

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФОСФАТИДИЛХОЛИНА И α -ТОКОФЕРОЛА В МАСЛЕ СЕМЯН ЧЕРНУШКИ ПОСЕВНОЙ, ПРОИЗРАСТАЮЩЕЙ В УЗБЕКИСТАНЕ

З.А. Марифова*, **И.К. Азизов**, доктор фармацевтических наук, профессор
Ташкентский фармацевтический институт;
Республика Узбекистан, 700015, Ташкент, проспект Ойбека, д. 45

Введение. Масло чернушки посевной (*Nigella sativa* L.), обладающее большим спектром фармакологического действия, широко применяется в народной медицине. Для стандартизации жирного масла семян чернушки посевной, произрастающей в Узбекистане, необходимы исследования его химического состава.

Цель работы. Определение содержания фосфатидилхолина и α -токоферола в масле чернушки посевной, полученном из узбекского сырья.

Материал и методы. Объект исследования – жирное масло семян чернушки посевной, полученное холодным прессованием. Фосфатидилхолин и α -токоферол определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Результаты и обсуждение. Разработаны методики идентификации и количественного определения фосфатидилхолина и α -токоферола в масле чернушки посевной, которое составило в среднем 0,159 и 0,110% соответственно.

Заключение. Показано, что в жирном масле, полученном из семян чернушки посевной, выращенной в Узбекистане, содержится фосфатидилхолин и α -токоферол. Определено их количественное содержание.

Ключевые слова: чернушка посевная, *Nigella sativa* L., семена, жирное масло, ВЭЖХ, фосфатидилхолин, α -токоферол.

Для цитирования: Марифова З.А., Азизов И.К. Определение фосфатидилхолина и α -токоферола в масле семян чернушки посевной, произрастающей в Узбекистане. Фармация. 2018; 67 (1): 19–23. DOI: 10.29296/25419218-2018-01-04

*E-mail: pharmi@pharmi.uz

ВВЕДЕНИЕ

Чернушка посевная (*Nigella sativa* L.) произрастает на территориях с разным типом растительности и различными экологическими условиями. Родина чернушки – Средиземноморье. Растение широко распространено в странах Востока, Южной Европы, встречается оно и в Европейской части России, на Кавказе, в Средней Азии. В мировой флоре наиболее распространены 11 видов рода *Nigella* L., из которых в Узбекистане встречаются 4 вида и 1 из них – чернушка посевная – широко культивируется. В восточной медицине растение используется более 2000 лет [1–4].

Жирное масло чернушки применяется как высокоэффективное мочегонное, желчегонное, мягкое слабительное, иммуностимулирующее средство. Оно эффективно при лечении различных дерматологических заболеваний, связанных с нейругуморальными и гистаминными наруше-

ниями. Масло способствует снижению уровня глюкозы, холестерина в крови и обладает выраженным противогрибковым, бактерицидным и антисептическим действием, причем антибиотический эффект проявляется в отношении как патогенных бактерий, так и вирусов. Масло семян чернушки оказалось эффективным средством при лечении ряда аллергических заболеваний [5–8].

С целью внедрения в медицинскую практику в Узбекистане ведутся систематические исследования по изучению химического состава и последующей стандартизации жирного масла семян чернушки посевной. Методом газо-, хромато-, масс-спектрометрии изучен жирно-кислотный состав масла семян чернушки, полученного методом холодного прессования из местного сырья, в сравнении с Black seed oil, выпускаемым в Египте. Установлено, что оба масла содержат насыщенные жирные кислоты (пальмитиновую и стеариновую) и ненасыщенные жирные кислоты (линолевую, олеиновую, эйкозодиеновую). Со-

держание ненасыщенных жирных кислот в масле чернушки посевной на 10,8% выше, чем в Black seed oil [9].

Цель работы – определение содержания в масле чернушки посевной основной фракции фосфолипидов – фосфатидилхолина и α -токоферола.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служило жирное масло семян чернушки посевной, полученное холодным прессованием из сырья узбекского происхождения. Оно представляло собой маслянистую жидкость зеленовато-коричневого цвета с характерным запахом, легко растворимо в гексане, диэтиловом эфире, изопропиловом спирте, бензоле, растворимо в хлороформе, ацетонитриле и практически не растворимо в этиловом спирте и очищенной воде.

Анализ фосфатидилхолина проводился на жидкостном хроматографе Agilent Technologies 1100 с УФ-детектором. Условия хроматографирования подобраны с учетом полученных спектральных данных и оптимального разделения фосфатидилхолина при использовании системы из смеси ацетонитрила, концентрированной *o*-фосфорной кислоты и метилового спирта в соотношении 95:2:15.

Наиболее подходящей хроматографической колонкой оказалась применяемая в обращенно-фазной хроматографии Hupersil Silica (Hewlett Packard), длиной 200×4,6 мм, заполненная силикагелем с размером частиц 5,00 мкм. Скорость потока элюента – 1,5 мл/мин. Детектирование проводили при длине волны 205 нм. Объем вводимой пробы – 20 мкл. Время проведения анализа составляло около 10 мин. Температура термостата колонки – комнатная. Для более точного и стабильного анализа температура термостата колонки может быть повышена до 40°C. Для анализа использовался раствор рабочего стандарт-

ного образца (PCO) фосфатидилхолина. Проверка хроматографической системы показала ее пригодность.

Испытуемый раствор готовили по следующей методике: 5,0 г (точная навеска) масла чернушки помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, добавляли 20 мл метилового спирта и обрабатывали ультразвуком в течение 30 мин. Затем объем раствора доводили метиловым спиртом до метки, перемешивали и фильтровали через мембранный фильтр «Миллипор» с размером пор 0,45 мкм. Для приготовления раствора PCO около 0,145 г фосфатидилхолина (точная навеска) помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, добавляли 40 мл метилового спирта и обрабатывали ультразвуком до полного растворения. Объем раствора доводили метиловым спиртом до метки, перемешивали и фильтровали через мембранный фильтр «Миллипор» с размером пор 0,45 мкм.

Определение α -токоферола выполняли на жидкостном хроматографе Shimadzu LC 20AD (Япония), оборудованном УФ-детектором с переменной длиной волны SPD 20AV, автосамплером SIL 20A. Условия хроматографирования: колонка Shim-pack XR-ODSII 2×100 мм. УФ-детектирование при длине волны 210 нм. Подвижная фаза «А» – вода очищенная, «В» – метанол для ВЭЖХ; скорость потока – 0,25 мл/мин, температура термостата колонки – 40°C; объем вводимой пробы – 10 мкл. Градиент подвижной фазы представлен в таблице.

Испытуемый раствор для определения α -токоферола готовили следующим образом: около 2,5 г (точная навеска) масла чернушки помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяли в 15 мл изопропилового спирта, объем раствора доводили до метки изопропиловым спиртом, перемешивали и фильтровали через мембранный фильтр «Миллипор» с размерами пор 0,45 мкм. Для приготовления раствора PCO около 25 мг α -токоферола (точная навеска) помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, добавляли 15 мл изопропилового спирта, объем раствора доводили до метки изопропиловым спиртом, перемешивали и фильтровали через мембранный фильтр «Миллипор» с размерами пор 0,45 мкм.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На хроматограмме раствора PCO фосфатидилхолина наблюдался интенсивный пик с временем удерживания 4,138 мин, который со-

ГРАДИЕНТ ПОДВИЖНОЙ ФАЗЫ

Время, мин	Подвижная фаза В, %	Подвижная фаза А, %
1,00	70	30
4,00	98	2
7,00	98	2
10,00	70	30
12,00	70	30

ответствовал фосфатидилхолину (рис. 1). На хроматограмме масла чернушки посевной интенсивный пик с временем удерживания 4,181 мин также принадлежит фосфатидилхолину. Это дает возможность идентификации и количественного определения фосфатидилхолина в масле чернушки посевной. С помощью стандартных расчетов было определено содержание фосфатидилхолина в масле чернушки, которое составило 0,159% (относительное стандартное отклонение 1,3%) .

На хроматограмме раствора РСО α -токоферола наблюдался один интенсивный пик с временем удерживания 8,728 мин., которому на хроматограмме масла чернушки посевной соответствовал пик с временем удерживания 8,801 мин (рис. 2). Разработанная методика дает возможность идентификации и количественного определения α -токоферола в масле чернушки посевной. Содержание α -токоферола в масле чернушки посевной составило в среднем 0,110% (относительное стандартное отклонение – 0,75%).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В жирном масле семян чернушки посевной, произрастающей в Узбекистане, методом ВЭЖХ установлено наличие фосфатидилхолина и α -токоферола – 0,159 и 0,110% соответственно. Разработанные методики могут быть использованы для идентификации и количественного определения биологически активных веществ в сырье.

ЛИТЕРАТУРА

1. Растительные ресурсы России и сопредельных государств: Цветковые растения их химический состав, использование. СПб.: Наука, 1994; 271.
2. Флора северо-востока Европейской части СССР. Т. II. Семейство *Cyperaceae* – *Caryophyllaceae*. (под ред. А.И.Толмачева). Л.: Наука, 1976; 316.
3. Флора Узбекистана. Том 2. Ташкент, АН УзССР, 1953; 440–2.
4. Шиков А.Н., Макаров В.Г., Рыженков В.Е. Растительные масла и масляные экстракты: технология, стандартизация, свойства. М.: Русский врач, 2004; 110–1.
5. Hawsawi Z.A., Ali B.A., Vamosa A.O. Effect of *Nigella sativa* (black seed) and thymoquinone on blood glucose in albino rats. *Annals of Saudi Medicine*, 2001; 21 (3–4): 242–4.

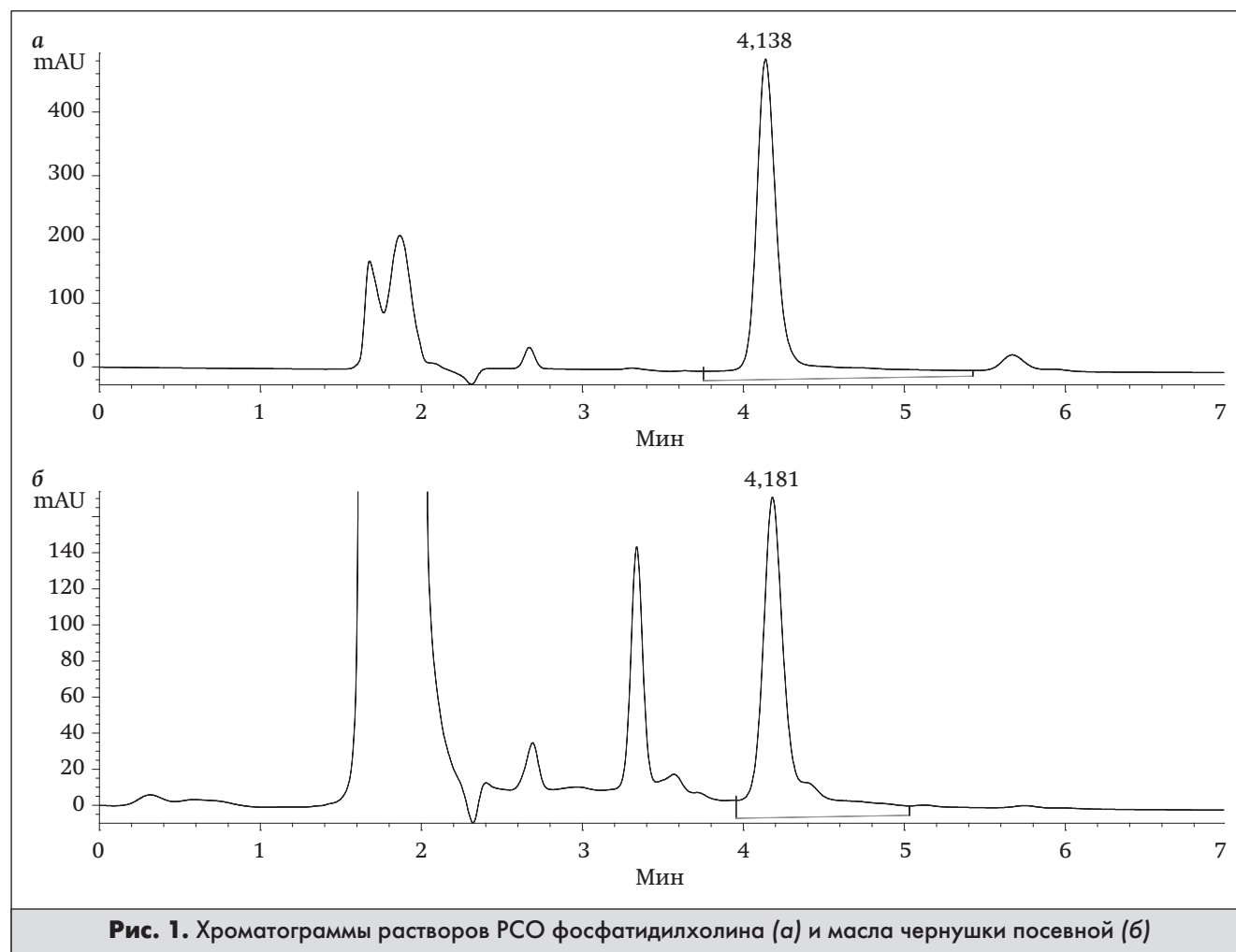


Рис. 1. Хроматограммы растворов РСО фосфатидилхолина (а) и масла чернушки посевной (б)

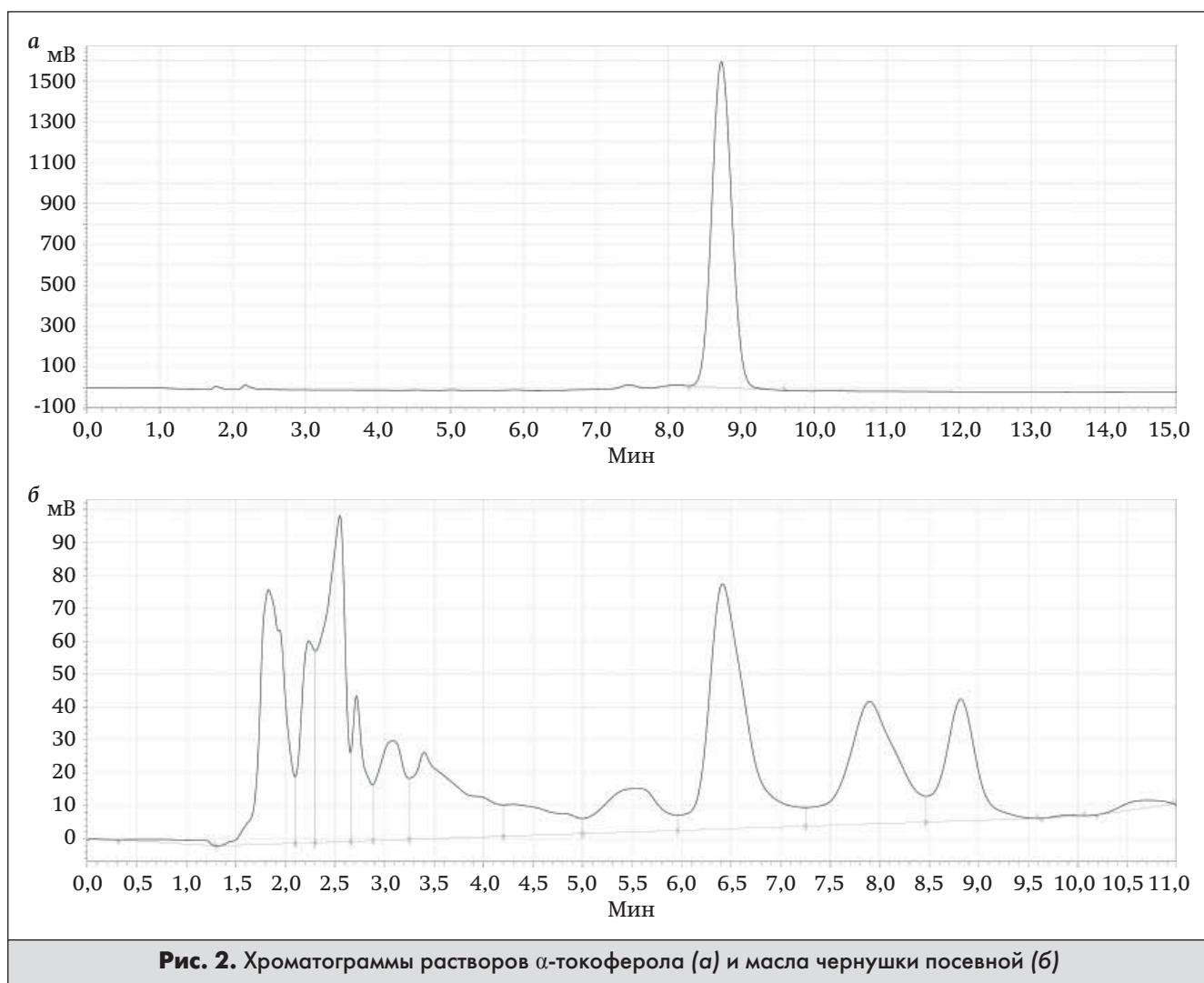


Рис. 2. Хроматограммы растворов α -токоферола (а) и масла чернушки посевной (б)

6. Ali B.H., Blunden G. Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. *Phytother. Res.*, 2003; 17: 299–305.

7. Theiss P., Kalus U., Pruss A., Lichius J.J., Kiesewetter H. Effect of *Nigella sativa* (black seed) on subjective feeling in patients with allergic diseases. *Proc. of the VII International Congress «Phytopharm-2003» St-Petersburg*, 2003; 310–3.

8. Маринова З.А., Алиев Х.У., Азизов И.К., Ботирбеков Ак.А. Действие масла чернушки на иммунную систему

организма. *Фармацевтический журнал*. Ташкент. 2010; 3: 62–4.

9. Маринова З.А., Азизов И.К., Зиновьев П.В. Жирнокислотный состав масла семян чернушки посевной (*Nigella sativa* L.), произрастающей в Узбекистане. *Фармацевтический журнал*. Ташкент, 2010; 4: 23–5.

Поступила 10 октября 2017 г.

DETERMINATION OF PHOSPHATIDYLCHOLINE AND α -TOCOPHEROL IN THE SEED OIL FROM BLACK CUMIN (*NIGELLA SATIVA* L.) GROWING IN UZBEKISTAN

Z.A. Marifova; Professor I.K. Azizov, PhD

Tashkent Pharmaceutical Institute; 45, Oibek Prospect, Tashkent 700015, Republic of Uzbekistan

SUMMARY

Introduction. Black cumin (*Nigella sativa* L.) oil showing a wide spectrum of pharmacological actions is widely used in folk medicine. Standardization of fatty oil in the seeds of black cumin growing in Uzbekistan calls for investigations of its chemical composition.

Objective: to determine the level of phosphatidylcholine and α -tocopherol in the black cumin oil obtained from Uzbek raw materials.

Material and methods. The investigation object was the fatty oil from black cumin seeds, which had been prepared by cold pressing. Phosphatidylcholine and α -tocopherol were determined by high-performance liquid chromatography.

Results and discussion. Procedures were developed to identify and quantify phosphatidylcholine and α -tocopherol in black cumin oil, which averaged 0.159 and 0.110%, respectively.

Conclusion. The fatty oil obtained from the seeds of black cumin grown in Uzbekistan was shown to contain phosphatidylcholine and α -tocopherol. Their quantitative content was estimated.

Key words: black cumin, *Nigella sativa* L., seeds, fatty oil, high-performance liquid chromatography, phosphatidylcholine, α -tocopherol.

For citation: Marifova Z.A., Azizov I.K. Determination of phosphatidylcholine and α -tocopherol in the seed oil from black cumin (*Nigella sativa* L.) growing in Uzbekistan. *Farmatsiya* (Pharmacy). 2018; 67 (1): 19–23 (In Russian). DOI: 10.29296/25419218-2018-01-04

REFERENCES

1. Vegetative resources of Russia and the adjacent states: Floral plants, their chemical compounds and use. St-Petersburg: Nauka, 1994; 271 (in Russian).
2. Flora of the north-east of European part of USSR. T. II. *Cyperaceae – Caryophyllaceae*. (ed. A.I.Tolmachev). Leningrad: Nauka, 1976; 316 (in Russian).
3. Flora of Uzbekistan. Tashkent, Academy of sciences of Uzbekistan Soviet Socialist Republic, 2 volume. 1953; 440–2 (in Russian).
4. Shikov A.N., Makarov V. G., Ryzhenkov V. E. Vegetable oils and oil extracts: technology, standardization, properties. Moscow: Ruskiy vrach, 2004; 110–1 (in Russian).
5. Hawsawi Z.A., Ali B.A., Bamosa A.O. Effect of *Nigella sativa* (black seed) and thymoquinone on blood glucose in albino rats. *Annals of Saudi Medicine*, 2001; 21 (3–4): 242–4.
6. Ali B.H., Blunden G. Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. *Phytother. Res.*, 2003; 17: 299–305.
7. Theiss P., Kalus U., Pruss A., Lichius J.J., Kiesewetter H. Effect of *Nigella sativa* (black seed) on subjective feeling in patients with allergic diseases. Proc. of the VII International Congress «Phytopharm-2003». St-Petersburg, 2003; 310–3.
8. Marifova Z.A., Aliev H.U., Azizov I.K., Botirbekov Ak.A. Action of Black cumin seed oil on immune system of human organism. *Farmaceuticheskiy zhurnal*. Tashkent, 2010; 3: 62–4 (in Russian).
9. Marifova Z.A., Azizov I.K., Zinovev P.V. Fatty acid structure of Black cumin seed oil (*Nigella sativa* L.) growing in Uzbekistan. *Farmaceuticheskiy zhurnal*. Tashkent, 2010; 4: 23–5.

DOI: 10.29296/25877313-2018-01

Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии

Учредитель — Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР).

Журнал рекомендован Высшей аттестационной комиссией (ВАК) для публикаций основных результатов диссертационных исследований.

Научно-практический журнал освещает новое в науках о жизни, включая метабомику, протеомику, разработки нанобиомедтехнологий живых систем;

- уделяет внимание разработкам современных биотест-систем на разных уровнях, используемых для контроля качества, оценки безопасности продуктов, мониторинга окружающей среды;
- знакомит с достижениями по совершенствованию биообъектов, используемых в качестве средств производства для создания перспективных лекарственных препаратов.

Подписаться можно с любого месяца

Подписной индекс по каталогу «Роспечать» – **47284**

Подписка через Издательство – со скидкой.
Подписка на электронную версию журнала
на сайте www.rusvrach.ru



ИЗДАТЕЛЬСКИЙ ДОМ
«РУССКИЙ ВРАЧ»