-21.
3. Куркин В.А. Фармакогнозия: Учебник для фармацевтических вузов (факультетов) / изд. 5 перераб. и доп. – Самара: ООО «Офорт»: ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, 2020. – 1278 с.
4. Куркина А.В. Флавоноиды фармакопейных растений: монография / А.В. Куркина. – Самара: ООО «Офорт», ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России, 2012. – 290 с.
5. Оценка антиоксидантной активности травы цикория обыкновенного (*Cichorium intybus* L.) / О.Л. Сайбель [и др.] // Acta Biomedica Scientifica (East Siberian Biomedical Journal). – 2017. – Т.2, №2. – С. 85-88. DOI 10.12737/article_59a614fcd18c42.95236968.
6. Рудь, Н.К. Основные результаты фитохимического и фармакологического исследования чернушки посевной / Н.К. Рудь, А.М. Сампиев, Н.А. Давитаян // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. – 2013. – №25(168). – С. 207-212.
7. Kurkin, V.A. Comparative research of fatty acid composition and volatile components of fatty oils from seeds of *nigella sativa* and *argania spinosa* / V.A. Kurkin [et al.] // Research Journal of Pharmacy and Technology. – 2021. – Vol. 14, No 3. – P. 1586-1590. DOI: 10.5958/0974-360X.2021.00280.8.
8. Mohammad, R.K. Possible therapeutic effects of *Nigella sativa* and its thymoquinone on COVID-19 / R.K. Mohammad, G. Shoukhouh, S. Mahmood // Pharm Biol. – 2021. – Vol. 59, No. 1. – P. 696-703. DOI: 10.1080/13880209.2021.1931353
9. *Nigella sativa* L. from traditional to contemporary medicine: a review / A. Aftab [et al.] // International Journal of Biology and Biotechnology. – 2018. – Vol. 15, No. 2. – P. 237-254.
10. Pharmacological screening and GC-MS analysis of vegetative/reproductive parts of *Nigella sativa* L. / A. Aftab [et al.] // Pak. J. Pharm. Sci. – 2020. – Vol. 33, No. 5. – P. 2103-2111. DOI: 10.36721/PJPS.2020.33.5.REG.2103-2111.1
11. He, T. The influence of *Nigella sativa* for asthma control: A meta-analysis / T. He, X. Xu // Am J Emerg Med. – 2020. – Vol. 38, No. – P. 589-593. DOI: 10.1016/j.ajem.2019.11.036.

REFERENCES

1. The State Pharmacopeia of the Russian Federation. XIV edition. Ministry of Health of the Russian Federation. Moscow; 2018. [Electronic resource] / URL: <http://femb.ru/femb/pharmacopeia.php> (in Russ.).
2. The study of the antidiabetic properties of the above-ground parts of black cumin (*Nigella sativa* L.) / M.U. Sharofova [et al.] // Voprosy biologicheskoi, meditsinskoi i farmatsevticheskoi khimii. 2018; 21(10):112-118. DOI 10.29296/25877313-2018-10-21 (in Russ.).
3. Kurkin, V.A. Farmakognosiya: Uchebnik dlya farmatsevticheskikh vuzov (fakul'tetov). 5-e izd., pererab. i dop, Samara: SamSMU, 2020:1278. (in Russ.).
4. Kurkina, A.V. Flavonoids of pharmacopeia plants: monograph. Samara: SamGMU, 2012: 290. (in Russ.).

5. Saybel O.L. [et al.] Assessment of antioxidant activity of witloof chicory herb (*Cichorium intybus* L.). *Acta Biomedica Scientifica*. 2017; 2(2):85-88. DOI 10.12737/article_59a614fcd18c42.95236968 (in Russ.).
6. Rud N.K., Sampiev A.M., Davitavyan N.A. Main results of phytochemical and pharmacological research of *Nigella sativa* L. (review). *Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Meditsina. Farmatsiya*. 2013; 25(168):207-212 (in Russ.).
7. Kurkin, V.A. Comparative research of fatty acid composition and volatile components of fatty oils from seeds of *nigella sativa* and *argania spinosa*. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 2021; 14(3):1586-1590. DOI: 10.5958/0974-360X.2021.00280.8. (in Russ.).
8. Mohammad R.K., Shoukhouh G., Mahmood S. Possible therapeutic effects of *Nigella sativa* and its thymoquinone on COVID-19. *Pharm Biol*. 2021; 59(1):696-703. DOI: 10.1080/13880209.2021.1931353 (in Engl.)
9. Aftab A. [et al.] *Nigella sativa* L. from traditional to contemporary medicine: a review. *International Journal of Biology and Biotechnology*. 2018; 15(2):237-254. (in Engl.)
10. Aftab A. [et al.] Pharmacological screening and GC-MS analysis of vegetative/reproductive parts of *Nigella sativa* L. *Pak. J. Pharm. Sci*. 2020;33(5):2103-2111. DOI: 10.36721/PJPS.2020.33.5.REG.2103-2111.1(in Engl.)
11. He T., X. Xu The influence of *Nigella sativa* for asthma control: A meta-analysis. *Am J Emerg Med*. 2020;38:589-593. DOI: 10.1016/j.ajem.2019.11.036. (in Engl.)

УДК 615.322

© Д.О. Семакин, Д.К. Гуляев, В.Д. Белоногова, 2022

Д.О. Семакин, Д.К. Гуляев, В.Д. Белоногова
**СЕЗОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ
 И СОДЕРЖАНИЯ ОСНОВНЫХ ГРУПП ВЕЩЕСТВ
 ЕЛИ ОБЫКНОВЕННОЙ ШИШЕК**
*ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия»
 Минздрава России г. Пермь*

Цель исследования. Исследование антиоксидантной активности экстракта шишек ели обыкновенной, полученного из сырья разных сроков заготовки.

Материал и методы. Объектом исследования являются ели обыкновенной шишки, заготовленные на территории Ильинского района Пермского края с июля 2020 по март 2021 г. Экстракты получали по запатентованной нами методике (патент №2756009 от 24.09.2021) и методике Государственной Фармакопеи 14-го издания. Для определения антиоксидантной активности использовали реакцию со стабильным свободным радикалом 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом. Содержание флавоноидов определяли спектрофотометрически по разработанной нами методике.

Результаты и обсуждение. Установлено, что наибольшая антиоксидантная активность наблюдается у экстрактов, полученных из сырья, заготовленного в период с сентября ($IC_{50} = 28,02 \pm 0,68$) по декабрь ($IC_{50} = 32,68 \pm 2,29$). Антиоксидантная активность экстракта, полученного по методике, описанной в патенте RU №2756009, достоверно выше показателей антиоксидантной активности экстракта, полученного по фармакопейной методике. Максимум накопления флавоноидов в шишках ели обыкновенной наблюдается в январе ($0,22 \pm 0,04\%$). Начиная с августа ($37,92 \pm 5,89\%$) наблюдается увеличение содержания окисляемых веществ.

Выводы. Полученные результаты показывают необходимость расширения сроков заготовки шишек ели обыкновенной для получения экстрактов с максимальным содержанием действующих веществ и наибольшей антиоксидантной активностью.

Ключевые слова: ель обыкновенная, антиоксидантная активность, флавоноиды, окисляемые вещества.

D.O. Semakin, D.K. Gulyaev, V.D. Belonogova
**SEASONAL CHANGES IN THE ANTIOXIDANT ACTIVITY AND THE CONTENT
 OF THE MAIN GROUPS OF SUBSTANCES IN COMMON SPRUCE CONES**

Objective. The research of the antioxidant activity of the extract of the cones of the common spruce obtained from raw materials of different harvesting periods.

Material and methods. The object of the study are common spruce cones harvested on the territory of the Ilyinsky district of Perm Krai from July 2020 to March 2021. Extracts were obtained according to the procedure specified in the patent (№2756009 of 24.09.2021) and the methodology of the State Pharmacopoeia of the 14th edition. To determine the antioxidant activity, a reaction with a stable free radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl was used. The content of flavonoids was determined spectrophotometrically according to the method developed by us.

Results and discussion. It was found that the greatest antioxidant activity is observed in extracts obtained from raw materials harvested in the period from September ($IC_{50} = 28.02 \pm 0.68$) to December ($IC_{50} = 32.68 \pm 2.29$). The antioxidant activity of the extract obtained by the method specified in the RU №2756009 patent is significantly higher than the antioxidant activity of the extract obtained by the pharmacopoeia method. The maximum accumulation of flavonoids in the cones of spruce is observed in January ($0.22 \pm 0.04\%$). Since August ($37.92 \pm 5.89\%$), there has been an increase in the content of oxidizable substances.

Conclusions. The results obtained show the need to extend the harvesting time of the common spruce cones to get extracts with the maximum content of active substances and the greatest antioxidant activity.

Key words: common spruce, antioxidant activity, flavonoids, oxidizable substances.

Ель обыкновенная (*Picea abies* L.) является широко распространенным древесным растением на территории Российской Федерации. На лесосеках после заготовки древесины остается огромное количество древесных отходов, которые являются источниками за-

грязнения и повышения риска возникновения лесных пожаров. Древесными отходами ели обыкновенной являются: кора, древесная зелень, корневая система и шишки. Шишки ели обыкновенной имеют богатый химический состав и могут рассматриваться в качестве