

А. Р. Мубинов¹, Е. В. Авдеева¹, В. А. Куркин^{1,*}, Г. М. Латыпова²,
Р. Р. Фархутдинов², В. А. Катаев², Т. К. Рязанова¹

ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ ПРОФИЛЬ И АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ЖИРНОГО МАСЛА ЧЕРНУШКИ ПОСЕВНОЙ

¹ ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Россия, 443099, Самара, Чапаевская ул., 89.

² ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Россия, 450008, Уфа, ул. Ленина, 3.

* e-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

С целью поиска перспективных антиоксидантных средств среди пищевых растительных масел с высоким содержанием непредельных жирных кислот проведено изучение методом газовой хроматографии с масс-селективным детектированием химического состава жирного масла чернушки посевной (*Nigella sativa* L.), или черного тмина. Для образцов продукции промышленного производства (Египет, Пакистан, Саудовская Аравия) определен жирнокислотный профиль, установлено доминирование эссенциальных жирных кислот, подтверждено присутствие эфиромасличной фракции. С учетом полученных данных проведено сравнительное исследование антиоксидантной активности образцов жирного масла методом хемиллюминесценции. Доказана способность жирного масла чернушки посевной подавлять генерацию активных форм кислорода и перекисного окисления липидов в модельных системах. Определено, что антиоксидантные свойства наиболее выражены в концентрации 5 мг/мл для системы, моделирующей процесс выработки активных форм кислорода, и 1 мг/мл — для системы, моделирующей процесс перекисного окисления липидов.

Ключевые слова: *Nigella sativa* L.; чернушка посевная (черный тмин); жирное масло; жирные кислоты; антиоксидантные свойства; хемиллюминесценция.

Загрязнение окружающей среды, дисбаланс пищевого рациона и широкий круг патологических процессов являются причинами повышенного образования свободных радикалов в человеческом организме [1]. Значительное усиление процессов свободнорадикального окисления (СРО), связанное с увеличением содержания активных форм кислорода (АФК), приводит к оксидативному стрессу [2, 3], инициирующему развитие сердечно-сосудистых заболеваний, в том числе атеросклероза [4], гипертонии [5], диабета [6], онкологических заболеваний и ряда других.

Антиоксиданты, способные инактивировать свободные радикалы с образованием неактивных или менее активных форм, играют важную роль в регуляции протекания свободнорадикальных реакций в организме и существенно влияют на его состояние. В многочисленных исследованиях, проведенных как *in vitro*, так и *in vivo*, было показано положительное влияние веществ-антиоксидантов различных химических классов на течение большого числа заболеваний, в том числе инфекционно-воспалительных [7 – 9].

Оценка антиоксидантных свойств различных соединений является крайне актуальной задачей, однако при всей вариабельности методических подходов стандартизованного метода оценки антиокислительной активности не существует [10].

К числу перспективных для использования в медицинских целях антиоксидантов природного происхождения, на наш взгляд, относятся растительные масла с высоким содержанием непредельных жирных кислот. Достаточно широкий круг жирных масел на основе

триглицеридов полиненасыщенных жирных кислот нуждается в углубленном изучении как в качестве собственно антиоксидантных средств, так и в качестве компонентов и вспомогательных веществ (растворителей) для соединений с антиоксидантной активностью из других химических классов. В качестве объекта настоящего исследования было выбрано жирное масло однолетнего травянистого растения – чернушки посевной (*Nigella sativa* L.), или чёрного тмина, – представителя семейства Лютиковых (*Ranunculaceae*). Масло черного тмина, являясь специализированной пищевой продукцией, производимой во многих странах, широко представлено среди товаров дополнительного аптечного ассортимента в аптечных сетях, специализированных магазинах, а также в соответствующих отделах торговых сетей. Согласно инструкциям по применению, названный продукт рекомендуется в качестве источника ненасыщенных и насыщенных жирных кислот, жирорастворимых витаминов, фосфолипидов, эфирных масел, макро- и микроэлементов для внутреннего и наружного применения в качестве антиоксидантного средства, а также в качестве дополнения к назначенному лечению при заболеваниях, связанных с нарушением обменных процессов [11].

Анализ литературных данных показал, что жирное масло чернушки посевной (черного тмина) содержит различные биологически активные вещества (ненасыщенные жирные кислоты, терпеноиды, витамины и др.), для которых в мировой литературе описаны антиоксидантные, липолитические, антибактериальные, желчегонные свойства [12 – 15].

По запросу аптечной сети АО “Фармлэнд”, имеющей в своем ассортименте масло черного тмина различных производителей, нами проведен анализ 5 образцов для изучения состава, определения биологических свойств и выявления наиболее преимущественных образцов.

Целью исследования являлось установление жирнокислотного профиля и изучение влияния жирного масла чернушки посевной на процессы свободнорадикального окисления (СРО) в модельных системах *in vitro* с использованием экспресс-метода определения антиоксидантной активности, основанного на регистрации хемилюминесценции (ХЛ).

Экспериментальная химическая часть

Изучение жирнокислотного состава масла чернушки посевной (производства Египет, Пакистан, Саудовская Аравия) проводили методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ГХ-МС) после перевода жирных кислот в метиловые эфиры по методике ГОСТ 31665-2012 переэтерификацией с метанольным раствором калия гидроксида [16]. Состав жирных кислот определяли с помощью газового хроматографа “МАЭСТРО 7820” (ООО “ИНТЕРЛАБ”, Россия) с масс-спектрометром модели Agilent 5975 (Agilent Technologies, Inc., США) и автоинжектором. Анализ проводили с использованием капиллярной кварцевой колонки HP-5ms 30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм (неподвижная фаза: 5 %-дифенил-95 %-диметилсилоксан) фирмы Agilent (Agilent Technologies, Inc., США). Условия хроматографирования: программирование температуры термостата колонок: изотерма 50° С в течение 1 мин — нагрев до 180° С со скоростью 15 град./мин — нагрев до 280° С со скоростью 4 град./мин — изотерма 280° С в течение 5 мин; газ-носитель — гелий; скорость газа-носителя — 1 мл/мин; температура испарителя 280° С; температура источника ионов 150° С; температура квадруполя 230° С; температура переходной камеры 280° С; объем вводимой жидкой пробы — 1 мкл с делением потока.

Для идентификации компонентов определяли линейные индексы удерживания, сопоставляли полученные результаты и полные масс-спектры с библиотечными (библиотеки масс-спектров NIST 2.0) и лите-

ратурными данными. Рассматривались только компоненты, определяемые по библиотеке с вероятностью более 90 %.

Экспериментальная биологическая часть

Измерение антиоксидантной активности жирных масел чернушки посевной в модельных системах (МС)

Объектами сравнительного исследования служили 6 коммерческих образцов жирного масла чёрного тмина различного географического происхождения и производства (Российская Федерация, Египет, Пакистан, Саудовская Аравия), полученные методом холодного прессования (в пределах заявленного срока годности). Антиоксидантную активность определяли методом регистрации хемилюминесценции на хемилюминометре “ХЛМ-003” (Россия) в системах, моделирующих процессы (1) выработки активных форм кислорода (АФК) и (2) перекисного окисления липидов (ПОЛ).

В качестве МС, где генерировались АФК, использовали 20 мл фосфатного буфера (20 мМ KH_2PO_4 , 105 мМ KCl) с добавлением раствора люминола (10^{-5} М) и цитрата натрия (50 мМ). Предварительно все исследуемые образцы были растворены в диметилсульфоксиде (ДМСО) из расчета содержания 0,2 мл исследуемого масла в 1 мл полученного образца. Величину рН полученного раствора МС доводили до 7,45 титрованием насыщенным раствором калия гидроксида. Для инициирования реакций, сопровождающихся образованием АФК, вводили 1 мл 50 мМ раствора солей Fe^{2+} . Регистрация свечения продолжалась в течение 5 мин при постоянном перемешивании. ХЛ МС характеризовалась спонтанным свечением, быстрой вспышкой и развивающейся затем медленной вспышкой. Основными наиболее информативными характеристиками ХЛ служили светосумма свечения, определяющаяся по интенсивности излучения, и амплитуда максимального свечения [18, 19].

Влияние исследуемых образцов на ПОЛ изучали на липидах куриного желтка, сходных по составу с липидами крови человека. Липиды в виде липосом получали путём гомогенизирования куриного желтка в фосфатном буфере в соотношении 1:5 и последующим разбавлением в 20 раз; отбирали 20 мл. Добавление в

Таблица 1

Жирнокислотный состав масла чернушки посевной

№ п/п	Идентифицированный компонент (жирные кислоты)	“Egyptian Black Seed Oil” (Египет), %	“Масло Королевское” (Египет), %	“Black seeds oil” (Пакистан), %	“Huile de Nigelle” (Саудовская Аравия), %	“Золото Эфиопии” (Египет), %
1	Пальмитиновая кислота (C16:0)	9,26	3,97	6,41	12,36	7,60
2	Линолевая кислота (C18:2)	64,08	36,64	63,33	48,92	64,82
3	Олеиновая кислота (C18:1)	23,32	55,84	26,56	31,53	24,09
4	11-Октадеценовая кислота (C18:1)	0,45	—	0,63	1,79	0,47
5	Линоленовая кислота (C18:3)	—	0,24	0,02	—	—
6	Стеариновая кислота (C18:0)	1,30	1,24	1,41	2,62	1,42
7	Эйкозодиеновая кислота (C20:2)	0,87	0,19	0,61	1,48	0,73
8	11-Эйкозеновая кислота (C20:1)	0,10	0,24	0,12	—	0,10

Примечание: представлены средние значения ($n = 3$).

систему 1 мл 50 мМ раствора Fe²⁺ вело к инициированию окисления ненасыщенных жирных кислот, входящих в состав липидов, что сопровождалось ХЛ. По интенсивности свечения судили о процессах ПОЛ. Уровень спонтанного свечения характеризует интенсивность перекисного окисления липидов до введения катализатора; амплитуда быстрой вспышки отражает скорость окисления ионов Fe²⁺ и образования АФК и гидроперекисей липидов; длительность латентного периода коррелирует с антиокислительной активностью изучаемого образца. Величина светосуммы свечения определяет способность липидов подвергаться окислению.

В качестве контроля служили МС без добавления исследуемых препаратов (в тех же объемах добавляли физиологический раствор), а также с добавлением ДМСО (контроль + ДМСО). Исследуемые препараты, образцы масел чернушки посевной, добавляли в МС в виде растворов в ДМСО. В качестве препарата сравнения использовали масляный раствор альфа-токоферола ацетата. В сериях экспериментов с МС для определения АФК было оптимально подобрано и выбрано добавление по 0,5 мл раствора приготовленных образцов, для МС при определении ПОЛ добавляли по 0,1 мл раствора приготовленных образцов — масел чёрного тмина различного производства.

Результаты и их обсуждение

Методом ГХ-МС установлен жирнокислотный состав масла чернушки посевной (производства Египет, Пакистан, Саудовская Аравия), всего было идентифицировано 29 компонентов. В жирнокислотном профиле характерно доминирование ненасыщенных жирных кислот (до 90 % и выше) — линолевой, олеиновой, незначительно содержание эйкозодиеновой и в минорном количестве представлена линоленовая кислота. Также присутствуют насыщенные жирные кислоты (в большинстве образцов — менее 10 %) — пальмитиновая и стеариновая. Всего обнаружено 15 жирных кислот, основные из них представлены в табл. 1. Кроме того, идентификация масел на содержание растворен-

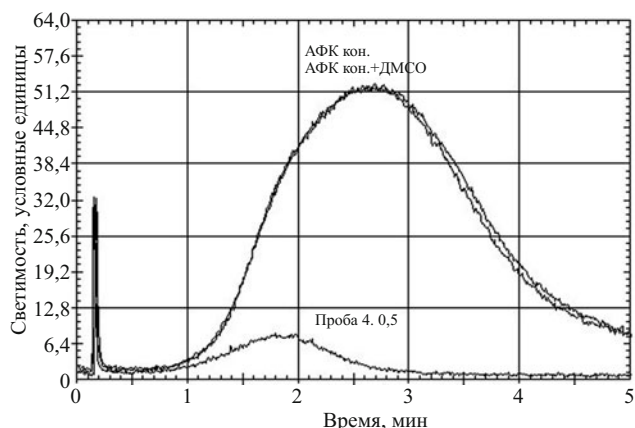


Рис. 1. Влияние образца масла чернушки посевной (“Huile de Nigelle”, Саудовская Аравия) на процессы СРО в модельной системе АФК.

ных в них компонентов эфирного масла показала их минорность по отношению к другим компонентам масла черного тмина (жирным кислотам и их триглицеридам). Фракция эфирного масла черного тмина в основном представлена *n*-цимолем, который доминирует по содержанию для всех проб масла (0,09 – 0,85 %). Низкое содержание наблюдалось для β-туена (0,03 – 0,07 %), лонгифолена (0,03 – 0,08 %), а также для α-пинена и *транс*-4-метокситуйона, которые были обнаружены в меньшем количестве во всех образцах жирных масел. В следовых количествах содержатся β-пинен, тимохинон, сабинен, лимонен, γ-терпинен, *цис*-4-метокситуйон, терпинен-4-ол, камфора, борнилацетат, лонгипинен и апиол [17].

Учитывая большое количество обнаруженных эссенциальных жирных кислот, было проведено измерение антиоксидантной активности жирных масел чернушки посевной в МС.

С использованием метода регистрации хемилюминесценции установлено существенное ингибирующее влияние исследуемых образцов масел чернушки посевной на кинетику свободнорадикального окисления в системах, моделирующих процессы выработки АФК и ПОЛ.

Влияние жирных масел чернушки посевной на ХЛ в МС, генерирующей АФК

Т а б л и ц а 2

№	Опыт	Объем, мл	Светосумма абс./отн. контроля	Макс. светимость
1	Контроль		123 ± 0,2/102,5 %	52 ± 0,2
2	Контроль + ДМСО		120 ± 0,1/100 %	51 ± 0,1
3	Масло чёрного тмина “Egyptian Black Seed Oil” (“Organic CO. for Natural oil”, Египет)	0,1	110 ± 0,2/91,7 %	52 ± 0,2
		0,5	18 ± 0,1/15 %	11 ± 0,1
4	Масло чёрного тмина “Масло Королевское” (“Хаббет Барака”, Египет)	0,5	31 ± 0,2/25,8 %	20 ± 0,2
5	Масло чёрного тмина “Black seeds oil” (“Nemani”, Пакистан)	0,5	26 ± 0,2/21,7 %	17 ± 0,2
6	Масло чёрного тмина “Huile de Nigelle” (“Современник красоты”, Саудовская Аравия)	0,5	13 ± 0,1/10,8 %	8 ± 0,1
7	Масло чёрного тмина “Золото Эфиопии”, (“Arabian secrets”, Египет, провинция Гиза)	0,5	17 ± 0,1/14,2 %	10 ± 0,1
8	Масло чёрного тмина нерафинированное (ООО “Oleos”, Россия, г. Подольск)	0,5	69 ± 0,2/57,5 %	40 ± 0,2
9	Препарат сравнения (масляный раствор альфа-токоферола ацетата)	0,5	115 ± 0,3/95,8 %	50 ± 0,3

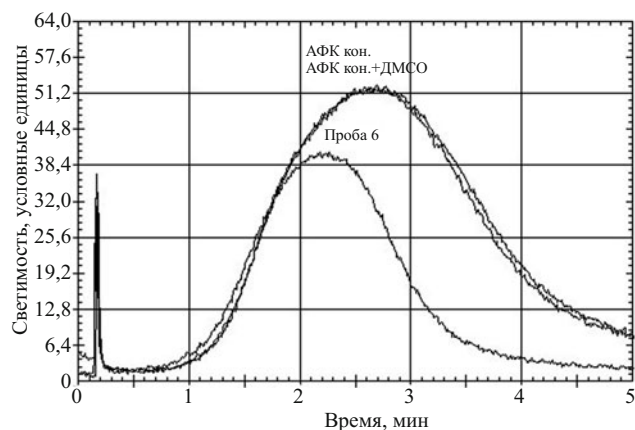


Рис. 2. Влияние образца масла чернушки посевной (“Oleos”, Россия) на процессы СРО в модельной системе АФК.

При добавлении в МС, где генерировались АФК, образцов масел чернушки посевной уменьшалась амплитуда быстрой вспышки, удлинялся латентный период, медленная вспышка начиналась позже и угасала раньше, значение максимальной светимости снижалось. Определен образец с наилучшими (рис. 1) и наименьшими показателями (рис. 2).

Показательная характеристика хемилюминесценции — светосумма свечения, была меньшей по сравнению с контролем, контролем + ДМСО и препаратом сравнения (альфа-токоферола ацетатом) во всех 6 образцах изучаемых масел чернушки посевной (табл. 2). В табл. 2 приведены данные о влиянии 6 образцов жирных масел чернушки посевной на ХЛ модельных систем АФК. Угнетение ХЛ зависело от концентрации жирных масел в МС: на примере одного образца масла было выбрано оптимальным для данного анализа взятие пробы в 0,5 мл раствора (5 мг/мл в МС), а проба в 0,1 мл раствора (1 мг/мл в МС) имела сравнительное значение, так как положительное влияние на уменьшение СРО было недостаточным. Выявлено: чем больше концентрация масла в МС, тем сильнее подавлялось свечение, что свидетельствовало о дозозависимом эффекте исследуемых образцов жирных масел.

Препарат сравнения (масляный раствор альфа-токоферола ацетата) незначительно удлинял латентный пе-

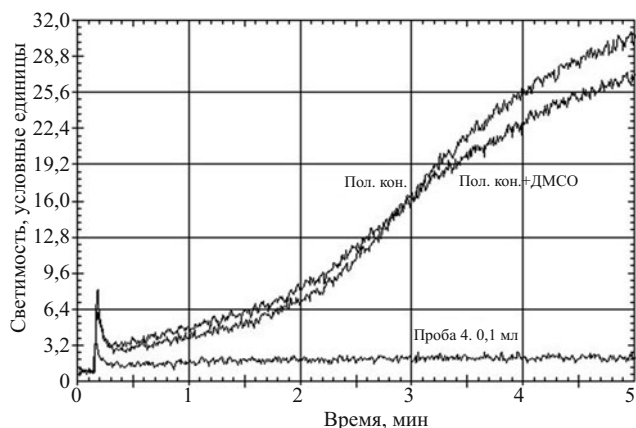


Рис. 3. Влияние масла чернушки посевной (“Huile de Nigelle”, Саудовская Аравия) на процессы СРО в модельной системе ПОЛ.

риод и уменьшал величину светосуммы ХЛ. Исследуемые жирные масла чернушки посевной значительно удлиняют латентный период и в среднем в 5,7 раз уменьшают величину светосуммы ХЛ (не учитывая образец российского производства).

Для анализа в МС липосом было выбрано оптимальным взятие пробы в 0,1 мл раствора (1 мг/мл в МС), в качестве сравнения — 0,5 мл раствора, или 5 мг/мл в МС (для прослеживания дозозависимого эффекта). Наблюдалось подавление уровня свечения МС, отмечалось более выраженное уменьшение амплитуды быстрой и медленной вспышек, увеличение длительности латентного периода, снижение значений максимальной светимости. Также аналогично МС АФК отмечен образец с наилучшими показателями — образец № 6 (рис. 3) и с наименьшими показателями — образец № 8 (рис. 4), что нуждается в более детальном рассмотрении на большем числе объектов (из других партий продукции).

Следовательно, жирное масло чернушки посевной может рассматриваться как антиоксидант перекисного окисления липидов, при этом наибольшим антиоксидантным действием обладают образцы жирных масел зарубежного производства (Саудовская Аравия, Еги-

Влияние жирных масел чернушки посевной на ХЛ в МС, генерирующей ПОЛ

Таблица 3

№	Опыт	Объем, мл	Светосумма абс. /отн. контроля	Макс. светимость
1	Контроль		69 ± 0,1/104,5 %	30 ± 0,1
2	Контроль + ДМСО		66 ± 0,2/100 %	27 ± 0,2
3	Масло чёрного тмина “Egyptian Black Seed Oil” (“Organic company for Natural oil”, Египет)	0,1	19 ± 0,2/28,8 %	12 ± 0,2
4	Масло чёрного тмина “Масло Королевское” (“Хаббет Барака”, Египет)	0,5	7,8 ± 0,3/11,8 %	2,7 ± 0,3
5	Масло чёрного тмина “Black seeds oil” (“Немани”, Пакистан)	0,1	18 ± 0,2/27,3 %	11 ± 0,2
6	Масло чёрного тмина “Huile de Nigelle” (“Современник красоты”, Саудовская Аравия)	0,1	20 ± 0,2/30,3 %	11 ± 0,2
7	Масло чёрного тмина “Золото Эфиопии”, (“Arabian secrets”, Египет, провинция Гиза)	0,1	9 ± 0,3/13,6 %	3 ± 0,3
8	Масло чёрного тмина нерафинированное (ООО “Oleos”, Россия, г. Подольск)	0,1	10 ± 0,7/15,2 %	4 ± 0,7
9	Масло чёрного тмина (ООО “Oleos”, Россия, г. Подольск)	0,1	29 ± 0,5/43,9 %	19 ± 0,5
9	Препарат сравнения (масляный раствор альфа-токоферола ацетата)	0,1	33 ± 0,2/50,0 %	20 ± 0,2

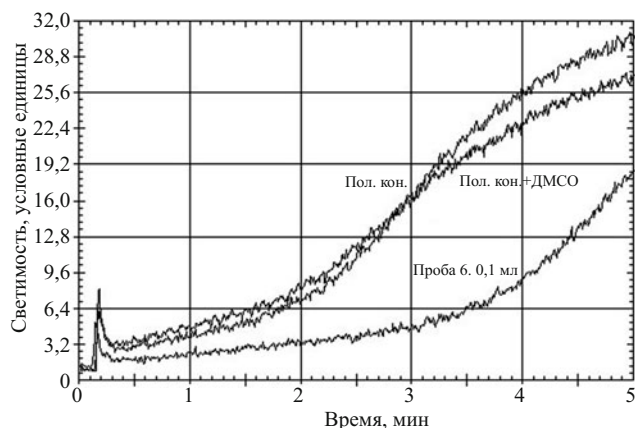


Рис. 4. Влияние масла чернушки посевной (“Oleos”, Россия) на процессы СРО в модельной системе ПОЛ.

пет, Пакистан). В табл. 3 приведены данные о влиянии жирных масел чернушки посевной на ХЛ модельных систем ПОЛ.

Таким образом, полученные данные показывают перспективную для использования способность жирного масла чернушки посевной подавлять генерацию активных форм кислорода и перекисного окисления липидов в использованных модельных системах, что характеризует их антиоксидантные свойства. Выявлено существенное различие свойств жирных масел отечественного и зарубежного производства, что может быть связано с особенностями технологии получения жирного масла. Полученные данные будут служить основой для дальнейшего изучения корреляционной связи жирнокислотного профиля и антиоксидантной активности, а также рассматриваться для обоснования использования жирного масла чернушки в медицинских целях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ю. А. Владимиров, *Вестник РАМН*, № 7, 43 – 51 (1998).

- Г. Г. Мартинович, С. Н. Черенкевич, *Окислительно-восстановительные процессы в клетках*, Минск (2008), сс. 32 – 33.
- R. J. Aitken and C. Krausz, *Reproduction*, **122**(4), 497 – 506 (2001).
- J. D. Morrow, *ATVB*, **25**(2), 279 – 286 (2005).
- L. Wu, M. Hossein Noyan Ashraf, M. Facci, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**(18), 7094 – 7099 (2004).
- D. Giugliano, A. Ceriello, G. Paolisso, *Diabetes Care*, **19**(3), 257 – 267 (1996).
- Т. А. Позднякова, Р. А. Бубенчиков, *Аспирантский вестник Поволжья*, № 1 – 2, 27 – 32 (2019).
- А. Н. Васильев, *Антибиотики и химиотерапия*, **55**(7), 20 – 25 (2010).
- А. Н. Васильев, П. Г. Дерябин, Г. А. Галегов, *Цитокины и воспаление*, **10**(2), 32 – 37 (2011).
- В. В. Хасанов, Г. Л. Рыжова, Е. В. Мальцева, *Химия растит. сырья*, № 3, 63 – 75 (2004).
- Евразийская экономическая комиссия. Единый реестр свидетельств о государственной регистрации, 2021. [Электронный ресурс] / URL: <https://portal.eaunion.org/sites/odata/layouts/15/portal.eec.registry.ui/directoryform.aspx?listid=0e3ead06-5475-466a-a340-6f69c01b5687&itemid=231#> (дата обращения: 19.02.2021).
- В. А. Куркин, *Фармакогнозия*, изд. 4-е., перераб. и доп., Самара (2019), сс. 214 – 215.
- Т. В. Орловская, М. В. Гаврилин, В. А. Челомбитко, *Новый взгляд на пищевые растения как перспективные источники лекарственных средств*, Пятигорск (2011), с. 240.
- M. F. Ramadan, J. T. Mörsel, *Nahrung / Food*, **46**(4), 240 – 244 (2002).
- S. Gharby, H. Harhar, D. Guillaume, et al., *J. Saudi Soc. Agric. Sci.*, **14**(2), 172 – 177 (2015).
- ГОСТ 31665-2012 *Масла растительные и жиры животные. Получение метиловых эфиров жирных кислот*, Стандартинформ, Москва (2013), с. 12.
- А. Р. Мубинов, Т. К. Рязанова, В. А. Куркин и др., *Сб. трудов II Междунар. науч. конф. “Роль метабомики в совершенствовании биотехнологических средств производства”*, Москва (2019), сс. 181 – 186.
- Р. Р. Фархутдинов, С. И. Тевдорадзе, *Сб. тез. докл. науч.-практич. семинара “Методы оценки антиоксидантной активности биологически активных веществ лечебного и профилактического назначения”*, Москва (2005), сс. 147 – 154.
- Патент RU № 2650642C1; *Бюл. изобрет.*, № 11 (2018).

Поступила 18.04.21

STUDYING FATTY ACID PROFILE AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF *Nigella sativa* FATTY OIL

A. R. Mubinov¹, E. V. Avdeeva¹, V. A. Kurkin^{1*}, G. M. Latypova², R. R. Farkhutdinov², V. A. Kataev², and T. K. Ryzanova¹

¹ Samara State Medical University, Samara, 443099 Russia

² Bashkir State Medical University, Ufa, Bashkortostan, 450008 Russia

* e-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

This study was carried out in the search for promising antioxidant agents among edible vegetable oils with a high content of unsaturated fatty acids. Gas chromatography with mass selective detection was used for determining the fatty acid profile of *Nigella sativa* L. (black cumin) fatty oil. The dominance of essential fatty acids was established and the presence of the essential oil fraction was confirmed for samples of commercial products from Egypt, Pakistan, and Saudi Arabia. In view of the data obtained, a comparative study of the antioxidant activity of fatty oil samples was carried out by method of chemiluminescence. The ability of black cumin fatty oil to suppress the generation of reactive oxygen species and lipid peroxidation in model systems was established. It was found that antioxidant properties of the fatty oil were most pronounced at a concentration of 5 mg/mL for a system simulating the production of reactive oxygen species, and 1 mg/mL for a system simulating the process of lipid peroxidation.

Keywords: *Nigella sativa* L.; black cumin; fatty oil; fatty acids; antioxidant properties; chemiluminescence.