

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

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Москва – 2023

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Воронежский государственный университет» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор фармацевтических наук, доцент

Тринеева Ольга Валерьевна

Официальные оппоненты:

Зилфикаров Ифрат Назимович, доктор фармацевтических наук, профессор РАН, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений" Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, отдел химии природных соединений, главный научный сотрудник

Дроздова Ирина Леонидовна, доктор фармацевтических наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, фармацевтический факультет, кафедра фармакогнозии и ботаники, профессор кафедры

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Самарский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «15» марта 2023 г. в 13.00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.002.02 при федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2.

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной медицинской библиотеке ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119034, г. Москва, Зубовский бульвар, д. 37/1 и на сайте <https://www.sechenov.ru>

Автореферат разослан « ___ » _____ 2023 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета ДСУ208.002.02

доктор фармацевтических наук, профессор _____



Демина Наталья Борисовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

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 внести 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 и задачи исследования

Цель исследования: 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:

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 антигипоксанта 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.

Теоретическая и практическая значимость

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 вариабельности морфологии, анатомии и состава БАВ сырья валериан различных видов, заготовленных в различных эколого-географических территориях, для выявления определенных отличий в составе компонентов, 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 лекарственных растительных препаратов.

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 химическом составе 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 состава компонентов. В процессе выполнения работы использовались методы сравнительного, документированного анализа; а также комплекс физико-химических методов, технологических и доклинических испытаний; методы математической статистики и обработки результатов.

Основные 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.

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

(Фармобразование-2022)» (Воронеж, 2022). Апробация диссертационной работы состоялась на совместном заседании кафедр фармацевтической химии и фармацевтической технологии, фармакологии и клинической фармакологии; управления и экономики фармации фармацевтического факультета ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет» 22.06.2022 г.

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.

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.l) 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).

Соответствие диссертации паспорту 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.

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 аминокликозидов 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.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Объекты и методы 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. Идентификацию объектов проводили с использованием определителей растений и гербарных образцов, предоставленных кафедрой ботаники и микологии ФГБОУ ВО ВГУ.

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».

Микроскопические исследование сырья осуществляли в соответствии с требованиями ОФС.1.5.3.0003.15 ГФ РФ XIV изд. Использовался микроскоп Биомед-6 (Россия), имеющий прикрепленную цифровую камеру Levenhuk (КНР) с программным обеспечением для обработки снимков.

Люминесцентный анализ тканей травы и корневищ с корнями осуществляли с использованием люминесцентного микроскопа марки Микромед – 3 Люм (Россия), оснащенном корпусом люминесцентной насадки с четырьмя люминесцентными блоками «В»; «G»; «V» и «UV» LED (Россия). Источник света - высоковольтная ртутная лампа (100 Вт); спектральный диапазон возбуждения люминесценции: голубой светофильтр - 410-490 нм, наблюдение в диапазоне 515 – 700 нм (Лаборатория Фитониринга ФГБОУ ВО ВГУ). Визуализацию диагностических признаков при всех видах микроскопических исследований осуществляли с помощью видеокамеры Livenhuk C310 NG (КНР) и программным обеспечением Top View (x86).

Определение элементного состава осуществляли методом хромато-масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой на приборе «ELAN-DRC» (США). Для контроля правильности определения использовали метод добавок нескольких опорных многоэлементных стандартных растворов для масс-спектрометрии (Perkin-Elmer) или аналогичные, содержащие разные группы элементов. Присутствие пестицидов (ДДТ и его метаболиты, ГХЦГ), устанавливали методом газовой хроматографии на приборе «Цвет 500М» (Россия); радионуклидов (Цезий-137, Стронций-90) - на комплексном универсальном спектрометре УСК «Гамма-Плюс» с использованием программного обеспечения «Прогресс» (Россия).

Массовую долю крахмала в подземных органах определяли поляриметрически по ГОСТ 10845-98. Определение суммы дубильных веществ, органических кислот, кислоты аскорбиновой в траве изучаемых валериан проводили титриметрическими методами (перманганатометрии, алкалометрии и титрования 2,6-дихлорфенолиндофенолятом натрия соответственно), полисахаридов - гравиметрически по методикам частных ФС ГФ XI, XIII XIV изданий. Оценка накопления суммы сесквитерпеновых кислот в пересчете на кислоту валереновую в изучаемом сырье проведена в соответствии с ВЭЖХ-методикой, приведенной в ФС.2.5.0009.15 «Валерианы лекарственной корневища с корнями». Исследования проведены на жидкостном хроматографе «Agilent» (модель 1260 Infinity LC, DAD, FLD). Определение суммы сложных эфиров карбоновых кислот осуществляли методом ФЭК, основанном на проведении гидроксамовой реакции. Количественное содержание оксикоричных кислот (ОКК) и флавоноидов в траве осуществляли методом прямой и дифференциальной спектрофотометрии соответственно.

Получение эфирного масла из травы осуществляли методом перегонки с водяным паром. Анализ эфирного масла подземных органов, полученного с помощью аппарата Клевенджера, компонентного состава подземных органов, а также состава жирных кислот проводили методом ГХ/МС (на газовом хроматографе HP6890 с масс-детектором HP, оснащенного программным обеспечением Chemstation HP 1701 AA).

Индивидуальные свободные сахара, АК и органические кислоты определяли методом КЭ на приборе «Капель-105/105М» («Льюмэкс», Россия).

Анализ фракции ОКК и флавоноидов сырья валерианы 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». Качественный состав данных групп БАВ определяли также методом двумерной БХ.

Присутствие сесквитерпеновых кислот изучали методом ТСХ в системе растворителей ацетон-гексан (1:2), детектирование зон - раствором ванилина в серной кислоте.

В работе использованы реактивы и растворители марки х.ч. и ч.д.а. (ЗАО «Вектон», СПб, Россия). Субстанции стандартных образцов имели степень чистоты не менее 99% (ЗАО «Вектон», Россия).

Исследование сырья методом инфракрасной спектроскопии с нарушенным полным внутренним отражением (ИК НПВО) проводили без предварительной пробоподготовки (ЛРС измельчалось до размера частиц, проходящих через сито с диаметром отверстий 0,5 мм) на приборе ИК-Фурье спектрометр Bruker VERTEX 70 (Германия) с последующей обработкой программой OMNIC или GRAMS 4/32.

Оценку вероятности наличия того или иного фармакологического эффекта, а также побочных и токсических эффектов проводили методом компьютерного моделирования *in silico*. Экспериментальные исследования на лабораторных животных по оценке седативной активности и наличия психотропных свойств проведены на белых аутбредных конвенциональных крысах с применением тестов «открытое поле» и «эвристические решения» по стандартным методикам. Адаптогенную и антигипоксантную активности оценивали на белых аутбредных конвенциональных самцах мышей в тесте «принудительное плавание с грузом» и на модели гипоксической гиперкапнии соответственно.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Комплексный микроскопический анализ анатомических признаков сырья ВС и ВВ

Микроскопический анализ корневищ с корнями. Основные микродиагностические признаки подземных органов ВС и ВВ флоры Воронежской области и их биометрические характеристики обобщены и следует отметить, что они идентичны известным особенностям морфолого-анатомического строения официального вида валерианы. Отличительных микроскопических признаков сырья данных видов выявлено не было.

В ходе люминесцентного анализа подземных органов валерианы изучаемых видов, проведенного нами впервые, были установлены диагностические особенности в свечении тканей придаточных корней. Буро – оранжевое свечение имеет эпидерма с большим числом корневых волосков (рисунок 1а); гиподерма - желтую люминисценцию и образует «кайму» по периферической части корня (рисунок 1б); крупные клетки с валепотриатами (рисунок 1в) - участки с желто-зеленой люминисценцией; проводящие элементы центрального осевого цилиндра корня - интенсивная люминисценция (рисунок 1г); сосуды ксилемы - яркое желто-зеленое свечение.

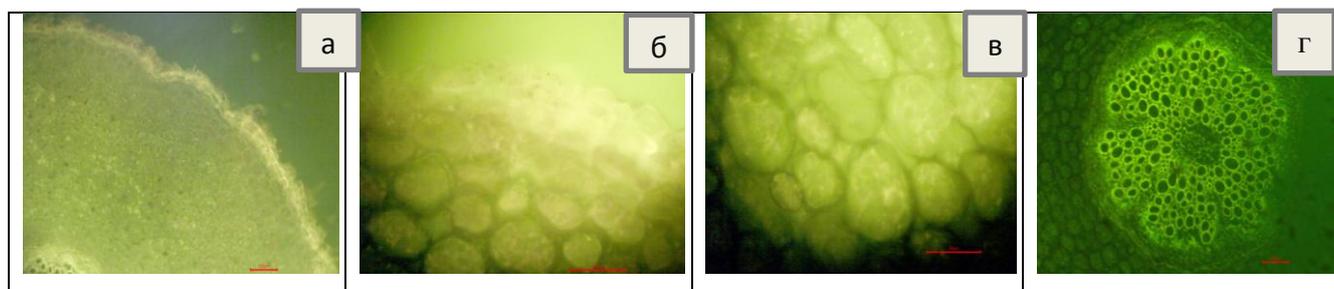


Рисунок 1 - Поперечный срез валерианы волжской корня: а - фрагмент поперечного среза корня, ув. x100; б - фрагмент гиподермы, ув. x400; в - люминесценция участка запасующей паренхимы корня, ув x100; г - люминесценция проводящих элементов придаточных корней, ув. x100

Эти особенности могут служить диагностическими признаками для установления подлинности подземных органов валерианы при люминесцентно – микроскопическом исследовании.

Микроскопический анализ травы. В коре стебля дифференцируется два слоя пластинчатой колленхимы, многослойная запасующая паренхима с многочисленными масляными клетками и крупноклетчатая эндодерма, повторяющая очертания верхней границы проводящих пучков (рисунок 2а). Зона флоэмы узкая, а в древесине четко обособлена первичная ксилема с широкопросветными сосудами. Слияние нескольких пучков формирует крупные фрагменты (доли), четко проявляющиеся и на поперечных срезах корневищ.

Клетки эпидермиса верхней стороны листа с извилистыми стенками. Клетки эпидермиса нижней стороны листа более мелкие с сильно извилистыми стенками. Тип устьичного аппарата - анамоцитный (рисунок 2б), который также визуализируется при люминесцентно-микроскопическом анализе листовой пластинки. Яркая люминесценция характерна для замыкающих клеток устьичного аппарата. Простые вытянутые или колбообразные волоски приурочены к краям листа и жилкам (имеют зеленоватое свечение и отчетливо визуализируемые на темном фоне листовой пластинки) (рисунок 2в). Головчатые волоски встречаются только по жилкам (рисунок 2г). При люминесцентном анализе на верхней поверхности листовой пластинки обнаружены вместилища, которые имеют желто–зеленое свечение, которые не были обнаружены при микроскопии в проходящем свете.

Центральные жилки сегмента листа на поперечном срезе чаще - прямые сверху и округловыпуклые - снизу, с одним проводящим пучком. Эпидерма с простыми и редкими железистыми волосками. На поперечном срезе центральная жилка листа крыловидной формы с одним центральным и несколькими боковыми пучками характерной полукруглой формы со сплошной склеренхимной обкладкой (рисунок 2д). Пластинчатая колленхима (1-2 слоя) чаще только снизу жилки (рисунок 2е). Проводящие структуры листовой пластинки люминесцируют

ярко – желтым светом. По жилкам встречаются редкие простые конические волоски, имеющие желтое свечение.

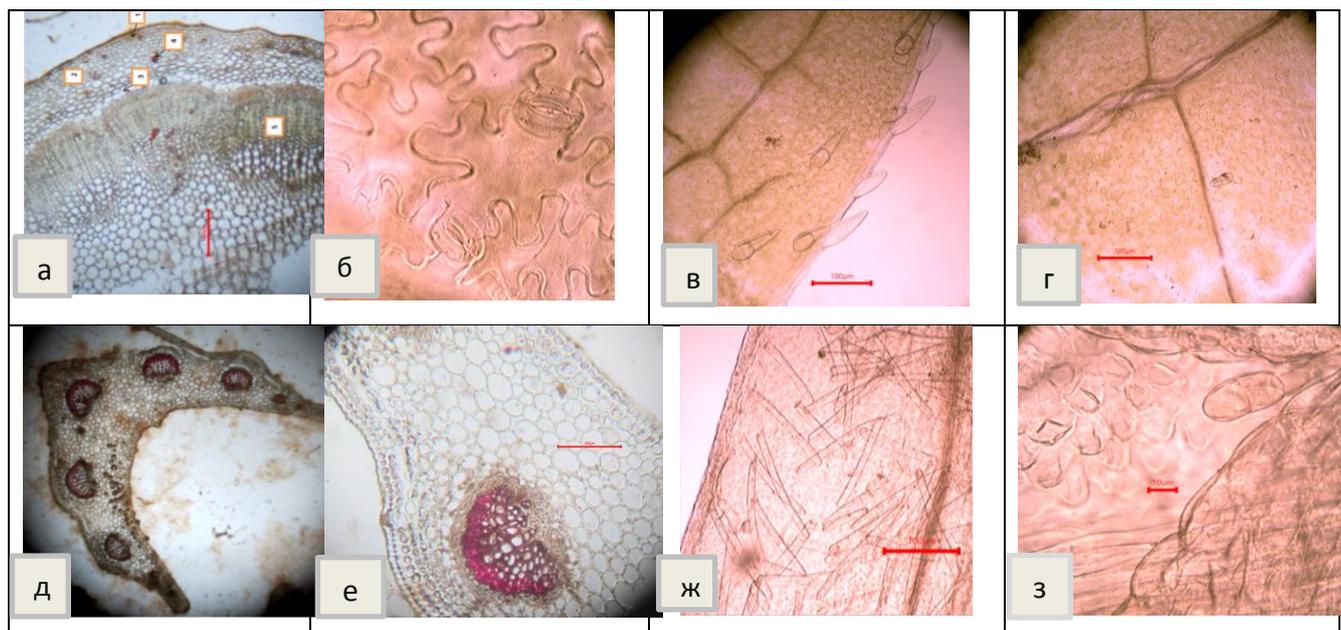


Рисунок 2 – Микроскопический анализ травы валерианы волжской: а - внутренняя структура стебля: 1- пластинчатая колленхима, 2 - запасаящая паренхима, 3- эндодерма, 4 – масляные клетки, 5 – проводящие пучки, ув. x100; б - анамоцитный тип устьичного аппарата (препарат листа с поверхности), ув. x400; в – простые волоски на поверхности листовой пластинки, ув. x100; г – головчатые волоски на поверхности листовой пластинки, ув. x100; д- поперечный срез центральной жилки, ув. x100; е - пластинчатая колленхима на поперечном срезе центральной жилки, ув. x400; ж - препарат лепестка венчика (головчатые волоски), ув. x100; з – препарат лепестка венчика (простые волоски), ув. x400.

Нами впервые проведен микроскопический анализ цветков валерианы, позволивший установить наличие простых одноклеточных вытянутых палочковидных волосков по всей поверхности лепестка (рисунок 2ж). Редко встречаются головчатые волоски (рисунок 2з). Отмечается присутствие пыльцевых зерен.

Полученные нами результаты с применением различных видов микроскопического анализа могут быть использованы при составлении ключей для идентификации близкородственных видов растений по анатомическим признакам и их биометрическим характеристикам.

Изучение показателей безопасности корневищ с корнями и травы ВВ и ВС

Исследование элементного состава. Было проведено сравнительное исследование элементного состава травы и корневищ с корнями валериан изучаемых видов и почвы с места произрастания. В ходе определения было установлено наличие в изучаемых объектах обширного спектра элементов - 65 наименований. Определено наличие 13 эссенциальных элементов (из 15).

Данные таблицы 1 свидетельствуют о том, что содержание токсичных элементов, остаточных органических пестицидов и радионуклидов во всех исследуемых образцах соответствует нормативам, установленным соответствующими ОФС ГФ РФ XIV изд.

Таблица 1 - Результаты изучения показателей безопасности сырья ВВ и ВС

Испытуемый показатель	Объект исследования						ПДК для сырья, мг/кг
	Трава ВВ	Трава ВС	Корневища с корнями ВВ	Корневища с корнями ВС	Почва с. Ср. Игорец	Почва с. Белогорье	
Нормируемые токсичные элементы, мг/кг							
Свинец (Pb)	0,47	0,37	2,49	2,90	27,0	8,0	6,0
Мышьяк (As)	0,28	0,25	0,45	0,39	9,0	8,0	0,5
Кадмий (Cd)	0,04	0,04	0,15	0,18	0,2	0,1	1,0
Ртуть (Hg)	0,004	0,003	0,0018	0,002	0,30	0,22	0,1
Пестициды, мг/кг							
ГХЦГ(α -, β -, γ -изомеры)	менее 0,001				-	-	0,10
ДДТ и его метаболиты	менее 0,007				-	-	0,10
Радионуклиды, Бк/кг							
Цезий-137	менее 3				-	-	400
Стронций-90	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 ВВ и ВС.

Изучение состава БАВ первичного обмена в сырье валериан флоры Воронежской области

Определение аминокислот. При идентичном качественном составе, обусловленном общими особенностями накопления аминокислот в близкородственных видах валериан ряда *Officinales*, анализируемые образцы различались их соотношением. В траве ВС накапливалось больше аминокислот по сравнению с ВВ (таблица 3).

Определение полисахаридов (свободных и связанных сахаров) в подземных органах. Состав свободных сахаров в сырье представлен глюкозой, фруктозой и сахарозой. Данные таблицы 2 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.

Жирнокислотный состав корневищ с корнями. Методом ГХ-МС установлено наличие 11 жирных кислот в подземных органах ВВ и 10 – в ВС. Так, только в корневищах с корнями ВВ обнаружена маргариновая кислота.

Изучение состава БАВ вторичного обмена в сырье валериан флоры Воронежской области

Определение состава свободных органических кислот подземных органов и травы валериан. Установлено, что профиль свободных органических кислот в подземных органах изучаемых видов валерианы (исследуемых района и периода заготовки) неодинаков. Для ВВ идентифицировано 7 кислот с общим суммарным содержанием практически в 2,5 раза больше, чем для ВС (таблица 2). В корневищах с корнями ВС установлено только 4 кислоты. Для ВВ характерно присутствие муравьиной, фумаровой, молочной и сорбиновой кислот. В подземных органах ВС идентифицирована яблочная кислота. Для травы наблюдается, в целом, та же тенденция.

Определение сложных эфиров карбоновых кислот в подземных органах. Методом ТСХ подтверждено присутствие валереновой кислоты в спиртовых извлечениях корневищ с корнями. Результаты количественного определения приведены в таблице 2. Стандартизация сырья валерианы, согласно ГФ республики Беларусь, осуществляется по данной группе БАВ (не менее 2%).

Определение сесквитерпеновых кислот в подземных органах ВС и ВВ. Данные вещества считаются в литературе целевой группой БАВ для сырья валерианы и, следовательно, вопрос о возможности заготовки и использования в промышленных масштабах различных близкородственных видов данного растения должен основываться на оценке содержания суммы сесквитерпеновых кислот (таблица 2). Согласно ФС.2.5.009.15 «Валерианы лекарственной корневища с корнями» ГФ РФ XIV издания данная группа БАВ нормируется в корневищах с корнями (не менее 0,12%).

Таблица 2 - Содержание БАВ в корневищах с корнями Воронежских валериан

БАВ (в пересчете на абсолютно сухое сырье)	Результаты, %		Метод определения
	ВС	ВВ	
Сумма свободных и связанных АК	3,99±0,20	4,44±0,22	Капиллярный электрофорез
Эфирное масло	0,45±0,021	0,18±0,009	Перегонка с водяным паром
Сумма свободных органических кислот	1,030±0,05	0,424±0,023	Капиллярный электрофорез
Сумма сесквитерпеновых кислот	0,29±0,0058	0,19±0,0037	ВЭЖХ (в пересчете на кислоту валереновую)
Сумма сложных эфиров карбоновых кислот	4,01±0,13	3,49±0,11	ФЭК (в пересчете на кислоту валереновую)
Массовая доля крахмала	14,93±0,78	13,41±0,99	Поляриметрия
Свободные сахара	0,56±0,025	0,53±0,018	Капиллярный электрофорез
ЭВ (70% спирт)	27,43±1,31	25,15±1,21	Гравиметрия

Анализ фенольной фракции надземных органов ВС и ВВ. Методом ВЭЖХ установлен состав ОКК в траве валериан изучаемых видов (хлорогеновая, феруловая, изохлорогеновая, неохлорогеновая, изоферуловая, кофейная, п-кумаровая, синаповая кислоты). Флавонолгликозиды представлены производными кемпферола, кверцетина, апигенина, лютеолина. При сравнительном анализе не обнаружены принципиальные различия в наборе ОКК и флавоноидов в надземных органах ВС и ВВ (таблица 3). Проведено определение также содержания и некоторых других групп БАВ травы (таблица 3).

Таблица 3 - Содержание БАВ в траве Воронежских валериан

БАВ (в пересчете на абсолютно сухое сырье)	Результаты, %		Метод определения
	ВС	ВВ	
ДВ (сумма в пересчете на танин)	2,58±0,13	2,46±0,12	Перманганатометрия
Аскорбиновая кислота	0,35±0,025	0,30±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
Сумма флавоноидов	1,77±0,18	1,99±0,081	Дифференциальная СФМ (в пересчете на рутин)
Сумма ОКК	1,63±0,15	1,52±0,104	Прямая СФМ (в пересчете на хлорогеновую кислоту)
Сумма свободных и связанных АК	13,91±0,62	12,95±0,55	Капиллярный электрофорез
ЭВ (20% спирт)	27,43±1,31	25,15±1,21	Гравиметрия
Сумма свободных органических кислот	1,835±0,09	1,040±0,07	Капиллярный электрофорез

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 ВС в 2 раза больше, чем в ВВ. Достаточно высокие значения по накоплению кислоты аскорбиновой, сравнимые с плодами шиповника, ОКК и флавоноидов.

Сравнительная характеристика компонентного состава эфирных масел корневищ с корнями валериан изучаемых видов. Методом ГХ-МС в эфирном масле из корневищ с корнями валерианы сомнительной, обнаружен 81 компонент (идентифицировано 53), из валерианы волжской — 58, из которых удалось идентифицировать 35. Общими БАВ для эфирного масла обоих видов являлись 29 веществ, различающихся по количественному содержанию. Следует отметить, что компонентный состав эфирных масел изучаемых образцов был неодинаков. Только в эфирном масле корневищ с корнями ВВ обнаружены ангидрид валериановый и сесквитерпеноид валеранон, относящийся к одному из активных компонентов седативного характера.

Применение ИК-спектроскопии для исследования структуры БАВ сырья ВС и ВВ. Во всех спектрах исследованных образцов, зарегистрированных в среднем ИК-диапазоне (4000 до 400 см^{-1}), обнаружены полосы поглощения, отражающие общий химический состав (рисунок 3).

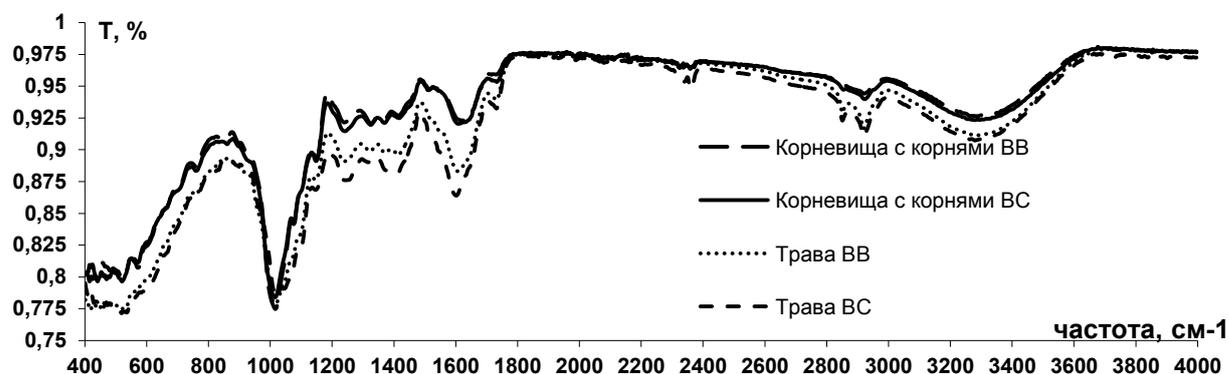


Рисунок 3 - ИК-спектры анализируемого сырья валериан в диапазоне средних частот

На всех спектрах ЛРС исследуемых видов присутствует интенсивная полоса поглощения в диапазоне 3296-3280 см^{-1} (рисунок 3). Свободная группа -ОН, по литературным данным, дает очень узкий пик поглощения при 3750-3700 см^{-1} . Эта полоса может сдвигаться до 3500-2500 см^{-1} в случае формирования полиассоциатов БАВ. Для попытки классифицировать установленные, по данным ИКС, конгломераты, рассчитаны термодинамические характеристики выявленных связей: энергия (E_H) и длина (R) (таблица 4). 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 (около 2,7 Å).

Таблица 4 - Результаты расчета термодинамических характеристик межмолекулярных водородных связей БАВ в изучаемом ЛРС

ЛРС	Частота, см^{-1}	$\Delta \nu_2^*$, см^{-1}	$\nu_{1/2}^*$, см^{-1}	E_H		R , Å
				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 $\nu_{1/2}^*$ полуширина полосы.

При рассмотрении области колебаний от 1100 и ниже - область «отпечатков пальцев», установлена специфичность в рисунке ИК-спектров для каждого сырья из изучаемых видов, что (рисунок 4, таблица 6 и 7). Для ИК-спектров травы валерианы исследуемых видов было характерно наличие специфических полос поглощения в отличие от подземных органов при 561, 536 и 491 см^{-1} . ИК-спектры корневищ с корнями имели маркерные полосы, отличающие их от травы при 1076; 570 и 426 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 cm^{-1} (для ВВ). 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 4 и таблица 5 и 6).

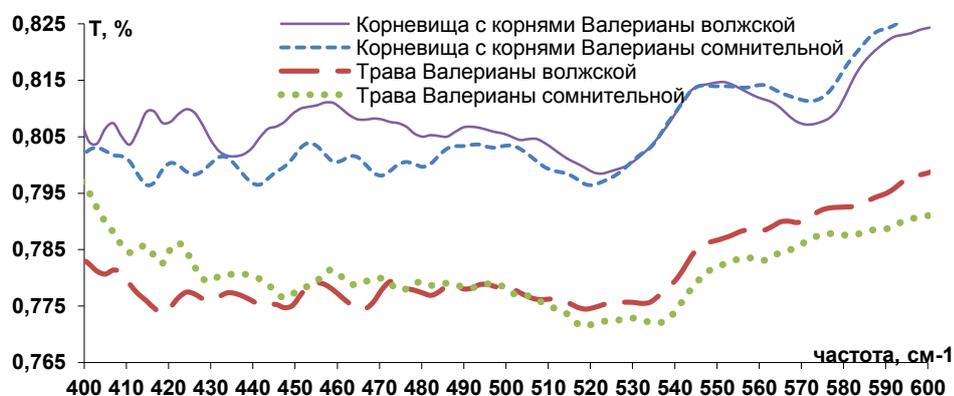


Рисунок 4 - ИК-спектр анализируемого сырья валериан в области «отпечатков пальцев»

Таблица 5 - Маркерные полосы поглощения в ИК-спектрах подземных органов валериан

Корневища с корнями	ν, cm^{-1} (на спектрах)										
	572- 570	522- 520	486- 480	470	459	441	432	426	418- 414	410	403
ВВ	+	+	плечо	-	-	-	+	-	+	+	+
ВС	+	+	480	+	+	+	-	+	+	-	-

Таблица 6 - Маркерные полосы поглощения в ИК-спектрах надземных органов валериан

Трава	ν, cm^{-1} (на спектрах)											
	561	536	518	491	482	474	464	447	430	418	410	405
ВВ	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+
ВС	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования 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.

Экспериментальные исследования на лабораторных животных по изучению фармакологической активности извлечений из корневищ с корнями ВВ и ВС

На завершающем этапе проведены экспериментальные исследования на лабораторных животных различных видов фармакологической активности извлечений из исследуемого сырья по известным методикам. Результаты оценки влияния спиртовых извлечений на характер поведенческих реакций в тесте «открытое поле» показали, что наибольшей седативной и анксиолитической активностью обладали изучаемые извлечения из ВВ и ВС по сравнению с официальной настойкой валерианы. Следует отметить, что выраженность эффектов извлечений

из ВС преобладала по большинству показателей. Результаты оценки адаптогенного и актопротекторного действия изучаемых извлечений в тесте «принудительное плавание» показали, что все изучаемые извлечения проявляют актопротекторное действие, однако наибольшую активность проявляли извлечения из ВС, практически в 2 раза превысив показатель «длительность плавания» по сравнению с контрольной группой. При помощи теста «эвристические решения» выявлена психотропная активность (снижение возбудимости и преобладании процессов торможения в центральной нервной системе) исследуемых извлечений. Это подтверждает наличие известного седативного действия извлечений из валерианы лекарственной, более выраженного, как показали исследования, именно для ВС, а не ВВ.

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-спектроскопия, 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». 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 РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. 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, **О. А. Колосова** // **Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация.** – 2010. – № 2. – С. 158–163.
2. 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 : сб. науч. работ студентов и молодых ученых Всероссийской научн.-практ. конф. студентов и молодых учёных с международным участием, посвящённой 65-летию студенческого научного общества Ярославской государственной медицинской академии. – Ярославль, 2011. – С. 300.
3. Изучение компонентного состава валерианового эфирного масла полученного паровой дистилляцией / Н. С. Фурса, П. Ю. Шкроботько, Д. Л. Макарова, Д. В. Домрачев, С. В. Панченко, И. В. Чикина, **О. А. Колосова** // **Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация.** – 2011. – № 2. – С. 233–239.
4. **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 : сб. науч. работ студентов и молодых ученых Всероссийской научн.-практ. конф. с международным участием, посвященной 70-летию профессора А.А. Чумакова. – Ярославль, 2012. – С. 336.
5. **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.
6. **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.
7. Корневая система валерианы волжской / Г. М. Камаева, Г. И. Барабаш, Н. С. Фурса, **О. А. Колосова** // **Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация.** – 2014. – № 2. – С. 108–111.
8. **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 : сб. науч. трудов. – Пятигорск, 2014. – Вып. 69. – С. 48–50.
9. 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.
10. 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.**
11. **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.
12. Сравнительный анализ элементного, углеводного и аминокислотного состава официального сырья и его составляющих валерианы лекарственной / **Н. С. Фурса, С. Д. Тржецинский, В. И. Мозуль, А. Л. Исханов, О. А. Колосова, И. В. Чикина // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2016. – № 2. – С. 152–156.**
13. **Парфенов А. А.** Хромато-масс-спектрометрическое определение компонентного состава отдельных групп природных соединений и фармакологическое изучение настоек официального сырья валерианы лекарственной, пустырника пятилопастного и травы бурачника лекарственного / **А. А. Парфенов, О. А. Колосова, Н. С. Фурса // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2016. – № 3. – С. 134–140.**
14. **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.**
15. **Колосова О. А.** Изучение седативных и адаптогенных свойств настоек официального сырья валерианы сомнительной и валерианы волжской, произрастающих в Воронежской области / **О. А. Колосова, И. М. Коренская, А. В. Бузлама // Экспериментальная и клиническая фармакология.** Научные основы поиска и создания новых лекарств : материалы 5-го съезда фармакологов России, г. Ярославль, 14-18 мая 2018 г. – Ярославль, 2018. – С.118. [**Scopus**]
16. **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.
17. 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. [WoS]**
18. **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.**
19. **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.[Scopus]**