

УДК 615.322:543.421/.424

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2021.70.42.004>

ПРИМЕНЕНИЕ ИК-ФУРЬЕ СПЕКТРОСКОПИИ ДЛЯ УСТАНОВЛЕНИЯ ПОДЛИННОСТИ СЕМЯН ЧЕРНУШКИ ПОСЕВНОЙ

Н.А. Давитавян, канд. фарм. наук, доцент кафедры фармации, ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Краснодар, davitavyan08@mail.ru

Е.Б. Никифорова, канд. фарм. наук, доцент кафедры фармации, ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Краснодар, elenanik94@mail.ru

А.В. Никулин, канд. хим. наук, зав. лабораторией физико-химических методов исследований, ЦКП (НОЦ) ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (РУДН), г. Москва, r251@yandex.ru

С. Лазар, канд. фарм. наук, зав. лабораторией промышленной фармацевтической технологии, ЦКП (НОЦ) ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (РУДН), г. Москва, sjl512@yandex.ru

В работе показана возможность применения метода ИК-Фурье спектроскопии для целей установления подлинности семян чернушки посевной и получаемых из них фармацевтических продуктов. В этом случае наиболее целесообразно проведение идентификации растительных объектов чернушки посевной по наличию тимохинона, который является одним из основных действующих веществ и в значительной мере обуславливает ее фармакотерапевтический потенциал. Предложенный ИК-Фурье спектроскопический метод может быть использован для оценки качества семян чернушки, масла черного тмина и сверхкритического углекислотного экстракта.

Ключевые слова: ИК-Фурье спектроскопия, тимохинон, семена чернушки посевной, масло черного тмина, сверхкритический углекислотный экстракт

Метод ИК-спектроскопии является одним из приоритетных методов исследований, успешно используемых не одно десятилетие для установления подлинности соединений разнообразной природы [1,2]. Высокая сте-

пень доверия к данному методу связана с тем, что спектральные характеристики, а именно: положения максимумов полос поглощения на шкале волновых чисел, а также их интенсивность, являются индивидуальными для каждого химического соединения, т. е., по сути, его специфической характеристикой [2,3].

В настоящее время реализация данного метода осуществляется с преимущественным использованием спектрофотометров с Фурье-преобразованием, которые широко применяются для изучения химического состава и установления подлинности растительного сырья по основным классам биологически активных веществ (БАВ) [4–9].

Особенно актуальным представляется применение ИК-спектроскопии для исследования растительного сырья, вызывающего интерес с точки зрения его внедрения в медицинскую практику. Для решения поставленной задачи необходимо не только получение детальной информации о составе БАВ, но и стандартизация сырья по выбранным компонентам [7].

Перспективное для использования в медицинской практике растительное сырье – семена чернушки посевной, из которых в настоящее время получают масло черного тмина,

а также сверхкритический углекислотный экстракт [10,11].

Согласно данным научной литературы, основным биологически активным соединением семян чернушки посевной, определяющим их фармакотерапевтический потенциал, является тимохинон [10]. Для данного соединения характерен разнообразный спектр фармакологического действия. Установлено, что тимохинон обладает болеутоляющей, желчегонной и гепатопротекторной активностью [10,12]. Наряду с этим выявлено защитное влияние тимохинона *in vitro* на легочную и сердечно-сосудистую систему, а также его способность тормозить процесс глюконеогенеза в печени [10]. Рядом авторов установлено, что тимохинон способен снижать частоту возникновения приступов астмы, обладает бронхолитическим и антигистаминным эффектами [10,12–14]. Последние данные, полученные алжирскими учеными методом молекулярного докинга в отношении основных БАВ чернушки посевной, в том числе и тимохинона, свидетельствуют об их способности ингибировать вирус SARS-CoV-2 и оказывать профилактическое действие против новой коронавирусной инфекции [15,16].

В настоящее время идентификацию и количественное определение тимохинона в семенах чернушки и фармацевтических продуктов на их основе осуществляют главным образом методом высокоэффективной жидкостной хроматографии [17–19]. Однако для целей подтверждения подлинности растительного сырья более удобным и быстрым методом, как описано выше, является ИК-спектроскопия. Поэтому использование данного метода в фармакогностическом анализе семян чернушки является чрезвычайно актуальной задачей.

Целью работы явилось изучение возможности применения метода ИК-Фурье спектроскопии для установления подлинности семян чернушки посевной и фармацевтических продуктов на их основе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследования использовали семена чернушки посевной, культивируемые на территории Краснодарского края (г. Краснодар, ст. Васюринская), сбор и заготовку которых осуществляли в августе-сентябре 2020 года в период их полного созревания; сертифицированный коммерческий образец масла черного тмина (ООО «РУСОИЛ», Россия), полученный методом холодного отжима; сверхкритический углекислотный экстракт чернушки посевной, флюидная технология которого разработана авторами КубГМУ [11].

Идентификацию семян чернушки посевной, масла черного тмина и углекислотного экстракта осуществляли по характеристическим полосам поглощения в сравнении с ИК-спектром стандартного образца тимохинона (99%, Sigma).

Испытание проводили посредством ИК-Фурье спектрометра IRTracer – 100 (Shimadzu, Япония), оснащенного программным пакетом LabSolutions IR, в режиме пропускания в диапазоне от 4000 до 400 см⁻¹ при 20-кратном сканировании с разрешением 4 см⁻¹. Для записи спектров поглощения анализируемые образцы растирали с минимальным количеством масла нуйол в соответствии с требованиями ГФ РФ XIV изд. Полученную суспензию сжимали между двумя пластинками, изготовленными из специального негигроскопического материала (CaF₂).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На ИК-спектре (в области характеристических частот) СО тимохинона отчетливо видны следующие полосы поглощения: 1130 (оч. сл.), 1238 (сл.), 1377 (ср.), группа полос 1464–1460 (ср.), 1661 (ср.), группа полос 2853–2953 (с.) см⁻¹ (рис. 1).

Сравнение ИК-спектров СО и испытуемых образцов (рис. 2 и 3) в области характеристи-

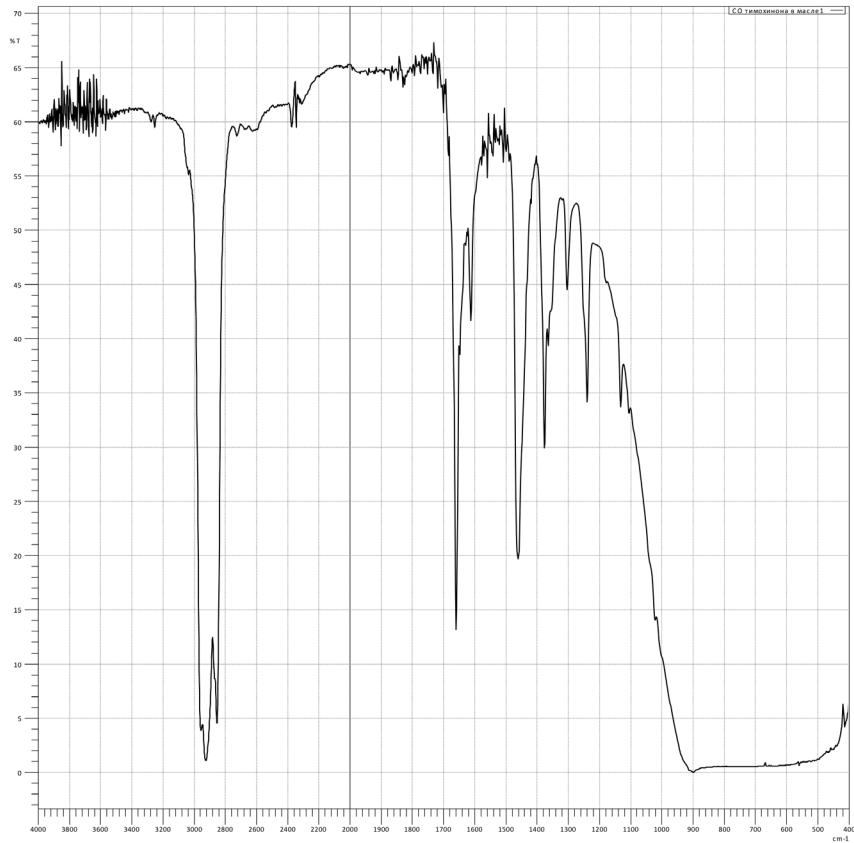


РИС. 1. ИК-спектр стандартного образца тимохина

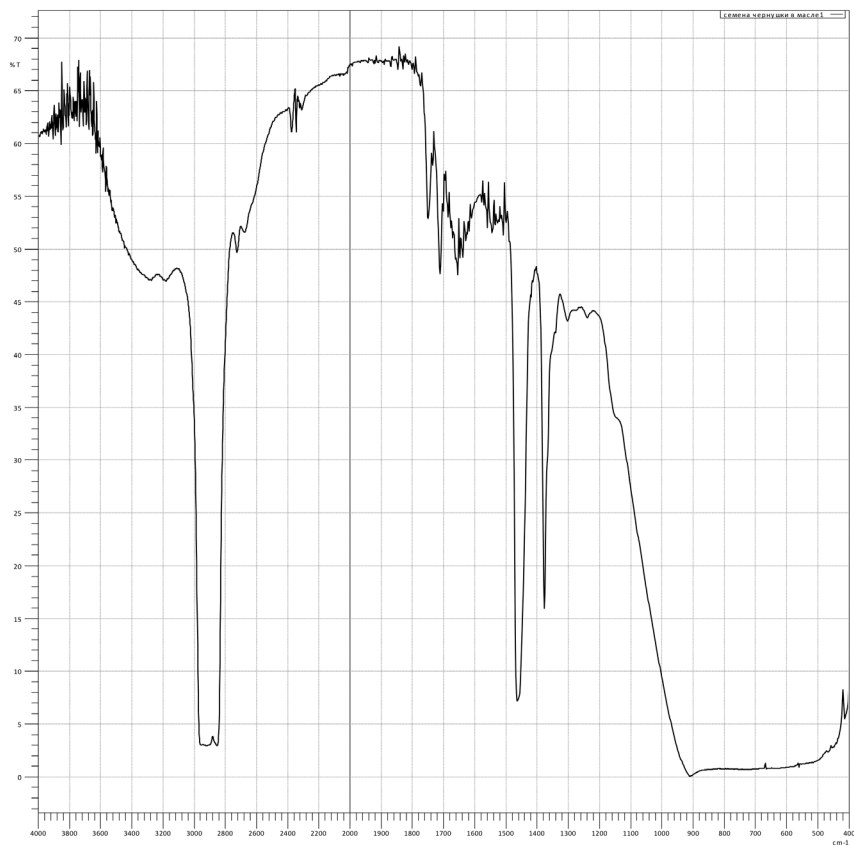


РИС. 2. ИК-спектры семян чернушки посевной

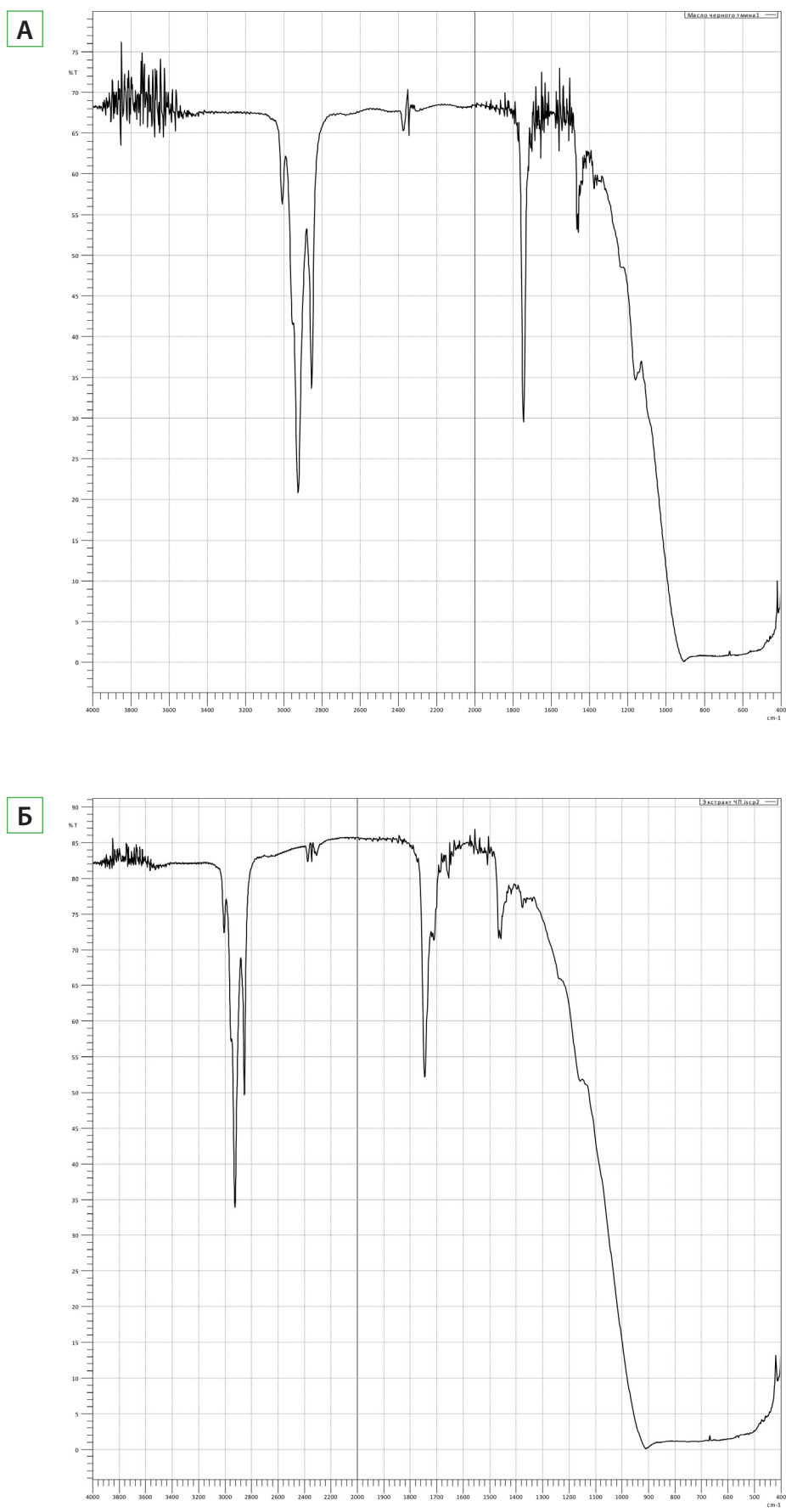


РИС. 3. ИК-спектр масла черного тмина (А) и сверхкритического углекислотного экстракта чернушки посевной (Б)

Таблица

**ХАРАКТЕРИСТИЧЕСКИЕ ПОЛОСЫ ТИМОХИНОНА, ПРОЯВИВШИЕСЯ
В СПЕКТРАХ ИСПЫТУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ**

Образец	Полосы поглощения в характеристической области, см ⁻¹
СО тимохинона*	1130 (оч. сл.), 1238 (сл.), 1377 (ср.), 1464–1460 (ср., набор полос), 1661 (ср.), 2852–2953 (с., набор полос)
Сертифицированный коммерческий образец масла черного тмина	1460 (ср.), 2900–3000 (с., набор полос)
Сверхкритический углекислотный экстракт чернушки посевной	1240 (сл.), 1377 (сл.), 1466–1458 (ср., набор полос), 2855–2955 (с., набор полос)
Семена чернушки посевной (после измельчения в нуйоле)	1240 (сл.), 1377 (ср.), 1462–1456 (с., набор полос), 1661 (ср.), 2800–3000 (с., набор полос)

* Приведен для сравнения

ческих частот позволило выделить полосы поглощения тимохинона, которые отчетливо проявились на спектрах испытуемых образцов (см. табл.).

Из представленных в таблице данных видно, что наибольшее количество полос тимохинона, проявившихся в характеристической области ИК-спектров, наблюдается для сверхкритического углекислотного экстракта чернушки посевной и ее семян, измельченных в нуйоле. В этой связи представляется целесообразным предложить два способа пробоподготовки перед регистрацией ИК-спектров семян чернушки посевной: сверхкритическую углекислотную экстракцию или измельчение семян сырья с нуйолом. Последний вариант пробоподготовки является более простым, быстрым, дешевым, не требует значительных трудозатрат и специального оборудования и может быть рекомендован для рутинного контроля качества сырья. Более того, данный вариант пробоподготовки наравне со сверхкритической флюидной экстракцией позволяет обеспечить регистрацию наибольшего количества характеристических полос

поглощения тимохинона, что гарантирует уверенную его идентификацию на фоне сложной матрицы.

ВЫВОДЫ

Изучена возможность применения метода ИК-Фурье спектроскопии в анализе семян чернушки посевной, масла черного тмина и сверхкритического углекислотного экстракта. Проведенные исследования показали, что метод ИК-Фурье спектроскопии может быть использован и рекомендован для подтверждения качества семян чернушки посевной и фармацевтических продуктов на их основе по наличию тимохинона.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Инфракрасная спектроскопия органических и природных соединений: учебное пособие* / А.В. Васильев, Е.В. Гриненко, А.О. Щукин, Т.Г. Федулина. – СПб.: СПбГЛТА. – 2007. – 54 с.

2. Сапон Е.С. Применение ИК-Фурье спектроскопии для количественного анализа в фармацевтической промышленности / Е.С. Сапон, В.Г. Лугин // Вестник фармации. – 2017. – №1(75). – С. 82–92.
3. Тарасевич Б.Н. Основы ИК-спектроскопии с преобразованием Фурье. Подготовка проб в ИК-спектроскопии [Текст]: учебн. пособие для вузов / Б.Н. Тарасевич. МГУ. – Москва. – 2012. – 22 с.
4. Данилова А.А. Сравнение методов ИК-спектроскопии и газовой масс-спектрометрии для установления основного компонента эфирных масел / А.А. Данилова, Е.С. Соловьева // Химические проблемы современности – 2020: Сборник материалов IV Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, Донецк, 19–21 мая 2020 года / Редколлегия: А.В. Белый (отв. ред.) [и др.]. – Донецк: Донецкий национальный университет, 2020. – С. 151–155.
5. Изучение возможности применения ИК-спектроскопии для идентификации сорта плодов облепихи крушиновидной (*Hipporhaes rhamnoides* L.) / О.В. Тринеева, М.А. Рудая, Е.Ф. Сафонова, А.И. Сливкин // Химия растительного сырья. – 2019. – №1. – С. 301–308.
6. Лекарственные препараты на основе плюща: ИК-Фурье-спектроскопический анализ / Л.А. Яковичин, П.И. Бажан, В.Д. Ратников, В.И. Гришковец // Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Серия: Биология. Химия. – 2019. – №3. – Т. 5(71). – С. 259267.
7. Применение ИК-спектроскопии в анализе лекарственного растительного сырья / О.В. Тринеева, М.А. Рудая, А.А. Гудкова, А.И. Сливкин // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2018. – №4. – С. 187–194.
8. Экспресс-оценка содержания основных жирных кислот в масле семян рапса с помощью ИК-спектрометрии / С.Г. Ефименко, С.К. Ефименко, Л.А. Кучеренко, Я.А. Нагалевская // Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур. – 2015. – №4(164). – С. 35–40.
9. Nivetha K. GC-MS and FT-IR Analysis of *Nigella sativa* L. Seeds / K. Nivetha and G. Prasanna // Int.J. Adv. Res. Biol. Sci. – 2016. – №3(6). – P. 45–54.
10. Рудь Н.К. Основные результаты фитохимического и фармакологического исследования чернушки посевной / Н.К. Рудь, А.М. Сампиев, Н.А. Давитавян // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. – 2013. – №25(168). – С. 207–212.
11. Рудь Н.К. Разработка технологии получения сверхкритического углекислотного экстракта из семян чернушки посевной / Н.К. Рудь, А.М. Сампиев // Научное обозрение. – 2015. – №5. – С. 66–73.
12. Kanter M. Hepatoprotective effects of *Nigella sativa* L. and *Urticadioica* L. on lipid peroxidation, antioxidant enzyme systems and liver enzymes in carbon tetrachloride-treated rats / M. Kanter, O. Coskun, M. Budancamanak // World Journal of Gastroenterology. – 2005. – №11(42). – P. 6684–6688.
13. Тимохинон как потенциальный нейропротектор при острых и хронических формах церебральной патологии / Н.К. Исаев, Н.С. Четвериков, Е.В. Стельмашук [и др.] // Биохимия. – 2020. – Т. 85, вып. 2. – С. 197–207.
14. Structural Characterization, Antimicrobial Activity, and In Vitro Cytotoxicity Effect of Black Seed Oil / Sewara J. Mohammed, Hassan H.H. Amin, Shujahadeen B. Aziz, Aram M. Sha [et. al.] // Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. – 2019, Article ID 6515671, 9 pages <https://doi.org/10.1155/2019/6515671>.
15. Денисов М.С. Анतिकоронавирусная активность тритерпеноидов / М.С. Денисов,

- Ю.А. Белоглазова // *Biomedical Chemistry: Research and Methods*. 2020, 3(2), e00127 (DOI: 10.18097/bmcrm00127).
16. Bouchentouf S. Identification of Compounds from *Nigella Sativa* as New Potential Inhibitors of 2019 Novel Coronasvirus (Covid-19): Molecular Docking Study / S. Bouchentouf, N. Missoum // *Preprints 2020*, 2020040079 (doi: 10.20944/preprints202004.0079.v1).
17. Ghosheh O.A. High performance liquid chromatographic analysis of the pharmacologically active quinones and related compounds in the oil of the black seed *Nigella Sativa* L. / O.A. Ghosheh, A.A. Houdi, P.A. Crooks // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 1999. – V. 19. – №5. – P. 757–762.
18. Hadad G.M. High performance liquid chromatography quantification of principal antioxidants in black seed (*Nigella Sativa* L.) phytopharmaceuticals / G.M. Hadad, R.A. Salam, P.M. Soliman, M.K. Mesbah // *J. AOAC.* – 2012. – V. 95. – №4. – P.1043–1047.
19. Yehualashet Belete. HPTLC assay of thymoquinone in black seed and black seed oil (*Nigella Sativa* Linn) and identification of thymoquinone conversion with Uv-Vis / Yehualashet Belete, Ermias Dagne // *Journal of Drug Delivery & Therapeutics.* – 2014. – №4(4). – P. 1–5.

APPLICATION OF FTIR SPECTROSCOPY FOR AUTHENTICATION OF SEEDS *NIGELLA SATIVA*

N.A. Davitavyan¹, E.B. Nikiforova¹, A.V. Nikulin², S. Lazar²

¹ *Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia*

² *Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University), Moscow, Russia*

The paper demonstrates the possibility of using the method of FTIR spectroscopy for the purpose of establishing the authenticity of the seeds of nigella sowing and the pharmaceutical products obtained from them. In this case, it is most expedient to identify plant objects of nigella sowing by the presence of thymoquinone, which is one of the main active substances and, to a large extent, determines its pharmacotherapeutic potential. The proposed FTIR spectroscopic method can be used to assess the quality of nigella seeds, black cummin oil and supercritical carbon dioxide extract.

Keywords: FTIR spectroscopy, thymoquinone, black cummin seeds sown, black cummin oil, supercritical carbon dioxide extract