



005532180

На правах рукописи

Великанова Нина Алексеевна

**ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ
ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ (НА ПРИМЕРЕ
POLYGONUM AVICULARE L. И *PLANTAGO MAJOR L.*) В
УРБУСЛОВИЯХ ГОРОДА ВОРОНЕЖА И ЕГО ОКРЕСТНОСТЕЙ**

03.02.08 – экология

14.04.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

22 АВГ 2013

Воронеж – 2013

Диссертация выполнена на кафедре зоологии и паразитологии и кафедре фармацевтической химии и фармацевтической технологии в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Воронежский государственный университет» (ФГБОУ ВПО «ВГУ»)

Научные руководители: доктор биологических наук, профессор
Гапонов Сергей Петрович

доктор фармацевтических наук, профессор
Сливкин Алексей Иванович

Официальные оппоненты: Калаев Владислав Николаевич, доктор биологических наук, профессор, ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет», биолого-почвенный факультет, кафедра генетики, цитологии и биоинженерии, профессор

Дроздова Ирина Леонидовна, доктор фармацевтических наук, ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, фармацевтический факультет, кафедра фармакогнозии и ботаники, профессор

Ведущая организация: ФГБУН Институт биологии внутренних вод имени И. Д. Папанова Российской академии наук

Защита диссертации состоится «25» сентября 2013 года в 14-00 часов на заседании диссертационного совета Д 212.038.05 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Воронежский государственный университет» по адресу: 394006, г. Воронеж, Университетская площадь, д. 1, ауд. 59.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Воронежского государственного университета.

Автореферат разослан 25 июля 2013 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук, доцент

Барабаш Г. И.



ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Воронеж – город с миллионным населением, расположенный в Центральном-Черноземном районе европейской части России. Проблема техногенного загрязнения Воронежа и близлежащих территорий из года в год обостряется, что отражается на всех компонентах экосистем. В городе и его окрестностях имеются крупные химические производства, например, ОАО «Воронежсинтезкаучук», крупная теплоэлектроцентраль «ВОГРЭС», расположенные в непосредственной близости от Воронежского водохранилища, Нововоронежская атомная электростанция. Нельзя не упомянуть и о большом количестве автомобильного транспорта на территории города, хорошо развитых железнодорожных путях сообщения.

В медицинской практике России используется свыше 6,5 тысяч лекарственных средств, производимых из лекарственного растительного сырья (Жигаев Г.Ф. и др., 2009). Все возрастающий интерес к фитопрепаратам обусловлен тем, что в случае рационального применения они сочетают в себе хороший терапевтический эффект с относительной безвредностью (Куркин В.А., 2007). Однако, вследствие роста города Воронежа, резкого увеличения количества автотранспорта, расширения производственных площадей, вероятность сбора лекарственного растительного сырья населением вблизи источников выброса поллютантов существенно возрастает (Егорова И.Н., Мухамадиярова В.А., 2009). В связи с этим с практической точки зрения необходимо выяснить влияние антропогенного загрязнения на химический состав лекарственных растений в городе Воронеже и его окрестностях, определить возможность их использования в медицинских целях, выявить наиболее экологически неблагоприятные зоны указанной территории и дать рекомендации возможных районов заготовки лекарственного сырья.

В качестве объектов исследования было удобно и целесообразно в практическом смысле использовать такие лекарственные растения, как *Polygonum aviculare* L. (горец птичий) и *Plantago major* L. (подорожник большой). Оба вида в ботаническом, фитохимическом, фармакологическом, экологическом планах изучены весьма полно. Это характерные представители как естественных растительных сообществ, так и урбанофлоры. Сбор листьев подорожника большого и травы горца птичьего осуществляется преимущественно от дикорастущих растений, которые испытывают на себе влияние всего многообразия экологических факторов, в том числе и техногенного загрязнения.

Цель диссертационной работы - изучить влияние антропогенного загрязнения на химический состав лекарственного растительного сырья в городе Воронеже и его окрестностях на примере горца птичьего и подорожника большого. В связи с этим были поставлены следующие задачи:

1. Изучить содержание тяжелых металлов, пестицидов, радионуклидов в образцах верхних слоев почв и лекарственного растительного сырья горца птичьего и подорожника большого.
2. Исследовать взаимосвязи между концентрациями поллютантов в почве и в лекарственном растительном сырье, выявить аккумулирующие способности указанных растений по отношению к основным загрязнителям среды.
3. Провести фармакогностический анализ образцов лекарственных растений, отобранных в разных с экологической точки зрения местах,

15

предполагающий макро- и микроскопический анализ сырья, качественный и количественный анализ основных групп биологически активных веществ, а также выявить соответствие сырья требованиям нормативной документации.

4. Исследовать взаимосвязь между содержанием поллютантов и биологически активных веществ в отобранном лекарственном растительном сырье.

5. Выявить динамику накопления растениями основных поллютантов и биологически активных веществ в процессе их произрастания в различных с экологической точки зрения местах.

6. Изучить изменения содержания основных поллютантов и биологически активных веществ растениями, произрастающими в экологически отличающихся местах, заготовленными в разные годы. Модифицировать методику количественного анализа водорастворимых полисахаридов (ВРПС) в листьях подорожника большого с целью повышения ее экспрессности и простоты воспроизведения.

7. Выявить возможности требований действующей нормативной документации предотвращать использование в медицинской практике изучаемых видов лекарственного растительного сырья, собранного в экологически неблагоприятных районах, с вынесением рекомендаций по внесению изменений в случае необходимости.

Научная новизна работы. Впервые для города Воронежа и его окрестностей исследовано экологическое состояние лекарственного растительного сырья на примере горца птичьего и подорожника большого на предмет загрязнения тяжелыми металлами, пестицидами и радионуклидами, а также установлена взаимосвязь между содержанием поллютантов в почве и растениях. Для травы горца птичьего и листьев подорожника большого, собранных на стационарных участках, проведены фармакогностические исследования, позволившие дать рекомендации для усовершенствования контроля качества названного лекарственного растительного сырья с целью предотвращения использования в медицинской практике изучаемых видов лекарственного растительного сырья, собранного в экологически неблагоприятных районах. Выявлена динамика накопления поллютантов и биологически активных веществ в лекарственных растениях, произрастающих в экологически разных районах, исследована взаимосвязь между этими процессами. Для листьев подорожника большого предложена модифицированная методика количественного определения ВРПС, отличающаяся от ранее существующей экспрессностью, экономичностью, высокой воспроизводимостью и простотой. Новизна проведенных исследований подтверждается заявкой на изобретение № 2013110215 от 06.03.13 г.

Практическая значимость и внедрение результатов работы. Исследовано экологическое состояние верхних слоев почв и лекарственных растений (на примере горца птичьего и подорожника большого) в городе Воронеже и его окрестностях, что позволило выявить территории наиболее сильного антропогенного загрязнения и экологически благополучные, подходящие для заготовки растительного сырья, отвечающего всем требованиям нормативных документов по содержанию поллютантов и действующих веществ. Выявлены особенности микроскопических признаков сырья горца птичьего и подорожника большого, произрастающих в урбоусловиях, что позволяет определять экологическую чистоту мест заготовки поступающего на реализацию лекарственного растительного сырья. Модифицирована методика количественного

определения ВРПС в листьях подорожника большого, отличающаяся меньшими длительностью и затратами. Выявлена необходимость в уточнении и усовершенствовании фармакопейных статей на траву горца птичьего и листья подорожника большого в целях повышения эффективности и безопасности лечения препаратами растительного происхождения.

На основании проведенных исследований модифицированная методика количественного определения ВРПС внедрена в производственный процесс БУЗ «Центр контроля качества и сертификации лекарственных средств», в учебный процесс ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет», ГБОУ ВПО «Воронежская государственная медицинская академия им. Н.Н. Бурденко» Минздрава РФ, ГБОУ ВПО «Ярославская государственная медицинская академия» Минздрава РФ, ГОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия», ГБОУ ВПО «Омская государственная медицинская академия» Минздрава РФ.

Теоретическая значимость работы. Работа вносит вклад в природоохранное направление экологии, связанное с фармацевтически ценными ресурсами. В диссертации намечаются новые направления урбоэкологии и фармацевтической экологии. Оптимизируются методы мониторинга экологического состояния лекарственного растительного сырья в условиях антропогенного воздействия.

На защиту выносятся следующие положения:

1. Экологически неблагоприятными по содержанию тяжелых металлов являются 60 % отобранных образцов почв и 15 % лекарственного растительного сырья. Из солей тяжелых металлов, накапливающихся в почве, растениями наиболее активно накапливается ртуть, медь и кадмий, причем у подорожника большого аккумулятивная активность значительно выше, чем у горца птичьего.
2. Подорожник большой аккумулирует радионуклиды из почв эффективнее, чем горец птичий, при этом цезий-137 накапливается растениями в большей степени, чем стронций-90.
3. Микропризнаки лекарственного растительного сырья горца птичьего и подорожника большого зависят от условий их произрастания и фенологической фазы растения.
4. Динамика накопления действующих веществ растением зависит от экологических условий его произрастания и находится в обратной зависимости от концентрации поллютантов.
5. Усовершенствованная методика количественного определения ВРПС в листьях подорожника большого позволяет снизить время анализа более чем в два раза.

Личный вклад соискателя состоит в сборе материала, обобщении литературных сведений по теме, проведении всех серий научных экспериментов, самостоятельной обработке и интерпретации экспериментальных данных, подготовке всех публикаций по выполненной работе, выступлениях с результатами исследований на Международных научно-практических конференциях.

Абстракция материалов диссертации. Материалы диссертационных исследований докладывались и обсуждались на следующих конференциях: IV международной научно-практической конференции «Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии, медицине, фармакологии», Санкт-Петербург, 2012; III международной научно-практической

конференции «Постгеномные методы анализа в биологии, лабораторной и клинической медицине», Казань, 2012; V Международной научно-методической конференции «Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Создание новых физиологически активных веществ», Воронеж, 2013; II Международной научно-практической конференции «Проблемы и перспективы обеспечения комплексной безопасности личности и общества в условиях современности», Воронеж, 2013.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 17 научных работ, в том числе 5 публикаций в изданиях, рекомендованных перечнем ВАК РФ.

Структура и объем диссертации. Диссертация включает введение, пять глав, заключение, выводы, список литературы и приложения. Она изложена на 159 страницах машинописного текста, содержит 6 рисунков, 28 таблиц. Список литературы включает 313 источников, из них 63 на иностранных языках. Общий объем работы с приложениями составляет 205 страниц.

Благодарности. Автор выражает искреннюю благодарность научным руководителям – доктору биологических наук, профессору Сергею Петровичу Гапонову и доктору фармацевтических наук, профессору Алексею Ивановичу Сливкину, а также доктору биологических наук, профессору Людмиле Николаевне Хицовой за советы и критические замечания в ходе написания работы.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность исследования, изложены научная новизна, практическая и теоретическая значимость, определены цели и задачи работы.

Глава 1. Обзор литературы

1.1. Общая характеристика объектов исследования

Объектами исследования были выбраны *Polygonum aviculare* L. и *Plantago major* L., являющиеся лекарственными растениями, произрастающими как в естественных растительных сообществах, так и в урбоусловиях.

1.1.1. Характеристика *Polygonum aviculare* L.

На основе литературных сведений дана общая характеристика одного из объектов исследования – *Polygonum aviculare* L. Рассмотрены морфологические и экологические особенности растения, его химический состав и фармакологические свойства.

1.1.2. Характеристика *Plantago major* L.

Приведена общая характеристика второго объекта исследования – *Plantago major* L. Представлены основные морфологические, экологические признаки растения, а также особенности химического состава и фармакологических свойств производимого из него сырья.

1.2. Загрязнение верхних слоев почв и лекарственного растительного сырья наиболее опасными поллютантами

Наиболее опасными загрязнителями биосферы в настоящее время считаются тяжелые металлы, пестициды и радионуклиды в силу их способности к миграции по био-

логическим цепям (биогенным миграциям) (Гравель И.В., 2008; Терешкина О.И., Рудакова И.П., Самылина И.А., 2011; Терешкина О.И. 2012).

1.2.1. Загрязнение верхних слоев почв и лекарственного растительного сырья тяжелыми металлами

Проведенный анализ научной литературы позволил обобщить сведения об источниках загрязнения лекарственного растительного сырья тяжелыми металлами, механизмах токсического действия элементов и детоксикации растительных организмов, различиях их в способности накапливать поллютанты из почв и воздушной среды. Дана характеристика девяти наиболее токсичных элементов: свинца, ртути, кадмия, мышьяка, никеля, кобальта, меди, цинка, хрома с точки зрения их негативного влияния на растительные организмы и организм человека.

1.2.2. Загрязнение верхних слоев почв и лекарственного растительного сырья пестицидами

Согласно литературным данным, в настоящее время из пестицидов в почве и растениях чаще всего обнаруживаются и нормируются гексахлорциклогексан (ГХЦГ) и его изомеры, трихлорметилди(п-хлорфенил)метан (ДДТ) и его метаболиты (Бубенчиков А.А., Банченко Е.Е., 1995). Описаны основные экологические и токсические для растений и человека свойства указанных поллютантов.

1.2.3. Загрязнение верхних слоев почв и лекарственного растительного сырья радионуклидами

В соответствии с ОФС 42-0011-03 «Определение содержания радионуклидов в лекарственном растительном сырье. Стронций-90 и цезий-137. Отбор проб, анализ и оценка результатов» в лекарственном растительном сырье нормируется содержание радионуклидов техногенного происхождения, в первую очередь стронция-90 и цезия-137. На основе литературных данных показана экологическая и токсикологическая характеристика указанных радионуклидов.

Глава 2. Характеристика мест отбора образцов почв и лекарственного растительного сырья в городе Воронеже и его окрестностях

Дана характеристика десяти точек города Воронежа и его окрестностей, в которых были отобраны образцы верхних слоев почв и лекарственного растительного сырья (рис. 1). Выбор исследуемых районов обусловлен характером специфического антропогенного воздействия на него: химическое предприятие ОАО «Воронежсинтезкаучук», теплоэлектроцентраль (ТЭЦ) «ВОГРЭС», Нововоронежская атомная электростанция (АЭС), железнодорожные пути сообщения, аэропорт «Чертовицкое», трасса М4, улица города (улица Димитрова), высоковольтные линии электропередач (ВЛЭ), водохранилище города и в качестве сравнения – заповедная зона (Воронежский биосферный заповедник). Каждая анализируемая точка подвержена определяющему влиянию одного объекта хозяйственного пользования, причем перекрестное влияние на другие исследуемые районы практически исключено, так как все территории находятся на значительном удалении друг от друга.

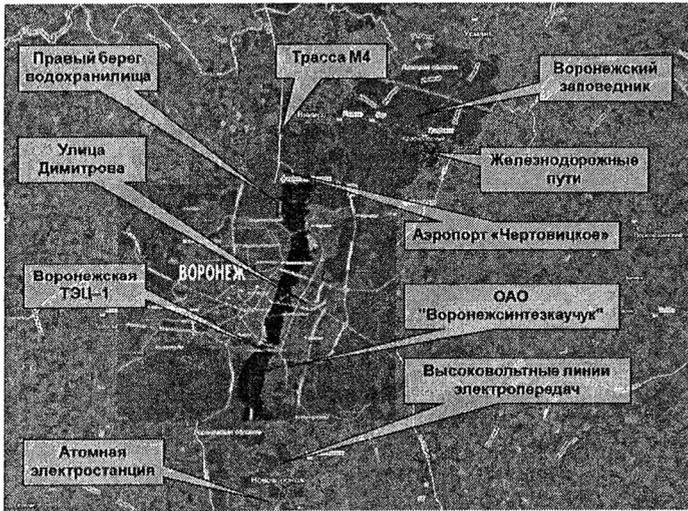


Рис. 1. Карта-схема города Воронежа и его окрестностей с указанием мест отбора образцов

Глава 3. Объекты и методы исследований

Заготавливали траву горца птичьего и листья подорожника большого в фазу цветения согласно требованиям Государственной фармакопеи (ГФ) XI. Для изучения зависимости накопления поллютантов лекарственным растительным сырьем из почвы проводили отбор проб верхних слоев почв (глубиной 1-10 см) на каждой исследуемой территории.

Для изучения динамики накопления поллютантов и биологически активных веществ были также отобраны образцы лекарственного растительного сырья в различные фенологические фазы исследуемых растений. Сбор материала проводили с середины мая до середины августа (интервалом в один месяц) на трех анализируемых территориях, различных с экологической точки зрения: заповедная зона (экологически чистая территория, выбранная в качестве контроля), улица города (территория, подвергающаяся умеренному антропогенному воздействию), трасса М4 (территория, подвергающаяся сильному антропогенному воздействию). Для изучения изменений содержания поллютантов и биологически активных веществ были рассмотрены результаты определений для образцов, заготавливаемых в течение трех лет.

Сушку, хранение и отбор проб проводили в соответствии с ГФ XI.

Определение потери в массе при высушивании, общей золы и золы, нерастворимой в 10 % растворе кислоты хлористоводородной, проводили по методикам ГФ XI. Валовое содержание тяжелых металлов в верхних горизонтах почв и в лекарственных растениях определяли методом атомно-абсорбционной спектроскопии на приборе «ААС Квант-2А» по стандартным методикам. Определение хлорорганических пестицидов проводили на газовом хроматографе «Цвет 500М». Измерение активности радионуклидов в изучаемых образцах

выполняли на комплексном универсальном спектрометре УСК «Гамма-Плюс» с использованием программного обеспечения «Прогресс».

Микроскопические исследования препаратов образцов лекарственного растительного сырья проводили с использованием микроскопа с видеорегистратором «Биомед – 6» (увеличения 10x10; 40x10). Фотографировали образцы с помощью камеры Webbers 130M. Размеры микропризнаков изучали с помощью окуляра с микролинейкой. Качественный анализ биологически активных в извлечениях из травы горца птичьего и листьев подорожника большого проводили по стандартным методикам химического анализа, а также физико-химическими методами (тонкоелойная хроматография).

Определение количественного содержания флавоноидов в пересчете на авикулярин проводили методом спектрофотометрии на спектрофотометре HitachiU-1900 при длине волны 410 ± 2 нм по методике ГФ XI.

Существующая методика количественного определения ВРПС в листьях подорожника большого, представленная в ГФ XI и в фармакопейных статьях предприятий, длительна и требует выполнения большого числа технологических операций, оборудования, посуды, что указывает на необходимость усовершенствования методики. В связи с этим была модифицирована методика количественного определения ВРПС в листьях подорожника большого (пункт 5.2).

Глава 4. Результаты исследований по загрязнению образцов почв и лекарственного растительного сырья поллютантами и их обсуждение

4.1. Результаты исследований по загрязнению почв и лекарственного растительного сырья тяжелыми металлами в городе Воронеже и его окрестностях

Полученные результаты определения содержания тяжелых металлов в верхних слоях почв позволили выделить лишь 40 % экологически благополучных территорий из исследуемых районов города Воронежа и его окрестностей: заповедная зона, вблизи ОАО «Воронежсинтезкаучук», Нововоронежской АЭС и вдоль водохранилища. Превышение предельно допустимых концентраций тяжелых металлов в лекарственном растительном сырье наблюдалось лишь в образце травы горца птичьего, собранного вблизи аэропорта (количество свинца превышено почти в два раза), и в образцах листьев подорожника большого, собранных вблизи аэропорта (превышено содержание свинца) и ТЭЦ (превышено содержание мышьяка). При этом растительное сырье, собранное на улице города, вдоль автомобильной трассы, вблизи ТЭЦ и аэропорта, не соответствует требованиям по показателю «общая зола», что говорит о высокой запыленности территорий.

Рассчитанные коэффициенты корреляции Спирмена показали, что аккумулярующие способности подорожника большого значительно выше, чем горца птичьего, при этом тесная взаимосвязь между концентрациями элемента в почве и лекарственном растительном сырье характерна для таких металлов, как ртуть, медь и кадмий (табл. 1). Полученные расчетные данные позволяют также предположить, что загрязнение растений тяжелыми металлами происходит в значительной степени воздушным путем, что особенно выражено для свинца, цинка, хрома, кобальта, никеля, мышьяка.

Таблица 1

Коэффициенты ранговой корреляции концентраций тяжелых металлов в верхних слоях почв и лекарственном растительном сырье

Вид лекарственного растительного сырья	Pb	Hg	Zn	Cu	Cr	Ni	Cd	Co	As
Трава горца птичьего	0,31	0,62	-0,16	-0,10	-0,02	-0,27	0,19	0,07	0,38
Листья подорожника большого	0,53	0,74	0,41	0,62	-0,04	0,16	0,67	0,41	0,38

При изучении динамики накопления тяжелых металлов в процессе произрастания растений было установлено, что сырье обоих видов, собранное в заповедной зоне, удовлетворяет требованиям нормативной документации в течение всего рассматриваемого периода. Сырье же, собранное на улице города, стало неудовлетворительным по качеству к периоду плодоношения (август) по содержанию общей золы. Растения, собранные вдоль автомобильной трассы, не соответствовали требованиям нормативной документации уже к периоду цветения (июль) по показателю общая зола, а к периоду плодоношения (август) еще и по содержанию мышьяка, что указывает на высокую загрязненность территории. Средние темпы прироста содержания тяжелых металлов и общей золы в образцах лекарственных растений, собранных в заповедной зоне, почти в 2 раза ниже, чем для сырья, отобранного на улице города, и больше, чем в 2,5 раза ниже, чем для образцов, произрастающих вблизи автомобильной трассы. Изучаемые растения наиболее высокими темпами аккумулируют никель, кобальт и хром.

Среднегодовые изменения содержания тяжелых металлов в лекарственном растительном сырье не превышают $\pm 5\%$, что сопоставимо с ошибкой эксперимента и позволяет судить об устойчивости изучаемых биотопов. Однако более 60 % всех рассчитанных значений величины прироста концентрации тяжелых металлов в анализируемом сырье имеют положительные значения, причем наибольшее количество положительных приростов концентраций тяжелых металлов наблюдается для лекарственного сырья, собранного вдоль автомобильной трассы М4 (78 % рассчитанных значений). Таким образом, видна тенденция к увеличению антропогенного загрязнения этой территории и произрастающих на ней растений, что, вероятно, связано с увеличением загрязненности автомагистралей.

4.2. Результаты исследований по загрязнению почв и лекарственного растительного сырья пестицидами в городе Воронеже и его окрестностях

Полученные результаты определения хлорорганических пестицидов в образцах позволили судить о полном экологическом благополучии исследуемых территорий города Воронежа и его окрестностей, а также произрастающего на них лекарственного растительного сырья по отношению к загрязнению данными поллютантами: содержание α, β, γ -изомеров ГХЦГ составляло для всех образцов менее 0,001 мг/кг, а для ДДТ и его метаболитов – менее 0,007 мг/кг, что соответствует порогу чувствительности газового хроматографа «Цвет 500М».

4.3. Результаты исследований по загрязнению почв и лекарственного растительного сырья радионуклидами в городе Воронеже и его окрестностях

Полученные результаты определения удельных активностей радионуклидов в образцах лекарственного растительного сырья и верхних слоев почв позволили судить о радиационной безопасности изучаемых объектов и территорий их отбора: превышения предельно допустимых концентраций цезия-137 и стронция-90 не отмечено (табл. 2, 3). Можно выделить территории, верхние слои почвы и лекарственное растительное сырье которых содержат наиболее высокую радиоактивность: вблизи Нововоронежской АЭС, вдоль линий электропередач (10 км от Нововоронежа), район ТЭЦ. Активность радионуклидов в образцах, отобранных вблизи АЭС, повышена в связи с использованием радиоактивного топлива на электростанции, однако, удельная активность для лекарственного растительного сырья почти в 20 раз меньше ПДК, что свидетельствует об эффективности обезвреживания радиоактивных отходов на предприятии.

Таблица 2

Активность цезия-137 в отобранных образцах, Бк/кг

Место отбора образцов	Верхние слои почв	Трава горца птичьего	Листья подорожника большого
Заповедная зона	7,2±2,6	4,7±2,3	3,2±1,8
Вдоль железнодорожных путей	15,9±5,0	9,7±3,4	10,4±4,7
Улица города	17,8±6,3	10,3±3,6	11,3±4,6
Вдоль автомобильной трассы	20,5±4,0	10,9±4,7	12,4±5,0
Вблизи ТЭЦ	28,9±8,9	15,3±5,4	17,6±5,6
Аэропорт	25,2±9,6	16,6±6,0	16,3±6,5
Вблизи ОАО "Воронежсинтезкаучук"	18,5±7,4	12,5±5,7	13,7±5,9
Вблизи Нововоронежской АЭС	31,8±9,6	13,6±6,8	18,6±6,3
Вдоль водохранилища	10,7±4,9	8,7±4,5	8,4±4,8
Вдоль ВЛЭ	32,8±8,9	13,2±6,1	17,2±6,0

Таблица 3

Активность стронция-90 в отобранных образцах, Бк/кг

Место отбора образцов	Верхние слои почв	Трава горца птичьего	Листья подорожника большого
Заповедная зона	6,8±3,6	3,5±2,1	1,7±1,2
Вдоль железнодорожных путей	8,8±4,1	6,4±2,8	7,4±4,3
Улица города	15,9±4,6	5,8±2,9	8,1±3,8
Вдоль автомобильной трассы	18,6±6,9	8,6±4,0	9,0±5,1
Вблизи ТЭЦ	20,6±6,8	9,7±4,1	10,3±5,4
Аэропорт	19,8±7,9	8,7±5,9	9,1±5,9
Вблизи ОАО "Воронежсинтезкаучук"	16,3±4,9	8,9±5,6	8,9±5,0
Вблизи Нововоронежской АЭС	21,4±6,8	9,6±6,0	11,3±6,0
Вдоль водохранилища	14,7±5,8	4,2±3,9	5,4±3,5
Вдоль ВЛЭ	29,8±9,0	8,4±5,8	8,3±6,8

Высокие значения активности стронция-90 и цезия-137 в растениях, собранных вдоль высоковольтной линии электропередачи, обусловлены тем, что исследуемая территория находится на расстоянии 10 километров от АЭС (ближе всего из рассматриваемых территорий). Высокую радиоактивность сырья, собранного вблизи ТЭЦ, предположительно можно объяснить наличием локального радиационного «пятна», образование которого связано с высокой вероятностью выпадения радиоактивных осадков вблизи большого водоёма - Воронежского водохранилища, на левом берегу которого находится и данное предприятие, и АЭС.

Рассчитанные коэффициенты накопления (КН) радионуклидов травой горца птичьего и листьями подорожника большого из почв показали большую аккумулирующую способность растений в отношении цезия-137, при этом подорожник большой накапливает в своей наземной части цезий-137 и стронций-90 на 10 и 5 % соответственно эффективнее, чем горец птичий (табл. 4).

Таблица 4

Средние коэффициенты накопления радионуклидов изучаемыми растениями

Лекарственное растительное сырье	КН _{цезий-137}	КН _{стронций-90}
Трава горца птичьего	57,21	45,42
Листья подорожника большого	62,27	47,64

Рассчитанные коэффициенты Спирмена показали тесную корреляционную связь между концентрациями радионуклидов в верхних слоях почв и лекарственном сырье, что указывает на высокую способность растений накапливать в себе радионуклиды, содержащиеся в почве. При этом расчеты вновь подтвердили, что у подорожника большого аккумулирующая способность в отношении радионуклидов выше, чем у горца птичьего, а цезий-137 накапливается в лекарственных растениях почти на 20 % интенсивнее, чем стронций-90 (табл. 5).

Таблица 5

Коэффициенты ранговой корреляции концентраций радионуклидов в верхних слоях почв и лекарственном растительном сырье

Лекарственное растительное сырье	Cs-137	Sr-90
Трава горца птичьего	0,87	0,73
Листья подорожника большого	0,95	0,81

Рассчитанные суммы показателя соответствия радиационной безопасности и погрешности его определения для лекарственного растительного сырья не превышали единицы, что свидетельствует о безусловном соответствии всех отобранных образцов травы горца птичьего и листьев подорожника большого критерию радиационной безопасности.

Глава 5. Результаты фармакогностических исследований и их обсуждение

5.1. Фармакогностический анализ сырья горца птичьего, собранного на исследуемых территориях города Воронежа и его окрестностей

На основании изучения внешних признаков травы горца птичьего, произрастающего в различных экологических условиях, предложено внести дополнения в фармакопейную статью на данный вид сырья.

Подробно изучены микроскопические признаки травы горца птичьего разных мест произрастания и фенологических фаз растения. Проведенные микроскопические исследования позволяют рекомендовать для использования в медицинской практике сырье без видимых утолщений клеток эпидермиса листа и с количеством устьиц на нижней стороне его не более 180 на 1 см², что является диагностическими признаками экологически благополучных условий произрастания горца птичьего. Особо отличались образцы, собранные вблизи ВЛЭ, количество друз оксалата кальция в которых резко снижено, что говорит об угнетающем влиянии сильного электромагнитного поля на растительные организмы.

Проведенные исследования качественного состава основных групп биологически активных веществ показали, что подавления их синтеза даже в районах, испытывающих высокую антропогенную нагрузку, не происходит. Для качественного анализа флавоноидов горца птичьего подобрана оптимальная система для хроматографического разделения (этилацетат : уксусная кислота : вода (10:4:1)) на пластинке «Сорбфил». После обработки хроматограммы 5 % спиртовым раствором алюминия хлорида в спиртовом извлечении из травы горца птичьего (на 70 % спирте этиловом) наблюдалось пятно коричневого цвета на уровне пятна ГСО рутина ($R_f \approx 0,58$).

Полученные результаты количественного анализа травы горца птичьего из разных мест заготовки показывают, что в отобранных образцах содержание суммы флавоноидов в пересчете на авикулярин колеблется в диапазоне от 0,54 % до 1,81 % (рис. 2).

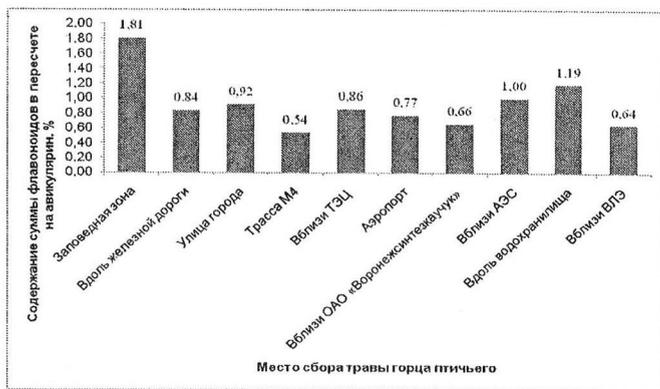


Рис. 2. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на авикулярин в отобранных образцах травы горца птичьего

Ввиду того, что для лекарственного растительного сырья горца птичьего, собранного в экологически чистых районах и даже в районах, подвергшихся антропогенному воздействию, показатель количественного содержания действующих веществ значительно превышает установленный нормативной документацией, целесообразно изменить числовой показатель «суммы флавоноидов в пересчете на авикулярин не менее 0,5 %» на «суммы флавоноидов в пересчете на авикулярин и абсолютно сухое сырье не менее 1,0 %». Это позволит

повысить эффективность и безопасность на стадии контроля качества поступившего лекарственного растительного сырья и избежать реализации населению растений, собранных в экологически неблагоприятных районах.

Анализ зависимости содержания суммы флавоноидов от загрязнения лекарственных растений тяжелыми металлами с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена показал ингибирующее влияние всех рассматриваемых элементов на биосинтетические процессы (табл. 6).

Таблица 6

Коэффициенты ранговой корреляции содержания тяжелых металлов и флавоноидов в пересчете на авикулярин в траве горца птичьего

Металл	Pb	Hg	Zn	Cu	Cr	Ni	Cd	Co	As
Коэффициент Спирмена	-0,44	-0,34	-0,53	-0,64	-0,42	-0,19	-0,59	-0,31	-0,20

Наиболее тесная корреляционная зависимость продукции флавоноидов в траве горца птичьего наблюдалась с такими металлами, как медь, кадмий и цинк: чем выше их концентрация в растении, тем меньше обнаружено авикулярина.

Изучение динамики накопления суммы флавоноидов в траве горца птичьего показало, что сырье, собранное в заповедной зоне и на улице города, соответствует существующим требованиям нормативной документации по количественному содержанию действующих веществ в течение всего изучаемого периода произрастания, а сырье, собранное вдоль автомобильной трассы, становится неудовлетворительным по данному параметру лишь к фазе плодоношения (рис. 3).

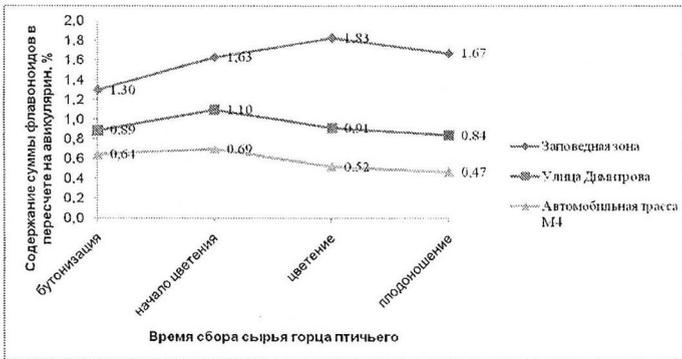


Рис. 3. Динамика изменения содержания суммы флавоноидов в пересчете на авикулярин в траве горца птичьего в различные фенологические фазы

В горце птичьем, собранном в заповедной зоне, наблюдается постепенное увеличение содержания суммы флавоноидов от периода бутонизации до цветения, а максимальное содержание действующих веществ отмечается в период цветения (что полностью соответствует рекомендациям заготовки травы горца птичьего), после чего происходит уменьшение содержания суммы флавоноидов. В сырье, отбираемом с территорий, испытывающих антропогенную нагрузку, максимальное количество биологически активных веществ отмечено в период начала цветения,

после чего регистрировалось снижение содержания суммы флавоноидов. Наиболее интенсивное снижение темпов прироста суммы флавоноидов в изучаемых образцах наблюдается в сырье, собранном вдоль автомобильной трассы, о чем свидетельствуют рассчитанные отрицательные значения среднего прироста их содержания.

Колебания содержания суммы флавоноидов в траве горца птичьего, заготавливаемого в разные годы, в среднем не превышают $\pm 5\%$, что позволяет судить об устойчивости изучаемых биотопов. Выделяются лишь образцы, собранные вдоль автомобильной трассы, изменения содержания флавоноидов которых четко отрицательны, что строго коррелирует с изменением содержания токсичных элементов.

5.2. Фармакогностический анализ сырья подорожника большого, собранного на исследуемых территориях города Воронежа и его окрестностей

Макроскопический и микроскопический анализ всех отобранных образцов листьев подорожника большого не выявил их несоответствия требованиям нормативной документации. Однако более углубленное изучение микропризнаков листьев растения позволило дополнить их фармакопейное описание. Проанализировав данные, полученные для образцов, отобранных в различных экологической точки зрения районах, можно рекомендовать к применению в медицинской практике сырье, у которого количество устьиц на нижней стороне листа не более 250, а количество головчатых волосков более 35 на 1 см^2 , а на верхней стороне – устьиц не более 150, а головчатых волосков более 16 на 1 см^2 , без видимых утолщений стенок клеток эпидермиса, что является диагностическими признаками подорожника большого, произрастающего в экологически благоприятных районах. Особого внимания заслуживают образцы, собранные вблизи ВЛЭ, для которых характерно сниженное количество головчатых волосков на обеих сторонах листа. Вероятной причиной может являться действие возникающих в резко неоднородном электрическом поле коронных разрядов, которые, на макроскопическом уровне приводят к повреждению выступающих частей растений. Развитие головчатых волосков, являющихся выступающими частями листа на микроскопическом уровне, возможно, также подавляется токами короны высокой плотности. Вероятно, тепло, выделяемое при этом на сопротивлении ткани листа, приводит к гибели узкого слоя клеток, которые сравнительно быстро теряют воду, высыхают и сжимаются, в результате чего головчатые волоски не развиваются.

Качественный анализ отобранного сырья показал, что антропогенное влияние в городе Воронеже и его окрестностях не подавляет синтез биологически активных веществ в лекарственном растительном сырье.

Существующая методика количественного определения ВРПС в листьях подорожника большого, представленная в ГФ XI и в фармакопейных статьях предприятий, требует выполнения большого числа технологических операций. Опытным путем доказано, что одно количественное определение занимает не менее четырех часов, что также указывает на необходимость усовершенствования методики. Методика количественного определения ВРПС в листьях подорожника большого была модифицирована и свелась к следующему. Аналитическую пробу сырья измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром 1 мм. Около 10 г (точная навеска) измельченного сырья помещали в колбу вместимостью

500 мл, прибавляли 200 мл воды очищенной, нагретой до температуры кипения. Колбу помещали в ультразвуковую ванну с частотой 35 КГц, при температуре 80°C, экстрагировали 20 минут. Экстракцию повторяли ещё 2 раза, прибавляя сначала 200 мл, а затем 100 мл воды. Водные извлечения объединяли и фильтровали в мерную колбу вместимостью 500 мл через 10 слоев марли, вложенной в стеклянную воронку диаметром 5 см и предварительно промытой водой очищенной. Фильтр промывали водой и доводили объём раствора до метки (раствор А). 25 мл раствора А помещали в коническую колбу на 100 мл, прибавляли 75 мл 95 % спирта этилового, перемешивали, подогревали на водяной бане до 30 °С в течение 5 мин. Через 30 минут содержимое колбы фильтровали через предварительно высушенный и взвешенный беззолный бумажный фильтр, проложенный в стеклянный фильтр ПОР 16 с диаметром 40 мм, под вакуумом при остаточном давлении 0,4-0,8 атм. Осадок на фильтре последовательно промывали 15 мл раствора 95 % спирта этилового в воде очищенной (3:1), 10 мл смеси этилацетата и 95 % спирта этилового (1:1). Фильтр с осадком высушивали сначала на воздухе, затем при температуре 100-105°C до постоянной массы. Содержание ВРПС в пересчёте на абсолютно сухое сырьё вычисляли по формуле:

$$X = \frac{(m_2 - m_1) \cdot 200000}{m \cdot (100 - W)}, \text{ где}$$

m_1 — масса высушенного фильтра, г;

m_2 — масса высушенного фильтра с осадком, г;

m — навеска сырья, г;

W — потеря в массе сырья при высушивании, %.

Предложенная методика позволяет интенсифицировать процесс извлечения ВРПС из сырья и снизить время, расходуемое на него, с 4 до 2 часов за счет использования ультразвуковой ванны. При доверительной вероятности 95 % относительная ошибка метода составляет 1,49 %. Валидация методики проведена по прецизионности (повторяемости), специфичности, правильности (точности) и линейности. Результаты исследования нашли отражение в заявке на изобретение № 2013110215 от 06.03.13 г., которая получила положительное решение по формальной экспертизе. Результаты научно-исследовательской работы имеют один акт о внедрении в производственный и пять актов о внедрении в учебные процессы.

Полученные результаты показывают, что в отобранных образцах содержание ВРПС колеблется в диапазоне от 12,34 % до 24,05 %, т. е. все образцы листьев подорожника большого удовлетворяют требованиям ГФ XI (рис. 4). Максимальное количество действующих веществ накопилось в лекарственном растительном сырье, собранном в заповедной зоне, вдоль правого берега Воронежского водохранилища (более 20 %). Минимальное количество ВРПС в листьях подорожника большого обнаружено в образцах, произрастающих вдоль автомобильной трассы, вблизи аэропорта (менее 14 %), а также вдоль высоковольтных линий электропередач, на улице города, вдоль железнодорожных путей (менее 18 %), то есть на территориях, подверженных сильному антропогенному воздействию. Поэтому рациональным является рассмотрение вопроса об изменении установленного ранее числового показателя листьев подорожника большого «полисахаридов не менее 12 %» на «полисахаридов не менее 20 % в пересчете на абсолютно сухое сырьё».



Рис. 4. Содержание ВРПС в отобранных образцах листьев подорожника большого

Рассчитанные коэффициенты корреляции между содержанием тяжелых металлов и ВРПС в листьях подорожника большого для восьми из девяти элементов отрицательны, что говорит об угнетении тяжелыми металлами синтеза ВРПС (табл. 7). Наиболее сильное угнетающее действие на биосинтез полисахаридов отмечено для хрома, никеля и мышьяка.

Таблица 7

Коэффициенты ранговой корреляции содержания тяжелых металлов и ВРПС в листьях подорожника большого

Металл	Pb	Hg	Zn	Cu	Cr	Ni	Cd	Co	As
Коэффициент Спирмена	-0,38	-0,08	0,03	-0,18	-0,62	-0,55	-0,32	-0,43	-0,55

Изучение динамики накопления действующих веществ в листьях подорожника большого дало результаты, аналогичные полученным для травы горца птичьего: для сырья, собранного в заповедной зоне, наблюдается постепенное увеличение содержания ВРПС от периода бутонизации до цветения, максимальное содержание наблюдается в период цветения, после чего происходит уменьшение содержания ВРПС, а для сырья, отбираемого с территорий, испытывающих антропогенную нагрузку, максимальное количество ВРПС содержится в листьях в период начала цветения, после чего отмечается некоторое снижение концентрации действующего вещества (рис. 5). Наиболее интенсивное снижение темпов прироста содержания ВРПС в изучаемых образцах наблюдается для сырья, собранного вдоль автомобильной трассы, о чем свидетельствуют отрицательные значения среднего прироста их содержания. Кроме того, к фазе плодоношения эти листья перестают удовлетворять требованиям нормативной документации по численному содержанию действующих веществ. Объяснить это можно двумя причинами. Во-первых, в процессе произрастания происходит постепенное накопление тяжелых металлов, тормозящих биосинтетические процессы в растительном организме, а накопленные к тому моменту органические вещества используются растением на обеспечение собственных физиологических потребностей. Во-вторых, для растений, испытывающих антропогенную нагрузку,

раньше, чем для сырья из заповедной зоны, наблюдаются процессы увядания, также стимулируемые поллютантами.

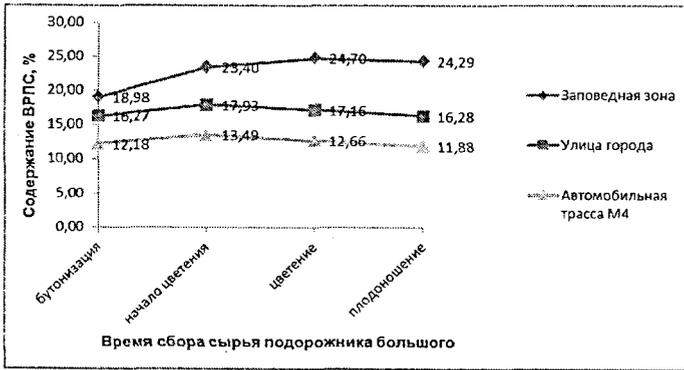


Рис. 5. Динамика изменения содержания ВРПС в листьях подорожника большого в различные фенологические фазы

При изучении изменений содержания ВРПС в листьях подорожника большого, заготавливаемого в разные годы, получены результаты, укладывающиеся в диапазон ± 2 %, хотя соответствующие расчеты изменений содержания тяжелых металлов показывали более значительные приросты концентраций в лекарственном растительном сырье токсичных элементов, особенно растений такого места сбора, как автомобильная трасса. Это указывает на экологическую приспособленность подорожника большого к антропогенному воздействию.

Выводы

1. Наиболее неблагоприятными районами по загрязненности тяжелыми металлами верхних слоев почв и сырья горца птичьего и подорожника большого являются территории вблизи аэропорта и теплоэлектроцентрали. К наиболее загрязненным зонам, где лекарственные растения не удовлетворяют требованиям нормативной документации по показателю общая зола, относятся так же территории вблизи автомобильной трассы и улица города. На основании результатов исследования на содержания пестицидов и радионуклидов в почвах и лекарственном растительном сырье горца птичьего и подорожника большого в городе Воронеже и его окрестностях район признан экологически благополучным.
2. Листья подорожника большого аккумулируют в себе тяжелые металлы из почвы эффективнее, чем трава горца птичьего, наиболее четкая корреляционная связь установлена в таких металлов, как ртуть, медь и кадмий. Цезий-137 накапливается растениями из почвы эффективнее, чем стронций-90, при этом листья подорожника большого проявляют большие аккумулирующие способности в отношении радионуклидов, чем горец птичий.
3. Макро- и микроскопический анализ, а также качественный и количественный анализ основных групп биологически активных веществ показал полное соответствие всех отобранных образцов сырья действующим требованиям

нормативной документации. Выявлены микроскопические особенности горца птичьего и подорожника большого, произрастающих в различных с экологической точки зрения районах, которые позволяют предложить расчет количества устьиц и других микропризнаков сырья для диагностики мест его сбора.

4. Содержание флавоноидов травы горца птичьего и ВРПС листьев подорожника большого находится в тесной отрицательной взаимосвязи с содержанием тяжелых металлов, причем особенно сильное угнетающее действие на биосинтез флавоноидов оказывает цинк, медь и кадмий, а на биосинтез ВРПС - хром, никель и мышьяк.

5. Средняя скорость прироста концентраций тяжелых металлов изучаемыми растениями в заповеднике (контроль) почти в 2 раза ниже, чем у растений улицы города, и в 2,5 раза ниже, чем для растений, произрастающих вблизи автомобильной трассы. Средние же значения приростов концентраций флавоноидов в траве горца птичьего и ВРПС в листьях подорожника большого для объектов, собранных в заповеднике, положительны. Для растений, собранных в городе, средние значения градиентов концентраций биологически активных веществ равны нулю, а для сырья, произрастающего вдоль автомобильной трассы, - отрицательны, что указывает на преобладание подавления биосинтетических процессов под действием антропогенного влияния.

6. Изменения содержания поллютантов и действующих веществ в сырье горца птичьего и подорожника большого, заготовленных в разные годы, в среднем не превышают 5 %, что позволяет говорить об относительно стабильной экологической обстановке в городе Воронеже и его окрестностях. При этом изученные изменения содержания ВРПС в листьях подорожника большого не превышают 2 %, что указывает на экологическую приспособленность подорожника большого к антропогенному воздействию.

7. Модифицированная методика гравиметрического определения ВРПС в листьях подорожника большого позволяет интенсифицировать процесс количественного определения и снизить время, расходуемое на него, с 4 до 2 часов (заявка на изобретение № 2013110215 от 06.03.13 г.). Относительная ошибка предлагаемой методики при доверительной вероятности 95 % составляет 1,49 %.

8. Показана целесообразность внесения изменений в нормативные документы на траву горца птичьего в разделах «внешние признаки», «микроскопия» и «числовые показатели» и на листья подорожника большого в разделах «микроскопия», «числовые показатели» и «количественное определение» с целью повышения эффективности и безопасности лекарственного растительного сырья на стадии контроля качества и предотвращения реализации населению сырья, собранного в экологически неблагоприятных районах.

Основные положения диссертации отражены в следующих работах:

Работы, опубликованные в изданиях, рекомендованных перечнем ВАК РФ:

1. Великанова, Н.А. Анализ экологического состояния почв и оценка поглощения тяжелых металлов лекарственными растениями (горцем птичьим и подорожником большим) в городе Воронеже и его окрестностях / Н.А. Великанова, С.П. Гапонов, А.И. Сливкин // Экология урбанизированных территорий. – 2012. - №4. – С. 102-106.

2. **Великанова, Н.А.** Оценка экологического состояния почв и лекарственного растительного сырья (травы горца птичьего и листьев подорожника большого) по содержанию тяжелых металлов в городе Воронеже и его окрестностях / **Н.А. Великанова, С.П. Гапонов, А.И. Сливкин** // Вестник ВГУ. Серия: Химия, Биология, Фармация. – 2012. - №2. – С. 238-244.

3. **Великанова, Н.А.** Изучение динамики накопления тяжелых металлов травой горца птичьего и листьями подорожника большого в процессе вегетации в городе Воронеже и его окрестностях / **Н.А. Великанова, С.П. Гапонов, А.И. Сливкин** // Современные проблемы науки и образования. – 2012. – № 5; URL: <http://www.science-education.ru/105-7235>.

4. **Великанова, Н.А.** Изучение микроскопических особенностей травы горца птичьего, собранной в городе Воронеже и его окрестностях / **Н.А. Великанова, С.П. Гапонов, А.И. Сливкин** // Вестник ВГУ. Серия: Химия, Биология, Фармация. – 2013. - № 1. – С. 86-91.

5. **Великанова, Н.А.** Изучение накопления флавоноидов травой горца птичьего, собранного в разных с экологической точки зрения районах города Воронежа и его окрестностей / **Н.А. Великанова, А.И. Сливкин, С.П. Гапонов** // Вестник ВГУ. Серия: Химия, Биология, Фармация. – 2013. - № 1. – С. 181-185.

Другие публикации:

6. **Великанова, Н.А.** Изучение влияния экологических факторов на химический состав *Polygonum aviculare* и *Plantago major* в городе Воронеже и его окрестностях / **Н.А. Великанова** // Постгеномные методы анализа в биологии, лабораторной и клинической медицине: сборник тезисов III международной научно-практической конференции, Казань, 22-24 ноября 2012 г. – Казань, 2012. – С. 239-240.

7. **Великанова, Н.А.** Анализ качества лекарственного растительного сырья в городе Воронеже и его окрестностях / **Н.А. Великанова, С.П. Гапонов, А.И. Сливкин** // Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине: сборник трудов четвертой международной научно-практической конференции, Санкт-Петербург, 15-16 ноября 2012 г. – Санкт-Петербург, 2012. –Т.2. – С. 27-28.

8. **Великанова, Н.А.** Изучение влияния электромагнитного поля на качество лекарственного растительного сырья на примере травы горца птичьего и листьев подорожника большого / **Н.А. Великанова** // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Создание новых физиологически активных веществ: Материалы 5-й Международной научно-методической конференции «Фармообразование-2013», Воронеж, 16-18 апреля 2013г. – Воронеж, 2013. - С. 213-216.

9. **Великанова, Н.А.** Усовершенствование методики количественного определения водорастворимых полисахаридов в листьях подорожника большого / **Н.А. Великанова [и др.]** // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Создание новых физиологически активных веществ: Материалы 5-й Международной научно-методической конференции «Фармообразование-2013», Воронеж, 16-18 апреля 2013 г. – Воронеж, 2013. - С. 216-220.

10. **Гапонов, С.П.** Экологическая оценка состояния почв и лекарственного растительного сырья в городе Воронеже и его окрестностях в отношении загрязнения пестицидами / **С.П. Гапонов, А.И. Сливкин, Н.А. Великанова** // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Создание новых

физиологически активных веществ: Материалы 5-й Международной научно-методической конференции «Фармобразование-2013», Воронеж, 16-18 апреля 2013г. – Воронеж, 2013. - С. 245-247.

11. Гапонов, С.П. Изучение динамики накопления водорастворимых полисахаридов в листьях подорожника большого, произрастающего в городе Воронеже и его окрестностях / С.П. Гапонов, А.И. Сливкин, **Н.А. Великанова**, С.А. Бессмертная // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Создание новых физиологически активных веществ: Материалы 5-й Международной научно-методической конференции «Фармобразование-2013», Воронеж, 16-18 апреля 2013 г. – Воронеж, 2013. - С. 248-250.

12. Гапонов, С.П. Изучение содержания водорастворимых полисахаридов в листьях подорожника большого, произрастающего в городе Воронеже и его окрестностях / С.П. Гапонов, А.И. Сливкин, **Н.А. Великанова**, С.А. Бессмертная // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Создание новых физиологически активных веществ: Материалы 5-й Международной научно-методической конференции «Фармобразование-2013», Воронеж, 16-18 апреля 2013г. – Воронеж, 2013. - С. 251-254.

13. Сливкин, А.И. Изучение особенностей накопления радионуклидов из почв лекарственными растениями *Polygonum aviculare* и *Plantago major*, произрастающими в городе Воронеже и его окрестностях / А.И. Сливкин, С.П. Гапонов, **Н.А. Великанова** // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Создание новых физиологически активных веществ: Материалы 5-й Международной научно-методической конференции «Фармобразование-2013», Воронеж, 16-18 апреля 2013 г. – Воронеж, 2013. - С. 510-513.

14. Сливкин, А.И. Изучение радиационной безопасности лекарственного растительного сырья в городе Воронеже и его окрестностях на примере травы горца птичьего и листьев подорожника большого / А.И. Сливкин, С.П. Гапонов, **Н.А. Великанова** // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Создание новых физиологически активных веществ: Материалы 5-й Международной научно-методической конференции «Фармобразование-2013», Воронеж, 16-18 апреля 2013 г. – Воронеж, 2013. - С. 513-515.

15. **Великанова, Н.А.** Изучение накопления водорастворимых полисахаридов листьями подорожника большого, собранного в разных с экологической точки зрения районах города Воронежа и его окрестностей / **Н.А. Великанова**, С.П. Гапонов, А.И. Сливкин // Живые и биокосные системы. – 2013. - №3; URL: <http://www.jbks.ru/archive/issue-3/article-16>.

16. **Великанова, Н.А.** Сравнительный анализ накопления радионуклидов техногенного происхождения разными видами лекарственного растительного сырья / **Н.А. Великанова**, Л.Л. Кукуева, С.П. Гапонов, А.И. Сливкин // Проблемы и перспективы обеспечения комплексной безопасности личности и общества в условиях современности: Материалы 2-й Международной научно-практической конференции. – Воронеж, 2013. - С. 33-39.

17. **Великанова, Н.А.** Оценка радионуклидного загрязнения лекарственного растительного сырья в г. Воронеже и его окрестностях / **Н.А. Великанова**, Л.Л. Кукуева, С.П. Гапонов, А.И. Сливкин // Известия Воронежского государственного педагогического университета. – Воронеж. - 2013. - № 1 (260). – С. 238-242.

Подп. в печ. 22.07.2013. Формат 60×84/16.
Усл. печ. л. 1,4. Тираж 100 экз. Заказ 742.

Отпечатано в типографии
Издательско-полиграфического центра
Воронежского государственного университета.
394000, г. Воронеж, ул. Пушкинская, 3. Тел. +7 (473) 220-41-33