

УДК 543.429.23:547.426.23

Е. Д. Скаковский¹, Л. Ю. Тычинская¹, С. Н. Шиш², А. Г. Шутова², С. А. Ламоткин³¹Институт физико-органической химии Национальной академии наук Беларуси²Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси³Белорусский государственный технологический университет**СОСТАВ ВОДНЫХ ЭКСТРАКТОВ СЕМЯН РАСТЕНИЙ РОДА *NIGELLA* L.,
УСТАНОВЛЕННЫЙ МЕТОДОМ ЯМР**

Проведен ¹H и ¹³C ЯМР анализ состава водных экстрактов (D₂O) семян чернушки дамасской (*Nigella damascena* L.), чернушки посевной (*Nigella sativa* L.), а также чернушки восточной (*Nigella orientalis* L.). Целью настоящего исследования была оценка качественного и количественного состава водных экстрактов семян растений рода *Nigella* L. Для исследования использовались семена растений, культивируемых на экспериментальном участке отдела биохимии и биотехнологии растений Центрального ботанического сада Национальной академии наук Беларуси. Содержание растворимой фракции в воздушно-сухих семенах с оболочкой составило 1,0–1,3%. Установлено, что экстракты трех видов рода *Nigella* различаются по качественному и количественному составу незначительно. В исследованных образцах обнаружены следующие аминокислоты: триптофан, фенилаланин, тирозин, γ-аминоасляная кислота, аспарагин, глутамин, пролин, лизин, треонин, валин, изолейцин, лейцин. Определено содержание моносахаридов – глюкозы, фруктозы, галактозы, и дисахарида – сахарозы. Преобладающими аминокислотами у *N. sativa* в условиях Беларуси являются γ-аминоасляная кислота, пролин, треонин, у *N. damascena* – γ-аминоасляная кислота, аспарагин, глутамин, у *N. orientalis* – треонин, пролин, валин. В экстрактах среди идентифицированных компонентов преобладают сахара (~50%), на долю аминокислот приходится 14–19%.

Ключевые слова: ЯМР анализ, водные экстракты, *Nigella sativa* L., *Nigella damascena* L., *Nigella orientalis* L., аминокислоты, сахара.

E. D. Skakovskii¹, L. Yu. Tychinskaya¹, S. N. Shysh², A. G. Shutava², S. A. Lamotkin³¹Institute of Physical Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus²Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus³Belarusian State Technological University**COMPOSITION OF WATER EXTRACTS OF SEEDS OF PLANTS
OF THE GENUS *NIGELLA* L., DETERMINED BY NMR**

The purpose of this study was to evaluate the qualitative and quantitative composition of water extracts of seeds of plants of the genus *Nigella* L. ¹H and ¹³C NMR analysis of the composition of water extracts (D₂O) of the seeds of *Nigella damascena* L., *Nigella sativa* L. and *Nigella orientalis* L. is carried out. For the study the seeds of plants cultivated in the experimental section of the Biochemistry and Plant Biotechnology Department of the Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus were used. The content of soluble fraction in air-dry seeds with a shell was 1.0–1.3%. It has been established that extracts of three species of the genus *Nigella* differ in qualitative and quantitative composition slightly. The following amino acids were found in the samples studied: tryptophan, phenylalanine, tyrosine, γ-aminobutyric acid, asparagine, glutamine, proline, lysine, threonine, valine, isoleucine, leucine. The content of monosaccharides – glucose, fructose, galactose and disaccharide sucrose was determined. The prevailing amino acids amino acids in *N. sativa* in Belarus are γ-aminobutyric acid, proline, threonine, in *N. damascena* – γ-aminobutyric acid, asparagine, glutamine, in *N. orientalis* – threonine, proline, valine. Sugars predominated in extracts among the identified components (~50%), the proportion of amino acids was 14–19%.

Key words: NMR analysis, aqueous extracts, *Nigella sativa* L., *Nigella damascena* L., *Nigella orientalis* L., amino acids, sugars.

Введение. Растения рода *Nigella* L. семейства *Ranunculaceae* широко известны как лекарственные и пряно-ароматические культуры. Сырьем у них являются семена, богатые различными жирными кислотами и другими биологически активными компонентами. Основными способами получения масла считаются

холодный отжим и экстракция [1]. Однако используемые способы получения позволяют извлекать из растительного сырья в основном гидрофобные группы веществ (жирные кислоты и компоненты эфирного масла). Хотя помимо липофильных соединений семян растений рода Чернушка, определяющих ее медицинское

применение, заслуживают внимания и гидрофильные вещества как носители разных фармакологических видов активности. В этой связи изучение компонентного состава гидрофильных соединений будет способствовать расширению спектра действия комплексных продуктов из семян чернушки [1].

Согласно литературным данным семена чернушки посевной содержат достаточно большое количество аминокислот, их уровень колеблется (по разным источникам) от 16 до 20% (аргинин, глутаминовая кислота, лейцин, лизин, метионин, тирозин, пролин, треонин) [1–3]. В результате сверхкритической углекислотной экстракции в семенах чернушки посевной, согласно данным Рудь Н. К., были идентифицированы с помощью ВЭЖХ следующие аминокислоты: аргинин, лейцин, метионин, валин, пролин, треонин, серин, α -аланин, глицин [1]. Также семена содержат минералы – 1,79–3,74% (кальций, фосфор, калий, натрий, железо), углеводы – 33,9%, клетчатку – 5,50% и воду – 6,0% [1–2]. Состав аминокислот и сахаров чернушки восточной и дамасской в литературе практически не описан, однако представляется интересным его изучение и сравнение с широко используемой чернушкой посевной.

Также следует отметить, что состав экстрактов преимущественно изучается хроматографическими методами, которые, несмотря на свою универсальность, имеют ряд недостатков. В последнее время для анализа широко используется метод ЯМР [4].

Цель настоящего исследования – качественный и количественный анализ водных экстрактов семян растений рода *Nigella* L. методом ЯМР.

Основная часть. Для анализа использовали воздушно-сухие семена чернушки дамасской (*Nigella damascena* L.), чернушки посевной (*Nigella sativa* L.), а также чернушки восточной (*Nigella orientalis* L.), выращенные на экспериментальном участке отдела биохимии и биотехнологии Центрального ботанического сада Национальной академии наук Беларуси. Экстракция осуществлялась дейтерированной водой (D₂O). Содержание растворимой фракции в воздушно-сухих семенах с оболочкой составило 1,0–1,3%. Спектры ЯМР растворов в D₂O зарегистрированы на спектрометре AVANCE-500 (Bruker) с рабочими частотами 500 и 125 МГц для ядер ¹H и ¹³C соответственно при температуре 293 К. В качестве внутреннего стандарта использовали добавленный в раствор *трет*-бутиловый спирт. В спектре ¹H $\delta_{\text{CH}_3} = 1,24$ м.д., а для ядер ¹³C $\delta_{\text{CH}_3} = 30,29$ м.д. Накопление сигналов для протонных спектров осуществлялось в течение 20 мин, а углерод-

ных – 14 ч. Экспериментальные данные обработаны с помощью пакета программ XWIN-NMR 3.5. Для идентификации соединений в экстрактах в аналогичных условиях записаны спектры ряда индивидуальных аминокислот и сахаров.

На рисунке приведены спектры ¹³C (а) и ¹H (б) водных (D₂O) экстрактов семян *N. sativa*.

Анализ спектров позволил идентифицировать следующие углеводы: сахароза, галактоза, глюкоза и фруктоза. Химические сдвиги сахарозы, глюкозы и фруктозы приведены в работе [5]. Протонные спектры галактозы рассмотрены в [6], а углеродные – в [7].

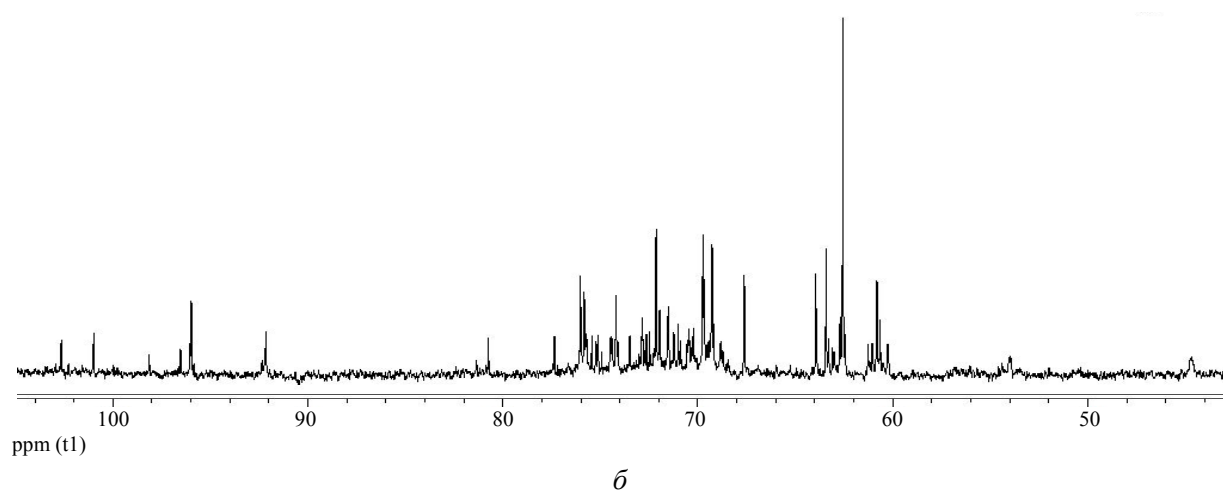
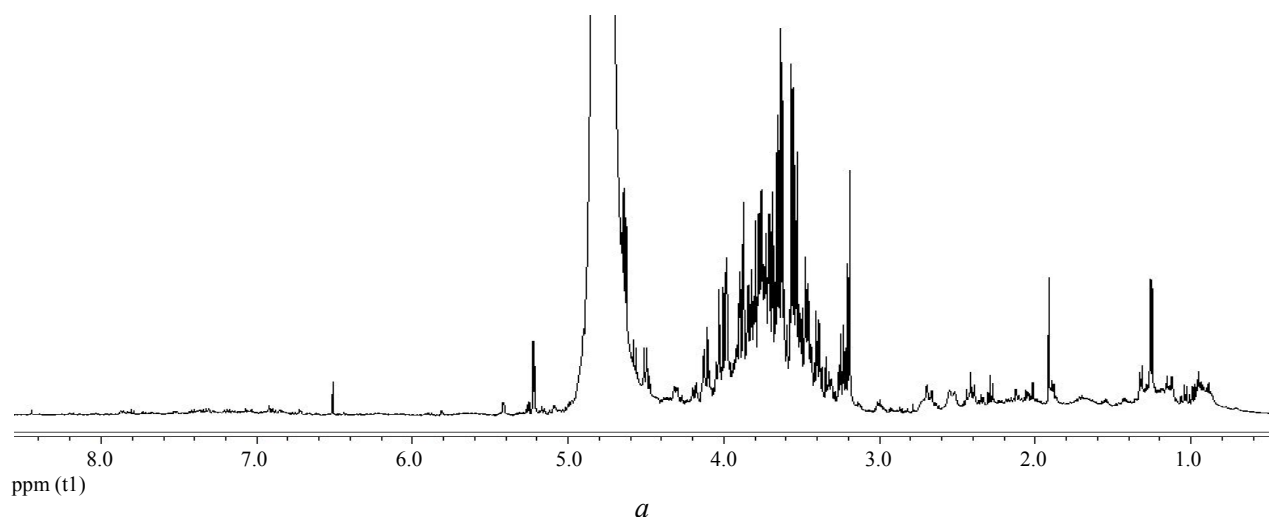
Из аминокислот идентифицированы триптофан, фенилаланин, тирозин, γ -аминомасляная кислота, аспарагин, глутамин, пролин, лизин, треонин, валин, изолейцин, лейцин. Отнесенные химических сдвигов аминокислот нами дано в работе [8].

Качественный и количественный состав идентифицированных сахаров и аминокислот представлен в таблице.

Таким образом, в водных экстрактах растений рода *Nigella* L. установлен количественный состав сахаров. Отмечено, что преобладают в экстрактах моносахариды: у *N. sativa* на их долю приходится 89,7%, *N. damascene* – 94,7%, *N. orientalis* – 86,7%. Также в изучаемых экстрактах присутствует сахароза. Отмечено, что *N. damascene* содержит минимальное количество сахаров среди изучаемых видов.

В результате анализа показано, что семена *N. sativa* и *N. orientalis* содержат 12 аминокислот, 8 из которых являются незаменимыми, а *N. damascene* – 11 аминокислот (отсутствует фенилаланин). Наибольшее количество аминокислот среди изучаемых видов содержит *N. sativa*, преобладающими аминокислотами у нее являются γ -аминомасляная кислота, пролин и треонин. У *N. damascene* преобладают γ -аминомасляная кислота, аспарагин и глутамин, у *N. orientalis* – треонин, пролин и валин.

Присутствие аминокислот в разрабатываемых целевых продуктах из чернушки в сочетании с гидрофобными биологически активными компонентами значительно повышает их терапевтическую ценность, так как аминокислоты, обнаруженные в семенах чернушки, участвуют в продукции ферментов, некоторых гормонов (тирозин, лизин), в построении мышц (лейцин, изолейцин, валин), кожи и волос (пролин, лейцин, изолейцин, валин), поддерживают работу иммунной системы и общего обмена веществ (лизин). Помимо этого, некоторые аминокислоты действуют в качестве нейротрансмиттеров – передатчиков информации от одной клетки к другой (глутамин, валин) и др. [1, 9].



ЯМР спектры ^{13}C (а) и ^1H (б) водных (D_2O) экстрактов семян *N. sativa*

Состав водных (D_2O) экстрактов семян растений рода *Nigella* L. (мол. %)

Соединение	<i>N. sativa</i>	<i>N. damascene</i>	<i>N. orientalis</i>
1. Сахароза	9,0	2,4	7,4
2. Галактоза	3,2	3,7	3,4
3. Глюкоза	25,2	14,7	28,9
4. Фруктоза	21,9	24,7	16,1
<i>Общее количество сахаров</i>	56,1	45,5	55,8
1. Триптофан*	0,2	0,3	0,2
2. Фенилаланин*	0,2	–	0,5
3. Тирозин*	0,2	0,3	0,5
4. γ -Аминомасляная кислота	4,4	3,7	0,5
5. Аспарагин	2,4	3,5	0,6
6. Глутамин	1,1	2,9	0,3
7. Пролин	4,2	0,6	3,5
8. Лизин*	1,0	0,3	0,2
9. Треонин*	3,0	0,7	4,6
10. Валин*	1,4	1,2	1,8
11. Изолейцин*	0,7	0,5	0,9
12. Лейцин*	0,4	0,4	0,7
<i>Общее количество аминокислот</i>	19,2	14,4	14,3

* Незаменимые аминокислоты.

Заключение. Впервые исследован аминокислотный состав и состав сахаров семян растений *N. sativa*, *N. damascena*, *N. orientalis*, выращенных в Беларуси. Установлено, что водные экстракты трех видов рода различаются по составу незначительно. Определено, что преобладающими аминокислотами у *N. sativa* явля-

лись γ -аминомасляная кислота, пролин, треонин, у *N. damascena* – γ -аминомасляная кислота, аспарагин, глутамин, у *N. orientalis* – треонин, пролин, валин. В экстрактах среди идентифицированных компонентов преобладают сахара ($\approx 50\%$), на долю аминокислот приходится 14–19%.

Литература

1. Рудь Н. К., Сампиев А. М. Сравнительное изучение аминокислотного состава сверхкритических углекислотных экстрактов из семян чернушки посевной // *Современные проблемы науки и образования*. 2013. № 6. С. 1024–1028.
2. Black cumin (*Nigella sativa* L.) – A Review / Animesh K. Datta [et al.] // *Journal of plant development sciences*. 2012. Vol. 4 (1). P. 1–43.
3. Nigellidine-4-O-sulfite, the first sulphated indazole-type alkaloid from the seeds of *Nigella sativa* / Z. Ali [et al.] // *Journal Nat. Prod.* 2008. Vol. 71. P. 1111–1112.
4. ЯМР анализ хлороформных экстрактов семян чернушки / Е. Д. Скаковский [и др.] // *Труды БГТУ*. 2015. № 4 (177): Химия, технология органических веществ и биотехнология. С. 234–239.
5. Предварительная оценка состава сока яблок с использованием ядерного магнитного резонанса / Е. Д. Скаковский [и др.] // *Плодоводство*. 2013. Т. 25. С. 469–480.
6. Spectral Database for Organic Compounds SDBS [Электронный ресурс]. URL: http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/img_disp.cgi?disptype=disp3&imgdir=hsp&fname=HSP49668&sdbno=1183 (дата обращения: 18.01.2018).
7. Spectral Database for Organic Compounds SDBS [Электронный ресурс]. URL: http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/img_disp.cgi?disptype=disp3&imgdir=cds&fname=CDS07026&sdbno=1183 (дата обращения: 18.01.2018).
8. Изучение состава водных экстрактов соцветий календулы методом ЯМР / С. Н. Шиш [и др.] // *Весті НАН Беларусі. Серія хімічных навук*. 2017. № 3. С. 45–52.
9. Кочикян А. Т., Кочикян В. Т., Топчян А. В. Аминокислотный состав некоторых пищевых и лекарственных растений флоры Армении // *Медицинская наука Армении / НАН Республики Армения*. 2011. № 8. С. 2–16.

References

1. Rud' N. K., Sampiev A. M. Comparative study of the amino acid composition of supercritical carbon dioxide extracts from seeds of black cherry seeding. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya* [Modern problems of science and education], 2013, no. 6, pp. 1024–1028 (in Russian).
2. Animesh K. Datta, Aditi Saha, Arnab Bhattacharya, Aninda Mandal, Rita Paul, Sonali Sengupta. Black cumin (*Nigella sativa* L.) – A Review. *Journal of plant development sciences*, 2012, vol. 4 (1), pp. 1–43.
3. Ali Z., Ferreira D., Carvalho P., Avery M. A., Khan I. A. Nigellidine-4-O-sulfite, The first sulphated indazole-type alkaloid from the seeds of *Nigella sativa*. *Journal Nat. Prod.*, 2008, vol. 71, pp. 1111–1112.
4. Skakovskii E. D., Tychinskaya L. Yu., Shysh S. N., Shutava A. G., Lamotkin S. A. NMR analysis of chloroform extracts of black cumin seeds // *Trudy BGTU* [Proceeding of BSTU], 2015, no. 4 (177), Chemistry, Organic Substances Technology and Biotechnology, pp. 234–239 (In Russian).
5. Skakovskii E. D., Tychinskaya L. Yu., Molchanova O. A., Kolechkina A. I., Kukharchik N. V., Kalichnikova N. G. Preliminary evaluation of the composition of apples juice using nuclear magnetic resonance. *Plodovodstvo* [Fruit-growing], 2013, vol. 25, pp. 469–480 (In Russian).
6. Spectral Database for Organic Compounds SDBS. Available at: http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/img_disp.cgi?disptype=disp3&imgdir=hsp&fname=HSP49668&sdbno=1183 (accessed 01.18.2018).
7. Spectral Database for Organic Compounds SDBS Available at: http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/img_disp.cgi?disptype=disp3&imgdir=cds&fname=CDS07026&sdbno=1183 (accessed 01.18.2018).
8. Shysh S. N., Shutava A. G., Skakovskii E. D., Tychinskaya L. Yu. A study of the composition of aqueous extracts of calendula inflorescences by the NMR method. *Vestsi NAN Belarusi* [Proceedings of NAS of Belarus], 2017, no. 3, pp. 45–52 (In Russian).
9. Kochikyan A. T., Kochikyan V. T., Topchyan A. V. The amino acid composition of some food and medicinal plants of the flora of Armenia. *Meditinskaya nauka Armenii* [Medical science of Armenia], 2011, no. 8, pp. 2–16 (in Russian).

Информация об авторах

Скаковский Евгений Доминикович – кандидат химических наук, заведующий лабораторией физико-химических методов исследования. Институт физико-органической химии Национальной академии наук Беларуси (220072, г. Минск, ул. Сурганова, 13, Республика Беларусь). E-mail: sed@ifoch.bas-net.by

Тычинская Людмила Юльевна – кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физико-химических методов исследования. Институт физико-органической химии Национальной академии наук Беларуси (220072, г. Минск, ул. Сурганова, 13, Республика Беларусь). E-mail: sed@ifoch.bas-net.by

Шиш Светлана Николаевна – аспирант, младший научный сотрудник отдела биохимии и биотехнологии растений. Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси (220012, г. Минск, ул. Сурганова, 2в). E-mail: svetlana.shysh@gmail.com.

Шутова Анна Геннадьевна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник. Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси (220012, г. Минск, ул. Сурганова, 2в, Республика Беларусь). E-mail: anna_shutova@mail.ru

Ламоткин Сергей Александрович – кандидат химических наук, доцент кафедры физико-химических методов сертификации продукции. Белорусский государственный технологический университет (220006, г. Минск, ул. Сverdlova, 13а, Республика Беларусь). E-mail: jossby@rambler.ru

Information about the authors

Skakovskii Evgenii Dominikovich – PhD (Chemistry), Head of the Laboratory of Physic-Chemical Methods of Research. Institute of Physical Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus. (13, Surganova str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: sed@ifoch.bas-net.by

Tychinskaya Lyudmila Yulievna – PhD (Chemistry), Leading Researcher, the Laboratory of Physic-Chemical Methods of Research. Institute of Physical Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (13, Surganova str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: sed@ifoch.bas-net.by

Shysh Svetlana Nikolaevna – PhD student, Junior Researcher, the Department of Biochemistry and Plant Biotechnology. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2c, Surganova str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: svetlana.shysh@gmail.com.

Shutava Anna Genadjevna – PhD (Biology), Leading Researcher. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2c, Surganova str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: anna_shutova@mail.ru.

Lamotkin Sergey Aleksandrovich – PhD (Chemistry), Assistant Professor, the Department of Physical and Chemical Methods for Products Certification. Belarusian State Technological University (13a, Sverdlova str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: jossby@rambler.ru

Поступила 02.04.2018