

UDC 615.322:615.012

SCOPUS CODE 1303

## ХАРАКТЕРИСТИКИ СОСТАВНЫХ ЧАСТЕЙ БИОАКТИВНОЙ ДОБАВКИ “GRAIL”

- Мелкадзе Р.Г.** Департамент пищевой индустрии, Грузинский технический университет, Грузия, 0175, Тбилиси, ул. М. Костава 68<sup>б</sup>  
E-mail: remeisi@mai.ru
- Кинцурашвили К.М.** Государственный университет им. А. Церетели, Грузия, 6400, Кутаиси, ул. Тamar Мефе 59  
E-mail: q.kintsurashvili@mail.ru
- Копалиани Т.З.** Государственный университет им. А. Церетели, Грузия, 6400, Кутаиси, ул. Тamar Мефе 59  
E-mail: tamar.kopaliani@atsu.edu.ge

### Рецензенты:

- Т. Мегрелидзе**, профессор Департамента пищевой индустрии факультета транспорта и машиностроения ГТУ  
E-mail: megrelidze@yahoo.com
- Л. Гулуа**, доктор биологических наук Грузинского аграрного университета  
E-mail: l.gulua@agruni.edu.ge

**АННОТАЦИЯ.** Исследованы компоненты составных частей биоактивной добавки (БД) “Grail”-ароматическая настойка и экстракт сбора лекарственных растений.

Разработана методика определения их внешних признаков, действующих фармакологически активных веществ (фенольные соединения, флавоноиды, арбутин) и подлинности. Установлены спектральные характеристики.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** биоактивная добавка; ароматическая настойка; экстракт сбора лекарственных растений; химические показатели; спектральные характеристики.

### ВВЕДЕНИЕ

Биоактивная добавка “Grail” (далее БД) изготавливается из двух частей – ароматической настойки и экстракта из сбора лекарственных растений [1-2].

Ароматическая настойка представляет собой спиртовое извлечение из смеси гвоздики, корицы, кардамона, мускатного ореха, имбиря, сосновых почек, алое, цветочной пыльцы [3].

Экстракт сбора лекарственных растений представляет собой водно-спиртовую вытяжку смеси чая, астрагала, плодов шиповника, травы бессмертника, корней аира и девясила, с добавлением пчелиного меда, красного вина и колера [4].

### ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

##### Изучение ароматической настойки БД

Для количественного определения 1 мл ароматическую настойку помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора 96 % спиртом до метки, перемешивают, дают отстояться в течение 1 ч и фильтруют через бумажный фильтр «желтая лента», отбрасывая первые 5 мл фильтрата (раствор А).

1 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора 96 % спиртом до метки и перемешивают (раствор Б).

Измеряют оптическую плотность раствора Б на спектрофотометре при длине волны 290 нм в кювете с толщиной слоя 1 см, используя в качестве раствора сравнения 96 % спирт.

Содержание суммы фенольных соединений (X) в препарате, в процентах вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D \cdot 25 \cdot 25 \cdot 625}{510 \cdot 1 \cdot 1 \cdot 510},$$

где:  $D$  - оптическая плотность испытуемого раствора; 510-коэффициент пропорциональности оптической плотности раствора при длине волны 290 нм [5-6].

Для установления подлинности ароматической настойки предусмотрено качественное определение следующих основных групп веществ, являющихся компонентами лекарственного сырья, используемого для приготовления данной настойки.

Ультрафиолетовый спектр поглощения раствора Б, приготовленного для количественного определения, в области от 220 нм до 500 нм должен иметь максимум при длине волны около 290 нм (фенольные соединения).

К 2 мл препарата прибавляют 2 мл 2% раствора нингидрина и нагревают смесь на кипящей водяной бане в течение 1 мин; образуется темно-фиолетовое окрашивание (аминокислоты).

1 мл раствора А, приготовленного для количественного определения, помещают в стеклянную пробирку, прибавляют 3 мл 96 % спирта, перемешивают и просматривают в УФ-свете при длине волны 366 нм. Наблюдается голубая флуоресценция (производные кумарина).

К 1 мл препарата прибавляют 1 мл воды, 1 мл 96 % спирта, перемешивают, прибавляют 3 мл раствора аммиака концентрированного и вновь перемешивают; образуется коричневое окрашивание (оксиантрахиноны).

10 мл препарата помещают в стеклянную пробирку, упаривают на кипящей водяной бане до объема около 5 мл, охлаждают остаток до комнатной температуры, прибавляют 5 мл воды и перемешивают. Полученную смесь помещают в делительную воронку вместимостью 100 мл, прибавляют 10 мл этилацетата и интенсивно взбалтывают смесь в течение 1 мин. После полного разделения слоев нижний (водный) слой отбрасывают, а верхний (этилацетатный) слой фильтруют через бумажный фильтр «синяя лента».

На линию старта хроматографической пластинки с силикагелем Merck 60 F<sub>254</sub> наносят 40 мкл полученного фильтрата. Пластинку помещают в камеру со смесью растворителей бензол - спирт метиловый - ацетон (40:15:4) и хроматографируют восходящим способом.

Когда фронт растворителей пройдет около 12 см от линии старта, пластинку вынимают из камеры, сушат при комнатной температуре до удаления запаха растворителей, опрыскивают 3 % раствором алюминия хлорида в 96 % спирте, выдерживают 1 мин в сушильном шкафу при температуре 100-105 °С и просматривают в УФ-свете при длине волны 366 нм.

### Изучение экстракта сбора лекарственных растений БД

В качественные реакции включены общие реакции и обнаружения фенольных соединений, флавоноидов (цианидиновая проба), арбутина. Флавоноиды (кверцетин, кемпферол), кумарины (псорален) и фенолоспирты (розавин) идентифицированы хроматографически. Выбор качественных реакций обусловлен химическим составом ингредиентов субстанции, выбор систем растворителей для хроматографического анализа проводили на основании литературных данных [7-12].

Экстракт в количестве 5,0 мл кипятят с 20 мл 70 % спирта в течение 2-3 мин и фильтруют через бумажный фильтр.

0,5 мл фильтрата разводят водой до объема 10 мл. К полученному раствору прибавляют 0,1 мл раствора железоммониевых квасцов; появляется зеленовато-бурое окрашивание (фенольные соединения).

К 1 мл фильтрата прибавляют 2 капли концентрированной хлористоводородной кислоты и стружку металлического магния; появляется оранжево-красное окрашивание, усиливающееся в течение 5 мин (флавоноиды).

К 2 мл фильтрата прибавляют 2 мл 0,1 М раствора натра едкого, 2 мл диазо-реактива и перемешивают; через 5 мин развивается красно-коричневое окрашивание (кумарины).

К 1 мл фильтрата прибавляют 4 мл раствора аммиака и по каплям 1 мл 10 % раствора натрия фосфорно-молибденовокислого в хлористоводородной кислоте; появляется синее окрашивание (арбутин).

На линию старта хроматографической пластинки «Neeoie УФ-254» наносят 1 мкл фильтрата. Пластинку помещают в камеру со смесью растворителей: бензол - спирт метиловый - ацетон - ацетилацетон (40:16:3:1) и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 12 см от линии старта, пластинку вынимают из камеры, сушат на воздухе в течение 10 мин, опрыскивают 3 % раствором алюминия хлорида в 96 % спирте и просматривают в УФ-свете при длине волны 366 нм.

На линию старта хроматографической пластинки «Neeoie УФ-254» наносят 2 мкл фильтрата. Пластинку помещают в камеру со смесью растворителей: хлороформ - спирт метиловый - вода (61:32:7) и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 12 см от линии старта, пластинку вынимают из камеры, сушат на воздухе в течение 10 мин и просматривают в УФ-свете

при длине волны 254 им. На хроматограмме должно просматриваться пятно фиолетового цвета с  $R_f$  около  $0,4 \pm 0,05$  (розавин); допускается наличие других пятен.

Для определения содержания флавоноидов 2,0 мл экстракта помещают в колбу со шлифом вместимостью 200 мл, заливают 20 мл 50 % спирта, взвешивают, колбу присоединяют к обратному холодильнику и кипятят на водяной бане в течение 60 мин. Колбу охлаждают до комнатной температуры, взвешивают, восполняют потери спирта и экстракт фильтруют через бумажный фильтр, отбрасывая первую порцию фильтрата.

2 мл фильтрата помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 2 мл 2 % раствора алюминия, хлориды в 96 % спирте и доводят объем раствора 96 % спиртом до метки; через 30 мин измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 417 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 2 мл извлечения, 1 капли разведенной уксусной кислоты и доведенный 96 % спиртом до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Содержание суммы флавоноидов (X) в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье, в процентах, рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{D \cdot 200 \cdot 25 \cdot 100}{257 \cdot m \cdot 2 \cdot (100 - W)} = \frac{D \cdot 2500 \cdot 100}{257 \cdot m \cdot (100 - W)},$$

где:  $D$  - оптическая плотность испытуемого раствора;  $m$  - масса навески препарата, в мл; 257 - удельный показатель поглощения комплекса рутин с алюминия хлоридом при длине волны 417 нм в 96 % спирте;  $W$  - содержание влаги в препарате, в %.

Для определения содержания арбутина 4,0 мл испытуемый экстракт помещают в колбу вместимостью 100 мл, заливают 60 мл воды и кипятят на водяной бане 30 мин. Горячее извлечение фильтруют через вату в мерную колбу вместимостью 100 мл. Вату с сырьем снова помещают в колбу, прибавляют 25 мл воды и повторяют экстрагирование как описано выше. Содержимое колбы фильтруют через вату в ту же мерную колбу. Сырье на фильтре промывают два раза по 5 мл горячей водой. К фильтрату и мерной колбе прибавляют 6 мл насыщенного раствора свинца ацетата основного, перемешивают и доводят водой до метки. Содержимое переносят в коническую колбу, которую помещают на кипящую водяную баню и выдерживают 10 мин до коагуляции осадка. Осадок отфильтровывают через складчатый фильтр. К фильтрату прибавляют 0,8 г сульфата натрия, перемешивают и вновь образовавшийся осадок фильтруют через складчатый

фильтр, отбрасывая первую порцию фильтрата.

В мерную колбу вместимостью 10 мл вносят 4 мл 0,02 % раствора натрия нитрита, 4 мл 0,08 % раствора сульфата натрия, выдерживают 3 мин, прибавляют 1 мл фильтрата, 0,08 мл 10 % раствора натрия гидроксида и доводят водой до метки. Раствор помещают на 1 мин в водяную баню, нагретую до температуры  $45-50^\circ \text{C}$ , затем выдерживают при комнатной температуре 20 мин.

Измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре в кювете с толщиной слоя 10 мм при длине волны 510 им. В качестве раствора сравнения используют воду.

Содержание арбутина в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D \cdot 10 \cdot 100 \cdot 100}{234 \cdot m \cdot 1 \cdot (100 - W)}$$

где:  $D$  - оптическая плотность исследуемого раствора; 234 - удельный показатель поглощения арбутина при 510 им;  $m$  - масса навески, в мл;  $W$  - содержание влаги в препарате, в %.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### Ароматическая настойка

По внешнему виду ароматическая настойка представляет собой прозрачную жидкость светло-коричневого цвета, ароматного бальзамического запаха. При хранении допускается появление опалесценции и выпадение осадка. Эти свойства настойки обусловлены составом применяемых в процессе ее изготовления ингредиентов и способом получения препарата, который изготавливается методом мацерации смеси лекарственного растительного сырья. В табл. 1 представлены результаты анализа ароматической настойки по содержанию фенольных веществ:

ТАБЛИЦА 1

### Результаты анализа ароматической настойки в процессе хранения

Продолжительность хранения, месяцы	Спирт, %	Сухой остаток, %	Фенольные соединения, %
Исходный	39,4	1,96	0,466
6	39,0	1,96	0,442
12	39,0	1,90	0,428
18	38,2	1,88	0,418
24	39,0	1,86	0,396
30	38,8	1,82	0,390
39	38,6	1,78	0,388

Из хроматограммы ароматической настойки (рис. 1) следует, что в ее нижней трети части обнаруживается пятно синего цвета с  $R_f$  около 0,26. В средней трети хроматограммы - четыре пятна в следующей последовательности: два пятна желтовато-голубого и

зеленовато-голубого цвета с  $R_f$  около 0,43 и 0,51 соответственно, затем два пятна оранжевато-желтого цвета с  $R_f$  около 0,56 и 0,62 соответственно, и в верхней трети хроматограммы - пятно светло-желтого цвета с  $R_f$  около 0,69 (фенольные соединения).

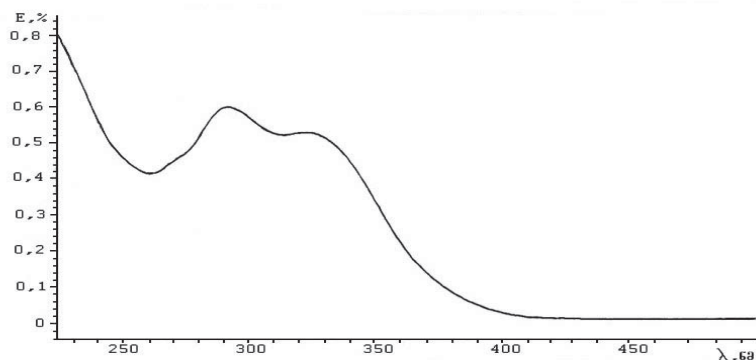


Рис.1. УФ-спектр ароматической настойки, полученной в условиях количественного определения Экстракт сбора лекарственных растений

Химический состав экстракта приведен в табл.2

ТАБЛИЦА 2

Химический состав экстракта сбора лекарственных растений БД

Наименование ЛРС	Биологические активные вещества		Действие
	Основные	Сопутствующие	
1	2	3	4
Трава астрагала	Камеди	Микро- и макроэлементы, слизи	При сердечной недостаточности; диуретическое
Плоды шиповника	Витамины	Фенолы, фенолкарбоновые кислоты, органические кислоты	Поливитаминозное, при малокровии; антицинготное
Цветки бессмертника	Флавоноиды: салипурнозид, нарингенин, кемпферол, апигенин	Эфирное масло, стероидные соединения, красящие вещества, органические кислоты, горечи	Желче - и мочегонное, при заболеваниях печени и желчных путей
Корень аира	Кумарины, эфирное масло	Горькие и дубильные вещества, аскорбиновая кислота	Противовоспалительное, тонизирующее ЦНС
Корень девясила	1-3% эфирное масло, терпеноиды	Смолы, до 44% инулин, органические кислоты	Противовоспалительное, отхаркивающее, желчегонное
Корень солодки	До 23% сапонин глицирризин, флавоноиды, кумарины	Стеарины, аспарагин, витамин С	Гормоноподобное, регулирующее обмен веществ
Чай зеленый	Дубильные в-ва до 28%, катехины, кофеин до 3%	Эфирное масло, витамин С, никотиновая и др. кислоты	Тонизирующее, Р-витаминное, вяжущее
Мед пчелиный	Глюкозиды, сахара, минеральные соли	Органические кислоты	Природный антибиотик
Вино красное	До 150 БАВ, из них фенольные, красящие, ароматические вещества, катехины	Органические кислоты, минеральные вещества	Р- витаминное, при малокровии, подагре, туберкулезе легких, истощении нервной системы

Как следует из представленных данных, основной группой фармакологически активных веществ является комплекс фенольных соединений: флавоноиды, арбутин, салидрозид, кумарины, лигнаны, дубильные вещества и др., способствующие их растворению и стабилизации.

На хроматограмме обнаруживаются следующие пятна: пятно желтовато-зеленого цвета с  $R_f$  около  $0,45 \pm 0,05$  (кверцетин); пятно голубовато-зеленого цвета с  $R_f$  около  $0,5 \pm 0,05$  (кемпферол) и пятно голубого цвета с  $R_f$ -около  $0,6 \pm 0,05$  (псорален). (рис.2.)

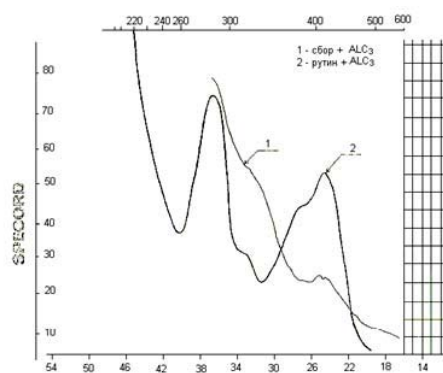


Рис.2. УФ- спектр экстрактивной настойки. Метрологические характеристики методики приведены в табл. 3 и 4

ТАБЛИЦА 3

**Результаты статистической обработки данных количественного содержания флавоноидов в экстракте сбора БД**

№ опыта	Данные	f	X	S	P,%	$T_{(p,f)}$	$\Delta x$	$\epsilon$
1	0,93	0						
2	0,87	1	0,89	0,02915	95	2,57	0,0335	3,764
3	0,87	2						
4	0,90	3						
5	0,86	4						

ТАБЛИЦА 4

**Результаты статистической обработки данных количественного содержания арбутина в экстракте сбора БД двумя методами**

Метод	X	X	s	P, %	$t_{(p,f)}$	$\Delta x$	$\epsilon$
ГФ XI изд., йодометрический	0,19	0,19	0,01323	95	2,57	0,00705	3,7
	0,20						
	0,18						
	0,17						
	0,20						
Спектрофотометрический	0,18	0,17	0,01118	95	2,57	0,00581	3,4
	0,17						
	0,16						
	0,16						
	0,19						

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Предложенные методы определения рецептуры биоактивной добавки “Grail” обеспечивают высокую объективность идентификации химического состава как отдельных компонентов, так и составных частей (ароматической настойки и экстракта сбора лекарственного сырья).

Составные части биоактивной добавки характеризуются насыщенным содержанием фармакологически активных веществ разного биологического действия.

Приведенные методы анализа могут широко использоваться в испытаниях других лекарственных растений и препаратов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Melkadze R.G. Ingredients composition of bioactive additive "Grail". Patent 6516. Georgia. Bulletin #14(450). 2016. (in Georgian).
2. Melkadze R.G. Balm "Grail". Palmarium Academic Publishing. 2012., 134 p. (in Russian).
3. Standard 405059109-001-2014. Bioactive additive "Grail" 2014, 9 p. (in Georgian).
4. TI 405059109-001-2014. Technological instruction for the production of the bioactive additive "Grail". 2014, 13 p. (in Georgian).
5. Bioactive additive "Grail". Recipe 405059109-001-2014. 2014, 4p. (in Georgian).
6. State Pharmacopeia XI, part 1. M.: 1989, 234 p. (in Russian).
7. State Pharmacopoeia XI, Part 2. M.: 1989, 322 p. (in Russian).
8. Zaprometov M.N. Principles of biochemistry of Phenolic compounds. M.: Higher Education, 1974, 214 p. (in Russian).
9. Georgievsky V.P. The use of chromatography in thin layers of sorbents for identification and quantitative determination of biologically active substances plant origin. M.: 1975, 64 p. (in Russian).
10. Georgievsky V. P., Komissarenko N. F., Dmitruk S. E. Biologically active substances of medicinal plants. Novosibirsk "Nauka". Siberian Branch. 1990, 333 p. (in Russian).
11. Bhatia J. S., Singh J., Bajaj K. Z. A sensitive colorimetric method for the microdetermination of flavanols. Mikrochim. Acta. #5, 1974, 909-913 pp. (in English).
12. Kirchner J. G. Thin-layer chromatographic quantitative analysis. Journal Chromatogr. Vol. 82. #1. 1973, 101-115 pp. (in English).

UDC 615.322:615.012

SCOPUS CODE 1303

#### GRAIL ბიოაქტიური დანამატის შემადგენელი ნაწილების მახასიათებლები

- რ. მელქაძე** კვების ინდუსტრიის დეპარტამენტი, საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტი, საქართველო, 0175, თბილისი, მ. კოსტავას 68ა  
E-mail: remeisi@mai.ru
- ქ. კინჭურაშვილი** აკაკი წერეთლის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, საქართველო, 6400, ქუთაისი, თამარ მეფის 59  
E-mail: q.kintsurashvili@mail.ru
- თ. კოპალიანი** აკაკი წერეთლის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, საქართველო, 6400, ქუთაისი, თამარ მეფის 59  
E-mail: tamar.kopaliani@atsu.edu.ge

#### რეცენზენტები:

**თ. მეგრელიძე**, სტუის სატრანსპორტო და მანქანათმშენებლობის ფაკულტეტის კვების ინდუსტრიის დეპარტამენტის პროფესორი

E-mail: t\_megrelidze@yahoo.com

**ლ. გულუა**, საქართველოს აგრარული უნივერსიტეტი, ბიოლოგიის მეცნიერებათა დოქტორი

E-mail: l.gulua@agruni.edu.ge

**ანოტაცია.** გამოკვლეულია Grail ბიოაქტიური დანამატის (ბდ) შემადგენელი ნაწილების – არომატული და ექსტრაქტული ნაყენების კომპონენტური შედგენილობა.

შემუშავებულია მათი გარე ნიშნების, ფარმაკოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების (ფენოლური ნაერთები, ფლავონოიდები, არბუთინი) და ნამდვილობის განსაზღვრის მეთოდოლოგია. დადგენილია სპექტრული მახასიათებლები.

**საკვანძო სიტყვები:** არომატული ნაყენი; ბიოაქტიური დანამატი; სპექტრული მახასიათებლები; ექსტრაქტული ნაყენი; ქიმიური მანკენებლები.

UDC 615.322:615.012

SCOPUS CODE 1303

### CHARACTERISTICS OF COMPOSITION PARTS OF THE BIOACTIVE ADDITIVE "GRAIL"

- R. Melkadze** Department of Food industry, Georgian Technical University, 68<sup>a</sup> M. Kostava str, 0175, Tbilisi, Georgia  
E-mail: remeisi@mai.ru
- K. Kintsurashvili** Akaki Tsereteli State University, 59 Tamar Mepe str, 6400, Kutaisi, Georgia  
E-mail: q.kintsurashvili@mail.ru
- T. Kopaliani** Akaki Tsereteli State University, 59 Tamar Mepe str, 6400, Kutaisi, Georgia  
E-mail: tamar.kopaliani@atsu.edu.ge

#### Reviewers:

- T. Megrelidze**, Professor, Doctor of Technical Sciences, Department of Food Industry, Faculty of Transportation and Mechanical Engineering, GTU  
E-mail: tmegrelidze@yahoo.com
- L. Gulua**, Doctor of Biological Sciences, Agricultural University of Georgia  
E-mail: l.gulua@agruni.edu.ge

**ABSTRACT.** Components of the bioactive additive "Grail" are studied: component parts of aromatic tincture and medicinal plants extracts.

The procedure for determining their external signs, pharmacologically active substances (phenolic compounds, flavonoids, arbutine) and authenticity has been developed. Spectral characteristics are established.

**KEY WORDS:** Aromatic tincture; bioactive additive; chemical indices; medicinal plants extracts; spectral characteristics.

*Дата рассмотрения 19.02.2018*

*Дата поступления 27.02.2018*

*Подписано к печати 16.10.2018*