

**РАЗРАБОТКА МЕТОДА ЭКСПРЕСС-ИДЕНТИФИКАЦИИ
СЕМЯН ЧЕРНУШКИ ДАМАССКОЙ (NIGELLAE DAMASCENAE SEMINA)**

Лапшин Г. С.¹; к. фармацевт. н., Вандышев В. В.¹; к. б. н., Бабаева Е. Ю.²

¹ ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, Россия.

² ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и
ароматических растений», Москва, Россия.

E-mail: lapshings@gmail.com

Семена чернушки дамасской (*Nigellae damascenae semina*) используются как лекарственное растительное сырье для получения препаратов, содержащих липазу. Целью данной работы является выявление специфичных признаков в морфологии и химическом составе семян, позволяющих быстро и достоверно устанавливать подлинность сырья. Предлагаются нетрудоемкие методики на основе формы контура поперечного среза семени и специфичной флуоресценции срезов и извлечений из семян в УФ-свете; охарактеризован дисперсный состав семян. Работа с семенами чернушки дамасской проведена в сравнительном аспекте с семенами чернушки посевной.

Ключевые слова: чернушка дамасская, контур среза, флуоресценция, идентификация.

**DEVELOPMENT OF A RAPID IDENTIFICATION METHOD FOR NIGELLAE
DAMASCENAE SEEDS**

Lapshin G. S.¹; PhD, Assoc. Prof. Vandyshev V. V.¹; PhD, Assoc. Prof. Babaeva E. Yu.²

¹ RUDN University, Moscow, Russia.

² All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia.

E-mail: lapshings@gmail.com

Nigella damascena seeds are widely used as a source for lipase-containing herbal drugs. Aim of this work was to reveal specific morphological and phytochemical features that allow authenticating the crude plant. Non-laborious methods based on the transversal slice shape of the seed and specific fluorescence of the slice and extract in UV light were proposed. Moreover, the size distribution of the seeds was evaluated. In this work, *Nigella damascena* was compared to *Nigella sativa*.

Keywords: *nigella damascena*, cut contour, fluorescence, identification.

Введение

Чернушка дамасская (*Nigella damascena* L.) из семейства лютиковые (Ranunculaceae) является культивируемым официальным растением, ее используют для получения семян. Это

сырье служит промышленным источником растительной липазы, а также содержат жирное и эфирное масла, фосфолипиды, токоферолы [1].

На основе фармацевтической субстанции, представляющей собой комплекс ферментов липолитического действия, в отечественной и зарубежной медицинской практике использовался лекарственный препарат «Нигедаза», выпускавшийся в форме таблеток, покрытых оболочкой. [2] Однако после распада СССР, сырьевая база чернушки дамасской осталась в Украине, где препарат выпускается и по сей день. В настоящее время производство этого препарата в России затруднено из-за дефицита сырья. Перспективным направлением для увеличения заготовок отечественного сырья является расширение его сырьевой базы. С этой целью Ставропольским НИИ сельского хозяйства проведены интродукционные исследования по введению чернушки дамасской в промышленную культуру в регионе Предкавказья [3].

Показано, что компоненты эфирного масла из семян чернушки дамасской обладают противовоспалительной активностью. Также выявлено, что эфирное масло в целом, дамасценин и β -элемен продемонстрировали иммуномодулирующую активность, оцененную в LPS-стимулированных нейтрофилах *ex vivo*. Все исследованные образцы значительно ингибировали высвобождение интерлейкина 1 бета (IL-1 β) и интерлейкина 8 (IL-8). Более того, дамасценин и β -элемен снижали продукцию матриксной металлопептидазы 9 (MMP-9), аналогично дексаметазону [4].

Еще одним видом данного рода, широко культивируемым в Индии, Сирии и других странах Ближнего Востока, а также в России, является чернушка посевная (*Nigella sativa* L.), чьи семена используются как пряность под названиями «чорный кмин», «черный тмин» «каланджи» и др. [5]

По внешнему виду мелкие черного цвета семена обоих видов крайне похожи и могут являться примесью друг к другу.

Данные литературы по изучению химического состава, в том числе компонентов эфирного масла семян чернушки дамасской и посевной в сравнительном аспекте показывают, что семена чернушки дамасской отличаются от таковых чернушки посевной наличием алкалоида дамасценина. Это алкалоид перегоняется с водяным паром вместе с другими компонентами эфирного масла, а по строению является производным антраниловой кислоты. Специфичным компонентом эфирного масла семян чернушки посевной является природное соединение хиноидного строения тимохинон [6].

Наличие на сырьевом рынке семян растений одного рода, очень похожих друг на друга, используемых в разных направлениях, вызывает необходимость в разработке методов их идентификации. За последние 10 лет опубликованы работы отечественных и зарубежных

ученых, посвященные сравнительному изучению состава компонентов эфирных масел из семян, а также анатомических различий между этими видами сырья [7].

Работы о выявлении морфологических различий семян этих видов чернушки в доступной литературе отсутствуют.

Следует отметить, что сложность по идентификации имеют только мелкие черные семена этих растений, а сами растения и плоды этих видов хорошо отличаются по внешним признакам [8].

Целью данной работы является разработка методики для быстрой и нетрудоемкой дифференцировки мелких семян чернушки дамасской и чернушки посевной, учитывая разные направления их использования, с помощью достоверных и экспрессных методов фармакогностического анализа.

Материалы и методы

Семена чернушки дамасской были собраны в фазу технической зрелости от растений биологической коллекции ботанического сада ФГБНУ ВИЛАР в 2015–2016 гг. Семена чернушки посевной были приобретены в торговой сети г. Москвы под названиями «каланджи» и «черный тмин».

В работе использовали микроскоп стереоскопический ЛОМО МСП-1 вариант 22 с цифровой камерой Nauear YW500, УФ-лампа марки Benda NU-6 KL с фильтрами с длиной волн 254 и 366 нм.

Для дисперсного анализа использовали набор сит с диаметром отверстий 3, 2, 1, 0,5 и 0,25 мм. Часть аналитической пробы образца семян массой 10-100 граммов помещали на набор сит и осторожно, плавными вращательными движениями, просеивали. Просеивание измельченных частей считали законченным, если количество семян, прошедших сквозь сито при дополнительном просеве в течение 1 мин., составляло менее 1 % сырья, оставшегося на сите (ОФС 1.5.3.0004.15 ГФ XIV) [9].

Вычисляли в процентах содержание фракции семян, полностью прошедших сквозь сито с отверстиями размером 3 мм и оставшихся ситах 2 мм и 1 мм по отношению к массе взятой аналитической пробы.

Для получения поперечных срезов руководствовались ОФС 1.5.1.0008.15 и ОФС 1.5.3.0003.15 ГФ XIV [9]. Срез осуществляли вручную с помощью лезвия около середины семени, а полученные половинки семян помещали срезом вверх в тонкий слой мягкого материала и рассматривали под стереомикроскопом или лупой 10х. Под длиной семени понимали линейный размер – расстояние между его двумя наиболее удалёнными точками, измеренное горизонтально, под шириной семени – расстояние в поперечнике, измеренное горизонтально.

Результаты

Данные о дисперсном составе промышленных видов сырья обеих чернушек в литературе отсутствуют. Дисперсный анализ семян этих растений (табл. 1) показал, что семена чернушки дамасской достоверно крупнее, чем семена чернушки посевной.

Таблица 1 – Результаты ситового анализа семян чернушки дамасской и посевной, %

Название сырья	Осталось фракций семян на сите с отверстиями разного диаметра	
	2 мм	1 мм
Семена чернушки дамасской	11,85±3,35	88,15±3,35
Семена чернушки посевной	2,20±0,85	97,8±0,85

Изучение длины и ширины семян позволило прийти к тому, что семена чернушки дамасской имеют более шарообразную форму, нежели таковые чернушки посевной. Форма последних может быть охарактеризована как овально-продолговатая. Однако приходится констатировать, что размеры семян чернушек обоих видов трудно определяемы из-за очень мелких размеров объектов и могут в пределах фенотипической изменчивости совпадать или иметь несущественную разницу. Различия по данным параметрам могут быть обусловлены условиями выращивания производящих растений.

В поисках более объективного и быстрого способа идентификации похожих мелких семян двух видов чернушек мы обратили внимание прежде всего на контур их поперечных срезов, который используется в ботанических исследованиях семян этих и других растений [1].

В ходе экспериментов выяснилось, что контур среза семян чернушки посевной четко и достоверно отличается от контура среза семян чернушки дамасской (рис. 1). Семена чернушки дамасской имеют округлый контур с небольшими элементами ребристости.



Рисунок 1 – Поперечные срезы семян чернушки дамасской (а) и посевной (б)

В то время как контур поперечного среза семян чернушки посевной являет собой многоугольник, чаще всего пятиугольник. Выявление формы контура поперечного среза даже мелких семян проводится достаточно быстро и не является трудоемким методом анализа.

Из данных литературы известно, что алкалоид дамасценин в УФ-свете обладает яркой сине-голубой флуоресценцией [10]. Наличие алкалоида и это его свойство предлагается использовать для установления подлинности семян чернушки дамасской. Для этого разработана экспресс-методика, заключающаяся в следующем: фильтровальную бумагу помещают в ступку, затем кладут на неё несколько семян, заворачивают и давят пестиком для разрушения семян и выдавливания жирного и эфирного масел из них; жирное пятно, остающееся на фильтровальной бумаге, рассматривают под УФ-лампой с длиной волны 366 или 254 нм. При этом пятно на фильтровальной бумаге от раздавленных семян чернушки дамасской характеризуется яркой голубой флуоресценцией от присутствия в нем алкалоида дамасценина. Флуоресценцию также можно наблюдать и на поперечном срезе семени чернушки дамасской.

Пятно от раздавленных семян чернушки посевной, поскольку они не содержат алкалоида дамасценина, таким свойством в этих условиях не обладает.

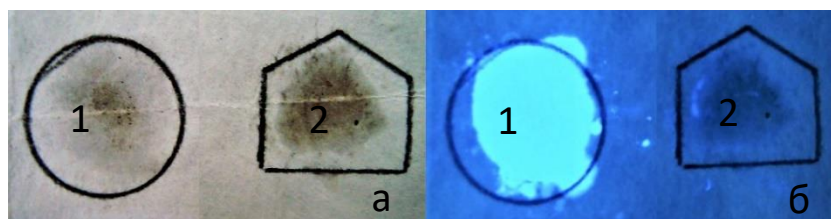


Рисунок 2 – Пятна жирного масла после раздавливания семян чернушки дамасской (1) и посевной (2) при дневном (а) и УФ-свете (б)

Заключение

Для экспрессной и нетрудоемкой идентификации официального сырья – семян чернушки дамасской – предлагается использовать округлый контур поперечного среза этих семян, а также яркую голубую флуоресценцию пятна жирного масла, от раздавленных семян чернушки дамасской под УФ-светом при длине волны 366 нм или 254 нм. Эти методики могут быть рекомендованы для установления подлинности семян чернушки дамасской в нормативной документации на «Чернушки дамасской семена».

Библиографический список

1. Фармакогнозия. Лекарственное сырье растительного и животного происхождения [Текст] : учебное пособие по фармакогнозии для студентов фармацевтических вузов, обучающихся по специальности «Фармация» / [Алексеева Г. М. и др.] ; под ред. Г. П. Яковлева. – 3-е изд., испр. и доп. – СПб. : СпецЛит, 2013. – 846, [1] с.
2. Машковский, М. Д. Лекарственные средства: пособие для врачей / М. Д. Машковский. - 15-е изд., перераб., испр. и доп. - М. : Новая волна, 2005. - 1206 с. : ил.
3. Маширова, С. Ю. Фармакогностическое изучение семян чернушки дамасской (*Nigella damascena* L.), выращенной в условиях Ставропольского края : Дисс. ... канд. фарм.

наук: 14.04.02 [Место защиты: ГОУВПО «Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия»]. – СПб., 2013. – 177 с. : 13 ил.

4. Sieniawska, E. *Nigella damascena* L. essential oil and its main constituents, damascenine and β -elemene modulate inflammatory response of human neutrophils ex vivo / E. Sieniawska, P. Michel, T. Mroczek, S. Granica, K. Skalicka-Woźniak // *Food and Chemical Toxicology* – 2019 – Vol. 125. – P. 161-169.

5. Губанов, И. А. Пищевые растения России / И. А. Губанов. – М. : ABF, 1996. – 504 с.

6. Margout, D. Morphological, microscopic and chemical comparison between *Nigella sativa* L. cv (black cumin) and *Nigella damascena* L. cv / D. Margout, M. T. Kelly, S. Meunier, D. Auinger, Y. Pelissier, M. Larroque // *Journal of Food, Agriculture & Environment* – 2013. – Vol. 11 (1). – P. 165-171.

7. Орловская, Т. В. Морфолого-анатомическое изучение семян чернушки посевной (*Nigella sativa* L.) и чернушки дамасской (*Nigella damascena* L.) / Т. В. Орловская, С. Ю. Маширова // *Традиционная медицина*. – 2012. – № 3 (30). – С. 54-57].

8. Флора Восточной Европы. Т. 10: Покрытосеменные: Двудольные / [И. О. Бузунова и др.]; Под ред. Н. Н. Цвелева. - СПб. : Мир и семья: Изд-во СПХФА, 2001. – 670 с.

9. Государственная фармакопея Российской Федерации [Электронный ресурс]: в 4 т. / Минздрав России. – 14 изд. – М.: Науч. центр экспертизы средств мед. применения, 2018. – 7019 с. URL: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>

10. Курс органической химии [Текст] / П. Каррер, проф. ; Пер. с нем. 13-го перераб. и доп. изд. В. Э. Вассерберга [и др.] ; Под ред. М. Н. Колосова. – 2-е изд., (стер.). – Л. : Госхимиздат. [Ленингр. отд-ние], 1962. – 1216 с.