

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«ВОРОНЕЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

*На правах рукописи*



Колосова Ольга Александровна

**Сравнительное фармакогностическое изучение сырья валериан  
сомнительной и волжской, произрастающих на территории Воронежской  
области**

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Диссертация

на соискание ученой степени  
кандидата фармацевтических наук

**Научный руководитель:**  
доктор фармацевтических наук, доцент  
Тринеева Ольга Валерьевна

Воронеж – 2022

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	17
1.1. Классификация растений рода <i>Valeriana</i> L .....	17
1.1.1. Валерианы России .....	18
1.1.2. Валерианы Воронежской области .....	20
1.2. Ботаническая характеристика изучаемых видов .....	23
1.2.1. Валериана волжская ( <i>Valeriana wolgensis</i> Kazak.) .....	23
1.2.2. Валериана сомнительная ( <i>Valeriana dudia</i> L.).....	25
1.3. Культивирование и заготовка сырья.....	27
1.4. Фитохимический состав сырья <i>Valeriana officinalis</i> L. и препаратов на его основе .....	30
1.4.1. Биологически активные вещества лекарственных валериан .....	33
1.4.1.1. Биологически активные вещества первичного обмена .....	33
1.4.1.2. Биологически активные вещества вторичного обмена .....	41
1.4.1.3. Состав и свойства эфирного масла валерианы .....	48
1.5. Современное состояние стандартизации и оценки качества <i>Valeriana</i> <i>officinalis</i> и препаратов на ее основе .....	55
1.6. Фармакологическое действие и медицинское применение лекарственных валериан.....	61
1.7. Выводы к Главе 1 .....	66
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ .....	67
2.1. Объекты исследования .....	67
2.2. Методы исследования .....	67
2.2.1. Изучение особенностей анатомии и морфологии анализируемого ЛРС .....	67
2.2.2. Определение экологической безопасности изучаемого ЛРС .....	68
2.2.3. Исследования БАВ первичного и вторичного обмена в ЛРС .....	69
2.2.4. Изучение различных видов фармакологической активности извлечений из корневищ с корнями валериан сомнительной и волжской .....	72

2.2.4.1. Получение спиртовых извлечений из изучаемого ЛРС для проведения экспериментальных исследований на лабораторных животных .....	72
2.2.4.2. Изучение различных видов фармакологической активности извлечений, полученных на основе исследуемого ЛРС .....	73
<b>ГЛАВА 3. ИЗУЧЕНИЕ ХАРАКТЕРИСТИК ПОДЛИННОСТИ И ДОБРОКАЧЕСТВЕННОСТИ ИССЛЕДУЕМЫХ ВИДОВ СЫРЬЯ .....</b>	<b>76</b>
3.1. Макроскопический анализ корневищ с корнями и травы валерианы волжской и валерианы сомнительной.....	77
3.2. Микроскопический анализ корневищ с корнями исследуемых видов валериан.....	79
3.3. Анатомическое изучение надземного побега валерианы (на примере валерианы волжской).....	84
3.4. Сравнительная характеристика анатомо-диагностических признаков сырья валериан близкородственных видов .....	90
3.5. Изучение морфологических и анатомо-диагностических признаков сырья валерианы волжской методом люминесцентной микроскопии .....	94
3.6. Определение показателей доброкачественности исследуемых видов сырья ..	99
3.7. Выводы к Главе 3 .....	100
<b>ГЛАВА 4. ИЗУЧЕНИЕ НАКОПЛЕНИЯ ЭКОТОКСИКАНТОВ КОРНЕВИЩАМИ С КОРНЯМИ И ТРАВой ВАЛЕРИАНЫ ВОЛЖСКОЙ И ВАЛЕРИАНЫ СОМНИТЕЛЬНОЙ, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В ВОРОНЕЖСКОЙ ОБЛАСТИ .....</b>	<b>103</b>
4.1. Изучение элементного состава корневищ с корнями и травы валерианы волжской и валерианы сомнительной, произрастающих в Воронежской области.....	104
4.2. Сравнительное изучение элементного состава корневищ с корнями валерианы лекарственной различных мест произрастания .....	119
4.3. Сравнительный анализ элементного состава официального сырья валерианы лекарственной и его составляющих.....	128
4.4. Определение пестицидов и радионуклидов в изучаемом ЛРС .....	131

4.5. Выводы к Главе 4 .....	133
ГЛАВА 5. ИЗУЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА СЫРЬЯ ВАЛЕРИАНЫ ВОЛЖСКОЙ И ВАЛЕРИАНЫ СОМНИТЕЛЬНОЙ .....	135
5.1. Изучение компонентного состава подземных органов валерианы волжской и валерианы сомнительной, произрастающих в Воронежской области.....	135
5.2. Изучение состава БАВ первичного обмена в сырье .....	141
5.2.1. Определение аминокислот .....	141
5.2.2. Определение полисахаридов (свободных и связанных сахаров) в подземных органах.....	150
5.2.3. Изучение состава жирных кислот в подземных органах и семенах валерианы волжской и валерианы сомнительной .....	152
5.3. Изучение состава БАВ вторичного обмена в сырье .....	159
5.3.1. Определение состава свободных органических кислот подземных органов и травы валериан.....	159
5.3.2. Сравнительный анализ фенольной фракции (гидроксикоричных кислот и флавоноидов) надземных органов валерианы сомнительной и валерианы волжской .....	162
5.3.3. Выявление и количественное определение сложных эфиров БАВ в подземных органах видов рода валериана флоры Воронежской области .....	165
5.3.4. Определение сесквитерпеновых кислот в подземных органах валериан сомнительной и волжской .....	167
5.3.5. Исследование некоторых других БАВ травы валериан изучаемых видов .	168
5.3.6. Сравнительное изучение состава эфирного масла валериан различных видов .....	169
5.3.6.1. Сравнительная характеристика компонентного состава эфирных масел корневищ с корнями валерианы лекарственной различных способов консервации и производителей.....	169
5.3.6.2. Сравнительная характеристика компонентного состава эфирных масел корневищ с корнями валериан изучаемых видов .....	177

5.4. Применение ИК-спектроскопии для исследования структуры БАВ сырья валериан сомнительной и волжской .....	183
5.5. Выводы к Главе 5.....	197
ГЛАВА 6. ИЗУЧЕНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ИЗ КОРНЕВИЩ С КОРНЯМИ ВАЛЕРИАНЫ СОМНИТЕЛЬНОЙ И ВАЛЕРИАНЫ ВОЛЖСКОЙ, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В ВОРОНЕЖСКОЙ ОБЛАСТИ .....	200
6.1. Экспериментальные исследования различных видов фармакологической активности на лабораторных животных (in vivo).....	200
6.1.1. Изучение седативных, адаптогенных и антигипоксантных свойств извлечений из сырья валерианы сомнительной и валерианы волжской, произрастающих на территории Воронежской области .....	201
6.1.2. Сравнительная оценка психотропных свойств извлечений из корневищ с корнями валерианы волжской и валерианы сомнительной и травы зверобоя продырявленного в тесте «эвристические решения» .....	205
6.2. Прогноз видов биологической активности травы валериан сомнительной и волжской с помощью веб-ресурса PASS online .....	210
6.3. Сравнительная характеристика возможных видов биологической активности корневищ с корнями валериан сомнительной и волжской in silico... ..	212
6.4. Выводы к Главе 6 .....	214
ОБЩИЕ ВЫВОДЫ .....	216
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	219
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	221
Приложение А. Прогноз видов фармакологической активности и токсических эффектов некоторых БАВ сырья валериан сомнительной и волжской по данным PASS-online.....	250
Приложение Б. Акты внедрения.....	264
Приложение В. Разработка и валидация методик определения флавоноидов и гкк в траве валериан изучаемых видов .....	277

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

Несмотря на хорошо известные и доказанные преимущества современных синтетических лекарственных средств (ЛС), в Российской Федерации (РФ) существует весьма многочисленная категория потребителей, негативно относящихся к лечению лекарственными препаратами (ЛП) на основе субстанций синтетического происхождения. В этой связи лекарственные растительные препараты (ЛРП) не теряют своей популярности и являются крайне востребованными на отечественном фармацевтическом рынке. В частности, по литературным данным, одной из наиболее широко применяемых в клинической практике и обширных групп ЛРП являются седативные средства. Так, например, согласно данным, полученным нами при анализе базы данных Государственного реестра лекарственных средств, в настоящее время зарегистрировано более 100 ЛП, содержащих продукты переработки лекарственного растительного сырья (ЛРС) валерианы лекарственной. Востребованность седативных препаратов растительного происхождения со стороны специалистов и населения определяется целым рядом факторов, в том числе известной эффективностью, ценовой доступностью, а также априорно предполагаемой пациентами безопасностью средств природного происхождения. Кроме того, следует отдельно подчеркнуть высокую частоту использования пациентами ЛРП седативного действия в рамках ответственного самолечения, ввиду того, что многие из них являются препаратами безрецептурного отпуска.

Валериана лекарственная (*Valeriana officinalis*) одно из самых популярных растений в медицине. Из цикла валерианы лекарственной (*Valeriana officinalis* L. s. I.) в Воронежской области произрастают валериана волжская (ВВ) (*Valeriana wolgensis* Kazak.) и валериана сомнительная (ВС) (*Valeriana dubia* Bunge), относящиеся, по данным В.И. Грубова (1958 г) с дополнениями и изменениями В.Н. Ворошилова (1959, 1975), к сборному ряду *Officinales* Grub. Виды этого ряда близки по химическому составу и сходны по морфологии и рекомендованы к

применению в медицинской практике наравне с валерианой лекарственной. В последние годы наряду с углубленным изучением официального сырья валерианы, проводятся исследования её многочисленных близкородственных видов (по разным данным от 9 до 11 на территории РФ и от 9 до 14 на территории стран юго-восточной Европы), образующих естественные заросли в различных регионах РФ. Каждый вид характеризуется, в целом, с одной стороны, схожим химическим составом биологически активных веществ (БАВ) в виду общей принадлежности к одному роду *Valeriana*, с другой стороны, наличием специфических компонентов по литературным данным, однозначно определяющих вид данного растения. Однако, в настоящее время действующая ФС.2.5.0009.15 ГФ XIV издания РФ «Валерианы лекарственной корневища с корнями» не конкретизирует перечень близкородственных видов, которые могут подвергаться заготовке и применению. В ведущих зарубежных фармакопеях наблюдается такая же тенденция. Морфологическая близость родственных видов и одновременно описание множества различных внутривидовых форм осложняют дифференциацию видов ряда *Officinales*, обладающих, по данным литературы, неодинаковой фармакологической ценностью. Следовательно, научное обоснование возможности заготовки и применения сырья валериан, произрастающих на территории Воронежской области, внесет вклад в обеспечение фармацевтической промышленности ценным сырьем для производства доступных эффективных и безопасных отечественных лекарственных растительных препаратов (ЛРП) в рамках задачи импортозамещения.

В то же время, актуальным направлением фармакогнозии является комплексное изучение фармакопейных лекарственных растений различных видов, позволяющие обосновать целесообразность заготовки и других органов и частей, не описанных в нормативной документации (НД), с целью рационального природопользования ограниченными растительными ресурсами. Так, важным можно считать фармакогностическое изучение надземных органов валерианы

различных видов, как перспективного источника БАВ. Все это обусловило актуальность проведенных в работе исследований.

### **Степень разработанности темы исследования**

Большой вклад в понимание систематики цикла видов валерианы лекарственной внесли работы зарубежных и отечественных ученых. Вот лишь некоторые из них: Skalinska, Sarkany, Baranyai, Hegnauer, Meijers, Weberling, Keller, Sebald. Серию статей этой теме посвятил В. Тиц. Эти авторы применяли целый арсенал методов в процессе экспериментального изучения цикла видов валерианы лекарственной в Европе. На основании полученных результатов, авторы сделали вывод о том, что *V. officinalis* L.s.l. в Западной Европе является сложным полиплоидным комплексом, находящимся в стадии активного эволюционного развития. Цикл работ Фурсы Н.С. и Шкрабатько П.Ю. показали различия в компонентном составе подземных органов различных близкородственных видов сборного цикла, произрастающих в различных регионах РФ и Украины. Разные виды, как утверждают авторы, имеют неодинаковую лекарственную ценность. Данная работа является продолжением сбора и систематизации данных об особенностях морфологии, анатомии, состава БАВ и видах фармакологической активности видов валериан, произрастающих на территории Центрального черноземья (на примере Воронежской области). Государственной фармакопеей РФ 14 изд. допускается к применению в фармацевтической и медицинской практике корневища с корнями валерианы, а в качестве производящего растения указывается *Valeriana officinalis* L.s.l.), что без конкретизации входящих сюда таксонов, создает множество трудностей для заготовителей и селекционеров (Ворошилов, 1975). Стандартизация корневищ с корнями всех видов сборного цикла *Valeriana officinalis* L. s. l. проводится по ФС.2.5.0009.15 ГФ XIV издания РФ «Валерианы лекарственной корневища с корнями». На траву валерианы лекарственной действует ТУ 64-4-44-83 с изменениями №1 от 10.04.1988 г. Данных о химическом составе травы Воронежских валериан изучаемых видов в литературе практически не представлено.



### **Цель исследования**

Целью исследования является сравнительное фармакогностическое изучение сырья (корневищ с корнями и травы) валериан сомнительной и волжской, произрастающих на территории Воронежской области, для научного обоснования возможности их использования в производстве лекарственных растительных препаратов.

### **Задачи исследования**

Для выполнения поставленной цели необходимо решить ряд задач:

1. Провести сравнительное изучение морфолого-анатомических признаков корневищ с корнями и травы, произрастающих на территории Воронежской области видов валериан, из сборного цикла *Valeriana officinalis* L.s.l. - валерианы сомнительной и валерианы волжской, для установления диагностических признаков сырья;
2. Провести сравнительный анализ минерального состава травы и корневищ с корнями валериан изучаемых видов, с оценкой способности аккумулировать токсические элементы. Изучить также характеристики безопасности сырья (содержание пестицидов и радионуклидов);
3. Провести комплексное изучение состава БАВ подземных и надземных органов валерианы волжской и валерианы сомнительной с помощью современных физико-химических методов (СФМ, ВЭЖХ, ГХ-МС, капиллярный электрофорез, хромато-масс-спектрометрия, ТСХ и др.);
4. Выявить целевые группы БАВ для травы исследуемых валериан и разработать методики их определения;
5. С помощью веб-ресурса PASS-online спрогнозировать перспективные виды фармакологической активности для травы валериан сомнительной и волжской.
6. В эксперименте на животных провести сравнительное изучение выраженности седативной активности спиртовых извлечений корневищ с корнями изучаемых видов с оценкой антигипоксантажного и адаптогенного эффектов;
7. Научно обосновать возможность применения сырья близкородственных видов валерианы лекарственной, имеющих наибольшее распространение на территории

Воронежской области, для использования фармацевтической промышленностью в производстве ЛРП.

### **Научная новизна**

С применением различных современных методов микроскопических исследований установлены основные морфолого-анатомические признаки травы валериан изучаемых видов, уточнены и дополнены сведения о признаках корневищ с корнями. Методом люминесцентной микроскопии проведено изучение особенностей строения и люминесценции тканей подземных и надземных органов валериан сомнительной и волжской. Все обнаруженные диагностически значимые особенности строения визуализированы и документально подтверждены большим объемом микрофотографий, представленных в работе и публикациях.

Установлен состав минерального комплекса и особенность в накоплении отдельных элементов в процессе комплексного изучения сырья валериан волжской и сомнительной Центрально-Черноземного региона произрастания. Установлено, что с точки зрения содержания тяжелых металлов, мышьяка, радионуклидов и остаточных хлорорганических пестицидов, изученные образцы являются экологически безопасными, а территории могут быть рекомендованы для массовой заготовки ЛРС в промышленных масштабах.

Методами КЭ, ВЭЖХ, ГХ/МС, ТСХ и СФМ установлен комплекс различных групп БАВ травы Воронежских валериан. Проведена сравнительная всесторонняя оценка химического состава корневищ с корнями изучаемых видов валериан. Получены индивидуальные ИК-спектры измельченных подземных и надземных органов исследуемых валериан сомнительной и волжской без специальной пробоподготовки и выявлены специфические полосы поглощения, позволяющие проводить идентификацию данных близкородственных видов. Методом компьютерного моделирования, *in silico* спрогнозированы вероятные виды фармакологической активности, а также нежелательные побочные эффектов фенольных соединений, выявленных в составе травы валериан изучаемых видов и определены возможные перспективы разработки ЛРП определенного действия.

Некоторые БАВ корневищ с корнями, кроме общих фармакологических свойств, показали наличие специфических видов активностей и побочных реакций, дополняющих данные литературы о неодинаковом характере действия препаратов валерианы, полученных из близкородственных видов сборного цикла *Officinales*.

На этапе проведенных для подземных органов исследуемых видов валериан экспериментальных исследований на животных установлено наличие выраженной седативной, сочетающейся с адаптогенной активностей. Причем, извлечения из сырья валерианы сомнительной продемонстрировали более высокие показатели, как по сравнению с валерианой волжской, так и по сравнению с настойкой из фармакопейного вида валерианы – валерианы лекарственной.

### **Личный вклад автора**

При непосредственном участии автора были определены цель и задачи исследования. Автору принадлежит основная роль в реализации экспериментальных исследований, статистической обработке и анализе полученных данных, написании публикаций по теме исследования. Автор самостоятельно проводил заготовку и сушку сырья, анализ внешних и анатомических признаков сырья. Автором проведен анализ минерального состава и компонентного состава БАВ образцов сырья. Автором разработана и валидирована методика определения флавоноидов и гидроксикоричных кислот в траве валериан изучаемых видов. С помощью веб-ресурса PASS-online автором спрогнозированы перспективные виды фармакологической активности для травы валериан сомнительной и волжской. Автор самостоятельно провел эксперименты на лабораторных животных. Диссертация и автореферат подготовлены автором лично.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Собран уникальный материал по фармакогностическому и химическому описанию надземных и подземных органов близкородственных видов валериан сомнительной и волжской из сборного цикла валерианы лекарственной. Проведенные исследования позволяют дополнить и расширить уже имеющиеся в литературе сведения, а также могут служить основой для дальнейшего

исследования variability морфологии, анатомии и химического состава сырья валериан различных видов, заготовленных в разнообразных эколого-географических территориях, для выявления определенных отличий, а также разработки и научного обоснования единых современных нормативных требований для оценки качества данного ЛРС, представленного группой близкородственных видов. В работе методом ИК-спектроскопии изучен характер образования водородных связей между молекулами БАВ в ЛРС и их термодинамические характеристики. Проведенные исследования позволили разработать инструкции по заготовке травы валерианы волжской и валерианы сомнительной, зарегистрированные ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений». Изучаемые нами близкородственные виды валерианы лекарственной, имеющие наибольшее распространение на территории Воронежской области, могут также быть рекомендованы к использованию фармацевтической промышленностью для производства ЛРП.

Исследования показали возможность использования травы данных видов валериан в качестве перспективного источника БАВ для получения новых ЛРП, что дополнительно способствует решению задачи фармацевтической науки, направленной на рациональное использование ограниченных природных ресурсов, т.к. данный вид сырья пока является отходами при заготовке фармакопейных корневищ с корнями.

### **Методология и методы исследования**

Теоретическую основу исследования составили труды российских (Грубов В.И., Ворошилов В.Н., Коновалова и др., Фурса Н.С., Шкрабатько П.Ю., Талашова С.В. и др.) и зарубежных (Skalinska, Sarkany, Baranyai, Hegnauer, Meijers, Weberling, Keller, Sebald) ботаников и фармакогностов. Работы данных исследователей внесли неоценимый вклад в понимание вопросов систематики цикла видов валерианы лекарственной, показали различия в составе комплекса БАВ подземных органов различных близкородственных видов сборного цикла и неодинаковую их лекарственную ценность; а также международная и российская

НД на ЛРС. Методология исследования включала в себя проведение комплексного фармакогностического изучения надземных и подземных органов валериан сомнительной и волжской, основанном на сравнительном анализе химического состава. В процессе выполнения работы использовались методы сравнительного, документированного анализа; а также комплекс физико-химических методов, технологических и экспериментальных испытаний на лабораторных животных; методы математической статистики и обработки результатов.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Результаты сравнительного изучения основных анатомо-морфологических признаков корневищ с корнями и травы валериан сомнительной и волжской с применением световой и люминесцентной микроскопии и их биометрические характеристики.

2. Результаты исследования состава минерального комплекса подземных и надземных органов валериан исследуемых видов, заготовленных на территории Воронежской области, а также способности аккумуляции ими токсичных элементов.

3. Результаты комплексного сравнительного изучения компонентного состава БАВ травы и корневищ с корнями валерианы сомнительной и валерианы волжской современными физико-химическими методами (СФМ, КЭ, ВЭЖХ, ГХ-МС, ТСХ и др.).

4. Результаты качественного и количественного определения флавоноидов и гидроксикоричных кислот – целевых групп БАВ травы исследуемых видов валериан.

5. Результаты оценки возможности применения ИК-спектроскопии для идентификации сырья близкородственных видов валерианы волжской и валерианы сомнительной, входящих в сборный цикл Валериана лекарственная (*Valeriana officinalis* L.s.I).

6. Результаты проведения сравнительных экспериментальных испытаний на лабораторных животных различных видов фармакологической активности

извлечений из корневищ с корнями, а также *in silico* исследования возможных видов биологических и побочных эффектов для травы валерианы сомнительной и валерианы волжской.

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Научные положения диссертационной работы соответствуют паспорту научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пункту 5, 6 и 7 паспорта фармацевтическая химия, фармакогнозия.

### **Степень достоверности результатов проведенных исследований**

В опытах использовалось поверенное оборудование, имеющее действующие сертификаты. Первичные материалы прошли экспертизу на достоверность, о чем свидетельствует соответствующий акт. Проведена статистическая обработка результатов и валидация методик. Каждое измерение проводилось в трех - пяти повторностях. При количественном определении флавоноидов и ГКК в траве валериан изучаемых видов, проведено по 6 повторностей. Доверительная вероятность равна 0,95. Экспериментальные исследования на лабораторных животных проведены на 40 белых аутбредных конвенциональных крысах обоего пола массой 270-290. Животные разделены на 4 группы. Выводы являются обоснованными и логически вытекающими из результатов экспериментов.

### **Апробация результатов исследования**

Основные результаты исследования представлены на конференциях: ежегодная областная научно-практическая конференция «Воронежское краеведение: традиции и современность» (Воронеж, 2012), V Международная научно-методическая конференция «Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств (Фармообразование-2013)» (Воронеж, 2013), Международная научно-практическая конференция, посвященная 80-летию академика Ш.М. Омарова «Актуальные проблемы фармакотерапии и

фармакологии» (Дагестан, 2016), VII Международная научно-методическая конференция «Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств (Фармообразование-2018)» (Воронеж, 2018), VIII Международная научно-методическая конференция «Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств (Фармообразование-2022)» (Воронеж, 2022).

### **Внедрение результатов в практику**

Полученные экспериментальные данные сравнительного фармакогностического изучения высушенной травы изучаемых видов валериан использованы при разработке инструкций по заготовке данного сырья, одобренные ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений». Материалы диссертационного исследования внедрены для проведения учебных занятий при реализации дисциплины «Фармакогнозия» и учебной практики по фармакогнозии для студентов, обучающихся по специальности 33.05.01 «Фармация» (ВО); дисциплины «Фармакогнозия» и производственной практики по фармакогнозии для ординаторов, обучающихся по специальности 33.08.03 «Фармацевтическая химия и фармакогнозия», а также при реализации профессионального модуля ПМ.01 «Лекарствоведение» (МДК «Фармакогнозия») для студентов, обучающихся по специальности 33.02.01 «Фармация» (СПО). Предлагаемое внедрение используется также при проведении научно-исследовательских работ по стандартизации и оценке качества ЛРС (акт внедрения от 10.09.2021). Полученные результаты сравнительного изучения анатомо-морфологических признаков исследуемого сырья используются для проведения учебных занятий и научно-исследовательских работ в области идентификации близкородственных видов на примере валерианы волжской и валерианы сомнительной, входящих в сборный цикл Валериана лекарственная (*Valeriana officinalis* L.s.I) семейства валериановых (*Valerianaceae* Batsh.), что используется в курсах «Ботаника»,

«Учебная практика по ботанике», «Лекарственные растения Центрального Черноземья», которые реализуются для обучающихся фармацевтического факультета ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет» (акт внедрения от 20.11.2021), а также при проведении занятий на курсах повышения квалификации провизоров и фармацевтов на фармацевтическом факультете Воронежского госуниверситета по тематике фармакогностического анализа и проблем идентификации близкородственных видов лекарственных растений, произрастающих на территории Воронежской области (акт внедрения от 26.12.2021).

### **Связь темы исследования с проблемным планом фармацевтических наук**

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ фармацевтического факультета ФГБОУ ВО «ВГУ» Минобрнауки России по теме: « Исследование закономерностей аналоговых превращений аминогликозидов в процессе создания новых противотуберкулезных, противоопухолевых и ранозаживляющих средств» (номер государственной регистрации 01201263909).

### **Публикации**

По материалам диссертации опубликовано 19 работ, в том числе научных статей в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета / Перечень ВАК при Минобрнауки России – 9; статей в изданиях, индексируемых в международной базе Scopus – 2; WoS -1; иные публикации по результатам исследования – 7.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 281 стр. машинописного текста, содержит 82 рисунка и 47 таблиц. Состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, четырех глав экспериментальных исследований, выводов и трех приложений, которые содержат акты внедрений, результаты валидации методик и данные *in silico* исследований (32 стр.). Список литературы включает 236 источников, в т.ч. 64 на иностранном языке.



## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Классификация растений рода *Valeriana* L

Естественная система рода *Valeriana* в настоящее время отсутствует ввиду недостаточной исследованности морфологии его отдельных представителей. Таксономически наиболее трудной является группа видов, близких к *V. officinalis*. В последнее время за основу принята система (Рисунок 1) В.И. Грубова (1958 г) с дополнениями и изменениями В.Н. Ворошилова (1959, 1975).

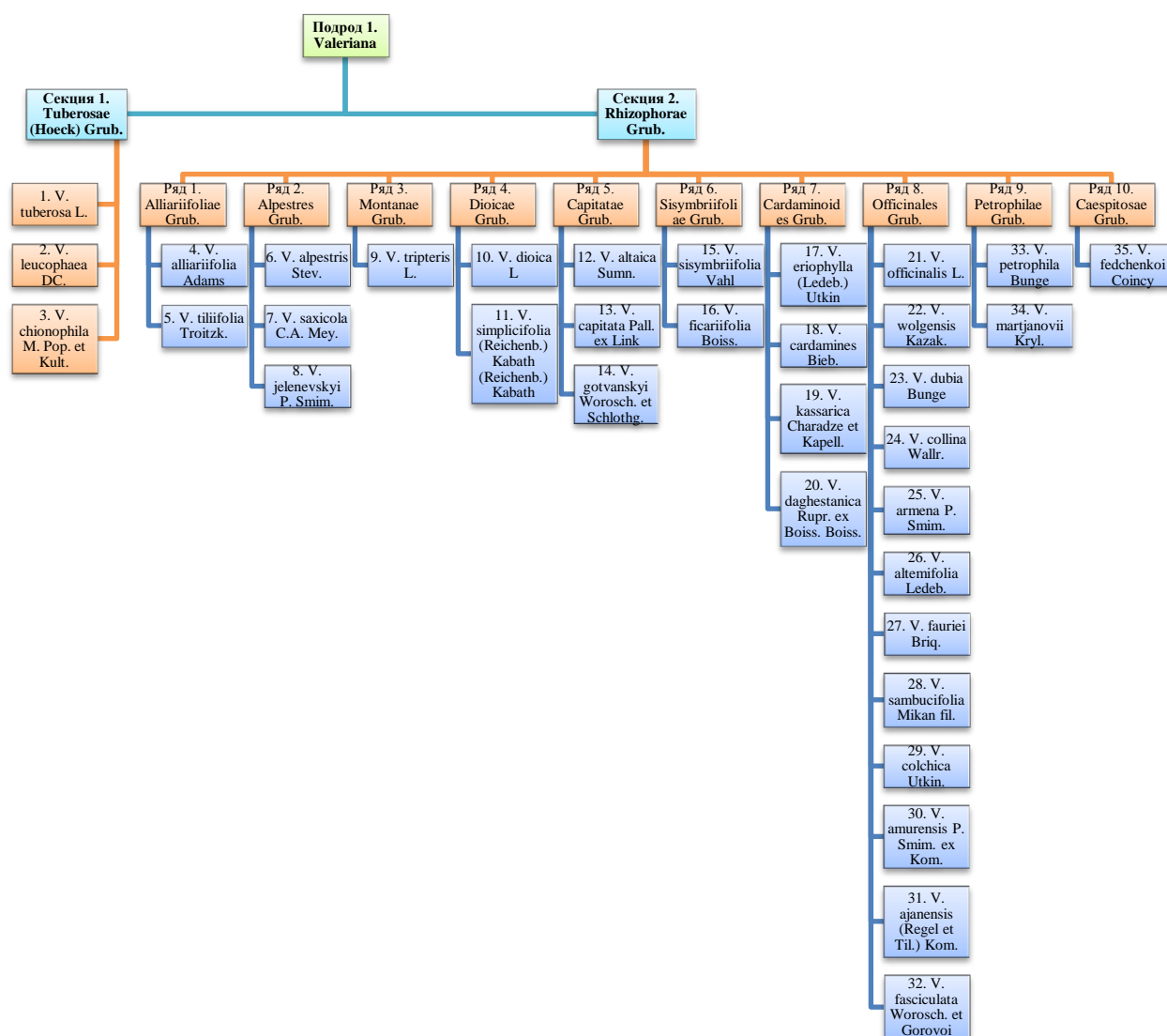


Рисунок 1 - Таксономия растений рода *Valeriana* L. по В.И. Грубову

Род валерианы (семейство *Valerianaceae*) во всем мире включает примерно 400 видов (Backlund and Moritz, 1998), широко распространенных в регионах с умеренным климатом (Европа, Азия, Северная Америка). Многие виды этого рода известны своим мягким успокаивающим действием, спазмолитическими и расслабляющими свойствами, и входят в число самых популярных лечебных трав для лечения беспокойства и бессонницы (Backlund, Moritz, 1998; Hattesoehl et al., 2008). Наиболее важное значение для медицины и фармации имеет ряд *Officinales* Grub., включающий согласно классификации по В.И. Грубову 12 близкородственных видов (Рисунок 1). *V. officinalis* L., обычный вид, широко используемый в Европе, является часто упоминаемым в фармакопеех, как и *V. edulis* Nutt. и *V. wallachii* D.C. Фармацевтические компании по всему миру используют *V. officinalis*, *V. wallachii* и *V. edulis* в качестве сырья для производства седативных фитопрепаратов в виде таблеток, капсул, настоек и чаев. Другие виды также используются в традиционной медицине во всем мире.

### 1.1.1. Валерианы России

Всестороннему изучению лекарственных растений посвящено большое количество научных исследований, проводимых учеными в разных странах мира. Несмотря на успехи органического синтеза лекарственных веществ, растительный мир остается одним из основных источников получения лекарственных средств. Это объясняется тем, что «химической лаборатории» природы, которая в течение многих тысячелетий совершенствовала свои оригинальные и пока неповторимые во многих случаях методы сложного синтеза, доступно создание не только уникальных по своему действию веществ, но и многочисленных их комбинаций, часто обеспечивающих совместный терапевтический эффект.

Одним из самых востребованных в европейской медицине растением является валериана лекарственная, относящаяся к семейству валериановых (*Valerianaceae* Batsh.). На территории СНГ из этого сборного цикла произрастают девять видов. Эти виды объединены названием «*Valeriana officinalis* L.s.l.» [23, 24,

32]. Разностороннее сравнительное исследование представителей которого позволяет подойти к решению спорных систематических вопросов, а также дает возможность оценить потенциал рода с хозяйственной точки зрения, выявить виды, перспективные для использования в медицинской практике.

Ареал близкородственных видов сборного цикла валерианы (Рисунок 2) занимает почти всю территорию СНГ, за исключением большей части Карелии и засушливых пустынь Средней Азии [4, 6].

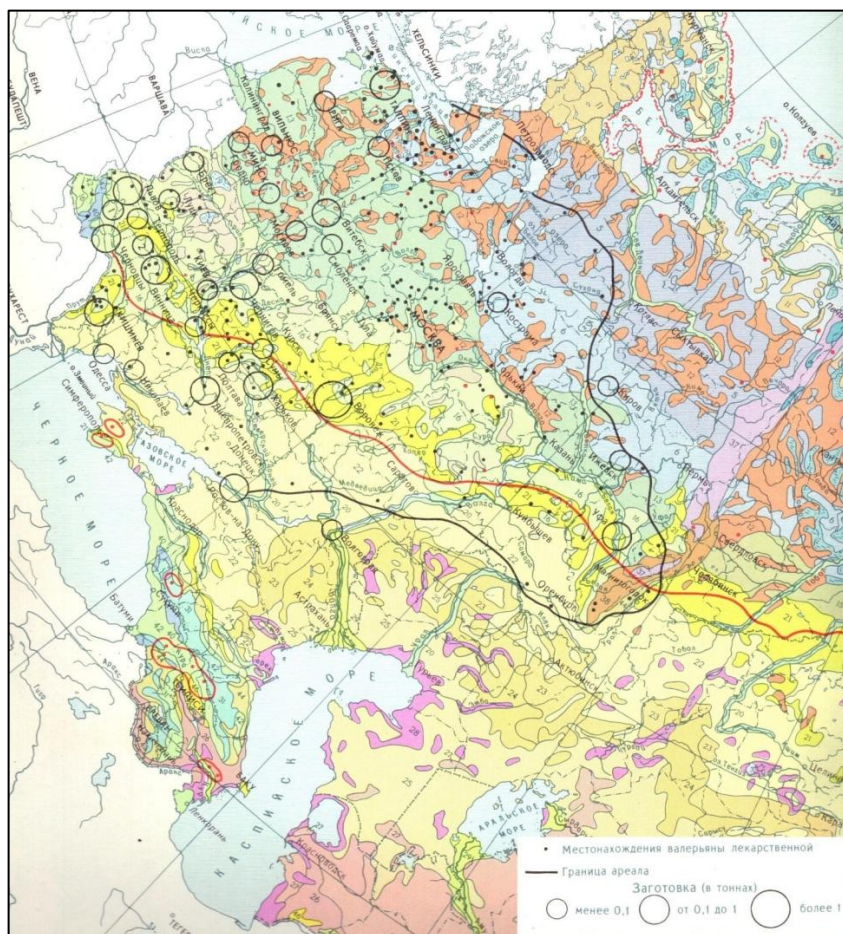


Рисунок 2 - Ареал распространения Валерианы лекарственной на территории Европейской части СНГ [4]

Для валерианы характерна высокая степень экологической пластичности. В горах поднимается до 1200 м на Урале и до 4000 м в Средней Азии, где встречается в субальпийском и альпийском поясе, произрастают в еловых и буковых лесах. Кавказские виды светолюбивы и не выносят сильного затенения, занимая преимущественно осветленные местообитания: окна и поляны на месте

сведенного леса, окраины дорог, опушки леса, где они разрастаются очень обильно. Подземные части этих видов представлены мощным, сильно ветвящимся каудексом и длинным толстым стержневым корнем, который проникает в почву на глубину 1 – 2 метра. Масса подземных органов значительно варьирует и прежде всего в зависимости от возраста растения. У отдельных экземпляров она достигает 1 кг. В равнинных условиях валериана произрастает на открытых местах и в тени. Чаще всего её можно встретить по берегам рек, на заливных лугах, болотах. Валериана предпочтает смешанные и широколиственные леса, степи, вырубки и склоны холмов. Чаще всего входит в состав растительных сообществ, самостоятельных зарослей не образует. [89, 190].

Валериана – полиморфный вид. Естественная система рода *Valeriana* в настоящее время отсутствует вследствие недостаточной изученности морфологии его представителей. Таксономически наиболее трудной является группа видов, близких к *Valeriana officinalis*.

В цикл (ряд) *Officinales* Grub. для нашей страны входят следующие виды: валериана лекарственная (*V.officinalis* L.), валериана волжская (*V.wolgensis* Kazak.), валериана сомнительная (*V. dubia* Bunge), валериана холмовая (*V. collina* Wallr.), валериана армянская (*V. armena* P. Smim.), валериана очереднолистная (*V. alternifolia* Ledeb.), валериана Фори (*V. fauriei* Briq.), валериана Гроссгейма (*V. Grossheimii* Worosch), валериана бузинолистная (*V. sambucifolia* Mikan fil.) [32, 41].

Экологические формы полиморфного вида имеют определенные географические ареалы.

### 1.1.2. Валерианы Воронежской области

Флора нашей страны располагает большим количеством видов лекарственных растений (ЛР) и значительными запасами лекарственного сырья [6]. Одним из важных районов заготовок ЛР издавна является Центральное Черноземье. Это объясняется, главным образом, своеобразием географической

зоны и почвенно - климатическими условиями [5, 46, 95]. Располагаясь в глубине Русской равнины, Воронежская область обладает умеренно континентальным климатом [50, 94]. Около 80% территории области покрыто черноземами [8, 47, 94]. Здесь возможно заготовить более 50 ЛР [51, 62].

В Воронежской области из сборного цикла лекарственной валерианы произрастают валериана волжская (*Valeriana wolgensis* Kazak.), валериана сомнительная (*Valeriana dudia* L.) и валериана лекарственная (*Valeriana officinalis* L.) [15]. Долгое время Воронежская область и Украина оставались ведущими районами по заготовке сырья лекарственной валерианы [23]. Для удовлетворения потребности в сырье заготавливается не только дикорастущая, но и культивируемая валериана. В Воронежской области валериана произрастает во всех районах [50, 89].

Из нелекарственных валериан в Воронежской области встречается валериана клубненосная (*Valeriana tuberosa* L.) [89]. Это многолетнее невысокое травянистое растение с одиночным стеблем. Отличается от лекарственных валериан наличием продолговато-яйцевидного корнеклубня. Произрастает в Богучарском районе Воронежской области. Этот вид на данный момент своего применения в медицине не нашел.

Биологические особенности видов лекарственной валерианы позволяют отнести ее к растениям, обладающим высокой экологической пластичностью. Лекарственные валерианы устойчивы к засухе, несмотря на широколистность и отсутствие всяких признаков ксероморфизма. Это кажется ещё более удивительным, если принять во внимание, что корневая система валерианы распространяется почти горизонтально в более поверхностных слоях почвы. Благодаря засухоустойчивости валерианы по сравнению с другими лекарственными культурами в наибольшей степени способна конкурировать с сорняками. Однако для получения высоких урожаев валериана должна разводиться в условиях довольно высокой (но не избыточной) влажности. Благодаря поверхностной корневой системе валериана мирится с высоким стоянием грунтовых вод.

В отношении условий освещения валериана также проявляет чрезвычайную пластичность. Даже в пределах одного и того же вида (например, *Valeriana dudia* L.) можно встретить особи, которые растут на открытых, хорошо освещенных местах и также особи, которые произрастают в условиях значительного затемнения. Это могут быть тенистые леса и глубокие овраги. Но затемнение сильно снижает урожайность валерианового корня. Отмечено, что валериана характеризуется зимостойкостью и не повреждается заморозками. При сравнительно низкой температуре происходит прорастание семян и весеннее отрастание растений [14, 178].

Из особенностей онтогенетического развития видов лекарственной валерианы следует отметить следующее. Прорастание семян происходит на 10-20 день после весенних посевов. Настоящие листья начинают формироваться на 14-18 день после появления всходов. Прикорневые листья образуют розетку, которая развивается в течение осени. Поздней осенью розетка отмирает. Виды лекарственной валерианы зимуют без зеленых листьев. Отрастание новых листовых розеток происходит в апреле. Листовые розетки полностью отмирают, когда растение начинает цвести.

Переход к цветению внешне определяется по началу весьма интенсивного роста цветоносного стебля, появляющегося за 2-3 недели перед цветением и оканчивающего свой рост в начале цветения растений. Валериана сомнительная относится к рано зацветающим видам (с конца мая до середины июня). Валериана волжская и валериана лекарственная к поздно зацветающим видам (с середины июня до начала июля) т.е. на удлиняющемся и самом длинном дне. Через 2-5 недель после начала цветения появляются первые зрелые плоды. Период созревания плодов как у рано цветущих, так и поздно цветущих видов примерно одинаковый. Цветоносные стебли полностью отмирают в конце августа – начале сентября. Для подготовки стеблей будущего года начинают отрастать новые розетки, иногда еще до полного отмирания старого стебля. Лекарственная валериана является перекрестно опыляемым растением. Несмотря на это, гибриды между разными видами валерианы встречаются не часто. Свойства видов

лекарственной валерианы, связанные с их эволюционной прогрессивностью, обуславливающей легкое окультуривание, давно были учтены на практике, что позволило сделать лекарственную валериану объектом широкой промышленной культуры [23, 24, 147].

## 1.2. Ботаническая характеристика изучаемых видов

Валериана волжская (*Valeriana wolgensis* Kazak.) и валериана сомнительная (*Valeriana dudia* L.) принадлежат к семейству валериановых (*Valerianaceae* Batsh.), роду Валериана (*Valeriana*), ряду (циклу) Валериана лекарственная (*Valeriana officinalis* L.s.l.).

### 1.2.1. Валериана волжская (*Valeriana wolgensis* Kazak.)

Растение кистекарневое, без столонов. Корни очень тонкие, толщиной 0,5-1,0 мм, в сухом состоянии светло-бурые. Столонов нет. При основании стеблей имеются ясно выраженные волокнистые остатки черешков отмерших листьев (Рисунок 3).



Рисунок 3 - Внешний вид валерианы волжской

Стебли мягкие, при сушке сплюсцивающиеся, 55 – 110 см в высоту. На нижней части стебля расположены рассеянные волоски. Они очень короткие (0,05 мм длиной), имеют коническую форму. В верхней части стебли голые, прямые. Стебли светло – зеленого цвета с красноватым оттенком. Толщина у основания стебля 4,5 – 8 мм. У основания стебля имеются 3-4 узла. Прикорневые листья чаще не сохраняются; они на длинных черешках, часто более или менее лировидные, до почти цельных. Нижние стеблевые листья тоже могут иметь лировидную форму.

Листья непарноперистые. Листовая пластинка содержит 6-8 пар грубозубчатых долей яйцевидно – овальной формы. Наиболее развитыми бывают листья второй снизу пары листьев, они на черешках до 6 см длиной. Длина листовой пластинки до 12 см, ширина до 8 см. Листовая пластинка рассечена на 3- 5 пар боковых листочков. Листочки продолговато - яйцевидной формы (20-45 мм длиной и 8-20 мм шириной). Конечные листочки иногда могут быть более крупные. Листочки листьев, которые расположены около соцветия имеют ланцетную форму (длина 34-46 мм, ширина 6-14 мм).

Край листочков зубчатый. Высота зубцов 1-2 мм. Зубцы конечной доли листа могут достигать 4 мм. Листья валерианы волжской тонкие, почти просвечивающиеся. Нижняя часть листовой пластинки не содержит волосков, а по краям могут быть мелкие, едва заметные простые волоски. Листочки часто расположены почти перпендикулярно к оси, обычно довольно расставленные, сверху более скученные.

Соцветие ветвистое, раскидистое, со многими длинными боковыми ветвями. Ножки соцветия темные.

Нижние прицветники перистые, до 15 мм длиной. Прицветнички ланцетные, 2,5-5 мм длиной, почти сплошь перепончатые, с узкой средней жилкой. Прицветнички почти голые или имеют длинные волоски. Венчики чаще белые или светло-лиловые, 4,5 – 5,5 мм длиной, отгиб 2 мм длиной.

Плод 2,5-3,3 мм длиной, хохолок имеет 8-12 лучей и узкую кайму. Хохолок на нижней стороне содержит мелкие (0,1-0,2 мм) волоски. На верхней



стороне хохолок без опушения. (Рисунок 4). Летучка грязновато-желтая ( $2n = 28$ ) [23, 32, 147].



Рисунок 4 - Валериана волжская: а - нижняя часть растения, б - средний стеблевой лист, в - верхняя часть растения, г - опушение нижней части стебля, д – плод [23]

### 1.2.2. Валериана сомнительная (*Valeriana dudia* L.)

Растение кистекорневое, с толстыми придаточными корнями (1,5-2,0 мм) толщиной, буро-серые (Рисунок 5). Могут редко развиваться столоны, оканчивающиеся во время цветения растения розетками листьев, или столоны очень укорочены, и тогда розетки оказываются придвинутыми вплотную к материнскому растению. Остатков черешков отмерших листьев у оснований стеблей нет. Стебли высотой 45-100 см, могут быть слегка восходящими. При основании стебли толщиной 4-5 мм, Стебли гладкие или имеют очень мелкие бороздки, довольно мягкие. Цвет стеблей светло - зеленый, часто с легким антоциановым оттенком в нижней части. Нижние междоузлия стебля имеют очень короткие (0,05-0,1 мм длиной) волоски.



Рисунок 5 - Внешний вид валерианы сомнительной

Листья розеток цельные и лировидные, с конечной долей крупнее боковых. Узлов 3-4. Листья первого узла часто сохраняются, прикорневые реже, последние цельные и лировидные, небольшие. Листья первого узла тройчатые или цельные. Конечная доля листа 45 мм длиной и 25 мм шириной. Листья непарноперистые или лировидно – перистые. Имеют от 3 до 12 пар листочков. Боковые доли цельнокрайние, имеют продолговатую или линейно – продолговатую форму.

Боковые доли крупных листьев могут достигать 27-29 мм длиной и 7-8 мм шириной. Конечная доля крупных листьев может быть до 50 мм длиной и до 20 мм шириной. Более мелкие листья имеют боковые доли около 24 мм длиной и 3,5 мм шириной. Конечные доли более мелких листьев достигают 34 мм длиной и 7 мм шириной. Более развитые листья имеют пластинки около 7 см длиной и 5 см шириной. Они имеют 2-4 пары, которые отстают от оси почти под прямым углом. Листья толстоватые, тускло-зеленые, снизу чуть светлее, голые, по краям едва заметно реснитчатые.

Соцветие ветвистое, с длинными боковыми ветвями. В начале цветения около 3 см шириной, 2 см высотой. Прицветники перистые. Прицветнички яйцевидные или ланцетовидные. Их длина 2,5-3,5 см. По краю имеют белую кайму. Прицветнички могут иметь слабое опушение.

Цветки (Рисунок 6) белые или розоватые, до 3,0-5,5 мм длиной. Плоды

бурые, 3,2-3,8 мм длиной. Хохолок имеет от 9 до 13 лучей. По краю хохолка имеется широкая кайма (0,25 – 0,35 мм). С верхней стороны хохолок без опушения. Нижняя сторона хохолка чаще голая или с редкими волосками. Волоски мелкие, длиной 0,2-0,3 мм ( $2n = 28$ ) [23, 147].



Рисунок 6 - Валериана сомнительная: а - растение, б - цветок, в – плод [23]

### 1.3. Культивирование и заготовка сырья

В настоящее время потребность фармацевтической промышленности в корневищах с корнями валерианы реализуется за счет импорта из стран Восточной Европы [111].

Валериана предпочитает увлажненные почвы. Растение устойчиво к засухе, но для хорошего роста необходим постоянный полив. Валериана не особенно требовательна к почвенным условиям, но для её культуры считаются лучшими легкие гумусированные с неглубоким залеганием грунтовых вод супеси и легкие суглинки.

Кормовые культуры или чистые пары являются оптимальными предшественниками для посевов валерианы. Почву пахут на глубину 25-28 см. Почву уплотняют и выравнивают, чтобы максимально сохранить влагу.

Перед посевом почву боронуют, чтобы сохранить влагу, уничтожить проростки сорняков и создать уплотненное ложе для семян. Семена валерианы сеют широкорядным способом овощными сеялками, оборудованными приспособлениями для высева мелкосемянных культур.

При посеве валерианы на чистом пару применяют послойную систему обработки поля, летом – на глубину 10 – 15 см, постепенно уменьшая до 5 – 8 см. Семена валерианыным способом овощными сеялками, оборудованными приспособлениями для высева мелкосемянных культур. Первую междурядную обработку проводят до появления всходов, ориентируясь по следу трактора, вторую – после появления всходов. Глубина рыхления почвы в междурядьях 4-6 см, ширина защитных зон с каждой стороны рядка 10 см.

При культивировании валерианы лекарственной можно использовать органические удобрения. Удобрения необходимо вносить при вспашке почвы. Чаще всего используют перепревший навоз в количестве 30 – 40 т/га. За посевами начинают ухаживать до появления всходов. Допустимо также вносить минеральные удобрения. Уход за плантациями второго года жизни начинают рано, осуществляют боронование, подкормку минеральными удобрениями, прополку.

При внесении в почву комплексного минерального удобрения отмечалось увеличение продуктивности подземных органов на 47,0%. Количественный анализ основных групп действующих веществ в корневищах с корнями валерианы установлено, что содержание валепотриатов увеличилось на 11,1%. Внесение удобрений также повлияло на количественное содержание флавоноидов и полифенольных окисляемых соединений в траве валерианы лекарственной. Их содержание увеличилось в среднем на 8%. Также было отмечено увеличение седативной активности лекарственных форм, которые были приготовлены из корневищ с корнями валерианы после обработки минеральным удобрением [111].

Белорусские исследователи А.Г. Ничипорук и Г.М. Милоста также изучили влияние микроудобрений на качество корней и корневищ валерианы лекарственной. В ходе исследования было установлено, что микроудобрения

оказывают значительное влияние на количество экстрактивных веществ, извлекаемых из подземных органов валерианы лекарственной. Этот показатель является важным при оценке качества заготовленного сырья. Было установлено, что применение микроудобрений в некорневую подкормку даёт наибольшую прибавку в содержании экстрактивных веществ.

Увеличение содержания экстрактивных веществ на 30,2% давало внесение в почву микроудобрений, содержащих бор. При внесении меди в средних дозах ( $\text{Cu}_{(0,1+0,1+0,1)}$ ) происходило значительное увеличение содержания экстрактивных веществ (30,2%). Микроэлементы внекорневой подкормки по эффективности влияния на повышение содержания экстрактивных веществ можно расположить в следующем ряду в порядке убывания  $\text{B} > \text{Cu} > \text{Zn}$ . При совместном внесении борных и медных микроудобрений на фоне органических удобрений наблюдается максимальное содержание экстрактивных веществ в корневищах с корнями валерианы лекарственной. При внесении цинка более интенсивно формируются подземные органы валерианы, чем листовая масса [100].

Во время стеблевания с растений удаляют цветоносы с помощью косилок. Это приводит к лучшему отрастанию розеточных листьев и к увеличению продуктивности корневищ с корнями валерианы. Уборку валерианы проводят на втором году вегетации. Наиболее интенсивный прирост корней происходит именно в первые осенние месяцы.

Корневища с корнями убирают валерианоуборочными комбайнами или переоборудованными картофелеуборочными машинами. Их моют не более 20 минут на линиях для мойки под большим напором воды. После мойки подвяливают сырьё два дня, при этом раскладывают слоем от трех до пяти сантиметров и обеспечивают активное вентилирование. Сушку осуществляют в искусственных сушилках. Температура должна быть не больше 35°C. Корневища с корнями валерианы можно сушить на воздухе в тени. Можно сушить под навесом при хорошем проветривании. Воздушно – сухое сырьё валерианы хранят 3 года. Срок хранения свежего сырья 3 дня [126, 142].

Траву лекарственных валериан заготавливают в период бутонизации и

цветения. Можно заготавливать перед выкапыванием корневищ с корнями. Траву скашивают, затем нарезают на части длиной до 20 см. Сушку травы можно осуществлять на воздухе, под навесом или в искусственных сушилках. Температура нагрева не больше 40 °С. Хранить воздушно – сухую траву валерианы можно 2 года.

Качество сырья регламентируется ТУ 64-4-44-83 с Изменением №1 от 10.04.88 г.

#### **1.4. Фитохимический состав сырья *Valeriana officinalis* L. и препаратов на его основе**

Валериана лекарственная (*Valeriana officinalis* L.), один из представителей подрода *Valeriana* ряда *Valeriana Officinales* секции *Rhizophorae* Grub. семейства валериановых (*Valerianaceae*) наверное одно из самых известных лекарственных растений, комплекс биологически активных веществ (БАВ) которого, по сведениям литературы [155,156], обладает доказанными седативными, анксиолитическими и кардиотропными свойствами. По данным Государственного реестра лекарственных средств (РЛС), из сырья валерианы получают следующие ЛРП (Таблица 1).

Большим спросом у населения пользуется многокомпонентный препарат безрецептурного отпуска «Корвалол», в состав которого входит химически синтезированный этиловый эфир  $\alpha$ -бромизовалериановой кислоты (этилбромизовалерианат) – один из действующих компонентов корневищ с корнями. Корневища с корнями данного растения и препараты на его основе включены не только в Европейскую, Российскую фармакопею и Фармакопею США, но и многие национальные фармакопеи: Австрии, Австралии, Бельгии, Великобритании, Германии, Италии, Франции, Канады и Швейцарии [34, 35, 99, 223, 224, 226, 227].

Таблица 1- ЛРП и БАД на основе сырья валерианы

Лекарственные препараты на основе ЛРС валерианы лекарственной						БАД
Водные	Сборы	Спиртосодержащие				
Настой	Успокоительные № 2 и 3; Седативный № 2; Желудочный № 3	Настойка		Густой экстракт		
		Капли	Комплексные препараты	Моно препараты	Поликомпонентные ЛРП	
		Ландышево-валериановые, Зеленина, зубные, камфорно-валериановые, капли Нестерова	«Беллавамен», «Броменвал», «Валокормид», «Валемидин», «Гастрогуттал», «Кардиовален», «Валеодикрамен», «Валеократал», микстура Ландау, Шарко (вторая пропись), Трапезникова, Гращенко (первая и вторая пропись), Краснушкина (первая пропись), «Энерготоник допельгерц»	Таблетки, покрытые оболочкой	«Саносон Лек», «Персен», «Персен форте», «Персен Ночь», «Ново-Пассит», «Циркулин», «Саносон», «Нервофлюкс»	«Ночной сон», «Валоседан», «Хороший сон»

Валериану лекарственную считают хорошо изученным растением. Корневища с корнями содержат более 150 БАВ, многие из которых отвечают за проявление физиологической активности (Рисунок 7) [15].

В различных литературных источниках [32,150,152] указывается, что седативное и спазмолитическое действие сырья валерианы на организм обусловлено наличием в нем эфирного масла. В эфирном масле из высушенного сырья содержится 128 компонентов, тогда как из свежих корневищ с корнями только 96, из которых 58 БАВ являются общими.



Рисунок 7- Химический состав сырья валерианы лекарственной

С применением исчерпывающей жидкость-жидкостной экстракции хлороформом с последующей очисткой сжиженным оксидом углерода (IV) получена липофильная фракция корневищ с корнями, в которой идентифицировано более 70 соединений (Рисунок 8). Установлены в составе доминирующие (органические кислоты и их производные; сесквитерпены и монотерпены), сопутствующие (производные высших жирных кислот, предельные углеводороды) и минорные (азотсодержащие вещества, спирты и альдегид изованилин) фракции соединений [33, 78, 80, 152, 199].

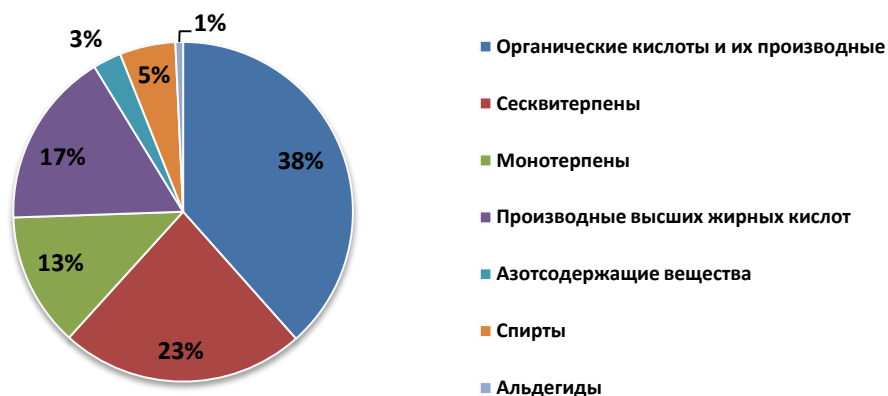


Рисунок 8 - Состав липофильной фракции сырья валерианы



### **1.4.1. Биологически активные вещества лекарственных валериан**

Биологически активные соединения лекарственной валерианы многочисленны и представлены веществами различной химической структуры. Исследователями было обнаружено более 400 различных химических соединений [111,73,78,79,152].

Изучение химического состава представителей сборного цикла *Valeriana officinalis* L.s.l вносит вклад в решение сложных вопросов таксономии представителей этого ряда. Большое число работ по химическому изучению видов валерианы проводятся с целью выяснения возможностей применения химических признаков для систематики *p. Valeriana*, а также для сопоставления ценности различных видов в плане применения их в медицинской практике.

#### **1.4.1.1. Биологически активные вещества первичного обмена**

В подземных органах валерианы лекарственной выявлено содержание свободных и связанных сахаров. В свободном состоянии обнаружены моносахариды фруктоза (0,9%) и глюкоза (1,5%), также олигосахариды первого порядка, такие как дисахарид сахароза (5%) и трисахарид раффиноза (2,5%). В составе гликозидов выявлены L-рамноза, L-фруктоза, L-ксилоза и рутиноза [28,124,139]. При анализе содержания свободных сахаров методом прямофазной ВЭЖХ в корневищах и корнях по отдельности установлено, что моносахариды (фруктоза и глюкоза) интенсивнее всего накапливаются в корнях. Также отмечено неравномерное накопление сахарозы в корнях и корневищах валерианы. Сахароза в большей степени накапливается в корневищах. При определении связанных сахаров методом капиллярного электрофореза установлено доминирование гексоз в корнях, а пентоз – в корневищах [138, 153].

При изучении содержания полисахаридов в подземных органах, было установлено, что в начальной фазе вегетации содержание крахмала минимально и составляет 9%. По мере роста и развития растения содержание крахмала

увеличивается и достигает 30% осенью [111].

С точки зрения эволюционной биохимии, изучение состава аминокислот близкородственных видов представляет интерес, т.к. и заменимые, и незаменимые аминокислоты имеют определенную хемотаксономическую значимость. Из литературных источников [169] известно, что некоторые ЛРП на основе валерианы пытаются стандартизировать по содержанию суммы данных БАВ. При анализе аминокислотного состава официального сырья и травы лекарственных валериан установлено наличие 20 аминокислот, из них 12 заменимых и 8 незаменимых аминокислот. Процентное содержание заменимых аминокислот выше, чем незаменимых. В подземных органах содержится меньше аминокислот, чем в листьях и составляет в среднем от 2 до 5% [44, 105, 170].

П.Ю. Шкроботько с соавторами было проведено исследование качественного и количественного состава аминокислот листьев трех видов валериан (Рисунок 9): валерианы клубненосной (*V. tuberosa* L.), валерианы холмовой (*V. collina* Wallr.) и валерианы лекарственной (*V. officinalis* L.), а также подземных органов 9 видов валериан из разных секций и подсекций: валерианы чесночникомлистной (*V. alliariifolia* Adams), валерианы сердечниковой (*V. cardamines* Bieb.), валерианы холмовой (*V. collina* Wallr.), валерианы Фори (*V. faurei* Briq.), валерианы трёхкрылой (*V. tripteris* L.), валерианы бузинолистной (*V. sambucifolia* Mikan fil.), валерианы Федченко (*V. fedschenko* Coincy), валерианы клубненосной (*Valeriana tuberosa* L.), валерианы лекарственной (*V. officinalis* L.). В листьях и подземных органах анализируемых валериан обнаружено 20 аминокислот, из них 12 заменимых и 8 незаменимых аминокислот.

Общая сумма (мг в 100 мг) аминокислот в листьях валерианы клубненосной составляет 12,86 (из них незаменимых кислот – 6,88), валерианы холмовой – 16,78 (из них незаменимых – 5,61), а в листьях валерианы лекарственной – 15,00 (из них незаменимых – 5,79).

По мере убывания общего содержания (мг в 100 мг) аминокислот в подземных органах анализируемые валерианы можно расположить в следующем ряду: в *Valeriana tuberosa* L. (5,24); *V. faurei* Briq. (4,45); *V. collina* Wallr. (3,69); *V.*

*tripteris* L. (3,62); *V. fedschenkoii* Coincy (3,52); *V. officinalis* L. (3,13); *V. cardamines* Bieb. (2,88); *V. alliariifolia* Adams. (1,95); *V. sambucifolia* Mikan fil.

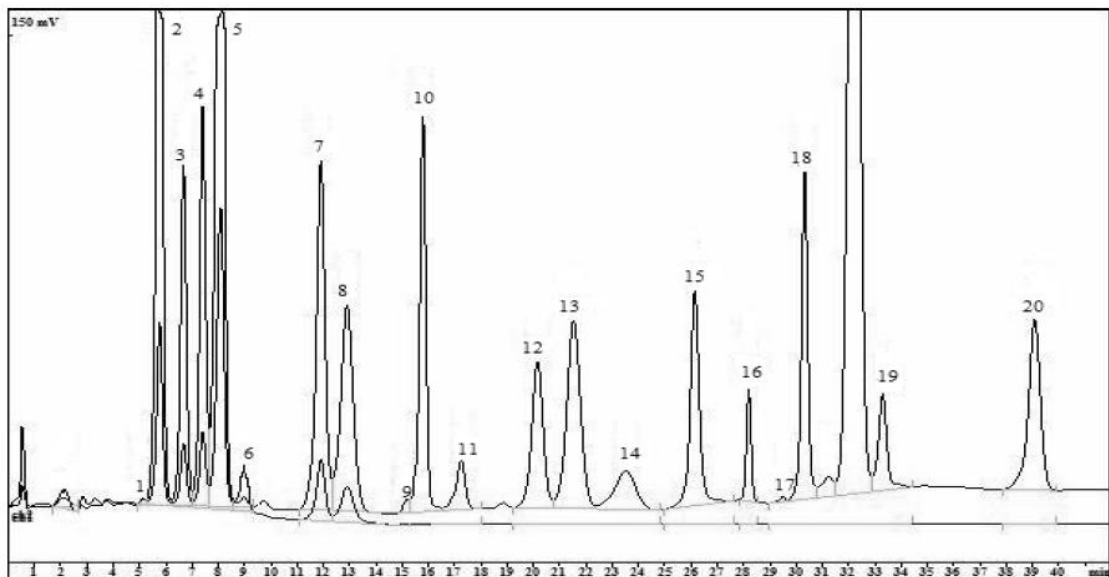


Рисунок 9 - Хроматограмма аминокислот листьев *V. collina* Wallr.

Номера пиков на хроматограмме: 1 – оксипролин, 2 – аспарагиновая кислота, 3 – треонин, 4 – серин, 5 – глутаминовая кислота, 6 – пролин, 7 – глицин, 8 – аланин, 9 – цистеин, 10 – валин, 11 – метионин, 12 – изолейцин, 13 – лейцин, 14 – тирозин, 15 – фенилаланин, 16 – оксилизин, 17 – орнитин, 18 – лизин, 19 – гистидин, 20 – аргинин

В корневищах с корнями валерианы лекарственной отмечен максимум цистеина, глутаминовой кислоты и аргинина. В подземных органах валерианы Федченко отмечен максимум оксипролина. Максимум аргинина и орнитина – в подземных органах валерианы трехкрылой. В корневищах с корнями валерианы холмовой преобладающими аминокислотами являются лизин и оксилизин [42, 150, 169].

Анализ состава аминокислот валерины Гроссгейма (*Valeriana grossheimii* Worosch) флоры Украины показал наличие 17 соединений, 7 из которых относятся к незаменимым. Наибольшее содержание отмечено для надземной части растения.

Из корневищ с корнями валерианы выделены также свободные и связанные органические кислоты, в том числе: муравьиная, уксусная, масляная, яблочная,

кофейная, хлорогеновая, пальмитиновая, линолевая, линоленовая, олеиновая, стеариновая [43, 234]. Содержание суммы свободных титруемых органических кислот по разным данным в корнях валерианы лекарственной составляет около 4% [145].

Разнообразны многочисленные производные валериановой кислоты. Кроме кислот алифатического ряда содержатся и ароматические вещества [111, 88, 119].

По данным авторов [119], обнаружение изовалериановой кислоты является достоверным признаком присутствия в. лекарственной в различных ЛФ, в т.ч. в сложных растительных сборах (Рисунок 10), определяемой методом ГЖХ.

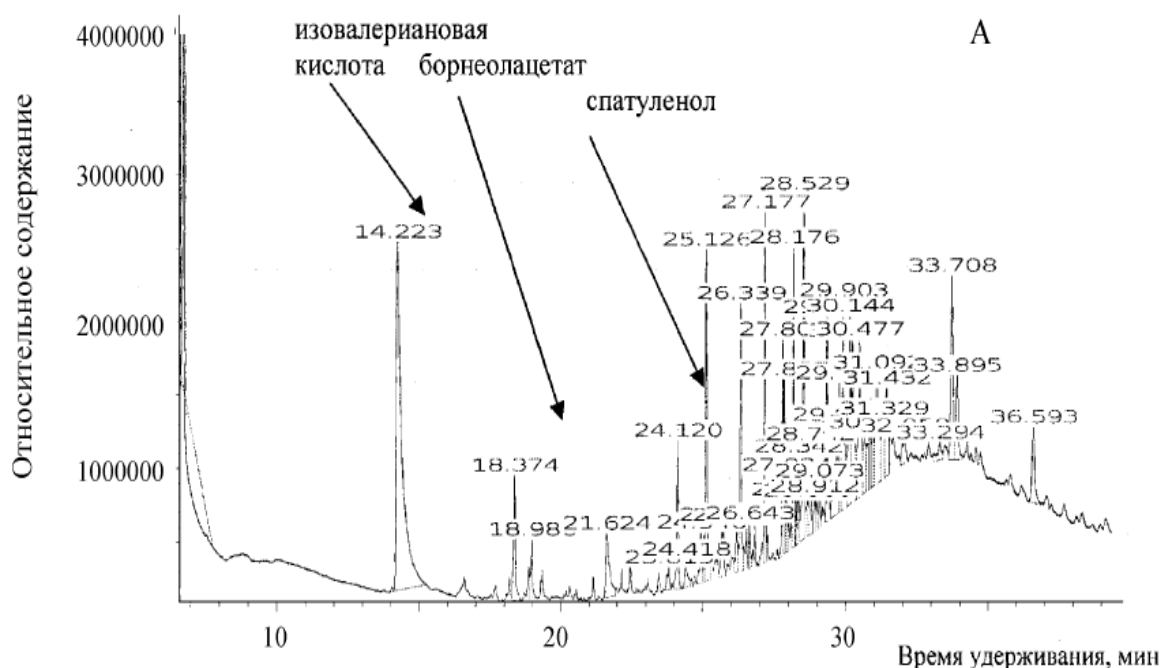


Рисунок 10 - Пример ВЭЖХ-хроматограммы экстракта сырья *V. officinalis* L.

Как показывают эти же ученые [117, 119, 132], маркерными следует считать для сырья не столько отдельную кислоту, а набор карбоновых кислот (Рисунок 11). Такое сочетание кислот встречается достаточно редко и может быть использовано для целей идентификации этого ЛРС.

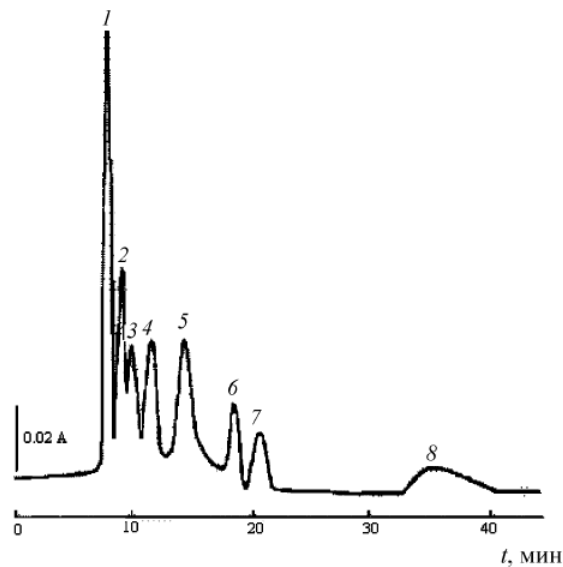


Рисунок 11- Пример ВЭЖХ-хроматограммы кислот отвара *V. officinalis* L. (1 – кислоты неорганические; 2 – щавелевая; 3 – лимонная; 4 - яблочная; 5 – аскорбиновая; 6 – fumarовая; 7 – уксусная; 8 – валериановая)

В настоящее время корневища с корнями фармакопейной валерианы стандартизируются в соответствии с ФС.2.5.0009.15 «Валерианы лекарственной корневища с корнями» ГФ РФ 14 (раздел «Определение основных групп БАВ») методом ТСХ по наличию зон адсорбции ацетоксибалереновой и валереновой кислот между зонами флуоресцеина (снизу) и судана красного G (сверху). Сравнение со стандартными образцами обнаруживаемых кислот не предусмотрено [36, 93].

Седативное действие валерианы обусловлено наличием в ней комплекса БАВ. Значительную роль в оказании терапевтического эффекта занимают сесквитерпеновые кислоты: валереновая кислота, валереноловая кислота, ацетиовалереновая кислота и др. Помимо угнетающего действия на центральную нервную систему валереновая кислота обладает также выраженным спазмолитическим эффектом [127, 149].

Комаровой Л. Е. с соавторами была предложена методика выделения и идентификации валереновой кислоты из корневищ с корнями валерианы лекарственной. Суммарную фракцию кислот из хлороформного экстракта извлекали растворами карбоната и бикарбоната натрия. Отмечено, что

применение более основных растворов затрудняло дальнейшую обработку экстракта. Фракцию валереновой кислоты получали методом колоночной хроматографии из суммарной фракции слабых кислот. Авторы предлагают использовать данный метод для получения стандартного образца валереновой кислоты [25].

Сесквитерпеновые кислоты считаются маркерными веществами для различных видов валерианы сложного сборного цикла *Officinales*, что нашло свое отражение в подходах к стандартизации данного ЛРС и ЛРП в современных нормативных документах (НД) [2, 127]. Качественный и количественный анализ этих БАВ проводят методом ВЭЖХ (Рисунок 12) по сумме в пересчете на кислоту валереновую [136, 167, 168].

В виду того, что большая часть сесквитерпеновых кислот в ЛРС валерианы присутствует в форме эфиров, то допускается в некоторых НД на ЛРП проводить стандартизацию по сумме сложных эфиров в пересчете на этиловый эфир валереновой кислоты [157]. Метод фотоэлектроколориметрии (ФЭК) основан на гидроксамовой пробе, прост в исполнении и доступен в рутинном анализе, т.к. не требует дорогостоящих стандартных образцов (СО) и оборудования.

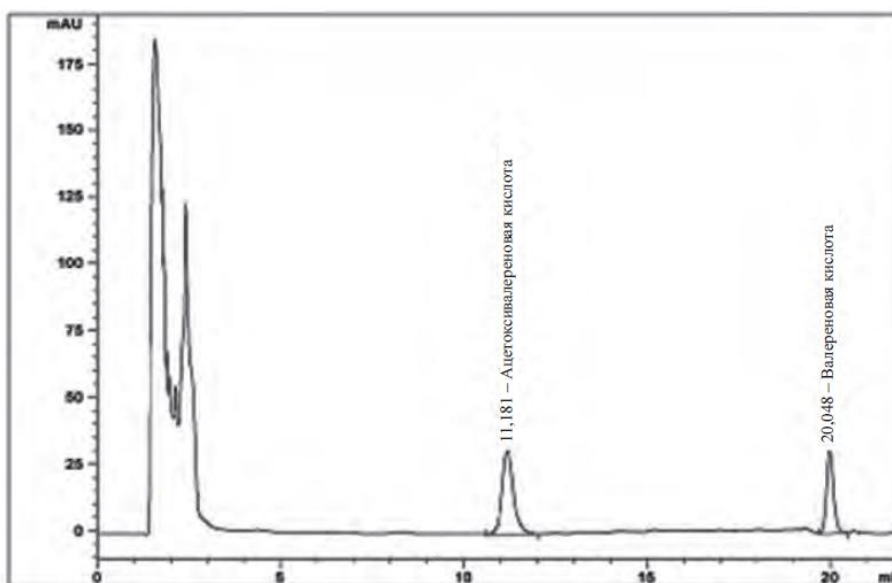


Рисунок 12 - Хроматограмма образца таблеток экстракта валерианы сухого

При изучении качественного состава липофильных веществ травы валерианы были обнаружены жирные кислоты, каротиноиды, хлорофиллы, стерины, витамины жирорастворимого ряда. В исследованиях Талашовой С.В. было определено содержание хлорофиллов в траве валерианы лекарственной. В зависимости от места сбора этот показатель колеблется в пределах от  $553 \pm 0,12$  мг/% до  $5840,05$  мг/%. Содержание каротиноидов составляет от  $80,8 \pm 0,18$  мг/% до  $81,5 \pm 0,19$  мг/%, а токоферолов – от  $67,8 \pm 0,22$  мг/% до  $95,5 \pm 0,21$  мг/% [140].

При анализе жирных кислот липофильного экстракта травы валерианы были идентифицированы 15 кислот. Среди них преобладали: олеиновая, линолевая, пальмитиновая, изолиноленовая и стеариновая кислоты.

Внимание исследователей привлекают не только БАВ органической природы корневищ с корнями и травы валерианы лекарственной, но и особенности накопления элементов различными видами из сборного цикла валерианы лекарственной, роль которых многообразна. Микроэлементы составляют единый физиологически активный комплекс с действующими веществами ЛР, оказывают существенное влияние на их биосинтез [91,118].

Изучение минерального состава исходного сырья, знание содержания отдельных микроэлементов, переходящих в ту или иную ЛФ, весьма существенно при культивировании ЛР с применением микроудобрений, способствующих возможному увеличению доли микроэлементов, усиливающих терапевтический эффект.

Подкормка валерианы 0,01% раствором йодистого калия способствует увеличению продуктивности сырья и эфирных масел. В ЛФ из обогащенного йодом сырья наблюдается наиболее выраженный седативный эффект при малой токсичности. Наоборот, соли марганца вызывают ослабление седативного эффекта и некоторое увеличение токсичности препаратов валерианы [100].

В результате рентгенофлуоресцентного анализа элементного состава надземных и подземных органов валерианы лекарственной, собранной в различных регионах России и Украины обнаружены 5 макро- (К, Са, S, Р, Се) и 22

микроэлемента (Ba, Br, V, Fe, I, Cd, Co, Mn, Cu, Mo, As, Ni, Rb, Sn, Pb, Se, Sr, Sb, Ti, Cr, Zn, Zr) [57, 92, 170].

При элементном анализе сборного цикла *Valeriana officinalis* L.s.l. установлено, что дальневосточные виды отмечались более высоким их содержанием. При определении минеральных компонентов вегетативных и генеративных органов валерианы лекарственной установлено, что максимумы большинства элементов преобладали в корневищах с корнями, а в надземной части растения – в чашелистиках цветка. [90, 141].

В результате определения коэффициента биологического поглощения - показателя интенсивности накопления макро- и микроэлементов, установлено, что официальное сырьё валерианы является концентратором кадмия, кальция, молибдена, меди, рубидия, калия и йода. Следовательно, заготовка подземных органов должна проводиться на экологически благоприятных территориях с точки зрения содержания токсичного нормируемого тяжелого металла – кадмия [74].

Оценка токсикологического риска элементных примесей в лекарственных средствах растительного происхождения является серьезной проблемой для фармацевтической промышленности [174, 217, 218, 219]. В Европе очень популярны традиционные препараты с корнем валерианы. Эти аспекты побудили польских ученых провести определение содержания Cu, Mn и Zn в качестве элементных примесей в настояках валерианы лекарственной, реализуемых в польских аптеках. Исследуемые элементы определяли методом пламенной атомно-абсорбционной спектрометрии. Полученные результаты показывают, что все исследованные образцы настоек корневищ с корнями валерианы содержат Cu (0,16–0,23 мг/л), Mn (0,11–0,76 мг/л) и Zn (0,22–0,48 мг/л) на очень низком уровне [218, 219].

Учеными Донецкого ботанического сада Украины при проведении оценки элементного состава надземной и подземной частей растения *V. officinalis* также выявили, что надземная часть способна синтезировать Ca, Zn, Cu, Cr, Sr, Bi, Ba, Pb, Zr, Rb, Br, Se, As, Ni, V, La, Cs, Nb [30, 171].



#### 1.4.1.2. Биологически активные вещества вторичного обмена

При изучении качественного состава ряда веществ вторичного обмена заготовленной в разных географических зонах травы валерианы с использованием адсорбционной хроматографии на полиамидном сорбенте, силикагеле, оксиде алюминия выделено в индивидуальном состоянии 21 соединение. На основании физико – химических исследований в УФ-, ИК-областях, ПМР-спектров и ВЭЖХ они идентифицированы как органические кислоты (оксибензойная, протокатехиновая, кофейная, п-кумаровая, феруловая, изоферуловая, хлорогеновая, неохлорогеновая, 3,5-дикофеилхиновая, 2,4-дикофеилхиновая и синаповая кислоты); кумарины (скополетин, умбеллиферон); флавоноиды (кемпферол, кверцетин, апегенин, лютеолин, акацетин, рутин) и стерины –  $\beta$ -ситостерин [140].

Одной из групп химических соединений, выявленных еще в конце XIX столетия в подземных органах валерианы лекарственной являются алкалоиды. В подземных органах валерианы лекарственной было обнаружено 2 алкалоида: хатинин и валерин. Впоследствии эти данные многократно подтверждались [158]. Оба алкалоида весьма неустойчивы и разрушаются при нагревании в воде или под действием кислот и щелочей. В настоящее время в подземных органах валерианы лекарственной методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) обнаружено до 12 алкалоидов, среди которых одним из основных является актинидин [176].

Установлено, что в корнях валерианы, выращенной на полях ВИЛАР, содержание хатинина составляет 0,008%, валерина - 0,053% [32].

Биосинтетическими экспериментами с применением радиоактивных меток установлено, что предшественниками алкалоидов валерианы являются иридоиды, которые представляют собой производные гетероциклического монотерпенового пивацеталя, известного под названием иридоидаля, который в свою очередь, получается из щавелевой кислоты. Высказывались предположения об участии алкалоидов в терапевтическом действии валерианы, однако в настоящее время показано, что они к седативным свойствам валерианы

отношения не имеют [177].

В корневищах с корнями валерианы лекарственной обнаружены гидроксикоричные и оксибензойные кислоты [79, 102, 111, 234, 235]. Более изучен состав фенольных соединений травы, по сравнению с подземными органами. Х. Греггер и Д. Эрнест [32] первые провели исследования фенольных соединений представителей семейства *Valerianaceae*. Изучением фенольных соединений надземных и подземных органов валерианы занимался Н.С. Фурса с соавторами [45, 83, 128, 129, 154]. Был проведен целый ряд исследований состава флавоноидов видов рода валериана из разных районов европейской и азиатской частей бывшего СССР. Изучены флавоноиды-агликоны в листьях и соцветиях 35 образцов 13 кавказских видов валериан. При этом установлено, что данные о составе флавоноидов могут быть использованы для таксономии семейства. У видов рода валериана идентифицированы следующие агликоны: кверцетин, кемпферол, лютеолин, диосметин, акацетин и апигенин. С помощью метода хроматографии на бумаге в надземных органах видов выявлено 23 флавоноида и 12 фенолкарбоновых кислот. Флавоноидные гликозиды валерианы представлены производными кемпферола, кверцетина, апигенина, лютеолина, диосметина и акацетина, а фенолкарбоновые кислоты – преимущественно производными кофейной кислоты [29, 86, 128, 236].

Обнаружено, что в соцветиях *V. tuberosa* содержится наибольшее среди всех исследованных видов число флавоноидных гликозидов. Кроме того, в них обнаружены в минорных количествах флавоноидные гликозиды, не выявленные в образцах других таксонов. При изучении *V. sisymbriifolia* в надземных органах (особенно репродуктивных) обнаружено значительное количество кверцетина, лютеолина и апигенина. По содержанию этих соединений – это один из наиболее богатых кавказских видов. В наборе фенолкарбоновых кислот специфических для этого вида особенностей выявлено не было [29].

В репродуктивных органах *V. eriophylla* этого вида отмечено 18 флавоноидных гликозидов. Для вегетативных и репродуктивных органов *V. eriophyllae* характерно преобладание гликозидов лютеолина и значительное

содержание гликозидов диосменина и апигенина. Соцветия *V. cardamines* – один из самых богатых среди изученных образцов по содержанию гликозидов лютеолина.

Также отмечено, что по набору и содержанию флавоноидных соединений в вегетативных и репродуктивных органах чрезвычайно близки *V.grossheimii* и *V.wolgensis* [32].

При этом, следует отметить, что в надземных органах валериан побегоносной и Гроссгейма обнаружено 17 флавоноидов, являющихся, в основном, производными акацетина, апигенина, лютеолина, диосметина и кверцетина.

Результаты изучения качественного состава фенольных соединений вегетативных и репродуктивных органов показывают, что репродуктивные органы характеризуются более разнообразным составом и более высоким содержанием отдельных компонентов. В результате сравнительного изучения состава фенольных соединений надземных органов выявлено более 30 веществ, из них 12 фенолкарбоновых кислот и более 20 флавоноидных гликозидов, исследования продуктов кислотного гидролиза которых позволило констатировать, что они представлены преимущественно производными кофейной кислоты, акацетина, лютеолина, диосметина, апигенина и кверцетина. При изменении условий произрастания основные химические признаки, присущие каждому из исследуемых видов валерианы, сохраняются. Внутривидовые различия касаются только количественного состава отдельных веществ [29, 86, 128]. Состав и содержание фенолкарбоновых кислот и флавоноидов имеет важное значение для диагностики видов.

Корниевской В.Г. было проведено сравнительное исследование накопления БАВ и элементов в валериане побегоносной (*Valeriana stolonifera* Czern.) и валериане высокой (*Valeriana exaltata* Mikan ex Phol) в течение суток. В результате исследования было установлено, что максимальное содержание гидроксикоричных кислот в траве исследуемых видов валериан приходится на 10

-12 часов утра, а минимальное на 20 – 23 часа. Наибольшая концентрация флавоноидов обнаружена в ранние утренние часы [196, 234].

Одной из важных групп биологически активных веществ, которые вносят вклад в седативный эффект корневищ с корнями валерианы лекарственной являются валепотриаты. Впервые их выделил П. Тисс в 1966 году из корневищ с корнями индийской валерианы (*Valeriana Wallichii D.*). В 1967 году эти соединения были обнаружены Е. Маннетштеттером с соавторами в подземных органах средиземноморского вида другого рода семейства валериановых - кентрантуса красного (*Centranthys ruber L.*), седативное действие которого совпадало с таковым у валерианы лекарственной [206].

Вначале исследования были направлены на поиски эфирного масла, за счет которого долгое время объясняли седативное действие валерианы. Но эфирное масло не было обнаружено ни в свежем, ни в высушенном сырье кентрантуса. В то же время экстракты из свежего корня проявляли более высокую фармакологическую активность, чем из сухого. В результате исследований было установлено, что в сырье кентрантуса содержатся вещества, которые образуют с галогеноводородными кислотами цветные соединения. Эта реакция получила название «галуцохромной», а найденные вещества были названы «галуцохромами», они довольно быстро разрушались под действием света как в изолированном виде, так и в сырье [206].

Дальнейшие исследования показали, что название, данное новым веществам Е. Маннетштеттером с соавторами, не вполне отражает их свойства, некоторые вещества, близкие к галуцохромам, не дают цветных реакций с галогеноводородными кислотами [192, 232, 231]. Поэтому позже, согласно своему химическому строению, они получили название валепотриатов. Эти соединения разрушаются под действием кислорода воздуха, температуры, света. Содержание валепотриатов уменьшается при получении эфирного масла из сырья. Поэтому долгое время эти вещества не были обнаружены. Вскоре после открытия этих веществ были выявлены ярко выраженные седативные и спазмолитические свойства [221,231].

Валепотриаты представляют собой сложные эфиры изовалериановой,  $\beta$ -ацетоксиизовалериановой, 3-оксиизовалериановой, изокапроновой, изовалероксиизовалериановой и уксусной кислот и тритерпеновых третичных спиртов, подобных полигидроксициклопента-С-пирану [11,173].

Эти соединения имеют пять гидроксильных групп, при этом часто два гидроксила при  $C_8$  образуют циклический простой эфир (эпоксид), а другие, как правило, этерифицируются остатками перечисленных выше кислот, что приводит в зависимости от места их расположения в молекуле к появлению различных соединений [143, 96].

Присутствие у валепотриатов трех сложно-эфирных групп, расположенных непосредственно близко от оксидных кислородов и двойных связей, определяет нестабильность их молекул. В зависимости от особенностей химической структуры они подразделяются на 4 группы: типа валтрата, дигидровалтрата, гидрированные формы валепотриатов и валтратгидрины.

Продуктами распада валепотриатов являются балдринал, гомобалдринал, деацилбалдринал, изовальтрал [32].

Масштабные исследования валепотриатов видов *Valeriana* флоры СНГ принадлежит А. А. Коноваловой [78, 79], Н.С. Фурсе и С.Д. Тржецинскому с соавторами [143]. При сравнительной оценке образцов корневищ с корнями валерианы лекарственной разного географического происхождения обнаружено, что колебания содержания суммы валепотриатов составляло от 1,07% до 3,3% [10]. По данным ТСХ, их качественный состав в многочисленных образцах идентичен и представлен, в основном, валтратом и изовалтратом (50-90%), IVHD-валтратом (изовалероксигидроксициклопента-С-пираном) (10-20%), дигидровалтратом (1-5%), ацевалтратом (1-3%) [10, 17, 21].

Проведенный Тржецинским С.Д. анализ подземных органов трех видов валериан показал, что по содержанию валепотриатов они не являются равноценными. Наибольшее содержание этих соединений обнаружено в корневищах с корнями валерианы возвышенной – 1,16%, меньше у валерианы блестящей – 0,44%, самый низкий у валерианы побегоносной – 0,25%.

Исследование других видов валериан, произрастающих в различных регионах страны и также разрешенных к использованию в медицине, позволило установить, что содержание валепотриатов в них тоже неодинаково (Рисунок 13).

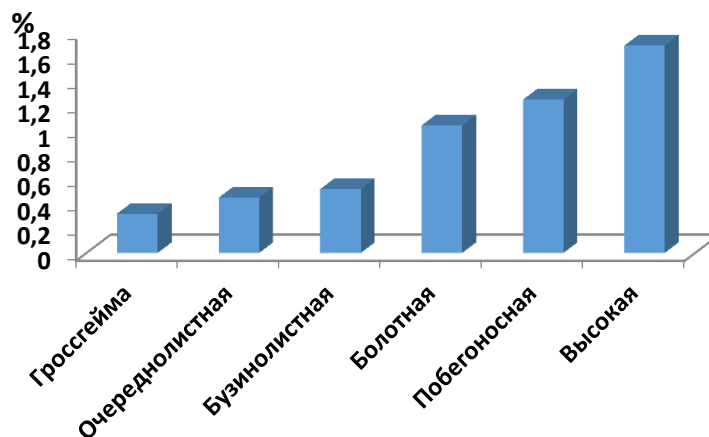


Рисунок 13 - Содержание валепотриатов в различных видах валериан

Такое различие в содержании основной группы действующих БАВ в сырье изученных официальных видов валериан не может не отразиться на терапевтической ценности препаратов, полученных из них.

При изучении валепотриатов в видах, произрастающих на территории Украины [32, 152], установлено, что их содержание также варьирует от 0,28 до 1,56%.

Валепотриаты локализируются преимущественно в корневищах с корнями. При гистологическом изучении поперечных срезов корней обнаружено, что наиболее ценными по содержанию валепотриатов и эфирного масла являются ткани, расположенные снаружи органа, что следует учитывать при заготовке и обработке сырья. Вероятно, их содержание зависит от величины поверхности корня, а не от его массы. Исходя из этого, можно сделать вывод, что селекцию лекарственной валерианы предпочтительней вести в направлении получения сортов с большим количеством тонких корней [143].

Накопление валепотриатов подземными органами приходится на конец первого года жизни растения и на ранних стадиях развития второго года. При

изучении динамики накопления валепотриатов в различные фазы вегетации выявлено, что их максимум приходится на начало вегетации. Их содержание постепенно снижается до конца вегетации, а в период весеннего покоя оно возрастает. Возможно, они накапливаются в подземных органах в качестве запасных вещества, необходимые для последующей вегетации [17, 149].

Выявление валепотриатов проводят методом ТСХ в растворах цветными качественными реакциями. Специфической реакцией для валепотриатов является реакция с соляной кислотой, с которой они образуют окрашенные соединения. В зависимости от хромогенных свойств валепотриаты делят на две группы: к первой относятся соединения с конъюгированными двойными связями, ко второй - неконъюгированные диены и моноены. Вещества первой группы подразделяются на подгруппы А и В, а второй – на подгруппы С, D и Е.

При взаимодействии веществ подгруппы А с раствором соляной кислоты в ледяной уксусной кислоте сначала появляется желтовато – зеленое соединение, которое постепенно переходит в интенсивно-синее, а подгруппы В – сначала светло – синее, которое через несколько минут переходит в интенсивно – синее. Вещества подгруппы D дают со смесью соляной и ледяной уксусной кислот после подогрева вещества светло – бурого цвета, в то время как продукты реакции вещества подгруппы С и Е в аналогичных условиях – темно-бурого [32].

В последние годы для анализа летучих компонентов (валеранон, валеренол, криптофауронол и спирт пачоули), рекомендуют использовать методы ТСХ и ГЖХ. Определение нелетучих компонентов (валтрат, изовалтрат, дидровалтрат т.д.) проводят методом ВЭЖХ [17, 21, 109, 130, 197, 204].

Для количественного определения валепотриаты возможно использование денситометрического, йодгидринового, спектрофотометрического методов, метода жидкостной хроматографии высокого давления (Рисунок 14) хромато-масс-спектрометрического и атомно-адсорбционного методов анализа [17, 21, 161, 166, 198]. Только после развития этих методов появилась возможность открытия и изучения валепотриаты во многих видов семейства валериановых.

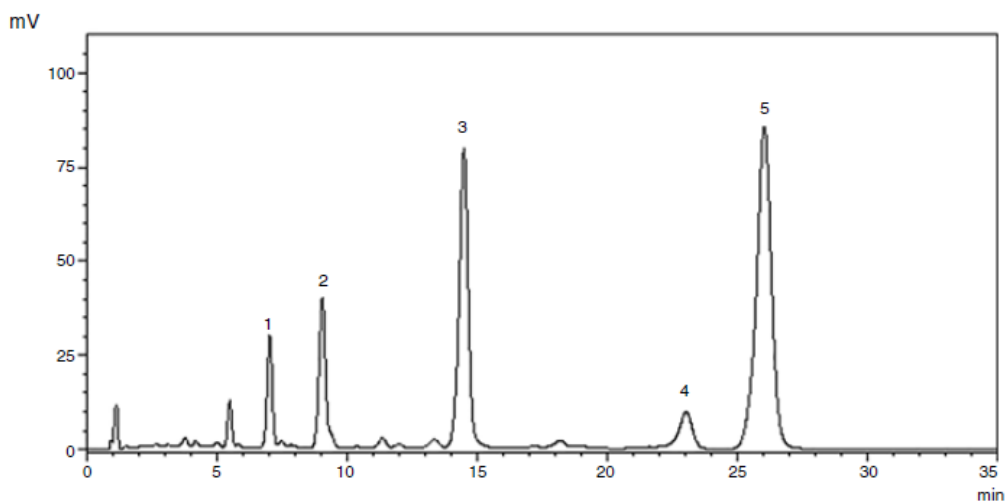


Рисунок 14 - ВЭЖХ-хроматограмма CO<sub>2</sub>-экстракта *Valeriana glechomifolia*. Обнаруженные соединения: (1) 1-β-ацетилвалтрат, (2) – 1-β-ацевалтрат, (3) - ацевалтрат, (4) изовалтрат и (5) валтрат [173]

При хранении сырья валерианы наблюдается уменьшение содержания валепотриатов.

Изучение влияния различных условий сушки на их содержание показало, что оптимальной температурой сушки является 32-35° С при принудительной вентиляции. Увеличение температуры сушки может привести до потери 75% валепотриатов. При воздушно – теневой сушке сырья количество валепотриатов снижается на 10 – 14%. [32, 143]. Отмечано, что содержание валепотриатов выше в корневищах с корнями валерианы, чем в корнях[143].

Установлена также зависимость содержания валепотриатов от времени суток. Максимум содержания валепотриатов в подземных органах валерианы высокой и валерианы побегоносной приходится на 19 часов, а минимум их концентрации на 22 часа [83, 154, 10].

#### 1.4.1.3. Состав и свойства эфирного масла валерианы

Долгое время седативные свойства валерианы приписывали исключительно эфирному маслу, которое получают из высушенного растительного сырья путем перегонки с водяным паром [32, 216].

Фармакологические свойства эфирного масла не определяются только



суммой активности отдельных составляющих, и представляет собой качественно новое средство в результате совместного действия БАВ. Эфирное масло является сложным комплексом соединений, которых относятся к различным классам органических веществ. Среди них наиболее распространенными являются терпены и их кислородосодержащие производные (монотерпены, сесквитерпены и ароматические соединения). Наибольшее содержание эфирного масла отмечается в период интенсивного роста растения.

При дистилляции с паром эфирное масло выделяется в смеси с летучими кислотами, отщепляющимися от иридоидных эфиров. Поэтому получаемое при этом масло содержит значительное количество изовалериановой кислоты и других кислот.

Виды сборного цикла лекарственной валерианы отличаются не только химическими и биологическими свойствами, но и количеством содержащихся в них БАВ. В работах Воршилова В.Н. был проведен анализ количественного содержания эфирного масла (Рисунок 15) в подземных органах различных географических видов лекарственной валерианы (в% на абсолютно сухое сырьё) [23].

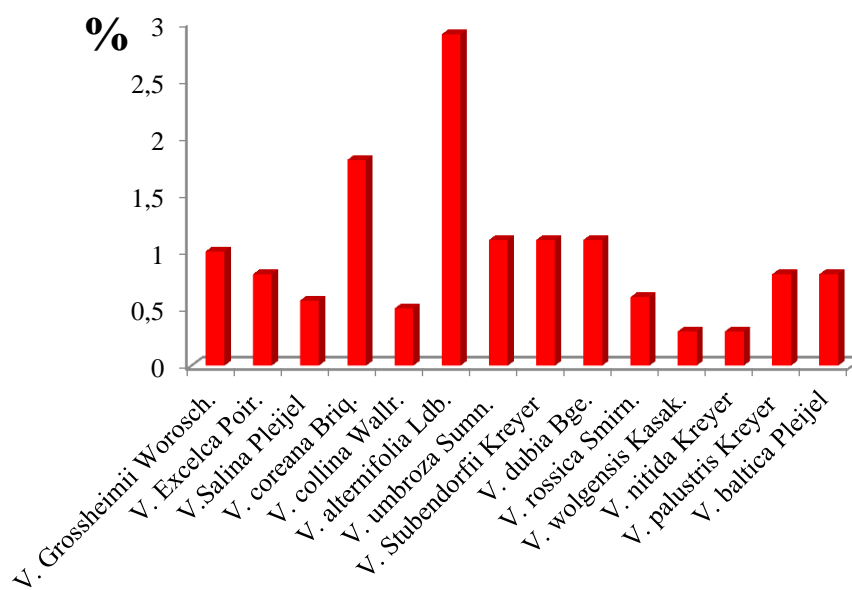


Рисунок 15 - Содержания эфирного масла в подземных органах различных географических видов лекарственной валерианы

Выяснилось, что виды одного ряда по содержанию эфирного масла более или менее близки между собой, а ряды иногда сильно отличаются друг от друга. Замечено, что виды блестящей валерианы в широком смысле содержат наименьшее количество эфирного масла, а очереднолистной (в широком смысле) - наибольшее.

В настоящее время методом газо-жидкостной хроматографии (ГЖХ) в эфирном масле обнаружено около 70 компонентов [109, 158, 196, 216]. Из ациклических монотерпенов идентифицированы углеводород мирцен и его изомер оцимен, спирты линалоол и цитронеллол, альдегиды цитраль и цитронеллаль. Из моноциклических терпенов – производных п-ментана в нем содержатся ненасыщенные углеводороды лимонен,  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -терпинен,  $\alpha$ - и  $\beta$ -фелландрен и кислородсодержащие производные, в частности спирт терпинеол, кетон карвон, оксид цинеола. Из бициклических монотерпенов обнаружены производные пинана, камфана, фенхана. Более разнообразную группу соединений составляют сесквитерпены. Как и монотерпены, они встречаются в ациклической и циклической (моноциклические, бициклические, трициклические) формах. В валериановом масле в незначительном количестве выявлены производные фарнезена, в большей мере – моноциклические вещества бисаболана, гермакрана, гумулана, элемана; бициклические – типа кадинана, эвдесмана, пацифигоргиана, валеренана, кариофиллана; трициклические – типа кессана и др.

Около одной трети седативного эффекта валерианы обусловлено компонентами эфирного масла, в частности монотерпеноидными спиртами борнеолом и миртенолом, их ацетатами и изовалератами; сесквитерпеноидами валереналом, валеренолом, валераноном, кессаном и их производными; ароматическими веществами эвгенолом и изоэвгенолом, их изовалератами. Наиболее значимыми по содержанию компонентами валерианового масла являются борнилизовалерианат и изовалериановая кислота, придающая официальному сырью характерный запах [159, 230].

На компонентный состав эфирного масла и его количественное содержание

большое влияние оказывают экологические факторы, которым было подвержено растение, а также онтогенетические факторы. Ключевое значение имеет таксономической принадлежность [109, 159, 208, 215, 230], что особенно важно учитывать в выявлении хемомаркеров при исследовании близкородственных видов.

Для европейских экотипов валерианы колебания в содержании эфирного масла составляют от 0,2 до 2,4%, а для азиатских – от 0,6 до 5%. В эфирном масле валерианы европейского происхождения преобладают сложные эфиры борнеола, миртенола и валериановой кислоты, валереналь, валереновая кислота, валеранон, тогда как в эфирном масле азиатского происхождения – производные кессана, фауринона, криптофауринона, валеранона [109]. Кессан, кессиловый спирт и фауринон обнаружены и в эфирном масле европейских образцов, но в значительно меньших количествах [32, 110, 111, 119, 123, 230].

Географические, климатические, эдафические, орографические, биотические факторы в совокупности с онтогенетическим фактором определяют химический состав и количественное содержание эфирного масла в сырье [9, 40, 120, 163].

Так, отмечается, что в корневищах с корнями валерианы блестящей оно составляло 1,74%, а валерианы возвышенной – 1,42%. В результате сравнения физико – химических показателей качества эфирного масла установлено, что эфирное масло валерианы блестящей характеризуется более высокими показателями коэффициента рефракции, кислотного числа, большим содержанием в нем альдегидов и кетонов, чем валерианы возвышенной, что важно не только для таксономических целей, но и для проявления фармакологической активности в целом [124].

Установлено, что содержание эфирного масла в корневищах с корнями культивируемых валериан ниже, чем дикорастущих. В корневищах с корнями дикорастущей *V. cardamines* содержится 4,80-5,60% эфирного масла, а в условиях культуры – 2,53-2,68%. [214].

У всех видов максимум накопления эфирного масла отмечается в фазу

весеннего отрастания. Затем наблюдается понижение его содержания в фазу бутонизации и цветения повышение его количества в фазы плодоношения и осеннего покоя [9].

По данным Горбунова [32], содержание эфирного масла в траве валерианы составляет 0,048%. Оно обнаружено в незначительном количестве в стеблях в первом междоузлии, меньше во втором, и только следы - в третьем, а в последующих – отсутствует полностью.

При изучении методом хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) компонентного состава эфирного масла, обнаруживаемого в следовых количествах, листьев валерианы холмовой (*Valeriana collina* Wallr) и лекарственной. Шкроботько П. Ю. с соавторами было обнаружено содержание 65 компонентов. Содержание каждого из компонентов превышало 0,1% от общей суммы. Отмечено значительное содержание изовалериановой кислоты (13,9% от общей суммы веществ) только в составе фракции летучих веществ валерианы холмовой. Эвгенол, как маркерный компонент, присутствовал только в эфирном масле листьев лекарственной валерианы в количестве 0,5% от общей суммы. В составе можно выделить следующие отдельные вещества: борнилацетат (0,9%),  $\alpha$ -терпенилацетат (0,2%), пацифигоргия-1(6),10-диен (0,2%), кариофиллен (0,5%), тимогидрохинона диметилловый эфир (0,4%),  $\alpha$ -гвайен (0,1%), гумулен (0,3%), валерена-4,7(11) –диен (2,6%),  $\alpha$ -цингиберен (0,3%),  $\alpha$ -куркумен (0,8%), валерианол (0,6%), кадинол (0,3%), ледол (0,4%), миртенил-3-метилбутаноат (4,7%),  $\alpha$ -бизаболен (0,3%), валеранон (10,6%),  $\beta$ -эвдесмол (0,2%),  $\gamma$ -мууролен (0,2%), изоспатуленол (0,2%), гермакрен-D (0,2%), гермакрен- $\beta$  (0,2%), кариофиллена оксид (0,7%),  $\gamma$ -куркумен (0,1%),  $\beta$ -Е-ионон, валенсен (0,1%), бициклогермакрен (0,2%),  $\alpha$ -мууролен (0,1%),  $\beta$ -бизаболен (0,4%), борнил-3-метилбутаноат (0,7%),  $\alpha$ -кадинен (0,3%), кессан (1,8%), пацифигоргиол (1,8%), спатуленол (3,7%), ализмол (3,0%), мууролон (0,3%),  $\alpha$ -кадинол (1,2%),  $\alpha$ -бизаболол (0,1%), валеренал (6,9%), неофитодиен I (1,6%), гексагидрофарнезилацетон (1,7%) [54,154,155]. При этом в листьях валерианы лекарственной содержалось большее количество индивидуальных соединений –

57 (Рисунок 16), а для холмовой было характерно большее содержание соединений группы сесквитерпеноидов с выраженным седативным эффектом. Ученые сделали заключение о зависимости компонентного состава и накопления отдельных представителей летучей фракции БАВ листьев от принадлежности к тому или иному таксону и месту произрастания.

Из выше перечисленных соединений преобладающими в траве валерианы холмовой являются валеранон и валеренал. Валепатриаты в траве валерианы холмовой не были обнаружены [123,158].

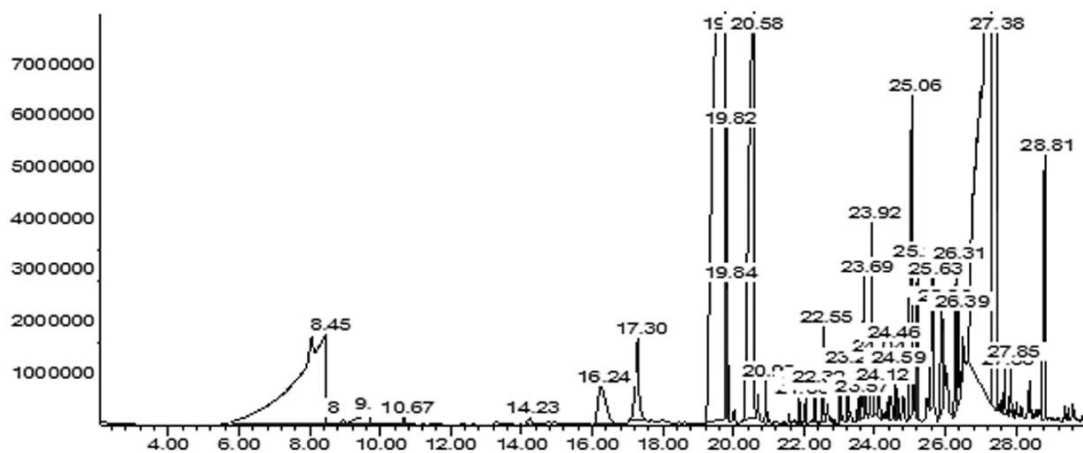


Рисунок 16 - ГХ-МС-хроматограмма эфирного масла корневищ с корнями валерианы лекарственной

Опубликованы данные группы ученых из США по составу эфирных масел различных видов валерианы, в т.ч. и *V. officinalis*, который характеризовался также значительной изменчивостью [184]. Были исследованы образцы из Китая, показавшие наличие среди основных соединений пачулола (16,7%),  $\alpha$ -пинена (14,8%) и  $\beta$ -гумулена (8,2%). Масло также показало широкий спектр антибактериальной активности со значениями минимальной действующей дозы от 62,5 мкг/мл до 400 мкг/мл, наряду с умеренной антиоксидантной активностью.

Проведено изучение состава образцов эфирного масла нескольких видов валерианы, собранных в Сербии и Черногории [175, 205, 212, 228]. Основными компонентами эфирного масла *V. officinalis* были отмечены  $\alpha$ -кессилацетат (15,4

%) и борнилацетат (14,2%), *V. pancicii* Halácsy et Bald - спирт пачули (36,8%), а также *V. bertiscea* Pancic, *V. montana* L. и *V. Brauniiblanquetii* - изовалериановая кислота (13,2-39,0%) и 3-метилвалериановая кислота (10,0-30,8 %).

Полученные результаты согласуются с предыдущими отчетами о составе эфирных масел других видов рода *Valeriana*, где кислородсодержащие монотерпены были доминирующими составляющими [180-183, 187, 201]. Некоторые различия отмечены по сравнению с эфирными маслами видов валерианы, собранных в Китае и Турции, где основными соединениями являлись спирт пачули (13,4% и 36,8%), кесилацетаты (0,9%-15,4%), валеранон (5,8%-18,2%) и валереновая кислота (5,0%-28,0%). Ученые подтвердили, что состав эфирного масла зависит не только от вида, места произрастания, но и даже от даты заготовки ЛРС.

Индийские ученые [188, 189, 191] оценили выход эфирного масла из корневищ *V. Jatamansi*, составивший 0,8% (объем/вес.). Было охарактеризовано 27 соединений и идентифицированы с помощью ГХ-МС, что составляет 90,6% всего масла. Выход летучих масел из корневища *V. hardwickii* – 0,39% (об./мас.); где идентифицировано 21 соединение, на долю которых приходится 82,7% всего масла. Эфирное масло *V. jatamansi* в основном состоит из оксигенированных сесквитерпенов (41,9%), в том числе маалиол (26,1%), спирт пачули (9,3%) и гермакрен Д-4-ол (4,5%), тогда как сесквитерпеновые углеводороды внесли свой вклад на 36,1%, в том числе  $\alpha$ -гурюнен (8,7%),  $\beta$ -куркумен (5,9%),  $\alpha$ -пачулен (4,9%) и  $\alpha$ -гумулен (4,7%). Борнилацетат (6,2%) был идентифицирован как единственный оксигенированный монотерпен в масле *V. jatamansi*. Также были обнаружены оксигенированные сесквитерпены (44,1%), как основные составляющие масла *V. hardwickii*, из которых валерацетата (21,3%), метиллинолеата (14,1%) и наиболее значимыми соединениями эфирного масла данного вида валерианы были дрименол (3,7%); купарен (7,1%) - доминирующий сесквитерпен; углеводород (17,3%) и борнилацетат (13,8%) - основной оксигенированный сесквитерпен, за которым следует  $\alpha$ -терпинилацетат (3,2%). Результаты ученых показали, что  $\alpha$ - и  $\beta$ -пачулен отсутствовали в эфирном масле

*V. hardwickii*, в отличие от более раннего сообщения об  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -пачуленах, характерного для масла *V. jatamansi*, которые дифференцируют его от других видов валерианы [186, 202, 210, 213].

Учеными из Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова были проведены исследования по изучению компонентного состава летучей фракции экстрактов фармакопейных видов ЛРС, с использованием метода ХМС. Перед исследователями стояла цель выявить специфические соединения, по которым можно идентифицировать конкретное ЛРС. Для экстракта корневищ с корнями валерианы были выделены три специфических соединения, которые могут выступать в качестве маркеров. Эти соединения относятся к разным классам веществ и представлены гвайолом (производное азуленметанола), валераноном (производное нафталенона) и 1,2,3,4-тетрагидроквинальдином (производное квинолина) [119].

### **1.5. Современное состояние стандартизации и оценки качества *Valeriana officinalis* и препаратов на ее основе**

Большой популярностью среди населения пользуются лекарственные растительные препараты безрецептурного отпуска. Ассортимент седативных лекарственных средств растительного происхождения на 80 % представлен препаратами безрецептурного отпуска и биологически активными добавками [7].

Описание ЛРС и ЛРП валерианы включено в отечественные фармакопеи ГФ СССР XI изд. (ГФ XI), ГФ РФ XIV издания и зарубежные: Европейскую (ЕФ), Британскую (БФ), Американскую (USP), Японскую, Индийскую, Украинскую, Казахстанскую (ФРК) и Белорусскую (ФРБ) фармакопеи..

Проведен сравнительный анализ требований фармакопей различных стран, которые предъявляются к сырью валерианы лекарственной и препаратам на его основе. [34-36, 138, 223, 224, 226, 227].

Во всех рассмотренных фармакопеях в качестве ЛРС валерианы предлагаются «высушенные цельные или фрагментированные подземные органы

*Valeriana officinalis* L.s.l. Ни в одной из рассмотренных фармакопей не предлагается перечень близкородственных видов, которые допускаются к заготовке. [81]. Результаты отражены в Таблицах 2-3.

Современные фармакопеи включают похожий список показателей доброкачественности, регламентирующий анализ качественного и количественного содержания основных групп БАВ. Проведение макроскопического и микроскопического анализа для цельного, измельченного и порошкованного сырья. Отмечено, что требования к таким параметрам, как влажность, зольность, минеральные примеси более строгие в ЕФ, USP и ФРК (Таблица 2). ФС.2.5.0009.15 «Валерианы лекарственной корневища с корнями» (Таблица 3) требует стандартизировать сырье по количественному содержанию экстрактивных веществ, извлекаемых 70% этанолом, а также по сумме сесквитерпеновых кислот в пересчете на валереновую кислоту методом ВЭЖХ. Из всех проанализированных фармакопей, только Фармакопея США требует также проводить стандартизацию корневищ с корнями валерианы по «ЭВ, извлекаемые 70% спиртом». Следует отметить, что ни одна из проанализированных фармакопей не требует проводить определение суммы валепотриатов. Только ФРБ требует проводить стандартизацию сырья по сумме сложных эфиров в пересчете на этиловый эфир валереновой кислоты.

Во всех рассмотренных фармакопеях, кроме действующей ГФ РФ нормируется содержание эфирного масла в лекарственном растительном сырье. Показатель «Сумма сесквитерпеновых кислот в пересчете на валереновую кислоту», которые считаются маркерными БАВ для валерианы лекарственной, включен в настоящее время во все исследованные фармакопеи.



Таблица 2 - Требования к показателям доброкачественности корневищ с корнями валерины лекарственной [34, 36, 37, 221, 224, 226, 227]

Показатели доброкачественности	ФРБ	ГФ РФ 14 изд.	ГФ XI СССР, вып. 2 (ст. 77)	ЕФ	ФРК	USP
Макроскопия	Цельное	Цельное, измельченное, порошок		Цельное, измельченное, порошок	Цельное, порошок	Цельное, порошок
Микроскопия	Измельченное	Цельное, измельченное	Цельное, порошок	Измельченное	Порошок	Цельное
Определение основных групп БАВ	По аналогии с ЕФ	ТСХ в системе ацетон-гексан 1:2 (ацетокивалериановая и валериановая кислоты)	-	ТСХ в системе кислота ледяная уксусная-этилацетат-циклогексан 2:38:60 (ацетокивалериановая и валериановая кислоты)		Качественная реакция (смесь конц. соляной и уксусной кислот). Время удерживания валериановой кислоты (ВЭЖХ)
Влажность	Не более 15,0 %			Не более 12%		
Зола общая	Не более 13,0 %	Не более 14%	Не более 13%	Не более 12%		
Зола, нерастворимая в 10% HCl	Не более 10,0 %			Не более 5%		
Минеральная примесь	Не более 1 %	Не более 3%		Посторонние примеси не более 5%	Не более 2 %	
Органическая примесь	Не более 2 %				Не более 5%	-
Другие части	Не более 5 %					

## Продолжение Таблицы 2

растения						
Микробиологическая чистота	+	+	-	+	+	+
Тяжелые металлы	+	+	-	+	+	+
Радионуклиды	+	+	-	+	+	-
Остаточные органические пестициды	+	+	-	+	-	+

Таблица 3 - Сравнительный анализ фармакопейных требований к содержанию действующих БАВ ЛРС валерианы [34, 36, 37, 223, 224, 226, 227]

Показатель качества	ГФ XI, вып. 2 (ст. 77)	ЕФ и БФ	USP	Фармакопея Украины	ФРБ	ГФ РФ 14 изд.	ФРК
ЭВ, извлекаемых 70% спиртом	Не менее 25%	-	Не менее 20%	-	-	Не менее 25% (для сырья, предназначенного для получения экстрактов)	-
Сумма валепотриатов в пересчете на валтрат	Не менее 1,4% (СФ) (Изм. №5 от 27.10.99 г)	-	-	-	-	-	-

## Продолжение Таблицы 3

Содержание эфирного масла	-	Не менее 0,5% (цельное) или не менее 0,3% (измельченное сырье)	Не менее 0,5%	Не менее 0,5% (цельное сырье) или не менее 0,3% (измельченное сырье)	-	-	Не менее 4 мл/кг в цельном, не менее 3 мл/кг в резаном сырье
Сумма сложных эфиров в пересчете на этиловый эфир валереновой кислоты	-	-	-	-	Не менее 2% (СФ)	-	-
Сумма сесквитерпеновых кислот в пересчете на валереновую кислоту (ВЭЖХ)	-	Не менее 0,17% (цельное) или не менее 0,10% (измельченное сырье)	Валереновой кислоты не менее 0,05%; Суммы валереновых кислот в пересчете на гидроксивалереновую, ацетоксивалереновую и валереновую кислоты не менее 0,17%	Не менее 0,17% (цельное) или не менее 0,10% (измельченное сырье)	Не менее 0,17% (цельное) или не менее 0,10% (измельченное сырье)	Не менее 0,12% (цельное); не менее 0,1% (измельченное и порошок) Определяют для сырья, предназначенного для получения настоев	Не менее 0,17 % (цельное); не менее 0,10 % (измельченное сырье)

Проведен также обзор фармакопейных требований к показателям качества ЛРП на основе подземных органов валерианы (Таблица 4). Согласно принципу сквозной стандартизации ЛРП контролируются по тем же группам БАВ, что и исходное ЛРС.

Таблица 4 - Сравнительный анализ требований к содержанию БАВ в ЛРП на основе корневищ с корнями валерианы [130, 135]

Нормативная документация	Нормируемые показатели
ФС 42-3865-99 «Настойка валерианы»	Суммы сложных эфиров карбоновых кислот в пересчете на этиловый эфир валереновой кислоты не менее 0,3% (СФ-метод)
Монографии «Валерианы настойка» ЕФ и USP	Содержание сесквитерпеновых кислот в пересчете на валереновую кислоту не менее 0,015 % (ВЭЖХ)
Монографии ЕФ на сухой экстракт валерианы	Сумма гидрокси-, ацетокси- и валереновой кислот в пересчете на валереновую кислоту не менее 0,25%
Отечественная НД на таблетки экстракта валерианы	Суммы сложных эфиров и карбоновых кислот в пересчете на кислоту валереновую не менее 0,03 мг (СФ-метод)
Монография USP на таблетки экстракта валерианы	Содержание экстракта валерианы (не менее 90 и не более 120), в пересчете на сумму валереновых кислот (гидроксивалереновая, ацетоксивалереновая и валереновая кислоты) – ВЭЖХ
ФС 42-3685-98 (изм. №1) «Валерианы экстракт густой»	Суммы сложных эфиров и карбоновых кислот в пересчете на кислоту валереновую не менее 1,8% (СФ-метод)
Монография USP на порошок валерианы	Содержание эфирного масла не менее 0,3% и не менее 0,04% валереновой кислоты (ВЭЖХ)
Монография USP на валерианы сухой экстракт	Содержание не менее 0,3% валереновой кислоты (ВЭЖХ)

В процессе гидролиза ацетоксивалереновой кислоты образуется гидроксивалереновая кислота. Её содержание в таблетках экстракта валерианы

значительно выше, чем в сырье. Это необходимо учитывать при анализе экстракта валерианы в таблетках (согласно ЕФ и USP)[130].

Определение суммы сложных эфиров в пересчете на этиловый эфир валереновой кислоты и определение экстрактивных веществ, извлекаемых 70% этиловым спиртом включены в ряд Российских зарегистрированных ФСП.

Фармакологическое действие корневищ с корнями валерианы и препаратов на их основе обусловлено комплексом биологически активных веществ. Поэтому стандартизация проводится по суммам БАВ или индивидуальным соединениям действующих веществ: экстрактивным веществам, извлекаемым 70% спиртом; сумме сесквитерпеновых кислот в пересчете на валереновую кислоту, сумме сложных эфиров в пересчете на этиловый эфир валереновой кислоты, эфирному маслу, сумме валепотриатов в пересчете на валтрат, сумме сесквитерпеновых кислот в пересчете на валереновую кислоту, содержанию валереновой кислоты. Для этого используют разные методы: гравиметрии, ВЭЖХ, спектрофотометрии, дистилляции.

### **1.6. Фармакологическое действие и медицинское применение лекарственных валериан**

Валериана – старинное лекарственное растение. В египетских папирусах, евангелиях, библиях и других письменных памятниках Египта, Израиля, Индии, Греции, Рима оно называлось «nardos», «нерд», «сумбул». По одной из версий само слово «валериана», т.е. трава силы и здоровья, произошло от латинского глагола «валере», что значит быть сильным, крепким, здоровым. В конце XIX века итальянский врач Фабио Коломна открыл у валерианы лекарственной противозепилептические свойства, излечившись от эпилепсии на собственном опыте. С тех пор валериана широко использовалась при лечении этого заболевания и несколько позднее получила широкую популярность как средство, успокаивающее нервную систему. Это явилось основанием для введения ее корневищ с корнями в фармакопеи многих стран. В наши дни валериана принята

фармакопеями 24 стран мира [23, 52]. Начиная с Гражданской фармакопеи 1778 года, их включают во все отечественные фармакопеи.

Валериана обладает разнообразными фармакологическими свойствами. Она проявляет успокаивающее действие на центральную нервную систему. Применяется как средство при нервном возбуждении, эпилепсии, истерии, острых возбуждениях на почве психической травмы, при легких формах неврастения и психастении, невралгии, нейродермитах, неврозах сердечно – сосудистой системы, спазмах желудочно – кишечного тракта. Применяется для лечения и профилактики на ранних стадиях нейроциркуляторной дистонии, стенокардии, артериальной гипертензии, атеросклерозе, ишемической болезни сердца, нарушения ритма сердца, хронической сердечной недостаточности [98, 193, 194, 149, 208].

Многочисленные клинические исследования продемонстрировали эффективность корневищ с корнями валерианы в качестве снотворного и легкого седативного средства [17, 22, 84, 98, 121, 150, 192, 194].

В литературе описаны исследования, которые были выполнены на пациентах с проявлениями неорганических нарушений сна. Все клинические испытания показывают преимущества препаратов корневищ с корнями валерианы по сравнению с плацебо. Существуют исследования, которые доказывают эффективность препаратов валерианы на уровне оксазепам в невысоких дозах. При этом препараты валерианы отличались лучшей переносимостью [98, 103, 115, 149, 192, 208]. При проведении терапии экстрактом валерианы в течение нескольких недель отмечается повышение эффективности лечения. Это может свидетельствовать о кумулятивном эффекте. [17, 98].

При применении препаратов валерианы не возникает ощущение эйфории и не нарушается процесс формирования эмоций. Валериана показана при весеннем утомлении. При применении препаратов валерианы не формируется лекарственная зависимость и не возникает синдром отмены. Это является важным преимуществом перед седативными и снотворными средствами синтетического происхождения.

Валериана находит применение в виде официальной настойки, густого и жидкого экстракта входит в состав различных лечебных сборов. [17, 99, 200, 225]

В литературе имеются сведения об антимикробной активности в отношении грамположительных бактерий и фунгистатической активности препаратов подземных и надземных (листья, стебли, соцветия) органов валерианы [185, 193, 195, 209, 211, 222, 229].

С целью изучения фармакологических свойств валепотриатов был разработан безалкогольный способ получения нативной суммы валепотриатов из подземных органов валерианы липолистной и валерианы чесночколистной, названной валирацилом. Результаты фармакологических исследований острой и неострой токсичности позволяет отнести валирацил к практически нетоксичным препаратам[143].

Его среднеэффективные дозы, устраняющие агрессивное поведение животных, на порядок меньше доз, проявляющих анальгетическое действие, что свидетельствует о наличии седативного компонента. Одна из особенностей анксиолитического эффекта валирацила – отсутствие миорелаксирующей активности, характерной для классических бензодиазепиновых транквилизаторов. Он оказывает активизирующее действие на нейроны коры головного мозга, усиливает функцию таламо – кортикальной синхронизирующей системы путем торможения активирующих систем ствола мозга, с чем, повидимому, и связано проявление седативного эффекта. Установлено, что валирацил в дозе 250 мг/кг, в пределах которой регистрировалась выраженная седативная активность препарата, изменяет спонтанную электрокортикограмму и ответную реакцию на световое раздражение глаз. Эти изменения выражались в значительном усилении биопотенциалов медленного диапазона, ослаблении биопотенциалов более частых ритмов и увеличении латентного периода реакции ЭКГ на световое раздражение глаз, что, в соответствии с существующими представлениями, оценивается как усиление тормозных процессов в коре головного мозга. Необходимо отметить, что валирацил вызывал усиление волн как альфа, так и тета – и дельта-диапазонов. Усиление альфа-активности, характеризует активацию функции

таламо-кортикальной синхронизирующей системы, а периоды усиления тета- и дельта-волн могут быть связаны с угнетением функции структур ретикулярной формации ствола головного мозга и активацией гипоталамо-кортикальной синхронизирующей системы. Об этом свидетельствует тот факт, что эфферентное раздражение (световое) выводит на продолжительное время животное из тормозного состояния и активация ЭКоГ происходит синхронно во всех отведениях [17].

Валирацил также вызывал усиление биопотенциалов бета-ритма, что, по-видимому, может свидетельствовать об усилении возбуждательных процессов в нейронной системе коры мозга, а в периоды активации ЭКоГ в целом является базой для объяснения повышения функциональных свойств коры мозга. Однако, в целом соотношение энергетики ритмов склонилось в пользу превалирования биопотенциалов медленного диапазона (тета- и дельта), что свидетельствует о преобладании тормозных процессов в коре мозга.

Таким образом, можно говорить об активизирующем действии валирацила на нейроны коры головного мозга. Путем торможения ретикулярной формации и заднего гипоталамуса усиливается функция таламо – кортикальной системы. По-видимому, именно этими влияниями можно объяснить седативное действие валирацила.

В последующих фармакологических опытах с использованием «тестов взаимодействия» были применены вещества, влияющие на определенные звенья нейрхимических процессов мозга, что позволяло получить информацию не только о потенциальной нейротропной активности, но и об элементах механизма действия валирацила. В частности, учитывая, что изменение спонтанной двигательной активности животных под влиянием препаратов является недостаточным для оценки их седативного действия, были проведены исследования влияния валирацила и настойки валерианы на двигательную активность животных, стимулируемую кофеином. В этих условиях валирацил, в отличие от настойки валерианы, проявлял выраженные антагонистические свойства. Так, в дозах 50 и 100 мг/кг он существенно снижал возбуждающий



эффект кофеина, а в дозе 200 мг/кг полностью устранял его возбуждающее влияние на протяжении исследования. Наличие центральных седативных эффектов валирацила четко проявилось и в опытах с использованием судорожных состояний, вызываемых коразолом. Профилактическое введение валирацила предупреждало наступление коразоловых судорог и уменьшало летальность животных, причем эффект зависел от дозы препарата. При оценке противосудорожной активности по антагонизму с коразолом терапевтический «защитный» индекс валирацила приближает его по этому виду активности к производным бензодиазепинового ряда. Валирацил потенцирует и пролонгирует действие барбитуратов. Проведенные исследования показали, что валирацил в дозах 500 и 1000 мг/кг увеличивает продолжительность сна животных соответственно на 71 и 103%, в то время как аналогичные дозы настойки валерианы пролонгируют эффект этаминал-натрия незначительно и это увеличение статистически недостоверно [98, 143].

В опытах на кошках установлено, что валирацил обладает гипотензивным эффектом, развивающимся через час после его перорального введения, и нарастал на всем протяжении 4 - х часового наблюдения. По-видимому, в основе этого эффекта лежит миотропная спазмолитическая активность валепотриатов.

Исследование механизма психотропного действия валирацила показало, что препарат оказывает выраженное влияние на электрическую активность коры больших полушарий головного мозга. Характер изменений ритмов ЭКоГ свидетельствует о способности валирацила активировать тормозные процессы. Дополнительным свидетельством тому явились выявленные изменения метаболических процессов в ткани мозга при курсовом введении валирацила: увеличение содержания ГАМК, снижение концентрации глутаминовой и аспарагиновой аминокислот, изменения в углеводно-энергетическом обмене. Кроме того, в действии валирацила выявлены некоторые положительные фармакодинамические эффекты на сердечно-сосудистую систему - кардиотропное и гипотензивное действия [17, 143].

### 1.7. Выводы к Главе 1

2. Проведен анализ литературных данных о распространении, химическом составе и использовании в медицине лекарственных валериан, которые отличаются чрезвычайным полиморфизмом и дискретностью.

3. В настоящее время ФС.2.5.0009.15 ГФ XIV издания РФ «Валерианы лекарственной корневища с корнями» не конкретизирует перечень близкородственных видов, которые могут подвергаться заготовке и применению. В ведущих зарубежных фармакопеях наблюдается такая же тенденция.

4. С учетом полиморфности валериан и научного обоснования прогноза фармакологической активности следует дифференцированно подходить к оценке особенностей химического состава видов. Значительные различия в накоплении основных групп фармакологически активных соединений представителей сборного цикла определяют неодинаковую лекарственную ценность сырья.

5. Седативный эффект различных близкородственных видов валериан ряда *Officinales*, по литературным данным, определяется вкладом суммы действующих БАВ подземных органов растения таких, как эфирное масло, валепотриаты, сесквитерпеновые кислоты и их сложные эфиры. Стандартизация сырья и ЛРП в настоящее время осуществляется по данным компонентам.

6. Анализ литературы показал, что надземные органы валерианы с точки зрения фармакогностической науки остаются малоизученными. Имеются отдельные разрозненные данные, что обуславливает актуальность исследования фитохимического состава, фармакологических свойств и разработки показателей качества данного сырья.

7. Недостаточность сравнительных данных о накоплении отдельных групп веществ первичного и вторичного обмена, а также элементного состава отдельных видов из сборного цикла *V. officinalis* указывает на перспективность фитохимического и фармакологического исследования *V. wolgensis* и *V. dubia*, что позволит выявить новые аспекты для хемотаксономии видов и дальнейшие перспективы расширения областей применения сырья.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 2.1. Объекты исследования

Объектами исследования служили корневища с корнями, а также трава валерианы волжской (*Valeriana wolgensis* Kazak.) и валерианы сомнительной (*Valeriana dudia* L.). Образцы были заготовлены в Воронежской области в период 2015 - 2020 гг на берегу реки Икорец в селе Средний Икорец Лискинского района и в окрестностях села Белогорье Подгоренского района. Подземные органы заготавливали в конце сентября. Траву заготавливали на втором году жизни растения в июне месяце в период массового цветения. Сушку осуществляли воздушно – теневым способом.

### 2.2. Методы исследования

#### 2.2.1. Изучение особенностей анатомии и морфологии анализируемого ЛРС

1. Изучение микродиагностических признаков проводили согласно ГФ XIV РФ ОФС.1.5.3.0003.15 «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» [36]. Для структурного анализа нами использованы свежие сборы, фиксированный в спирте материал и гербарные образцы. Анатомические срезы готовились от руки под бинокулярным микроскопом МБС-1 (Россия). Анализ и фотосъемка проводились при разном увеличении. Основная часть поперечных срезов корневища и придаточных корней сделана в их средней части. Самые молодые участки корневища, к сожалению, в сборы не попали. Для обнаружения эфирных масел и валепотриатов в сырье с помощью микрохимических реакций использовались свежие срезы.

2. Люминесцентный анализ тканей листьев, а также поперечных срезов корня валерианы изучаемых видов исследовали с использованием люминесцентного микроскопа марки Микромед – 3 Люм (Россия), оснащенном

корпусом люминесцентной насадки с люминесцентными блоками «В»; «G» (Россия). Источником света служила высоковольтная ртутная лампа (100 Вт); спектральный диапазон возбуждения люминесценции: голубой светофильтр – 410-490 нм, наблюдение в диапазоне 515 – 700 нм.

Визуализацию диагностических признаков осуществляли с помощью видеокамеры Livenhuk C310 NG (КНР) и программным обеспечением Top View (x86).

### **2.2.2. Определение экологической безопасности изучаемого ЛРС**

1. Элементный состав изучаемых образцов почв с места произрастания, официального сырья и травы валерианы определяли масс-спектрометрией с индуктивно связанной плазмой на приборе ELAN-DRC-e (США) [229, 244]. Пробоподготовка осуществлялась, как описано в МВИ N 002-ХМС-2009 «Методика выполнения измерений массовых долей 62 элементов в почвах, донных отложениях, горных породах и сплавах цветных металлов методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой», а также в МУК 4.1.1483-03 «Определение содержания химических элементов в диагностируемых биосубстратах, препаратах и биологически активных добавок методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной аргоновой плазмой». Для контроля правильности определения использовали метод добавок. Рабочие стандартные растворы готовили путем смешивания нескольких опорных многоэлементных стандартных растворов для масс-спектрометрии, производства Perkin-Elmer или аналогичные, содержащие разные группы элементов. Используемые референс-стандарты для анализа почв: почва дерновоподзолистая ГСО 5360-90, ООКО-153, почва дерновоподзолистая супесчаная ГСО 2498-83-2500-83, СДПС-1, СДПС-2, СДПС-3. Для анализа проб растительного происхождения: ГСО состава стравосмеси (Тр-1), ГСО 8922-2007, ГСО состава элодеи канадской (ЗК-1), ГСО 8921-2007, ГСО состава листа березы (ЛБ-1), ГСО 8923-2007. Готовили по три

параллельных испытуемых раствора для каждого образца. Итоговые величины концентраций определяли как среднее арифметическое измеренных значений.

2. Удельную активность радионуклидов (РН) (УА, Бк/кг) в образцах подземных органов валериан изучаемых видов измеряли на универсальном спектрометрическом комплексе «Гамма Плюс» (Россия), включающем два независимых бета- и гамма-сцинтилляционных счетчиков в соответствии с методическими рекомендациями [53].

3. Исследования по определению остаточных органических пестицидов в подземных органах валериан изучаемых видов проводили методом ГЖХ («Цвет» Россия) в соответствии с указаниями ОФС ГФ XIV изд. РФ.

4. Такие показатели доброкачественности сырья, как влажность, общая зола, зола, нерастворимая в 10% HCl, допустимые примеси органической и минеральной природы (другие части валерианы, органические примеси, минеральные примеси и экстрактивные вещества) определяли по соответствующим ОФС ГФ РФ XIV изд. и ФС.2.5.0009.15 «Валерианы лекарственной корневища с корнями».

### **2.2.3. Исследования БАВ первичного и вторичного обмена в ЛРС**

1. Изучение компонентного состава подземных органов осуществляли методом ГХ/МС на приборе «Agilent» 6850/5973 N (США) [3,119].

2. Изучение профиля свободных органических кислот, свободных сахаров, а также полный аминокислотный состав объектов исследования осуществляли методом капиллярного электрофореза (КЭ) на приборе «Капель-105/105М» («Люмэкс», Санкт-Петербург, Россия). Условия разделения при анализе органических и аминокислот изложены в методических рекомендациях, разработанных компанией-производителем оборудования (М 04-74-2012; М 04-69-2011 и М 04-39-2009 соответственно) и доступные на официальном сайте «Люмэкс». Сбор, обработку и вывод данных осуществляют с помощью ПК с ОС не ниже «Windows® 2000/XP», на котором установлено специализированное ПО.

3. Анализ восстанавливающих свободных моносахаридов проводили методом прямофазной ВЭЖХ на приборе «Gilson» (Франция, модель 305). Извлечение, полученное путем набухания 0,1 г сырья с 1 мл воды очищенной в пробирке с завинчивающейся пробкой при температуре 90°C с последующей часовой экстракцией углеводов при 25°C при встряхивании, центрифугировали при 14000 об/мин 10 минут. Затем добавляли активированный уголь, перемешивали и снова центрифугировали при 14000 об/мин 10 минут. Аликвоту супернатанта объемом 20 мкл пропускали через колонку Luna NH 24,6×250 мм или аналогичную с подвижной фазой: ацетонитрил-вода (70:30). Скорость потока элюента - 1 мл/мин при комнатной температуре, изократический режим хроматографирования с рефрактометрическим детектированием. Сбор и обработка хроматограмм осуществлялась при помощи ПО «Экохром» методом внешнего стандарта, содержащего смесь фруктозы, глюкозы, сахарозы и глицерина с концентрацией 0,1%.

Для исследования связанных сахаров полученные, как описано выше, водные извлечения подвергали гидролизу раствором 1 М кислоты хлористоводородной при 100°C в течение 2,5 часов. После чего гидролизат подвергали центрифугированию при 14000 об/мин при 100°C - 10 минут. 0,8 мл супернатанта доводили водой очищенной до общего объема 8,0 мл. 5 мл полученного раствора очищали и концентрировали методом твердофазной экстракции путем пропускания через патрон (Диасорб C<sub>16</sub>, отбрасывая первые 3 мл фильтрата и собирая следующий 1 мл. К 20 мл раствора смеси стандартов и исследуемого раствора прибавляли по 20 мкл раствора глюкозамина - внутренний стандарт и упаривали на вакуумированном центрифужном испарителе «SpeedVac» (США) с подогревом в пробирке из полипропилена. К сухому остатку добавляли метанольный раствор 1-фенил-3-метил-5-пиразолона и раствор натрия гидроксида, тщательно перемешивали на «Vortex» (Латвия) и термостатировали 2 часа при 70°C. Пробу нейтрализовали 0,3 М раствором HCl и дважды экстрагировали избыток реагента. Остаток также упаривали и растворяли в 0,5 мл смеси ацетонитрил-вода (1:9). Содержание связанных сахаров анализировали

методом КЭ («Applied Biosystem 273Т»). Расчет осуществляли методом внутреннего и внешнего стандартов. Раствор внешнего стандарта представлял собой смесь анализируемых сахаров в концентрации 0,1%.

4. Сравнительное изучение состава жирных кислот подземных органов и семян валериан волжской и сомнительной проведено методом ГХ-МС на приборе «Agilent» 6850/5973 N (США) [48,49,108].

5. Количественное определение сложных эфиров карбоновых кислот проводили в пересчете на кислоту валереновую. Использовали метод фотоэлектроколориметрии, основанный на гидроксамовой пробе [34].

6. Анализ фракции гидроксикоричных кислот (ГКК) и флавоноидов сырья валерианы, полученной экстрагированием 70% спиртом этиловым, проведен методом обращенно-фазовой ВЭЖХ на хроматографе «Gilston» (Франция, модель 305) с ручным инжектором (модель Rheogyne 7125, США) с последующей обработкой результатов исследования с помощью программы «Мультихром» для «Windows». Металлическая колонка 4,6 x 250 мм с сорбентом «KROMASIL C18», размер частиц 5 мкм. Подвижная фаза: метанол – вода – фосфорная кислота концентрированная (400:600:5). Анализ проведен при комнатной температуре. Скорость подачи элюента 0,8 мл/мин. Время анализа 1 час. УФ – детектор «Gilston» UV/VIS (Франция, модель 151), длина волны детектирования – 254 нм. Объем проб анализируемых извлечений и растворов сравнения – 20 мкл. Для идентификации отдельных компонентов использовали стандартные образцы фенольных соединений. Качественный состав данных групп БАВ определяли также методом хроматографии в тонких слоях (БХ и ТСХ).

7. Массовую долю крахмала в подземных органах определяли поляриметрически по ГОСТ 10845-98.

8. Определение суммы дубильных веществ, органических кислот, кислоты аскорбиновой в траве изучаемых валериан проводили титриметрическими методами (перманганатометрии, алкалиметрии и титрования 2,6-дихлорфенолиндофенолятом натрия соответственно), полисахаридов – гравиметрически по методикам частных ФС ГФ XI, XIII, XIV изданий [36,37].

9. Оценка накопления суммы сесквитерпеновых кислот в пересчете на кислоту валереновую в изучаемом сырье проведена в соответствии с ВЭЖХ-методикой, приведенной в НД. Исследования проведены на жидкостном хроматографе «Agilent» (модель 1260 Infinity LC, DAD, FLD).

10. Получение эфирного масла из травы осуществляли методом перегонки с водяным паром. Анализ эфирного масла подземных органов, полученного с помощью аппарата Клевенджера, проводили методом газовой хроматографии (на газовом хроматографе HP6890 с масс-детектором HP, оснащенного программным обеспечением Chemstation HP 1701 AA).

11. ИК-спектры изучаемого ЛРС без предварительной пробоподготовки были получены методом НПВО на ИК-Фурье спектрометре «VERTEX 70» («Bruker», Германия) и последующей обработкой программой «OMNIC» или «GRAMS 4/32».

12. В работе использованы СО аминокислот, органических и жирных кислот, предоставленные фирмой ЗАО «Вектон» (СПб, Россия), а также флавоноидов и гидроксикоричных кислот фирмы «Sigma» (Германия). Степень чистоты не менее 99%. В эксперименте также применяли растворители и реактивы сорта х.ч. и ч.д.а. Растворители для колоночной хроматографии соответствовали сорту «ч., для хроматографии» (ЗАО «Вектон»).

#### **2.2.4. Изучение различных видов фармакологической активности извлечений из корневищ с корнями валериан сомнительной и волжской**

##### **2.2.4.1. Получение спиртовых извлечений из изучаемого ЛРС для проведения экспериментальных исследований на лабораторных животных**

Извлечения для исследования из заготовленных образцов подземных органов изучаемых близкородственных видов валериан получены методом дробной мацерации с этанолом 70% из воздушно сухого сырья в соотношении 1:5. Извлечение из травы зверобоя получали методом перколяции на 40% этиловом



спирте, согласно ГФ XIV, до истощения сырья. Полученные настаиванием или перколяцией вытяжки представляли собой мутные жидкости с небольшим количеством взвешенных частиц и требовали обязательной очистки. Очистку осуществляли путем отстаивания при температуре не выше 8°C в течение 2-х суток. Выпадавшие осадки балластных веществ отфильтровывали. Изготовленные извлечения стандартизировали по методикам, указанным в частных ФС (содержание действующих веществ, концентрация спирта или плотность, примеси тяжелых металлов и сухой остаток [37]).

#### **2.2.4.2. Изучение различных видов фармакологической активности извлечений, полученных на основе исследуемого ЛРС**

Экспериментальные исследования на лабораторных животных были проведены с обеспечением международных принципов гуманного обращения с животными и в соответствии с рекомендациями Руководства по доклиническому исследованию лекарственных веществ [122] (заключение этического комитета ВГУ №42-04 от 25.10.21). Содержание лабораторных животных и манипуляции над ними проводили в соответствии с «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (Страсбург, 18 марта 1986 года, «Animals (Scientific Procedures) Act 1986») и Правилами лабораторной практики (Good laboratory practice – GLP) в Российской Федерации (ГОСТ Р 53434-2009).

Все исследованные виды фармакологической активности были проведены для свежеприготовленных спиртовых извлечений из корневищ с корнями ВС и ВВ, полученных как описано в п.2.2.4.1.

1. Экспериментальные исследования на лабораторных животных по оценке седативной активности проведены на белых аутбредных конвенциональных крысах, выращенных в виварии ВНИВИ патологии, фармакологии и терапии, с применением теста «открытое поле» (крысы обоего пола, n=40, m=270-290 г) по стандартной методике через 1 час после введения извлечений из корневищ с

корнями валериан сомнительной и волжской. Животные разделены на 4 группы по 10 голов в каждой. Испытуемые извлечения вводили животным внутрижелудочно в дозе 1 мл/кг, разбавляя до концентрации этанола 20%, однократно за 60 минут до начала эксперимента. Контрольные животные вместо анализируемых лекарственных форм получали 20% раствор этанола. В тесте «открытое поле» животное индивидуально помещали в центр арены. Затем регистрировали двигательную активность (горизонтальную и вертикальную). Горизонтальная двигательная активность включает пробежки по разным траекториям. Вертикальную двигательную активность или «стойки» определяли как число подъемов на задние лапы при полном отрыве обеих передних конечностей от дна (ориентировочная реакция). Также фиксировали выходы в центр, заглядывание в норки (норковый рефлекс), груминг и дефекацию. По совокупности повышения латентности выхода из центра поля, снижения вертикальной и горизонтальной активности, количества норок, выходов в центр судили о «седативном» действии изучаемых извлечений, а снижении частоты груминга и числа фекальных болюсов – «противотревожном» влиянии. Время эксперимента - 4 мин.

2. Адаптогенную активность оценивали на белых аутбредных конвенциональных самцах мышей в тесте «принудительное плавание с грузом», весом 5% от массы тела животного, при температуре воды 22-24°C через 3 часа после введения изучаемых извлечений.

3. Антигипоксантную активность определяли на модели гипоксической гиперкапнии (мыши,  $n=40$ ,  $m=20-25$  г) [112], которая моделировалась помещением мышей в герметически закрывающиеся сосуды объемом 110 мл. С помощью секундомера регистрировали время с момента помещения мыши в сосуд до появления признаков удушья.

4. Экспериментальные исследования на лабораторных животных с применением оригинального теста «эвристические решения» [112, 162, 172] проведены на 26 белых аутбредных конвенциональных крысах-самцах массой  $180 \pm 7,4$  г, полученных из вивария ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко. Данный

тест используется для фармакологического скрининга веществ с предполагаемыми психотропными свойствами [112].

5. С помощью интернет ресурса PASS-online (<http://www.Way2Drug>, дата обращения-март 2022г.) проведено определение возможных фармакологических и токсических эффектов основных БАВ травы валериан сомнительной и волжской. Также осуществлен прогноз неодинакового характера действия и вероятных побочных реакций некоторых БАВ подземных органов изучаемых видов валериан.

Статистическая обработка всех результатов экспериментов проведена с помощью программного обеспечения Microsoft Office Excel 2003 в соответствии с требованиями ОФС «Статистическая обработка результатов эксперимента».

### ГЛАВА 3. ИЗУЧЕНИЕ ХАРАКТЕРИСТИК ПОДЛИННОСТИ И ДОБРОКАЧЕСТВЕННОСТИ ИССЛЕДУЕМЫХ ВИДОВ СЫРЬЯ

*Valeriana officinalis* L. s. 1. представлена многочисленными разновидностями, обособившимися географически, которые заготавливаются и используются в медицине наравне с валерианой лекарственной.

В Воронежской области, наряду с валерианой лекарственной (*V. officinalis*), широко распространены виды *V. wolgensis* Kazak. (валериана волжская) и *V. dubia* Bunge (валериана сомнительная) [89]. Данные виды являются близкими по составу БАВ и сходны по внешним признакам, входят с *V. officinalis* L. в один ряд *Officinales*. Эти виды допускаются к заготовке и медицинскому применению наряду с фармакопейным видом валерианы.

В настоящее время ФС.2.5.0009.15 ГФ XIV издания РФ «Валерианы лекарственной корневища с корнями» не конкретизирует перечень близкородственных видов, которые могут подвергаться заготовке и применению [36], как это закреплено для других видов растительного сырья (например, ФС.2.5.0106.18 «Шиповника плоды»). В ведущих зарубежных фармакопеях наблюдается такая же тенденция [34, 35, 224, 226, 227]. Морфологическая близость родственных видов и одновременно описание множества различных внутривидовых форм осложняют дифференциацию видов ряда *Officinales*, поэтому для определения их подлинности используют микроскопический анализ [12, 85, 131, 232].

В ФС на сырье вида *V. officinalis* представлена подробная информация о его основных морфологических и анатомо-диагностических характеристиках. Автором [131] также изучены и подробно описаны основные микроскопические признаки близкородственных видов *V. alternifolia* Ledeb. и *V. Amurensis* P. Smirn. ex Kom., произрастающих на территории Амурской области. Однако, подобные данные для исследуемых нами видов валериан волжской и сомнительной в литературе ранее опубликованы не были [60, 65, 82, 134, 262].

### 3.1. Макроскопический анализ корневищ с корнями и травы валерианы волжской и валерианы сомнительной

На первом этапе исследования нами был проведен макроскопический анализ сырья изучаемых видов валериан (Таблица 5)

Таблица 5-Сравнительная характеристика внешних признаков корневищ с корнями валериан лекарственной, сомнительной и волжской (цельное сырьё)

Диагностический признак	Анализируемые виды		
	<i>V. officinalis</i>	<i>V. wolgensis</i> (рисунок 17)	<i>V. dubia</i> (рисунок 18)
Строение корневища	Корневище цельные или разрезанные, длиной до 4 см, толщиной до 3 см, часто с рыхлой или полый с поперечными перегородками сердцевинной		Корневище цельные или разрезанные. Корневище слабо выражено длиной до 2 см, толщиной до 3 см, с рыхлой сердцевинной, часто полое с поперечными перегородками.
Строение придаточных корней	От корневища отходят со всех сторон многочисленные придаточные корни. Корни часто отделены от корневища; они гладкие или слегка продольно-морщинистые ломкие, различной длины.	От корневища отходят со всех сторон многочисленные придаточные корни. Корни часто отделены от корневища; они гладкие или слегка продольно-морщинистые ломкие, различной длины, толщиной 0,5 – 2,0 мм.	От корневища отходят со всех сторон многочисленные придаточные корни, редко подземные побеги-столоны. Корни часто отделены от корневища; они гладкие или слегка продольно-морщинистые, ломкие, различной длины, толщиной 1,5 – 2,0 мм.
Цвет корневищ и корней	Снаружи желтовато-коричневый, беловато-	Снаружи светло – бурый, желтовато-коричневый,	Снаружи светло – бурый или буро-серый, на изломе от бледно –

## Продолжение Таблицы 5

	коричневый, коричневый, темно-коричневый, на изломе желтоватый, желтовато-белый, светло-коричневый, коричневый.	коричневый, на изломе от бледно – желтого до коричневого.	желтого до коричневого.
Запах	Сильный, характерный		
Вкус водного извлечения	Пряный, сладковато-горький		



Рисунок 17 – Корневища с корнями валерианы волжской



Рисунок 18 – Корневища с корнями валерианы сомнительной

Внешние признаки травы исследуемых видов валериан схожи (Рисунок19).



Рисунок 19 –Внешние признаки травы, а) валерианы волжской, б) валерианы сомнительной

Трава валерианы волжской и валерианы сомнительной представлена облиственными стеблями со щитковидно - метельчатыми соцветиями длиной до 20 см и отдельными листьями, большей частью измельченными. Стебли цилиндрические, ребристые, полые. Листья супротивные, сидячие, непарно-перисторассеченные с 3-8 парами сегментов; сегменты от узко-ланцетных до яйцевидно-овальных, цельнокрайние или зубчатые, слабо опушенные. Боковые доли листьев длиной 20-45 мм, шириной 8-20 мм. Высота зубцов 1-2 мм. Цветки мелкие, с воронковидным венчиком, до 4 мм в диаметре. Цвет листьев от зеленого до зеленовато-бурого, стеблей от бурого-зеленого до бурого. Цветки белой, розовой или лиловой окраски. Запах слабый. Вкус горьковатый.

### **3.2. Микроскопический анализ корневищ с корнями исследуемых видов валериан**

Структурному анализу корневой системы валериан посвящено большое количество исследований, что отражено в работах известных отечественных монографов рода [23,32]. Тем не менее, в каждом новом исследовании обнаруживаются детали строения, дополняющие известные характеристики.

По последним сведениям (Маевский, 2014) в Воронежской области зарегистрировано 4 вида: *Valeriana dubia* L. (валериана сомнительная), *Valeriana officinalis* L. (валериана лекарственная), *Valeriana wolgensis* L. (валериана волжская) и *Valeriana tuberosa* L. (валериана клубненосная), из которых только последний из перечисленных видов легко диагностируется. Среди воронежских валериан [89] один вид – *V. tuberosa* характеризуется наличием клубней, остальные виды (*V. dubia* L., *Valeriana wolgensis* Kazak., *Valeriana officinalis* L.) относятся к категории короткокорневищных травянистых многолетников. Диагностика трёх перечисленных видов сложна и спорна.

Известная полиморфность валериан отражена не только в морфологии побегов, но и в биометрических показателях корневой системы, хотя и в меньшей степени. В качестве базовой модели выбрана валериана волжская.

Изучение микродиагностических признаков сырья изучаемых видов валериан проводили согласно ГФ XIV РФ ОФС.1.5.3.0003.15 «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» [36] с использованием микроскопа марки Биомед – 6 (Россия), как указано в Главе 2 (п. 2.2.1).

На поперечном срезе корневища видна перидерма с 2-3 слойной пробкой. На отдельных участках число её клеток увеличивается. Размер клеток составляет от 27,8 до 54,2 мкм в длину и от 25,8 до 50,3 мкм в ширину (Рисунок 20).

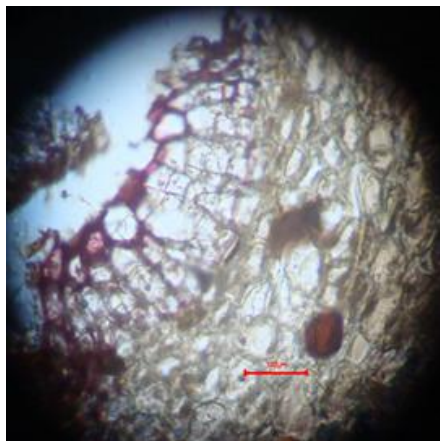


Рисунок 20 - Перидерма с многослойной пробкой, ув. x100



Клетки запасяющей паренхимы округлые, заполнены крахмальными зёрнами. Размер клеток составляет в среднем 18,2 мкм в длину и от 21,3 до 45, 8 мкм в ширину. Клетки с валепотриатами встречаются во всех слоях паренхимы (встречаемость 14-32 на 1 мм<sup>2</sup>). Они отличаются несколько более крупными размерами и желтоватой окраской (Рисунок 21). Чётко выражена эндодерма (ширина слоя эндодермы от 8,93 до 15,62 мкм) с радиально утолщёнными стенками (Рисунок 22). Объём флоэмы небольшой, границы хорошо различимы. Мощная ксилема состоит из сближенных или целиком слившихся участков. Эти участки полуовальной формы своей широкой (усечённой) частью обращены к камбию и разделены узкими сердцевинными лучами (Рисунок 23).

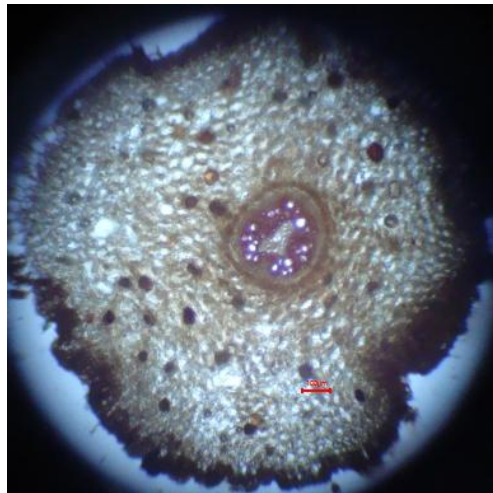


Рисунок 21 - Клетки с валепотриатами в паренхиме корневища, ув. x40

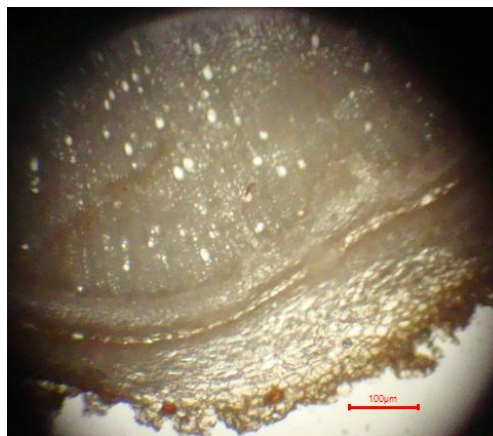


Рисунок 22 - Эндодерма с радиально утолщёнными стенками, ув. x100

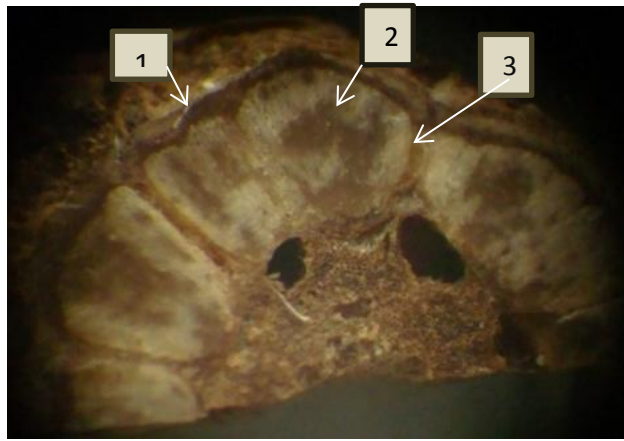


Рисунок 23 - Поперечный срез корневища: 1- флоэма, 2- ксилема, 3- сердцевинный луч, ув. х40

При рассмотрении микропрепара поперечного среза молодого корня (первичное строение) виден эпидермис (ризодерма) с большим числом корневых волосков, клетки гиподермы с каплями эфирного масла. Толщина слоя гиподермы от 39,16 до 63,69 мкм. Паренхима коры (5-7 слоёв) с крахмалоносными клетками. Клеток с валепотриатами не зафиксировано. Эндодерма дифференцирована, толщиной от 8,4 до 15,3 мкм. В стеле 2-4 сосуда ксилемы, расположенных в линию (Рисунок 24).



Рисунок 24 - Строение молодых придаточных корней, ув. х40

В старых корнях (вторичное строение) древесина имеет лучистое строение (Рисунок 25)

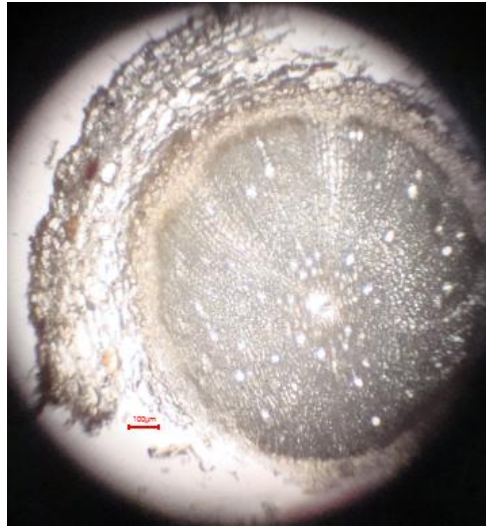


Рисунок 25 - Проводящие элементы придаточных корней вторичного строения, ув. x40

В паренхиме коры заметны крупные желтоватые клетки с валепотриатами, заполняющими весь объём клетки, размером от 10,12 до 45,39 мкм в длину и от 13,88 до 46,23 мкм в ширину. При обработке среза смесью 25%-ной соляной и ледяной уксусной кислот (в соотношении 1:1) валепотриаты окрашиваются в голубой цвет. В экзодерме локализуются небольшие капли эфирного масла диаметром 6,97- 10,98 мкм (Рисунок 26)

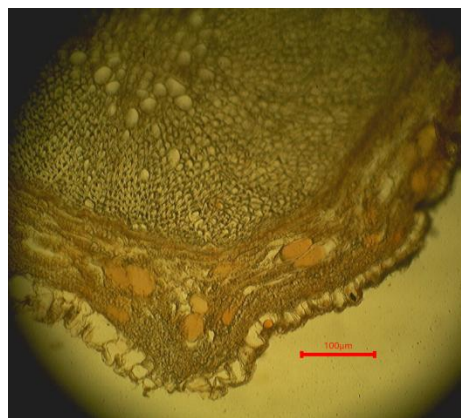


Рисунок 26 - Вторичное строение придаточных корней, ув. x100

Основная масса клеток запасающей паренхимы заполнена крахмальными зёрнами, размером 2,61 – 5,59 мкм (Рисунок 27).



Рисунок 27 - Крахмальные зёрна в паренхиме корней, ув. x400

В результате микроскопического исследования различий в анатомическом строении изучаемых видов валериан и валерианы лекарственной выявлено не было. Следует отметить, что нами условно выделены 2 типа строения придаточных корней, в зависимости от пропорций коры и ксилемы. Корни первого типа с увеличенной долей ксилемы сравнимы со скелетными корнями, на которые опирается корневище при росте. Корни второго типа (более тонкие) имеют обратные пропорции и специализируются на запасающей функции, представляя наибольший интерес для заготовителей.

### **3.3. Анатомическое изучение надземного побега валерианы (на примере валерианы волжской)**

Помимо официального сырья (корневища с корнями) в народной медицине используют траву валерианы, обладающую такими же, но менее выраженными фармакологическими свойствами. На сегодняшний день это сырьё является отходами при заготовке подземных органов растения, что характеризуется как

нерациональное использование природных ресурсов. Поэтому целью следующего этапа микроскопического исследования являлось анатомическое изучение травы валерианы волжской, для выявления диагностических признаков, которые могут быть использованы для определения подлинности лекарственного сырья. Следует сразу уточнить, что в результате микроскопического исследования различий в анатомическом строении изучаемых видов валериан выявлено не было, кроме того, что клетки мезофилла листа валерианы волжской содержат большее количество хлоропластов. Поэтому дальнейшее описание приведено на примере травы валерианы волжской.

При рассмотрении поперечного среза стебля были установлены анатомо – диагностические признаки, характерные для исследуемых видов валериан. В коре дифференцируется два слоя пластинчатой колленхимы (толщина 10,12 – 14,9 мкм), многослойная (8 – 10 рядов) запасаящая паренхима (толщина 83,4 – 105,8 мкм) с довольно многочисленными масляными клетками и крупноклетчатая эндодерма (толщина 7,1 – 16,5 мкм), повторяющая очертания верхней границы проводящих пучков (Рисунок 28).

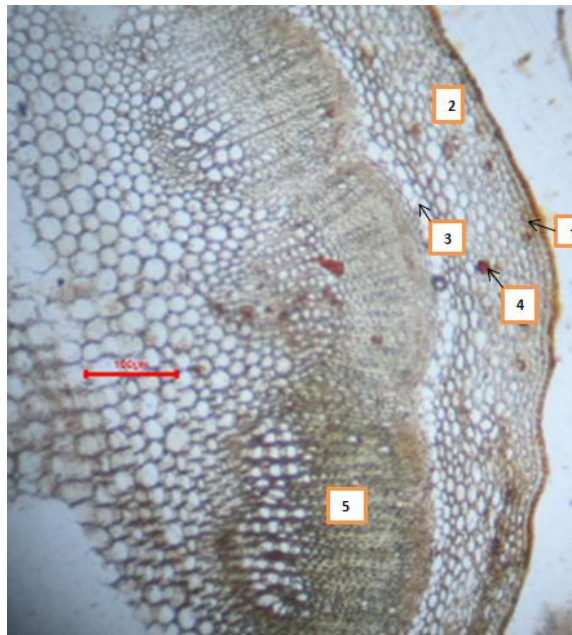


Рисунок 28 – Поперечный срез стебля: 1- пластинчатая колленхима, 2 - запасаящая паренхима, 3- эндодерма, 4 – масляные клетки, 5 – проводящие пучки, ув. x100

Проводящие пучки (размером от 207,9 мкм до 232,7 мкм) крупные разных очертаний от овальных, обратнойцевидных до прямоугольных, сближенные или слившиеся по нескольку. Зона флоэмы узкая, а в древесине пучков четко обособлена первичная ксилема с широкопросветными сосудами ( $d = 8,1 - 13,9$  мкм). Слияние нескольких пучков формирует крупные фрагменты (доли).

При анализе поперечного среза стеблевой части соцветия установлено, что форма среза не цилиндрическая, а четко желобчатая. Широкая часть желоба размером от 863,1 до 1009,4 мкм, узкая часть размером от 519,1 до 540,6 мкм (Рисунок 29).

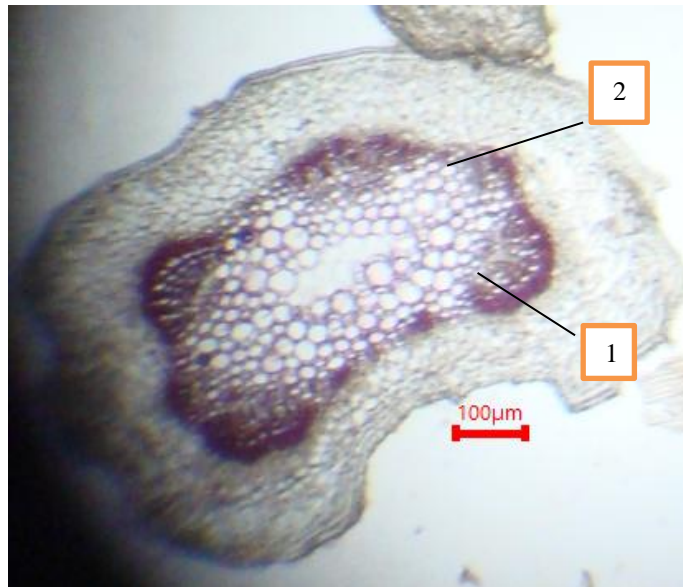


Рисунок 29 - Стеблевая часть соцветия: 1 – основной проводящий пучок, 2 - дополнительный проводящий пучок, ув. x40

В стеле по четыре основных проводящих пучка и по нескольку мелких, дополнительных, в зависимости от диаметра оси.

При рассмотрении листа с поверхности под микроскопом с обеих сторон листовой пластинки видны клетки эпидермиса с извилистыми стенками, но с нижней стороны листовой пластинки извилистость стенок более выражена, клетки несколько меньше. Устьица расположены на нижней стороне листовой пластинки и окружены 4-5 околоустьичными клетками (аномоцитный тип) (Рисунок 30). Частота встречаемости устьиц  $154 \pm 15$  на  $1 \text{ мм}^2$ .

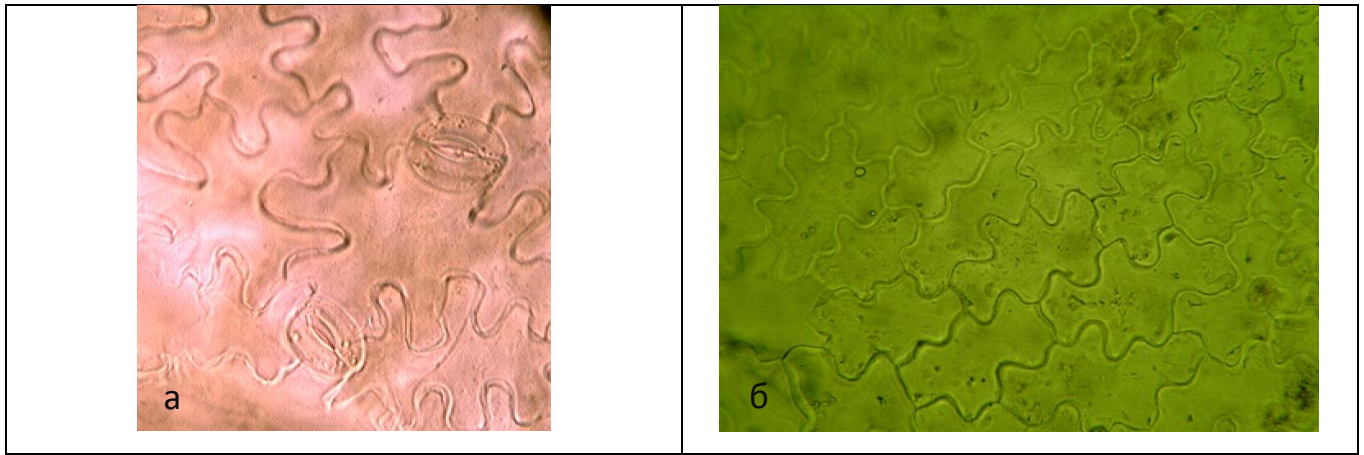


Рисунок 30 – Микропрепарат листа с поверхности, а) эпидермис нижней стороны листа, б) эпидермис верхней стороны листа, ув. x400

Опушение из простых вытянутых или колбообразных толстостенных волосков. Длина простых волосков 79,2 – 96,7 мкм, ширина основания 22,5 – 28,7 мкм. Они приурочены к краям листовых пластинок и жилкам (частота встречаемости 12 – 43 на 1 мм<sup>2</sup>). Головчатые волоски встречаются только по жилкам. Они имеют одноклеточную ножку и 2-4 клеточную головку. Диаметр головки волоска 13,6 – 17,4 мкм. Частота встречаемости 0 – 12 на 1 мм<sup>2</sup> (Рисунок 31).

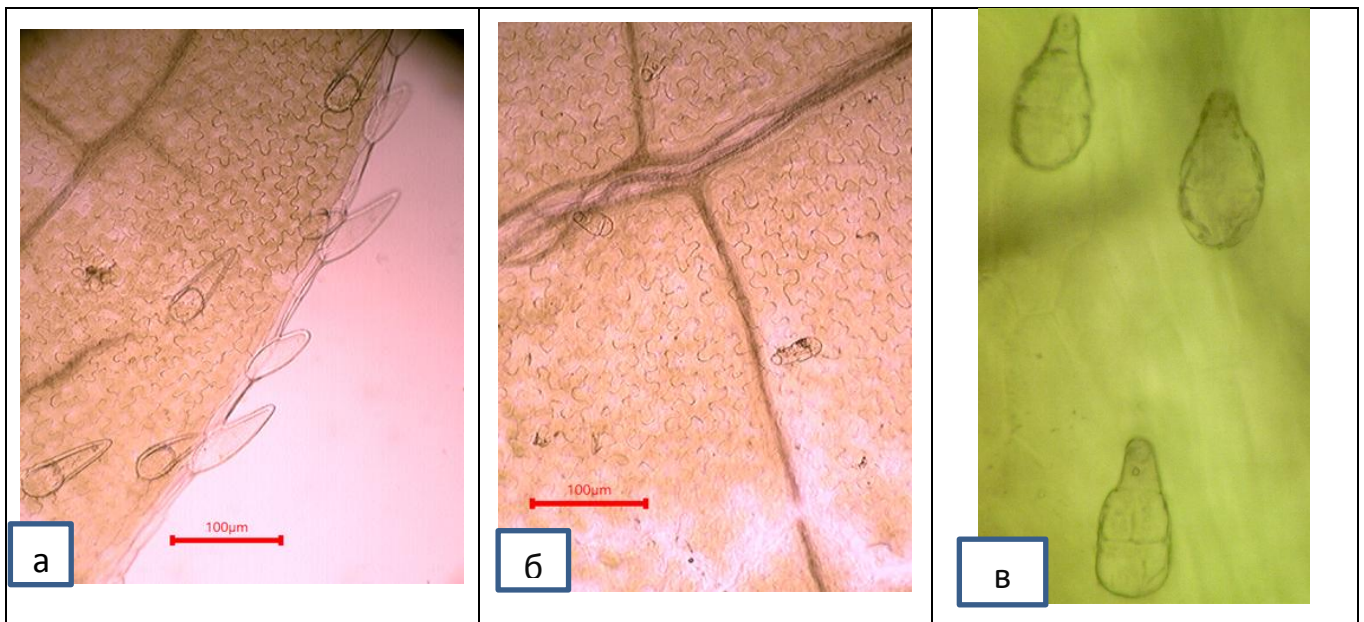


Рисунок 31 - Микропрепарат листа с поверхности, а) простые волоски по краю листовых пластинок, б) головчатые волоски вдоль жилки листа, ув.х100; в) головчатые волоски ув.х400

Центральные жилки на поперечном срезе чаще - прямые сверху и округловыпуклые - снизу, с одним проводящим пучком ( $d = 84,5 - 115,7$  мкм) и склеренхимной обкладкой (сплошной или только снизу). Эпидерма с простыми и редкими железистыми волосками (Рисунок 32).



Рисунок 32 - Поперечный срез жилки сегмента листа, ув.  $\times 100$

Мезофилл состоит из однослойной полисадной ткани (толщина  $14,1 - 16,8$  мкм) и 2-3 слоев губчатой хлоренхимы (толщина  $11,2 - 13,9$  мкм) (Рисунок 33).

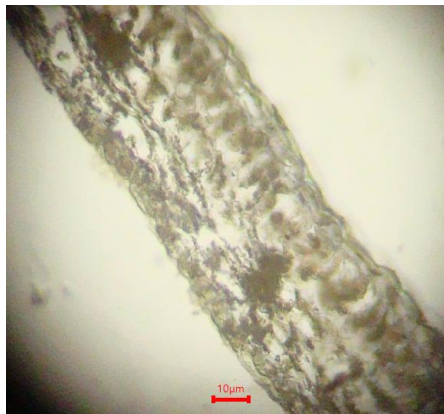


Рисунок 33 - Поперечный срез листа. Структура мезофилла листа, ув.  $\times 100$

Своеобразно строение мощной центральной жилки листа. На поперечном срезе она имеет крыловидную форму с одним центральным и несколькими боковыми пучками. Пучки ( $d = 32,1 - 112,8$  мкм) характерной полукруглой формы со сплошной склеренхимной обкладкой. Пластинчатая колленхима (1-2 слоя)



чаще только снизу жилки (Рисунок 34). Строение центральной жилки листа сходно со структурой черешка и ценно для диагностики (Ю.Н. Горбунов, 2002), что будет учтено в сравнительной характеристике видов.

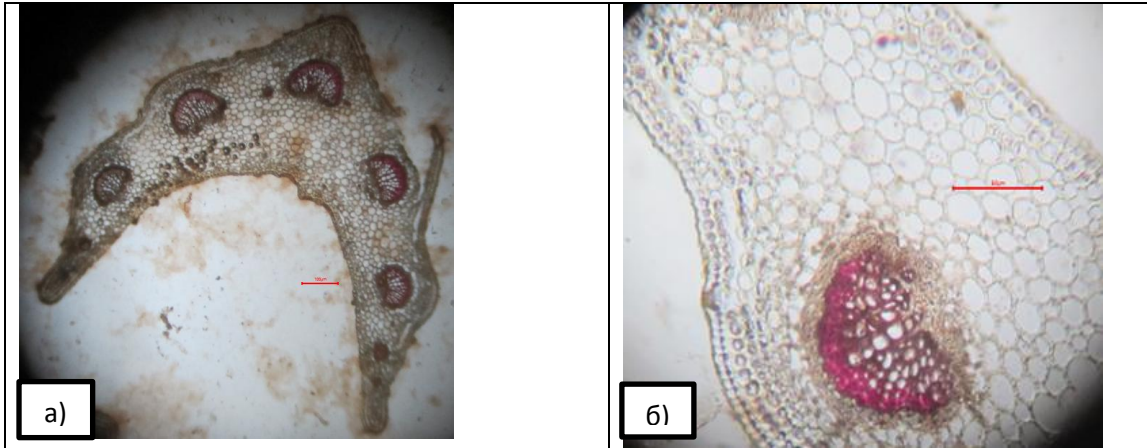


Рисунок 34 - Поперечный срез центральной жилки, а) – проводящие пучки, ув. x40; б) - пластинчатая колленхима, ув. x100

Следует отметить, что микроскопический анализ цветков валерианы проведен нами впервые. Установлено наличие простых одноклеточных вытянутых палочковидных волосков по всей поверхности лепестка. Длина волосков 98,4 – 215,6 мкм, ширина основания 8,2 – 12,6 мкм, частота встречаемости 132 -158 на 1 мм<sup>2</sup>. Редко встречаются головчатые волоски (0-9 на 1 мм<sup>2</sup>). Длина ножки головчатого волоска 22,5 – 28,9 мкм, диаметр головки 8,7 – 14,3 мкм. Отмечается присутствие пыльцевых зерен, диаметром 21,1 -27,8 мкм (Рисунок 35).

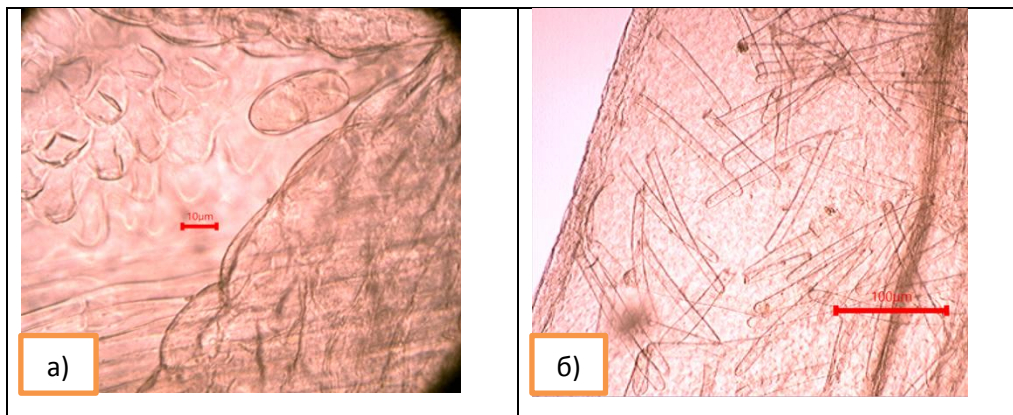


Рисунок 35 - Препарат лепестка венчика: а) ув. x400; б) ув. x100

Таким образом, выявлены и визуализированы основные анатомические диагностические признаки травы валерианы. Данные микроскопического анализа могут быть использованы для установления подлинности исследуемого вида сырья. Дальнейшее изучение структуры других видов рода даст возможность для проведения сравнительного анализа и окажет помощь в диагностике.

### 3.4. Сравнительная характеристика анатомо-диагностических признаков сырья валериан близкородственных видов

Выявление характерных анатомических признаков для дифференциальной диагностики близкородственных видов является одной из важнейших задач современной фармакогностической науки. Проведенные собственные исследования по изучению анатомического строения надземных и подземных органов изучаемых видов валериан в сравнении с аналогичными литературными данными для сырья валериан близкородственных видов, входящих в общий ряд *Officinales* Grub., позволили выявить общие и отличительные признаки их микроскопического строения (Таблица 6 и 7)

Таблица 6 - Сравнительная характеристика анатомо-диагностических признаков подземных органов валериан близкородственных видов

Диагностический признак	Анализируемые виды				
	<i>V. officinalis</i>	<i>V. wolgensis</i>	<i>V. dubia</i>	<i>V. amurensis</i>	<i>V. alternifolia</i>
Общие признаки строения корня					
Строение эпидермиса (ризодермы)	Клетки образуют корневые волоски в виде коротких или удлиненных сосочков				
Строение коры	Широкая, состоит из однородных округлых паренхимных клеток, заполненных крахмальными зернами				
В коре идиобласты с коричневым	+	+	+	+	+

Продолжение Таблицы 6

содержимым				
Молодые корни	Первичное строение: в центральном осевом цилиндре видно кольцо эндодермы, состоящей из клеток с утолщенными радиальными стенками, и группы сосудов.			
Отличительные признаки строения корня				
Старые корни	Вторичное строение: редко встречаются с лучистой древесиной			
Наличие гиподермы с каплями эфирного масла	Клетки крупные, часто с каплями эфирного масла	-	-	
Наличие склеренхимы в центре корня	-	-	+	
Клетки эндодермы	Дифференцирована С утолщенными радиальными стенками	Представлены прямоугольными или квадратными с утолщенными оболочками		
		Со слегка извилистыми оболочками	-	
Сосуды ксилемы	Округлые; расположены парно, радиальными цепочками В стеле молодых корней всего 2-4 сосуда протоксилемы, расположенных в линию	Преимущественно овальные, радиально вытянутые, реже округлые; расположены парно, радиальными цепочками по 3, реже одиночно	Овальные, тангенциально вытянутые, реже округлые; расположены группами по 3-4, парно или одиночно	
Покровная ткань	Представлена 2-3 слойной пробкой, состоящей из полигональных клеток с утолщенными стенками			
Клетки паренхимы	Округлые, заполнены крахмальными зёрнами			
Сосудисто-волокнистые пучки	Открытые коллатеральные, часто искривленные, окружают одним, реже двумя кольцами сердцевину			
Отличительные признаки строения корневища				
Строение сердцевинны	Располагается группа каменных клеток, более	В старых корневищах в ксилеме возникают щелеобразные	Клетки многогранные со слегка извилистыми оболочками.	Мелкоклеточная паренхима, в которой встречаются крахмальные

## Продолжение Таблицы 6

	старые корневища полые	полости	Крахмальные зерна отсутствуют или единичны. Внутренняя часть клеток не разрушается	зерна. Внут- ренняя часть клеток сердцевины разрушается
Строение склеренхимы	-			Состоит из 1-2 слоев одревесневши х клеток
Идиобласты в паренхиме с коричневым содержимым	+	Клетки с валепотриатам и в паренхиме корневища	-	+
Сосуды кси- лемы	-		Овальные, вытянутые в радиальном направлении, реже округлые, расположенные радиальными цепочками по 3-4, парно, реже одиночно	
Клетки эндо- дермы	-	Чётко выражена, с радиально утолщёнными стенками	Плотно сомкнутые прямоугольные и квадратные клетки со слегка извилистыми утолщенными оболочками	-

Таблица 7 - Сравнительная характеристика анатомо-диагностических признаков надземных органов валериан близкородственных видов

Диагностический признак	Анализируемые виды			
	<i>V. officinalis</i> [32]	<i>V.</i> <i>wolgensis</i>	<i>V.</i> <i>dubia</i>	<i>V. Grossheimii</i> Worosch. [32]
Общие признаки строения				
Эпидермис листовой пластинки	Верхняя сторона крупноклеточная, без устьиц или очень редкие, стенки клеток волнистые. Нижняя эпидерма с более мелкими, сильно извилистыми клетками и устьицами аномоцитного типа. Устьевых эпидермальных клеток чаще всего 4 (от 3 до 5)			
Наличие и размещение простых волосков	Опушение из простых вытянутых или колбообразных волосков. Простые волоски расположены по краям листовых пластинок и жилкам листа.			

Продолжение Таблицы 7

Наличие и размещение железистых волосков	Железистые трихомы чаще на нижнем эпидермисе. Головка овальная или цилиндрическая, двухрядно-ярусная, из 2,-4,-8-секреторных клеток, заполненных коричневым веществом. Ножка хорошо заметна, одноклеточная, цилиндрическая обычно изогнутая	
Наличие и размещение железок	-	Железки встречаются часто
Строение простых волосков	Толстостенные волоски	Стенки волосков значительно утолщены
Строение центральной жилки листа	Крыловидная форма с одним центральным и несколькими боковыми пучками. Пучки характерной полукруглой формы со сплошной склеренхимной обкладкой. Пластинчатая колленхима (1-2 слоя) чаще только снизу жилки	От U-образных до широко V-образных форм. 13–15 развитых ведущих пучков, размещённых в один ряд. По направлению крыльев их размеры уменьшаются, иногда наблюдаются более мелкие пучечки, которые проходят самостоятельно или объединяются в большие пучки. По типу строения пучки переходные от коллатеральных, в форме полумесяца или месяца, к амфикибральным. Ведущие пучки окружены 1–3-слойной механической эндодермой
Мезофилл листа	Дорсовентральный. Однослойная полисадная ткань и 2-3 слоя губчатой ткани	Дорсовентральный. Однослойная полисадная ткань и 3-4 слоя губчатой ткани

Представленная сравнительная характеристика требует дополнительных уточняющих исследований, в т.ч. включения других генетически сходных видов, образующих общий сборный цикл *Valeriana*.

Имеющиеся в литературе данные, явно недостаточны для формирования систематизированных сведений о морфолого-анатомическом строении различных, в том числе надземных, органов этого растения, включая большое количество близкородственных видов, а также их вариабельность в зависимости от периода вегетации или географических пунктов роста и заготовки. Дальнейшие исследования анатомо-диагностических признаков сырья валериан будут способствовать составлению ключей-определителей для идентификации близкородственных видов на основе биологических маркеров – особенностей строения микродиагностических признаков.

### **3.5. Изучение морфологических и анатомо-диагностических признаков сырья валерианы волжской методом люминесцентной микроскопии**

Люминесцентная микроскопия с 2018 года заслуженно вошла в число фармакопейных методов исследования морфологии и анатомического строения ЛРС [36, 56, 76, 144].

Однако сведения по применению данного метода для оценки подлинности корневища с корнями валериан различных видов в литературе отсутствуют, что определяет актуальность подобных исследований.

Трава различных видов валериан пока остается малоизученной с фармакогностической точки зрения и применяется в народной медицине. Тем не менее, ее исследования, как потенциального источника биологически активных веществ с разработкой показателей подлинности, также можно считать перспективными.

Люминесцентный анализ тканей листьев, а также поперечных срезов корня валерианы волжской исследовали с использованием люминесцентного микроскопа марки Микромед – 3 Люм (Россия), как указано в Главе 2 (п. 2.2.1). При анализе нижней поверхности листовой пластинки отчетливо визуализируются многочисленные устья аномоцитного типа. Яркая

люминесценция, в основном, характерна для замыкающих клеток устьичного аппарата (Рисунок 36).

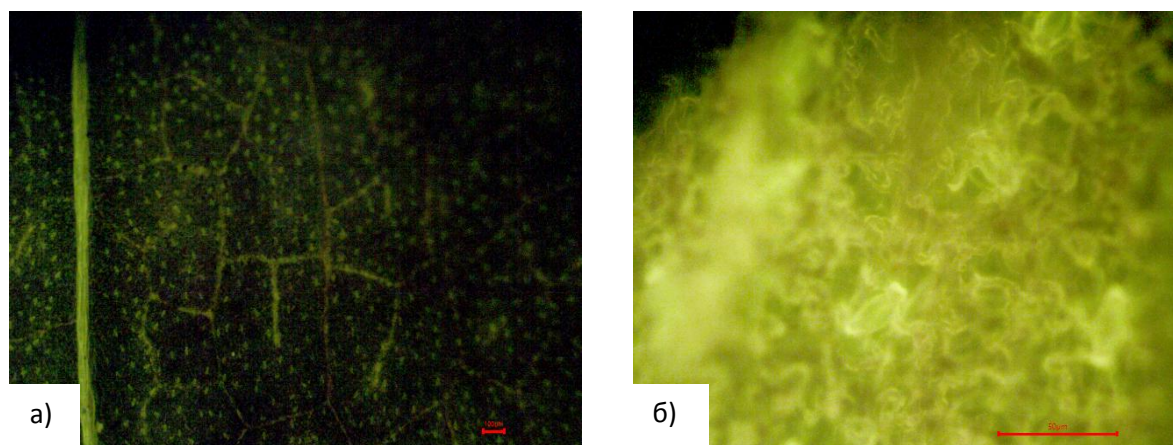


Рисунок 36 - Люминесценция фрагмента нижней поверхности листа: а) ув. x100; б) ув. x400

На верхней поверхности листовой пластинки обнаружены вместилища, которые имеют желто–зеленое свечение. В ходе проведенного ранее микроскопического анализа в проходящем свете [134] указанные структуры не были обнаружены (Рисунок 37), что свидетельствует о перспективности исследования ЛРС с применением люминесцентного анализа с целью уточнения строения отдельных структур и дополнения имеющихся в литературе данных.



Рисунок 37 - Люминесценция фрагмента верхней поверхности листа, ув. x100

Интенсивная люминесценция характерна для трихом листовой пластинки. По краю листа расположены простые вытянутые или колбообразные волоски, имеющие зеленоватое свечение и отчетливо визуализируемые на темном фоне листовой пластинки. Места прикрепления волосков отчетливо визуализируются в виде овально – треугольных образований с зеленоватой флуоресценцией (Рисунок 38).

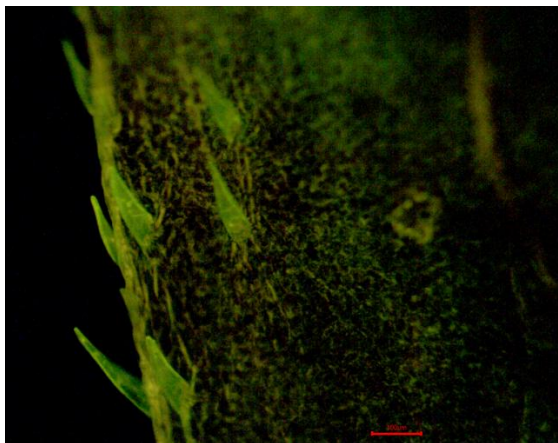


Рисунок 38 - Люминесценция фрагмента края листовой пластинки, ув. x100

Проводящие структуры листовой пластинки люминесцируют ярко – желтым светом. По жилкам встречаются редкие простые конические волоски, имеющие желтое свечение (Рисунок 39).



Рисунок 39 - Люминесценция фрагмента жилки на нижней поверхности валерианы листа, ув. x100



В ходе люминесцентного анализа подземных органов валерианы волжской также были установлены диагностические особенности в свечении тканей придаточных корней. На поперечном срезе корня отмечается наличие эпиблемы с большим числом корневых волосков, которые имеют буро – оранжевое свечение. Ниже расположена гиподерма, в клетках которой локализуется эфирное масло. Гиподерма имеет желтую люминисценцию и образует «кайму» по периферической части корня. Эта особенность может служить диагностическим признаком для установления подлинности подземных органов валерианы при люминесцентно – микроскопическом исследовании (Рисунок 40). В литературе у *V. officinalis* наличие под эпидермой крупных клеток гиподермы с каплями эфирного масла указывается как диагностический признак [131]. Так, например, у видов *V. alternifolia* Ledeb. и *V. amurensis* P. Smirn. ex Kom. такие клетки отсутствуют. Следовательно, наличие или отсутствие гиподермы может являться диагностическим признаком на межвидовом уровне.

Запасающая паренхима многослойная. В ней визуализируются крупные клетки, заполненные валепотриатами, относящимся к эпоксидам бициклических монотерпеновых иридоидов. Что наблюдается в виде островков с желто-зеленой люминесценцией.

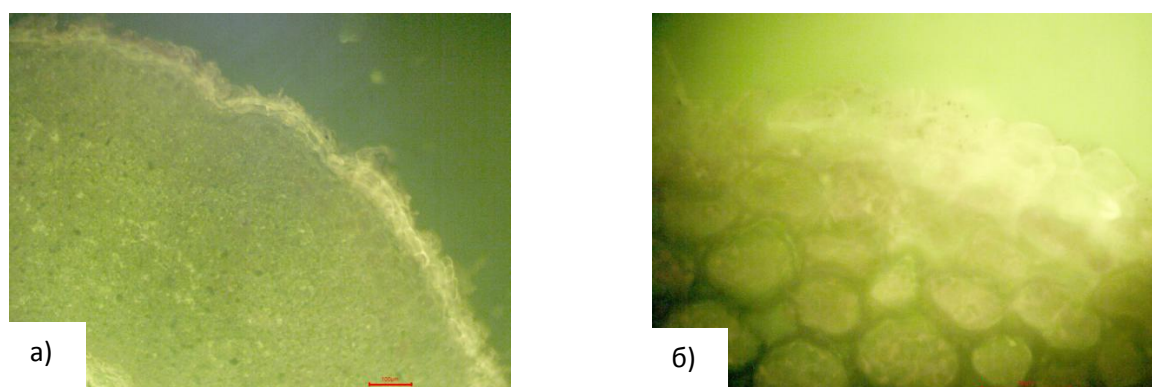


Рисунок 40 - Поперечный срез валерианы волжской корня: а) фрагмент поперечного среза корня, ув. x100; б) фрагмент гиподермы, ув. x400

Данная особенность еще раз подтверждает целесообразность применения метода люминесцентной микроскопии для изучения локализации БАВ в

определенных структурах растительных объектов. Основная масса клеток запасочной паренхимы заполнена крахмальными зёрнами, не имеющими собственного свечения (Рисунок 41).

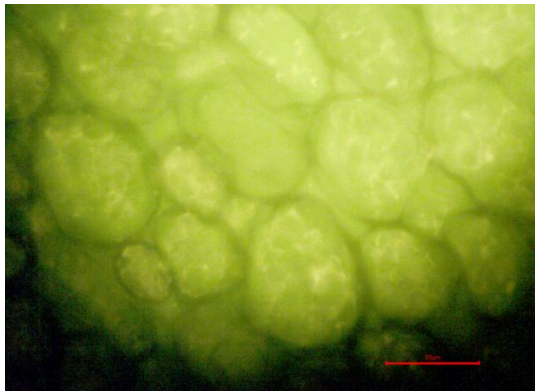


Рисунок 41 - Люминесценция участка запасочной паренхимы корня, ув x100

Интенсивная люминесценция характерна для проводящих элементов центрального осевого цилиндра корня. Пучки разделены узкими радиальными лучами, границы между которыми практически сливаются. Сосуды ксилемы многочисленные, имеют яркое желто-зеленое свечение (Рисунок 42).

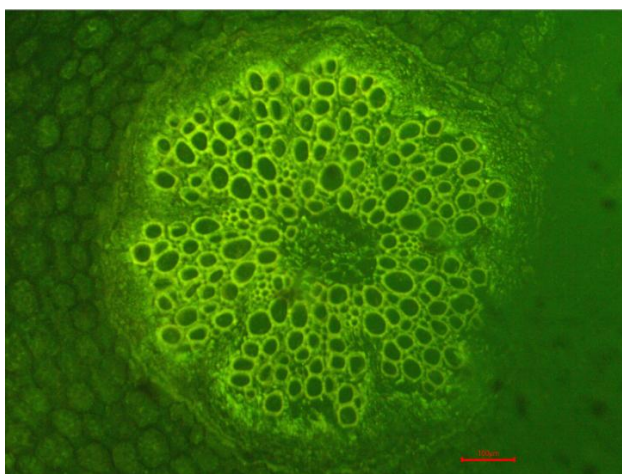


Рисунок 42 - Люминесценция проводящих элементов придаточных корней, ув. x100

Впервые методом люминесцентной микроскопии определены и визуализированы морфологические признаки надземных и анатомические

маркеры подземных органов валерианы волжской. Установлен характер строения и люминесценции трихом, проводящих элементов и паренхимы листовой пластинки валерианы волжской. Выявлена особенность люминесценции гиподермы и клеток основной паренхимы корня валерианы, что дает возможность использовать этот признак как идентификационный, при установлении подлинности данного сырья.

Полученные нами результаты могут быть использованы при составлении ключей для идентификации близкородственных видов растений по анатомическим признакам. Наши исследования, также, будут способствовать дальнейшему всестороннему изучению видов валерианы, относящихся к ряду *Officinales Grub.*, насчитывающих по разным данным от 8 до 11 видов.

### 3.6. Определение показателей доброкачественности исследуемых видов сырья

Для подтверждения доброкачественности корневищ с корнями исследуемых видов валериан, проводили установленные ГФ XIV испытания для сырья валерианы лекарственной. Полученные результаты отражены в Таблице 8.

Таблица 8 - Числовые значения товароведческих показателей корневищ с корнями валерианы волжской и валерианы сомнительной (n=5, p<0,05)

Товароведческие Показатели доброкачественности	Содержание, %		Требования ФС.2.5.0009.15
	Валериана волжская	Валериана сомнительная	
Влажность	9,16±0,42	9,01±0,41	Не более 15%
Общая зола	5,81±0,21	4,38±0,20	Не более 14%
Зола, нераств. в 10% HCL	2,87±0,14	1,97±0,12	Не более 10%
Другие части валерианы	2,61±0,11	1,57±0,10	Не более 5%
Органические примеси	0,58±0,01	1,23±0,11	Не более 2%
Минеральные примеси, %	0,87±0,03	0,63±0,02	Не более 3%
Экстрактивные вещества (70% спирт)	25,15±1,21	27,43±1,31	Не менее 25%

Для подтверждения доброкачественности травы исследуемых видов валериан, проводили определение числовых показателей (Таблица 9), в соответствии с методиками ОФС ГФ РФ XIV издания [36]. Для сравнения полученных значений использовали установленные в ТУ 64-4-44-83 нормативы для травы валерианы лекарственной.

Таблица 9 - Числовые значения товароведческих показателей травы валерианы волжской и валерианы сомнительной (n=5, p<0,05)

Товароведческие Показатели доброкачественности	Содержание, %		Требования ТУ 64-4-44-83
	Валериана волжская	Валериана сомнительная	
Влажность	8,21±0,39	8,03±0,32	Не более 14%
Общая зола	3,92±0,18	3,11±0,16	Не более 9%
Зола, нераств. в 10% HCL	0,84±0,03	0,73±0,02	Не более 2%
Стеблей	27,61±1,12	32,57±1,24	Не более 40%
Органические примеси	0,62±0,01	1,31±0,11	Не более 2%
Минеральные примеси, %	0,25±0,01	0,21±0,01	Не более 0,5%
Экстрактивные вещества (20% спирт)	25,38±1,21	27,54±1,31	Не менее 25%

Все проанализированные показатели соответствуют требованиям ФС. 2.5.0009.15 «Валерианы лекарственной корневища с корнями» и ТУ 64-4-44-83 на траву валерианы лекарственной.

Следовательно, выбранные объекты могут быть использованы для дальнейшего изучения и возможного применения в медицинской практике наряду с официальным фармакопейным сырьем.

### 3.7. Выводы к Главе 3

1. Впервые описаны для цельного сырья морфологические и микроскопические признаки корневищ с корнями и травы валерианы волжской и валерианы сомнительной.

2. В результате микроскопического анализа, в зависимости от пропорций коры и ксилемы, нами условно выделены 2 типа строения придаточных корней:

первого типа с увеличенной долей ксилемы сравнимы со скелетными корнями, на которые опирается корневище при росте; второго типа (более тонкие) имеют обратные пропорции и специализируются на запасающей функции, представляя наибольший интерес для практического использования с точки зрения накопления комплекса БАВ.

3. Впервые выявлены и визуализированы основные микроскопические признаки травы валериан изучаемых видов: клетки эпидермиса нижней стороны листа извилистые и мелкие; устьица аномоцитного типа строения расположены, в основном, на нижней стороне листа. С верхней и нижней стороны листовой пластинки встречаются простые одноклеточные волоски. Простые волоски встречаются также по краю листовой пластинки. С обеих сторон листовой пластинки встречаются головчатые волоски. Они состоят из одноклеточной ножки и многоклеточной головки. Данные микроскопического анализа могут быть использованы для установления подлинности исследуемого вида сырья.

4. Впервые методом люминесцентной микроскопии определены и визуализированы морфологические признаки надземных и микроскопические признаки подземных органов валерианы (на примере сырья валерианы волжской). Установлен характер строения и люминесценции трихом, проводящих элементов и паренхимы листовой пластинки валерианы волжской. Выявлена особенность люминесценции гиподермы и клеток основной паренхимы корня валерианы, что дает возможность использовать этот признак как идентификационный, при установлении подлинности данного сырья.

5. Установлены основные показатели доброкачественности корневищ с корнями и травы исследуемых видов валериан: влажность, зола общая, зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте, измельченность сырья, посторонние примеси, содержание экстрактивных веществ. Все проанализированные показатели соответствуют требованиям действующей НД на данные виды сырья.

6. На основе обобщения и анализа экспериментальных и литературных данных предположено, что подземные органы близкородственных видов ряда V.

*Officinales* отличаются между собой по наличию гиподермы с каплями эфирного масла, склеренхимы в центре корня; строению клеток эндодермы и сосудов ксилемы корня; строению сердцевины, склеренхимы, клеток эндодермы и сосудов ксилемы корневища, наличию идиобластов в паренхиме корневища с коричневым содержимым. Надземные органы различаются по строению простых волосков, клеток эпидермиса, центральной жилки и мезофилла листа, а также размещению железок. Полученные нами результаты могут быть использованы при составлении ключей для идентификации близкородственных видов данного растения по анатомическим признакам.

#### **ГЛАВА 4. ИЗУЧЕНИЕ НАКОПЛЕНИЯ ЭКОТОКСИКАНТОВ КОРНЕВИЩАМИ С КОРНЯМИ И ТРАВой ВАЛЕРИАНЫ ВОЛЖСКОЙ И ВАЛЕРИАНЫ СОМНИТЕЛЬНОЙ, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В ВОРОНЕЖСКОЙ ОБЛАСТИ**

Официальное сырьё и трава валерианы содержат разнообразные БАВ органической природы [32, 41, 52, 152]. Являясь многолетним растением, может накапливать в подземных органах различные экотоксиканты, в т.ч. и токсичные элементы. Надземные органы за период вегетации также могут аккумулировать тяжелые металлы, как за счет поглощения из почвы, так и путем адсорбции листовыми пластинками из окружающей среды. Для удовлетворения всевозрастающей потребности фармацевтической промышленности в данном сырье заготавливаются не только дикорастущая, но и культивируемая валериана. Вместе с тем недостаточно сравнительных данных об особенностях накопления элементов различными видами из сборного цикла валерианы лекарственной, роль которых многообразна. В настоящее время из 92 встречающихся в природе элементов 81 обнаружен в организме человека. При этом 15 из них (Fe, I, Cu, Zn, Co, Cr, Mo, Ni, V, Se, Mn, As, F, Si, Li) признаны жизненно необходимыми. Микроэлементы составляют единый физиологически активный комплекс с действующими веществами лекарственных растений [118]. Наряду с этим важное значение имеет оценка экологической безопасности ЛРС, т.к. микроэлементные загрязнения лекарственных растений возможны не только вблизи промышленных предприятий, но и в результате трансгрессии загрязнителей воздушными и водными потоками на значительных расстояниях от них. Эти токсиканты могут переходить из лекарственных растений в лекарственные формы, а затем поступать в организм человека [18, 63, 97, 125]. Следовательно, актуальным является исследование макро-, микро- и ультрамикроэлементного состава ЛРС, в т.ч. и близкородственных видов к валериане лекарственной, неразличаемых при заготовке. Исследование элементного состава травы изучаемых видов валерианы,

как потенциального источника БАВ, в литературе ранее не описано, что представляет определенный научный интерес.

В данной главе представлены результаты масс-спектрометрического определения элементного состава корневищ с корнями и травы валериан изучаемых видов в сравнении с фармакопейным видом валерианы, произрастающих на территории Воронежской области, а также в других регионах РФ. Приведены данные по анализу остаточных органических пестицидов и радионуклидов в сырье. Предпринята попытка дать оценку экологической безопасности исследуемого сырья.

#### **4.1. Изучение элементного состава корневищ с корнями и травы валерианы волжской и валерианы сомнительной, произрастающих в Воронежской области**

Элементный состав указанных образцов определяли масс-спектрометрией с индуктивно связанной плазмой на приборе ELAN-DRC-e [104], как указано в Главе 2 (п. 2.2.2). Для контроля точности определений применялся метод добавок. Выбор метода обусловлен его высокой чувствительностью и информативностью [64]. В результате проведенных исследований определено содержание 6 макро- (Al, Ca, K, Mg, Na, P), 59 микро- и ультрамикроэлементов (Ag, As, Au, B, Ba, Be, Bi, Br, Ce, Cd, Co, Cs, Cr, Cu, Dy, Er, Eu, Fe, Ga, Gd, Ge, Hf, Hg, Ho, I, In, La, Li, Lu, Mn, Mo, Nb, Nd, Ni, Pb, Pr, Pt, Rb, Re, Sb, Se, Sm, Sn, Sr, Ta, Tb, Te, Th, Ti, Tl, Tm, U, V, W, Y, Yb, Zn, Zr). Из данных, обобщенных в Таблице 10, следует, что наибольшее содержание в траве валерианы волжской отмечено для элементов (в порядке убывания) K>Ca>Mg>P>Na>Fe>Al>Mn>Sr>B>Zn>Ba>Rb>Cu; в траве валерианы сомнительной для элементов – Ca>K>Mg>P>Na>Fe>Al>Mn>Sr>B>Ba>Zn>Rb>Cu; в корневищах с корнями валерианы волжской для элементов - K>Ca>P>Na>Mg>Fe>Al>Mn>Ba>Sr>Zn>B>Rb>Cu>Ti, в корневищах с корнями валерианы сомнительной для элементов – K>Ca>P>Na>Fe>Mg>Al>Mn>Ba>Sr > Zn>B>Rb>Cu>Ti.



Таблица 10 - Элементный состав изучаемого лекарственного растительного сырья и почвы с места произрастания

Элемент	Содержание, мкг/г					
	Трава ВВ	Трава ВС	Корневища с корнями ВВ	Корневища с корнями ВС	Почва (с. Средний Игорец)	Почва (с. Белогорье)
1. Макроэлементы						
Кальций (Ca)	19406±1746	25337±2280	5416±480	9067±816	5150±463	10240±921
Калий (K)	22414±2017	13401±1072	16043±1283	12306±984	9400±752	3300±264
Фосфор (P)	4593±321	5556±388	3541±247	4251±255	570±23	250±13
Натрий (Na)	693±49	670±54	2827±254	3198±192	1850±93	780±31
Магний (Mg)	5378±269	6976±349	1778±89	1803±90	2500±125	900±36
Алюминий (Al)	179±9	195±10	724±29	922±55	22500±900	9400±564
2. Микро- и ультрамикроэлементы						
Бор (B)	57±5,13	50,8±4,064	18,0±1,602	237±21,33	-	-
Бериллий(Be)	0,03±0,0027*	0,03±0,0027*	0,053±0,00318	0,06±0,0047	0,5±0,030	0,3±0,027*
Литий (Li)	1,3±0,117*	1,6±0,144	1,13±0,0904	1,3±0,117*	15±0,720	7,0±0,315
Скандий (Sc)	0,05±0,0039	0,06±0,0054	0,05±0,002	0,06±0,0035	60±4,980	43±1,247
Титан (Ti)	4,28±0,3852	4,9±0,3871	12,6±1,096	15,5±1,395	2000±80,00	1100±74,80
Ванадий (V)	0,54±0,0481	0,49±0,042	3,39±0,1356	3,99±0,2793	-	-
Хром (Cr)	3,36±0,299	3,67±0,3193	4,74±0,1849	5,44±0,3808	170±12,92	530±13,78
Марганец (Mn)	105±9,450	105±9,56	194±15,132	241±9,640	660±33,66	410±28,70

## Продолжение Таблицы 10

Железо (Fe)	375±33,75	347±6,94	1447±86,82	2202±66,06	36600±1793	27200±680
Кобальт (Co)	0,42±0,0374	0,48±±0,042	0,96±0,0672	1,1±0,067	9,0±0,351	5,0±0,130
Никель (Ni)	1,57±0,1397	1,33±0,1064	3,14±0,0628	3,52±0,1619	9,8±0,461	4,8±0,4128
Медь (Cu)	13,7±1,219	12,9±0,6966	15,9±1,113	17,6±0,704	35±1,680	26±1,846
Цинк (Zn)	48,1±4,281	42,2±2,532	37,6±3,271	45,8±3,206	71±5,822	22±0,836*
Галлий (Ga)	0,12±0,0108	0,12±0,0084*	0,26±0,0208	0,34±0,0190	5,0±0,340	3,0±0,231
Германий (Ge)	0,0001±0,000009*	0,0001±0,000009*	0,0035±0,00032	0,005±0,00048	1,0±0,075*	1,0±0,075*
Селен (Se)	0,0005±0,000041	0,0004±0,00003	0,23±0,0207	0,29±0,0133	6,0±0,516*	4,0±0,356
Бром (Br)	9,06±0,8154	8,0±0,496	3,86±0,2702	4,83±0,1884	-	-
Рубидий (Rb)	34,8±3,097	37,8±1,5876	17,4±0,801	21,4±1,070	43±2,494	16±0,608
Стронций (Sr)	94±8,366	88,5±3,540	54±3,186	65,7±4,008	48±2,544	21±0,834*
Итрий (Y)	0,15±0,01185	0,12±0,0084*	0,57±0,0456	0,65±0,0325	6,0±0,516*	3,0±0,222
Цирконий (Zr)	0,24±0,01896	0,27±0,0035	1,07±0,0524	1,19±0,0583	104±7,072	49±1,911
Ниобий (Nb)	0,012±0,0011	0,01±0,0006*	0,062±0,0045	0,08±0,0072	4,7±0,2961	2,3±0,2162
Молибден (Mo)	0,37±0,0366	0,29±0,0246	0,35±0,0312	0,39±0,033	2,9±0,261	2,6±0,234
Серебро (Ag)	0,011±0,0006*	0,01±0,0006*	0,0084±0,00073	0,009±0,0007	2,6±0,2496	0,9±0,089
Торий (Th)	0,053±0,0047	0,04±0,0038	0,19±0,016	0,24±0,0022	3,9±0,298	1,7±0,1956
Индий (In)	0,00056±0,00005	0	0,0016±0,00015	0,002±0,00017	0,1±0,006*	0,1±0,006*
Олово (Sn)	0,033±0,0026*	0,03±0,0027*	0,11±0,0006*	0,13±0,0117	3,4±0,306	2,4±0,216
Сурьма (Sb)	0,033±0,0026*	0,03±0,0027*	0,024±0,0011*	0,031±0,0024	0,8±0,073	0,5±0,049
Теллур (Te)	0,001±0,00009	0,0007±0,00006	0,072±0,0064	0,08±0,0072	0,5±0,048	0,4±0,039

Продолжение Таблицы 10

Йод (I)	0,18±0,0162	0,16±0,0144	0,35±0,0315	0,46±0,032	-	-
Цезий (Cs)	0,041±0,0035	0,03±0,0027	0,063±0,0059	0,08±0,0079	1,4±0,116	0,5±0,049
Барий (Ba)	37±3,663	44,9±4,445	69,7±6,90	76,9±6,69	240±23,76	120±11,52
Гафний (Hf)	0,0026±0,00021	0,002±0,00021	0,02±0,0011*	0,024±0,0022	1,39±0,1376	0,61±0,0604
Тантал (Ta)	0,0006±0,000054	0,00072±0,000065	0,0042±0,00038	0,005±0,000465	0,4±0,035	0,2±0,018
Вольфрам (W)	0,017±0,0011*	0,02±0,0011*	0,18±0,0011*	0,215±0,0194	1,64±0,1312	0,77±0,0616
Рений (Re)	0,00095±0,000086	0,00078±0,00007	0,0001±0,000009	0,0001±0,000009	0,02±0,0018	0,01±0,0006*
Платина (Pt)	0,01±0,0006*	0,01±0,0006*	0,01±0,0006*	0,012±0,0007*	0,13±0,0006*	0,10±0,0006*
Золото (Au)	0,01±0,0006*	0,01±0,0006*	0,01±0,0006*	0,011±0,0006*	0,06±0,0048	0,04±0,0036
Уран (U)	0,032±0,0026	0,03±0,0021	0,14±0,0112	0,18±0,0162	0,8±0,072	0,7±0,061
Таллий (Tl)	0,0085±0,00077	0,01±0,0006*	0,078±0,0068	0,09±0,0006*	0,25±0,0125	0,10±0,0006*
Висмут (Bi)	0,0087±0,00044	0,01±0,0006*	0,011±0,0005*	0,013±0,0007*	0,10±0,0006*	0,05±0,0045
2.1. Лантаноиды						
2.1.1. Легкие лантаноиды						
Лантан (La)	0,19±0,0095	0,15±0,0075	0,75±0,0375	0,87±0,0435	9,0±0,45	4,0±0,20
Церий (Ce)	0,4±0,020	0,32±0,016	1,72±0,086	2,0±0,11	26,0±1,31*	12,0±0,63
Празеодим (Pr)	0,046±0,0018	0,04±0,0015	0,2±0,008	0,23±0,013	2,8±0,145	1,2±0,06
Неодим (Nd)	0,2±0,010*	0,22±0,009	0,75±0,031	0,9±0,459	11,6±0,498	5,0±0,26
Самарий (Sm)	0,04±0,0019	0,04±0,0019*	0,15±0,0065	0,19±0,0076*	2,6±0,131	0,9±0,046
Европий (Eu)	0,095±0,0038	0,01±0,0005	0,03±0,0011	0,038±0,0015	0,5±0,024	0,2±0,013
2.1.2. Тяжелые лантаноиды						
Гольмий (Ho)	0,0061±0,00037	0,01±0,0006*	0,022±0,0009	0,026±0,0012	0,2±0,0053	0,1±0,005*
Эрбий (Er)	0,014±0,0007	0,02±0,0011*	0,051±0,0026	0,063±0,0037	1,09±0,075*	0,51±0,026

Продолжение Таблицы 10

Тулий (Tm)	0,0015±0,00012	0,0012±0,0001	0,0069±0,0006	0,008±0,00047	0,17±0,0011*	0,07±0,0028
Иттербий (Yb)	0,01±0,0006*	0,01±0,0006*	0,039±0,0035	0,046±0,0023	0,69±0,0386	0,32±0,0157
Лютеций (Lu)	0,0016±0,00007	0,0012±0,0006	0,0065±0,0005	0,008±0,00039	0,11±0,0006*	0,06±0,0029
Тербий (Tb)	0,0056±0,0003	0	0,023±0,0012	0,027±0,0011*	0,2±0,0092	0,1±0,006*
Диспрозий (Dy)	0,028±0,0022	0,02±0,0011*	0,11±0,0006*	0,132±0,009	1,3±0,078	0,5±0,045
Гадолиний (Gd)	0,044±0,015	0,04±0,0036	0,17±0,0153	0,198±0,011	1,6±0,081	0,7±0,0623
<b>2.2. Нормируемые токсичные элементы</b>						
Ртуть (Hg)	0,004±0,00016	0,003±0,00012	0,0018±0,00007	0,002±0,00008	0,3±0,012	0,22±0,0088
Свинец (Pb)	0,47±0,0188	0,37±0,0148	2,49±0,099	2,9±0,116	27,0±1,08	8,0±0,32
Кадмий (Cd)	0,039±0,0016	0,04±0,0017	0,15±0,006	0,18±0,0072	0,2±0,0079	0,1±0,0042
Мышьяк (As)	0,28±0,0112	0,25±0,010	0,45±0,018	0,39±0,0156	9,0±0,36	8,0±0,32

«-» не определялось; \* -  $P < 0,05$ .

В ряду макроэлементов доминировали калий и кальций; микроэлементов – железо и марганец. Калий, в организме человека, необходим для регулирования водно-солевого баланса. Наличие калия напрямую влияет на уровень кислот, солей и щелочей в организме. Также важна его роль в работе нервной и сердечно-сосудистой систем, в организации мышечной деятельности. Он участвует в ключевых физиологических и биохимических процессах клетки. Ионы кальция участвуют в процессах свёртывания крови и передачи нервных импульсов, в регуляции сократимости сердечных и скелетных мышц, влияют на секрецию гормонов и нейромедиаторов. Железо участвует в кровообразовании и регуляции внутриклеточного метаболизма, в обеспечении тканевого дыхания. Биологическая роль микроэлемента Mn заключается в активации широкого круга ферментативных реакций. Из них можно выделить: синтез главных компонентов костной и хрящевой тканей, усвоение железа, синтез и обмен холестерина, синтез тироксина [30, 91,118].

При анализе особенностей накопления элементов по органам исследуемых растений обнаружено, что содержание кальция и магния значительно выше в траве, чем в подземных органах анализируемых валериан, что, естественно, обусловлено присутствием магния в составе хлорофилла – главного зеленого пигмента надземных органов растений. Тогда как содержание алюминия и натрия значительно выше в корневищах с корнями, чем в траве анализируемых образцов. Распределение комплекса макро-, микро-, ультрамикро- и токсичных элементов в образцах сырья валериан изучаемых видов приведено на Рисунке 43.

Кроме эссенциальных элементов растения могут концентрировать и токсичные, поэтому при изучении элементного состава ЛРС необходимо давать оценку его экологической безопасности. В настоящее время при оценке загрязнения ЛРС тяжелыми металлами в качестве ориентировочных критериев экологической чистоты, используют допустимые уровни, принятые НД РФ.

Нормы установлены в ОФС «Определение тяжелых металлов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» ГФ РФ XIV издания, а также приняты для БАД на растительной основе, приведенные в

СанПиН [36, 125]. Для сравнительной оценки безопасности применения изучаемого сырья по содержанию токсичных элементов проведен анализ также международных требований, изложенных в зарубежной НД: Фармакопеи ЕАЭС, США и ЕФ (Таблица 11).

Данные Таблицы 11 свидетельствуют о том, что содержание токсичных элементов во всех исследуемых образцах соответствует международным требованиям экологической безопасности.

Таблица 11 - Содержание токсичных элементов в исследуемых образцах ЛРС

Объект исследования	Нормируемые токсичные элементы			
	Свинец (Pb)	Мышьяк (As)	Кадмий (Cd)	Ртуть (Hg)
Трава ВВ	0,47	0,28	0,039	0,004
Трава ВС	0,37	0,25	0,04	0,003
Корневища с корнями ВВ	2,49	0,45	0,15	0,0018
Корневища с корнями ВС	2,9	0,39	0,18	0,002
Почва с. Средний Икорец	27,0	9,0	0,2	0,3
Почва с. Белогорье	8,0	8,0	0,1	0,22
ПДК для сырья, мг/кг				
СанПиН 2.3.3.1078-01 для БАД	6,0	0,5	1,0	0,1
ГФ РФ XIV изд.				
Фармакопея Евразийского экономического союза				
USP 43-NF 38	5,0	неорганическ ий 2,0	0,5	1,0 (метилрт уть 0,2)
EP 10.5	5,0	Общие нормы отсутствуют	1,0	0,1

По данным Таблицы 11 можно сделать вывод о том, что исследуемые близкородственные виды содержат примерно одинаковые количества токсичных элементов в подземных и надземных органах. При этом свинец, мышьяк и кадмий

более интенсивно накапливаются в корневищах с корнями по сравнению с травой: в 5-7 раз, в 1,5 раза и в 3,5-4,5 раза соответственно. Установлено, что ртуть активнее аккумулируется надземными органами – в 1,5-2,0 раза по сравнению с подземными органами.

Полученные данные (Таблица 11), однако, показали, что изучаемое сырье имеет тенденцию к накоплению мышьяка, не превышая допустимых норм, что, в целом, характерно для подземных органов многолетних растений. Полученные нами результаты согласуются с литературными данными. Гравель И.В. с соавторами [63] установлено, что корневища с корнями валерианы лекарственной по сравнению с собранными рядом листьями мать-и-мачехи содержат большие концентрации As в 9,2 раза, Ni – в 3,7 раза, Fe – в 3,2 раза. При этом, изучение процессов перехода As в системе «ЛРС- водное извлечение» показало, что средние значения перехода составили 19 - 67%. Следовательно, ЛРП на основе данного ЛРС будут являться безопасными. Польские ученые подтвердили также безопасность применения растительных препаратов с корнем валерианы лекарственной, доступных в польских аптеках, на основе анализа содержания Pb, Cd, Cu, Mn и Zn методом пламенной атомно-абсорбционной спектроскопии.

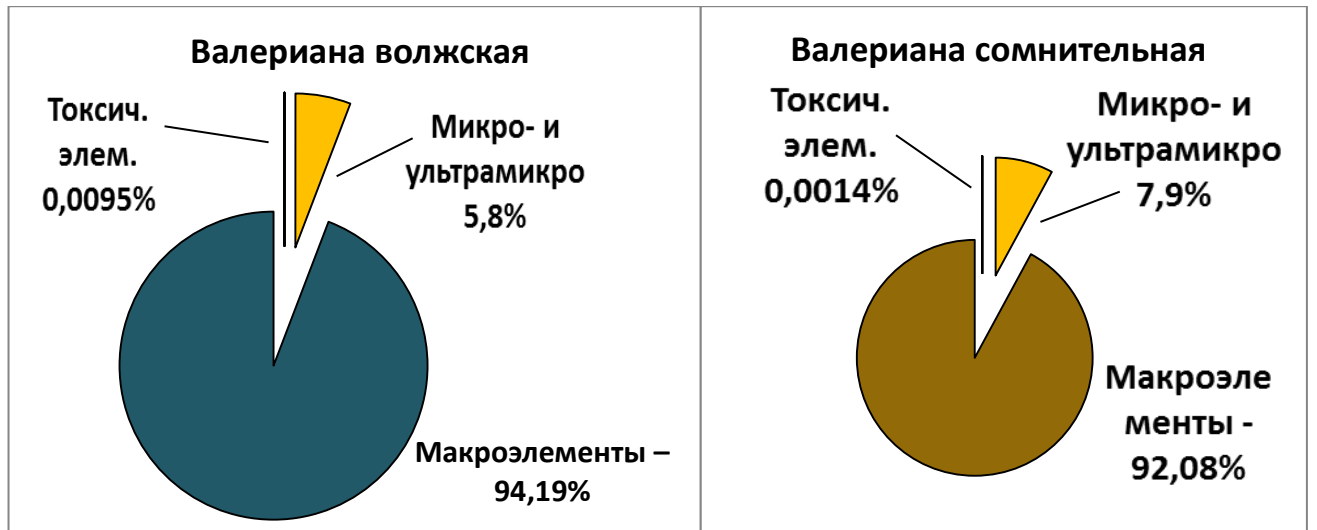
Из данных Рисунка 43 видно, что массовая доля макро-, микро- и ультрамикро-, а также токсичных элементов в траве валериан исследуемых видов практически одинакова (Рисунок 43б), чего нельзя сказать о подземных органах (Рисунок 43а). Так, суммарное содержание токсичных элементов в корневищах с корнями валерианы волжской примерно в 6,5 раз превышает таковое для аналогичного вида сырья валерианы сомнительной.

Фармакопейные показатели качества ЛРС, являются индикаторами техногенного загрязнения сырья (содержание золы общей и золы, нерастворимой в 10 % HCl, минеральной примеси).

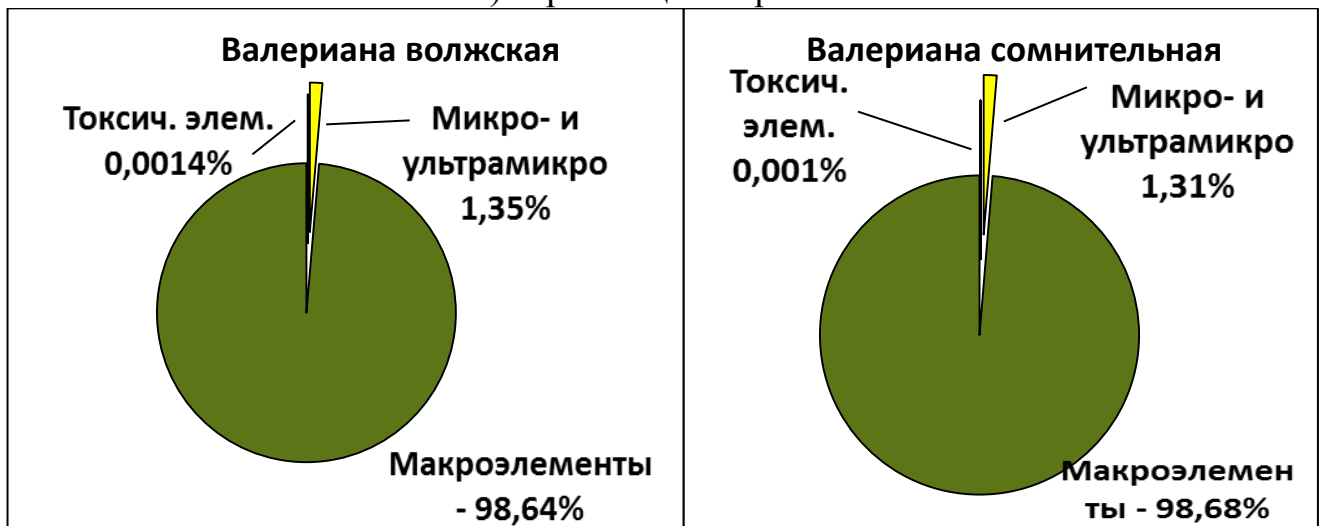
Следовательно, проведено их определение золы общей и золы нерастворимой в кислоте хлористоводородной (Глава 3, п. 3.6, табл. 8) для корневищ с корнями и травы (Глава 3, п. 3.6, табл. 9). Существует прямая

взаимосвязь между показателями зольности растительного сырья и накоплением различных элементов растением, главным образом, тяжелых металлов.

Содержание золы соответствует требованиям ФС. 2.5.0009.15 «Валерианы лекарственной корневища с корнями». Однако, большие значения получены для корневищ с корнями валерианы волжской, что согласуется с данными элементного состава.



а) корневища с корнями



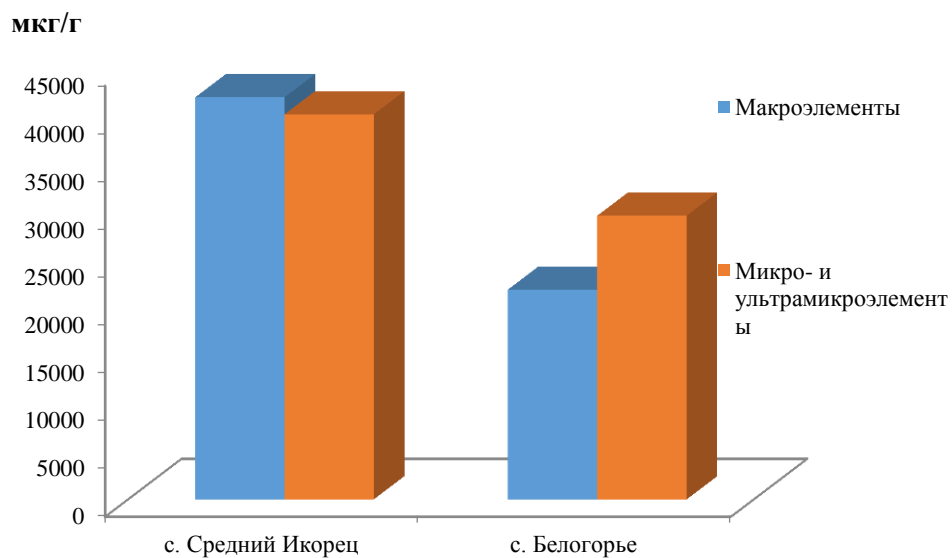
б) трава

Рисунок 43 - Содержание элементов в корневищах с корнями (а) и траве (б) исследуемых видов валериан

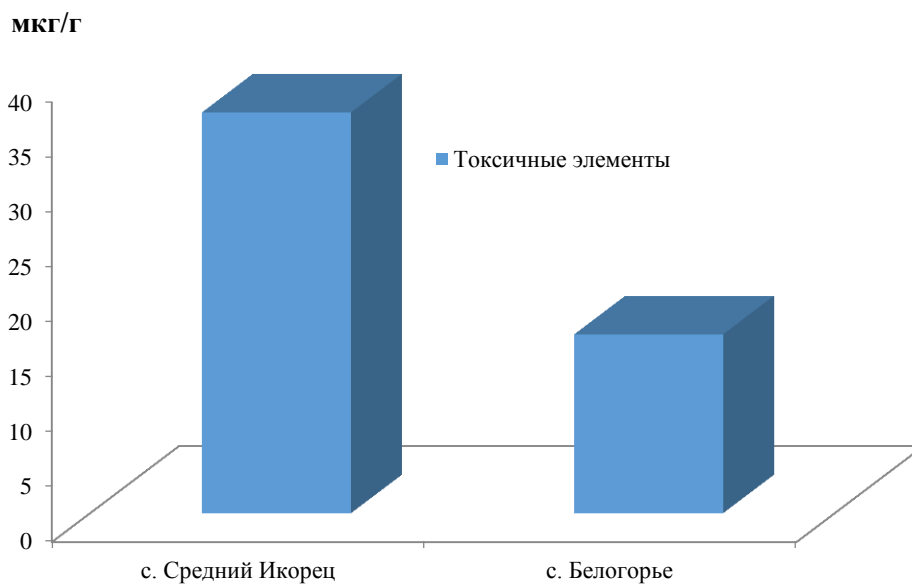
При анализе почв установлено (Таблица 9), что образцы, отобранные в районе с. Средний Икорец Воронежской области содержат гораздо большее количество всех определяемых, в т.ч. и токсичных, элементов (Рисунок 44).



Содержание в почве токсичных нормируемых для ЛРС элементов в 7-9 раз больше, чем в исследуемых подземных органах, и в практически в 70-90 раз, чем в траве растений, что свидетельствует об их неравномерном распределении.



а)



б)

Рисунок 44 - Распределение элементов в исследуемых образцах почв

Данный факт может объясняться не только особенностями накопления в различных морфологических частях, но и длительностью периода вегетации органов (подземные органы многолетних растений). Полученные данные также свидетельствуют о ничтожно малом концентрировании токсичных элементов травой растений в процессе вегетационного периода.

Растения, в зависимости от их физиологических потребностей, избирательно поглощают элементы, необходимые им, поэтому состав элементов в ЛРС во многом определяется качеством почв, на которых они произрастают [113]. Установлено авторами влияние рН почвы на усвоение меди, цинка и марганца сырьем валерианы лекарственной методом атомно-абсорбционной спектрометрии. Предварительные исследования показали, что защелачивание почв стимулировало поглощение меди и марганца, и в то же время приводило к снижению содержания цинка.

В последние годы установлено активное действие лантанидов на растения [20,151], некоторые из которых накапливают значительное их количество. К лантанидам (Ln) относятся 14 элементов: легкие: La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu и тяжелые: Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu. Во многих растениях уменьшение накопления лантанидов идет в таком порядке: корни > листья > стебли > зерно/плоды. Долгие годы лантаниды рассматривали как биологически инертные элементы для живых организмов. Научной информации о влиянии лантаноидов на биохимические процессы в клетках много, но она часто противоречива. С одной стороны, выявлено положительное действие низких доз лантанидов на развитие ряда растений, поэтому их широко стали применять в азиатских странах в качестве микроэлементов удобрений. Кроме того, хлорофилл с лантаном и церием вместо магния способен частично или полностью заменить нормальный хлорофилл, увеличивая активность процессов фотосинтеза. В то же время многими авторами установлен цитотоксический эффект при внесении высоких доз лантанидов. Растения могут сорбировать такие элементы через поверхность своих листьев при опрыскивании; однако, основным путем их поступления через корни. Лантаноиды абсорбируются к ксилеме через тонкие клеточные стенки

корневых волосков и затем транспортируются в другие части. Предположительно, лантаноиды не так токсичны, как другие тяжелые металлы, такие как Cd или As, но могут быть хронически токсичными для людей и вызывать долгосрочные побочные эффекты. Это говорит о необходимости разработки стандартов по их содержанию в окружающей среде, пищевых продуктах и ЛРП, которые пока отсутствуют. В целом, исследования токсичности лантаноидов демонстрируют, что приемлемые суточные дозы для человека составляют 0,1–1,2 мг/кг (оксиды) [203]. Данные по содержанию лантаноидов в изучаемом сырье и почвах представлены впервые в Таблице 10. Сводные литературные данные по содержанию в почвах Европейской части РФ и среднемировые значения приведены в Таблице 12.

Таблица 12 - Сводные литературные данные по содержанию в почвах Европейской части РФ и среднемировые значения, мг/кг [74, 202]

Лантаноид	Почвы			
	Московская обл.	Вологодская обл.	Кировская обл.	Среднее содержание в почвах
La (Lanthanum)	4,1-12,5	22,86	9,4	29,5–40,0
Ce (Cerium)	9,9-28,5	44,38	24,2	29,5–50,0
Pr (Praseodymium)	0,9-2,6	5,23	2,3	3,0–7,7
Nd (Neodymium)	19,6-55,4	20,05	9,0	27,9–35,0
Sm (Samarium)	4,1-11,5	3,74	1,6	4,5–6,1
Eu (Europium)	0,3-0,74	0,66	0,37	1,0–1,9
Gd (Gadolinium)	3,4-9,4	3,13	2,6	3,0–4,7
Tb (Terbium)	0,09-0,22	0,42	0,21	0,63–0,7
Dy (Dysprosium)	2,1-5,4	2,24	1,4	3,8–5,0
Ho (Holmium)	0,1-0,25	0,44	0,23	0,38–1,1
Er (Erbium)	0,92-2,25	1,24	0,88	2–2,8
Tm (Thulium)	0,05-0,1	0,19	0,17	0,16–0,6
Yb (Ytterbium)	1,5-3,3	1,15	1,1	2,3–3,1
Lu (Lutetium)	0,06-0,11	0,22	0,16	0,3-0,4

Установлено, что в подземных органах по сравнению с травой изучаемых видов в 4-5 раз больше содержание таких легких лантаноидов, как La, Ce и Nb и

тяжелых – Er, Tm, Yb, Lu, Gd; на порядок больше для Pr, Tb и Dy. Распределение Eu в надземных и подземных органах примерно одинаково. Корневища с корнями валерианы сомнительной имеют большую тенденцию к накоплению легких лантаноидов, в то время как для валерианы волжской значительнее концентрируются тяжелые лантаноиды. Для надземных и подземных органов валерианы сомнительной прослеживается примерно одинаковое распределение тяжелых лантаноидов.

Показателем, отражающим накопление химических элементов растениями, является коэффициент биологического поглощения (Кбп), представляющий собой отношение содержания элемента в растении к таковому в почве [113]. Значения Кбп, рассчитанные для изучаемых объектов, систематизированы в соответствии с классификацией Перельмана А.И. и представлены в Таблице 13.

Следует отметить, что элементы, непредставленные в Таблице 13 относились к последним двум группам по классификации, и не учитывались, как неспособные накапливаться изучаемыми растениями (это относилось, например, к ртути и свинцу во всех морфологических группах изучаемого сырья, а также к мышьяку в траве и валерианы волжской, и валерианы сомнительной).

Полученные данные свидетельствуют о безопасности применения травы валериан исследуемых видов, так как по значениям Кбп, токсичные элементы не относятся к элементам энергичного накопления (ЭЭН) или элементам сильного накопления (ЭСН). Из токсичных нормируемых тяжелых металлов в корневищах с корнями только валерианы сомнительной может накапливать кадмий, относясь к ЭСН.

В траве двух видов валериан, а также в подземных органах валерианы волжской данный элемент относится к группе слабого накопления и среднего захвата (ЭСНСЗ). Мышьяк для подземных органов характеризовался, как элемент ЭСНСЗ. Лантаноиды травой практически не накапливаются – ЭСНСЗ. Для подземных органов большинство лантаноидов следует отнести к группе ЭСНСЗ.

Распределение элементов в изучаемом сырье по классификации А.И. Перельмана представлено на рис. 45 и 56. Энергично накапливаемые элементы

(ЭНЭ) в сырье валерианы сомнительной представлены только фосфором. К сильно накапливаемым элементам относится в основном только макроэлементы. Абсолютное большинство микро- и ультрамикроэлементов относятся к группе слабого накопления и среднего захвата (СНСЗ) или слабого накопления и очень слабого захвата (СНОСЗ).

Таблица 13 - Коэффициенты биологического поглощения (Кбп) элементов для корневищ с корнями и травы исследуемых видов валериан

Элемент	Корневища с корнями ВВ	Трава ВВ	Корневища с корнями ВС	Трава ВС
Элементы энергичного накопления (ЭЭН)				
Фосфор	-	-	17,00	22,22
Элементы сильного накопления (ЭСН)				
Калий	1,70	2,38	3,72	4,06
Фосфор	6,21	8,05	-	-
Натрий	1,52	-	4,1	0,85
Магний	-	2,15	2,0	7,75
Цинк	-	-	2,08	1,91
Кадмий	-	-	1,8	-
Элементы слабого накопления и среднего захвата (ЭСНСЗ)				
Бериллий	0,1	-	0,2	0,1
Натрий	-	0,37	-	0,85
Магний	0,7	-	-	-
Марганец	0,29	0,15	0,58	0,25
Кобальт	0,1	-	0,22	-
Никель	0,32	0,16	0,73	0,27
Медь	0,45	0,39	0,67	0,49
Цинк	0,52	0,67	-	-
Рубидий	0,4	0,8	-	-
Молибден	0,12	0,12	0,15	0,11
Мышьяк	0,1	-	0,15	-
Кадмий	0,75	0,19	-	0,4
Барий	0,29	0,15	0,64	0,37
Вольфрам	0,1	-	0,27	-
Платина	-	-	0,12	0,1
Золото	0,16	0,16	0,27	0,25
Висмут	0,11	-	0,26	0,2
Лантан	0,19	-	0,22	-
Церий	0,14	-	0,17	-
Празеодим	0,17	-	0,19	-
Неодим	0,15	-	0,18	-
Самарий	0,18	-	0,21	-

## Продолжение Таблицы 13

Европий	0,15	0,48	0,19	-
Гольмий	0,22	-	0,26	0,10
Эрбий	0,10	-	0,12	-
Тулий	-	-	0,11	-
Иттербий	0,12	-	0,14	-
Лютеций	0,11	-	0,13	-
Тербий	0,23	-	0,27	-
Диспрозий	0,22	-	0,26	-
Гадолиний	0,24	-	0,28	-

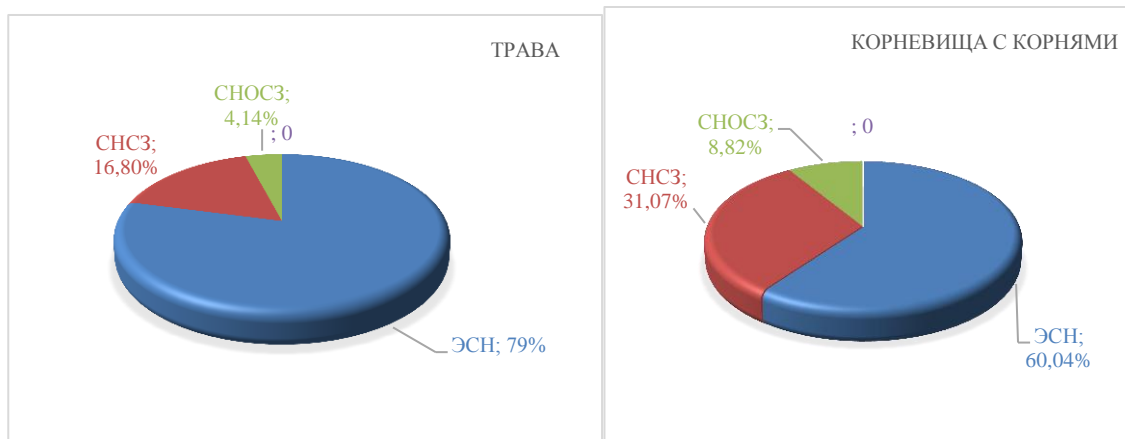


Рисунок 45 – Доля элементов сильного накопления (ЭСН), слабого накопления и среднего захвата (СНСЗ), слабого накопления и очень слабого захвата (СНОСЗ) в сырье валерианы волжской

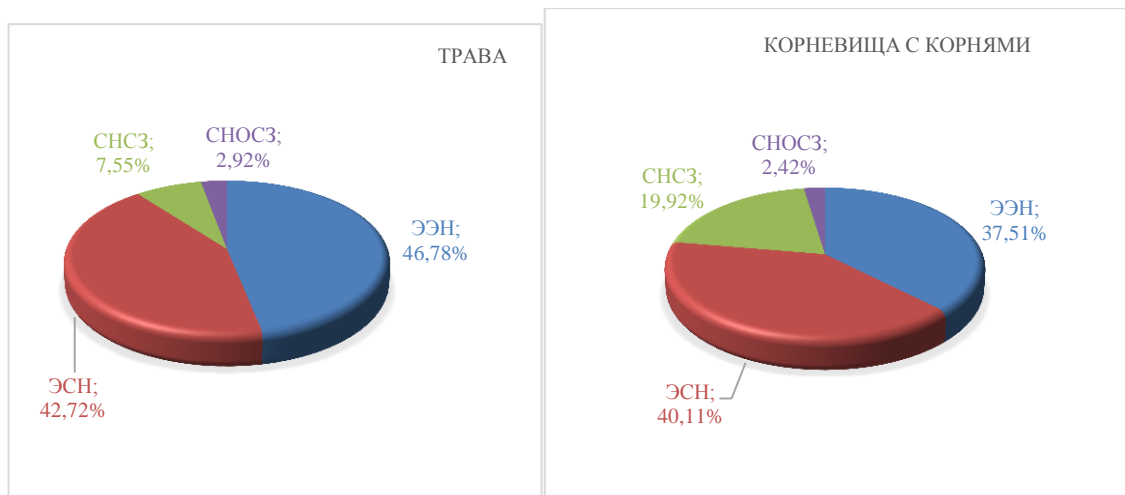


Рисунок 46 – Доля элементов энергичного накопления (ЭЭН), сильного накопления (ЭСН), слабого накопления и среднего захвата (СНСЗ), слабого накопления и очень слабого захвата (СНОСЗ) в сырье валерианы сомнительной

Таким образом, по способности накапливать нормируемые токсичные элементы траву изучаемых видов валериан можно отнести к безопасному растительному сырью вне зависимости от района заготовки. Корневища с корнями валерианы сомнительной имеют тенденцию к активному поглощению кадмия из почвы, что свидетельствует о нецелесообразности сбора подземных органов вдоль оживленных автотрасс и магистралей.

Данные литературы свидетельствуют, что для растения валерианы лекарственной такие элементы как Ca, Fe, Zn, Cu, Sr, Rb, Br, Se, Bi, Pb, As, Hg, Ni, Co, Cr, V, La, Ti, Ba, Sc, Cs, Mo, Nb, Zr задерживаются в первой ступени барьера «почва-корни», а для Mn, Sb, Sn, Cd, Ag – во второй – «корни-надземная часть растения». Ученые показали, что образцы сырья, заготовленные на территории Донецкого ботанического сада, рядом с которым находится автомобильная магистраль, превышают допустимые нормы (ПДК) в надземной и подземной частях по содержанию Fe (в 5,3 и 18,6 раз соответственно), Cd (в 4,0; 5,5), Cr (в 1,2; 1,6), Zn (в 1,2; 1,5) и только в подземной – по Pb (в 1,1 раза).

По данным авторов, несмотря на явные морфологические различия между клубненосными, корневищными и стержнекорневыми валерианами, специфических особенностей в наборе элементов между ними не выявлено. Следовательно, полученные нами выводы могут быть применены для составления общей рекомендации по сбору сырья всех близкородственных видов валерианы, относящихся к сборному циклу *V. Officinalis*, разрешенных к применению в РФ для производства ЛРП. Поэтому сбор ЛРС этого вида растения рекомендуется осуществлять вдали от промышленных предприятий.

#### **4.2. Сравнительное изучение элементного состава корневищ с корнями валерианы лекарственной различных мест произрастания**

Элементный состав корневищ с корнями валерианы лекарственной весьма разнообразен [30, 90, 91]. Вместе с тем недостаточно сравнительных данных об особенностях накопления различных элементов в официальном сырье валерианы

из различных регионов возделывания. В связи с вышесказанным, интересным являлось определение элементного состава официального сырья валерианы лекарственной, культивируемой в Воронежской области в сравнении с образцами сырья из других мест выращивания. Также данные исследования были проведены для сравнительной оценки возможности накопления различных элементов, а главное, токсичных близкородственными видами валерианы, что необходимо для дальнейшего возможного включения этих видов в ФС ГФ РФ «Валерианы лекарственной корневища с корнями». Для сравнительной характеристики элементного состава были использованы корневища с корнями валерианы лекарственной, выращенной в Воронежской области в Новоусманском районе в пос. Рогачевка (ООО «Рослекпром»); на окраине г. Харькова на опытном участке ГНЦЛС; на коллекционном участке Запорожского медицинского университета на о. Хортица, т.е. расположенного практически в центре крупного промышленного города; на дачном участке в Кировоградской области в окрестностях п.г.т. Новомиргород и в северной части г. Ярославль в пос. Скобыкино в питомнике лекарственных растений Ярославской медакадемии.

В процессе проведенных исследований (Таблица 14) определено содержание 7 макро - (Al, Ca, K, Mg, Na, P, Si), 54 микро- и ультрамикрорезонанса. Из данных, обобщенных в Таблице 14, следует, что в каждом анализируемом образце выявлены индивидуальные особенности в накоплении отдельных элементов. Максимум большинства (49) из них определен в хортицком, 5 (Al, P, Pb, Ti, Zn) - в харьковском, 3 (Be, Li, Hg) в скобыкинском, 3 (B, I, Mo) - в новомиргородском и 1 (Au) - в рогачевском образце.

После выявления максимумов проводили анализ вторых после них значений элементов и отметили, что их больше всего (35) содержалось в ярославском, гораздо меньше (14) - в харьковском (B, W, Ge, Fe, La, Nd, Nb, Sn, Pr, Hg, Ag, Sb, Ta, Cs) и меньше всего (6) - в новомиргородском (Al, R, P, Au, Cu, Ti) и хортицком (Be, I, Li, Mo, Zn) образцах. Минимум большинства (45) элементов обнаружен в рогачевском, меньше (12) - в новомиргородском (Ca, Be, W, Gd, Ga, Fe, Y, Co, La, Nd, Sn, Sm) и менее всего (3) - в харьковском (Br, Au, Mo) и ярославском (P)



образцах. После них вторые минимальные значения (Таблица 14) чаще (12) содержались в рогачевском (Ca, Be, Br, W, Gd, Fe, Co, La, As, Nd, Sn, Sm) и особенно в новомиргородском (Mg, V, Bi, Ge, Ho, Dy, Eu, Yb, Cd, Lu, Mn, Ni, Nb, Pr, Hg, Rb, Pb, Cr, Cs, Ce, Zr, Er) образце, реже — в харьковском (Na, I), ярославском (Cu, Mo, Zn) и хортицком (P) образцах.

На основании изложенного выше видно, что максимальные значения большинства анализируемых элементов определены в образцах, заготовленных на городских территориях (гг. Запорожье, Ярославль, Харьков), а минимальные — в образцах из сельских местностей (пос. Рогачевка, Новомиргород).

Таблица 14 - Результаты исследования элементного состава корневищ с корнями валерианы лекарственной из различных мест заготовки

Элемент	Образец (места заготовки)				
	Воронежская обл. Новоусманский р-н пос. Рогачевка	г. Харьков	г. Запорожье	Кировоградская обл. окр. п.г.т. Новомиргород	г. Ярославль
Макроэлементы, мкг/г					
Алюминий (Al)	286,0000	2544,0000	—	358,0000	—
Калий (K)	9848,0000	13382,0000	19584,0000	16527,0000	13776,0000
Кальций (Ca)	1775,0000	3109,0000	6219,4300	1604,0000	4829,7760
Кремний (Si)	576,0000	1260,0000	33164,7990	2518,0000	11104,6080
Магний (Mg)	2224,0000	1959,0000	2919,6950	2487,0000	2893,1090
Натрий (Na)	116,0000	347,0000	1926,2840	1020,0000	1302,4310
Фосфор (P)	2997,0000	6019,0000	2802,4900	4867,0000	1728,6800
Микро- и ультрамикроэлементы, мкг/г					
Барий (Ba)	11,4000	48,5000	334,9430	12,4000	213,1450
Бериллий (Be)	0,0220	0,1200	0,2250	0,0170	0,2640
Бор (B)	3,4000	19,6000	15,4810	39,8000	15,9360
Бром (Br)	2,2100	1,8500	7,6100	5,7500	6,7590
Ванадий (V)	0,9900	4,1400	16,5020	1,1000	5,9030

Продолжение Таблицы 14

Висмут (Bi)	0,0070	0,0160	0,0470	0,0072	0,0200
Вольфрам (W)	0,0180	0,0760	0,1670	0,0110	0,0530
Гадолиний (Gd)	0,0320	0,3400	1,0530	0,0300	0,4210
Галлий (Ga)	0,1100	0,8600	2,6650	0,1100	1,4940
Гафний (Hf)	0,0200	0,2300	0,7800	0,0420	0,2920
Германий (Ge)	0,0200	0,1400	0,4150	0,0350	0,1190
Гольмий (Ho)	0,0055	0,0410	0,1160	0,0058	0,0560
Диспрозий (Dy)	0,0200	0,1900	0,6600	0,0280	0,2590
Европий (Eu)	0,0050	0,0610	0,2880	0,0072	0,1520
Железо (Fe)	192,0000	1402,0000	1889,2440	166,0000	851,7600
Золото (Au)	0,0008	< 0,0001	—	0,0004	—
Иттербий (Yb)	0,0110	0,1100	0,2870	0,0160	0,1580
Иттрий (Y)	0,1500	1,0900	4,8590	0,1500	1,6660
Йод (I)	0,0520	0,1100	0,3510	0,7500	0,2800
Кадмий (Cd)	0,0220	0,0840	0,4100	0,0240	0,1240
Кобальт (Co)	0,2300	0,7500	5,7370	0,1700	2,7270
Лантан (La)	0,1800	1,9600	5,1730	0,1400	1,5610
Литий (Li)	0,3100	1,7600	2,8070	0,3900	2,9660
Лютеций (Lu)	0,0025	0,0190	0,0540	0,0027	0,0240
Марганец (Mn)	14,8000	41,3000	309,2740	26,0000	108,2460
Медь (Cu)	6,0600	8,6600	12,8120	10,0000	7,1160
Молибден (Mo)	0,2200	0,1200	0,5430	0,7300	0,1890
Мышьяк (As)	< 0,0005	< 0,0005	1,4000	< 0,0005	0,4820
Неодим (Nd)	0,1600	1,5400	5,4230	0,1400	1,3450
Никель (Ni)	1,4600	2,9200	9,7440	1,6000	4,6310
Ниобий (Nb)	0,0580	0,7000	1,4610	0,0930	0,6900
Олово (Sn)	0,2000	0,3000	0,3610	0,0410	0,1580
Празеодим (Pr)	0,0330	0,4100	1,0510	0,0420	0,3740
Ртуть (Hg)	0,0006	0,0061	0,0030	0,0015	0,0300
Рубидий (Rb)	2,6100	7,9800	39,8740	5,1100	17,9300
Самарий (Sm)	0,0320	0,3300	1,1490	0,0290	0,3810

Продолжение Таблицы 14

Свинец (Pb)	0,2300	5,1700	2,1390	0,3300	3,9280
Селен (Se)	< 0,0005	0,2900	1,5990	0,1600	0,5550
Серебро (Ag)	0,0170	0,0810	0,1340	0,0180	0,0670
Стронций (Sr)	13,8000	18,2000	85,0390	15,5000	29,0740
Сурьма (Sb)	0,0110	0,0580	0,1100	0,0440	0,0520
Таллий (Tl)	0,0140	0,0370	0,2160	0,0170	0,0710
Тантал (Ta)	0,0038	0,0400	0,0580	0,0059	0,0340
Тербий (Tb)	0,0038	0,0460	0,1440	0,0054	0,0560
Титан (Ti)	20,3000	208,0000	12,2800	30,5000	2,8700
Торий (Th)	0,0430	0,5300	2,7520	0,0500	0,9710
Тулий (Tm)	0,0019	0,0190	0,0410	0,0030	0,0200
Уран (U)	0,0150	0,1300	0,2900	0,0200	0,1470
Хром (Cr)	0,4600	4,3200	19,1860	1,3400	11,5120
Цезий (Cs)	0,0200	0,2200	0,4840	0,0230	0,2030
Церий (Ce)	0,3200	3,8300	10,5270	0,3600	3,8470
Цинк (Zn)	14,0000	100,0000	73,7810	40,8000	38,6820
Цирконий (Zr)	0,9100	8,2000	36,9920	1,5300	14,1200
Эрбий (Er)	0,0130	0,1300	0,4670	0,0170	0,1730

Оценка их экологической безопасности свидетельствует, что в каждом из них не превышены уровни токсичных нормируемых элементов [36]. Свинцом наиболее загрязнен харьковский, кадмием и мышьяком – хортицкий, ртутью – ярославский образцы. Меньше всего этих элементов содержалось в рогачевском и новомиргородском образцах. Анализ данных Таблицы 14 свидетельствует о значительной зависимости элементного состава от экологического благополучия места его произрастания (Рисунок 47).

Таким образом, в корневищах с корнями валерианы, культивируемой в Воронежской, Харьковской, Запорожской, Кировоградской и Ярославской областях, определено 7 макро- (Al, Ca, K, Mg, Na, P, Si), 54 микро- и ультрамикроэлемента, среди которых третью часть составляли эссенциальные (Fe, Cu, Zn, I, Co, Mn, Mo, Se, Ni, Si, Br, V, As, Li) и условно эссенциальные (Bi, Ag, B, Al, Sr). При этом обнаружено, что в официальном сырье из городских территорий концентрации

большинства анализируемых элементов, в том числе и техногенных, выше, чем из сельской местности (Рисунок 48).

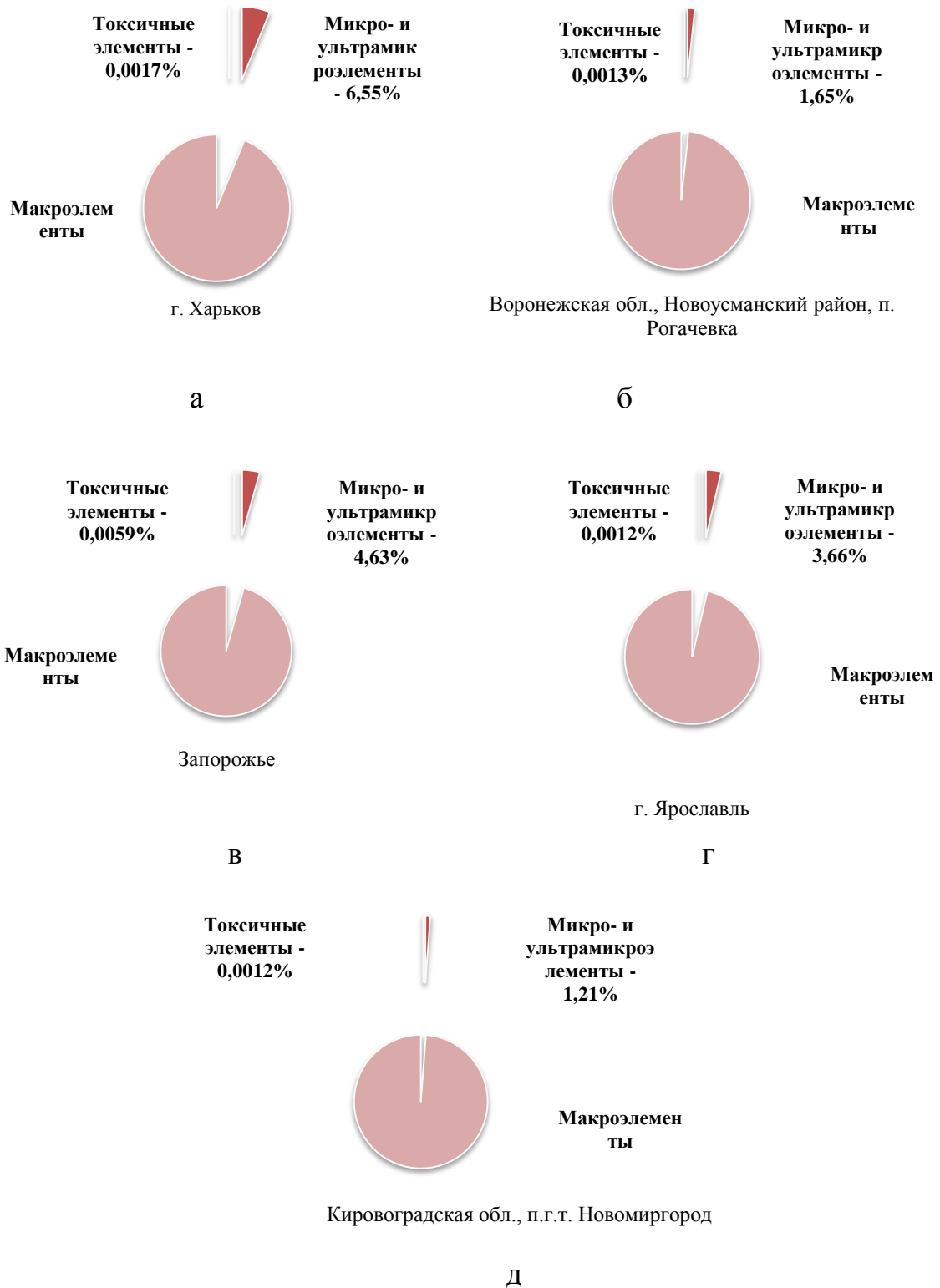


Рисунок 47 - Содержание элементов в корневищах с корнями валерианы лекарственной, заготовленной в различных регионах

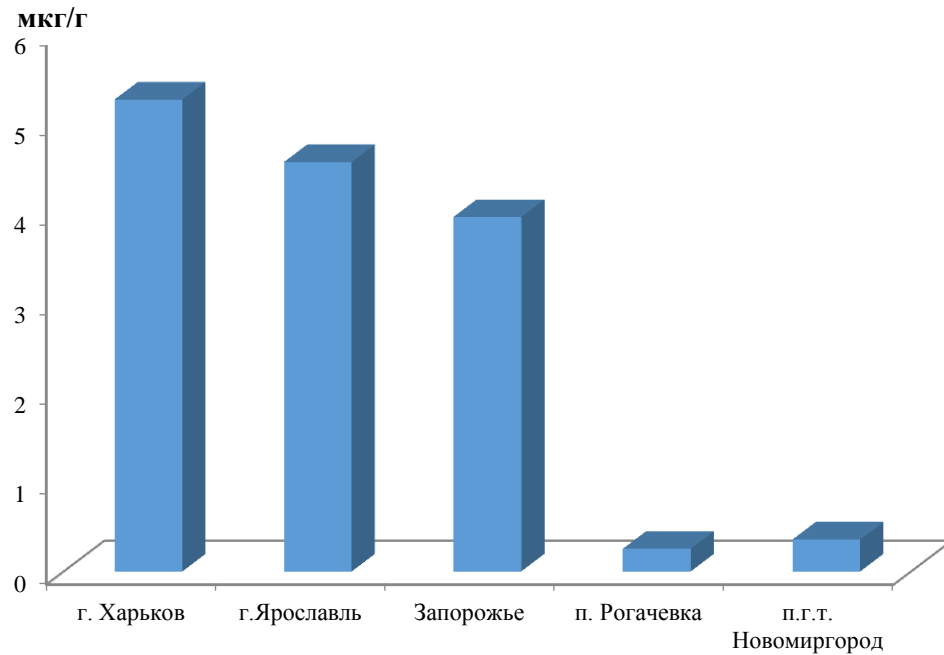


Рисунок 48 - Содержание токсичных элементов в образцах подземных органов валерианы лекарственной, заготовленной на различных территориях

При сравнении элементного состава подземных органов валериан волжской и сомнительной с валерианой лекарственной, заготовленной в поселке Рогачевка Новоусманского района Воронежской области, установлено, что сырье данных видов имеют сходный состав элементов. В группе макроэлементов доминируют К и Са, в группе микроэлементов доминируют Fe и Mn. Для корневищ с корнями ВВ и ВС отмечено наличие 59 микро- и ультрамикроэлементов, для корневищ с корнями валерианы лекарственной -54. Количественное содержание большинства элементов выше в подземных органах ВВ и ВС, чем в подземных органах валерианы лекарственной, что делает эти виды предпочтительнее в качестве дополнительного источника минеральных веществ. Взаимосвязи между различными элементами в растительном организме может быть антагонистическим или синергическим. Антагонизм приводит к тому, что совместное биологическое действие одного или нескольких элементов меньше суммы их действий, взятых по отдельности, а синергизм – к взаимному усилению эффектов при совместном действии. Такие взаимодействия в растительном организме связаны со способностью одного элемента ингибировать или

потенцировать поглощение других [133]. Для оценки способности тяжелых металлов и токсичных элементов снижать или повышать поглощение подземными органами валерианы друг друга на основе полученных экспериментальных данных были рассчитаны непараметрические коэффициенты парной корреляции Спирмена, как наиболее подходящие для оценки скошенных распределений. Результаты расчета представлены в Таблице 15.

Полученные результаты оценивали по шкале Чеддока, в соответствии с которой интервалы значений коэффициентов корреляции: до 0,1; 0,1 - 0,3; 0,3 - 0,5; 0,5 - 0,7; 0,7 - 0,9 и 0,9 - 1,0 соответствуют обратной, слабой, умеренной, заметной, высокой и сильной взаимосвязи [39]. В Таблице 15 жирным шрифтом выделены коэффициенты корреляции, подтверждающие наличие высокой и сильной взаимосвязи содержания элементов в корневищах с корнями валерианы. Согласно данным Таблицы 15, наблюдается сильное влияние мышьяка на концентрирование в подземных органах Ва, Cd, Co, Cr, Mn и Ni; бария на – Cd, Co, Mn и Bi; кадмия на - Co, Cr, Ni и Fe; кобальта на - Cr, Mn, Ni и Bi; хрома на – Mn и Bi. При этом выявлены элементы, которые усиливают поглощение только одного элемента. Так железо способствует накоплению марганца, никель – висмута, свинец – ртути, марганец – никеля, а висмут – ртути. Синхронное увеличение содержания этих элементов в корневищах с корнями валерианы свидетельствует о том, что они усиливают поглощения друг друга этим растением. Следует отметить, что синергическое взаимодействие наблюдается между Ва и Cr, Ni и Hg, также в парах Cd/Mn и Cr/Ni. Выявлена обратная связь для следующих пар элементов Hg/Zn, Mo/Pb, Mo/Hg, Mo/Bi, Mo/Fe и Hg/Cu, то есть Mo проявляет антагонистическое действие на поглощение валерианой токсичных элементов Hg и Pb, а также тяжелых металлов Bi и Fe. Ртуть замедляет всасывание растением Zn и Cu. Согласно литературным данным, Mo наряду с Fe, Cu и Zn является ключевым элементом в физиологии растений.

Таблица 15 - Коэффициенты парной корреляции Спирмена для некоторых изученных химических элементов

	As	Ba	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Mn	Mo	Ni	Pb	Bi	Hg
As													
Ba	0,929*												
Cd	0,821*	0,893*											
Co	0,929*	0,964*	0,857*										
Cr	0,929*	1,00*	0,893*	0,964*									
Cu	0,357	0,429	0,750	0,321	0,429								
Fe	0,571	0,679	0,893*	0,714	0,679	0,750							
Mn	0,821*	0,893*	1,00*	0,857*	0,893*	0,750	0,893*						
Mo	0,179	0,107	0,286	0,036	0,107	0,536	0,071	0,286					
Ni	0,929*	1,00*	0,893*	0,964*	1,00*	0,429	0,679	0,893*	0,107				
Pb	0,214	0,429	0,321	0,393	0,429	0,143	0,393	0,321	-0,607	0,429			
Bi	0,750	0,893*	0,714	0,857*	0,893*	0,179	0,536	0,714	-0,143	0,893*	0,607		
Hg	0,536	1,00*	0,464	0,679	0,714	0	0,357	0,464	-0,464	0,714	0,857*	0,893*	
Zn	0,107	0,393	0,429	0,286	0,393	0,321	0,429	0,429	0,036	0,393	0,536	0,643	-0,107

\* $\rho_{\text{набл}} > \rho_{\text{крит}}$ , зависимость признаков статистически значима ( $p < 0,05$ )

### 4.3. Сравнительный анализ элементного состава официального сырья валерианы лекарственной и его составляющих

На заключительном этапе исследований экологической безопасности сырья проанализирован элементный состав корневищ, корней и официального сырья валерианы лекарственной [69,70].

Сбор материала для исследований осуществлен на учебно-практической базе ЯГМУ, расположенной в окрестностях г. Ярославля. Результаты проведенных нами исследований обобщены в Таблице 16.

Из данных, приведенных в Таблице 16, следует, что в анализируемых образцах сырья определено 6 макро- (Al, Ca, K, Mg, Na, P), 54 микро- и ультрамикроэлемента. Самое значительное количество (23) максимальных значений отдельных химических элементов (Mg, Na, P, Ba, Be, Br, Ce, Cr, Hf, La, Mn, Ni, Pb, Pr, Rb, Sb, Sm, Ti, Th, Tl, V, W, Yb) нами отмечено в корнях, затем в официальном сырье (Al, Ca, Ag, Bi, Cu, Dy, Eu, Fe, Gd, Ge, Hg, Ho, I, Li, Lu, Mo, Nd, Sr, Ta, U, Y) и корневищах (K, B, Cd, Co, Cs, Er, Ga, Nb, Se, Sn, Tb, Zn, Zr). Последующих значений после максимальных больше всего (23) обнаружено в корневищах (Al, Ca, P, Be, Bi, Cr, Fe, Eu, Ge, Hf, La, Lu, Mn, Ni, Pr, Rb, Sr, Ta, Tl, U, V, W, Yb), затем в официальном сырье (K, Mg, Na, B, Ba, Br, Ce, Cd, Cs, Ga, Pb, Sb, Se, Sm, Sn, Ti, Th, Zr) и корнях (Co, Cu, Dy, Er, Gd, Hg, Ho, I, Li, Mo, Nb, Nd, Tb, Zn). В наибольшем количестве минимальных значений отдельных элементов выявлено в корнях (Al, Ca, K, As, B, Bi, Cd, Cs, Eu, Fe, Ga, Ge, Lu, Se, Sn, Sr, Ta, Tm, U, Y, Zr), затем в корневищах (Mg, Na, Ag, Ba, Br, Cd, Cu, Dy, Gd, Hg, Ho, I, Li, Mo, Nd, Pb, Sb, Sm, Ti, Th) и официальном сырье (P, Be, Co, Cr, Er, Hf, La, Mn, Nb, Ni, Pr, Rb, Tb, Tl, V, W, Yb, Zn). На основании изложенного с учетом распределения максимальных и последующих за ними значений отдельных элементов представляется вполне обоснованным использование официального сырья валерианы для приготовления многочисленных препаратов.



Таблица 16 - Элементный состав официального сырья валерианы и его составляющих, мкг/г

Элемент	Корневища	Корни	Корневища с корнями	Элемент	Корневища	Корни	Корневища с корнями
Макроэлементы				Ho	0,0100	0,0500	0,0600
Al	2116,8000	1760,2000	2147,2000	I	0,3700	0,4600	0,8200
Ca	18005,0000	10895,3000	18022,4000	La	1,6100	2,4700	0,1700
K	14099,9000	7022,1000	8749,6000	Li	1,6100	1,8400	2,1900
Mg	3087,6000	3805,8000	3341,4000	Lu	0,0220	0,0200	0,0370
Na	280,6000	921,2000	516,4000	Mn	128,5000	143,2000	118,3000
P	5559,5000	5988,4000	3616,0000	Mo	0,3100	0,3400	0,5300
Микро- и ультрамикроэлементы				Nb	0,9900	0,5800	0,3800
Ag	0,5200	0,9000	1,0200	Nd	1,6600	1,6900	2,8800
As	0,0010	0,0003	0,0010	Ni	3,6000	3,8000	3,3000
Au	0,0001	0,0001	0,0001	Pb	0,5300	3,1900	1,8500
B	34,4000	21,8000	31,9000	Pr	0,5700	0,7800	0,2600
Ba	36,1000	146,1000	55,2000	Rb	8,3000	15,4000	6,4000
Be	0,1000	0,1200	0,0800	Sb	0,0800	0,1300	0,1200
Bi	0,0300	0,0100	0,0400	Se	0,4500	0,1700	0,2600
Br	0,9000	1,9000	0,3000	Sm	0,1800	0,3200	0,2600
Cd	0,1100	0,0600	0,0800	Sn	0,3700	0,2000	0,3000
Ce	1,2900	7,2400	1,8800	Sr	76,6000	20,8000	81,0000
Co	1,2000	1,1000	0,9000	Ta	0,0550	0,0430	0,0560
Cr	0,5360	0,2100	0,2400	Tb	0,0800	0,0600	0,0400
Cs	5,1000	6,3000	4,5000	Th	0,0900	0,3500	0,2300
Cu	6,0000	7,9000	14,8000	Ti	151,9000	233,2000	169,5000
Dy	0,2300	0,2600	0,4500	Tl	0,0850	0,0890	0,0340

## Продолжение Таблицы 16

Er	0,2200	0,0900	0,0300	Tm	0,0200	0,0100	0,0200
Eu	0,0600	0,0100	0,1400	U	0,0800	0,0700	0,1200
Fe	1527,2000	804,1000	2086,1000	V	3,1000	5,3000	1,8000
Ga	1,3700	0,4000	0,4400	W	0,3300	0,3700	0,0900
Gd	0,4600	0,4800	0,5100	Y	0,4800	0,4200	0,7000
Ge	0,0830	0,0310	0,3000	Yb	0,1000	0,1600	0,0200
Hf	0,3660	0,4590	0,3450	Zn	47,1000	33,7000	29,4000
Hg	0,0070	0,0290	0,0350	Zr	19,3000	10,8000	12,1000

Содержание токсичных элементов (As, Cd, Hg, Pb) не превышало их допустимые уровни, установленные ОФС ГФ РФ 14 издания [36]. Мышьяком, кадмием и ртутью более загрязнены корневища и официальное сырье; свинцом – корни (рис. 49).

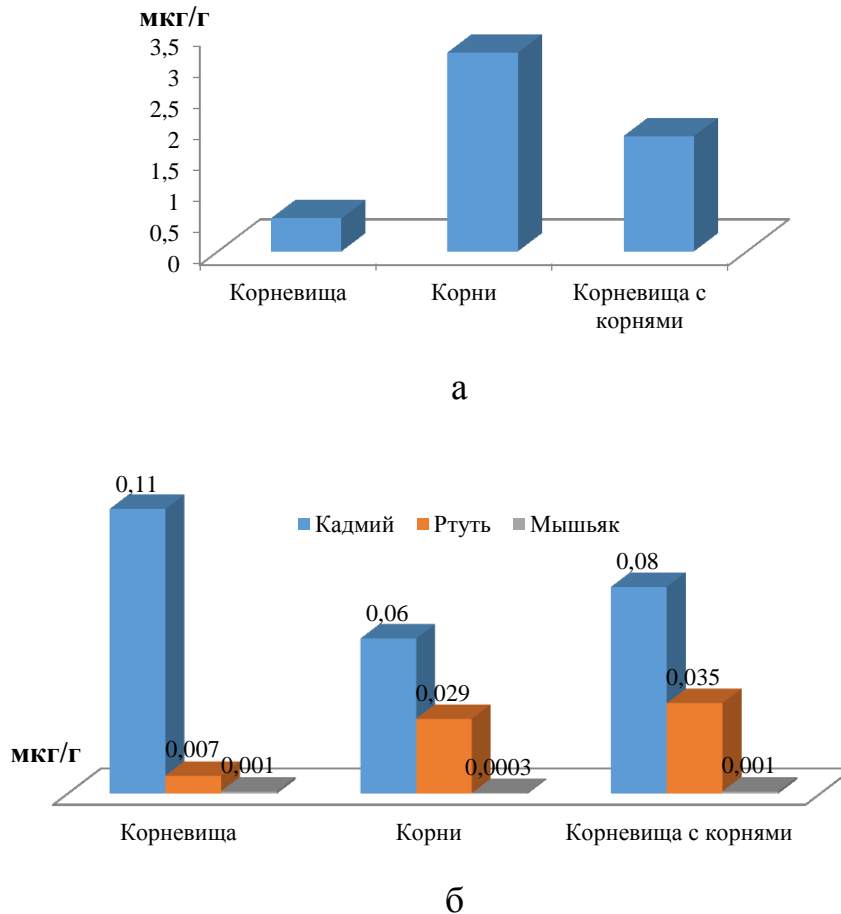


Рисунок 49 - Распределение токсических элементов в сырье и отдельных частях валерианы лекарственной: а) свинец; б) кадмий, ртуть и мышьяк

#### 4.4. Определение пестицидов и радионуклидов в изучаемом ЛРС

К факторам антропогенного воздействия на окружающую среду также относятся радиоактивные выбросы и использование пестицидов.

При сборе дикорастущих растений, а также для оценки возможности культивирования лекарственных растений необходимо давать оценку гамма – спектрометрическим характеристикам заготовленного сырья. Воронежская

область расположена на радиоактивно загрязненных территориях, вследствие аварии на АЭС (г. Чернобыль, Восточная Украина, 1986 г).

В частности, Воронежская область является крупным промышленным центром, в котором функционируют промышленные предприятия и работает атомная электростанция. Радиоактивные и газообразные выбросы, загрязненная токсикантами почва оказывают негативное влияние на доброкачественность и экологическую безопасность лекарственного растительного сырья. Значение каждого из этих основных источников загрязнения различно и подлежит специальному целенаправленному изучению. Необходимо целенаправленно и специально изучать каждый из этих источников загрязнения. Ценность ЛРС напрямую зависит от его экологической безопасности.

Современная нормативная документация наряду с определением тяжелых металлов и мышьяка в ЛРС и ЛРП предусматривает обязательный контроль содержания радионуклидов и остаточных пестицидов [36]. В связи с этим, важное значение имеет выявление экологически чистых районов для заготовки и культивирования лекарственных растений и обосновано рекомендовать эти районы для заготовки сырья.[68]. Подземные органы многолетних растений способны накапливать радионуклиды [88]. Кроме того, авторами [13] показано, что корневища с корнями валерианы лекарственной, произрастающей в некоторых природных лесных экосистемах РФ, по содержанию  $^{137}\text{Cs}$  превышает допустимые уровни в 1,5 – 2,0 раза. Это обусловлено тем, что растения участвуют в процессах самоочищения экосистем, аккумулируя в себе техногенные загрязнители. Поэтому исследования по оценке содержания данных экотоксикантов являются актуальными. В заготовленном изучаемом ЛРС было определено содержание пестицидов и радионуклидов с использованием известных методик (Глава 2, п. 2.2.2). Результаты определений приведены в Таблице 17.

В ходе анализа установлено, что в заготовленном ЛРС не превышено содержание пестицидов и радионуклидов (Таблица 17).

Таблица 17 - Содержание пестицидов и радионуклидов в официальном сырье и траве валериан волжской и сомнительной

Наименование определяемых показателей	Корневища с корнями ВВ	Трава ВВ	Корневища с корнями ВС	Трава ВС	Предельно допустимое содержание (ГФ XIV)
<b>Пестициды, мг/кг</b>					
ГХЦГ( $\alpha$ -, $\beta$ -, $\gamma$ -изомеры	менее 0,001	менее 0,001	менее 0,001	менее 0,001	0,10
ДДТ и его метаболиты	менее 0,007	менее 0,007	менее 0,007	менее 0,007	0,10
<b>Радионуклиды, Бк/кг</b>					
Цезий-137	менее 3	менее 3	менее 3	менее 3	400
Стронций-90	менее 1	менее 1	менее 1	менее 1	200

Анализ полученных результатов в целом позволяет дать комплексную оценку экологической безопасности заготовленного сырья, рекомендовать выбранные районы для заготовки корневищ с корнями и травы валерианы волжской и валерианы сомнительной.

#### 4.5. Выводы к Главе 4

1. Проведено исследование методом масс-спектрометрии элементного состава корневищ с корнями и травы валерианы волжской и валерианы сомнительной и почвы с места произрастания.
2. Не выявлено превышение допустимых нормативов по содержанию в изучаемом сырье токсичных металлов и мышьяка.
3. Определены значения коэффициентов биологического поглощения элементов для исследуемых видов сырья валериан. По способности накапливать нормируемые токсичные элементы траву изучаемых видов валериан можно отнести к безопасному растительному сырью вне зависимости от района заготовки. Корневища с корнями валерианы сомнительной имеют тенденцию к активному поглощению кадмия из почвы, что свидетельствует о

нецелесообразности сбора подземных органов вдоль оживленных автотрасс и магистралей.

4. Обнаружено, что в официальном сырье валерианы лекарственной, заготовленном на территории крупных промышленных городов, концентрации большинства анализируемых элементов, в том числе и техногенных, выше, чем из сельской местности.

5. Накопление химических элементов корневищами с корнями валерианы имеет ряд особенностей. Установлено синергическое взаимодействие между Ba и Cr, Ni и Hg, также в парах Cd/Mn и Cr/Ni. Показано, что Mo проявляет антагонистическое действие на поглощение валерианой токсичных элементов Hg и Pb, а также тяжелых металлов Bi и Fe. Ртуть замедляет всасывание растением Zn и Cu.

6. Проведенный сравнительный анализ элементного состава корневищ, корней и официального сырья валерианы лекарственной показал наличие 60 химических элементов, максимальное и минимальное значение отдельных из них больше всего содержалось в корнях. Содержание токсичных элементов неодинаково распределено в изучаемых частях и официальном сырье растения. Мышьяком, кадмием и ртутью более загрязнены корневища и официальное сырье; свинцом – корни валерианы лекарственной. Однако, все исследуемые образцы соответствовали требованиям ГФ РФ XIV издания по содержанию нормируемых токсичных элементов.

7. Установлено, что подземные и надземные органы изучаемых видов валериан не концентрируют такие экотоксиканты, как радионуклиды и пестициды.

## ГЛАВА 5. ИЗУЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА СЫРЬЯ ВАЛЕРИАНЫ ВОЛЖСКОЙ И ВАЛЕРИАНЫ СОМНИТЕЛЬНОЙ

Валерианы Воронежской области – в. волжская и сомнительная, продолжают оставаться малоизученными в отношении фитохимического состава. Исследование веществ первичного обмена надземных и подземных органов этих валериан ранее не проводилось.

### 5.1. Изучение компонентного состава подземных органов валерианы волжской и валерианы сомнительной, произрастающих в Воронежской области

Для первичной оценки состава БАВ в изучаемых видах валериан флоры Воронежской области проведено изучение компонентов подземных органов методом ГХ/МС (Глава 2, п 2.2.3). Результаты обобщены в Таблице 18.

Таблица 18 – Компонентный состав высушенных подземных органов изучаемых видов валериан, % от общей суммы

БАВ	В. сомнительная	В. волжская
<b>Органические кислоты (низшие, высшие и их производные)</b>		
Уксусная кислота	0,121	0,042
Капроновая кислота	0,022	0,038
Щавелевая кислота	0,083	0,031
2-Гидрокси-2-метил-масляная кислота	0,015	-
Левулиновая кислота	0,013	0,023
Гидракриловая кислота	0,087	0,032
$\beta$ -Оксимасляная кислота	0,095	-
Энантовая кислота	0,012	0,012
2-Этилкапроновая кислота	0,065	0,085
Малоновая кислота	0,032	0,040
Лимонная кислота	1,984	2,032
$\gamma$ -Гидроксимасляная кислота	0,042	-
Бензойная кислота	0,102	0,093
Янтарная кислота	1,133	0,396
Фумаровая кислота	0,067	0,090

## Продолжение Таблицы 18

Треоновая кислота	0,484	-
Яблочная кислота	7,370	3,815
Пальмитиновая кислота	4,171	5,747
Маргариновая кислота	-	0,293
Линолевая кислота	6,116	10,769
Олеиновая кислота	1,606	4,749
Линоленовая кислота	2,035	3,252
Стеариновая кислота	0,408	0,616
Эйкозановая кислота	0,388	0,673
Бегеновая кислота	0,801	1,124
Церотиновая кислота	0,462	0,548
Итого	27,714%	34,500%
<b>Сесквитерпеновые кислоты и их производные</b>		
α-Гидроксивалериановая кислота	0,071	0,069
β-Гидроксиизовалериановая кислота	0,057	-
Валерилизвалерат	-	0,647
Эйкозиловый эфир изовалериановой к-ты	0,362	0,521
Изовалериановый ангидрид	-	0,054
Итого	0,490%	1,291%
<b>Аминокислоты</b>		
Аланин	0,175	0,079
Пироглутаминовая кислота	0,597	0,140
Валин	0,146	0,028
Лейцин + изолейцин	0,172	0,049
Пролин	0,094	-
Серин	0,170	0,081
Итого	1,354%	0,377%
<b>Спирты и их эфиры</b>		
Глицерофосфат	0,457	0,636
<b>Сахара и кетоны</b>		
Фруктоза	1,747	1,224
Арабиноза	0,522	0,303
D-Глюкоза	6,534	3,017
<b>Сахароза</b>	<b>34,496</b>	<b>28,024</b>
1,3-дигидроксиацетон	0,110	0,231
Итого	43,409%	32,799%
<b>Оксикоричные кислоты</b>		
Феруловая кислота	-	0,924
4-Метокси-3-гидроксикоричная кислота	4,470	3,908
4-Гидроксикоричная кислота	-	1,213
Кофейная кислота	0,688	1,699
Итого	5,158%	7,744%



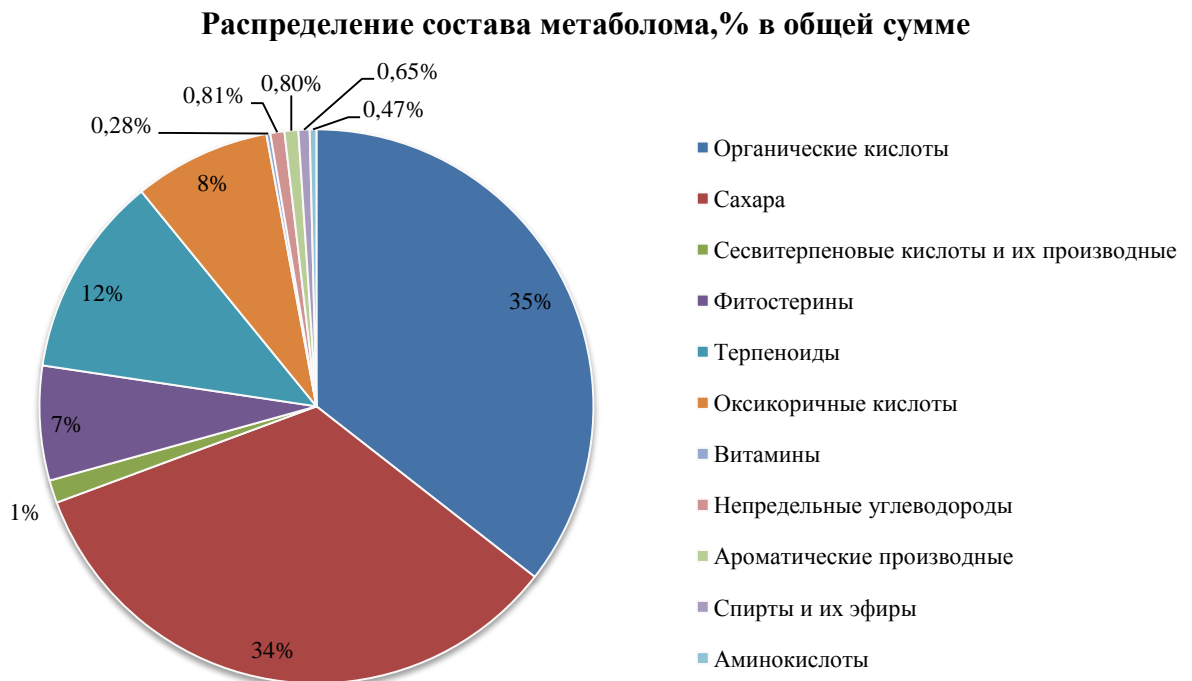
Продолжение Таблицы 18

<b>Витамин Е</b>		
γ-Токоферол	0,123	0,225
<b>Стериновая фракция</b>		
Кампестерол	0,412	0,603
β-Ситостерол	3,116	5,246
Стигмастерол	0,033	0,129
Ситостенон	0,041	0,061
β-Ситостерола ацетат	0,106	0,230
24-Этилкопростанол	0,103	0,214
Итого	3,811%	6,483%
<b>Непредельные углеводороды</b>		
Сквален	0,174	0,796
<b>Ароматические производные</b>		
Тимол	0,058	0,277
Ванилин	0,204	0,502
β-D-Глюкозид тимола	0,461	-
Итого	0,723%	0,779%
<b>Моно- би- и сесквитерпеноиды</b>		
Борнеол	0,172	0,063
Борнилацетат	1,977	0,874
Терпенилацетат	0,479	0,670
β-ионон	0,179	0,139
Аромадендрен	0,810	0,808
Валеренал	5,021	5,305
Терпинеол	0,252	0,260
α-Гурьюнен	-	1,268
Бициклогермакрен	-	0,254
β-Кубенен	-	0,116
δ-Кадинен	-	0,266
Спатуленол	1,275	1,132
Кариофиллен	-	0,254
Балдринал	0,442	-
Итого	10,607%	11,409%

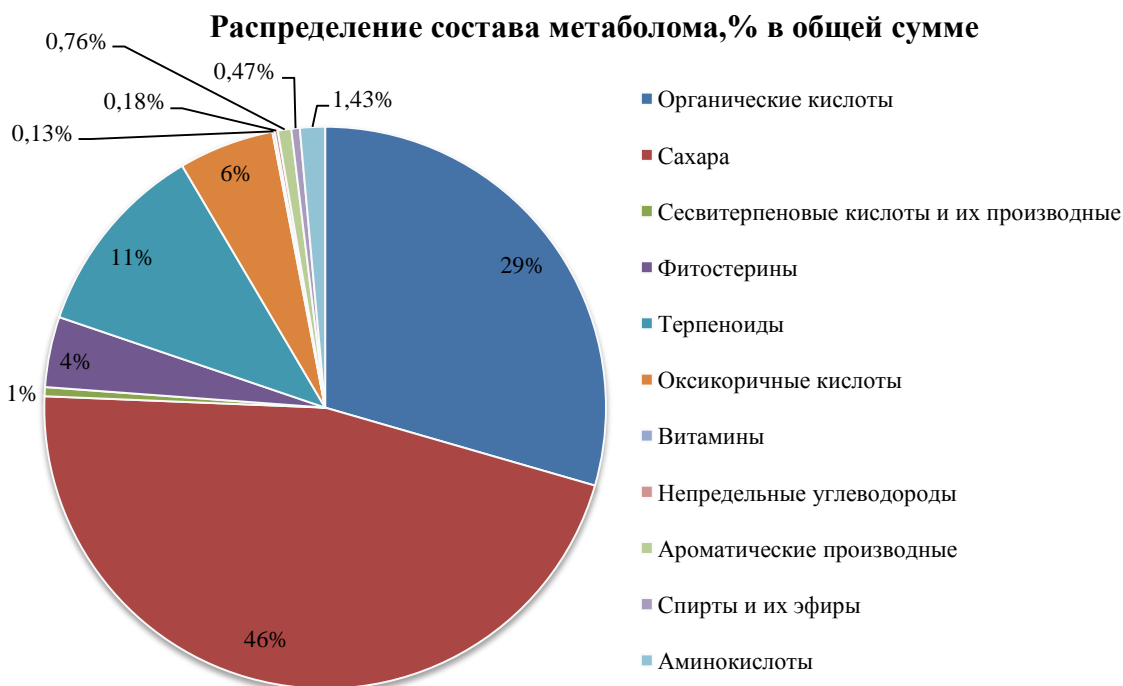
Таким образом, первичный скрининг компонентного состава корневищ с корнями валериан сомнительной и волжской показал наличие 72 соединений, среди которых такие классы БАВ как органические кислоты (ароматического, жирного ряда в т.ч. полиненасыщенные; гидроксикислоты, дикарбоновые

кислоты и другие); сесквитерпеновые кислоты и их производные; аминокислоты; фенолкарбоновые кислоты; сахара (моно- и дисахариды); фитостерины; моно-, би- и сесквитерпеноиды (компоненты эфирного масла). В единственном представительстве представлены спирты и их эфиры (глицерофосфат), непредельные углеводороды – сквален и гомолог  $\alpha$ -токоферола –  $\gamma$ -токоферол.

Среди идентифицированных классов соединений львиную долю составляют в общей сумме сахара 32-43% и органические кислоты 27-34%. Также в значительном количестве присутствуют компоненты эфирного масла 10-11%, оксикоричные кислоты 5-7% и стериновая фракция 4-7% (Рисунок 50). Полученные результаты полностью соответствуют особенностям анатомического строения корневищ с корнями – наличию отложений полисахаридов и капель эфирного масла.



Валериана волжская



#### Валериана сомнительная

Рисунок 50 - Распределение групп БАВ в подземных органах валериан изучаемых видов по данным ГХ-МС анализа

Доля терпеноидов, органических кислот, сесквитерпеновых кислот, фитостеринов и фенолкарбоновых кислот от общего содержания БАВ в корневищах с корнями валерианы волжской больше, чем валерианы сомнительной. Последняя активнее накапливает такие БАВ первичного обмена как сахара и аминокислоты.

Среди терпеноидов в значительном количестве (до 5%) присутствует валеренал, а также спатуленол, борнилацетат и аромадендрен. В подземных органах валерианы волжской идентифицированы  $\alpha$ -гурьюнен, бициклогермакрен,  $\beta$ -кубенен,  $\delta$ -кадинен и кариофиллен, отсутствующие в профиле соединений валерианы сомнительной. Балдринал – обнаружен в корневищах с корнями валерианы сомнительной.

Среди БАВ стеринавой фракции лидирует  $\beta$ -ситостерол в двух изучаемых видах, составляя около 90% от их содержания.

Феруловая и 4-гидроксикоричная кислоты были обнаружены в корневищах с корнями валерианы волжской изучаемого региона произрастания. Преобладает

в общей сумме оксикоричных кислот - 4-метокси-3-гидроксикоричная кислота, составляя от 60% (для валерианы волжской) до 90% (для валерианы сомнительной) от общего количества.

Основными БАВ фракции сахаров являются D-глюкоза и сахароза. Оба представителя накапливаются в количестве около 70% от их общей суммы, преобладая в подземных органах валерианы сомнительной.

Пролин не был обнаружен при анализе сырья валерианы волжской. Кроме того, общая сумма аминокислот в данном виде была практически в 4 раза меньше.

В составе комплекса органических кислот и их производных для корневищ с корнями валерианы волжской флоры Воронежской области за анализируемый период времени были выявлены: кислота маргариновая, валерилизовалерат и изовалериановый ангидрид; валерианы сомнительной: 2-гидрокси-2-метил-масляная кислота,  $\beta$ -оксимасляная кислота,  $\gamma$ -гидроксимасляная и треоновая кислоты, не идентифицированные при этом в подземных органах валерианы сомнительной.

Данные вещества могут вносить вклад в итоговый «неодинаковый фармакологический эффект» (словосочетание было введено и широко использовалось для характеристики фармакологических свойств извлечений корневищ с корнями валериан различных видов сборного цикла «Officinales» известным фармакологом, д.фарм.н, проф., специалистом в области хемосистематики видов валериан Фурсой Н.С.) седативного и спазмолитического свойства суммарных препаратов на основе данных видов (Глава 6, п. 6.3). Однако, требуются дополнительные исследования данных видов, произрастающих на территории других областей, а также оценка накопления БАВ в рамках одного места произрастания за определенный период времени.

В дальнейшем необходимо также провести исследования по изучению влияния времени сбора, способа высушивания и срока хранения сырья на компонентный состав.

## 5.2. Изучение состава БАВ первичного обмена в сырье

Поиск природных источников растительного сырья, богатого БАВ, проявляющими фармакологическую активность (метаболиты как первичного, так и вторичного обмена), является актуальной задачей фармакогнозии. Поэтому следующий этап работы был посвящен изучению состава метаболитов первичного обмена травы и подземных органов валериан волжской и сомнительной.

### 5.2.1. Определение аминокислот

Аминокислоты, в частности незаменимые, не образующиеся в организме животных и человека являются примером веществ первичного обмена лекарственных растений. О свойствах и функциях аминокислот в живых клетках опубликовано огромное количество работ [105,169]. Ранее в литературе данных о составе аминокислот в сырье изучаемых видов валериан не приводилось.

Нингидриновая проба, как наиболее чувствительная и специфичная была использована нами для качественного обнаружения аминокислот в исследуемом сырье. К приготовленному водному извлечению из сырья (1:15) добавляли 0,1% водный раствор нингидрина. При нагревании с избытком нингидрина образуется продукт лилового цвета, что свидетельствует о присутствии свободных аминокислот в исследуемых объектах.

Количественное определение аминокислот (свободных и связанных) проводили на аппарате капиллярного электрофореза «Капель-105» (Глава 2, п. 2.2.3) [151]. Метод основан на различиях в кислотно – основных свойствах аминокислот, т.е. на различиях в знаке и величине суммарного электрического заряда при данном значении рН. На Рисунке 51 - 54 представлены электрофореграммы аминокислот корневищ с корнями валерианы волжской и валерианы сомнительной.

Данные Таблицы 19 демонстрируют, что во всех анализируемых образцах

методом капиллярного электрофореза нами определено по 17 аминокислот. Из них 7 незаменимых, 2 частично заменимые и 8 заменимых аминокислот (Таблица 19).

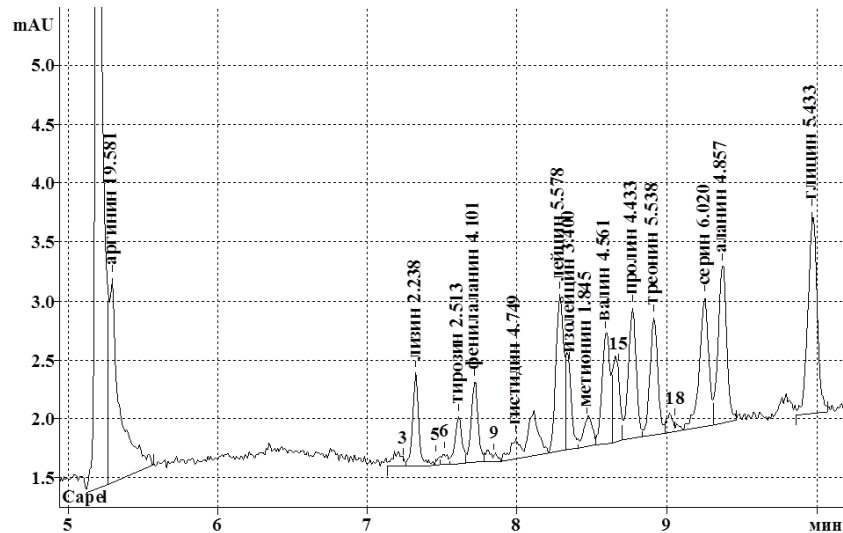


Рисунок 51 - Электрофореграмма аминокислот корневищ с корнями валерианы ВОЛЖСКОЙ

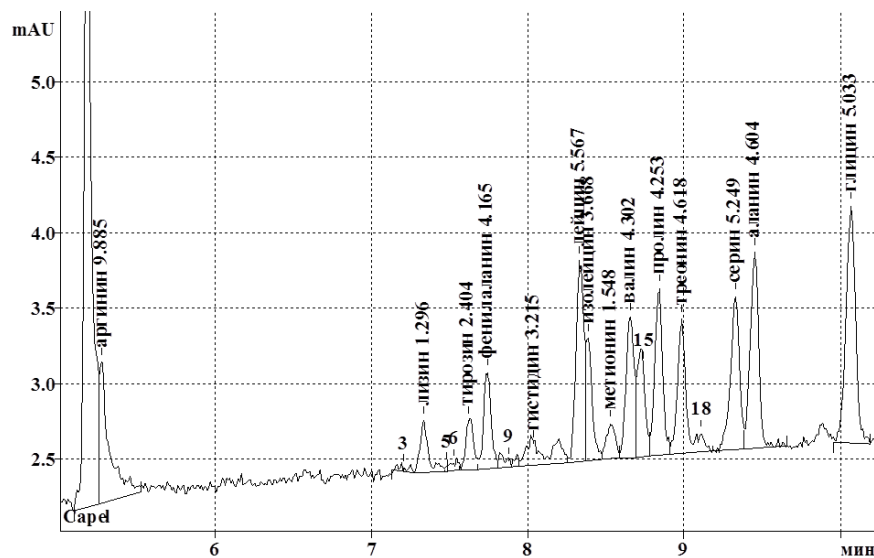


Рисунок 52 - Электрофореграмма аминокислот корневищ с корнями валерианы сомнительной

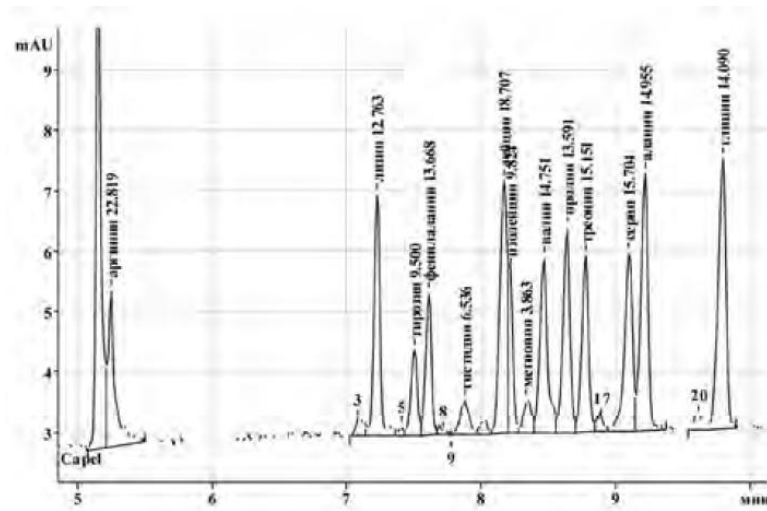


Рисунок 53 - Электрофореграмма аминокислот травы валерианы волжской

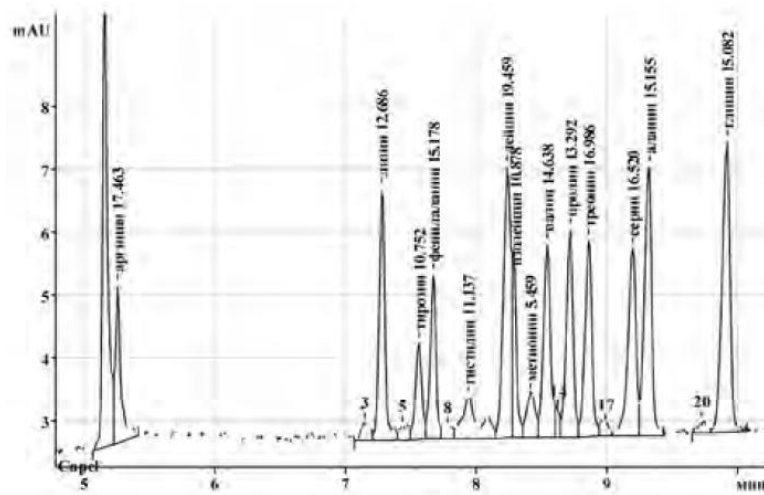


Рисунок 54 - Электрофореграмма аминокислот травы валерианы сомнительной

Аминокислотный состав подземных и надземных органов изучаемых растений представлен моноаминомонокарбоновыми, моноаминодикарбоновыми, диаминомонокарбоновыми и гетероциклическими кислотами (Таблица 19). При идентичном качественном составе, обусловленном общими закономерностями накопления аминокислот в близкородственных видах валериан ряда *Officinales*, анализируемые образцы различались их соотношением. В общей сумме наблюдалось преобладание моноаминомонокарбоновых аминокислот и среди них незаменимых, далее по мере уменьшения содержания располагались

моноаминодикарбоновые, диаминомонокарбоновые и гетероциклические кислоты. Среди моноаминодикарбоновых – глутаминовая и аспарагиновая кислоты преобладали, диаминомонокарбоновых – аргинин и моноаминомонокарбоновых - лейцин, глицин, серин, валин, треонин, аланин. Нами также проведено определение аминокислотного состава подземных органов фармакопейного сырья валерианы (Таблица 19). Для сравнения полученных данных по аминокислотному составу травы, использованы литературные данные для надземных органов официального вида валерианы (Таблица 19) [152,169].

Суммарное содержание аминокислот в подземных органах можно поставить в ряд (Таблица 19) ВЛ > ВВ > ВС [152]. В траве В.сомнительной накапливалось больше аминокислот по сравнению с В.волжской. В литературе представлены данные по содержанию аминокислот в различных органах надземной части растения В.лекарственная, поэтому для сравнения взяты лишь листья, образующие больше данных БАВ по сравнению со стеблями и соцветиями [152, 169]. При сравнительном анализе содержания аминокислот в корневищах с корнями оказалось, что доля моноаминомонокарбоновых кислот в подземных органах валерианы сомнительной от их общего содержания выше, чем валерианы волжской за счет снижения массовой доли гетероциклических и моноаминодикарбоновых кислот (Рисунок 55, 56).

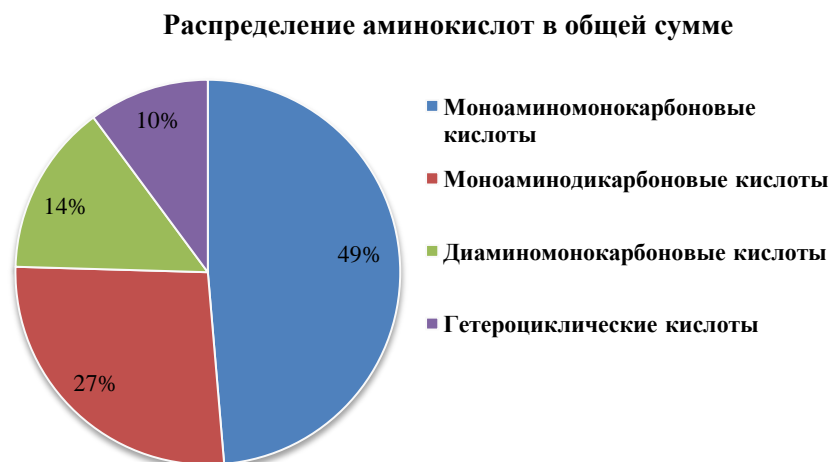


Рисунок 55 - Распределение в общей сумме аминокислот для корневищ с корнями В. волжской



Таблица 19 - Общее содержание свободных и связанных аминокислот в изучаемом сырье валерианы волжской и валерианы сомнительной в сравнении с официальным сырьем валерианы

Аминокислота	Подземные органы						Надземные органы (трава)					
	В. волжская		В. сомнительная		В. лекарственная		В. волжская		В. сомнительная		В. лекарственная (лист)	
	Содержание, %	% от общей суммы	Содержание, %	% от общей суммы	Содержание, %	% от общей суммы	Содержание, %	% от общей суммы	Содержание, %	% от общей суммы	Содержание, %	% от общей суммы
Моноаминомонокарбоновые кислоты												
Ala	0,23	5,18	0,23	5,76	0,37	6,41	0,74	5,71	0,74	5,32	0,17	3,26
Val*	0,22	4,96	0,21	5,27	0,30	5,20	0,73	5,64	0,72	5,17	0,23	4,41
Gly	0,26	5,86	0,25	6,27	0,34	5,89	0,70	5,41	0,74	5,32	0,31	5,94
Ile*	0,16	3,60	0,18	4,51	0,27	4,68	0,45	3,47	0,49	3,52	0,10	1,92
Leu*	0,27	6,08	0,27	6,77	0,54	9,36	0,92	7,01	0,95	6,83	0,07	1,34
Met*	0,09	2,03	0,08	2,00	0,07	1,21	0,19	1,47	0,27	1,94	0,03	0,57
Ser	0,29	6,53	0,26	6,51	0,33	5,72	0,78	6,02	0,81	5,82	0,95	18,20
Tyr	0,12	2,70	0,15	3,76	0,30	5,20	0,47	3,63	0,52	3,75	-	-
Thr*	0,27	6,08	0,23	5,76	0,22	3,81	0,75	5,79	0,83	5,97	0,66	12,64
Phe*	0,20	4,50	0,12	3,00	0,37	6,41	0,68	5,25	0,74	5,32	0,11	2,11
Cys	0,05	1,13	0,04	1,00	0,11	1,91	0,13	1,02	0,12	0,87	0,03	0,57
Сумма, в т. ч.	2,16	48,65	2,02	50,61	3,22	55,81	6,54	50,42	6,93	49,83	2,66	50,96
заменяемых	0,95	21,40	0,93	23,30	1,45	25,13	2,82	21,79	2,93	21,08	1,46	27,97
незаменимых *	1,21	27,25	1,09	27,31	1,77	30,68	3,72	28,63	4,00	28,75	1,20	22,99

Продолжение Таблицы 19

Моноаминодикарбоновые кислоты												
Asp	0,51	11,48	0,48	12,03	0,62	10,75	1,57	12,12	2,02	14,52	0,11	2,11
Glu	0,68	15,32	0,57	14,29	0,80	13,86	2,09	16,14	2,30	16,53	0,81	15,52
Сумма	1,19	26,80	1,05	26,32	1,42	24,61	3,66	28,26	4,32	31,05	0,92	17,62
Диаминомонокарбоновые кислоты												
Arg	0,53	11,93	0,49	12,28	0,43	7,45	1,13	8,73	0,85	6,11	0,15	2,87
Lys*	0,11	2,48	0,06	1,50	0,28	4,85	0,63	4,86	0,62	4,46	0,57	10,92
Сумма	0,64	14,41	0,55	13,78	0,71	12,31	1,76	13,59	1,47	10,57	0,72	13,79
Гетероциклические кислоты												
Pro	0,22	4,96	0,21	5,26	0,30	5,20	0,67	5,17	0,65	4,67	0,31	5,94
His	0,23	5,18	0,16	4,02	0,12	2,08	0,32	2,47	0,54	3,88	0,61	11,69
Сумма	0,45	10,14	0,37	9,28	0,42	7,28	0,99	7,64	1,19	8,55	0,92	17,62
Общая сумма аминокислот	4,44	100	3,99	100	5,77	100	12,95	100	13,91	100	5,22	100
заменяемых	3,53	29,73	2,84	71,18	3,72	64,47	8,60	66,42	9,29	66,79	3,48	66,67
незаменимых *	1,32	70,27	1,15	28,81	2,05	35,53	4,35	33,49	4,62	33,21	1,74	33,33

При сравнении с подземными органами валерианы лекарственной оказалось, что преобладающими аминокислотами в ней также были моноаминомонокарбоновые и моноаминодикарбоновые кислоты (Рисунок 57).

Распределение аминокислот в общей сумме

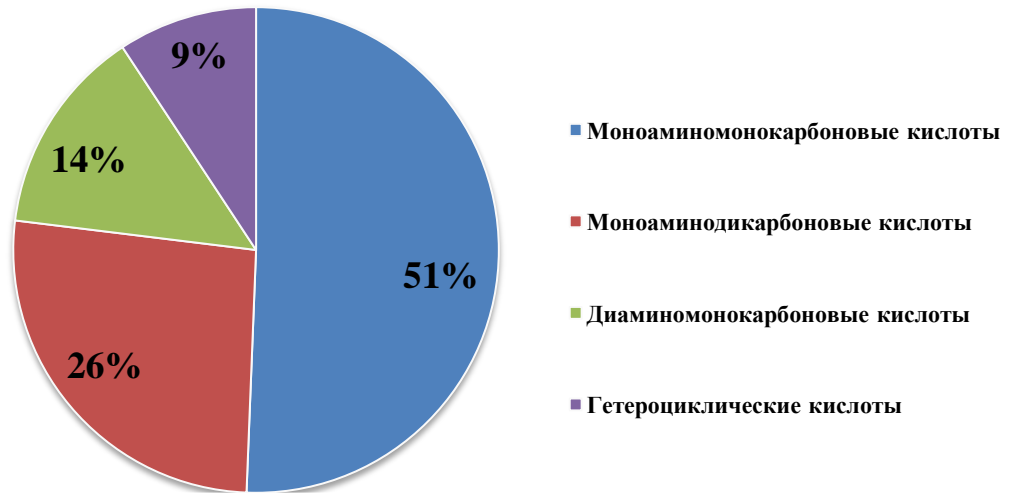


Рисунок 56 - Распределение в общей сумме аминокислот для корневищ с корнями В. сомнительной

Распределение аминокислот в общей сумме

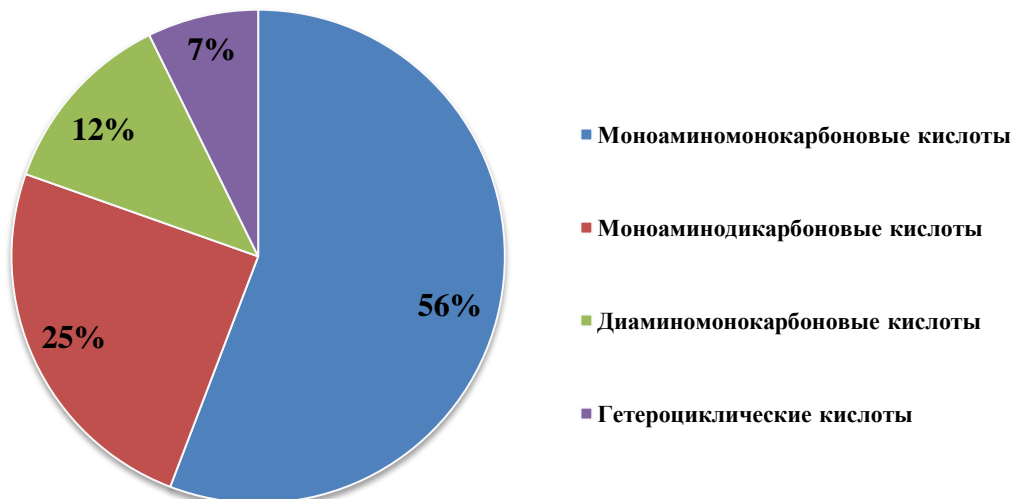


Рисунок 57 - Распределение в общей сумме аминокислот для корневищ с корнями В. лекарственной

При сравнительном анализе содержания аминокислот в траве установлено, что доля моноаминомонокарбоновых кислот в изучаемых видах валериан составляла ровно 50 % (Рисунок 58, 59).

При этом основное отличие отмечалось в массовых долях моноаминодикарбоновых и диаминомонокарбоновых кислот (Рисунок 58, 59).

**Распределение аминокислот в общей сумме**

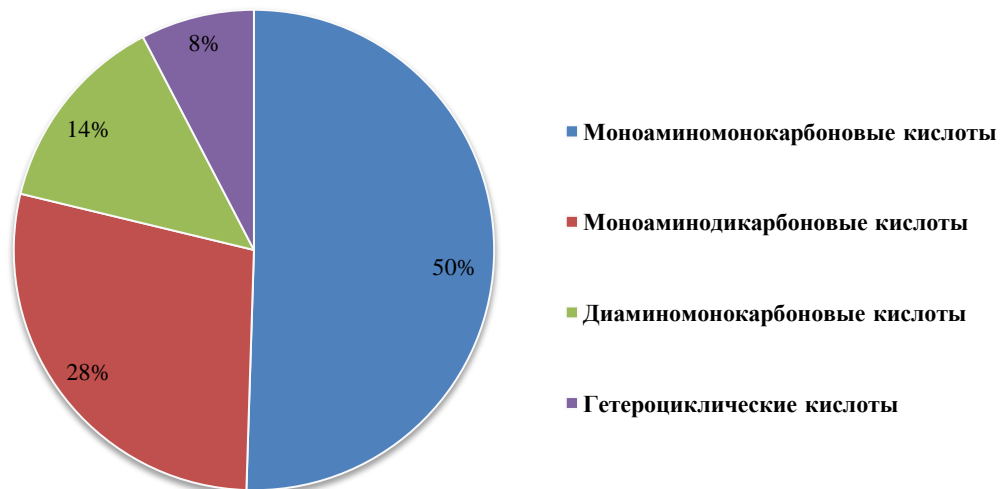


Рисунок 58 - Распределение в общей сумме аминокислот для травы В. волжской

**Распределение аминокислот в общей сумме**

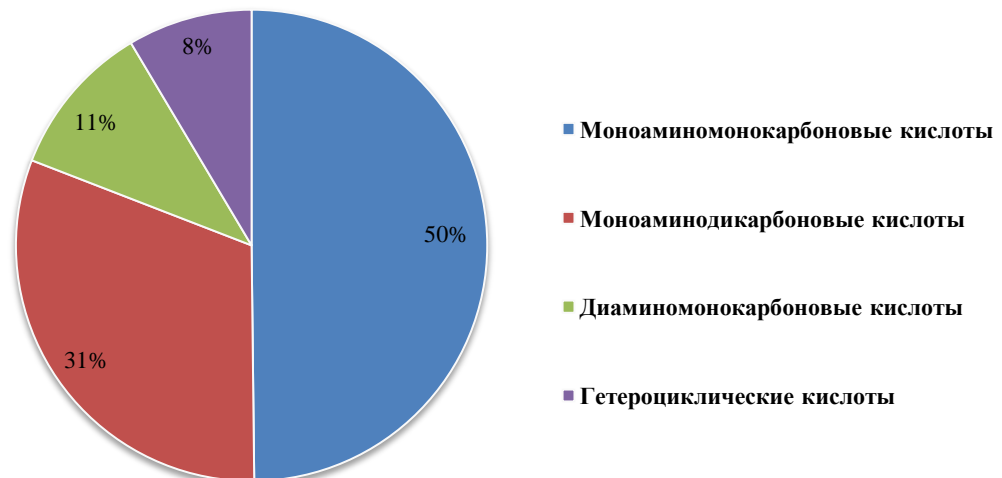


Рисунок 59 - Распределение в общей сумме аминокислот для травы В. сомнительной

Общая сумма аминокислот для корневищ с корнями валерианы волжской составляет 4,44%, для валерианы сомнительной 3,99% (Рисунок 60), а для травы 12,95% и 13,91% соответственно (Рисунок 61).

Соотношение заменимых и незаменимых аминокислот в изучаемых образцах примерно одинаково.

При сравнительном анализе отмечено, что в корневищах с корнями всех анализируемых видов (лекарственная, сомнительная и волжская) содержалось меньше всего аминокислот, как в сумме, так и каждой в отдельности.

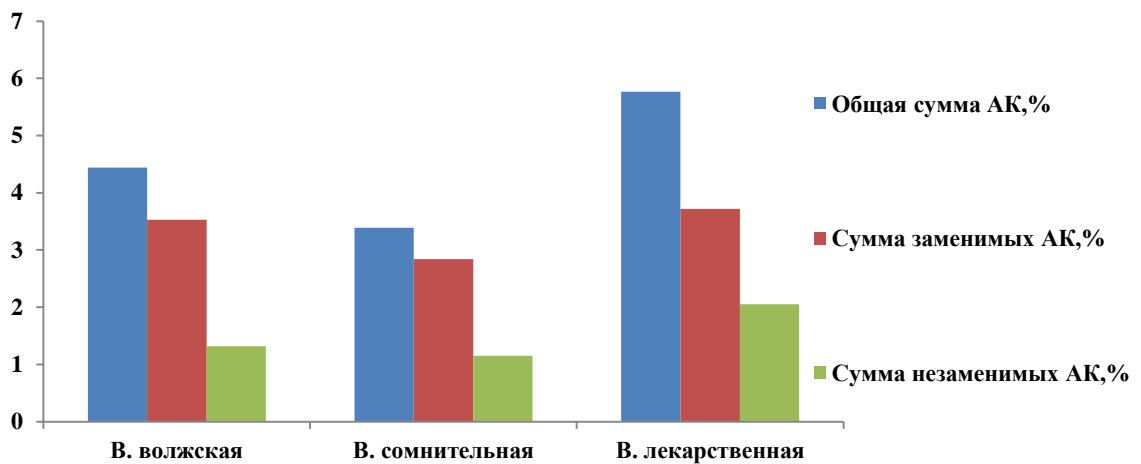


Рисунок 60 - Содержание аминокислот в подземных органах в. волжской и в. сомнительной

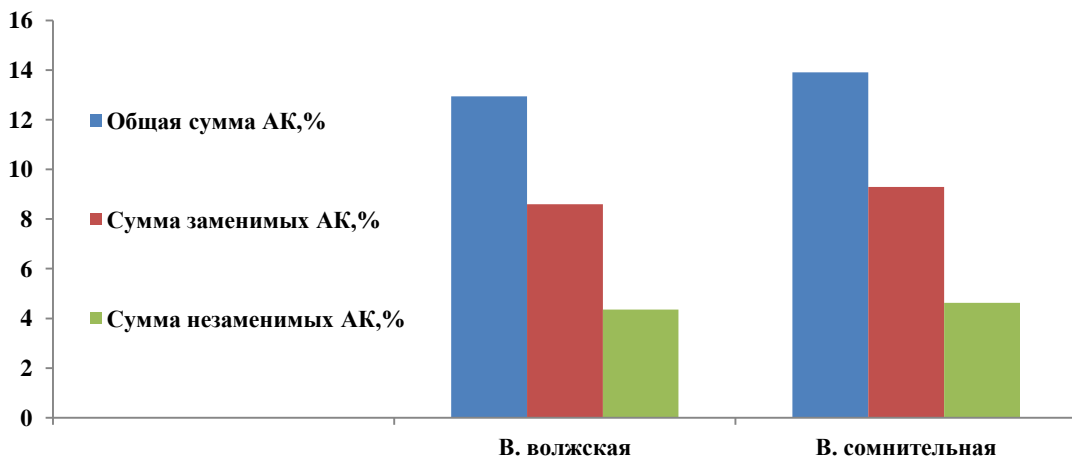


Рисунок 61 - Содержание аминокислот в надземных органах в. волжской и в. сомнительной

При оценке распределения данной группы БАВ в отдельных составляющих подземных органов установлено, что за исключением глицина, метионина, глютаминовой кислоты и пролина, аминокислоты больше накапливаются в корнях, чем в корневищах (Рисунок 62).

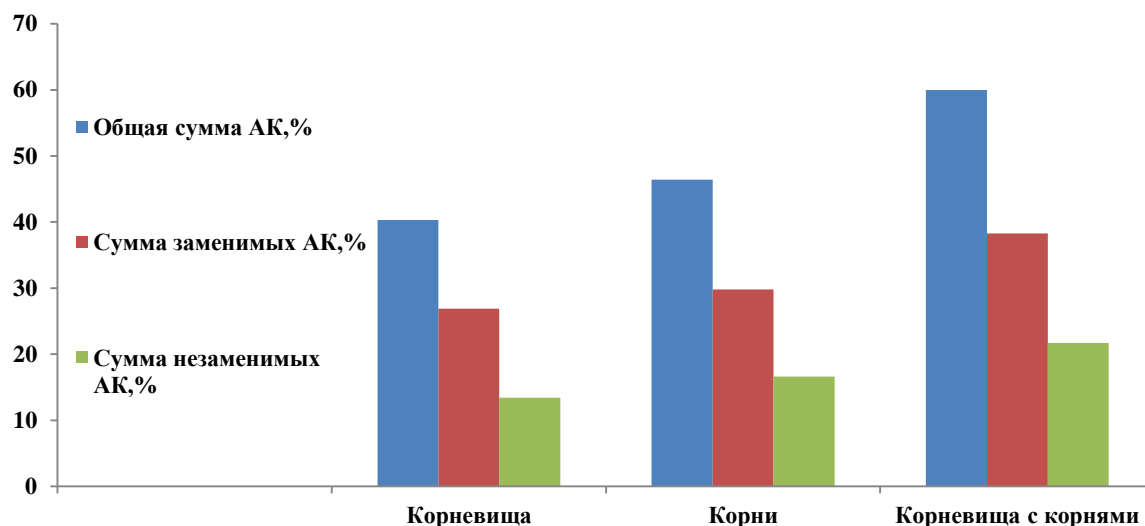


Рисунок 62 - Распределение содержания аминокислот в отдельных составляющих подземных органов валерианы

Изучение аминокислотного состава подземных и надземных органов валериан вносит вклад в общее представление о комплексе БАВ данного ЛРС, а также дает возможность рекомендовать данное ЛРС как дополнительный источник аминокислот при производстве БАД на его основе.

Закономерности накопления данных веществ первичного обмена, в целом, не позволяют провести дифференциацию изучаемых близкородственных видов.

### 5.2.2. Определение полисахаридов (свободных и связанных сахаров) в подземных органах

Одними из комплекса БАВ сырья валерианы являются полисахариды, проявляющие также различные виды биологической активности [27]. В связи с этим актуальным было оценить состав свободных и связанных сахаров корневищ с корнями (на примере валерианы волжской).

Анализ восстанавливающих моносахаридов в свободном виде проведен по методике ВЭЖХ, как указано в п. 2.2.3 Главы 2.

Содержание глюкозы составляло 3,80%, а фруктозы - 2,97%. Сумма связанных сахаров (11,46%) была практически в 2 раза больше, чем свободных (Рисунок 63).

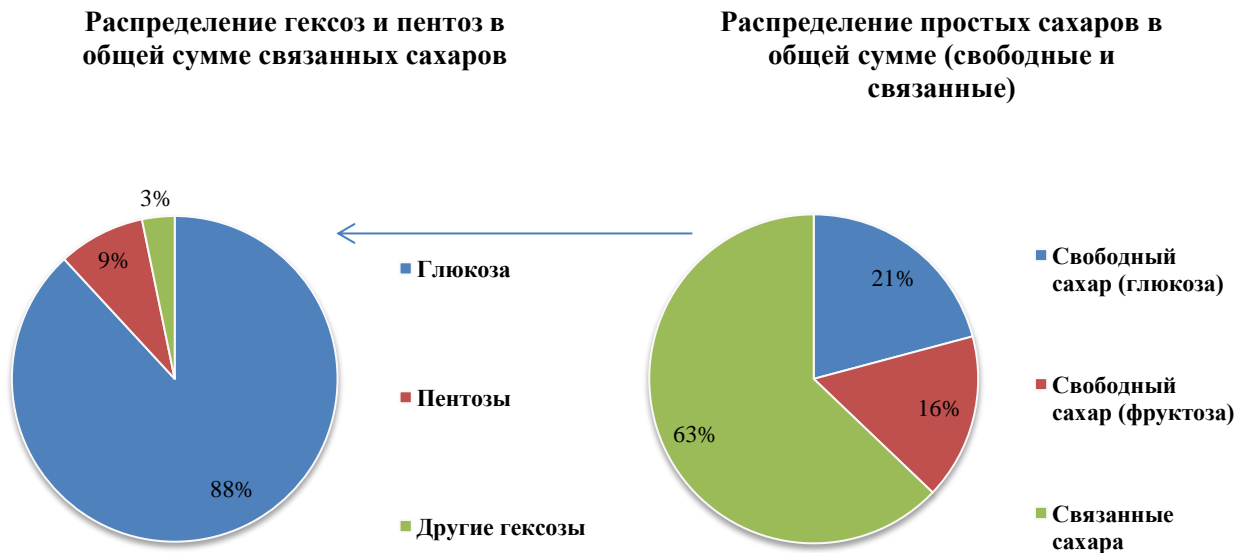


Рисунок 63 - Распределение сахаров в подземных органах валерианы волжской

Связанные сахара представлены пентозами (арабиноза, ксилоза) и гексозами (глюкоза, галактоза).

Сумма гексоз (10,47%) на порядок выше, чем пентоз (0,99%). Более 90% от общей суммы гексоз приходится в подземных органах в.волжской на глюкозу (10,1%).

Для анализа состава свободных сахаров в сырье также был использован метод капиллярного электрофореза [72].

Результаты представлены в Таблице 20. Представлялось интересным кроме того определить массовую долю крахмала (по ГОСТ 10845-98), как одного из преобладающих полисахаридов в подземных органах.

Таблица 20 - Результаты оценки содержания свободных сахаров в подземных органах валериан изучаемых видов

№ п/п	Свободный сахар	Содержание, %		
		В. волжская	В. сомнительная	В. лекарственная
1	Глюкоза	0,15	0,10	0,76
2	Фруктоза	0,25	0,35	0,49
3	Сахароза	0,13	0,11	0,25
Всего		0,53	0,56	1,50
Массовая доля крахмала		13,41	14,93	-

Данные Таблицы 20 демонстрируют, что содержание свободных сахаров, а также полисахарида крахмала в целом идентично в корневищах с корнями валериан изучаемых видов, как в общей сумме, так и по отдельным представителям.

Таким образом, впервые установлен состав и содержание свободных и связанных сахаров в корневищах с корнями валерианы волжской, произрастающей на территории Воронежской области.

### **5.2.3. Изучение состава жирных кислот в подземных органах и семенах валерианы волжской и валерианы сомнительной**

Данных по изучению жирнокислотного состава семян различных видов валерианы в литературе весьма ограничены. Группа ученых из Украины под руководством Шкроботько П.Ю. с соавторами опубликовали некоторые подобные результаты для семян валерианы волжской и валерианы блестящей (*V. nitida* Kreuer), выращенных без и в условиях полива в окрестностях г. Запорожье. Подобных исследований для валерианы сомнительной нами не обнаружено. Тем более отсутствуют данные о составе жирных кислот в корневищах с корнями данных близкородственных видов, произрастающих в климатических условиях Центрального Черноземья России.

В данном фрагменте исследований приведены результаты сравнительного изучения состава жирных кислот методом ГХ-МС подземных органов и семян



валериан волжской и сомнительной. Анализ проведен так, как описано в Главе 2, п. 2.2.3 [48, 49].

Результаты исследований в сравнении с литературными данными обобщены в Таблице 21. В исследуемых образцах сырья всего было идентифицировано 15 жирных кислот.

В состав семян при сравнении с корневищами с корнями входит большее число жирных кислот, что естественно, т.к. семена традиционно выполняют запасующую функцию для зародыша.

Анализ данных Таблицы 21 показал, что в семенах изучаемых видов примерно половину составляют насыщенные жирные кислоты с максимальным содержанием в семенах валерианы сомнительной.

В подземных органах содержание жирных кислот насыщенного ряда меньше, однако, в корневищах с корнями валерианы сомнительной их также больше, чем в волжской (Рисунок 64 и 65).

Только в корневищах с корнями валерианы волжской обнаружена маргариновая кислота, а каприновая кислота определена только в семенах валерианы сомнительной.

Транс-изомер пальмитэлаидиновая кислота обнаружена только в семенах данных близкородственных видов.

Комплекс полиненасыщенных жирных кислот -  $\omega$ -6 и  $\omega$ -3 - в большем количестве представлен в подземных органах, также преобладая в валериане сомнительной.

Таблица 21 - Жирнокислотный состав корневищ с корнями и семян в. волжской и в. сомнительной (% от общей суммы выявленных кислот)

Кислота	Валериана					
	ВВ	ВС	ВВ	ВС	В. блестящая ( <i>V. nitida</i> Kreyer.)	ВВ
	Экспериментальные данные				Литературные данные [48, 49]	
	корневища с корнями			семена		
ЖК насыщенного ряда						
С 4:0 - Масляная	-	-	-	-	+	+
С 6:0 - Капроновая	0,13	0,13	0,05	0,41	+	+
С 8:0 - Каприловая	-	-	-	-	+	+
С 9:0 - Пеларгоновая	-	-	0,49	0,31	-	-
<b>С 10:0 - Каприновая</b>	-	-	-	<b>0,44</b>	+	Следы
С 12:0 - Лауриновая	-	-	-	-	+	+
С 14:0 - Миристиновая	-	-	1,87	2,97	+	+
С 15:0 - Пентадекановая	-	-	-	-	+	+
С 16:0 - Пальмитиновая	20,12	25,67	28,24	20,48	Доминирующий компонент	Доминирующий компонент
<b>С 17:0 - Маргариновая</b>	<b>1,03</b>	-	2,64	0,93	+	+

Продолжение Таблицы 21

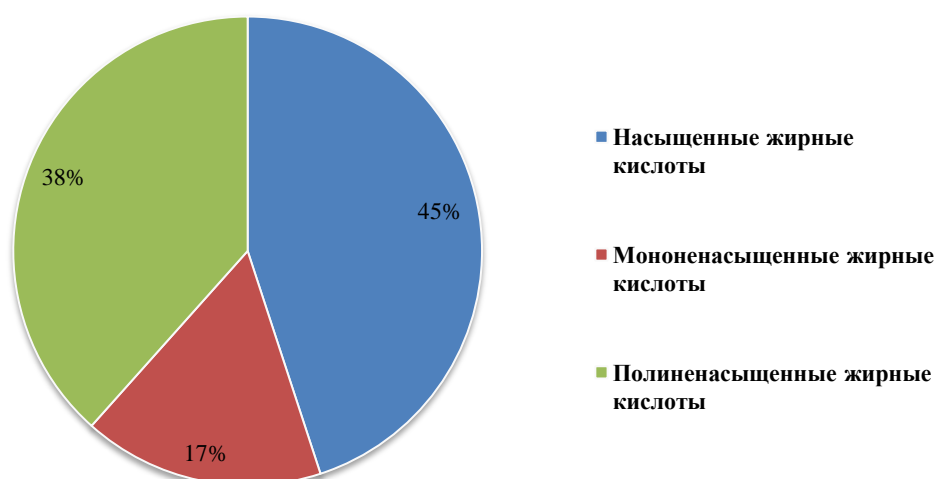
С 18:0 - Стеариновая	2,16	2,51	6,76	6,38	+	+
С 20:0 - Арахидиновая	2,36	2,39	1,39	5,28	+	+
С 22:0 - Бегеновая	3,93	4,93	1,02	7,48	-	-
С 24:0 - Лигноцериновая	2,66	1,50	1,84	4,72	-	+
С 26:0 - Церотиновая	1,92	2,84	0,67	1,46	-	-
Всего	34,31	39,97	44,97	50,86	8,38	10,53 %
Жирные кислоты с одной двойной связью						
С 16:1n9t - Пальмитэлаиди- новая	-	-	0,90	3,39	-	-
С18:1n9c - Олеиновая ( $\omega$ -6)	16,62	9,88	15,73	16,39	+	+
С16:1n9c - Пальмитолеино- вая ( $\omega$ -9)	-	-	-	-	+	-
С22:1n13c - Эруковая	-	-	-	-	+	+
Всего	16,62	9,88	16,63	19,78	-	-
Полиненасыщенные жирные кислоты						
С18:2n6c - Линолевая ( $\omega$ -6)	37,69	37,63	32,80	17,02	+	+
					(доминирующий компонент)	(доминирующ ий компонент)

Продолжение Таблицы 21

С18:3 - Линоленовая ( $\omega$ - 3)	11,38	12,52	5,60	12,34	+	+
С22:2 - Докозодиеновая	-	-	-	-	+	+
С20:5 - Эйкозеновая	-	-	-	-	следы	-
Всего	49,07	50,15	38,40	29,36	91,45 %	86,21 %
<b>Всего обнаружено кислот</b>	<b>11 (100%)</b>	<b>10 (100%)</b>	<b>14 (100%)</b>	<b>15 (100%)</b>	<b>18 (100%)</b>	<b>17 (100%)</b>

**Распределение жирных кислот в общей сумме**

а

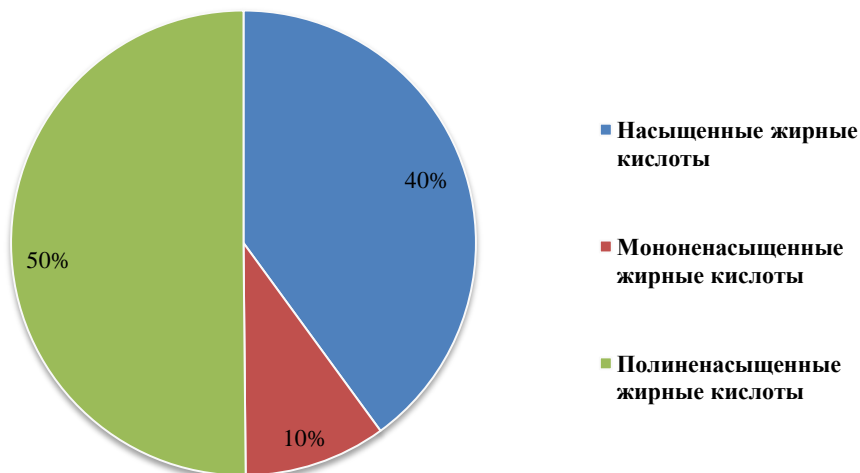
**Распределение жирных кислот в общей сумме**

б

Рисунок 64 - Распределение в общей сумме жирных кислот: а) для корневищ с корнями б) для семян *V. волжской*

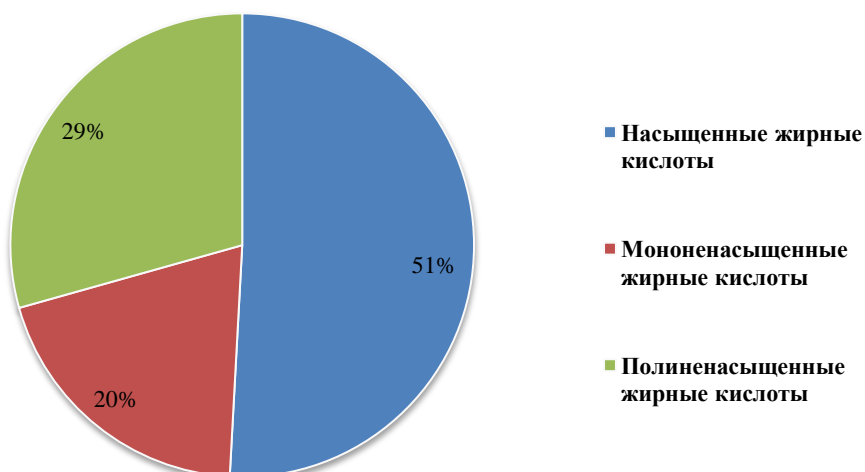
Для доли мононенасыщенных жирных кислот наблюдается следующая закономерность: примерно одинаковое распределение в подземных органах и семенах для валерианы волжской; в 2 раза больше концентрируется данных кислот для валерианы сомнительной в семенах по сравнению с корневищами с корнями.

Распределение жирных кислот в общей сумме



а

Распределение жирных кислот в общей сумме



б

Рисунок 65 - Распределение в общей сумме жирных кислот: а) для корневищ с корнями б) для семян *V. сомнительной*

Таким образом, впервые методом ГХ/МС проведен анализ жирнокислотного состава корневищ с корнями и семян валерианы волжской и валерианы сомнительной, выращенных в условиях средней полосы России. Выявленные отличия в комплексе жирных кислот данных близкородственных видов могут варьировать в зависимости от разных условий. Однако, данные являются полезными для расширения информации о химическом составе изучаемого сырья.

### 5.3. Изучение состава БАВ вторичного обмена в сырье

#### 5.3.1. Определение состава свободных органических кислот подземных органов и травы валериан

Для установления состава свободных органических кислот изучаемое сырье анализировали методом КЭ на приборе «Капель-105/105М» (Глава 2, п. 2.2.3).

Лекарственные растения близкородственных видов формирует во многом сходный характер накопления БАВ в ЛРС, отличающихся только количественным содержанием. Результаты определения в пересчете на абсолютно сухое сырье приведены в Таблице 22, Рисунок 66, 67. Проводилось не менее трех параллельных определений, в таблице представлены средние значения результатов. Установлено, что профиль свободных органических кислот в подземных органах изучаемых видов валерианы неодинаков.

Таблица 22 - Результаты исследования профиля свободных органических кислот в сырье валерианы изучаемых видов методом КЭ

Определяемая органическая кислота	Найденное содержание, %			
	Корневища с корнями		Трава	
	ВВ	ВС	ВВ	ВС
Щавелевая	0,625	0,103	0,828	0,306
Муравьиная	0,064	Менее 0,15*	0,158	Менее 0,15*
Фумаровая	0,007	Менее 0,005*	0,015	Менее 0,005*
Янтарная	Менее 0,05*	Менее 0,05*	Менее 0,05*	
Яблочная	0,05*	0,176	Менее 0,05*	0,279
Лимонная	Менее 0,05*			
Пропионовая	0,140	0,140	0,339	0,441
Молочная	0,181	Менее 0,12*	0,378	Менее 0,12*
Бензойная	0,004	0,005	0,017	0,014
Сорбиновая	0,090	Менее 0,025*	0,100	Менее 0,025*
Уксусная	Менее 0,1*			
Всего	1,030	0,424	1,835	1,040

\* - предел обнаружения

Для ВВ идентифицировано 7 кислот, среди которых монокарбоновые кислоты насыщенного, ненасыщенного и ароматического ряда, в т.ч. гидроксикислоты; а

также дикарбоновые кислоты предельного и непредельного ряда с общим суммарным содержанием практически в 2,5 раза больше, чем для ВС.

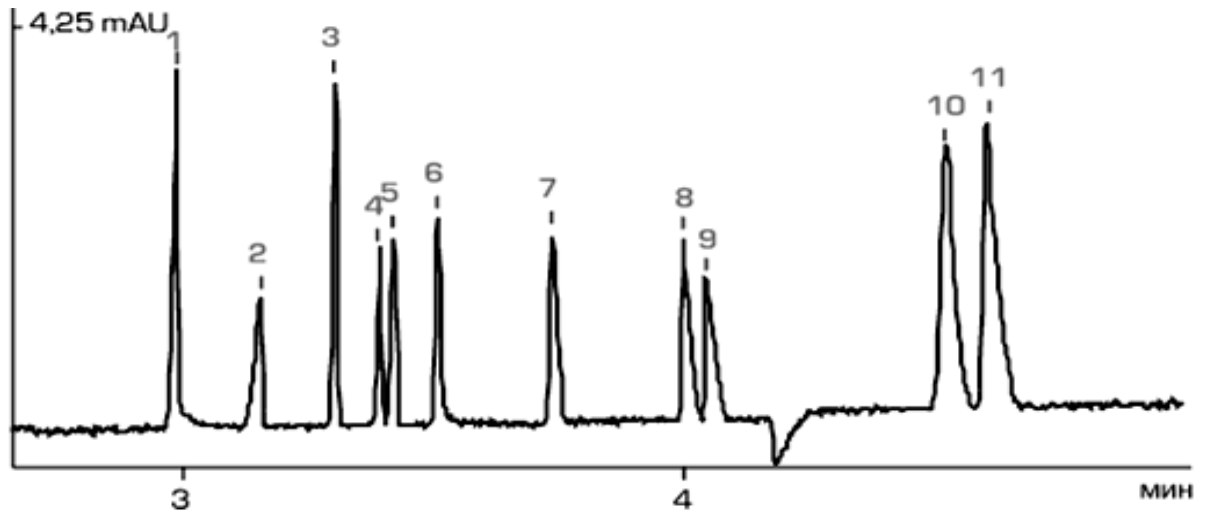


Рисунок 66 – Электрофореграмма смеси стандартных образцов органических кислот (1- щавелевая; 2 - муравьиная; 3 - фумаровая; 4 - янтарная; 5 - яблочная; 6 – лимонная; 7 – уксусная; 8 – пропионовая; 9 – молочная; 10 – бензойная; 11- сорбиновая кислоты)

В корневищах с корнями ВС установлено только 4 кислоты: монокарбоновые кислоты насыщенного и ароматического ряда, а также дикарбоновые, в т.ч. гидроксикислоты (Рисунок 67).

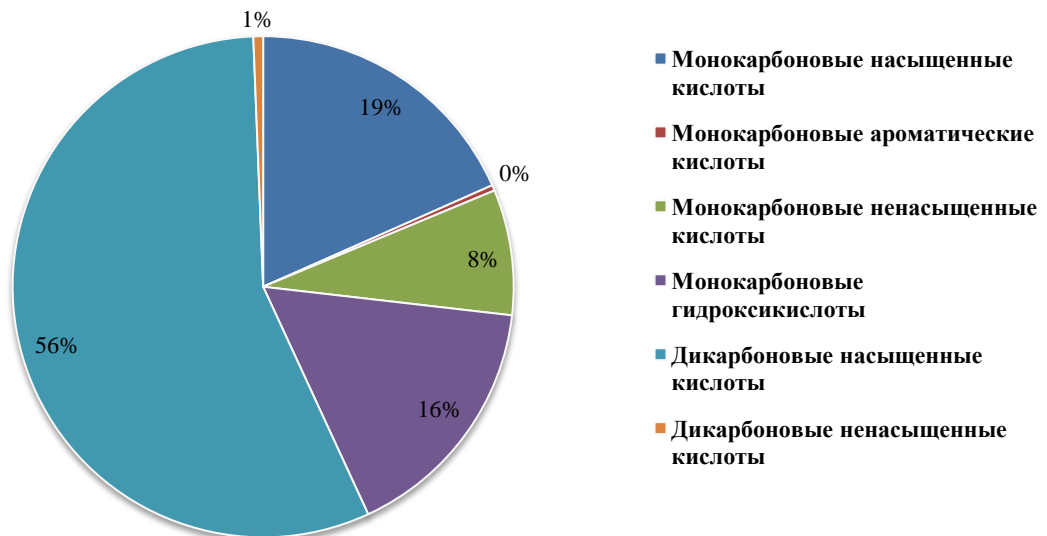
Для травы наблюдается, в целом, та же тенденция. Для ВВ было установлено присутствие муравьиной, фумаровой, молочной и сорбиновой кислот с ростом общей суммы органических кислот.

Подземные органы ВС отличались присутствием яблочной кислоты. Бензойная и пропионовая кислоты выявлены примерно в одинаковых количествах.

Однако, для ВВ установлено повышенное содержание щавелевой кислоты относительно ВС практически в 6 раз.

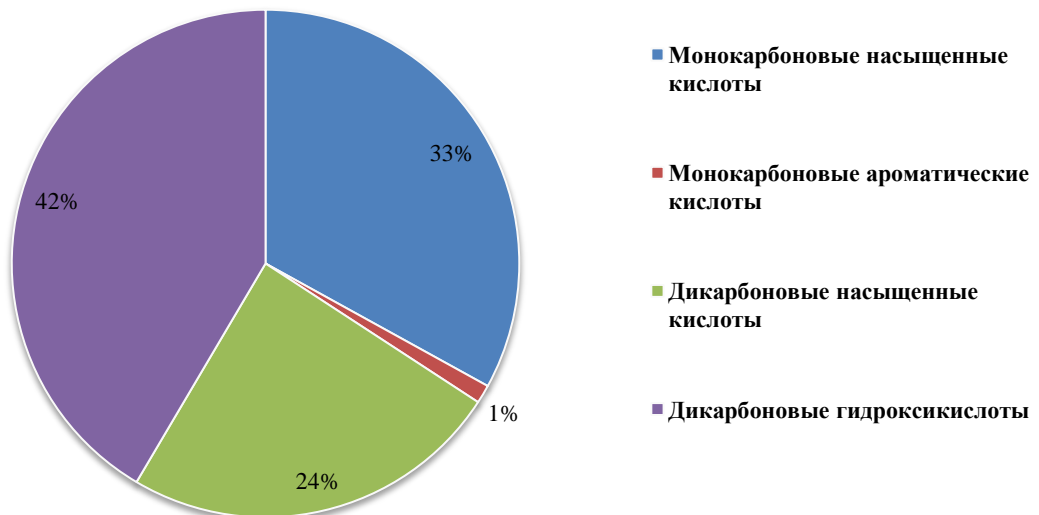


Распределение свободных органических кислот в общей сумме



а

Распределение свободных органических кислот в общей сумме



б

Рисунок 67 - Распределение в общей сумме свободных органических кислот: а) для корневищ с корнями ВВ б) для корневищ с корнями ВС

Таким образом, было проведено изучение состава и содержания свободных органических кислот для изучаемого сырья методом КЭ.

Выявлены особенности накопления различных кислот в ЛРС на примере травы и корневищ с корнями валериан волжской и сомнительной, заготовленных от дикорастущих растений флоры Воронежской области.

### 5.3.2. Сравнительный анализ фенольной фракции (гидроксикоричных кислот и флавоноидов) надземных органов валерианы сомнительной и валерианы волжской

Подземные органы валерианы различных видов - объект давних интенсивных исследований [32, 152]. Вместе с тем мало изучен химический состав надземных органов, которые также могут являться источником БАВ. Известно, что в древности надземная часть находила применение в качестве мочегонного средства, эффект которого, возможно, обусловлен разнообразным набором флавоноидов и гидроксикоричных кислот (ГКК) [29, 128, 234]. А так как трава относится к ежегодно возобновляемому виду сырья, ее использование также будет способствовать рациональному использованию природных ресурсов. Для чего и был проведен сравнительный анализ состава фенольной фракции БАВ (ГКК и флавоноидов) надземных органов объектов исследования [75].

Результаты анализа ГКК и флавоноидов в экстрактах надземных органов валериан изучаемых видов различными хроматографическими методами представлены в Таблицах 23 и 24. Для сравнительного анализа состава фенольной фракции БАВ близкородственных видов валерианы аналогичные исследования проведены на траве валерианы лекарственной, культивируемой в Воронежской области (п. Усачевка).

Таблица 23 - Результаты анализа ГКК в экстрактах надземных органов валериан изучаемых видов

Метод анализа	Условия	Результаты*	
		В. изучаемых видов	В. лекарственная
Двумерная хроматография на бумаге (БХ)	первое направление: н-бутиловый спирт - уксусная кислота - вода (4:1:2); второе направление: 2%-ный водный раствор уксусной кислоты	11 зон производных ГКК	7-10 веществ, среди которых в листьях доминировала хлорогеновая кислота

## Продолжение Таблицы 23

ВЭЖХ	п.2.2.3, Глава 2	Трава (хлорогеновая, феруловая, изохлорогеновая, неохлорогеновая, изоферуловая, кофейная, п- кумаровая, синаповая и другие кислоты)	Соцветия (феруловая - основной компонент, хлорогеновая, неохлорогеновая, о- кумаровая, коричная кислоты). Листья (хлорогеновая - основной компонент, кофейная, коричная кислоты)
------	------------------	--	---

\* Результаты перечислены в порядке уменьшения их количества

Таблица 24 - Результаты анализа флавоноидов в экстрактах надземных органов валериан изучаемых видов

Флавоноиды	Условия	Результаты*	
		В. изучаемых видов	В. лекарственная
Флавонолгликозиды (БХ)	15%-ный раствор уксусной кислоты	Стебли - 5 зон	-
		Листья - 7 зон	Листья – 6 зон
		Соцветия – не менее 10 зон	
Агликоны флавонолгликозидов после кислотного гидролиза экстрактов (БХ)	первое направление: 40%-ный раствор уксусной кислоты; второе направление: спирт н-бутиловый (изобутиловый) - уксусная кислота - вода 11(10, 9):3:7	Диосметин и кверцетин - стебли	-
		Апигенин, лютеолин, диосметин, кверцетин - соцветия	Апигенин, лютеолин, диосметин, кверцетин, кемпферол - соцветия
		Диосметин, лютеолин и кверцетин - листья	Диосметин и лютеолин - листья

## Продолжение Таблицы 24

Флавонолгликозиды (ВЭЖХ)	п.2.2.3, Глава 2	Гликозиды кемпферола, кверцетина, апигенина, лютеолина - трава	Соцветия (лютеолин, апигенин, лютеолин-7-глюкозид, кверцетин, кемпферол, рутин, эпикатехин). Листья (доля флавоноидов - дигидрокверцетина, апигенина, рутина, лютеолина-7-глюкозида) значительно меньше
--------------------------	------------------	--	---

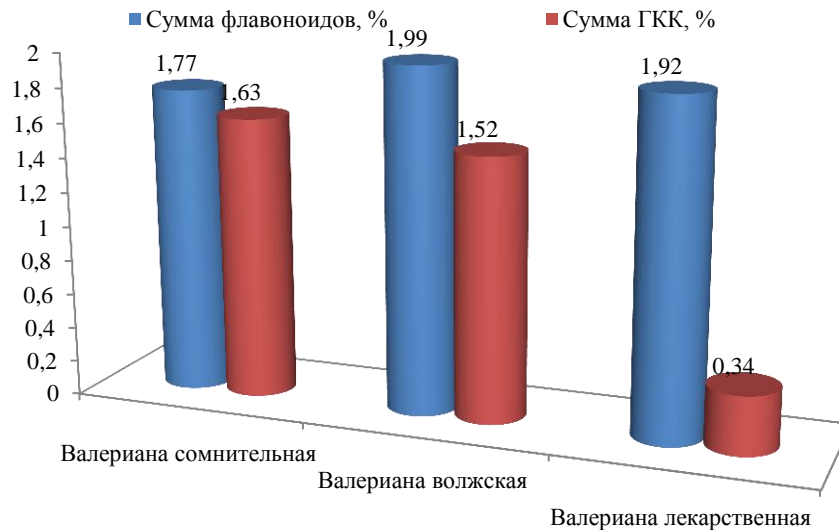
\* Результаты перечислены в порядке уменьшения их количества

При количественном спектрофотометрическом определении суммы флавоноидов на основе реакции комплексообразования с хлоридом алюминия (III) в стеблях нижнего, среднего и верхнего уровней, листьях нижнего, среднего и верхнего ярусов, а также соцветиях обнаружили, что больше всего их содержалось в последних (более 3,5%) и меньше всего в стеблях нижнего яруса (около 0,2%).

Содержание данных БАВ в цветках валерианы лекарственной равнялось 3,37%, в листьях - 2,78%, в траве - 1,92%.

Сумму ГКК в пересчете на превалирующий компонент кислоту хлорогеновую в траве определяли методом прямой спектрофотометрии. Сравнительные результаты накопления флавоноидов и ГКК в траве валериан трех видов представлены на рис. 68.

Экспериментальные данные по разработке и валидации методик определения данных БАВ в траве (на примере травы валерианы волжской) представлены в Приложении В.



Рисуннок 68 - Результаты накопления флавоноидов и ГКК в траве валериан трех видов

Следовательно, впервые проведено методами двумерной хроматографии на бумаге и высокоэффективной жидкостной хроматографии сравнительное изучение флавоноидов и ГКК цветков и листьев валерианы трех близкородственных видов, выращенных в Воронежской области, и отмечено, что цветки более богаты анализируемыми соединениями. На основании проведенных исследований следует заключить, что при сравнительном анализе не обнаружены принципиальные различия в наборе ГКК и флавоноидов в надземных органах валерианы сомнительной и валерианы волжской.

### 5.3.3. Выявление и количественное определение сложных эфиров БАВ в подземных органах видов рода валериана флоры Воронежской области

Для валерианы лекарственной в последние годы в НД стандартизация и оценка качества ЛРС осуществляется по сесквитерпеновым кислотам (гидрокси-; ацетокси- и валереновая), вносящими вклад в седативную активность корневищ с корнями, обусловленную суммой компонентов. Их наличие и состав не исследовались полностью ранее для видов валерианы, произрастающих в Воронежской области. Поэтому на следующем этапе работы проводили количественное определение сложных эфиров карбоновых кислот в подземных

органах изучаемых видов валериан [38, 66]. Для сравнительной оценки к накоплению данной группы БАВ другими видами валерианы в условиях климата Воронежской области, анализировали также корневища с корнями валериан лекарственной и клубненой.

Обнаружение анализируемых веществ проводили с помощью гидроксамовой пробы по появлению красно-бурого окрашивания (взаимодействие с гидросиламином и солями железа III). Производные валереновой кислоты в спиртовых извлечениях подземных органов валерианы определяли методом ТСХ в системе растворителей ацетон-гексан (1:2). При обработке хроматограмм раствором ванилина в серной кислоте обнаруживалась зона валереновой кислоты с характерным малиновым окрашиванием. При количественном определении сложных эфиров карбоновых кислот использован метод фотоэлектроколориметрии, основанный на гидроксамовой пробе как указано в п. 2.2.3 Главы 2. Результаты приведены в Таблице 25. Согласно ГФ республики Беларусь, в которой стандартизация сырья валерианы осуществляется аналогично, все исследуемые образцы соответствовали требованиям ФС (не менее 2%).

Таблица 25 - Результаты определения сложных эфиров карбоновых кислот (в пересчете на кислоту валереновую и абсолютно сухое сырье) в подземных органах валериан

Валерианы, заготовленные в Воронежской области	Содержание, %
Валериана лекарственная	3,26±0,18
Валериана сомнительная	4,01±0,13
Валериана волжская	3,49±0,11
Валериана клубненой	3,43±0,18

Таким образом, установлено, что валериана сомнительная в подземных органах накапливает большее количество суммы сесквитерпеновых кислот, чем фармакопейный представитель сборного цикла валериан, произрастающих в одинаковых эколого-климатических условиях. Корневища с корнями валерианы волжской также не уступают виду валерианы лекарственной по содержанию

маркерной группы БАВ, определяющей, наряду с валепотриатами, фармакологическую ценность сырья валериан. Следовательно, изучаемые виды могут обоснованно с научной точки зрения использоваться в фармации, и Воронежские валерианы следует рассматривать как сырьевую базу для масштабного культивирования и заготовки.

#### **5.3.4. Определение сесквитерпеновых кислот в подземных органах валериан сомнительной и волжской**

По действующей НД - ФС.2.5.009.15 ГФ РФ XIV издания, нормирующей показатели качества корневищ с корнями валерианы лекарственной, а также большинству зарубежных ГФ, целевой группой БАВ, определяющей фармакологическую ценность ЛРС и ЛРП валерианы, являются сесквитерпеновые кислоты. Поэтому вопрос о возможности заготовки и использования в промышленных масштабах различных близкородственных видов данного растения должен основываться на оценке содержания суммы сесквитерпеновых кислот. Кроме того, с этой позиции следует объяснять неодинаковость по силе седативного действия различные виды валерианы.

Поэтому на данном этапе работы была проведена оценка накопления обсуждаемой группы БАВ в изучаемом сырье в соответствии с ВЭЖХ-методикой, приведенной в НД (Глава 2, п. 2.2.3). Результаты представлены в Таблице 26.

Таблица 26 - Определение суммы сесквитерпеновых кислот в пересчете на кислоту валереновую в образцах подземных органов

Вид валерианы	Результат, %	Требование по НД, %
Валериана сомнительная	0,290±0,0058	Не менее 0,12
Валериана волжская	0,190±0,0037	
Валериана лекарственная	0,19 – 0,22 [162]	

Таким образом, данные виды Воронежских валериан могут быть разрешены к массовой заготовке и использованию в фармацевтической промышленности для

получения ЛРП. Все исследуемые образцы соответствовали требованиям ФС, не уступая по содержанию сесквитерпеновых кислот фармакопейному виду – лекарственной.

Следует отметить, что корневища с корнями валерианы сомнительной накапливают большее количество данных БАВ, что согласуется с результатами определения суммы сложных эфиров в пересчете на этиловый эфир кислоты валереновой. Очевидно, что ЛРП на основе сырья валерианы сомнительной должны оказывать более сильный седативный эффект, что в полной мере коррелирует с данными экспериментальных испытаний извлечений из изучаемого сырья на лабораторных животных (Глава 6).

### 5.3.5. Исследование некоторых других БАВ травы валериан изучаемых видов

Для целостного представления о фитохимическом составе надземных органов валериан изучаемых видов проведено определение также содержания других групп БАВ. Результаты представлены в Таблице 27.

Таблица 27 - Содержание БАВ в траве Воронежских валериан

БАВ	Результаты, %		Метод определения
	Валериана сомнительная	Валериана волжская	
Дубильные вещества	2,58±0,13	2,46±0,12	Перманганатометрия (сумма в пересчете на танин)
Аскорбиновая кислота	0,35±0,025	0,3±0,02	Титрование 2,6-дихлорфенолиндофенолятом натрия
Полисахариды	5,03±0,02	2,75±0,13	Гравиметрия
Эфирное масло	0,13±0,01	0,15±0,01	Перегонка с водяным паром

Результаты исследований показали, что трава валериан не накапливает эфирное масло в отличие от подземных органов, так как содержит его следы. Содержание осаждаемых полисахаридов в траве валерианы сомнительной в 2 раза



больше, чем валериане волжской. Достаточно высокие значения по накоплению кислоты аскорбиновой, сравнимые с плодами шиповника.

### **5.3.6. Сравнительное изучение состава эфирного масла валериан различных видов**

В большинстве современных отечественных НД на сырье и препараты валерианы не регламентируется содержание эфирного масла. Однако, данный показатель характеризует доброкачественность сырья и нормируется в некоторых зарубежных фармакопеях на аналогичные препараты.

#### **5.3.6.1. Сравнительная характеристика компонентного состава эфирных масел корневищ с корнями валерианы лекарственной различных способов консервации и производителей**

Изучение химического состава различных видов валерианы невозможно без всесторонней оценки состава эфирного масла, с которым связывают ее фармакологическую активность [150]. В литературе указано, что подземные органы валерианы содержат 0,3-0,7% эфирного масла.

Компонентный состав его характеризуется достаточной сложностью и значительной вариабельностью в зависимости от исходного сырья [109, 123]. Разнообразие компонентного состава эфирного масла, обусловленное видовыми особенностями валерианы, продолжает оставаться предметом углубленных исследований исследователей разных стран Мира. Изучение влияния процесса высушивания на состав эфирного масла валерианы послужило целью следующего этапа исследования.

Эфирное масло из корневищ с корнями валериан получали при помощи аппарата Клевенджера. Компонентный состав полученного эфирного масла определяли методом газовой хроматографии (на газовом хроматографе HP6890 с масс-детектором HP, оснащенного программным обеспечением Chemstation HP

1701 АА [16, 77,117].

Установлено, что в эфирном масле из свежих корневищ с корнями валерианы, присутствует 96 компонентов (идентифицирован 71), из высушенного сырья — 128, из которых удалось идентифицировать 83 (Таблица 28). Общими БАВ для обоих видов эфирного масла являлись 58 веществ, различающихся по количественному содержанию для свежего и высушенного сырья.

Они представлены ациклическими соединениями (н-углеводороды), монотерпеноидами (моноциклические и бициклические вещества), сесквитерпеноидами (ациклические, моноциклические, бициклические, трициклические вещества) и ароматическими производными нетерпеновой природы (метилловые эфиры тимола и карвакрола, диметилловый эфир тимогидрохинона, эфиры эвгенола).

Большинство соединений, в частности монотерпеноидного ряда, преобладало в эфирном масле из свежего ЛРС и, наоборот, главным образом, бициклические сесквитерпеноиды обнаружены в большей мере в эфирном масле из высушенных подземных органов

Так 11 веществ (Таблица 28) выявлены только в составе эфирного масла, полученного из свежих корневищ с корнями и 24 — только в составе эфирного масла из высушенных подземных органов. В анализируемых образцах, приобретенных в аптечных сетях эфирных масел идентифицировано 38 соединений. Из них 22 монотерпеноида, в их числе 4 моноциклических и 17 бициклических, 12 сесквитерпеноидов, среди которых 2 моноциклических, остальные бициклические и трициклические, а также 4 ароматических производных.

Меньше всего компонентов (16) идентифицировано в эфирном масле, полученном в ООО «Диана+», несколько больше (18) — в ООО «Аспера». Они представлены главным образом монотерпеноидами, двумя сесквитерпеноидами и одним ароматическим веществом. Только в последнем образце выявлен  $\alpha$ -фенхилацетат. Различия между маслами выражались в количественном содержании отдельных веществ (Таблица 28).

Таблица 28 - Компонентный состав эфирного масла корневищ с корнями валерианы лекарственной различных районов заготовки, % от общей суммы

БАВ	Масло получено экспериментально		Коммерчески доступные образцы		
			ООО «Ботаника ароматехнологии» (г. Москва)	ООО «Аспера» (г. Москва)	ООО «Диана +» (г. Ступино)
	Свежие	Высушенные	Валериана Фори ( <i>Valeriana fauriei</i> )	Весенняя заготовка	Место заготовки – Польша
	Новосибирск				
Трициклен	0,126	0,033	0,747	0,851	0,599
3-Туйен	0,173	0,020	-	-	-
$\alpha$ -Пинен	5,061	1,021	2,433	2,651	1,911
$\alpha$ -Фенхен	6,591	1,186	0,051	0,060	0,045
Камфен	5,730	2,469	9,153	9,256	7,341
Сабинен	0,168	0,044	0,034	-	-
$\beta$ -Пинен	1,095	0,459	1,381	1,460	1,118
$\beta$ -Мирцен	0,045	-	-	-	-
н-Декан	-	0,149	-	-	-
п-Цимол	0,467	0,115	0,497	0,552	0,419
$\alpha$ -Фелландрен	-	0,077	-	-	-
$\alpha$ -Терпинен	0,079	-	-	-	-
$\beta$ -Фелландрен	3,083	0,491	-	-	-
$\gamma$ -Терпинен	0,544	0,046	-	-	-
Терпинолен	0,150	-	-	10,068	-
н-Ундекан	-	0,158	-	-	-
Цис-пара-мент-2-ен-1-ол	-	0,034	-	-	-
Камфора	0,122	0,524	0,298	0,117	0,116
Камфенгидрат	-	0,051	-	-	-

## Продолжение Таблицы 28

Борнеол	0,748	0,632	3,123	3,499	3,487
4-Терпинеол	0,368	0,195	-	-	-
$\alpha$ -Терпинеол	0,102	0,058	0,518	0,522	0,569
Миртенол	0,135	0,104	0,135	-	-
н-Додекан	0,216	0,910	-	-	-
Метилловый эфир тимола	0,357	0,138	0,159	-	-
Метровый эфир карвакрола	0,417	0,191	0,083	-	-
Борнилацетат	13,916	17,511	48,861	68,332	70,991
н-Тридекан	0,156	0,756	-	-	-
Миртенилацетат	1,716	1,628	1,056	0,103	0,105
$\Delta$ -Элемен	2,048	0,382	-	-	-
Серина- 4(15),7(110)-диен)	1,691	-	-	-	-
Спатуленол	1,437	3,479	0,177	-	-
Глобулол	0,585	-	-	-	-
Миртенил-3-метилбутаноат	0,628	-	0,109	-	-
н-Гексадекан	0,240	1,129	-	-	-
Ледол	0,771	0,503	-	-	-
2-Метилбутаноат карвакрола	-	0,095	-	-	-
Геранил-3-метилбутаноат	-	0,078	-	-	-
Селин-6-ен-4-ол	-	0,229	-	-	-
Гвайя-6,10(14)-диен-4-(3- ол)	2,118	4,224	-	-	-
Изоспатуленол	0,304	0,545	-	-	-
$\alpha$ -Бисаболол	0,988	0,897	-	-	-
$\alpha$ -Терпенилацетат	0,409	-	0,170	-	-
Циклосативен	0,064	0,036	-	-	-
Пацифигоргия-1(9), 10-диен	0,142	0,126	-	-	-
$\beta$ -Элемен	0,240	0,123	0,047	-	-

Продолжение Таблицы 28

н-Тетрадекан	-	0,819	-	-	-
Пацифигоргия- 1(6), 10-диен	0,872	0,605	-	-	-
Кариофиллен	1,077	0,484	-	-	-
Кариофиллена окись	-	-	1,649	-	-
Диметилловый эфир тимогидрохинона	0,509	0,466	-	-	-
$\beta$ -Гурьюнен	-	0,210	-	-	-
Аромадендрен	0,157	0,132	0,038	-	-
Гумулен	0,177	0,237	0,114	0,114	0,114
Валерена-4,7(11)- диен	5,043	-	-	-	-
Алло-аромадендрен	1,575	-	-	-	-
9-Эпи-кариофиллен	0,115	0,086	-	-	-
$\gamma$ -Мууролен	0,176	5,020	-	-	-
Транс-кадина-1(6),4-диен	-	0,095	-	-	-
Гермакрен D	1,378	0,519	-	-	-
$\alpha$ -Куркумен	-	0,237	-	-	-
$\beta$ -Е-ионон	0,345	0,461	-	-	-
Бициклогермакрен	3,771	1,082	-	-	-
н-Пентадекан	-	1,069	-	-	-
Гермакрен А	0,082	0,120	-	-	-
$\beta$ -Бисаболен	0,537	0,300	-	-	-
$\beta$ -Куркумен	-	0,055	-	-	-
Борнил-2-метилбутаноат	0,160	0,253	-	-	-
$\Delta$ -Кадинен	0,529	0,300	-	-	-
Кессан	0,408	0,538	0,049	-	-
Пацифигоргиол	2,273	2,047	-	-	-
Элемол	0,262	0,173	-	-	-
Гермакрен В	1,156	0,359	-	-	-

Продолжение Таблицы 28

н-Гептадекан	-	1,547	-	-	-
Валереналь	8,610	9,610	-	-	-
Валеренол Е	0,308	0,777	-	-	-
Валеренол Е <sup>Г</sup>	0,503	-	-	-	-
Минтсульфид	0,315	0,250	-	-	-
3-Метилбутаноат эвгенола	0,087	0,188	-	-	-
н-Октадекан	0,183	1,306	-	-	-
Валеренил-ацетат Е	1,397	1,662	-	-	-
Валереновая кислота	0,273	0,708	-	-	-
н-Нонадекан	0,177	0,122	-	-	-
Эремолигенол	-	0,394	-	-	-
Д-Кадинол	-	0,122	-	-	-
β-Эвдесмол	-	0,214	-	-	-
Интермедиол	-	0,284	-	-	-
Т-Мууролол	1,738	-	-	-	-
Валеранон	1,342	1,869	-	-	-
н-Эйкозан	-	1,286	-	-	-
Валеренил-3-метилбутаноат Е	0,526	0,952	-	-	-
н-Генейкозан	-	0,507	-	-	-
н-Докозан	-	0,564	-	-	-
н-Трикозан	-	0,584	-	-	-
н-Тетракозан	-	1,219	-	-	-
Лимонен	-	-	1,219	1,377	0,999
1,8-цинеол	-	-	0,149	0,098	0,076
Фенилэтанол	-	-	0,758	-	-
Транс-пинокарвеол	-	-	0,103	-	-
Изоборнеол	-	-	0,469	-	-
α-фенхилацетат	-	-	-	0,158	-

## Продолжение Таблицы 28

$\alpha$ -копаен	-	-	0,047	-	-
Цис-гвайя-4,6-диен	-	-	0,267	-	-
$\alpha$ -Цедрен	-	-	0,699	-	-
$\beta$ -копаен	-	-	0,075	-	-
A-Мууролен	-	-	0,145	-	-
Борнил-3-метилбутаноат	-	-	0,091	-	-
Миртенил-3-метилбутаноат	-	-	0,109	-	-
Обнаружено веществ	96	128	36	18	16
Идентифицировано веществ	71	83	36	18	16

ООО «Ботаника ароматехнологии» (г. Москва): эфирное масло получено из подземных органов валерианы Фори (*Valeriana fauriei*), самого восточного вида из сборного цикла валерианы лекарственной, распространенного в Приморском и Хабаровском краях.

ООО «Диана+» - эфирное масло получено из валерианового корня, собранного в Польше.

ООО «Аспера» - эфирное масло получено из сырья весеннего сбора, но не указано в инструкции их происхождение.

Самый разнообразный состав компонентов эфирного масла был характерен для производителя ООО «Ботаника ароматехнологии» (11 БАВ идентифицировано только в этом масле), полученного, по данным инструкции по применению, из сырья валерианы Фори (*Valeriana fauriei*) – самого восточного представителя из сборного цикла видов валерианы лекарственной, произрастающего в естественных условиях на Дальнем Востоке (Приморский и Хабаровский края). Общими для всех анализируемых масел являлись 16, из них 13 монотерпеноидов, 2 сесквитерпеноида и одно ароматическое производное. Во всех эфирных маслах доминировал борнилацетат, значительно меньше, но в довольно значительных количествах содержались камфен, борнил-3-метилбутаноат, борнеол, кариофиллен,  $\alpha$ - и  $\beta$ -пинен. В сумме больше всего обнаружено производных борнеола (Таблица 28). Следует отметить, что ни в одном из проанализированных промышленных образцов масел не обнаружены сесквитерпеноиды, в частности валеренал, валеранон и их производные, одни из наиболее седативно активных компонентов валерианового масла, синергизмом действия которых и валепотриатов, главным образом, обуславливается его седативное действие [150]. Насколько выражен эффект последнего у анализируемых эфирных масел судить сложно.

Результаты анализа показали, что состав БАВ эфирного масла из свежих подземных органов валерианы, заготовленных в районе Новосибирска и полученного экспериментально, менее разнообразен, чем из высушенных. Данный факт требует более углубленного изучения также на других сериях сырья для выявления общих закономерностей. Свежее сырье, как известно, не обладает специфическим запахом. Однако, в процессе подготовки ЛРС в соответствии с инструкцией по заготовки, появляется насыщенный характерный аромат, а также увеличивается содержание БАВ масла – борнилацетата, валеранона, валеренала и некоторых др.

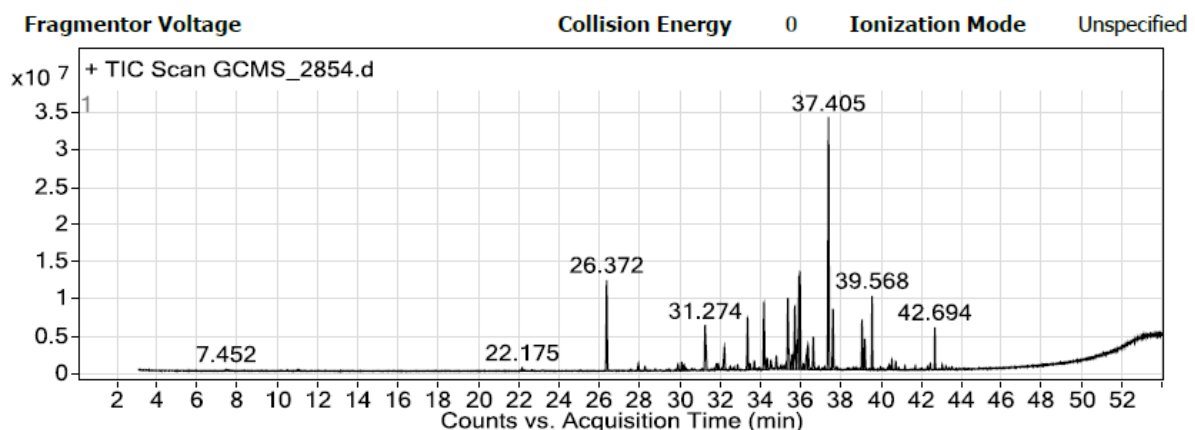
Компонентный состав и содержание отдельных компонентов эфирных масел различных производителей, доступных в аптечных сетях, среди которых преобладали производные борнеола, в частности борнилацетат и камфен,



определяется, в известной мере, сочетанием таких факторов, как видовая принадлежность, условия возделывания, сушки и сбора, срок хранения и способ получения, а также климатические условия эколого-географического района происхождения официального сырья валерианы лекарственной. Представленные данные расширяют известные сведения о составе эфирных масел валерианы.

### 5.3.6.2. Сравнительная характеристика компонентного состава эфирных масел корневищ с корнями валериан изучаемых видов

Исследования состава компонентов эфирного масла корневищ с корнями валериан изучаемых видов Воронежских валериан проведены были также методом ГХ-МС (Рисунок 69). Результаты представлены в Таблице 29.



a

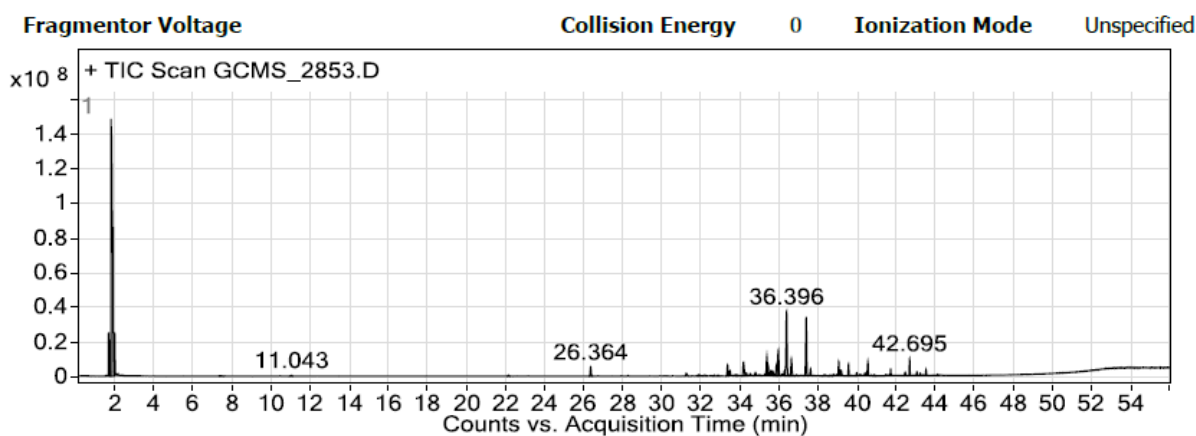


Рисунок 69 - Вид ГХ-МС хроматограммы компонентов эфирного масла корневищ с корнями валерианы: а – сомнительной; б – волжской

Таблица 29 - Состав эфирного масла Воронежских валериан

Соединение (тривиальное/химическое название)	Время удерживания, мин	Содержание, % от общей суммы	
		BC	BB
2-хлорпропан	1,787	-	1,15
Дихлорметан	1,804	-	50,96
транс-1,2-дихлорэтилен	1,995	-	3,40
Изовалериановая кислота	7,452	0,18	0,09
$\alpha$ -Пинен	10,487	0,07	-
Камфен	11,043	-	0,12
Норборнан (норкамфан)	11,059	0,21	-
Борнеол	22,175	0,25	0,11
4-Терпениол	22,648	0,07	-
Анизол	25,084	0,07	-
(-)-Борнилацетат	26,372	6,06	1,0
Миртенилацетат	27,586	0,10	-
$\delta$ -Элемен	27,954	0,49	-
$\alpha$ -Чамигрен	28,279	0,28	-
(+)-Циклосативен	28,787	0,12	-
$\alpha$ -Гурьюнен	29,363	4,33	-
$\beta$ -Элемен	29,489	0,11	-
1,1,4а-Триметил-5,6-диметилендекагидронафталин	29,805	0,60	-
$\beta$ -Гумулен	29,922	0,47	-
(-)-Аристолен	30,1	0,52	-
Кариофиллен	30,226	0,4	-
Диметилловый эфир бутилгидрохинона	30,317	0,14	-
(+)-Леден	30,594	0,16	0,70
$\alpha$ -Копаен	31,119	0,13	-
Колумбин	31,583	0,07	-
$\beta$ -Гвайен	31,717	0,07	-
$\beta$ -Копаен	31,839	0,59	0,09
$\beta$ -Ионон	31,925	0,36	0,17
$\gamma$ -Элемен	32,229	1,89	-
Нафталин, 1,2,4а,5,6,8а-гексагидро-4,7-диметил-1-(1-метилэтил)-, [1R-(1-альфа,4а-альфа-,8а-альфа.)]-	32,311	0,13	-
$\alpha$ -Гимахален	32,515	0,24	-
Борнилизовалерат	32,71	0,22	0,10
$\delta$ -Кадинен	32,888	0,33	0,09

## Продолжение Таблицы 29

1Н-Бензоциклогептен-7-ол, 2,3,4,4а,5,6,7,8-октагидро-1,1,4а,7- тетраметил-, цис-	33,378	3,43	1,18
Элемол	33,503	0,3	0,46
Ди-эпи- $\alpha$ -кедрен	33,711	0,53	0,17
Бицикло[4.4.0]дец-2-ен-4-ол, 2-метил-9- (проп-1-ен-3-ол-2-ил)-	33,846	0,06	-
Ледол	33,967	0,17	0,44
(-)-Спатуленол	34,197	14,16	5,02
Эпиглобулол	34,349	2,48	0,32
$\alpha$ -Акоренол	35,009	-	0,15
7-эпи-цис-сесквисабинена гидрат	35,055	0,35	-
8-эпи- $\gamma$ -Эудесмол	35,194	0,27	-
$\gamma$ -Селинен	35,303	-	0,25
2-(7-гидроксиметил-3,11-диметил- додека-2,6,10-триенил)-[1,4]бензохинон	35,307	0,4	-
10-эпи- $\gamma$ -Эудесмол	35,446	-	1,02
$\alpha$ -Кадинол	35,681	-	3,7
Гвайол	35,732	5,17	-
10-эпи- $\beta$ -Эудесмол	35,876	-	1,19
Бицикло[4.4.0]дец-1-ен, 2-изопропил-5- метил-9-метилен-	35,935	8,43	0,27
Винбарбитал	35,979	5,79	-
6-изопропенил-4,8а-диметил- 1,2,3,5,6,7,8,8а-октагидронафталин-2-ол	36,157	0,41	0,21
$\beta$ -Бисаболол	36,321	1,57	-
Пачулол	36,386	1,96	0,16
Валеранон	36,396	-	8,38
$\alpha$ -Бисаболол	36,645	2,37	2,03
$\gamma$ -Гимахален	36,915	0,29	0,12
Метиловый эфир 10,12-трикосадииновой кислоты	37,11	0,14	-
Геранилизовалерат	37,21	0,17	0,29
6-(1,3-Диметилбута-1,3-диенил)-1,5,5- триметил-7-оксабицикло[4.1.0]гепт-2-ен	37,405	17,34	6,54
$\gamma$ - Гурьюненэпоксид-(2)	37,622	3,87	0,72
1-{2-[3-Метил-3-(5-метилфуран-2- ил)бутил]оксиран-2-ил}этанон	37,813	0,2	-
3,7,11-триметил-1,6,10-додекатриен-3- иловый эфир муравьиной кислоты	37,99	0,05	-
Трицикло[6.3.1.0(1,5)]додекан-9-ол, 2- бензоилокси-4,4,8-триметил	38,368	0,26	0,25

## Продолжение Таблицы 29

β-Гвайен	38,628	0,15	0,11
2-[4-метил-6-(2,6,6-триметилциклогекс-1-енил)гекса-1,3,5-триенил]циклогекс-1-ен-1-карбоксальдегид	38,68	0,21	0,08
1-гептатриакотанол	38,801	0,15	-
Керден-8;13-ол	39,07	2,86	1,27
β-Сантанол ацетат	39,438	0,06	-
4,4-Диметил-3-(3-метилбут-3-енилиден)-2-метиленбицикло[4.1.0]гептан	39,568	5,68	1,57
Бутановая кислота, 2-метил-, 2-метокси-4-(2-пропенил)фениловый эфир	39,989	0,16	0,26
2,4,7,14-Тетраметил-4-винил-трицикло[5.4.3.0(1,8)]тетрадекан-6-ол	40,132	0,10	-
Трицикло[5.1.0.0(2,4)]окт-5-ен-5-пропановая кислота, 3,3,8,8-тетраметил-	40,168	-	0,16
1Н-Циклопента[а]пентален-7-ол, декагидро-3,3,4,7а-тетраметил-, ацетат	40,353	0,12	-
Лимонен-6-ол, пивалат	40,553	1,04	0,47
4-(2,6,6-Триметилциклогекс-1-енил)масляная кислота	40,556	-	1,21
(8S,14)-Кедрандиол	40,743	0,42	-
2,6-октадиеналь, 2,6-диметил-8-(тетрагидро-2Н-2-пиранилокси)	40,887	-	0,10
2Н-пиран, 2-(7-додецинилокси)тетрагидро	40,891	0,13	-
Неоклавена оксид	41,207	0,19	-
Эстрадиол	41,477	-	0,11
Этил 5,8,11,14,17-икозапентаеноат	41,585	-	0,09
н-деканолтетрагидропирановый эфир	41,723	0,17	-
Валериановый ангидрид	41,724	-	0,46
5-метокси-2,2,6-триметил-1-(3-метилбута-1,3-диенил)-7-оксабицикло[4.1.0]гептан	42,33	0,19	-
Декагидронафталендиол-2,7	43,064	-	0,29
2-(2-изопропенил-5-метилциклопентилметокси)тетрагидропиран	43,536	-	0,44
Прогестерон	43,752	0,05	-
2,5-бис-(цис)-(2,2-диметил-3-карбоксициклопропил)-1,7-октадиен	44,134	-	0,09
Обнаружено веществ	-	81	58
Идентифицировано веществ	-	53	35

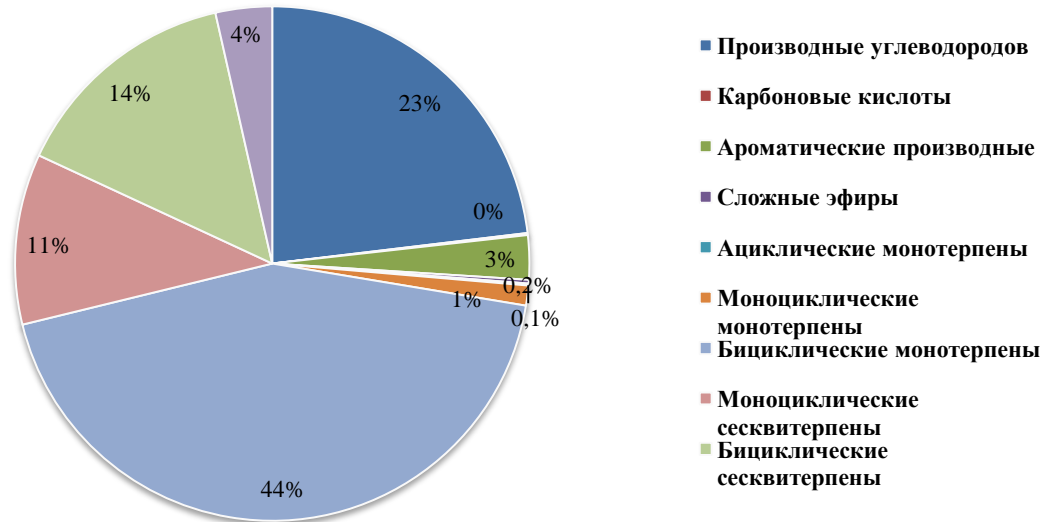
В эфирном масле из корневищ с корнями валерианы сомнительной, обнаружен 81 компонент (идентифицировано 53), из валерианы волжской – 58, из которых удалось идентифицировать 35 (Таблица 29). Общими БАВ для обоих видов эфирного масла являлись 29 веществ, различающихся по количественному содержанию (Таблица 29). Они представлены ациклическими и алициклическими соединениями (н-углеводороды, эфиры жирных кислот и их производные предельного и непредельного ряда), монотерпеноидами (ациклические, моноциклические и бициклические вещества), сесквитерпеноидами (ациклические, моноциклические, бициклические, трициклические вещества) и ароматическими производными нетерпеновой природы. В частности это: изовалериановая кислота, борнилацетат, борнеол, леден,  $\beta$ -копаен,  $\beta$ -ионон, борнилизовалерат,  $\delta$ -кадинен, ледол, (-)-спатуленол,  $\alpha$ -бисаболол, пачулол, геранилизовалерат,  $\beta$ -гвайен, лимонен-6-ола пивалат и др. В эфирных маслах доминировал спатуленол, борнилацетат, остальные компоненты присутствовали в гораздо меньших количествах. Распределение компонентного состава эфирного масла подземных органов валерианы изучаемых видов представлено на диаграмме (Рисунок 70). Как видно из Рисунка 70 массовая доля отдельных групп компонентов эфирного масла подземных органов изучаемых видов, заготовленных на одной территории, различна.

Так, в эфирном масле корневищ с корнями валерианы волжской преобладают производные углеводов, примерно в равных соотношениях представлены бициклические монотерпены и трициклические сесквитерпены и их производные. Остальные компоненты содержатся в незначительном количестве. Иная картина характерна для эфирного масла корневищ с корнями валерианы сомнительной. Бициклические монотерпены составляют практически половину в составе, около четверти приходится на производные углеводов, остальная часть представлена сесквитерпенами и их производными бициклического (14%), трициклического (11%) и моноциклического строения.

Обнаружены некоторые отличия в составе компонентов изучаемых эфирных масел (обозначены в Таблице 29). Только в эфирном масле корневищ с

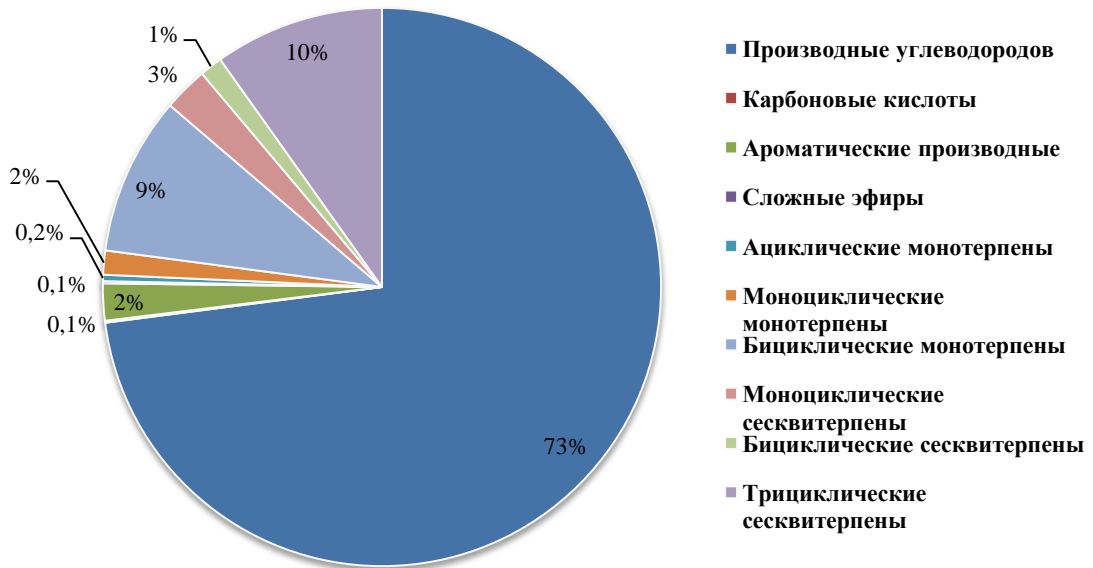
корнями валерианы волжской обнаружены ангидрид валериановый и сесквитерпеноид валеранон, относящийся к одному из активных компонентов седативного характера [17,148].

**Компонентный состав эфирного масла корневищ с корнями ВС**



а

**Компонентный состав эфирного масла корневищ с корнями ВВ**



б

**Рисунок 70 - Распределение компонентного состава эфирного масла подземных органов валерианы изучаемых видов (а – валериана сомнительная; б - валериана волжская)**

Интересным, на наш взгляд, явилось присутствие в сырье валерианы

волжской эстрадиола, а в сырье валерианы сомнительной – прогестерона (Таблица 29). Следовательно, обращаясь к исследованиям проф. Фурсы Н.С., который свидетельствовал о «неодинаковом характере действия различных видов валериан», следует предположить, что длительное применение эфирного масла валерианы вида волжская может способствовать формированию «женского типа» телосложения у мужчин. При этом наличие прогестерона в масле валерианы сомнительной положительным образом может сказываться на «мужском здоровье», предупреждая неоплазию предстательной железы.

Однако строгая видоспецифичность БАВ в химическом составе сырья может быть подтверждена при оценке образцов данных видов, заготовленных в разных эколого-географических зонах, способах культивирования, а также необходима дополнительно оценка варибельности присутствия данных БАВ в сырье при неодинаковом воздействии совокупности годовых особенностей климатических условий Центрально-Черноземного региона.

#### **5.4. Применение ИК-спектроскопии для исследования структуры БАВ сырья валериан сомнительной и волжской**

Метод ИК-спектроскопии стремительно развивается в области исследования фармацевтических объектов [59, 87, 146]. Известно, что отдельные ФС на фармацевтические субстанции синтетического происхождения в ГФ РФ XIV издания (2018 г) в качестве метода А в разделе «Испытания на подлинность» требуют сравнения ИК-спектра испытуемого образца со спектром стандартного образца или со стандартным спектром, полученных в идентичных условиях.

Метод ИКС также в последнее время находит применение в области фармацевтической разработки при создании новых комбинированных лекарственных препаратов в процессе оценки модельных составов лекарственных и вспомогательных веществ на предмет наличия различных взаимодействий между отдельными компонентами. Широко применяется для изучения полиморфных модификаций лекарственных веществ, а также кристаллической

структуры их твердых дисперсий.

В современных фармакогностических исследованиях метод БИК-спектрометрии используется зарубежными фармацевтическими компаниями, производящими ЛРП, не только для установления подлинности своей продукции, но и для неразрушающей экспресс-оценки накопления различных БАВ, по которым проводится стандартизация и оценка качества, в ЛРС при культивировании его в промышленных масштабах («Бионорика SE», Германия) и определения рационального времени заготовки с максимальным содержанием компонентов, отвечающих за фармакологическую активность будущих ЛРП.

В фундаментальной физической химии метод издавна применяется для установления характера внутри- и межмолекулярного взаимодействия веществ в субстанциях и растворах. В настоящее время возможность внедрения метода в практику фармакогностических исследований является предметом научных изысканий различных ученых для:

- оценки присутствия различных групп БАВ в составе сложного метаболома ЛРС;
- оценки готовности сырья к сбору (накопление целевой группы БАВ) с возможностью продолжения его культивирования на плантациях;
- выявления специфических маркерных полос поглощения для внутривидового и межсортового дифференцирования;
- изучения типов межмолекулярных взаимодействий БАВ и характера образующихся структур, обуславливающих их комплиментарность с рецепторами на клеточном уровне и объясняющих уникальный синергизм действия ЛРП по сравнению с отдельными аналогичными синтетическими субстанциями.

Настоящий этап развития фармакогностического анализа ЛРС требует применения современных спектральных методов. В частности, в литературе ИК-спектроскопия в последнее время все чаще используется для выявления различных групп БАВ в растительных объектах [19, 96, 106, 114]. Однако, требования для растительных средств не включают пока представления ИК-спектра, а данный метод используется для ЛРС только в научных целях.



Растительные объекты характеризуются комплексностью состава БАВ. До настоящего времени достоверная база ИК-спектров ЛРС, полная и доступная даже для узкого круга специалистов отсутствует. Создание такой библиотеки спектров ЛРС, имеющего многокомпонентный состав БАВ, востребовано и необходимо для решения конкретных практических задач в фармакогнозии [1, 26, 31, 54, 58, 116, 137, 164].

Представляет интерес использование как для целей идентификации ЛРС, а также дифференциальной диагностики близкородственных видов и различных сортов лекарственных растений, так и в качестве экспресс-метода неразрушающего характера, позволяющего осуществить анализ состава компонентов в максимально сжатые сроки, сохраняя возможность дальнейшей вегетации растения. К таким видам трудноразличимого сырья относятся от 9-14 (по разным данным) близкородственных видов растения рода *Valeriana*, входящих в сборный цикл ряда *V. Officinales* L., и характеризующихся чрезвычайно сходным химическим составом [32].

Чтобы избежать длительной пробоподготовки, условия которой могут повлиять на вид получаемых ИК-спектров, более объективным для идентификации ЛРС представляется применение ИК-спектроскопии с Фурье преобразованием. Метод нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) позволяет получать информативные спектры ЛРС определенной степени измельченности.

В связи с этим представляется достаточно актуальным внедрение и изучение направлений возможного практического использования метода Фурье ИК-спектроскопии для решения различных задач фармакогнозии. Анализ литературы показал, что в настоящее время в литературе крайне мало публикаций по использованию данного метода в анализе ЛРС [59, 61, 146].

Цель данного раздела исследования заключалась в оценке возможности идентификации ЛРС валериан сомнительной и волжской методом ИК – спектроскопии.

Мы предполагаем, что изучение данных полученных ИК-спектров ЛРС даст

возможность проводить дифференциацию как отдельных видов валериан, так и морфологических групп сырья за счет некоторые отличий в рисунке спектра в виду неодинакового химического состава, выявленного в ходе исследований и подробно описанного выше в данной Главе.

Основными действующими БАВ подземных органов валерианы являются валепотриаты и эфирное масло. В основе валепотриатов, как монотерпеновых иридоидов бициклического строения, лежит скелет циклопентанпирана, имеющий пять ОН-групп. Данные группировки образуют эпоксиды, а также сложные эфиры с уксусной и изовалериановыми кислотами. Валепотриаты (ацевалтрат, валтрат, изовалтрат, дидровальтрат и др.) при высушивании свежего ЛРС частично гидролизуются под действием ферментов на основные составляющие - изовалериановую кислоту и её производные и иридоид – балдриналь [152].

Наиболее важными и доминирующими терпенами в составе эфирного масла являются производные борнеола – борнилизовалерианат, обуславливающий характерный запах ЛРС и препаратов на его основе, а также борнилацетат. В небольшом количестве присутствуют сесквитерпеноиды и ароматические производные.

Следовательно, для ИК-спектров должно быть характерно наличие интенсивных полос поглощения, характерных для сложно-эфирных и карбонильных групп (свободных и связанных), эпоксидных структур, кислородсодержащих гетероциклов, непредельных и насыщенных скелетных и ароматических связей.

Химический состав надземных органов даже фармакопейного вида валерианы изучен недостаточно. Однако, на основании имеющихся сведений, кроме вышеуказанных максимумов, можно предположить наличие полос, свойственных фенольному гидроксилу флавоноидов, дубильных веществ и ГКК.

Средний ИК-диапазон от 4000 до 400 см<sup>-1</sup> был выбран для проведения исследований, как дающий возможность регистрировать основные колебания молекул. Во всех спектрах исследованных образцов обнаружены полосы

поглощения, отражающие общий химический состав (Рисунок 71, 72). Наблюдались сходные полосы поглощения, отличавшиеся лишь интенсивностью. Особенно близки между собой были спектры одноименных групп сырья (травы и корневищ с корнями) изучаемых видов валериан.

В ИК-спектрах порошков изучаемого ЛРС можно выделить характерные для гидроксильных групп циклопентанпиранового скелета валепотриатов полосы поглощения:  $3296-3280 \text{ см}^{-1}$ .

Сложная полоса поглощения в области  $2958-2844 \text{ см}^{-1}$  обусловлена валентными колебаниями многочисленных метильных и метиленовых групп. Деформационные колебания этих же групп дают характерные пики при  $1751-1407 \text{ см}^{-1}$  и около  $700 \text{ см}^{-1}$  ( $790-720 \text{ см}^{-1}$  – маятниковые колебания метиленовых групп).

Отмечаются малоинтенсивные полосы поглощения  $1100-700 \text{ см}^{-1}$  - валентные и ниже  $500 \text{ см}^{-1}$  - деформационные колебания углеродного скелета. Наличие полярной связи С-О на спектрах отражается появлением интенсивной полосы в интервале  $1200-1000 \text{ см}^{-1}$ .

Плоские деформационные колебания группы ОН также характеризуются сильным поглощением при  $1400-1250 \text{ см}^{-1}$ . При этом среди основных БАВ данного ЛРС преобладают соединения, у которых метиленовые группы замкнуты в ненапряженные циклы, что проявляется полосами в интервале  $1420-1400 \text{ см}^{-1}$ . Значительное количество карбонильных групп в структуре терпеноидных соединений эфирного масла характеризуется интенсивным поглощением в области  $1900-1580 \text{ см}^{-1}$ .

Сложные эфиры валериановой и изовалериановой кислот дают пик при  $1750-1735 \text{ см}^{-1}$ , а также несколько интенсивных полос в области  $1300-1050 \text{ см}^{-1}$  – «эфирная полоса». Частоты поглощения связей С-О в соединениях с циклогексановыми кольцами обнаруживают себя при  $1069-1063 \text{ см}^{-1}$ . Пики на спектрах при  $1600-1500 \text{ см}^{-1}$  говорят о присутствии ароматических соединений. Главная полоса при  $1629-1604 \text{ см}^{-1}$  вызвана двойной связью кислородного цикла валепотриатов.

Некоторые полосы в этом диапазоне характерны для бензольного ядра. Валентные колебания связей С-Н при эпоксидном кольце проявились на спектрах при 3050-2990 см<sup>-1</sup>. Полоса в районе 1720 см<sup>-1</sup> характерна для ацилированной кофейной кислоты [59, 96]. Отнесение выявленных частот поглощения в ИК-спектрах ЛРС исследуемых видов валериан приведено в Таблице 30 и на Рисунках 71 и 72.

Основные линии поглощения различной интенсивности в указанных диапазонах частот (Таблица 30) присутствуют в ИК-спектрах практически всех исследуемых видов ЛРС, что может быть использовано для целей установления подлинности и доброкачественности данного ЛРС, и свидетельствует о некоторой устойчивости состава БАВ в сырье растений ряда *V. Officinales L.*

Таблица 30 - Характеристические частоты поглощения в полученных ИК-спектрах изучаемого ЛРС

ЛРС Диапазон частот	Трава		Корневища с корнями	
	ВВ	ВС	ВВ	ВС
	ν, см <sup>-1</sup> (на спектрах)			
3600-3200	3280	3284	3288	3296
2960-2850	2912	2918	2939	2958
	2844	2850	-	-
2000-1600	1728	1731	-	1751
	1606	1604	1629	1608
1556-1512	-	-	1514	1508
1460-1450	1411	1411	1407	1419
1380-1300	1371	1373	1375	1367
	1325	1319	1325	1325
1280-1010	1244	1245	1269	1238
	1161	1149	1163	1172
	-	1095	1060	1076
	1014	1020	1016	1016
840-800	-	-	871	860
750-720	773	763	767	763
720-600	-	609	-	-

На спектрах ЛРС исследуемых видов присутствует интенсивная полоса

поглощения в диапазоне 3296-3280  $\text{см}^{-1}$  (Рисунок 71, 72). Мы предполагаем, что ее наличие обусловлено колебаниями валентного типа гидроксильной группы, образующей межмолекулярные водородные связи БАВ.

Так как свободная группа -ОН, по литературным данным [59, 87], дает очень узкий пик поглощения при 3750-3700  $\text{см}^{-1}$ , то смещение данной полосы в область более низких частот (3650-3200  $\text{см}^{-1}$ ) свидетельствует о возникновении водородных связей между отдельными БАВ с участием -ОН группы [96, 146].

Эта полоса может сдвигаться до 3500-2500  $\text{см}^{-1}$  в случае вовлечения в образование водородной связи нескольких молекул – формирования полиассоциатов БАВ [96, 106].

С физической точки зрения это объясняется уменьшением силовой постоянной для связи О–Н в виду увеличения ее длины. Чем прочнее возникающие межмолекулярные структурные ансамбли, тем ниже частота колебаний. Мы не рассматриваем возможность образования межмолекулярной водородной связи с участием карбоксильных групп, так как на спектрах отсутствует группа перекрывающихся полос в области 3000-2500  $\text{см}^{-1}$  (димеры).

Для попытки классифицировать установленные, по данным ИКС, конгломераты, рассчитаны термодинамические характеристики [87, 96] выявленных связей: энергия ( $E_H$ ) и длина ( $R$ ) (Таблица 31).

Таблица 31 - Результаты расчета термодинамических характеристик межмолекулярных водородных связей БАВ в ЛРС

ЛРС	Частота, $\text{см}^{-1}$	$\Delta \nu_2^*$ $\text{см}^{-1}$	$\nu_{1/2,1}^*$ $\text{см}^{-1}$	$E_H$		$R, \text{ \AA}$
				кДж/ моль	ккал/ моль	
Трава ВВ	3280	420	304,90	29,70	7,09	2,745
Трава ВС	3284	416	302,02	29,42	7,03	2,746
Корневища с корнями ВВ	3288	412	299,14	29,14	6,96	2,747
Корневища с корнями ВС	3296	404	293,38	28,57	6,82	2,750

$\Delta \nu^*$  - смещение частоты поглощения и  $\nu_{1/2,1}^*$  полуширина полосы.

Согласно данным фундаментальной классической литературы по ИК-спектроскопии [96, 146], выявленные межмолекулярные водородные связи следует отнести к типу сильных в соответствии с существующей классификацией, принятой на основании величин энергии (более 5 ккал/моль) и длины (более 2,7 Å).

Для БАВ спиртового, фенольного характера, а также гетероциклического с гетероатомом кислорода водородные связи приводят к формированию пространственных структур: цепей, димеров, колец или сеток [96, 114].

Валепотриаты в изучаемом ЛРС, содержащие полигидрооксициклопентанпирановый остов молекул, по данным ИКС, участвуют в образовании полиассоциатов, так как полоса поглощения смещена гипсохромно в область 3400-3200 см<sup>-1</sup>. Если бы данные БАВ координировались в пространственные димеры, то величина смещения -  $\Delta \nu$  на ИК-спектрах была бы несколько меньше и полоса располагалась в диапазоне 3650-3450 см<sup>-1</sup>.

Для подтверждения предположения об образовании комплексов, построенных из разных соединений и/или димеров и полимеров, устанавливали наличие корреляции между величиной смещения и полушириной полосы поглощения гидроксильной группы, а также длиной и энергией образовавшихся водородных связей (Рисунок 73-75).

Значения величин  $R^2$  на графиках свидетельствует о наличии жестких линейных зависимостей, что подтверждает выдвинутую гипотезу об участии БАВ данного ЛРС в комплексообразовании.

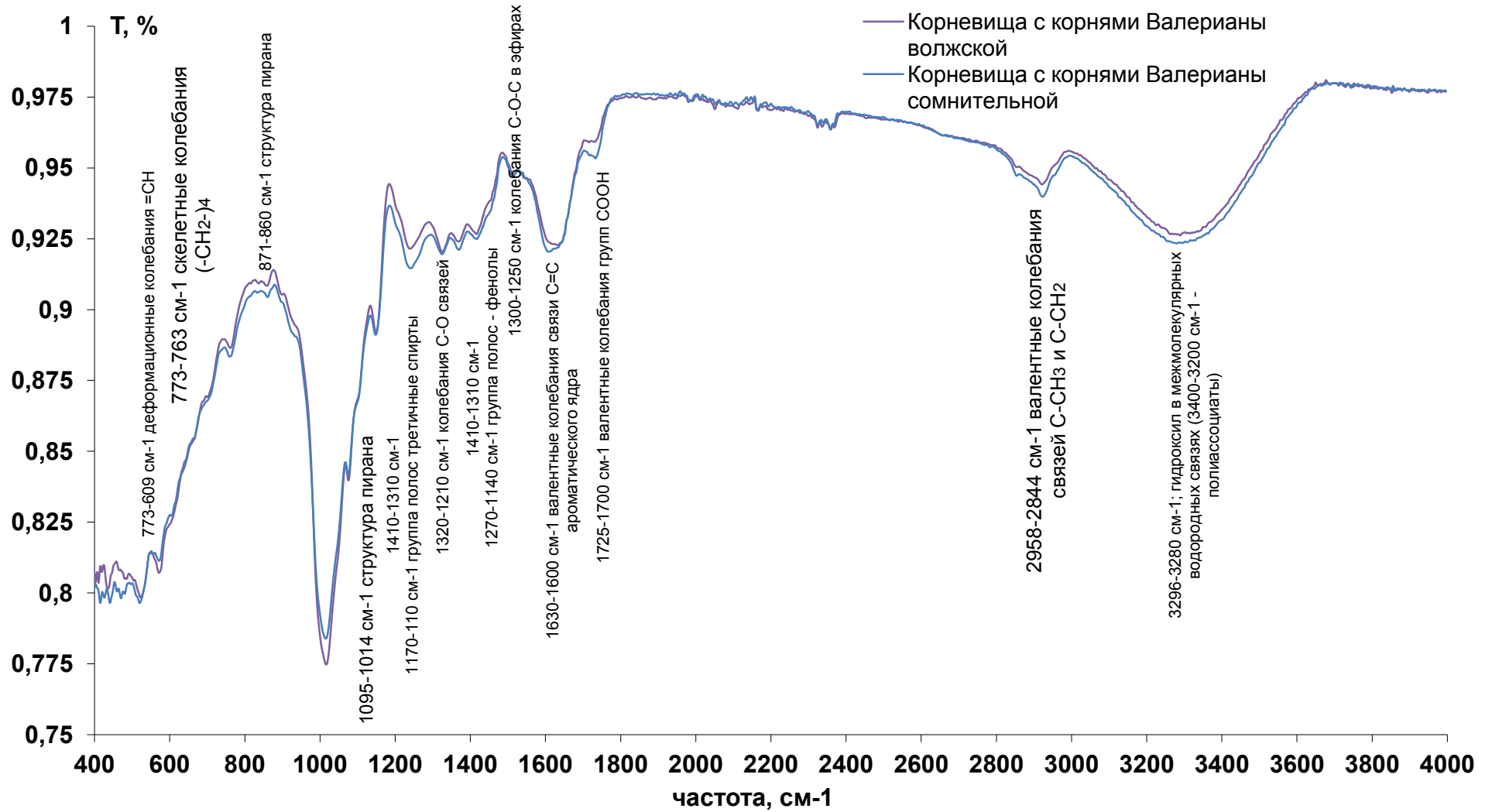


Рисунок 71 - ИК-спектры анализируемого сырья валериан (n=3) в диапазоне средних частот

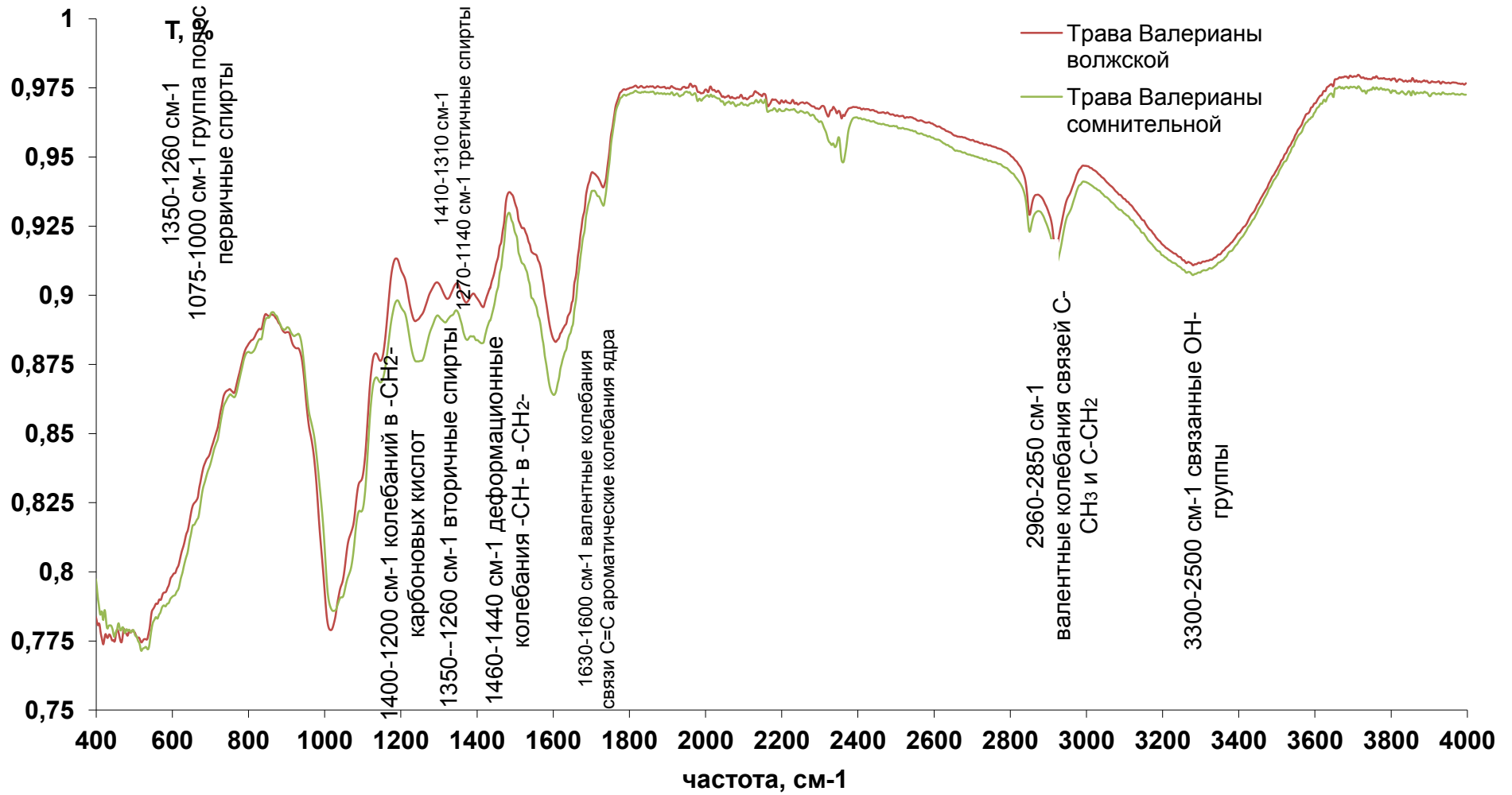


Рисунок 72 - ИК-спектры анализируемого сырья валериан (n=3) в диапазоне средних частот



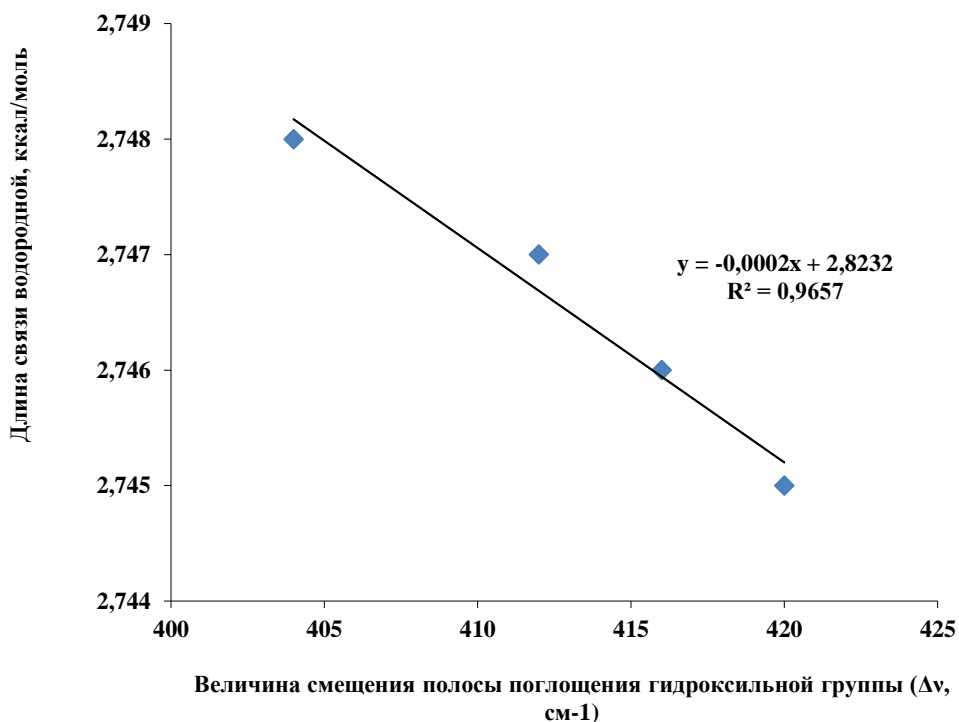


Рисунок 73 - Зависимость длины водородных связей в изучаемом ЛРС от смещения частоты поглощения (валентные колебания связанного гидроксила)

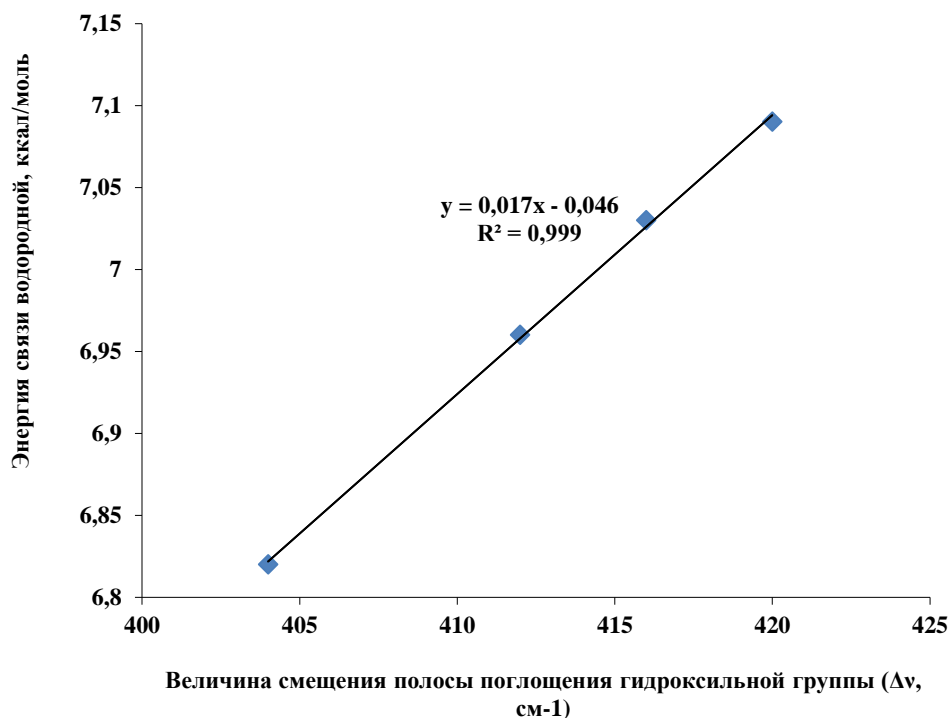


Рисунок 74 - Зависимость энергии водородных связей в изучаемом ЛРС от смещения частоты поглощения (валентные колебания связанного гидроксила)

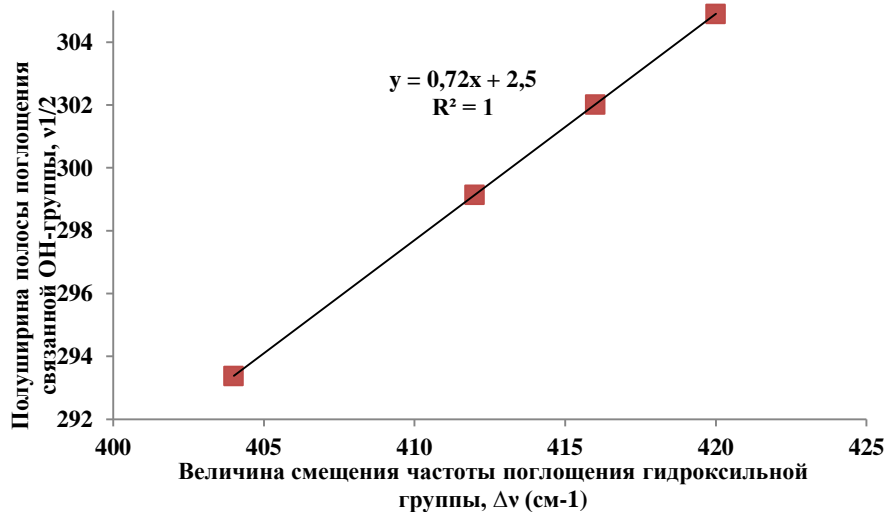


Рисунок 75 - Зависимость энергии полуширины полосы поглощения связанной ОН-группы в изучаемом ЛРС от смещения частоты поглощения (валентные колебания связанного гидроксила)

Области колебаний от 1100 и ниже - область «отпечатков пальцев». Совокупность полос поглощения в этой области считается, по данным литературы, уникальной характеристикой соединения. Характер спектра в этом интервале частот существенно изменяется даже при небольших изменениях в структуре соединений. Достоверным доказательством идентичности исследуемого образца является полное совпадение всех полос в этой области со спектром известного образца или со стандартным библиотечным спектром.

Таким образом, судя по полученным спектрам, установлена специфичность в рисунке для каждого сырья из изучаемых видов, что, по-видимому, определяется некоторыми особенностями фитохимического состава (Рисунок 76, таблица 32 и 33).

Выявленные в спектре специфические частоты можно считать характеристическими для определенного вида сырья валерианы и использовать их в качестве маркеров при определении подлинности и видовой принадлежности методом ИКС (Рисунок 76 и Таблицы 32 и 33).

Последнее требует уточнения и более подробного изучения на объектах, выращенных и заготовленных в других климатических регионах.

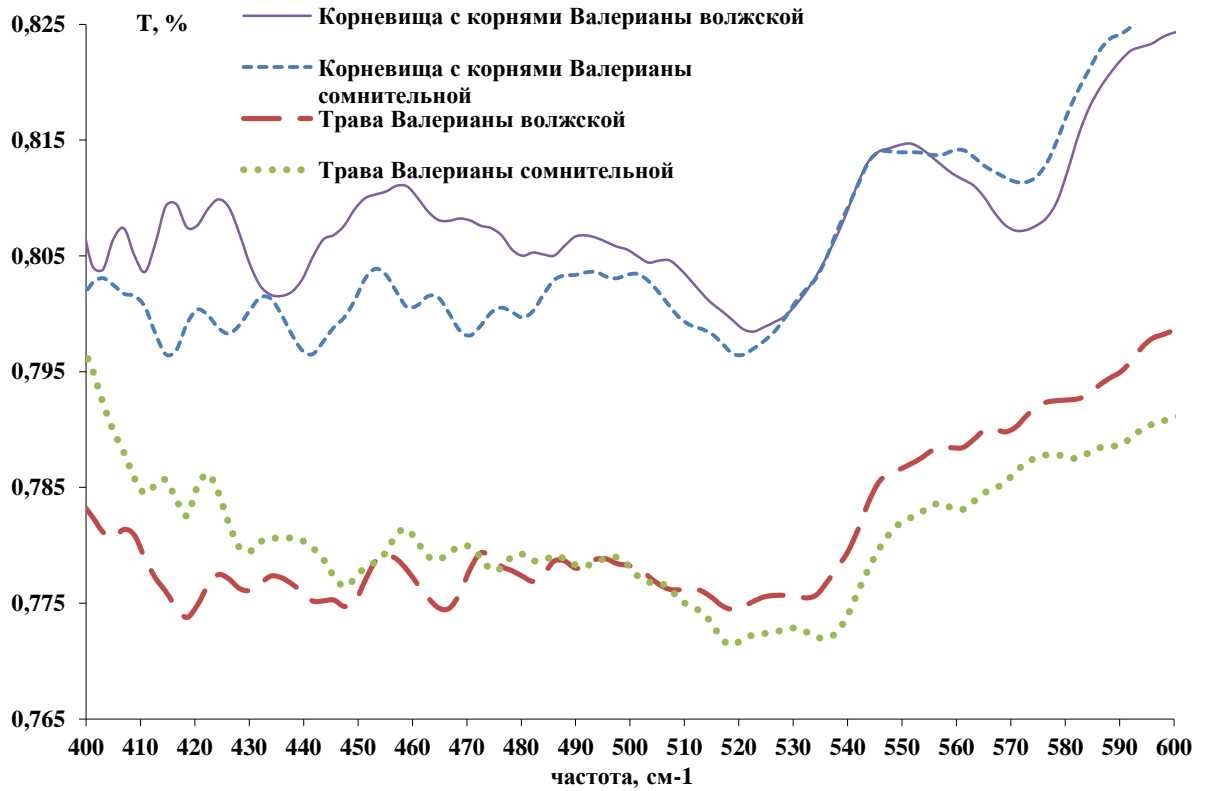


Рисунок 76 - ИК-спектр анализируемого сырья валериан (n=3) в области «отпечатков пальцев»

Для ИК-спектров травы валерианы исследуемых видов было характерно наличие специфических полос поглощения в отличие от подземных органов при 561, 536 и 491  $\text{см}^{-1}$ . ИК-спектры корневищ с корнями имели следующие маркерные полосы, отличающие их от травы при 1076; 570 и 426  $\text{см}^{-1}$ . Следует отметить, что разные морфологические органы (трава и корневища с корнями) валерианы одного вида имели общие полосы поглощения при 430; 418 и 405  $\text{см}^{-1}$  (для валерианы волжской).

Таблица 32 - Маркерные полосы поглощения в полученных ИК-спектрах подземных органов валериан изучаемых видов

№ п/п	Корневища с корнями	$\nu$ , $\text{см}^{-1}$ (на спектрах)										
		572	522	486-480	470	459	441	432	426	418	410	403
		-	-							-		
		570	520							414		
1	ВВ	+	+	плечо	-	-	-	+	-	+	+	+
2	ВС	+	+	480	+	+	+	-	+	+	-	-

Таблица 33 - Маркерные полосы поглощения в полученных ИК-спектрах надземных органов валериан изучаемых видов

№ п/п	Трава	$\nu$ , см <sup>-1</sup> (на спектрах)											
		561	536	518	491	482	474	464	447	430	418	410	405
1	ВВ	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+
2	ВС	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

С помощью серии экспериментов показано, что рисунок ИК-спектра в области «отпечатков пальцев», являются строго специфичными, что может быть использовано для целей подтверждения видовой принадлежности сырья в процессе комплексного фармакогностического анализа. Полученные данные, в целом, свидетельствуют о схожести химического состава двух близкородственных видов валериан, заготовленных на территории Воронежской области, что обосновывает, в дополнении с другими исследованиями состава метаболома, возможность их использования наряду с официальным сырьем – подземными органами валерианы лекарственной. С помощью метода ИК – спектроскопии, на основании выявленного гипсохромного смещения характеристических частот поглощения, предположено существование БАВ в изучаемом ЛРС в виде межмолекулярных комплексов за счет образования водородных связей. Проведены теоретические расчеты их длин и энергий. Полученные результаты свидетельствуют о возможности и перспективности использования в будущем метода ИКС не только для оценки подлинности ЛРС, но и изучения структуры БАВ в нем, а также накопления и систематизации данных для формирования библиотеки спектров ЛРС. Однако, в настоящее время проведено еще незначительное количество исследований в данной области, но развивать это научное направление необходимо.

В заключение данного раздела можно отметить следующее: ИК-спектроскопия не является общепринятым, рутинным методом исследования ЛРС, в т.ч. валерианы. Накопление и систематизация данных подобных

исследований, однако, может в перспективе позволить рекомендовать его внедрение в первую очередь при исследовании метаболома. ИКС может быть использована как метод идентификации ЛРС данного вида, т.к. ИК-спектр является уникальной характеристикой, позволяющей проводить оценку подлинности по положению полос и их интенсивностям [67].

### 5.5. Выводы к главе 5

1. Первичный скрининг компонентного состава корневищ с корнями валериан сомнительной и волжской Воронежской области методом ГХ/МС показал наличие 72 соединений, среди которых такие классы БАВ как органические кислоты (ароматического, жирного ряда в т.ч. полиненасыщенные; гидроксикислоты, дикарбоновые кислоты и другие); сесквитерпеновые кислоты и их производные; аминокислоты; фенолкарбоновые кислоты; сахара (моно- и дисахариды); фитостерины; моно-, би- и сесквитерпеноиды (компоненты эфирного масла). В единственном представительстве представлены спирты и их эфиры (глицерофосфат), непредельные углеводороды – сквален и гомолог  $\alpha$ -токоферола –  $\gamma$ -токоферол.

2. Проведено изучение состава БАВ первичного обмена в сырье (аминокислот и полисахаридов). Закономерности накопления данных веществ, в целом, не позволяет провести дифференциацию изучаемых близкородственных видов.

3. Методом ГХ/МС проведена сравнительная оценка жирнокислотного состава корневищ с корнями и семян валерианы волжской и валерианы сомнительной. Только в сырье валерианы волжской обнаружена маргариновая кислота, а каприновая кислота определена только в семенах валерианы сомнительной.

4. С применением современных физико-химических методов анализа проведено изучение состава БАВ вторичного обмена в сырье (органические кислоты, в том числе оксикоричные и сесквитерпеновые, флавоноиды, сложные

эффиры, дубильные вещества и др.). Отличия в комплексе изученных групп БАВ были обнаружены только в составе органических кислот. Для исследованных образцов ВВ установлено присутствие муравьиной, фумаровой, молочной и сорбиновой кислот с ростом общей суммы органических кислот. Подземные органы ВС, заготовленные на территории Воронежской области, накапливают яблочную кислоту.

5. Проведена стандартизация травы валерианы изучаемых видов по содержанию суммы флавоноидов и гидроксикоричных кислот. На основании проведенных исследований методами ВЭЖХ и БХ следует заключить, что при сравнительном анализе не обнаружены принципиальные различия в наборе ГКК и флавоноидов в надземных органах валерианы сомнительной и валерианы волжской. Предложены числовые критерии качества по количественному содержанию данных БАВ. Разработаны и внедрены инструкции по заготовке травы валериан сомнительной и волжской (Приложение Б).

6. Подземные органы исследуемых видов валериан по содержанию сесквитерпеновых кислот не уступают фармакопейному виду – валериане лекарственной. Установлено, что валериана сомнительная в корневищах с корнями накапливает большее количество суммы сложных эфиров карбоновых кислот (в пересчете на кислоту валереновую), чем фармакопейный представитель сборного цикла валериан, произрастающих в одинаковых эколого-климатических условиях. Таким образом, данные виды Воронежских валериан могут быть обоснованно с научной точки зрения разрешены к массовой заготовке и использованию в фармацевтической промышленности для получения ЛРП.

7. Методом хромато-масс-спектрометрии изучен состав и дана количественная оценка компонентов эфирного масла, полученного из высушенных корневищ с корнями валерианы валериан сомнительной и волжской. Выявленные различия в химическом составе БАВ масла, предположительно, могут вносить вклад в итоговый неодинаковый фармакологический эффект седативного и спазмолитического свойства суммарных препаратов на основе данных видов. Однако, требуются дополнительные исследования данных видов,

произрастающих на территории других областей, а также оценка накопления БАВ в рамках одного места произрастания за определенный период времени.

8. Методом ИК-Фурье спектроскопии с применением НПВО показано, что рисунок ИК-спектра в области «отпечатков пальцев», являются строго специфичными, что может быть использовано для целей подтверждения видовой принадлежности сырья в процессе комплексного фармакогностического анализа. С помощью метода ИК – спектроскопии, на основании выявленного гипсохромного смещения характеристических частот поглощения, предположено существование БАВ в изучаемом ЛРС в виде межмолекулярных комплексов за счет образования водородных связей.

## **ГЛАВА 6. ИЗУЧЕНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ИЗ КОРНЕВИЩ С КОРНЯМИ ВАЛЕРИАНЫ СОМНИТЕЛЬНОЙ И ВАЛЕРИАНЫ ВОЛЖСКОЙ, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В ВОРОНЕЖСКОЙ ОБЛАСТИ**

В большинстве стран, в том числе в РФ, требования к современным ЛРП в настоящее время приближаются к общепринятым в отношении всех ЛП независимо от происхождения. Регистрация новых ЛРП проводится на общих основаниях аналогично с синтетическими препаратами и подразумевает наличие доказательной базы их эффективности, то есть данных доклинических и клинических исследований [101], свидетельства их безопасности, в связи с чем актуальным является дальнейшее изучение объективных показателей, характеризующих фармакологическую активность и параметры безопасности не только новых, но и хорошо известных лекарственных средств растительного происхождения.

Распространенные на территории Воронежской области валериана сомнительная (*Valeriana dudia* Bunge) и валериана волжская (*Valeriana wolgensis* Kazak.), на сегодняшний день мало изученные в фармакологическом отношении.

В связи с вышесказанным сравнительное изучение различных видов фармакологической активности извлечений из корневищ с корнями, а также *in silico* исследования для травы валерианы сомнительной и валерианы волжской является актуальным и логическим завершением данной работы.

### **6.1. Экспериментальные исследования различных видов фармакологической активности на лабораторных животных (*in vivo*)**

Следует отметить, что в эксперименте сравнивались свежеприготовленные извлечения из подземных органов изучаемых видов валериан, приготовленные по типу настоек, согласно ГФ РФ XIV издания ОФС «Настойки», с промышленными



образцами настоек валерианы лекарственной (на сроке хранения не более 6 месяцев с момента производства), что могло отразиться на полученных результатах. Однако, целью проводимого исследования было не обнаружение дополнительных фармакологических свойств изучаемых видов, а подтверждение наличия у них седативных свойств, характерных для препаратов валерианы лекарственной, и, как следствие, возможности их заготовки и использования наряду с официальным сырьем валерианы лекарственной и расширения сырьевой базы для производства ЛРП.

### **6.1.1. Изучение седативных, адаптогенных и антигипоксантных свойств извлечений из сырья валерианы сомнительной и валерианы волжской, произрастающих на территории Воронежской области**

Приготовление спиртовых извлечений для проведения испытаний осуществляли как описано в Главе 2, п. 2.2.4.1. Проведение экспериментальных исследований на лабораторных животных различных видов фармакологической активности проводили по методикам, приведенным в п. 2.2.4.2 Главы 2.

На первом этапе работе осуществляли оценку седативных свойств извлечений из сырья валерианы сомнительной и валерианы волжской по методике «открытое поле». В качестве препарата сравнения была выбрана официальная настойка валерианы лекарственной промышленного производства, приобретенная в аптечной сети г. Воронежа.

Как видно из данных, представленных в Таблице 34, на фоне введения официальной настойки валерианы, у крыс возрос латентный период на 76,7% по сравнению с контрольной группой, снизилась вертикальная и горизонтальная двигательная активности на 36,0 и 45,9% соответственно, количество норок - на 80,4%.

Исследуемый лекарственный препарат снизил также и эмоциональную активность особей (груминг и болюсы) на 27,4 и 27,5% соответственно [108].

Таблица 34 - Результаты оценки влияния извлечений на характер поведенческих реакций в тесте «открытое поле»

Показатели	Контроль	Исследуемые извлечения		
		Официальная настойка валерианы	Извлечения, полученные для проведения эксперимента	
			Валериана волжская	Валериана сомнительная
Латентный период, сек	1,63±0,24	2,88±0,32*	3,43±0,53*	3,71±0,42**
Горизонтальные движения	22,88±2,36	12,38±3,33*	12,00±3,34*	11,76±2,06**
Вертикальная активность	4,50±0,56	2,88±0,37*	1,38±0,53**	1,27±0,46**
Возвраты в центр	0,38±0,09	0,00	0,00	0,00
Норковый рефлекс	4,50±1,40	0,88±0,40*	0,50±0,27*	0,48±0,15*
Груминг	4,13±0,35	3,00±0,34*	1,01±0,18***	1,05±0,24***
Болюсы	1,38±0,52	1,00±0,31	0,88±0,44	0,85±0,32

\* -  $P < 0,01$  и \*\* -  $P < 0,001$  по сравнению с контролем

В то же время, у извлечений, полученных из валериан волжской и сомнительной, данные показатели были более выражены. Так, латентный период, по сравнению с контролем, увеличивался более чем в 2 раза, и на 20% по сравнению с официальным препаратом. Показатели двигательной активности, по сравнению с контролем, снижались приблизительно в 2 раза для горизонтальных движений, более чем в 3 раза - для вертикальной активности, в 9 раз – для норкового рефлекса. Показатели эмоциональной активности также значительно уменьшались по сравнению с контрольной группой. В частности, количество умываний животных упало в 4 раза. Следует отметить, что проявление эффектов валерианы сомнительной являлась максимально выраженным по большинству показателей. По сравнению с группой, получавшей официальную настойку, лучшие результаты по испытаниям на наличие седативной и анксиолитической активностей были достигнуты по показателям груминг и стойки – вертикальная активность (ниже в 3 и 2 раза соответственно).

Учитывая влияние изучаемых извлечений на латентный период, горизонтальный и вертикальный компонент двигательной реакции, а также на уровень эмоциональной реактивности, следует отметить, что наибольшей седативной и анксиолитической активностью обладали изучаемые извлечения из корневищ с корнями валерианы волжской и сомнительной.

На следующем этапе исследований проводили оценку адаптогенного и актопротекторного действия изучаемых извлечений на основе корневищ с корнями валериан анализируемых видов. Модель принудительного плавания мышей с грузом включает компоненты стрессорной эмоциональной (помещение в незнакомую обстановку, принудительная необходимость активных движений) и физической (выполнение мышечной работы, осложненной наличием дополнительного груза) нагрузки, позволяя, таким образом, оценить адаптогенную и актопротекторную активность препарата [108].

Таблица 35 - Результаты оценки адаптогенного и актопротекторного действия изучаемых извлечений в тесте «принудительное плавание»

Группа животных	Длительность плавания, сек	% увеличения плавания по сравнению с контролем
Контрольная группа	157,8±10,95	100
Группа животных, получавших официальную настойку валерианы	268,0±30,74	169,84
Группа животных, получавших извлечение из валерианы волжской	204,0±21,59	129,28
Группа животных, получавших извлечение из валерианы сомнительной	335,4±17,45	212,55

Как видно из данных, представленных в Таблице 35, при комплексной эмоционально-физической нагрузке наиболее высокой активностью обладало извлечение из подземных органов валерианы сомнительной, так как повышало выносливость животных по сравнению с контрольными животными на 112,5%. Официальная настойка валерианы повысила данный показатель на 69,84%, а

извлечение из валерианы волжской - на 29,28%, что было ниже соответственно на 42,71 и 83,27% по сравнению с таковым у извлечения из корневищ с корнями валерианы сомнительной.

Анализируя данные эксперимента, можно сказать, что все изучаемые извлечения валерианы проявляют актопротекторное действие, однако наибольшую активность проявило извлечение из валерианы сомнительной, практически в 2 раза превысив показатель «длительность плавания» по сравнению с контрольной группой.

Модель «Гипоксической гиперкапнии» для оценки антигипоксической активности на следующем этапе исследований моделировалась, как описано в п. 2.2.4.2 Главы 2.

Как видно из данных, представленных в Таблице 36, исследуемые извлечения из валерианы незначительно повышают выносливость животных на модели гипоксической гиперкапнии.

Продолжительность жизни мышей при гипоксической гиперкапнии на фоне введения изучаемых извлечений была практически одинаковой и превышала показатели контрольной группы на уровне 4,6-5,6% [108].

Таблица 36 - Результаты оценки антигипоксической активности исследуемых извлечений из подземных органов валерианы

Группы животных	Продолжительность эксперимента, сек.	КВ	% к контролю
Контрольная группа	771,2±29,6	1,000	100,0
Группа животных, получавших официальную настойку валерианы	806,5±20,7	1,046	104,6
Группа животных, получавших извлечение из валерианы волжской	813,7±14,9	1,055	105,5
Группа животных, получавших извлечение из валерианы сомнительной	814,5±19,8	1,056	105,6

КВ – коэффициент выносливости

### **6.1.2. Сравнительная оценка психотропных свойств извлечений из корневищ с корнями валерианы волжской и валерианы сомнительной и травы зверобоя продырявленного в тесте «эвристические решения»**

Данный способ выявления психотропной активности состоит в моделировании эмоционально-физической стрессовой ситуации, достигаемой помещением животных в стеклянный цилиндр, заполненный холодной водой 10–12°C, предъявлении средств спасения (в виде рейки, лестницы или веревки), установленных в цилиндре, регистрации времени от момента погружения в воду до момента выбора средства спасения и времени от момента выбора средства спасения до попадания на выходную площадку, расположенную над цилиндром с водой, подсчете количества животных, успешно выполнивших задачу и вычислении вероятности решения задачи, вычислении Индекса психоэмоционального воздействия (ИПД) и Индекса моторно-двигательного воздействия (ИДД) по формулам [112, 172].

Предложенный тест «эвристические решения», выбранный нами на завершающем этапе экспериментальных испытаний изучаемых извлечений, позволяет за короткий промежуток времени и с высокой долей вероятности определить наличие психотропной активности изучаемого вещества и ее направленность (психоседативное или психостимулирующее действие), поэтому достаточно широко используется для первичного фармакологического скрининга (п. 2.2.4.2, Глава 2) [240, 243].

Для сравнительной оценки психотропной активности извлечений, полученных из изучаемых видов валерианы, готовили также извлечение (п. 2.2.4.2 Главы 2) из фармакопейного лекарственного растения – зверобоя продырявленного, известного своими антидепрессантными свойствами. Так на основе данного растения зарегистрирован ЛРП «Негрустин».

Для оценки качества приготовленных извлечений требовалось провести их стандартизацию по показателям (Таблица 37), изложенным в ОФС и ФС ГФ РФ [36].

Таким образом, изготовленные извлечения из травы зверобоя продырявленного, корневищ с корнями валерианы волжской и валерианы сомнительной соответствовали всем предъявляемым требованиям ГФ и могут быть использованы для проведения экспериментальных исследований по оценке психотропной активности.

Для введения лабораторным животным получали извлечения на водной основе, для чего проводили выпаривание основной массы пробы, оставшуюся часть пробы высушивали до постоянной массы и растворяли в воде до концентрации, рассчитанной исходя из дозы для взрослого человека.

Таблица 37 - Результаты оценки качества приготовленных испытуемых извлечений

Показатель качества	Полученные настойки		
	Валерианы сомнительной	Валерианы волжской	Зверобоя продырявленного
Количественное содержание спирта	66%	68%	37% (не менее 36%)
	(не менее 65%)*		
Определение сухого остатка	3,0%	3,26%	3,6% (не менее 2,5%)
	(не менее 3,0%)		
Определение содержания тяжелых металлов	не обнаружены (не более 0,001%)		
Содержание валериановой кислоты	0,26%	0,20%	-
	(не менее 0,2%)		
Сумма флавоноидов в пересчете на рутин	-	-	1,6% (не менее 0,5%)
Сумма антроценпроизводных в пересчете на гиперидин	-	-	0,6% (0,1-0,9%)

\* В скобочках указаны требования по ГФ к показателю качества

Выявление психотропной активности извлечений из корневищ с корнями валерианы волжской и валерианы сомнительной, а также травы зверобоя продырявленного осуществляли при помощи теста «эвристические решения». Установлено, что в группе здоровых животных, не подвергнутых воздействию психотропных средств – контрольная группа, все животные успешно справились с задачей поиска решения по спасению из экстремальной ситуации.

Расчетное значение вероятности решения задачи составило 100%. Время нахождения решения в среднем 10 секунд, время выполнения решения – 2,8 секунды, при этом большинство животных – 83% выбрали верный, технически более простой способ решения, то есть рейку, а не веревку (Таблица 38).

Извлечение из зверобоя продырявленного травы обеспечивала выраженное достоверное увеличение времени, затрачиваемого на процесс нахождения решения в 2 раза по сравнению с контролем, однако практически не оказывала влияния на время выполнения решения и выбор средства спасения, что свидетельствует о психоседативном действии при отсутствии выраженного влияния на мышечный тонус.

Извлечение из валерианы волжской вызывала значительное увеличение затрат времени на поиск решения в 2 раза и времени выполнения решения в 3,5 раза, однако вследствие значительной вариабельности результатов изменения, данные не являлись достоверными по сравнению с контрольной группой (Таблица 38).

При этом следует отметить значительное повышение количества животных, выбравших более сложный и неудобный способ спасения, то есть веревку, таковых животных было чуть меньше половины, а именно 42%, что, в целом, свидетельствует о наличии эффекта центрального торможения.

Извлечение из валерианы сомнительной вызывало значительное, достоверное ( $P < 0,05$ ) увеличение затрат времени на поиск решения в 2,5 раза и повышение времени выполнения решения в 1,5 раза (Рисунок 77).

Таблица 38 - Результаты оценки психотропных свойств извлечений из корневищ с корнями валерианы волжской и валерианы сомнительной и зверобоя продырявленного травы в тесте «эвристические решения»

Группа животных	ВНР, сек.	ВВР, сек.	Рейка, %	Веревка, %
Контрольная группа	10,17±2,14	2,83±0,40	83,3	16,7
Группа животных, получавших извлечение из валерианы волжской	21,79±6,65	9,93±5,91	57,1	42,9
Разница с контролем, %	+2,14 раза	+3,5 раза	–	+26,2
Группа животных, получавших извлечение из валерианы сомнительной	26,33±5,97 *	4,33±0,42 *	66,7	33,3
Разница с контролем, %	+2,59 раза	+52,9%	–	+16,6
Группа животных, получавших извлечение из зверобоя продырявленного	21,43±4,24 *	3,00±0,30	85,7	14,3
Разница с контролем, %	+2,11 раза	+5,9%	–	-2,4

Примечание: \* -  $P < 0,05$  – достоверность различий при сравнении показателей опытных групп с контролем. Здесь и на рис. 83: ВНР – время нахождения решения задачи; ВВР – время выполнения решения задачи.

Так же наблюдалось повышение количества животных, выбравших в качестве средства спасения веревку, таковых была одна третья часть в группе (Рисунок 78). Выявленные изменения свидетельствуют о снижении возбудимости и преобладании процессов торможения в центральной нервной системе. Это подтверждает наличие известного седативного действия извлечений из валерианы лекарственной, более выраженного, как показали исследования, именно для настойки валерианы сомнительной, а не валерианы волжской.

Полученные результаты согласуются с выявленным нами, по данным количественного определения, более высоким содержанием валериановой кислоты в извлечении из корневищ с корнями валерианы сомнительной (Таблица 25), что подтверждает взаимосвязь фармакологического эффекта с основной действующей группой БАВ данного сырья.



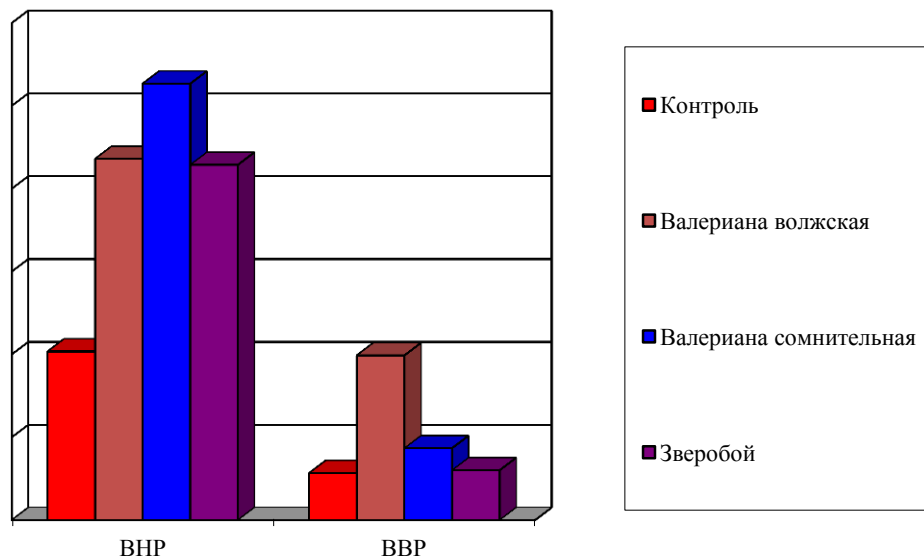


Рисунок 77 - Оценка психотропных свойств извлечений из валерианы волжской, валерианы сомнительной и зверобоя продырявленного в тесте «эвристические решения» по критериям время нахождения решения (VNP) и время выполнения решения (BVP)

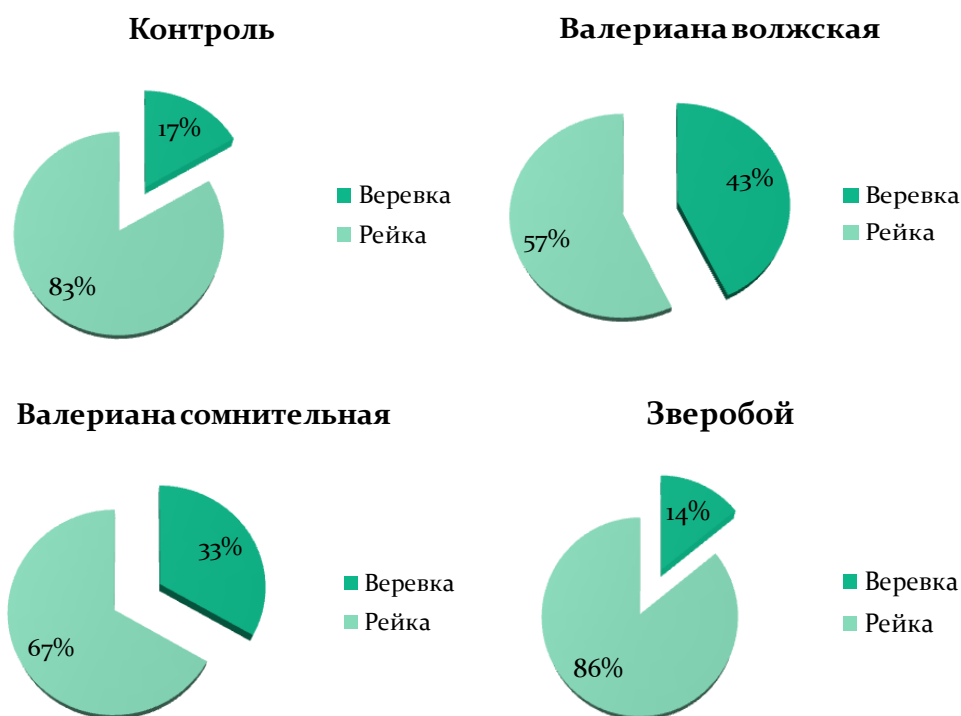


Рисунок 78 - Оценка психотропных свойств извлечений из корневищ с корнями валерианы волжской, валерианы сомнительной и зверобоя продырявленного травы в тесте «эвристические решения» по критерию выбора средств спасения (рейка, веревка)

Таким образом, по результатам экспериментальных исследований на лабораторных животных, извлечений из корневищ с корнями валериан сомнительной и волжской можно сделать вывод о возможности заготовки данных близкородственных видов, наряду с валерианой лекарственной, так как они показали лучшие результаты по оценке седативной активности в тестах «открытое поле» и «эвристические решения». Для изучаемых извлечений установлены также адаптогенная и актопротекторная, а также некоторая антигипоксическая активности. Следует отметить, что извлечения из сырья валерианы сомнительной на этапе экспериментальных исследований продемонстрировали более высокие показатели по всем видам изучаемых фармакологических свойств, как по сравнению с валерианой волжской, так и по сравнению с сырьем фармакопейного вида валерианы – валерианы лекарственной. Следовательно, изучаемые нами близкородственные виды валерианы лекарственной, имеющие наибольшее распространение на территории Воронежской области, могут также быть рекомендованы к использованию фармацевтической промышленностью для производства ЛРП.

## **6.2. Прогноз видов биологической активности травы валериан сомнительной и волжской с помощью веб-ресурса PASS online**

Метод первичной оценки наличия различных видов фармакологических свойств веществ, в т.ч. и БАВ растительных объектов, *in silico* в последнее время становится все более доступным и широко используемым. Он позволяет прогнозировать вероятность наличия эффекта с точностью до 95%. Полученные результаты для основных действующих БАВ травы валериан изучаемых видов представлены в Приложении А (Таблица А.1). Данные актуализированы по состоянию на апрель 2022 года. Для выбранных компонентов (флавоноидов и фенолкарбоновых кислот), по которым предлагается проводить стандартизацию травы, прогнозируются следующие возможные виды активности:

вазопротекторная, антигипоксическая и желчегонная, а также ингибиторы проницаемости мембран и экспрессии JAK2 (исключение рутин), ингибиторы хлордеконредуктазы и экспрессии NIF1A (искл. хлорогеновая кислота). Экстракты могут использоваться для лечения предопухолевых состояний (искл. хлорогеновая кислота), проявляя антимуtagenный эффект (искл. рутин и хлорогеновая кислота), борьбы с активацией свободнорадикальных процессов (искл. кофейная и п-кумаровая кислоты). Все исследуемые БАВ травы являются субстратом UDP-глюкуронозилтрансферазы. Флавоноиды надземной части исследуемых валериан являются агонистами целостности мембран, рецепторов анафилатоксина, ингибиторами таких ферментов как кверцетин-2,3-диоксигеназа, киназа, альдегидоксидаза, 2-дегидропантоат-2-редуктаза, бета-каротин-15,15'-монооксигеназа, глюконат-2-дегидрогеназа, убихинол-цитохром-С-редуктаза; проявляют антисеборейный эффект.

Весьма вероятными побочными эффектами (более 70% соединений) могут являться тремор (у 81,82% соединений) и афтозная язва (у 72,73% соединений). Средней степени вероятности (40-70%) можно считать следующие: изменение цвета мочи, токсический эффект на сосуды, гиперхолестеринемический и кровавая рвота (у 45,45% соединений), генотоксичный (у 54,55% соединений). Остальные возможные нежелательные эффекты маловероятны, так как наблюдаются менее, чем у 40% БАВ. Около 9% соединений только могут давать аллергический дерматит, фиброз интерстициальный, гипергликемический, гепатотоксический, невропатия зрительного нерва, психозы, токсичный, дыхательный, токсичный, желудочно-кишечный эффекты (Приложение А, таблица А.2).

Таким образом, полученные данные *in silico*, опыт применения травы валерианы лекарственной в народной медицине, позволяет предложить данное ЛРС для дальнейшей разработки на ее основе ЛРП вазопротекторного, желчегонного и антиоксидантного действия с дальнейшей оценкой *in vivo* на этапе доклинических исследований.

### **6.3. Сравнительная характеристика возможных видов биологической активности корневищ с корнями валериан сомнительной и волжской *in silico***

Основным фармакологическим действием официального сырья валериан сборного цикла лекарственная и ЛРП на его основе являются седативное и спазмолитическое, обусловленное присутствием целевых групп БАВ: валепотриатов, сложных эфиров сесквитерпеновых кислот и эфирного масла. Однако, группы отечественных и зарубежных ученых, занимающихся вопросами изучения неодинакового характера действия валериан близкородственных видов, связывали их с различиями в химическом составе [148-154]. В ходе данной работы были выявлены подобные различия (Глава 5, п. 5.1) для исследуемых образцов Центрально-Черноземного региона произрастания. Проведена сравнительная оценка возможных дополнительных видов биологической активности корневищ с корнями валериан сомнительной и волжской *in silico* (Приложение А, Таблица А.3 и А.4). Данные актуализированы по состоянию на апрель 2022 года. Для выбранных компонентов (Приложение А, Таблица А.3 и А.4), отличающих по химическому составу виды, по нашим данным, прогнозируются (более 40% оцениваемых БАВ) следующие общие возможные дополнительные виды активности: регуляторы липидного обмена, противоэкземные, антисеборейные, мукомембранозные протекторы, агонисты целостности мембран и колониестимулирующих факторов роста макрофагов, а также антигипоксанты. Особенно важным, с точки зрения основных показаний к применению препаратов валерианы, является наличие возможности лечения фобических расстройств.

Установлены также специфические для оцениваемых БАВ изучаемых видов возможные виды активности, отвечающие за общее проявление успокаивающего, спазмолитического и снотворного действия, характерного для ЛРП на основе валерианы лекарственной. Так БАВ корневищ с корнями валерианы волжской проявляют *in silico* ГАМК-подобную активность (агонист рецепторов ГАМК), а также обезвреживают свободные радикалы. БАВ корневищ с корнями валерианы

сомнительной проявляют *in silico* активность дыхательных и сердечно-сосудистых аналептиков, кардиопротекторов, а также противоишемических средств церебрального действия. Следовательно, применение препаратов на основе подземных органов валерианы вида сомнительная, наряду с основным седативным и спазмолитическим действиями, благоприятным образом может сказываться на пациентах, страдающих кардионеврозами, остановками дыхания во сне и нарушениями мозгового кровообращения. Полученные результаты в рамках компьютерного моделирования согласуются с данными экспериментальных исследований *in vivo* на лабораторных животных (Глава 6, п. 6.1).

Весьма вероятными общими побочными эффектами (более 50% соединений) могут являться: различные формы анемии, афтозная язва, диарея, метаболический ацидоз, гиперурикемия, гипомагниемия, тремор, гипотензия, слабость, сонливость, эйфория, нарушение сна, атаксия, мышечная слабость, конъюнктивит, желудочно-кишечные кровотечения, кровавая рвота. В тоже время для препаратов корневищ с корнями валерианы волжской с низкой долей вероятности возможны акатизия, панические состояния, зависимость, ортостатическая гипотония, брадикардия, жировая дистрофия печени и демиелинизация (Приложение А, Таблица А.6). При этом для препаратов корневищ с корнями валерианы сомнительной с низкой долей вероятности возможны меньшее число побочных эффектов: головная боль, головокружение, бред, психозы, тахикардия, тошнота и тромбофлебит (Приложение А, таблица А.5).

Таким образом, полученные данные *in silico* для некоторых БАВ корневищ с корнями валериан изучаемых видов, кроме общих фармакологических свойств, показали наличие специфических видов активностей и побочных реакций, дополняющих данные литературы о неодинаковом по выраженности характере действия препаратов валерианы, полученных из близкородственных видов сборного цикла *Officinales*.

#### 6.4. Выводы к Главе 6

1. Изготовленные для проведения экспериментальных исследований на лабораторных животных извлечения (из корневищ с корнями валерианы волжской и валерианы сомнительной, травы зверобоя продырявленного) по содержанию спирта, сухому остатку, содержанию тяжелых металлов, количественному содержанию основных действующих веществ соответствуют требованиям Государственной Фармакопеи РФ.

2. На модели гипоксической гиперкапнии установлено, что официальная настойка валерианы повышает продолжительность переносимости гипоксии на 4,6%, извлечение из валерианы волжской и валерианы сомнительной не более чем на 5,6%, что свидетельствует об отсутствии выраженного антигипоксантажного эффекта.

3. В тесте «принудительное плавание» установлено, что официальная настойка валерианы повышает продолжительность плавания подопытных животных примерно на 70,0%, извлечение из подземных органов валерианы волжской на 30,0%, а извлечение из корневищ с корнями валерианы сомнительной почти на 100% по сравнению с контролем.

4. Извлечение из корневищ с корнями валерианы сомнительной проявляет выраженную седативную активность по данным теста «открытое поле», сочетающуюся с адаптогенными свойствами по результатам теста «принудительное плавание», по большинству показателей значительно превосходя эффективность настоек из сырья фармакопейной валерианы лекарственной и извлечений из сырья валерианы волжской.

5. Извлечение из валерианы сомнительной в тесте «эвристические решения» достоверно увеличивает время поиска решения в 2,5 раза, время выполнения решения – в 1,5 раза, что превышает эффективность извлечения из валерианы волжской. Это свидетельствует о наличии достаточно выраженного седативного действия, и согласуется с выявленным, по данным количественного определения, более высоким содержанием валериановой кислоты в извлечении из

валерианы сомнительной. Извлечения из валерианы сомнительной по силе седативного действия показали результаты, сопоставимые с извлечением из травы зверобоя продырявленного.

6. В целом, извлечения из сырья валерианы сомнительной на этапе экспериментальных исследований продемонстрировали более высокие показатели по всем видам изучаемых фармакологических свойств, как по сравнению с валерианой волжской, так и по сравнению с сырьем фармакопейного вида валерианы – валерианы лекарственной.

7. *In silico* спрогнозированы вероятные виды фармакологической активности, а также нежелательные побочные эффекты фенольных соединений, выявленных в составе травы валериан изучаемых видов, и определены возможные перспективы разработки ЛРП определенного действия. Полученные данные *in silico* для некоторых БАВ корневищ с корнями исследуемых валериан, кроме общих фармакологических свойств, показали наличие специфических видов активностей и побочных реакций, дополняющих данные литературы о неодинаковом характере действия препаратов валерианы, полученных из близкородственных видов сборного цикла *Officinales*.

8. Таким образом, изучаемые нами близкородственные виды валерианы лекарственной, имеющие наибольшее распространение на территории Воронежской области, могут также быть рекомендованы к использованию фармацевтической промышленностью для производства лекарственных растительных препаратов.

## ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Проведенный комплексный морфолого - анатомический анализ корневищ с корнями и травы валериан волжской и сомнительной позволил обнаружить диагностические признаки и уточнить детали строения, дополняющие известные характеристики;

2. Проведенный масс-спектрометрический анализ выявил присутствие 65 элементов в официальном сырье и траве валериан волжской и сомнительной, произрастающих на территории Воронежской области. На основе показателей экологической безопасности (содержание токсичных элементов, пестицидов и радионуклидов) заготовленного сырья, представляется возможным рекомендовать выбранные районы для сбора корневищ с корнями и травы;

3. С применением современных физико-химических методов (СФМ, ВЭЖХ, ГХ-МС, капиллярный электрофорез, хромато-масс-спектрометрия, ТСХ и др.) установлен качественный и количественный состав БАВ первичного и вторичного обмена в подземных (эфирное масло, сесквитерпеновые кислоты, сложные эфиры, полисахариды, аминокислоты, органические кислоты и др.) и надземных (флавоноиды, гидроксикоричные, амино- и органические кислоты, дубильные вещества, сахара, экстрактивные вещества и др.) органах валерианы волжской и валерианы сомнительной;

4. Разработаны и валидированы спектрофотометрические методики определения содержания в траве суммы флавоноидов в пересчете на рутин (не менее 1%) и суммы фенолкарбоновых кислот в пересчете на кислоту гидроксикоричную (не менее 0,5%), как целевых групп БАВ для стандартизации и оценки качества.

5. Методом компьютерного моделирования *in silico* составлен прогноз вероятных видов фармакологической активности, а также нежелательных побочных эффектов фенольных соединений травы валериан изучаемых видов. Для некоторых БАВ корневищ с корнями исследуемых валериан, кроме общих фармакологических свойств, выявлено наличие специфических видов активностей и побочных реакций, дополняющих данные литературы о



неодинаковом характере действия препаратов валерианы, полученных из близкородственных видов ряда *Officinales Grub.*

6. Спиртовые извлечения из сырья валерианы сомнительной на этапе экспериментальных исследований на лабораторных животных продемонстрировали более высокие показатели седативной, адаптогенной и актопротекторной активностей, как по сравнению с валерианой волжской, так и по сравнению с сырьем фармакопейного вида валерианы – валерианы лекарственной. Извлечение из корневищ с корнями валерианы волжской не уступало по выраженности изучаемых эффектов официальной настойке.

7. Научно обоснована перспективность применения сырья близкородственных видов валерианы лекарственной – сомнительной и волжской, имеющих наибольшее распространение на территории Воронежской области, для использования фармацевтической промышленностью в производстве ЛРП.

### **Практические рекомендации**

Являющееся в настоящее время побочным продуктом при заготовке корневищ с корнями валериан трава может быть использована в качестве перспективного источника БАВ для разработки на ее основе ЛРП вазопротекторного, желчегонного, антиоксидантного действия с дальнейшей оценкой *in vivo* на этапе доклинических исследований. Результаты диссертационного исследования использованы при разработке инструкций по заготовке травы валерианы волжской и валерианы сомнительной, зарегистрированные ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений». Корневища с корнями валерианы сомнительной имеют тенденцию к активному поглощению кадмия из почвы, что свидетельствует о нецелесообразности сбора подземных органов вдоль оживленных автотрасс и магистралей. Воронежская область может быть рекомендована для массовой заготовки сырья изученных валериан наряду с официальным видом валерианой лекарственной в целях использования отечественной фармацевтической промышленностью в изготовлении ЛРП

седативного действия в рамках программы импортозамещения и решения задач по разработке эффективных и безопасных лекарственных препаратов Российского производства.

### **Перспективы дальнейшей разработки темы**

Полученные результаты могут быть использованы при составлении ключей для идентификации близкородственных видов растений по морфолого-анатомическим признакам. Определены возможные перспективы разработки ЛРП на основе травы валериан сомнительной и волжской вазопротекторного, желчегонного, антиоксидантного определенного действия с дальнейшей оценкой *in vivo* на этапе доклинических исследований. Для выявления достоверных отличий в компонентном составе БАВ данных близкородственных видов требуется также проведение дополнительных многолетних исследований комплекса БАВ изученных видов валериан, произрастающих на других территориях, а также оценка многолетней динамики накопления БАВ в сырье изучаемого региона.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

АК – аминокислота;

БАВ – биологически активные вещества;

БХ – бумажная хроматография;

ВВ – валериана волжская;

ВЛ – валериана лекарственная;

ВС – валериана сомнительная;

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография;

ГЖХ – газожидкостная хроматография;

ГОСТ – государственный стандарт;

ГКК – гидроксикоричные кислоты;

ГФ – государственная фармакопея;

ГХ/МС – газовая хроматография с масс-детектированием;

ДВ – дубильные вещества;

ЖК – жирная кислота;

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт;

ИК НПВО – инфракрасная спектроскопия нарушенного полного внутреннего отражения;

КЭ – капиллярный электрофорез;

Кбп – коэффициент биологического поглощения;

ЛВ – лекарственное вещество;

ЛРС – лекарственное растительное сырье;

ЛП – лекарственный препарат;

ЛР – лекарственное растение;

ЛРП – лекарственный растительный препарат;

ЛФ – лекарственная форма;

НД – нормативная документация;

ОФС – общая фармакопейная статья;

ПДК – предельно допустимая концентрация;

ПНЖК – полиненасыщенная жирная кислота;

РБ – Республика Беларусь;

СО – стандартный образец;

ССС – сердечно-сосудистая система;

СФМ – спектрофотометрия;

ТСХ – тонкослойная хроматография;

ТУ – технические условия;

ФС – фармакопейная статья;

ФСП – фармакопейная статья предприятия;

ЭВ – экстрактивные вещества;

Arg – аргинин;

Glu - глутаминовая кислота;

Gly - глицин;

Ile – изолейцин;

Leu – лейцин;

Lys – лизин;

Met – метионин;

Phe – фенилаланин;

Pro – пролин;

Thr – треонин;

Val – валин

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Авилова И. А. Возможность использования метода ИК–спектроскопии для определения качества и подтверждения подлинности состава масел растительного происхождения / И. А. Авилова // Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК – продукты здорового питания. – 2016. – № 4. – С. 71–74.
2. Анализ методов стандартизации корневищ с корнями валерианы и препаратов на их основе по содержанию действующих веществ / А.В. Серeda, Л. А. Серeda, В. А. Бовтенко [и др.] // Фармаком. – 2007. – № 2. – С. 41–54.
3. Анализ при помощи ГХ/МС компонентного состава веществ первичного обмена семян валерианы сомнительной, произрастающей в Воронежской области / Ю. А. Джурко, О. А. Колосова, А. А. Парфенов [и др.] // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сборник научных трудов. – Пятигорск, 2015. – Вып. 70. – С. 32–34.
4. Атлас ареалов и ресурсов лекарственных растений СССР / редактор П. С. Чиков. – Москва: ВНИИ лекарственного растениеводства, 1980. – 340 с.
5. Атлас Воронежской области / под редакцией Н. Н. Ермоленко. – Воронеж, 1994. – 48 с.
6. Атлас лекарственных растений СССР / главный редактор Н. В. Цицин. – Москва: Государственное издательство медицинской литературы, 1962. – 703 с.
7. Афанасьева Т. Г. Разработка методических основ управления бизнес-процессами в аптечном сегменте фармацевтического рынка (на примере лекарственных растительных препаратов): автореферат диссертации ... доктора фармацевтических наук / Афанасьева Татьяна Гавриловна. – Москва, 2014. – 48 с.
8. Ахтырцев Б. П. Почвенный покров Среднерусского Черноземья / Б. П. Ахтырцев, А. П. Ахтырцев. – Воронеж: Издательство Воронежского университета, 1993. – 212 с.
9. Бакланова Т. А. Влияние суточного ритма на содержание фармакологически активных веществ и различных элементов в подземных и

надземных органах валерианы лекарственной / Т. А. Бакланова, Н. С. Фурса, В. Г. Корниевская // Научные труды: сборник статей / главный редактор Л. В. Мошкова. – Москва, 1999. – Т. 38, ч. 1: Современные проблемы фармацевтической науки и практики. – С. 158–163.

10. Бакланова Т. А. Исследование влияния экологических факторов на элементный состав и накопление фармакологически активных веществ растений рода валериана и пустырник: автореферат диссертации ... кандидата фармацевтических наук / Бакланова Татьяна Анатольевна. – Москва, 1997. – 22 с.

11. Биологическая активность суммы валепотриатов, выделенных из валерианы чесночколистной / В. В. Дунаев, С. Д. Тржецинский, В. С. Тишкин [и др.] // Фармакология и токсикология. – 1987. – Т. 50, №6. – С. 33–37.

12. Бобкова Н. В. Фармакогностическое изучение комплексных лекарственных растительных средств: диссертация ... доктора фармацевтических наук / Бобкова Наталья Владимировна. – Москва, 2017. – 275 с.

13. Борздыко Е. В. Сравнительная характеристика гаммаспектрометрических показателей лекарственных растений из юго-западного Нечерноземья РФ / Е. В. Борздыко, Н. В. Маркелова // Ученые записки Орловского государственного университета. Серия: Естественные, технические и медицинские науки. – 2011. – № 3. – С. 118–123.

14. Бородина А. Е. Семейство валериановые (*Valerianaceae*) / А. Е. Бородина, В. И. Грубов // Жизнь растений: в 6 т. / главный редактор А. А. Федоров. – Москва, 1981. – Т. 5: Цветковые растения. Ч. 2 / под редакцией А. Л. Тахтаджяна. – С. 378–382.

15. Валериана в фитотерапии / Н. С. Фурса, А. А. Зотов, С. Е. Дмитрук, С. Н. Фурса. – Томск, 1998. – 215 с.

16. Валериана лекарственная: компонентный состав летучих веществ листьев в окрестностях г. Ярославля и в окрестностях г. Запорожья / П. Ю. Шкроботько, А. В. Ткачёв, М. С. Юсубов [и др.] // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. – 2010. – Т. 18, № 2. – С. 141–150.

17. Валерианотерапия нервно–психических болезней / Н. С. Фурса, Е. А. Григорьева, В. Г. Корниевская [и др.]. – Запорожье: ИВЦ с/х, 2000. – 348 с.
18. Власов А. С. Оценка экологической безопасности лекарственного растительного сырья некоторых районов Пермского края / А. С. Власов, В. Д. Белоногова, А. В. Курицын // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 5. – URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=15027> (дата обращения: 19.02.2021).
19. Водородная связь: сборник статей / ответственные редакторы: проф. Н. Д. Соколов и проф. В. М. Чулановский. – Москва: Наука, 1964. – 339 с.
20. Водяницкий Ю. Н. Биогеохимия лантанидов в почвах / Ю. Н. Водяницкий, О. Б. Рогова. – DOI: 10.19047/0136-1694-2016-84-101-118 // Бюллетень Почвенного института им. В.В. Докучаева. – 2016. – № 84. – С. 101–118.
21. Возможности использования валепотриатов для оценки качества сырья и настоек валерианы лекарственной / М. М. Штыфурак, Н. С. Фурса, С. Д. Тржецинский [и др.] // Фармация. – 1985. – № 5. – С. 15–18.
22. Вознесенская Т. Г. Персен-форте в лечении тревожных расстройств у больных психовегетативным синдромом / Т. Г. Вознесенская // Лечение нервных болезней. – 2002. – Т. 8, № 3. – С. 38–41.
23. Ворошилов В. Н. Лекарственная валериана / В. Н. Ворошилов. – Москва: Издательство АН СССР, 1959. – 159 с.
24. Ворошилов В. Н. Официальные виды валерианы СССР / В. Н. Ворошилов // Бюллетень Главного ботанического сада АН СССР. – 1975. – Вып. 98. – С. 39–44.
25. Выделение и идентификация валереновой кислоты из подземных органов валерианы (*Valeriana officinalis L.*) / Е. Л. Комарова, Н. С. Цыбулько, В. И. Шейченко [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2000. – № 10. – С. 22–24.
26. Вытовтов А. А. Определение подлинности и обнаружение фальсификации пищевых продуктов методом ИК–Фурье–спектрометрии / А. А.

Вытовтов // Ученые записки Санкт-Петербургского имени В. Б. Бобкова филиала Российской таможенной академии. – 2010. – № 1(35). – С. 193–196.

27. Генералов Е. А. Физико-химические подходы к анализу природных полисахаридов / Е. А. Генералов // Auditorium. – 2015. – № 4(08). – С. 38–54.

28. Георгиевский В. П. Биологически активные вещества лекарственных растений / В. П. Георгиевский, Н. Ф. Комисаренко, С. Е. Дмитрук. – Новосибирск: Наука, 1990. – 333 с.

29. Гидроксикоричные кислоты и флавоноиды 28 видов рода валерианы СНГ / Н. С. Фурса, В. И. Литвиненко, В. В. Беликов [и др.] // Современное состояние и перспективы научных исследований в области фармации: тезисы докладов научно-практической конференции. – Самара, 1996. – С. 174.

30. Глухов А. З. Элементный состав *Valeriana officinalis* L. / А. З. Глухов, И. Н. Остапко, Н. П. Купенко // Промышленная ботаника. – 2003. – Вып. 3. – С. 83-86.

31. Голубцова Ю. В. Оценка качества и подлинности плодово-ягодного сырья методом ИК-Фурье спектроскопии нарушенного полного внутреннего отражения / Ю. В. Голубцова // Техника и технология пищевых производств. – 2017. – Т. 45, № 2. – С. 126–132.

32. Горбунов Ю. Н. Валерианы флоры России и сопредельных государств / Ю. Н. Горбунов. – Москва: Наука, 2002. – 208 с.

33. Горбунов Ю. Н. Валерианы флоры СССР: (Морфология, систематика, перспективы использования): автореферат диссертации ... доктора биологических наук / Горбунов Юрий Николаевич. – Москва, 1992. – 43 с.

34. Государственная фармакопея Республики Беларусь / Министерство здравоохранения Республики Беларусь, Республиканское унитарное предприятие «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении». – Минск, 2007. – Т. 2: Общие и частные фармакопейные статьи. – 471 с.

35. Государственная фармакопея республики Казахстан / Министерство здравоохранения республики Казахстан. – 1-е изд. – Алматы: Жибек жолы, 2009. –Т. 2. – 803 с. – ISBN 978-601-7152-43-7.



36. Государственная фармакопея Российской Федерации / Министерство здравоохранения Российской Федерации. – 14 изд. – Москва, 2018. – Т. 4. – URL: <https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol4/> (дата обращения: 29.04.2022).

37. Государственная фармакопея Союза Советских Социалистических Республик: в 2 вып. / Министерство здравоохранения СССР. – 11-е изд. – Москва: Медицина, 1987. – Вып. 1: Общие методы анализа / редколлегия: Э. А. Бабаян [и др.]. – 1987. – 336 с.; Вып. 2: Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / редколлегия: М. Д. Машковский [и др.]. – 1990. – 400 с.

38. Гржибовская К. А. Количественное определение сложных эфиров фармакологически активных веществ в официальном сырье валерианы из Воронежской области / К. А. Гржибовская, Я. О. Илатовская, О. А. Колосова // Актуальные вопросы медицинской науки : сборник научных работ студентов и молодых ученых Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых учёных с международным участием, посвящённой 65-летию студенческого научного общества Ярославской государственной медицинской академии. – Ярославль, 2011. – С. 300.

39. Гржибовский А. М. Экологические (корреляционные) исследования в здравоохранении / А. М. Гржибовский, С. В. Иванов, М. А. Горбатова // Наука и здравоохранение. – Семей, 2015. – Вып. 5. – С. 5–18.

40. Гринкевич Н. И. Геохимическая экология лекарственных растений / Н. И. Гринкевич // Фармация. – 1989. – №5. – С. 18–21.

41. Грубов В. И. Семейство валериановые / В. И. Грубов // Флора СССР. – Москва-Ленинград, 1958. – Т. 23. – С. 584–640.

42. Девени Т. Аминокислоты, пептиды и белки / Т. Девени, Я. Гергей. – Москва: Мир, 1976. – 364 с.

43. Демянчук Т. А. Изучение жирнокислотного состава некоторых дальневосточных видов валерианы / Т. А. Демянчук, П. Ю. Шкроботько, Н. С. Фурса // Сборник научных работ студентов и молодых ученых ЯГМА. – Ярославль, 2007. – С. 106–107.

44. Демянчук Т. А. Качественный анализ и количественное определение

аминокислот корневищ и корней валерианы лекарственной / Т. А. Демянчук, П. Ю. Шкроботко, М. С. Александрова // Вестник Пермской государственной фармацевтической академии. – 2007. – № 2. – С. 229–230.

45. Деякі аспекти хімічних досліджень сполук первинного та вторинного обміну родини валеріанових / Н. С. Фурса, С. В. Талашова, С. А. Кручинкіна [та інші] // Фармацевтический журнал. – 1992. – №5-6. – С. 28–33.

46. Долина Дона: природа и ландшафты / под редакцией Ф. Н. Милькова. – Воронеж: Центрально-Черноземное книжное издательство, 1982. – 157 с.

47. Ежов И. Н. Физико-географические районы Воронежской области / И. Н. Ежов // Воронежская область / под редакцией С. И. Костина. – [Воронеж]: Воронежское областное книгоиздательство, 1952. – Ч. 1: Природные условия. – С. 286–317.

48. Жирнокислотный состав официального сырья и семян валерианы волжской и валерианы сомнительной / О. А. Колосова, Ю. А. Джурко, А. А. Парфенов, Н. С. Фурса // Вестник Московского государственного областного гуманитарного института. Серия: Медико-биологические науки. – 2014. – Т. 1, № 1. – С. 1-4.

49. Жирнокислотный состав официального сырья и семян валерианы волжской и валерианы сомнительной / О. А. Колосова, Ю. А. Джурко, А. А. Парфенов, Н.С. Фурса // Перспективы внедрения инновационных технологий в фармации: сборник материалов Международной научно-практической конференции. – Москва, 2014. – С. 19.

50. Жучкова В. К. Край Воронежский (природа и природные районы Воронежской области) / В. К. Жучкова. – Воронеж: Воронежское книжное издательство, 1961. – 124 с.

51. Завражнов В. И. Лекарственные растения Центрального Черноземья / В. И. Завражнов, Р. И., Катаева, К. Ф. Хмелев. – Воронеж: Издательство ВГУ, 1973. – 392 с.

52. Завражнов В. И. Лекарственные растения: лечебное и профилактическое использование / В. И. Завражнов, Р. И. Китаева, К. Ф. Хмелев. – Воронеж: Издательство ВГУ, 1994. – 480 с.

53. Измерения активности гамма-излучающих нуклидов на сцинтилляционном спектрометре с использованием пакетов программ «Прогресс»: методические рекомендации / ГП ВНИИФТРИ. – Москва, 1993. – 35 с.

54. 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. – DOI: 10.14258/jscrpm.2019014210 // Химия растительного сырья. – 2019. – № 1. – С. 301–308.

55. Изучение компонентного состава природных соединений семян и подземных органов валерианы волжской и валерианы сомнительной, произрастающих в Воронежской области / Н. С. Фурса, Ю. А. Джурко, О. А. Колосова [и др.] // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2015. – № 2. – С. 129–135.

56. Изучение морфологических и анатомо-диагностических признаков сырья валерианы волжской методом люминесцентной микроскопии / О. А. Колосова, О. В. Тринеева, А. А. Сорокина, А. А. Гудкова // Фармация. – 2021. – Т. 70, № 8. – С. 26–30.

57. Изучение элементного состава корневищ с корнями культивируемой в Воронежской области валерианы в сравнении с образцами сырья из других мест выращивания / Н. С. Фурса, Д. С. Круглов, П. Ю. Шкроботько [и др.] // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2010. – № 2. – С. 158–163.

58. Использование подходов метаболомики в анализе лекарственных растений и фитопрепаратов (обзор) / А. А. Орлова, Й. Стругар, О. Ю. Штарк. – DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-1-97-105 // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2021. – Т. 10, № 1. – С. 97–105.

59. Казицына Л. А. Применение УФ-, ИК- и ЯМР-спектроскопии в органической химии / Л. А. Казицына, Н. Б. Куплетская. – Москва: Высшая школа, 1971. – 262 с.
60. Камаева Г. М. Воронежские валерианы / Г. М. Камаева, Г. И. Барабаш, О. А. Колосова // Воронежское краеведение: традиции и современность: материалы ежегодной областной научно-практической конференции (24 ноября 2012 г.). – Воронеж, 2013. – С. 153–155.
61. Камаева Г. М. Структура надземного побега валерианы волжской / Г. М. Камаева, Г. И. Барабаш, О. А. Колосова // Состояние и проблемы экосистем Среднерусской лесостепи. – Воронеж, 2014. – Вып. 28. – С. 122–127. – (Труды биологического учебно-научного центра ВГУ "Веневитиново").
62. Камышев Н. С. Растительный покров Воронежской области и его охрана / Н. С. Камышев, К. Ф. Хмелев. – Воронеж: Издательство Воронежского университета, 1976. – 181 с.
63. Клемпер А. В. Изучение содержания неорганических экотоксикантов в некоторых видах лекарственного растительного сырья Северо-Запада Российской Федерации: автореферат диссертации ... кандидата фармацевтических наук / Клемпер Алексей Владимирович. – Санкт-Петербург, 2013. – 24 с.
64. Ключев, Н. А. Современные методы масс-спектрометрического анализа органических соединений / Н. А. Ключев, Е. С. Бродский // Российский химический журнал. – 2002. – № 4(66). – С. 57–63.
65. Колосова О. А. Анатомическое исследование растения валерианы волжской (*Valeriana wolgensis* Kazak.) / О. А. Колосова, И. М. Коренская, Н. П. Ивановская // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции : сборник научных трудов. – Пятигорск, 2014. – Вып. 69. – С. 48–50.
66. Колосова О. А. Выявление и количественное определение сложных эфиров фармакологически активных веществ в подземных органах видов рода валерианы флоры Воронежской области / О. А. Колосова, Н. С. Фурса // Актуальные вопросы медицинской науки : сборник научных работ студентов и молодых ученых Всероссийской научно-практической конференции с

международным участием, посвященной 70-летию профессора А.А. Чумакова. – Ярославль, 2012. – С. 336.

67. Колосова О. А. Изучение возможности применения ИК-спектроскопии для идентификации сырья валериан сомнительной и волжской / О. А. Колосова, О. В. Тринеева // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2022. – Т. 11, № 3. – С. 139–149.

68. Колосова О. А. Изучение показателей безопасности официального сырья и травы валерианы волжской и валерианы сомнительной, произрастающих на территории Воронежской области / О. А. Колосова, О. В. Тринеева // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств : сборник трудов 8-й Международной научно-методической конференции. – Воронеж, 2022. – С. 285–289.

69. Колосова О. А. Изучение элементного состава корневищ с корнями и травы валерианы волжской и валерианы сомнительной, произрастающих в Воронежской области / О. А. Колосова, С. П. Гапонов, И. М. Коренская // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2018. – № 3. – С. 211–217.

70. Колосова О. А. Изучение элементного состава травы валерианы Волжской / О. А. Колосова, И. М. Коренская, И. Е. Измалкова // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств : материалы 7-й Международной научно-методической конференции "Фармообразование-2018", г. Воронеж, 28-30 марта 2018 г. – Воронеж, 2018. – С. 269–272.

71. Колосова О. А. Определение свободных и связанных сахаров в подземных органах валерианы волжской / О. А. Колосова, Н. С. Фурса // Актуальные вопросы медицинской науки: сборник работ студентов и молодых ученых Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 85-летию профессора Е. Н. Дормидонтова. – Ярославль, 2013. – С. 234–235.

72. Колосова О. А. Определение свободных и связанных сахаров в подземных органах валерианы сомнительной / О. А. Колосова, Т. А. Горохова, Н. С. Фурса // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции : сборник научных трудов. – Пятигорск, 2013. – Вып. 68. – С. 58–59.

73. Колосова О. А. Подходы к стандартизации и оценке качества сырья *Valeriana officinalis* L. S. I. и препаратов на его основе / О. А. Колосова, О. В. Тринеева // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств : сборник трудов 8-й Международной научно-методической конференции. – Воронеж, 2022. – С. 290–298.

74. Колосова О. А. Сравнительная оценка аккумуляции различных элементов из почвы сырьем валериан сомнительной и волжской, произрастающих на территории Воронежской области / О. А. Колосова, О. В. Тринеева // Микроэлементы в медицине. – 2022. – Т. 23, № 1. – С. 54–66.

75. Колосова О. А. Сравнительный анализ гидроксикоричных кислот и флавоноидов надземных органов валерианы сомнительной и валерианы волжской / О. А. Колосова, А. Л. Исханов, Н. С. Фурса // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции : сборник научных трудов. – Пятигорск, 2016. – Вып. 71. – С. 32–33.

76. Колосова О. А. Сравнительный фармакогностический анализ корневищ с корнями валерианы волжской и валерианы сомнительной, произрастающих на территории Воронежской области / О. А. Колосова, К. В. Шабунина // Материалы студенческой научной сессии и конкурса "Фармация будущего-2019": сборник статей. – Воронеж, 2019. – С. 30–35.

77. Компонентный состав эфирного масла корневищ с корнями *Valeriana officinalis* L. s. str. в окрестностях г. Ярославля и *V. collina* Wallr. в окрестностях г. Запорожье / П. Ю. Шкроботько, А. В. Ткачев, М. С. Юсубов [и др.] // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2009. – № 2. – С. 190–197.

78. Коновалова О. А. Биологически активные вещества *Valeriana*

*officinalis* L.s.l. разного географического происхождения / О. А. Коновалова, Н. Т. Конон, К. С. Рыбалко // Растительные ресурсы. – 1991. – Т.27, вып. 2. – С. 54–58.

79. Коновалова О. А. Биологически активные вещества подземных органов *Valeriana officinalis* L.s.l. / О. А. Коновалова, К. С. Рыбалко // Растительные ресурсы. – 1991. – Т. 27, вып. 1. – С. 146–159.

80. Коновалова О. А. О химическом составе корневищ с корнями *Valeriana wolgensis* из цикла *Valeriana officinalis* L. / О. А. Коновалова, В. И. Шейченко, К. С. Рыбалко // Химия природных соединений. – 1991. – № 1. – С. 141–143.

81. Контроль качества лекарственного сырья и фитопрепаратов валерианы лекарственной (*Valeriana officinalis* L.) / И. Е. Станишевская, А. И. Марахова, М. Ю. Грязнов, Ф. М. Хазиева // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2015. – Т. 1, № 10. – С. 122–127.

82. Корневая система валерианы волжской / Г. М. Камаева, Г. И. Барабаш, Н. С. Фурса [и др.] // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2014. – № 2. – С. 108–111.

83. Корниевская В. Г. Сравнительное фармакогностическое исследование валерианы побегоносной и валерианы высокой: автореферат диссертации ... кандидата фармацевтических наук / Корниевская В. Г. – Львов, 2002.

84. Корнієвська В. Г. Класичний фітотранквілізатор валеріана лікарська / В. Г. Корнієвська, С. В. Панченко, Ю. І. Корнієвський // Матеріали V міжнародної науково–практичної конференції. – Прага, 2009. – С. 41–45.

85. Кусова Р. Д. Определение подлинности компонентов, входящих в состав лекарственного сбора, применяемого при бессоннице / Р. Д. Кусова, Е. Э. Газацева // Молодые ученые в решении актуальных проблем науки: материалы 5-й Международной научно-практической конференции. – Владикавказ, 2014. – С. 139–141.

86. Литвиненко В. И. Химия природных флавоноидов и создание препаратов при комплексной переработке растительного сырья: диссертация ... доктора химических наук / Литвиненко В. И. – Харьков, 1990. – 79 с.

87. Литтл Л. Инфракрасные спектры адсорбированных молекул / Л. Литтл. – Москва: Мир, 1969. – 514 с.
88. Любимов В. Б.  $\gamma$ -спектрометрический анализ лекарственных растений из южного Нечерноземья РФ / В. Б. Любимов, Е. В. Борздыко, Н. В. Маркелова // Вестник Волгоградского государственного университета. Серия 3: Экономика. Экология. – 2010. – № 1(16). – С. 211–216.
89. Маевский П. Ф. Флора средней полосы европейской части России / П. Ф. Маевский. – Москва: Товарищество научных изданий КМК, 2006. – 600 с.
90. Макро- и микроэлементы европейских и азиатских образцов валерианы лекарственной / П. Ю. Шкроботько, А. Л. Парфенов, Т. А. Демянчук [и др.] // Естествознание и гуманизм: сборник научных работ. – Томск, 2004. – Т. 1, № 2. – С. 71–75.
91. Макро- и микроэлементы официального сырья валерианы и особенности их биологического действия / П. Ю. Шкроботько, И. Н. Соленников, С. Н. Соленникова, А. В. Лобашов // Запорожский медицинский журнал. – 2009. – № 6(11). – С. 144–148.
92. Масс-спектрометрическое определение химических элементов в корневищах с корнями четырех видов *Valeriana officinalis* L.s.l. / С. В. Панченко, С. Н. Соленникова, Т. А. Горохова [и др.] // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2012. – № 3(10). – С. 19–22.
93. Метод тонкослойной хроматографии при идентификации пустырника травы и валерианы лекарственной корневищ с корнями в составе растительных объектов / В. А. Сахратов, А. А. Поспелова, Дарга Мохссин, Куалла Эль Беккай // Научные труды молодых учёных: сборник статей Всероссийской научно-практической конференции. – Пенза, 2020. – С. 105–110.
94. Мильков Ф. Н. По родным просторам / Ф. Н. Мильков, В. Н. Двуреченский, К. А. Дроздов. – Воронеж: Издательство ВГУ, 1992. – 208 с.
95. Мильков Ф. Н. Эколого-географические районы Воронежской области / Ф. Н. Мильков, В. Б. Михно, В. И. Федотов. – Воронеж: Издательство ВГУ, 1996. – 216 с.



96. Наканиси К. Инфракрасные спектры и строение органических соединений: практическое руководство / К. Наканиси. – Москва: Мир, 1965. – 216 с.

97. Накопление и распределение тяжелых металлов в растениях зоны техногенеза / Т. М. Минкина, Г. В. Мотузова, Н. Н. Мирошниченко [и др.] // Агрохимия. – 2013. – № 9. – С. 65–75.

98. Налетов С. В. Клиническая фармакология препаратов валерианы и европейские традиции их применения: крушение постсоветских стереотипов. Обзор иностранных научных источников / С. В. Налетов // Украинский медицинский журнал = Український медичний часопис. – 2009. – № 3(71) – С. 41–47.

99. Нежелательные реакции при применении препаратов валерианы и корвалола: анализ спонтанных сообщений / С. Л. Морохина, Р. Н. Аляутдин, Д. А. Каперко [и др.]. – DOI: 10.30895/2312-7821-2018-6-4-162-173 // Безопасность и риск фармакотерапии. – 2018. – Т. 6, № 4. – С. 162–173.

100. Ничипорук А. Г. Влияние микроудобрений на качество корней и корневищ валерианы лекарственной / А. Г. Ничипорук, Г. М. Милоста // Сельское хозяйство – проблемы и перспективы: сборник научных трудов. – Гродно, 2013. – Т. 22: Агрономия. – С. 129–136.

101. Об обращении лекарственных средств [Электронный ресурс]: Федеральный закон от 12.04.2010 № 61-ФЗ (ред. От 03.04.2020). Доступ из справ.-правовой системы «Консультант плюс».

102. Оксикоричные кислоты валерианы / С. В. Талашова, А. А. Цуркан, А. А. Зинченко [и др.] // Комплексное изучение медико-биологических проблем здоровья населения Тюменской области. – Тюмень, 1993. – С. 47–48.

103. Определение седативно активных веществ в сырье и препаратах *Valeriana officinalis* L.s.l. флоры Украины / П. Ю. Шкроботько, С. В. Панченко, Д. М. Попов, Н. С. Фурса // Рецепт. – 2011. – № 6 (80). – С. 47–48.

104. Определение содержания химических элементов в диагностируемых биосубстратах, препаратах и биологически активных добавках методом масс-

спектрометрии с индуктивно-связанной аргонной плазмой: Методические указания (МУК 4.1.1483 - 03). - М.: ФЦ ГСЭН МЗ РФ, 2003. - 36 с.

105. Осипова С. К. Аминокислотный состав сырья и шрота валерианы лекарственной / С. К. Осипова, Т. А. Горохова, Н. С. Фурса // Фармация. – 2016. – №1. – С. 53–60.

106. Отто М. Современные методы аналитической химии / М. Отто. – 2-е изд., испр. – Москва: Техносфера, 2006. – 543 с.

107. Официальное сырьё семян валерианы волжской и валерианы сомнительной: жирнокислотный состав / О. А. Колосова, Ю. А. Джурко, А. А. Парфенов, Н. С. Фурса // Перспективы внедрения инновационных технологий в фармации: сборник материалов заочной научно-практической конференции с международным участием (30 ноября 2016 г). – Орехово-Зуево, 2016. – С. 98–102.

108. Оценка психотропных свойств извлечений из листьев зверобоя продырявленного, корневищ с корнями валерианы волжской и валерианы сомнительной в тесте «эвристические решения» / А. В. Бузлама, Ю. Н. Чернов, И. М. Коренская [и др.] // Актуальные проблемы фармакотерапии и фармакологии: Международная научно-практическая конференция, посвященная 80-летию академика Ш. М. Омарова. – Махачкала, 2016. – С. 236–240.

109. Панченко С. В. Изучение компонентного состава эфирного масла *Valeriana officinalis* L.s.l., произрастающей в Закарпатье / С. В. Панченко, С. К. Забелина, Н. С. Фурса // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Биология, Химия, Фармация. – 2014. – № 2. – С. 115–120.

110. Панченко С. В. Изучение компонентного состава эфирного масла *Valeriana officinalis* L. S. L., произрастающей в Закарпатье / С. В. Панченко, С. К. Забелина, Н. С. Фурса // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2014. – № 2. – С. 115–120.

111. Парфенов А. А. Сравнительное фармакохимическое изучение валерианы лекарственной, пустырника пятилопастного и бурачника лекарственного: диссертация ... кандидата фармацевтических наук / Парфенов Андрей Александрович. – Пермь, 2009. – 176 с.

112. Патент 2506649 Российская Федерация, МПК G09 В 23/28. Способ выявления психотропной активности лекарственных и нелекарственных веществ / Ю.Н. Чернов, А.В. Бузлама, Г.А. Батищева, М.В. Васин, В.А. Николаевский, А.И. Сливкин, Е.Н. Музалевская; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВПО «ВГУ». – № 2012136773/14; заявл. 28.08.12; опубл. 10.02.14, Бюл. №4.
113. Перельман А. И. Геохимия ландшафта / А. И. Перельман. – Изд. 2-е, перераб. и доп. – Москва: Высшая школа, 1975. – 341 с.
114. Пиментел Д. К. Водородная связь / Д. К. Пиментел, О. Л. Мак-Клеллан; под редакцией В. М. Чулановского. – Москва: Мир, 1964. – 462 с.
115. Попов А. И. Широкие возможности применения валерианы лекарственной в медицинской практике / А. И. Попов, Д. Н. Шпанько // Медицина в Кузбассе. – 2003. – № 2. – С. 17–22.
116. Применение ИК-спектроскопии в анализе лекарственного растительного сырья / О. В. Тринеева, М. А. Рудая, А. А. Гудкова, А. И. Сливкин // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2018. – № 4. – С. 187–194.
117. Применение хромато–масс–спектрометрии для изучения компонентного состава фармакопейных видов лекарственного растительного сырья / Р. В. Разживин, В. Ю. Решетняк, А. Н. Кузьменко [и др.] // Вестник Московского университета. Серия 2: Химия. – 2009. – Т. 50, № 1. – С. 67–70.
118. Протасова Н. А. Микроэлементы: биологическая роль, распределение в почвах, влияние на распространение заболеваний человека и животных / Н. А. Протасова // Соросовский образовательный журнал. – 1998. – № 12. – С. 32–37.
119. Разживин Р. В. Применение хромато-масс-спектрометрии для изучения компонентного состава фармакопейных видов лекарственного растительного сырья / Р. В. Разживин, В. Ю. Решетник, А. Н. Кузьменко [и др.] // Вестник Московского университета. Серия 2. Химия. – 2009. – № 1. – С. 67–70.
120. Рибальченко А. С. Сучасні дані хіміко-фармакологічних досліджень валерани лікарської / А. С. Рибальченко, М. С. Фурса, В. І. Литвиненко // Фармацевтический журнал. – 1980. – № 4. – С. 28–33.

121. Романенко В. И. Лечение тревожно-депрессивных расстройств в соматической практике: назначение комбинации экстрактов зверобоя и валерианы / В. И. Романенко, Ю. И. Романенко, И. В. Романенко // Международный неврологический журнал. – 2016. – № 1 (79). – С. 97–102.

122. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая [под ред. А. Н. Миронова]. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.

123. Рыбальченко А. С. Сравнительная характеристика эфирных масел из подземных органов *Valeriana nitida* Kreger и *Valeriana exaltata* Mikan / А. С. Рыбальченко, Н. С. Фурса // Растительные ресурсы. – 1977. – Т. 13, вып. 1. – С. 507–511.

124. Рыбальченко А. С. Фармакогностическое изучение валерианы блестящей (*Valeriana nitida* Kreyer) и валерианы возвышенной (*Valeriana exaltata* Mikan): диссертация ... кандидата фармацевтических наук / Рыбальченко А. С. – Запорожье, 1975. – 193 с.

125. СанПин 2.3.21078–01. Гигиенические требования к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов: утвержден и введен в действие Постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 14.11.01 г. № 36: дата введения 2002-09-01. – URL: [https://mibio.ru/docs/110/sanpin\\_2.3.2.1078-01\\_gigienicheskie\\_trebovaniya\\_bezопасnosti.pdf](https://mibio.ru/docs/110/sanpin_2.3.2.1078-01_gigienicheskie_trebovaniya_bezопасnosti.pdf) (дата обращения: 19.02.2021).

126. Семенихин Д. И. Культивирование валерианы лекарственной на почвах разного механического состава / Д. И. Семенихин // Агро XXI: научно-практический журнал. – 2007. – №7-9. – С. 38–39.

127. Середа А. В. Сесквитерпеновые кислоты в сырье и препаратах валерианы лекарственной / А. В. Середа, Л. А. Середа // Фармация. – 2009. – № 4. – С. 14–17.

128. Склад флавоноїдів валеріани лікарської південних і центральних областей України / Ю. І. Корнієвський, М. С. Фурса, А. С. Рибальченко, К. Є. Корещук. – Фармацевтичний журнал. – 1979. – № 4. – С. 71–72.

129. Склад флавоноїдів валеріани лікарської південих і центральних областей України / Ю. І. Корнієвський, М. С. Фурса, А. С. Рибальченко, К. Є. Корещук // Фармацевтический журнал. – 1979. – № 4. – С. 71–72.

130. Современные подходы к стандартизации настойки валерианы по показателю «Количественное определение» / Н. П. Антонова, Е. П. Шефер, А. М. Калинин [и др.]. – DOI: 10.30895/1991-2919-2019-9-4-265-271 // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2019. – Т. 9, № 4. – С. 265–271.

131. Соколова А. В. Микроскопическая диагностика некоторых видов рода *Valeriana* L. Амурской области по строению корневища и корня / А. В. Соколова // Альманах современной науки и образования. – 2015. – № 11(101). – С. 105–108.

132. Сочетание двух хромато графических методов для изучения химического состава лекарственных растений / А. Н. Кузьменко, В. Ю. Решетняк, В. А. Попков [и др.] // Вестник Московского университета. Серия 2: Химия. – 2011. – Т. 52, № 5. – С. 394–399.

133. Спицына С. Ф. Проявление синергизма и антагонизма между ионами меди, цинка и марганца при поступлении их в растения / С. В. Спицына, А. А. Томаровский, Г. В. Оствальд // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2014. – № 10(120). – С. 29–32.

134. Сравнительный фармакогностический анализ травы валерианы волжской и валерианы сомнительной / О. А. Колосова, Н. П. Ивановская, И. М. Коренская, И. С. Бобровская // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Создание новых физиологически активных веществ: материалы 5-й международной научно-методической конференции «Фармообразование-2013». – Воронеж, 2013. – С. 341–344.

135. Стандартизация действующих веществ валерианы лекарственной в растительном сырье и таблетках экстракта валерианы / Н. П. Антонова, Е. П. Шефер, С. С. Прохватилова [и др.] // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2014. – № 2. – С. 55–59.

136. Стандартизация лекарственных форм на основе растительного сырья корневищ с корнями валерианы, травы пустырника и плодов боярышника / О. М. Хишова, Л. Н. Дунец, Н. А. Алексеев [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2004. – Т. 38, №2. – С. 37–40.

137. Съедин А. В. Использование метода ИК-спектроскопии для экспресс-идентификации тиогликозидов в растительном сырье / А. В. Съедин, Т. В. Орловская, М. В. Гаврилин // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 1. – URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=11953> (дата обращения: 19.05.2022).

138. Таланов А. А. Анализ свободных и связанных углеводов в подземных и надземных органах голубики / А. А. Таланов, Н. С. Фурса // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. – 2010. – Вып. 2. – С. 130–134.

139. Талашова С. В. Количественное определение углеводов в листьях и корневищах двух видов валерианы / С. В. Талашова, П. Ю. Шкроботько, А. А. Цуркан, А. И. Бородин // Современные вопросы теории и практики лекарствоведения. – Ярославль. – 2007. – С. 321–324.

140. Талашова С. В. Фармакогностическое изучение, стандартизация и комплексная переработка валерианы лекарственной: автореферат диссертации ... кандидата фармацевтических наук / Талашова Светлана Вадимовна. – Москва, 1996. – 24 с.

141. Тарасевич А. Г. Химический состав валерианы лекарственной и вынос элементов минерального питания продукцией / А. Г. Тарасевич, В. В. Лапа, Г. М. Милоста // Весці нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя аграрных навук. – 2015. – № 2. – С. 64–69.

142. Терехин А. А. Технология возделывания лекарственных растений / А. А. Терехин, В. В. Вандышев. – Москва: РУДН, 2008. – 201 с.

143. Тржецинский С. Д. Валепотриаты отечественных видов рода валериана и их фармакологическая активность: автореферат диссертации ...

кандидата фармацевтических наук / Тржецинский Сергей Дмитриевич. – Москва, 1988. – 24 с.

144. Тринеева О. В. Применение люминесцентной микроскопии в анализе анатомо-диагностических признаков плодов облепихи крушиновидной / О. В. Тринеева, А. А. Гудкова, М. А. Рудая. – DOI: 10.33380/2305-2066-2020-9-1-40-45 // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2020. – Т. 9, № 1. – С. 40–45.

145. Тыныбеков Б. М. Фитохимическое исследование корневищ *Valeriana officinalis* L. и *Patrinia intermedia* (Hornem). Roem. et Schult выращенных в условиях культуры / Б. М. Тыныбеков // Вестник КазНУ. Серия биологическая. – 2012. – №1 (53). – С. 6–8.

146. Установление структуры органических соединений физическими и химическими методами / перевод с английского под редакцией Я. М. Варшавского, И. Ф. Луценко. – Москва: Химия, 1967. – Кн. 1. – 531 с. – (Методы органической химии. Серия монографий / под общ. ред. Вайсберга; Т. 11).

147. Флора СССР / под редакцией Б. К. Шишкина, Е. Г. Боброва. – Москва-Ленинград: Издательство АН СССР, 1948. – Т. XIII. – 451 с.

148. Фурса М. С. Дослідження складу флавоноїдів валеріани лікарської азійської частини СрСр / М. С. Фурса // Фармацевтический журнал. – 1980. – № 3. – С. 72–73.

149. Фурса Н. С. Валериана и болезни сердечно-сосудистой системы / Н. С. Фурса, А. А. Каракин, С. Н. Соленникова. – Ярославль: Траст, 2006. – 564 с.

150. Фурса Н. С. Валерианотерапия болезней сердца и сосудов: (Обобщение возможностей и особенностей применения валерианы лекарственной в комплексном лечении и профилактике сердечно-сосудистых заболеваний) / Н. С. Фурса, С. Н. Соленникова, А. А. Парфенов. – Ярославль, 2006. – 510 с.

151. Фурса Н. С. Изучение аминокислотного состава подземных и надземных органов валерианы волжской и валерианы сомнительной, произрастающих в Воронежской области / Н. С. Фурса, О. А. Колосова, И. М. Коренская // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2015. – № 3. – С. 135–139.

152. Фурса Н. С. Изучение веществ первичного и вторичного обмена видов семейства крестоцветных и валериановых как хемотаксономических признаков и фармакологически активных средств: автореферат диссертации ... доктора фармацевтических наук / Фурса Николай Сергеевич. – Ярославль, 1990. – 42 с.

153. Фурса Н. С. Сравнительный анализ элементного, углеводного и аминокислотного состава подземных органов валерианы лекарственной / Н. С. Фурса, Е. Н. Караванова // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. – 2013. – № 3. – С. 143–147.

154. Фурса Н. С. Хемосистематическое изучение видов рода *Valeriana* L. / Н. С. Фурса // Актуальные проблемы науки фармацевтических и медицинских вузов: от разработки до коммерциализации: материалы научно-практической конференции с международным участием. – Пермь, 2011. – С. 253–255.

155. Харрасова Г. В. Интродукция видов рода *Valeriana* в Башкирском Зауралье / Г. В. Харрасова, Н. И. Барышникова, М. М. Ишмуратова // Известия Самарского научного центра РАН. – 2011. – Т. 13, № 5 (3). – С. 116–119.

156. Харрасова Г. В. Интродукция некоторых видов рода *Valeriana* ряда *Officinales* в условиях культуры в степной зоне Башкирского Зауралья: автореферат диссертации ... кандидата биологических наук / Харрасова Гульемеш Ваисовна. – Уфа, 2012. – 16 с.

157. Хишова О. М. Технология получения и оценка качества жидкого экстракта корневищ с корнями валерианы / О. М. Хишова, Н. В. Дубашинская, Я. Ю. Адаменко // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2016. – Т. 15, №1. – С. 99–105.

158. Хромато-масс-спектрометрическая идентификация и расчет относительного содержания компонентов эфирного масла официального сырья и листьев валерианы холмовой / П. Ю. Шкроботько, А. В. Ткачев, М. С. Юсубов [и др.] // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2010. – №4. – С. 199–203.

159. Хромато-масс-спектрометрический анализ эфирного масла корневищ с корнями *Valeriana officinalis* L.s.l., произрастающей на учебно-практической



базе ЯГМА и *Valeriana grossheimii* Worosch., выращенной в Днепропетровской области / Н. С. Фурса [и др.] // Инновационные процессы в лекарствоведении : сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 30-летию фармацевтического факультета ЯГМА. – Ярославль, 2012. – С. 339–349.

160. Цуркан А. А. Атомно-адсорбционный спектроскопический анализ сырья валерианы / А. А. Цуркан, Н. С. Фурса, Н. В. Петров // Актуальные вопросы фармации. – Пермь, 1995. – С. 106.

161. Цуркан А. О. Хромато-мас-спектрометричне дослідження складу валеріани / А. О. Цуркан, Н. С. Фурса, В. П. Музиченко // Фармацевтический журн. – 2001. – № 1. – С. 94–97.

162. Чернов Ю. Н. Экспериментальная модель эвристических решений в опытах на крысах для фармакологического скрининга / Ю. Н. Чернов, М. В. Васин, С. Н. Комарова // Фармакология и токсикология. – 1989. – Т. 52, № 4. – С. 96–99.

163. Черных Е. П. Влияние экологических факторов и периода вегетации на содержание биологически активных веществ в некоторых видах растительного сырья Красноярского края / Е. П. Черных // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – 2012. – №11. – С. 128–131.

164. Чечета О. В. Исследование водородных связей  $\alpha$ -токоферола методом ИК-спектроскопии / О. В. Чечета, Е. Ф. Сафонова, А. И. Сливкин // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2010. – № 2. – С. 164–167.

165. Шарапов Н. И. Закономерности химизма растений: (о качестве урожая) / Н. И. Шарапов. – Ленинград: Наука, 1962. – 131 с.

166. Шаршунова М. Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии: в 2 ч. / М. Шаршунова, В. Шварц, Ч. Михалец. – Москва: Мир, 1980. – 526 с.

167. Шерякова Ю. А. Идентификация и количественное определение суммы сесквитерпеновых кислот корневищ с корнями валерианы в лекарственных

средствах методом ВЭЖХ / Ю. А. Шерякова, О. М. Хишова // Рецепт. – 2015. – № 1. – С. 50–60.

168. Шерякова, Ю. А. Использование метода ВЭЖХ для определения биологически активных веществ валерианы и синюхи в сиропе / Ю. А. Шерякова, О. М. Хишова // Вестник фармации. – 2015. – № 3 (69). – С. 50–60.

169. Шкроботько П. Ю. Изучение аминокислотного состава отдельных видов из разных секций и подсекций рода Валериана / П. Ю. Шкроботько, В. А. Агафонов, Н. С. Фурса // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Биология, Химия, Фармация. – 2008. – № 2. – С. 159–170.

170. Шкроботько П. Ю. Изучение состава и содержания заменимых и незаменимых аминокислот в листьях трех видов валерианы / П. Ю. Шкроботько // Запорожский медицинский журнал. – 2010. – Т. 12, № 3. – С. 132–136.

171. Шкроботько П. Ю. Изучение элементного состава различных органов клубненосных валериан / П. Ю. Шкроботько // Запорожский медицинский журнал. – 2008. – № 5. – С. 142–144.

172. Экспериментальная фармакология – принципы, модели, анализ. Монография. /А. В. Бузлама, В. А. Николаевский, Ю. Н. Чернов, А. И. Сливкин. – Воронеж: ИПЦ ВГУ, 2013. – 363 с.

173. A valepotriate-enriched fraction from *Valeriana glechomifolia* Meyer inhibits leukocytes migration and nociception in formalin test in rodents / T. M. de Almeida, L. J. Danielli, M. A. Apel [et al.]. – DOI: 10.1016/j.bjp.2019.02.004 // Revista Brasileira de Farmacognosia. – 2019. – Vol. 29. – P. 477–482.

174. Adamczyk-Szabela D. Heavy Metal Uptake by Herbs. IV. Influence of Soil pH on the Content of Heavy Metals in *Valeriana officinalis* L. / D. Adamczyk-Szabela, J. Markiewicz. – DOI 10.1007/s11270-015-2360-3 // Water, Air, & Soil Pollution. – 2015. – Vol. 226, № 106. – P. 52–58.

175. Adams R. P. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry / R. P. Adams. – 4th ed. – Carol Stream (IL, USA) : Allured Publishing Corporation, 2007. – 804 p. – ISBN 978-1932633214.

176. Alkaloids of the underground part of *Valeriana officinalis* L. / A. Buckova,

E. Eisenreichova, M. Haladova, J. Tomko // Acta Facultatis Pharmaceuticae Universitatis Comenianae. – 1977. – Vol. 31. – S. 29–37.

177. Analytische und pharmacologische aspekte des Mstherischen Oles von *Valeriana officinalis* / H. Hendriks, H. J. Gestma, D. Allersma [et al.] // Planta Medica. – 1981. – Bd. 42, № 6. – S. 131.

178. Bell C. D. Phylogeny and biogeography of *Valerianaceae* (*Dipsacales*) with special reference to the South American valerians / C. D. Bell, M. J. Donoghue // Organisms, Diversity & Evolution. – 2005. – Vol. 5. – P. 147–159.

179. Birnbaum G.J. Stereochemistry of *Valerianae sesquiterpenoids*: Crystal structure of Valerianic acid / G. J. Birnbaum, J. A. Findlay, J. J. Krepinsky // Journal of Organic Chemistry. – 1978. – Vol. 43, № 2. – P. 272–276.

180. Catálogo de la Flora Venezolana / H. Pittier, T. Lasser, L. Schnee [et al.]. – Caracas: Lit. y Tip. Vargas, 1945-1947. – T. 2. – 1947 – 577 p.

181. Chemical analysis and biological activity of the essential oils of two *Valerianaceus species* from China: *Nardostachys chinensis* and *Valeriana officinalis* / J. Wang, J. Zhao, H. Liu [et al.] // Molecules. – 2010. – Vol. 15(9). – P. 6411–6422.

182. Chemical composition of essential oils from the aerial parts and underground parts of Iranian *Valerian* collected from different natural habitats / A. G. Pirbalouti, B. B. Ghahfarokhi, S. A. M. Ghahfarokhi, F. Malekpoor // Industrial Crops and Products. – 2015. – Vol. 63. – P. 147–151.

183. Chemical composition of the essential oil of the subterranean parts of *Valeriana alliariifolia* / H. Bardakci, B. Demirci, E. Yesilada [et al.] // Records of Natural Product. – 2012. – Vol. 6, № 1. – P. 89–92.

184. Comparison of the Chemical Composition of *Valeriana parviflora* Essential Oils Collected in the Venezuelan Andes in two Different Seasons / S. Fernández, M. Rondón, J. Rojas [et al.] // Natural Product Communications. – 2015. – Vol. 10(4). – P. 657–659.

185. Composition and antifungal activity of the oil from aerial parts and rhizomes of *Valeriana dioscoridis* from Greece / O. Tzakou, M. Couladis, M. Pavlovic, M. Soković // Journal of Essential Oil Research. – 2004. – Vol. 16, № 5. – P. 500–503.

186. Composition of the essential oil from roots and rhizomes of *Valeriana wallichii* DC / R. Bos, H. J. Woerdenbag, H. Hendriks [et al.] // Flavour and Fragrance Journal. – 1997. – Vol. 12. – P. 123–131.

187. Composition of the essential oils from the aerial parts of five wild growing *Valeriana* species / M. Pavlović, N. Kovačević, O. Tzakou, M. Couladis // Journal of Essential Oil Research. – 2007. – Vol. 19, № 5. – P. 433–438.

188. Das J. Terpenoid Compositions and Antioxidant Activities of Two Indian Valerian Oils from the Khasi Hills of North-east India / J. Das, A. A. Mao, P. J. Handique // Natural Product Communications. – 2011. – Vol. 6(1). – P. 129–132.

189. Davies N. W. Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and carbowax 20 M. phases / N. W. Davies // Journal of Chromatography A. – 1990. – Vol. 503. – P. 1–24.

190. de Enrech N. X. Contribución al estudio del género *Valeriana* L. en Venezuela: Distribución geográfica, caracteres morfoanatómicos, cariológicos y palinológicos de interés taxonómico y evolutivo / N. X. de Enrech // Acta Botanica Venezuelica. – Vol. 16, № 2/4. – P. 105–136.

191. Der indische oder pakistanische Baldrian. *Valeriana wallichii* DC (*Valeriana jatamansi*) Jones / R. Bos, H. J. Woerdenbag, H. Hendriks, Th. M. Malingré // Zeitschrift fur Phytotherapie. – 1992. – Vol. 13. – P. 26–34.

192. Efficacy and tolerability of valerian extract LI 156 compared with oxazepam in the treatment of non-organic insomnia a randomized, double-blind, comparative clinical study / G. Ziegler, M. Ploch, A. Miettinen-Baumann, W. Collet // European Journal of Medical Research. – 2002. – Vol. 7, № 11. – P. 480–486.

193. Essential oil of *Valeriana officinalis* L. cultivars and their antimicrobial activity as influenced by harvesting time under commercial organic cultivation / W. Letchamo, W. Ward, B. Heard, D. Heard // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2004. – № 52. – P. 3915–3919.

194. Extracts of *Valeriana officinalis* L.s.I show anxiolytic and antidepressant effect but neither sedative nor myorelaxant properties / M. Hattesoehl, B. Feistel, H. Sievers, R. Lehnfeld // Phytomedicine. – 2008. – Vol. 15(1-2). – P. 2–15.

195. Girgune J. B. Antimicrobial activity of the essential oil from *Valeriana wallichii* DC (*Valerianaceae*) / J. B. Girgune, N. K. Jain, B. D. Garg // Indian Journal of Microbiology. – 1980. – Vol. 41. – P. 142–143.
196. Gross D. Über monoterpenoide *Valeriana*. Alkaloide / D. Gross, G. Edner, H. R. Schütte // Arch. Parm. – 1971. – Bd. 304, №1. – S. 19–27.
197. Hansel R. Valerensäuren und Valerenal als Leitstoffe des offizinellen Baldrians / R. Hansel, J. Schults // Deutsche Apotheker Zeitung. – 1982. – Bd. 122. – S. 215–219.
198. Hazelhoff B. Isolation and analytical aspects of *Valeriana* compounds. II. A statistical comparison of extraction procedures and of quantitative determinations of (iso) valtrate / B. Hazelhoff, B. Weert, H. Malingre // Pharmaceutisch Weekblad. – 1981. – Vol. 3. – P. 810–814.
199. Houghton P. J. Herbal products: *Valerian* / P. J. Houghton // Pharmaceutical Journal. – 1994. – Vol. 253, № 1. – P. 95–96.
200. Houghton P. J. The scientific basis for the reputed activity of *Valerian* / P. J. Houghton // Journal of Pharmacy and Pharmacology. – 1998. – Vol. 51. – P. 505–512.
201. Intraspecific variation in the leaf oils of *Lippia junelliana* (Mold.) Tronc / H. R. Juliani, A. Koroch, V. S. Trippi, J. A. Zygodlo // Biochemical Systematics and Ecology. – 2002. – Vol. 30, № 2. – P. 163–170.
202. Kirtikar K. R. Indian Medicinal Plants : in 4 volumes / K. R. Kirtikar, B. D. Basu, I. C. S. An. – 2nd ed. – Allahabad : Lalit Mohan Basu, 1935. – Vol. 2. – P. 1309–1313.
203. Kotelnikova A. D. Lanthanides in the soil: routes of entry, content, effect on plants, and genotoxicity (a review) / A. D. Kotelnikova, O. B. Rogova, V. V. Stolbova. – DOI: 10.1134/S1064229321010051 // Eurasian Soil Science. – 2021. – Vol. 54(1). – P. 117–134.
204. Lazarowych N. J. Use of Fingerprinting and Marker Compounds for Identification and Standardization of Botanical Drugs: Strategies for Applying Pharmaceutical HPLC Analysis to Herbal Products / N. J. Lazarowych, P. Pekos. –

DOI: 10.1177/009286159803200222 // Drug Information Journal. – 1998. – Vol. 32(2). – P. 497–512.

205. Lokar Coassini L. Geographical variation in the monoterpenes of *Valeriana officinalis* leaf / L. Coassini Lokar, M. Moneghini // Biochemical Systematics and Ecology. – 1989. – Vol. 17, № 7-8. – P. 563–567.

206. Mannetstatter E. Über die Inhaltstoffe von *Valerianaceen*. 1. Mitt. Der Nachweis einiger Inhaltstoffe von *Kentranthus ruber* DC. 2. Mitt. Beiträge zur Bestimmung des Halazuchroms B in *Valerianaceen* – Drogen / E. Mannetstatter, H. Gerbach, W. Poethke // Pharm. Zeit. Deutsch. – 1967. – Bd. 106, Heft 12. – S. 797–804; 1968. – Bd. 107, Heft 2. – S. 105–115; 1968. – Bd. 108, Heft 4. – S. 261–269.

207. Mathela C. S. Kanokonyl acetate-rich Indian valerian from northwestern Himalaya / C. S. Mathela, R. C. Padalia, C. S. Chanotiya // Natural Product Communications. – 2009. – Vol. 4, № 9. – P. 1253–1256.

208. Patocka J. Biomedically relevant chemical constituents of *Valeriana officinalis* / J. Patocka, J. Jakl // Journal of Applied Biomedicine. – 2010. – Vol. 8, № 1. – P. 11–18.

209. Potdar V. H. In-vitro anthelmintic activity of rhizomes of *Valeriana wallichii* DC (*Valerianaceae*) against *Pheretima posthuma* / V. H. Potdar, V. D. Lole, S. S. Patil // Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research. – 2011. – Vol. 45(1). – P. 83–85.

210. Quality Standard of Indian Medicinal Plants / edited by A. K. Gupta, N. Tandon, M. Sharma. – New Delhi: Indian Council of Medical Research, 2003-2019. – Vol. 4. – 2006. – P. 242–250.

211. Sati S. C. Antibacterial evaluation of the Himalaya medicinal plant *Valeriana wallichii* DC (*Valerianaceae*) / S. C. Sati, K. Khulbe, S. Joshi // Research Journal of Microbiology. – 2011. – Vol. 6. – P. 289–296.

212. Sati S. Comparative investigations on the leaf and root oils of *Valeriana wallichii* DC from Northwestern Himalaya / S. Sati, C. S. Chanotiya, C. S. Mathela // Journal of Essential Oil Research. – 2005. – Vol. 17, № 4. – P. 408–409.

213. Screening of Indian valerian (*Valeriana jatamansi*) populations for valepotriates and essential oil contents / L. M. Gupta, R. C. Rana, R. Raina, M. Gupta // Journal of Medicinal and Aromatic Plants Sciences. – 2004. – Vol. 26. – P. 700–706.

214. Tabatabaei S. Effects of Cultivation Systems on the Growth, and Essential Oil Content and Composition of Valerian / S. Tabatabaei // Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants. – 2008. – Vol. 14, № 2. – P. 54–67.

215. The essential oil of *Valeriana officinalis* L. s.l. growing wild in Western Serbia / M. Pavlovic, N. Kovacevic, O. Tzakou, M. Couladis // Journal of Essential Oil Research. – 2004. – № 16. – P.397–399.

216. The essential oil of *Valeriana officinalis* L.s.I / B. Hazelnoff, D. Smith, Th. M. Malingré, H. Hendriks // Pharmaceutisch Weekblad. – 1977. – Vol. 1. – P. 443–449.

217. The toxicological analysis of Cu, Mn and Zn as elemental impurities in pharmaceutical herbal products for teething available in pharmacies / K. Jurowski, M. Krośniak, M. Fołta [et al.] // Journal of Trace Elements in Medicine and Biology. – 2019. – Vol. 53, № 5. – P. 109–112.

218. The Toxicological Risk Assessment of Cu, Mn, and Zn as Essential Elemental Impurities in Herbal Medicinal Products with Valerian Root (*Valeriana officinalis* L., radix) Available in Polish Pharmacies. – DOI: 10.1007/s12011-021-02779-y / K. Jurowski, M. Fołta, B. Tatar [et al.] // Biological Trace Element Research. – 2022. – Vol. 200, № 4. – P. 1949–1955.

219. The Toxicological Risk Assessment of Lead and Cadmium in *Valeriana officinalis* L., radix (Valerian root) as Herbal Medicinal Product for the Relief of Mild Nervous Tension and Sleep Disorders Available in Polish Pharmacies / K. Jurowski, M. Fołta, B. Tatar [et al.] // Biological Trace Element Research. – 2022. – Vol. 200, № 2. – P. 904–909.

220. Thies P. W. Uber die wirkstoffe des baldrians. X. Die konfiguration des Valtratum und anderer Valepotriate / P. W. Thies, E. Finner, F. Roskopf // Tetrahedron Letters. – 1973. – Vol. 19, № 20. – P. 4213–4226.

221. Thies P. W. Uber die wirkstoffe des baldrians. XIV. Konstitutive zuordnung der acyloxysubstituenten in valepotriaten via C13 NMR-Spektroskopie / P. W. Thies, E. Finner, S. David // *Planta medica*. – 1981. – Vol. 41, № 1. – P. 15–20.

222. Udgire M. S. Evaluation of antimicrobial activities and phytochemical constituents of extracts of *Valeriana wallichii* / M. S. Udgire<sup>1</sup>, G. R. Pathade // *Asian Journal of Plant Science and Research*. – 2013. – Vol. 3(5). – P. 55–59.

223. Valerian dry hydroalcoholic extract // *European Pharmacopoeia 7.0*. – 7th Edition. – Strasbourg, 2010. – Vol. 1. – P. 1260.

224. Valerian root // *European Pharmacopoeia 7.0*. – 7th Edition. – Strasbourg, 2010. – Vol. 1. – P. 1261.

225. Valerian Root: *Valeriana officinalis*: Analytical, quality control and therapeutic monographs / editor R. Upton. – Santa Cruz (California), 1999. – 254 p. – (American Herbal Pharmacopoeia and Therapeutic Compendium).

226. Valerian root, cut // *European Pharmacopoeia 7.0*. – 7th Edition. – Strasbourg, 2010. – Vol. 1. – P. 1262.

227. Valerian, Powdered Valerian, and Powdered Valerian Extract: Contaminants Section, Elemental Impurities // *United States Pharmacopeia 36–NF 31*. – URL: <https://www.uspnf.com/official-text/revision-bulletins/valerian-powdered-valerian-and-powdered-valerian-extract-contaminants-section-elemental> (дата обращения: 29.04.2022).

228. *Valeriana wallichii* DC, a new chemotype from Northwestern Himalaya / C. S. Mathela, M. Tiwari, S. S. Sammal, C. S. Chanotiya // *Journal of Essential Oil Research*. – 2005. – Vol. 17, № 6. – P. 672–675.

229. *Valeriana wallichii* root extracts and fractions with activity against *Leishmania spp* / S. Ghosh, S. Debnath, S. Hazra [et al.] // *Parasitology Research*. – 2011. – Vol. 108(4). – P. 861–871.

230. Variation in the composition of the essential oil of *Valeriana officinalis* L. roots from Estonia / A. Raal, A. Orav, E. Arak [et al.] // *Proceedings of the estonian academy of sciences. Chemistry*. – 2007. – Vol. 56, №2. – P. 67–74.



231. Wagner H. Vergleichende Untersuchungen tiber die sedative wirkung von baldrian extracten, valepotriaten und ihren abbau-producten / H. Wagner, K. Jurcic, R. Schaette // *Planta medica*. – 1980. – Vol. 38, № 4. – P. 363–365.

232. Xu Y. M. Sorbifoliavaltrates A-D, diene valepotriates from *Valeriana sorbifolia* / Y. M. Xu, S. P. McLaughlin, A. A. Gunatilaca // *Journal of Natural Products*. – 2007. – № 70 (12). – P. 2045–2048.

233. Дослідження анатомічної будови надземних органів *Valeriana grossheimii* Worosch / С. В. Панченко, Л. М. Сіра, В. Г. Корнієвська, Ю. І. Корнієвський // Актуальні питання 20 фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2012. – №2 (9). – С. 19–25.

234. Корнієвська В.Г. Вивчення вмісту гідроксикоричних кислот валеріани пагоносної протягом доби / В. Г. Корнієвська, В. І. Корнієвський, М. С. Фурса // Вісник фармації. – 2001. – Т. 26, № 2. – С. 19–22.

235. Корнієвська В. Г. Вивчення вмісту гідроксикоричних кислот валеріани пагононосної протягом доби / В. Г. Корнієвська, М. С. Фурса, Ю. І. Корнієвський // Вісник фармації. – 2001. – Т. 26, № 2. – С. 19–22.

236. Корнієвська В. Г. Порівняльне вивчення вмісту флавоноїдів і поліфенольних сполук валеріани пагононосної та валеріани високої протягом доби / В. Г. Корнієвська, М. С. Фурса // Фізіологічно активні речовини. – 2001. – Т. 31, № 1. – С. 82–86.

**Приложение А. Прогноз видов фармакологической активности и токсических эффектов некоторых БАВ сырья валериан сомнительной и волжской по данным PASS-online**

Таблица А.1 - Прогноз видов фармакологической активности некоторых БАВ (флавоноидов и гидроксикоричных кислот), содержащихся в траве валериан сомнительной и волжской ( $P_a > 0,70$ )

Фармакологическая активность	Кверцетин		Кемпферол		Диосметин		Апигенин		Лютеолин	
	$P_a$	$P_i$	$P_a$	$P_i$	$P_a$	$P_i$	$P_a$	$P_i$	$P_a$	$P_i$
Агонист апоптоза	0,859	0,005	0,856	0,005	0,851	0,005	0,847	0,005	0,733	0,012
Агонист целостности мембран	0,962	0,003	0,966	0,002	0,956	0,003	0,967	0,002	0,952	0,003
Антагонист рецепторов анафилатоксина	0,846	0,008	0,832	0,009	0,880	0,005	0,931	0,003	0,852	0,007
Антиканцерогенный	-	-	-	-	0,719	0,008	-	-	-	-
Антимутагенный	0,933	0,002	0,943	0,001	0,943	0,001	0,921	0,002	0,884	0,002
Антипротозойный (лейшманиоз)	-	-	-	-	0,704	0,009	-	-	-	-
Антисеборейный	0,819	0,015	0,838	0,012	0,818	0,016	0,885	0,005	0,847	0,010
Антисептик	-	-	-	-	-	-	-	-	0,760	0,005
Вазопротектор	0,768	0,006	0,725	0,009	0,891	0,003	0,891	0,003	0,835	0,004
Желчегонный	-	-	-	-	0,764	0,003	-	-	-	-
Мукомебранозный протектор	0,768	0,028	0,768	0,028	0,746	0,037	0,797	0,019	0,751	0,034
Поглотитель свободных радикалов	0,735	0,004	0,753	0,003	0,808	0,003	0,719	0,004	0,743	0,003
Противоопухолевый	0,726	0,022	0,729	0,021	0,791	0,013	0,774	0,015	-	-
Фибринолитический	-	-	-	-	0,718	0,017	-	-	-	-
Химиопрофилактика	-	-	-	-	0,719	0,006	-	-	-	-
Цитопротектор	-	-	-	-	0,716	0,004	-	-	-	-





Продолжение Таблицы А.2

Панический	-	-	0,707	0,017	0,787	0,010	0,765	0,012	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Постуральная (ортостатическая) гипотензия	-	-	0,713	0,026	0,785	0,017	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Психозы	-	-	-	-	0,710	0,013	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Репродуктивная дисфункция	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,785	0,020	0,805	0,018	-	-	-	-	-
Сенсибилизация	-	-	-	-	0,716	0,008	0,764	0,005	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Дрожание	0,806	0,035	0,803	0,036	0,853	0,018	0,896	0,007	0,814	0,032	-	-	-	-	0,751	0,058	0,835	0,024	0,823	0,028	0,776	0,047	-
Раздражение кожи, разъедающее	-	-	-	-	0,792	0,004	0,836	0,004	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Потливость	-	-	-	-	0,747	0,029	0,743	0,030	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Токсический, сосудистый	0,732	0,03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,858	0,008	0,833	0,011	0,755	0,026	0,82	0,013	-
Токсичный, дыхательный	-	-	-	-	-	-	0,704	0,036	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Токсичный, желудочно-кишечный	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,741	0,037	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Подергивание	-	-	-	-	-	-	0,768	0,059	-	-	-	-	-	-	-	-	0,725	0,085	-	-	-	-	-
Язвенная болезнь, афтозная язва	0,75	0,03	0,809	0,016	0,877	0,005	0,836	0,011	0,750	0,030	-	-	-	-	-	-	0,72	0,037	0,713	0,039	0,79	0,0-2	-
Язва желудка	-	-	0,809	0,003	0,736	0,004	-	-	0,738	0,004	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Язва, пептическая	-	-	0,762	0,004	0,702	0,004	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Изменение цвета мочи	-	-	0,839	0,007	0,902	0,004	0,853	0,005	0,758	0,014	-	-	-	-	-	-	0,758	0,014	-	-	-	-	-
Токсический	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,793	0,028	0,877	0,015	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Воспаление	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,733	0,022	0,812	0,014	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Нейротоксический	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,842	0,013	0,727	0,025	-	-	-	-	-	-	-	-	-

В Таблицах А.1 и А.2 указаны вероятности проявления в эксперименте *in vivo* «активности» (Pa) и «неактивности» (Pi) по убыванию их разности (Pa > 0,7).





Таблица А.4 - Прогноз основных видов фармакологической активности некоторых БАВ-маркеров, содержащихся в корневищах с корнями валерианы волжской ( $P_a > 0,70$ )

Фармакологическая активность	Маргариновая кислота		Фумаровая кислота		Сорбиновая кислота		Молочная кислота		Валерилизовалерат		Изовалериановый ангидрид		Феруловая кислота		4-гидроксикоричная кислота	
	$P_a$	$P_i$	$P_a$	$P_i$	$P_a$	$P_i$	$P_a$	$P_i$	$P_a$	$P_i$	$P_a$	$P_i$	$P_a$	$P_i$	$P_a$	$P_i$
Агонист апоптоза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,702	0,015	-	-
Агонист колониестимулирующего фактора макрофагов	0,891	0,002	0,862	0,003	0,881	0,003	0,870	0,003	0,752	0,008	0,733	0,010	-	-	0,729	0,010
Агонист рецептора ГАМК С	-	-	0,911	0,001	0,842	0,002	-	-	-	-	-	-	-	-	0,771	0,003
Агонист фактора роста фибробластов	-	-	-	-	-	-	0,707	0,007	-	-	-	-	-	-	-	-
Агонист целостности мембран	0,857	0,022	0,905	0,010	0,855	0,023	0,915	0,008	-	-	0,717	0,052	0,944	0,004	0,954	0,003
Антагонист холестерина	0,723	0,007	-	-	-	-	-	-	0,721	0,007	-	-	-	-	-	-
Антагонист целостности мембраны	0,781	0,008	-	-	-	-	-	-	0,790	0,008	-	-	-	-	-	-
Антигельминтный	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,711	0,004
Антигиперхолестеринемический	-	-	-	-	-	-	-	-	0,751	0,006	-	-	-	-	-	-
Антигипоксический	0,805	0,004	-	-	-	-	0,785	0,004	0,751	0,005	-	-	0,731	0,005	0,785	0,004
Антимутагенный	0,783	0,004	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,900	0,002	0,886	0,002
Антипсориазный	-	-	0,747	0,004	0,712	0,005	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Антирадикальная	0,781	0,003	0,719	0,005	-	-	-	-	-	-	-	-	0,731	0,004	-	-
Антисеборейный	0,866	0,008	0,871	0,007	0,823	0,015	0,838	0,012	0,768	0,025	0,857	0,009	0,720	0,034	0,869	0,007
Антисекреторный	0,723	0,008	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Антисептик	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,775	0,004	0,729	0,005
Вазопротектор	0,834	0,004	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,753	0,007	0,735	0,008
Ветрогонное	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,801	0,004	0,788	0,004
Восстановитель	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,714	0,005	0,758	0,004
Желчегонный	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,862	0,002	0,762	0,003
Ингибитор проницаемости мембран	0,836	0,006	-	-	-	-	-	-	0,723	0,030	-	-	0,812	0,008	-	-
Лечение аденоматозного полипоза	0,819	0,002	0,721	0,006	-	-	0,708	0,007	-	-	-	-	-	-	-	-
Лечение алопеции	-	-	0,746	0,004	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,702	0,006



## Продолжение Таблицы А.4

Лечение заболеваний желчевыводящих путей	-	-	0,724	0,004	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Лечение мукозита	0,874	0,008	0,782	0,015	-	-	-	-	-	-	-	-	0,875	0,008	0,850	0,010
Лечение предопухолевых состояний	0,821	0,003	0,741	0,005	-	-	-	-	0,854	0,003	-	-	0,903	0,002	0,844	0,003
Лечение фобических расстройств	0,939	0,003	0,920	0,004	0,883	0,009	0,883	0,009	0,962	0,002	0,955	0,002	-	-	0,788	0,038
Липотропный	0,727	0,004	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Мочегонный	0,750	0,005	0,751	0,005	-	-	0,716	0,008	-	-	-	-	-	-	-	-
Мукоембранозный протектор	0,933	0,004	0,898	0,005	0,827	0,012	0,753	0,034	0,810	0,016	0,810	0,016	0,906	0,005	0,931	0,004
Общая (центральная) анестезия	0,706	0,006	-	-	-	-	-	-	0,760	0,005	-	-	-	-	-	-
Оксидант	0,725	0,002	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Промотор инсулина	0,753	0,004	-	-	-	-	0,716	0,005	-	-	-	-	-	-	-	-
Противовирусное средство	-	-	0,769	0,004	0,749	0,004	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Противовоспалительное, кишечное	0,727	0,002	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Противоэксземный	0,920	0,004	0,842	0,011	0,766	0,026	0,719	0,040	0,780	0,023	-	-	0,734	0,035	0,707	0,043
Раздражение глаз, неактивный	0,805	0,004	-	-	-	-	0,755	0,004	0,874	0,003	-	-	0,757	0,004	0,724	0,005
Раздражение кожи, неактивный	0,706	0,005	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Регулятор липидного обмена	0,808	0,005	-	-	0,825	0,005	0,790	0,006	0,780	0,007	-	-	-	-	0,764	0,007
Склерозирующий агент	0,832	0,001	-	-	-	-	0,723	0,002	0,883	0,001	0,764	0,002	-	-	-	-
Стимулятор агрегации тромбоцитов	0,812	0,002	0,737	0,004	-	-	0,752	0,003	0,776	0,003	0,737	0,004	-	-	-	-
Стимулятор ангиогенеза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,809	0,002	-	-	-	-
Стимулятор лейкопоза	-	-	0,753	0,004	-	-	0,808	0,003	0,795	0,003	-	-	-	-	-	-
Стимулятор эритропоза	0,760	0,003	0,719	0,004	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Увеличение кислотности желудочного сока	0,738	0,001	-	-	-	-	0,704	0,001	-	-	-	-	-	-	-	-
Фибринолитический	0,780	0,005	0,718	0,017	-	-	-	-	0,701	0,022	-	-	0,763	0,007	0,749	0,009
Цитопротектор	0,712	0,004	0,708	0,005	-	-	-	-	-	-	-	-	0,713	0,004	-	-



## Продолжение Таблицы А.5

Дыхательная недостаточность	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,783	0,018	-	-	0,892	0,008
Дерматит	-	-	0,740	0,032	0,732	0,033	0,841	0,017	0,708	0,037	-	-	-	-	0,798	0,023
Диарея	-	-	0,756	0,031	0,814	0,023	0,886	0,012	-	-	-	-	-	-	0,913	0,009
Дизартрия	-	-	-	-	0,755	0,012	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Дискинезия	-	-	0,798	0,015	0,715	0,024	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Дрожание	0,935	0,003	0,862	0,015	0,862	0,015	0,742	0,062	0,847	0,020	0,929	0,004	-	-	-	-
Желудочно-кишечное кровотечение	0,808	0,006	0,776	0,010	0,816	0,005	0,772	0,010	0,762	0,012	0,804	0,007	-	-	-	-
Желудочно-кишечные расстройства	0,873	0,005	-	-	-	-	0,858	0,005	-	-	0,708	0,011	-	-	-	-
Задержка мочи	-	-	-	-	-	-	0,712	0,025	-	-	-	-	-	-	-	-
Ингибитор тромбоцитопоза	-	-	0,789	0,007	-	-	0,905	0,003	-	-	-	-	-	-	-	-
Изменение цвета ногтей	0,708	0,029	-	-	-	-	-	-	-	-	0,739	0,022	-	-	-	-
Изменение цвета мочи	-	-	-	-	0,765	0,013	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ингибитор тромбоцитопоза	-	-	-	-	0,743	0,009	-	-	0,794	0,007	-	-	-	-	-	-
Кератопатия	-	-	-	-	0,756	0,010	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Конъюнктивит	-	-	0,829	0,019	0,866	0,015	0,715	0,034	0,718	0,034	0,817	0,021	-	-	-	-
Кома	0,757	0,013	-	-	0,718	0,018	-	-	-	-	0,728	0,017	-	-	0,774	0,012
Кровавая рвота	0,863	0,006	0,861	0,006	0,830	0,010	0,809	0,012	0,806	0,008	0,881	0,005	-	-	-	-
Мерцательная аритмия, предсердия	-	-	0,815	0,012	0,735	0,030	0,701	0,039	0,816	0,012	0,723	0,033	-	-	-	-
Миоклонус	0,703	0,021	-	-	0,773	0,011	-	-	-	-	0,706	0,021	-	-	-	-
Мышечная слабость	0,846	0,010	0,745	0,018	0,785	0,015	0,798	0,014	-	-	-	-	-	-	0,955	0,004
Мутаген	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,733	0,004	-	-
Нарушение дыхания	0,778	0,019	0,826	0,014	0,823	0,014	0,794	0,017	-	-	-	-	-	-	0,800	0,005
Нарушение сна	0,733	0,034	0,823	0,020	0,701	0,040	0,871	0,015	-	-	0,791	0,025	-	-	0,863	0,015
Нарушение остроты зрения	-	-	-	-	0,791	0,004	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Нарушение поведения	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,737	0,033	-	-	0,843	0,018
Неврит зрительного нерва	-	-	-	-	0,714	0,013	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Нейротоксический	-	-	-	-	0,776	0,020	0,837	0,014	-	-	-	-	-	-	0,839	0,013
Некроз	-	-	-	-	0,822	0,015	-	-	0,718	0,024	-	-	-	-	-	-
Нефротический синдром	-	-	0,720	0,005	-	-	0,776	0,004	-	-	-	-	-	-	-	-

## Продолжение Таблицы А.5

Нефротоксический	-	-	0,767	0,018	0,708	0,027	0,798	0,013	0,732	0,023	-	-	-	-	0,772	0,017
Некроз	-	-	0,784	0,018	-	-	0,804	0,017	-	-	-	-	-	-	-	-
Одышка	0,748	0,016	-	-	0,844	0,010	0,861	0,009	-	-	0,781	0,014	-	-	0,901	0,005
Оптическая невралгия	-	-	-	-	0,726	0,013	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Отек	0,873	0,006	0,794	0,011	0,763	0,014	0,741	0,016	-	-	0,748	0,015	-	-	-	-
Отек легких	0,817	0,006	0,750	0,009	-	-	0,702	0,012	-	-	0,710	0,011	-	-	-	-
Ототоксичность	-	-	0,722	0,012	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,802	0,004
Офтальмотоксичность	-	-	0,774	0,026	0,786	0,024	-	-	-	-	-	-	-	-	0,728	0,033
Паралич	-	-	0,749	0,013	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Поведенческое расстройство	0,750	0,031	-	-	-	-	0,791	0,025	-	-	-	-	-	-	-	-
Подергивание	0,752	0,069	-	-	0,746	0,072	-	-	-	-	0,732	0,081	-	-	-	-
Потеря веса	-	-	-	-	0,841	0,009	-	-	-	-	-	-	-	-	0,791	0,013
Потоотделение	-	-	0,786	0,021	0,758	0,027	-	-	-	-	0,749	0,029	-	-	-	-
Псевдопорфирия	0,752	0,006	0,732	0,008	0,710	0,010	-	-	0,710	0,010	0,790	0,004	-	-	-	-
Психозы	-	-	-	-	0,721	0,011	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Раздражение	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,746	0,006	-	-	-	-
Раздражающее действие на кожу	-	-	0,749	0,005	0,713	0,005	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Раздражение глаз, высокая	-	-	0,907	0,004	0,824	0,005	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Раздражение глаз, умеренное	-	-	-	-	0,722	0,005	-	-	-	-	0,762	0,005	-	-	-	-
Раздражение кожи, разъедающее	-	-	0,893	0,003	0,940	0,002	0,824	0,004	0,877	0,003	0,771	0,004	-	-	-	-
Раздражение кожи, высокая	-	-	-	-	0,782	0,005	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Раздражение кожи, умеренное	-	-	0,784	0,004	0,750	0,004	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Рвотный	-	-	-	-	-	-	0,729	0,034	-	-	0,722	0,036	-	-	0,756	0,029
Репродуктивная дисфункция	-	-	0,727	0,031	0,775	0,022	0,907	0,008	0,728	0,030	0,781	0,021	-	-	-	-
Сенсорное расстройство	-	-	-	-	-	-	0,707	0,036	-	-	-	-	-	-	-	-
Скрытое кровотечение	0,822	0,006	0,822	0,006	0,806	0,008	0,757	0,015	0,846	0,008	0,840	0,005	-	-	-	-
Слабость	0,847	0,012	0,755	0,023	0,801	0,019	0,801	0,018	-	-	-	-	-	-	0,940	0,005
Сонливость	-	-	0,842	0,016	0,724	0,032	0,889	0,010	-	-	0,827	0,018	-	-	0,858	0,014
Спленомегалия	-	-	0,792	0,008	0,778	0,009	0,790	0,008	0,766	0,010	0,708	0,018	-	-	-	-

## Продолжение Таблицы А.5

Спермицид	-	-	-	-	-	-	0,855	0,003	-	-	-	-	-	-	0,710	0,005
Стимулятор слезной секреции	-	-	0,713	0,005	-	-	-	-	-	-	0,711	0,005	-	-	-	-
Стоматит	-	-	0,707	0,028	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Тахикардия	-	-	-	-	-	-	0,757	0,021	-	-	-	-	-	-	-	-
Токсично, дыхание	0,940	0,013	0,968	0,008	0,968	0,008	0,954	0,010	0,928	0,014	0,963	0,009	-	-	0,963	0,009
Токсично, желудочно-кишечный	0,773	0,030	0,806	0,025	0,721	0,041	0,847	0,018	-	-	0,759	0,033	-	-	0,848	0,018
Токсический, сосудистый	-	-	-	-	0,807	0,016	-	-	-	-	-	-	-	-	0,816	0,014
Токсичный	-	-	-	-	-	-	0,714	0,042	-	-	-	-	-	-	0,795	0,028
Тошнота	0,743	0,033	-	-	-	-	0,811	0,022	-	-	0,736	0,034	-	-	0,778	0,027
Тромбоцитопения	0,701	0,032	-	-	0,709	0,031	-	-	-	-	-	-	-	-	0,718	0,029
Тромбофлебит	-	-	-	-	0,706	0,019	0,734	0,015	-	-	-	-	-	-	-	-
Увеличение веса	-	-	0,747	0,015	0,777	0,010	-	-	0,750	0,014	0,739	0,016	-	-	-	-
Тератоген	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,714	0,021
Угревая сыпь	0,730	0,005	-	-	0,794	0,004	-	-	-	-	0,707	0,007	-	-	-	-
Фиброз, интерстициальный	0,766	0,007	0,782	0,006	0,844	0,004	-	-	0,761	0,008	0,808	0,005	-	-	-	-
Чистая эритроцитарная аплазия	0,882	0,009	0,892	0,007	0,899	0,006	0,914	0,005	0,887	0,008	0,874	0,010	-	-	-	-
Эйфория	-	-	-	-	0,759	0,026	-	-	-	-	0,754	0,026	-	-	-	-
Эмбриотоксичность	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,711	0,021
Язва, афтозный	0,829	0,012	0,839	0,010	0,801	0,018	0,776	0,024	0,822	0,013	0,828	0,012	-	-	0,805	0,017

Таблица А.6 - Прогноз возможных побочных эффектов некоторых БАВ-маркеров, содержащихся в корневищах с корнями валерианы волжской ( $P_a > 0,70$ )

Побочный и/или токсический эффект	Маргариновая кислота		Фумаровая кислота		Сорбиновая кислота		Молочная кислота		Валерилизовалерат		Изовалериановый ангидрид		Феруловая кислота		4-гидроксикоричная кислота	
	$P_a$	$P_i$	$P_a$	$P_i$	$P_a$	$P_i$	$P_a$	$P_i$	$P_a$	$P_i$	$P_a$	$P_i$	$P_a$	$P_i$	$P_a$	$P_i$
Акатизия	0,714	0,020	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Аллергический контактный дерматит	0,805	0,005	0,708	0,019	-	-	0,773	0,009	-	-	-	-	-	-	0,711	0,012
Анемия	0,827	0,013	0,819	0,013	0,884	0,007	0,708	0,026	0,853	0,010	-	-	-	-	-	-


## Продолжение Таблицы А.6

Анемия, сидеробластная	0,812	0,004	0,868	0,003	0,827	0,003	0,833	0,003	-	-	0,725	0,007	-	-	-	-
Апноэ	0,862	0,005	0,800	0,009	0,710	0,019	0,733	0,016	0,799	0,009	-	-	-	-	0,713	0,019
Астма	0,719	0,018	-	-	-	-	-	-	0,721	0,018	-	-	-	-	-	-
Атаксия	0,716	0,020	-	-	-	-	-	-	0,804	0,010	-	-	-	-	-	-
Ацидоз	0,812	0,017	0,730	0,026	-	-	0,768	0,021	0,829	0,015	0,728	0,026	-	-	-	-
Ацидоз, метаболический	0,950	0,004	0,804	0,015	-	-	0,913	0,005	0,910	0,005	-	-	-	-	-	-
Ацидоз, молочнокислый	-	-	-	-	-	-	0,712	0,004	-	-	-	-	-	-	-	-
Брадикардия	-	-	-	-	-	-	-	-	0,703	0,022	-	-	-	-	-	-
Буллезный пемфигоид	0,771	0,004	0,754	0,004	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Возбудимость	0,767	0,020	-	-	-	-	-	-	0,755	0,021	-	-	-	-	-	-
Гематотоксический	0,707	0,040	-	-	0,779	0,030	0,721	0,038	0,735	0,037	-	-	-	-	-	-
Гематурия	0,816	0,004	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Гепатит	-	-	-	-	0,728	0,024	-	-	0,718	0,025	-	-	-	-	-	-
Гепатотоксический	-	-	-	-	0,823	0,018	0,738	0,029	0,715	0,034	-	-	-	-	-	-
Гипергликемический	0,732	0,021	-	-	-	-	0,735	0,021	-	-	-	-	-	-	-	-
Гипертермический	0,789	0,010	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Гиперурикемия	0,774	0,008	0,848	0,004	0,788	0,006	0,831	0,004	-	-	0,725	0,013	-	-	-	-
Гиперхолестеринемический	0,807	0,004	0,755	0,010	0,705	0,021	0,727	0,015	-	-	-	-	0,812	0,004	0,753	0,010
Гипомагниемия	0,888	0,003	0,847	0,004	0,796	0,006	0,825	0,004	0,785	0,007	0,740	0,012	-	-	0,742	0,011
Гипоплазия коры надпочечников	-	-	0,727	0,006	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Гипотония	0,705	0,025	-	-	-	-	-	-	0,739	0,019	0,723	0,022	-	-	-	-
Глазная токсичность	0,743	0,031	-	-	0,745	0,030	-	-	0,844	0,015	0,795	0,022	-	-	-	-
Демиелинизация	0,702	0,011	-	-	-	-	0,717	0,010	-	-	-	-	-	-	-	-
Дерматит	-	-	-	-	-	-	0,761	0,029	-	-	-	-	-	-	-	-
Дефицит цинка	-	-	0,755	0,002	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Диарея	0,821	0,022	0,815	0,023	0,862	0,016	0,752	0,032	-	-	-	-	0,757	0,031	0,773	0,029
Дизартрия	-	-	-	-	-	-	-	-	0,713	0,018	-	-	-	-	-	-
Дрожь	0,949	0,003	0,907	0,005	0,876	0,011	0,867	0,014	0,882	0,010	0,908	0,005	0,803	0,036	0,896	0,007
Желудочно-кишечное кровотечение	0,861	0,004	0,844	0,004	0,785	0,009	0,809	0,006	0,785	0,009	0,812	0,006	0,803	0,007	0,817	0,005
Желудочно-кишечные расстройства	0,713	0,011	-	-	-	-	-	-	0,740	0,010	-	-	-	-	-	-
Жировая дистрофия печени	-	-	-	-	-	-	-	-	0,768	0,004	-	-	-	-	-	-
Зависимость	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,713	0,015	-	-	-	-
Задержка дыхания	0,718	0,011	-	-	-	-	-	-	-	-	0,745	0,008	-	-	-	-
Задержка мочи	-	-	-	-	-	-	-	-	0,719	0,023	-	-	-	-	-	-

## Продолжение Таблицы А.6

Изменение сознания	-	-	-	-	-	-	-	-	0,715	0,027	-	-	-	-	-	-
Изменение цвета мочи	-	-	0,822	0,008	-	-	-	-	-	-	0,774	0,012	0,839	0,007	0,853	0,005
Изменение цвета ногтей	0,718	0,027	0,840	0,006	0,756	0,019	0,749	0,020	-	-	-	-	-	-	-	-
Ингибитор тромбоцитопоза	-	-	0,811	0,006	-	-	0,859	0,005	-	-	-	-	-	-	-	-
Канцероген (в эксперименте на крысах- самцах)	-	-	-	-	0,720	0,006	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Катаракта	-	-	-	-	-	-	-	-	0,709	0,010	-	-	-	-	-	-
Кератопатия	-	-	-	-	-	-	-	-	0,771	0,009	-	-	-	-	-	-
Кома	-	-	-	-	-	-	-	-	0,749	0,014	-	-	-	-	-	-
Конъюнктивит	0,848	0,017	-	-	0,797	0,023	0,715	0,034	0,923	0,008	0,882	0,013	-	-	-	-

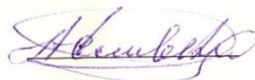
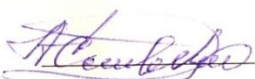
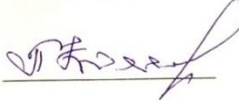
## Приложение Б. Акты внедрения


 УТВЕРЖДАЮ  
 Профессор по учебной работе ФГБОУ ВО «ВГУ»  
 Минобрнауки России  
 \_\_\_\_\_ Чупандина Е.Е.  
 10 сентября 2021 г.

**АКТ**

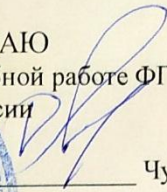
о внедрении результатов диссертации Колосовой Ольги Александровны в учебный процесс кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет».

Мы, нижеподписавшиеся, подтверждаем, что основные научные положения, выводы и рекомендации кандидатской диссертации Колосовой Ольги Александровны на тему «Сравнительное фармакогностическое изучение сырья валериан сомнительной и волжской, произрастающих на территории Воронежской области» внедрены в учебный процесс кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии при изучении дисциплины «Фармакогнозия» и учебной практики по фармакогнозии для студентов, обучающихся по специальности 33.05.01 «Фармация» (ВО); дисциплины «Фармакогнозия» и производственной практики по фармакогнозии для ординаторов, обучающихся по специальности 33.08.03 «Фармацевтическая химия и фармакогнозия», а также при реализации профессионального модуля ПМ.01 «Лекарствоведение» (МДК «Фармакогнозия») для студентов, обучающихся по специальности 33.02.01 «Фармация» (СПО).

Декан фармацевтического факультета	 Сливкин А.И.
Заведующий кафедрой фармацевтической химии и фармацевтической технологии	 Сливкин А.И.
Начальник Учебного управления	 Колесникова Л.И.



УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной работе ФГБОУ ВО «ВГУ»  
Министерства науки и высшего образования Российской Федерации  
Чупандина Е.Е.

26 декабря 2021 г.

АКТ

о внедрении результатов диссертации Колосовой Ольги Александровны в учебный процесс кафедры управления и экономики фармации федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет».

Мы, нижеподписавшиеся, подтверждаем, что основные научные положения, выводы и рекомендации кандидатской диссертации Колосовой Ольги Александровны на тему «Сравнительное фармакогностическое изучение сырья валериан сомнительной и волжской, произрастающих на территории Воронежской области» внедрены в учебный процесс кафедры управления и экономики фармации при проведении занятий на курсах повышения квалификации провизоров и фармацевтов на фармацевтическом факультете по тематике фармакогностического анализа и проблем идентификации близкородственных видов лекарственных растений, произрастающих на территории Воронежской области.

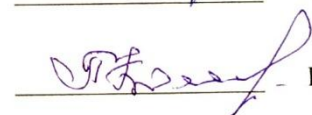
Декан фармацевтического  
факультета

  
Сливкин А.И.

Заведующий кафедрой  
управления и экономики фармации

  
Чупандина Е.Е.

Начальник Учебного управления

  
Колесникова Л.И.



УТВЕРЖДАЮ  
 Профессор по учебной работе ФГБОУ ВО «ВГУ»  
 Минобрнауки России

Чупандина Е.Е.

20 ноября 2021г

### АКТ


о внедрении результатов диссертации Колосовой Ольги Александровны в учебный процесс кафедры ботаники и микологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет».

Мы, нижеподписавшиеся, подтверждаем, что основные научные положения, выводы и рекомендации кандидатской диссертации Колосовой Ольги Александровны на тему «Сравнительное фармакогностическое изучение сырья валериан сомнительной и волжской, произрастающих на территории Воронежской области» внедрены в учебный процесс кафедры ботаники и микологии при изучении дисциплин: «Ботаника», «Учебная практика по ботанике», «Лекарственные растения Центрального Черноземья», читаемых студентам фармацевтического факультета по специальности 33.05.01 «Фармация» (ВО).

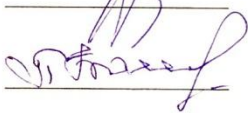
Декан медико-биологического  
 факультета

  
 \_\_\_\_\_ Попова Т.Н.

Заведующий кафедрой  
 ботаники и микологии

  
 \_\_\_\_\_ Агафонов В.А.

Начальник Учебного управления

  
 \_\_\_\_\_ Колесникова Л.И.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
«Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и  
ароматических растений»

Утверждаю

Заместитель директора ФГБНУ  
ВИЛАР по научной работе,  
д. фарм. наук, профессор



  
Мизина П.Г.

«24» ноября 2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ

ПО СБОРУ И СУШКЕ ВАЛЕРИАНЫ  
ВОЛЖСКОЙ ТРАВЫ

Согласовано  
Заместитель директора,  
руководитель Центра  
растениеводства ФГБНУ ВИЛАР, д.  
с.-х. наук

 А.И. Морозов

« 23 » 11 2021 г.

Согласовано  
Зав. отделом природных ресурсов  
ФГБНУ ВИЛАР, к.геогр. наук

 В.Ю. Масляков

« 23 » 11 2021 г.

Москва – 2021

Валериана волжская (*Valeriana wolgensis* Kazak.) – многолетнее культивируемое и дикорастущее травянистое растение, принадлежащее к семейству валериановых (*Valerianaceae* Batsh.), роду валериана (*Valeriana*), ряду (циклу) валериана лекарственная (*Valeriana officinalis* L.s.l.).

Растение кистекорневое, без столонов. Корни очень тонкие, толщиной 0,5 – 1,0 мм. При основании стеблей имеются ясно выраженные волокнистые остатки черешков отмерших листьев.

Стебли мягкие, 55 – 180 см в высоту, внизу с рассеянным опушением из конических коротких пылевидных волосков. Вверху стебли голые, прямые, светло – зеленые с красным оттенком. Толщина у основания стебля 4,5 – 8,0 мм. У основания стебля имеются 3 - 4 узла.

Листья непарноперистые, с 6 - 8 парами яйцевидно – овальных, грубозубчатых долей. Наиболее развитыми бывают листья второй снизу пары, они на черешках до 6 см длиной. Их пластинка длиной 10 – 12 см, шириной 6-8 см, с 3-5 парами продолговато - яйцевидных боковых листочков. Листья тонкие, снизу совершенно голые, по краям едва заметно реснитчатые.

Соцветие – плейотирс с нижними паракладиями, имеющими 2 – 3 порядка ветвления до парциальных соцветий, разрастающийся после цветения. Ножки соцветия темные. Нижние прицветники перистые, до 15 мм длиной, венчики белые или светло – лиловые, 4,5 – 5,5 мм длиной, отгиб 2 мм длиной.

Плод длиной 2,5 – 3,3 мм, с 8 -12 лучевым хохолком и узкой (0,1 мм) каймой по краю, на верхней стороне голый, с нижней стороны опушен волосками 0,1 – 0,2 мм. Летучка грязновато - желтая.

Цветет в июне – июле, плоды созревают в июле – сентябре.

Растение имеет Восточноевропейский тип ареала. Основные районы заготовки – центральные зоны Европейской части России: Ульяновская, Ростовская и Воронежская области. На Юго - Востоке Европейской части распространена в Самарской, Саратовской, Астраханской областях. Растет на

травяных и торфяных болотах, низинах, на суходольных и заливных лугах, по берегам рек и озер.

Валерианы волжской траву заготавливают в период бутонизации и цветения или перед уборкой корневищ с корнями в сухую погоду. Срезают побеги ножами или серпами на уровне 10-15 см от почвы, оставляя грубые нижние части стеблей. На «чистых» зарослях косят косами, предварительно удалив из зарослей посторонние растения. Для возобновления зарослей оставляют на 1 м<sup>2</sup> несколько хорошо развитых экземпляров. Из собранной надземной части удаляют землю, одревесневшие и толстые стеблевые части, случайно попавшие части других растений, пожелтевшие или пораженные вредителями и болезнями части валерианы волжской. Разрезают на куски длиной до 20 см. Сушку сырья осуществляют воздушно-теневым способом. Траву раскладывают тонким слоем в хорошо проветриваемом помещении или в тени на открытом воздухе. Предпочтительнее сушить сырьё в сушилках с искусственным обогревом при температуре не выше 40 °С. Сушка считается законченной, если стебли и черешки листьев при сгибании ломаются.

#### **Внешние признаки валерианы волжской травы**

Сырьё представлено облиственными стеблями со щитковидно - метёлчатыми соцветиями длиной до 20 см и отдельными листьями, большей частью измельчёнными. Стебли цилиндрические, ребристые, полые, сплюснутые.

Листья тонкие, непарноперистые с 6-8 парами, яйцевидно – овальных долек. Листочки длиной 20 – 45 мм, шириной 8 – 20 мм, иногда с несколькими более крупными конечными листочками. Листочки листьев, расположенных ближе к соцветию, ланцетные, 33 – 45 мм длиной, 5 – 13 мм шириной. Листочки по краям тупозубчатые, с высотой зубцов 1 – 2 мм, слабоопушенные (x10). Цвет листьев от зеленого до зелено-бурого. Цвет стеблей от буровато – зеленого до бурого.

Цветки мелкие, до 4 мм в диаметре, обоополые, с двойным околоцветником. Венчик воронковидный, цветки бледно-розовые или почти

белые, собраны в полузонттики, образующие щитковидное соцветие. Запах слабый. Вкус слегка горьковатый.

### **Испытания**

**Влажность.** *Цельное сырье* - не более 14 %; *измельченное сырье* – не более 14 %; *порошок* – не более 14 %. **Зола общая.** *Цельное сырье* - не более 9 %; *измельченное сырье* – не более 9 %; *порошок* – не более 9 %. **Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте.** *Цельное сырье* - не более 2 %; *измельченное сырье* – не более 2 %; *порошок* – не более 2 %.

**Измельченность сырья.** *Цельное сырье:* частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 3 мм - не более 10 %. *Измельченное сырье:* частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм, - не более 10%; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм, - не более 10 %. *Порошок:* частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм, - не более 10%; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм, - не более 10 %.

### **Посторонние примеси**

**Стеблей (в том числе отделенных при анализе).** *Цельное сырье* - не более 40%. **Кусочки стеблей.** *Измельченное сырье* – не более 40 %. **Органическая примесь.** *Цельное сырье* - не более 2 %; *измельченное сырье* – не более 2 %. **Минеральная примесь.** *Цельное сырье* - не более 0,5 %; *измельченное сырье* – не более 0,5 %; *порошок* - не более 0,5 %.

Также трава валерианы волжской должна выдержать испытания на примеси тяжелых металлов и мышьяка, остаточных пестицидов, радионуклидов, микробиологическую чистоту, что регламентируется соответствующими ОФС ГФ РФ XIV.

**Количественное определение.** *Цельное сырье.* Сумма флавоноидов в пересчете на рутин не менее 1,0 %; сумма гидроксикоричных кислот в пересчете на кислоту хлорогеновую не менее 0,5%; экстрактивных веществ извлекаемых 20% спиртом этиловым не менее 25,0%; *Измельченное сырье.* Сумма флавоноидов в пересчете на рутин не менее 1,0 %; сумма

гидроксикоричных кислот в пересчете на кислоту хлорогеновую не менее 0,5%; экстрактивных веществ извлекаемых 20% спиртом этиловым не менее 25,0%; *Порошок*. Сумма флавоноидов в пересчете на рутин не менее 1,0%; сумма гидроксикоричных кислот в пересчете на кислоту хлорогеновую не менее 0,5%; экстрактивных веществ извлекаемых 20% спиртом этиловым не менее 25,0%.

Готовое сырье упаковывают в мешки или тюки. Упаковочная тара должна быть крепкой, сухой, чистой, без посторонних запахов. Хранят сырьё на стеллажах, в сухом, хорошо проветриваемом помещении, защищенном от воздействия прямого солнечного света. Срок годности 2 года.



Рисунок Б.1- Валериана волжская (*Valeriana wolgensis* Kazak.)

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
«Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и  
ароматических растений»

Утверждаю

Заместитель директора ФГБНУ  
ВИЛАР по научной работе,

д. фарм. наук, профессор



 Мизина П.Г.

«24» ноября 2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ

ПО СБОРУ И СУШКЕ ВАЛЕРИАНЫ СОМНИТЕЛЬНОЙ ТРАВЫ

Согласовано  
Заместитель директора,  
руководитель Центра  
растениеводства ФГБНУ ВИЛАР,  
д. с.-х. наук

 А.И. Морозов

«23» 11 2021 г.

Согласовано  
Зав. отделом природных ресурсов  
ФГБНУ ВИЛАР, к.геогр. наук

 В.Ю. Масляков

«23» 11 2021 г.



Валериана сомнительная (*Valeriana dubia* Bunge.) – многолетнее культивируемое и дикорастущее травянистое растение, принадлежащее к семейству валериановых (*Valerianaceae* Batsh.), роду Валериана (*Valeriana*), ряду (циклу) Валериана лекарственная (*Valeriana officinalis* L.s.l).

Растение кистекорневое, с толстыми придаточными корнями 1,5 – 2,0 мм толщиной, буро – серыми. Могут редко развиваться столоны. Остатков черешков отмерших листьев у оснований стеблей нет.

Стебли обычно слегка восходящие при основании, высотой 45 – 170 см, при основании сравнительно толстые (4 – 5 мм), довольно мягкие, гладкие, с почти незаметной бороздчатостью, часто с легким антоциановым оттенком. В нижних междоузлиях стебель опушен очень мелкими волосками, в узлах короткоопушенный.

Листья розеток цельные и лировидные. Все листья непарноперистые, часто лировидно – перистые, с 3 – 12 парами продолговатых или линейно – продолговатых цельнокрайних боковых долей. Пластинки наиболее развитых листьев около 7 см длиной, 5 см шириной, они имеют 2 – 4 пары, которые отстают от оси почти под прямым углом. Листья толстоватые, тускло – зеленые, снизу чуть светлее, голые, по краям едва заметно реснитчатые.

Соцветие – плейотирс с нижними паракладиями, имеющими 2-3 порядка ветвления до парциальных соцветий. В начале цветения около 3 см шириной, 2 см высотой. Прицветники перистые. Цветки совсем белые или слегка розоватые, до 3,0 – 5,5 мм длиной.

Плоды бурые, 3,2 – 3,8мм длиной, с 9 – 13 - лучевым хохолком и относительно широкой (0,25 – 0,35 мм) каймой по краю, на верхней стороне голый или с редкими волосками, снизу всегда опушенный мелкими, длинными (0,2 – 0,3мм) волосками.

Цветет в июне – июле, плоды созревают в июле – сентябре.

Растение имеет Евроазиатский тип ареала. Основные районы заготовки – республики Башкортостан и Татарстан, Ульяновская, Ростовская и Воронежская области России. Распространена в Верхневолжском, Волжско –

Камском, Волгодонском районах. Также в Восточной и Западной Сибири, Средней Азии. Обитает на степных и солончаковых лугах, на южных каменистых склонах, в дубовых и сосновых лесах, на субальпийских и альпийских лугах.

Валерианы сомнительной траву заготавливают в период бутонизации и цветения или перед уборкой корневищ с корнями в сухую погоду. Срезают побеги ножами или серпами на уровне 10-15 см от почвы, оставляя грубые нижние части стеблей. На «чистых» зарослях косят косами, предварительно удалив из зарослей посторонние растения. Для возобновления зарослей оставляют на 1 м<sup>2</sup> несколько хорошо развитых экземпляров. Из собранной надземной части удаляют землю, одревесневшие и толстые стеблевые части, случайно попавшие части других растений, пожелтевшие или пораженные вредителями и болезнями части валерианы сомнительной. Разрезают на куски длиной до 20 см. Сушку сырья осуществляют воздушно-теневым способом. Траву раскладывают тонким слоем в хорошо проветриваемом помещении или в тени на открытом воздухе. Предпочтительнее сушить сырьё в сушилках с искусственным обогревом при температуре не выше 40°C. Сушка считается законченной, если стебли и черешки листьев при сгибании ломаются.

### **Внешние признаки валерианы сомнительной травы**

Сырьё представлено облиственными стеблями со щитковидно - метёлчатыми соцветиями длиной до 20 см и отдельными листьями, большей частью измельчёнными. Стебли цилиндрические, ребристые, полые.

Листья непарноперистые, часто лировидно – перистые, с 3 – 12 парами продолговатых или линейно – продолговатых цельнокрайних боковых долей. У наиболее крупных листьев боковые доли 28 – 30 мм длиной, 7 – 8 мм шириной, конечная доля до 50 мм длиной и 20 мм шириной. Листья голые, по краям едва заметно реснитчатые. Цвет стеблей от буровато – зеленого до бурого. Листья тускло – зеленые, снизу чуть светлее. Цветки мелкие, до 4 мм в диаметре, обоюполюе, с двойным околоцветником. Венчик воронковидный,

цветки совсем белые или слегка розоватые, собраны в полузонтики, образующие щитковидное соцветие. Запах слабый. Вкус слегка горьковатый

#### **Испытания.**

**Влажность.** *Цельное сырье* - не более 14 %; *измельченное сырье* – не более 14 %; *порошок* – не более 14 %. **Зола общая.** *Цельное сырье* - не более 9 %; *измельченное сырье* – не более 9 %; *порошок* – не более 9 %. **Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте.** *Цельное сырье* - не более 2 %; *измельченное сырье* – не более 2 %; *порошок* – не более 2 %.

**Измельченность сырья.** *Цельное сырье:* частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 3 мм - не более 10 %. *Измельченное сырье:* частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм, - не более 10%; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм, - не более 10 %. *Порошок:* частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм, - не более 10%; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм, - не более 10 %.

#### **Посторонние примеси**

**Стеблей (в том числе отделенных при анализе).** *Цельное сырье* - не более 40%. **Кусочки стеблей.** *Измельченное сырье* – не более 40 %. **Органическая примесь.** *Цельное сырье* - не более 2 %; *измельченное сырье* – не более 2 %. **Минеральная примесь.** *Цельное сырье* - не более 0,5 %; *измельченное сырье* – не более 0,5 %; *порошок* - не более 0,5 %.

Также трава валерианы сомнительной должна выдержать испытания на примеси тяжелых металлов и мышьяка, остаточных пестицидов, радионуклидов, микробиологическую чистоту, что регламентируется соответствующими ОФС ГФ РФ XIV.

**Количественное определение.** *Цельное сырье.* Сумма флавоноидов в пересчете на рутин не менее 1,0 %; сумма гидроксикоричных кислот в пересчете на кислоту хлорогеновую не менее 0,5%; экстрактивных веществ извлекаемых 20% спиртом этиловым не менее 25,0%; *Измельченное сырье.* Сумма флавоноидов в пересчете на рутин не менее 1,0 %; сумма

гидроксикоричных кислот в пересчете на кислоту хлорогеновую не менее 0,5%; экстрактивных веществ извлекаемых 20% спиртом этиловым не менее 25,0%; *Порошок*. Сумма флавоноидов в пересчете на рутин не менее 1,0%; сумма гидроксикоричных кислот в пересчете на кислоту хлорогеновую не менее 0,5%; экстрактивных веществ извлекаемых 20% спиртом этиловым не менее 25,0%.

Готовое сырье упаковывают в мешки или тюки. Упаковочная тара должна быть крепкой, сухой, чистой, без посторонних запахов. Хранят сырьё на стеллажах, в сухом, хорошо проветриваемом помещении, защищенном от воздействия прямого солнечного света. Срок годности 2 года.



Рисунок Б.2- Валериана сомнительная (*Valeriana dubia* Bunge.)

## Приложение В. Разработка и валидация методик определения флавоноидов и гкк в траве валериан изучаемых видов

Проводили на примере травы валерианы волжской. В работе за основу была взята известная ранее методика количественного определения ГКК методом прямой спектрофотометрии в виду присутствия максимума поглощения на спектре экстракта травы на 70% этаноле, совпадающего с максимумом поглощения стандартного образца хлорогеновой кислоты ( $325 \pm 2$  нм) (Рисунок В.1). Для расчета количественного содержания суммы ГКК использовали значение удельного показателя поглощения.

*Количественное определение суммы ГКК (в пересчете на хлорогеновую кислоту).* Около 1,0 г (т.н.) травы, измельченной до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм, помещают в плоскодонную колбу со шлифом вместимостью 100 мл и экстрагируют 50 мл 70% спирта этилового в течение 45 мин. После охлаждения извлечение декантируют и фильтруют через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят 70% спиртом этиловым до метки (раствор А). 5 мл раствора А переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем 95% спиртом этиловым до метки (раствор Б). Оптическую плотность полученного раствора измеряют на спектрофотометре СФ-2000 (РФ) в кювете с толщиной слоя 10 мм при длине волны  $328 \pm 1$  нм. Раствором сравнения – 95% спирт этиловый. Содержание суммы ГКК (в пересчете на хлорогеновую кислоту в процентах (X) в пересчете на абсолютно сухое сырье вычисляют по формуле:

$$X, \% = \frac{A \cdot W_1 \cdot W_2 \cdot 100\% \cdot 100\%}{m \cdot E_{1\text{см}}^{1\%} \cdot 100 \cdot V_a \cdot (100\% - B\%)} = \frac{A \cdot 100 \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 507 \cdot 100 \cdot 5 \cdot (100 - B)} = \frac{A \cdot 50000}{m \cdot 507 \cdot (100 - B)} \quad (1)$$

где А - оптическая плотность раствора Б в соответствующем максимуме поглощения; m - масса сырья, г; В - потеря в массе при высушивании сырья, %;  $E_{1\text{см}}^{1\%}$  - удельный показатель поглощения, равный 507 для хлорогеновой кислоты при  $327 \pm 1$  нм;  $W_1$  и  $W_2$  - объемы мерных колб, использованных для разведения, мл;  $V_a$  – объем аликвоты, взятый на анализ, мл.

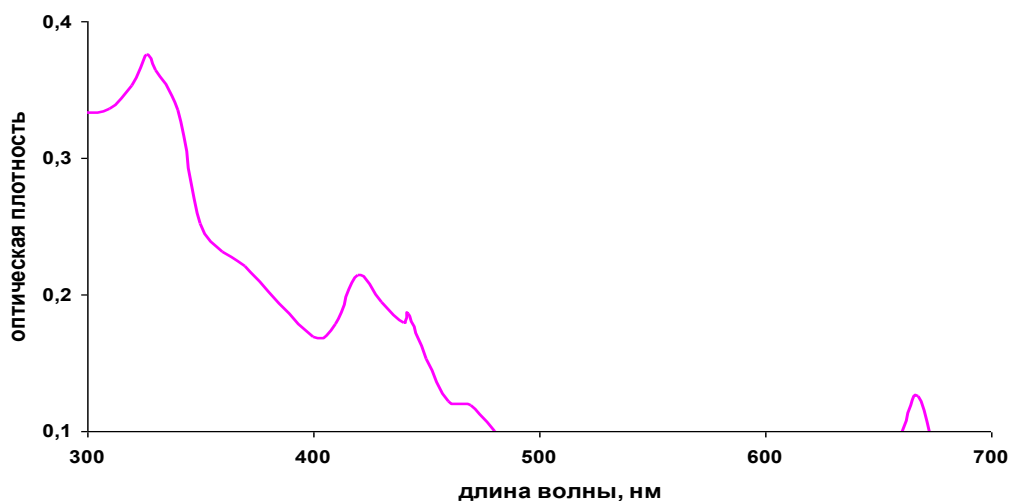


Рисунок В.1- Спектр поглощения извлечения из травы валерианы волжской

Для количественного определения флавоноидов в сырье за основу была взята фармакопейная методика, основанная на их способности образовывать окрашенный комплекс со спиртовым раствором алюминия хлорида, с основным максимумом поглощения при длине волны  $412 \pm 2$  нм (Рисунок В.2). Аналогичный максимум поглощения при длине волны  $410 \pm 2$  нм отмечен для комплекса рутина со спиртовым раствором алюминия хлорида, использованного в качестве стандартного образца.

*Количественное определение суммы флавоноидов в пересчете на рутин.* Около 1 г измельченного сырья (т.н.) с размером частиц менее 0,5 мм, помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл 96% этилового спирта и взвешивают с погрешностью  $\pm 0,01$  г. Колбу присоединяют к обратному холодильнику, нагревают на кипящей водяной бане в течение 60 мин, периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. Затем колбу с содержимым охлаждают до комнатной температуры, взвешивают и при необходимости доводят до первоначальной массы 96% этиловым спиртом. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр, смоченный тем же спиртом, отбрасывая первые 10 мл фильтрата (раствор А). 2 мл извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 4 мл 2% раствора алюминия хлорида в 96% этиловом спирте и 4 капли раствора уксусной кислоты разведенной. Объем раствора доводят тем же спиртом до метки (раствор Б) и

оставляют на 15 мин. Оптическую плотность полученного раствора измеряют на спектрофотометре СФ-2000 (РФ) при длине волны  $410 \pm 2$  нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Раствор сравнения: 2 мл извлечения, 4 капли раствора разведенной уксусной кислоты и 96% этиловый спирт, добавленный до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл. Параллельно измеряют оптическую плотность 0,05% спиртового раствора РСО рутина, приготовленного аналогично испытываемому раствору. Содержание суммы флавоноидов в процентах (X) в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье вычисляют по формуле:

$$X, \% = \frac{A_x \cdot 0,025 \cdot 50 \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot m \cdot 2 \cdot 50 \cdot 25 \cdot (100 - W)} = \frac{A_x \cdot 0,025 \cdot 5000}{A_0 \cdot m \cdot (100 - W)}$$

A — оптическая плотность испытываемого раствора;  $A_0$  - оптическая плотность раствора РСО рутина; m — масса сырья, г; W — потеря в массе при высушивании сырья, %.

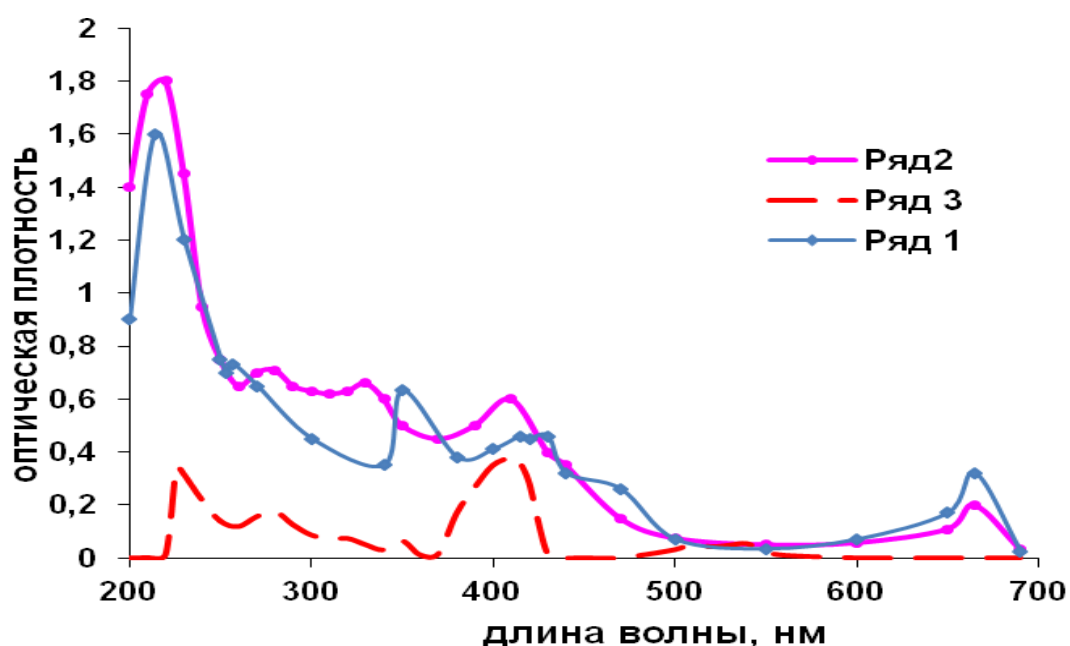


Рисунок В.2 - Спектры поглощения (1 - спиртового извлечения из травы валерианы вожской (1:50), разведенного в 20 раз относительно спирта; 2 - комплекса спиртового извлечения с алюминия хлоридом относительно спирта; 3 - дифференциальный спектр поглощения комплекса извлечения с алюминия хлоридом)

Параметры методик выбирались на основе экспериментальных данных, которые обобщены в Таблице В.1.

Таблица В.1 – Оптимальные параметры выделения БАВ из травы валерианы волжской

Параметр выделения БАВ	БАВ	
	Сумма ГКК	Сумма флавоноидов
Экстрагент	70% этанол	96 % этанол
ЛРС:экстрагент	1:50	1:50
Время экстракции	45	60
Размер частиц, мм	Менее 1,0	Менее 0,5
Кратность экстракции	1	1

Метрологическая оценка предложенных методик приведена в Таблице В.2.

Таблица В.2 – Метрологическая характеристика метода анализа (P = 95 %; n = 6)

f	$x_{cp}$	$S^2$	S	$Sx_{cp}$	$S_r, \%$	t(P,t)	$\Delta x$	$\Delta x_{cp}$	$\varepsilon_{cp}, \%$	$\varepsilon, \%$
Сумма флавоноидов										
5	1,992	0,005816	0,07626	0,03113	7,62	2,57	0,196	0,081	4,07	9,84
Сумма ГКК										
5	1,520	0,009801	0,0990	0,04040	9,91	2,57	0,254	0,104	6,84	16,74

Валидацию разработанных методик проводили по основным параметрам (специфичность, предел обнаружения, линейность, правильность, воспроизводимость). Валидационные характеристики разработанных методик (Таблица В.3) свидетельствуют о соответствии полученных результатов критериям приемлемости.

Таблица В.3 – Валидационные характеристики разработанных методик

Показатель	Сумма ГКК	Сумма флавоноидов
Повторяемость	$x_{cp} \pm \Delta x_{cp} = 1,520 \pm 0,104$ ; SD=9,91%; RSD=6,52%	$x_{cp} \pm \Delta x_{cp} = 1,992 \pm 0,081$ ; SD=7,626%; RSD=3,828%



## Продолжение Таблицы В.3

Линейность	$y=0,0947x+0,003$ $R^2 = 0,9871$ $0,45 - 5,56 \times 10^{-5}$ (г/мл извлечения)	$y=0,0928x+0,0129$ $R^2 = 0,9898$ $0,21 - 7,36 \times 10^{-4}$ (г/мл извлечения)
Специфичность	+	+
Правильность	-	Средний процент восстановления (R) 98,19%
Предел обнаружения	$6,8 \times 10^{-6}$ (г/мл извлечения)	$2,1 \times 10^{-5}$ (г/мл извлечения)