

УДК 574.3 : [582.973: 547.9]

DOI 10.5281/ZENODO.19655859

ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ ОСНОВНЫХ ГРУПП БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В ТРЕХРЕБЕРНИКЕ НЕПАХУЧЕМ

Николаева Ю. М., Воскресенская О. Л.

**ФГБОУ ВО «Марийский государственный университет», Йошкар-Ола, Россия
E-mail: yuiya2511-1990@mail.ru**

В последние годы возрастает интерес к лекарственным растениям как источникам биологически активных веществ (БАВ). Трехреберник непахучий (*Tripleurospermum inodorum*), распространённый в Республике Марий Эл, используется в народной медицине, однако его химический состав изучен недостаточно. Цель работы – анализ содержания аскорбиновой кислоты, флавоноидов, органических и дубильных веществ в листьях и соцветиях растения из трёх ценопопуляций. Установлено, что максимальное содержание аскорбиновой кислоты (215,5 мг %) наблюдается в язычковых цветках, рутина – в листьях (0,40 мг %), органических (1,89 %) и дубильных веществ (1,51 %) – в соцветиях. Наиболее высокие показатели БАВ зафиксированы в образцах из Моркинского района (ЦП-1). Полученные данные подтверждают перспективность использования трехреберника непахучего в медицине и фармацевтике.

Ключевые слова: аскорбиновая кислота, дубильные вещества, органические кислоты, рутин, трехреберник непахучий, ценопопуляция, *Tripleurospermum inodorum* (L.) Sch.Bip.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы значительно возрос интерес к растениям, используемым в народной медицине, как к источникам биологически активных веществ (БАВ), обладающих профилактическими и лечебными свойствами. Это связано с поиском безопасных, эффективных и доступных природных препаратов, способных заменить синтетические [1].

Трехреберник непахучий (*Tripleurospermum inodorum* (L.) Sch. Bip.) – широко распространенное дикорастущее растение, относящееся к семейству Астровые (*Asteraceae*), родиной которого считается Северная Америка [2]. В последние годы интерес к изучению химического состава и биологической активности дикорастущих растений значительно возрос, что связано с поиском новых источников природных биологически активных веществ (БАВ) для фармацевтики, медицины, пищевой промышленности и сельского хозяйства. В этом контексте изучение трехреберника непахучего представляет значительный интерес как потенциального источника вторичных метаболитов.

Трехреберник непахучий с давних времен применяется в народной медицине, однако данный вид растения не включен в официальную фармакопею как отдельный вид. В официальной медицинской практике России *Tripleurospermum*

inodorum рассматривается как посторонняя примесь, допускаемая в сырье цветков ромашки аптечной (*Matricaria chamomilla* L., синоним *Chamomilla recutita* (L.) [3]. В таких странах, как Великобритания и Канада, это растение классифицируется как сорняк [4, 5], во Франции, Италии, Индии используется в косметологии [6].

На сегодняшний день качественный и количественный состав биологически активных веществ этого вида изучен недостаточно, особенно в аспекте его использования в качестве компонента биологических ресурсов. В научной литературе описаны случаи применения представителей рода *Tripleurospermum* в качестве успокаивающих, противовоспалительных, спазмолитических, противогерпетических, антиоксидантных и обезболивающих средств [7, 8].

Актуальность исследования обусловлена необходимостью изучения химического состава трехреберника западного с целью выявления наличия и концентрации основных групп биологически активных веществ (БАВ) (таких как флавоноиды, витамины, органические кислоты, терпеноиды, алкалоиды и т.д.), что имеет значение для оценки его фармакологической значимости. А также для поиска доступных и экологически чистых источников БАВ, поскольку *Tripleurospermum inodorum* произрастает повсеместно, в том числе и на нарушенных территориях. К тому же такое направление исследований способствует устойчивому развитию и сохранению природного разнообразия путем разумного использования местных растительных ресурсов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования выполнялись в лаборатории экологического мониторинга кафедры экологии Марийского государственного университета. Растительный материал *Tripleurospermum inodorum* был собран в трёх локациях его произрастания на территории Республики Марий Эл:

ЦП-1 – Моркинский район, прилегающая территория к памятнику природы «Карман Курык». Растительность представлена злаково-разнотравным сообществом, подверженным рекреационному воздействию и используемым в качестве сенокосного угодья. Почвы – дерново-подзолистые на песчаной основе.

ЦП-2 – вдоль республиканской автодороги в Медведевском районе. Характеризуется полынно-разнотравным лугом с дерново-подзолистыми суглинистыми почвами.

ЦП-3 – Килемарский район, окрестности села Арда. Участок занят злаково-разнотравным сообществом, эксплуатируемым как сенокосное и пастбищное угодье. Преобладающий тип почв – торфяно-глеевые.

Растения собирали в ясную тихую погоду во время активного цветения. Для анализа использовались листья и соцветия, разделенные на язычковые и трубчатые цветки. Изучение включало определение содержания аскорбиновой кислоты, общего количества флавоноидов, органических кислот и танинов.

Аскорбиновую кислоту определяли титриметрическим методом с помощью индикатора – 2,6-дихлорфенолиндофенолят натрия [9]. Навеску растительного материала гомогенизировали в ступке с добавлением 20 мл 1 %-ного раствора HCl до получения однородной суспензии (продолжительность растирания – не более

10 мин). Полученную массу количественно переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл, содержащую 1 %-ный раствор щавелевой кислоты, тщательно перемешивали и выдерживали 10–15 мин для осаждения белков. Далее раствор фильтровали через складчатый фильтр; из фильтрата отбирали по 10 мл в три отдельные ёмкости. Концентрацию анализируемого компонента в каждом образце определяли методом титрования 0,001 н. раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия (краситель Тильманса), добавляемого из микробюретки до появления устойчивой розовой окраски, сохраняющейся не менее 1 мин. По завершении титрования фиксировали объёмы израсходованного титранта и рассчитывали среднее арифметическое значение трёх параллельных измерений.

Расчет содержания аскорбиновой кислоты производят по формуле:

$$X = \frac{100 \times a \times T \times V}{b \times c},$$

где X – содержание аскорбиновой кислоты в мг на 100 г вещества; a – число краски, ушедшей на титрование, мл; T – титр краски Тильманса; V – объем мерной колбы с экстрактом; b – число экстракта, взятого для титрования, мл; c – навеска исследуемого материал, г.

Количественное содержание флавоноидов определяли методом перманганатометрического титрования с пересчётом на рутин. В качестве индикатора использовали индигокармин. Для приготовления экстракта к 1 г растительного сырья прибавляли 50 мл нагретой до кипения дистиллированной воды и экстрагировали в течение 5 мин при умеренном перемешивании. Затем отбирали 10 мл полученного экстракта, переносили в коническую колбу, разводили 10 мл дистиллированной воды и добавляли 10 капель индигокармина. Титрование проводили 0,05 н. раствором перманганата калия до появления устойчивой светло-жёлтой окраски, сохраняющейся в течение 30 секунд. Процентное содержание рутина рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{3,2 \times A \times V_1 \times 100}{V_2 \times m \times 1000},$$

где X – содержание рутина, мг %; A – количество 0,05 н раствора перманганата калия, пошедшее на титрование, мл; m – количество сухого вещества, взятого для анализа, г; V₁ – объем вытяжки, взятой для титрования, мл; V₂ – объем пробы, добавленное к сухому веществу для экстракции, мл; 100 – коэффициент для вычисления процентного содержания; 1000 – коэффициент для перевода в мг.

Количественное определение органических кислот проводили в пересчете на яблочную кислоту. Измельченную навеску сырья 5 г помещали в колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 200 мл дистиллированной воды, тщательно перемешивали и выдерживали на кипящей водяной бане течение 2 ч. Затем извлечение охлаждали до комнатной температуры, фильтровали в мерную колбу вместимостью 250 мл и доводили до метки 250 мл водой и вновь перемешивали.

Далее 1,0 мл полученного раствора переносили в колбу вместимостью 50 мл, прибавляли 20 мл воды, 1 мл 1 %-ного спиртового раствора фенолфталеина и 2 мл 0,1 %-ного спиртового раствора метиленового синего. Титрование проводили 0,1М раствором гидроксида натрия до лилово-синего окрашивания.

Содержание суммы свободных органических кислот в пересчете на яблочную кислоту в абсолютно сухом сырье в процентах вычисляли по формуле:

$$X = \frac{V \times 0,0067 \times 250 \times 100 \times 100}{a \times 10 \times (100 - W)};$$

где V – объем 0,1 М NaOH, пошедшего на титрование, мл; 0,0067 – количество яблочной кислоты, соответствующее 1 мл 0,1 М раствора NaOH; а – навеска сырья, г; W – влажность сырья, %; 250 – общий объем вытяжки, мл.

Количественное определение дубильных веществ в пересчете на танины проводили следующим методом. Навеску измельченного растительного сырья (2 г) помещали в коническую колбу вместимостью 500 мл, заливали 250 мл нагретой до кипения воды и кипятили с обратным холодильником на электрической плитке с закрытой спиралью в течение 30 мин при периодическом перемешивании. Полученное извлечение охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через вату в мерную колбу вместимостью 250 мл так, чтобы частицы растений не попали в колбу. Доводили объем раствора водой до метки, перемешивали. Отбирали 25 мл полученного водного извлечения и помещали в коническую колбу вместимостью 1000 мл, прибавляли 500 мл воды, 25 мл раствора индигосульфокислоты и титровали при постоянном перемешивании 0,02 М раствором калия перманганата до золотисто-желтого окрашивания.

Параллельно проводили контрольный опыт: в коническую колбу вместимостью 1000 мл помещали 525 мл воды, 25 мл раствора индигосульфокислоты и титровали при постоянном перемешивании 0,02М раствором калия перманганата до золотисто-желтого окрашивания. 1 мл калия перманганата раствора 0,02 М соответствует 0,004157 г дубильных веществ в пересчете на танин.

Содержание суммы дубильных веществ в пересчете на танин в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(V - V_1) \times 0,004157 \times 250 \times 100 \times 100}{a \times 25 \times (100 - W)};$$

где V – объем 0,02 М раствора перманганата калия, израсходованного на титрование водного извлечения, мл; V₁ – объем 0,02 М раствора перманганата калия, израсходованного на титрование в контрольном опыте, мл; 0,004157 – количество дубильных веществ, соответствующее 1 мл 0,02 М раствора перманганата калия (в пересчете на танин), г; а – навеска растительного сырья, г; W – влажность растительного сырья, %; 250 – общий объем водного извлечения, мл; 25 – объем водного извлечения, взятого для титрования, мл

Исследования проводили в 3х-кратной повторности. Полученные результаты обработаны статистически с использованием пакета программ STATISTICA (версия 10.0) и Microsoft Excel [10].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведённых исследований показали, что содержание аскорбиновой кислоты в *Tripleurospermum inodorum*, произрастающем на территории Республики Марий Эл, существенно варьирует в зависимости от морфологической части растения. Максимальное содержание витамина С выявлено в язычковых цветках – 215,5 мг %. В листьях концентрация аскорбиновой кислоты составила 118,9 мг %, что на 45 % ниже (в 1,8 раза), чем в язычковых цветках, а в трубчатых цветках – 96,6 мг %, то есть почти в 2,2 раза меньше. Следовательно, язычковые цветки превосходят другие исследованные органы растения по содержанию витамина С и могут рассматриваться как наиболее перспективный источник аскорбиновой кислоты (рис. 1).

Анализируя разные районы исследования, установлено, что самая высокая концентрация аскорбиновой кислоты наблюдалась в образцах трехреберника непахучего, собранных в ЦП-1. В остальных двух популяциях (ЦП-2 и ЦП-3) отмечается снижение уровня витамина: в язычковых цветах оно составляет около 3–5 %, в трубчатых цветках достигает 19–25 %, а в листьях колеблется в пределах 21–23 %. Статистический анализ показал наличие значимых различий (при $p \leq 0,05$) в содержании аскорбиновой кислоты среди образцов трехреберника непахучего, собранных из разных ценопопуляций, именно в трубчатых цветках и листовых частях растения. Содержание аскорбиновой кислоты в язычковых цветках *T. inodorum* в разных ценопопуляциях статистически не значимо ($p \geq 0,05$).

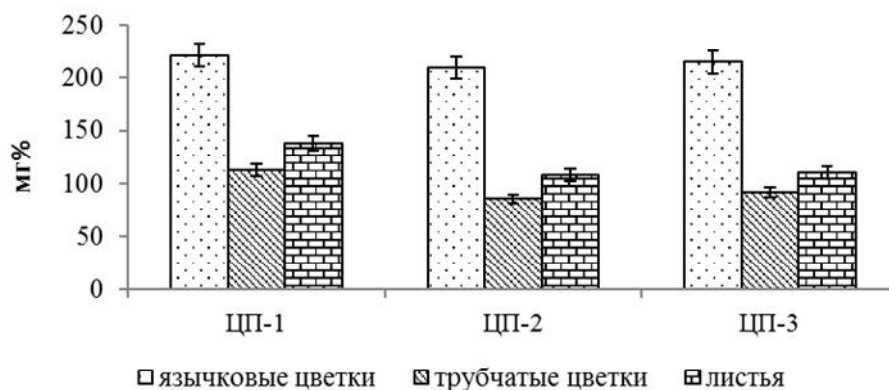


Рис. 1. Количественное содержание витамина С в трехребернике непахучем.

Среднее содержание флавоноидов (в пересчете на рутин) в трехребернике непахучем составляло в язычковых цветках – 0,09мг %, в трубчатых цветках – 0,11мг %, в листьях – 0,40мг % (рис. 2). Наибольшим содержанием рутина в

трехребернике непахучем отличались листья, в трубчатых цветках его количество снижалось в 3,6 раза, в язычковых цветках – в 4,4 раза. Аналогично аскорбиновой кислоте, максимальное накопление флавоноидов зафиксировано у особей *Tripleurospermum inodorum*, произрастающих в ЦП-1. В ЦП-2 и ЦП-3 содержание флавоноидов в растениях было ниже – в 1,2–2 раза по сравнению с ЦП-1. Статистически достоверные различия (при $p \leq 0,05$) по уровню флавоноидов между исследованными популяциями выявлены для язычковых и трубчатых цветков.

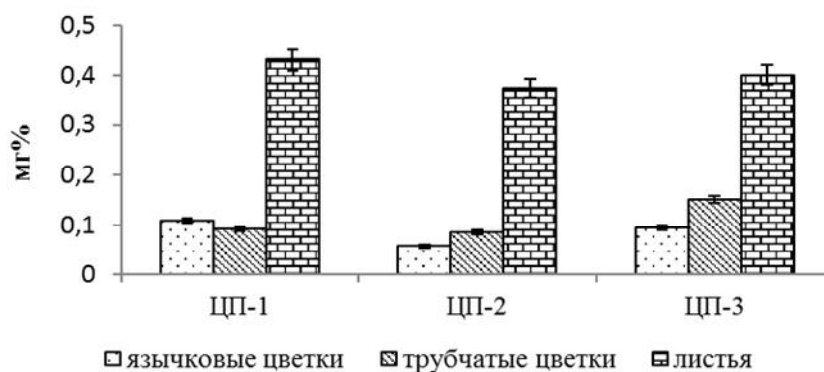


Рис. 2. Количественное содержание флавоноидов в трехребернике непахучем.

Анализ содержания органических кислот в *Tripleurospermum inodorum* показал, что их средняя концентрация в листьях составила 1,35 %, а в соцветиях – 1,89 % (рис. 3). Следовательно, наибольшее накопление органических кислот происходит именно в соцветиях, тогда как в листьях их уровень на 29 % ниже (в 1,4 раза). В то же время статистически значимых различий в содержании органических кислот между исследованными ценопопуляциями выявлено не было ($p \geq 0,05$).

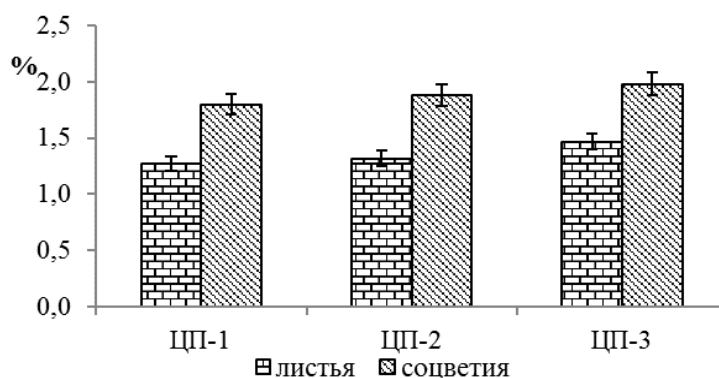


Рис. 3. Количественное содержание органических кислот в трехребернике непахучем.

Проведенные исследования показали, что в трехребернике непахучем, произрастающем в Республике Марий Эл, среднее содержание дубильных веществ в трех ценопопуляциях составило в листьях – 1,03 %, в соцветиях – 1,51 % (рис. 4). Установлено, что наибольшее накопление дубильных веществ происходит в соцветиях, в листьях снижается в 1,5 раза. В листьях *T. inodorum* между районами произрастания статистически значимых различий не наблюдалось. В соцветиях трехреберника непахучего наибольшее содержание дубильных веществ было обнаружено у растений, произрастающих в ЦП-2, а в ЦП-1 и ЦП-2 происходило снижение в 27 % и 22 % соответственно ($p \leq 0,05$).

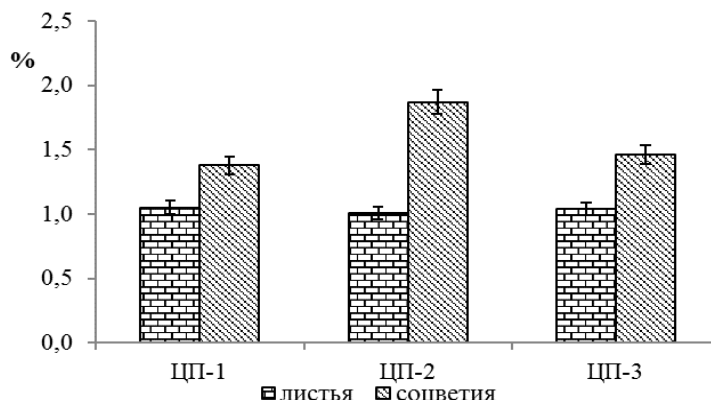


Рис. 4. Количественное содержание дубильных веществ в трехребернике непахучем.

Результаты проведенного фитохимического анализа подтверждаются и опытами других исследователей. Ранее были проведены исследования накопления биологически активных веществ трехреберником непахучим, произрастающим на территории Пермского края, Московской области и т.д. [2, 11, 12]. Исследователями было отмечено высокое содержание флавоноидов, дубильных веществ и т.д. в соцветиях, листья не были проанализированы. Нами было получено, что и листья трехреберника непахучего содержат биологически активные вещества.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, результаты оценки содержания основных групп биологически активных веществ в трехребернике непахучем, произрастающей на территории Республики Марий Эл, показали высокое содержание аскорбиновой кислоты, дубильных веществ, органических кислот, флавоноидов. По содержанию биологически активных веществ в органах трехреберника непахучего можно составить следующий убывающий ряд: язычковые цветки → листья → трубчатые цветки. Среди выбранных нами районов произрастания трехреберника непахучего наибольшим содержанием биологически активных веществ отличались растения, собранные в ЦП-1 (Моркинский район).

Список литературы

1. Shetti S. Pharmacovigilance of herbal medicines: Current state and future directions / Shetti S., Kumar C., Sriwastava N., Sharma I. // *Pharmacognosy Magazine*. – 2011. – Vol. 7, No. 25. – P. 69.
2. Блинова О. Л. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в трехребернике непахучем цветках / О. Л. Блинова, А. А. Гилева, А. В. Хлебников [и др.] // *Медико-фармацевтический журнал Пульс*. – 2021. – Т. 23, № 6. – С. 157–166.
3. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV изд. ФС.2.5.0037.15. Ромашки аптечной цветки *Chamomillae recutitae flores* [Электронное издание] Режим доступа: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-13/2/2-5/2-5-37/romashki-aptechnoy-tsvetki-chamomillae-recutita-flores/>
4. McClay A. S. *Tripleurospermum inodorum* (L.) Sch. Bip., scentless chamomile (Asteraceae) / McClay A. S. et al. // *Biological control programmes in Canada 2001-2012*. – Wallingford UK : CABI, 2013. – P. 391–401.
5. Wilcox M. Examining *Tripleurospermum Inodorum* (scentless Mayweed) (asteraceae) Inland / Wilcox M. // *British & Irish Botany*. – 2022. – Т. 4, № 1.
6. Kay Q. O. N. *Tripleurospermum Inodorum* (L.) Schultz Bip / Kay Q. O. N. // *Journal of Ecology*. – 1994. – Т. 82, № 3. – С. 681–697.
7. Sheydaei P. The genus *Tripleurospermum* Sch. Bip. (Asteraceae): a comprehensive review of its ethnobotanical utilizations, pharmacology, phytochemistry, and toxicity / Sheydaei P., Duarte A. P. // *Life*. – 2023. – Т. 13, № 6. – С. 1323.
8. Marakhova A. The Development of a Method for Obtaining *Tripleurospermum inodorum* (L.) Sch. Bip. Herb Extract Enriched with Flavonoids and an Evaluation of Its Biological Activity / Marakhova A. et al. // *Plants*. – 2024. – Т. 13, № 12. – С. 1629.
9. Физиологические и биохимические методы анализа растений: Практикум / Калинингр. ун-т; Авт.-сост. Г. Н. Чупахина. – Калининград, 2000. – 59 с.
10. Боровиков В. STATISTICA. Искусство анализа данных на компьютере / В. Боровиков. – 2-е изд. СПб.: Питер, 2003. – 688 с.
11. Велиханова З. Р. Содержание биологически активных веществ в цветках трехреберника продырявленного / З. Р. Велиханова, А. И. Марахова, А. А. Сорокина // *Фармация*. – 2017. – Т. 66, № 8. – С. 9–12.
12. Марахова А. И. Разработка методики количественного определения флавоноидов в цветках трехреберника продырявленного *Tripleurospermum perforatum* (L.) Sch.Bip / А. И. Марахова, А. А. Елапов, Н. В. Бобкова [и др.] // *Медицинский вестник Башкортостана*. – 2022. – Т. 17, № 5(101). – С. 57–62.

ASSESSMENT OF THE CONTENT OF THE MAIN GROUPS OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES IN THE TRIPLEUROSPERMUM INODORUM

Nikolaeva Y. M., Voskresenskaya O. L.

*Mari State University, Yoshkar-Ola, Russia
E-mail: yuiya2511-1990@mail.ru*

With the growing interest in natural sources of biologically active substances (BAS) with prophylactic and therapeutic properties, special attention is paid to wild plants, including poorly studied species. *Tripleurospermum inodorum* (L.) Sch. Bip., belonging to the Asteraceae family, is a widespread plant growing in disturbed and anthropogenically

transformed areas. Despite its use in folk medicine, *Tripleurospermum inodorum* is not included in the official pharmacopoeia as an independent medicinal species. However, its soothing, anti-inflammatory, antispasmodic, antioxidant and other therapeutic properties are known.

The aim of this study was to investigate the chemical composition and assess the content of the main groups of biologically active substances – ascorbic acid, flavonoids (in particular, rutin), organic and tannins – in various organs of *Tripleurospermum inodorum* growing in the Republic of Mari El. The studies were conducted in three cenopopulations: in natural habitats with different soil types and level of anthropogenic impact. Leaves and inflorescences divided into uvular and tubular flowers served as samples.

According to the results of phytochemical analysis, it was found that the maximum content of ascorbic acid is observed in lingual flowers (215.5mg %), while in tubular flowers and leaves it decreases by 2.2 and 1.8 times, respectively. The rutin content was highest in leaves (0.40mg %), significantly lower amounts of this flavonoid were found in lingual (0.09mg %) and tubular flowers (0.11mg %). Organic acids mainly accumulated in the inflorescences (1.89 %), where their concentration was 1.4 times higher than in the leaves. There was also a high content of tannins in the inflorescences (1.51 %), 1.5 times higher than in the leaves.

Among the *Tripleurospermum inodorum* growth areas selected by us, the plants collected in CP-1 (Morkinsky district) were distinguished by the highest content of biologically active substances.

The data obtained indicate the significant potential of *Tripleurospermum inodorum* as a source of BAS. The results confirm the prospects for further study of this species in terms of its use in pharmaceuticals, medicine, the food industry and cosmetology. In addition, the use of a widespread and ecologically plastic species, such as *Tripleurospermum inodorum*, contributes to the sustainable use of natural resources and the conservation of biodiversity. The presented materials can become the basis for the development of new natural preparations and functional food products.

Keywords: ascorbic acid, tannins, organic acids, rutin, coenopopulation, *Tripleurospermum inodorum* (L.) Sch.Bip.

References

1. Shetti S., Kumar C., Sriwastava N., Sharma I. Pharmacovigilance of herbal medicines: Current state and future directions, *Pharmacognosy Magazine*, **7**, **25**, 69. (2011).
2. Blinov O. L., Gilev A. A., Khlebnikov A.V. et al. Development of a methodology for the scientific branch of the determination of the amount of flavonoids, *Medical and Pharmaceutical journal Pulse*, **23**, **6**, 157 (2021).
3. In the XIV State Pharmacopoeia of the Russian Federation. FS.2.5.0037.15. Vetkin flores Chamomillae recutitae pharmacy bad weather [Electronic edition] available Mode: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-13/2/2-5/2-5-37/romashki-aptechnoy-tsvetki-chamomillae-recutita-flores/>
4. McClay A. S. et al. *Tripleurospermum inodorum* (L.) Sch. Bip., chamomile scentless (Asteraceae), Biological control 2001-2012 programs in Canada, 391 (Wallingford UK : CABI, 2013).
5. Wilcox M. *Tripleurospermum* Examining *Inodorum* (scentless mayweed) (asteraceae) Inland, *British & Irish Botany*, **4**, **1** (2022).
6. Kay Q. O. N. *Tripleurospermum Inodorum* (L.) Bip Schultz, *Journal of Ecology*, **82**, **3**, 681 (1994).

7. Sheydaei P., Duarte A. P. The genus *Tripleurospermum* Sch. Bip. (Asteraceae): comprehensive review of its ethnobotanical utilities, pharmacology, phytochemistry, and toxicity, *Life*, **13**, 6, 1323. (2023).
8. Marakhova A. et al. Method for The Development of Acquiring *Tripleurospermum inodorum* getting settled (L.) Sch. Bip. Enriched with its an evaluation of Biological activity and Herb Extract flavonoids, *Plants*, **13**, 12, 1629. (2024).
9. *Physiological and biochemical methods of plant analysis: a practical guide*, 59 p. (Kaliningrad University; compiled by G.N. Chupakhina. – Kaliningrad, 2000).
10. Borovikov V. *STATISTICA. Computer data analysis of art*, The 2nd is decreasing, 688 (St. Petersburg: Peter, 2003).
11. Velikhanova I hate. R., Marakhova A. I., Sorokina A. A. Biologically active substances In the perforated active branches of the contents of the three-rib, *Pharmacy*, **66**, 8, 9 (2017).
12. Marakhova A.I., Elapov A. A., Bobkov N. V. et al. Quantitatively trehrebernika V. Development of the perforated flavonoid determination technique *tripleurospermum branches perforatum* (L.) Sch.Bip., *Medical Bulletin of Bashkortostan*, **17**, 5(101), 57 (2022).