
МЕТОДИКИ СТАНДАРТИЗАЦИИ ГОМЕОПАТИЧЕСКИХ МАТРИЧНЫХ ФЕРМЕНТИРОВАННЫХ НАСТОЕК НА ПРИМЕРЕ *BRYOPHYLLUM E FOLIIS FERM 33B*

М.И. Волжанова, С.Н. Суслина

Кафедра общей фармацевтической и биомедицинской технологии
Медицинский факультет
Российский университет дружбы народов
ул. Миклухо-Маклая, 8, Москва, Россия, 117198

Р.А. Байльман

ООО «Лекарственные средства ВАЛА-Р»
ул. Коненкова, 11а, Москва, Россия, 127560

Целью исследования явилась разработка методик стандартизации гомеопатических матричных ферментированных настоек на примере *Bryophyllum e foliis ferm 33b*. В частности, установлены реакции подлинности на матричную настойку *Bryophyllum e foliis ferm 33b*, а также описана методика их проведения, определена оптимальная методика обнаружения биологически активных веществ в матричной настойке *Bryophyllum e foliis ferm 33b* методом хроматографии в тонком слое сорбента. Установлено, что наряду с высокоэффективной жидкостной хроматографией и хроматографией в тонком слое сорбента в экспресс-анализе настоек матричных ферментированных водных в гомеопатических аптеках и контрольно-аналитических лабораториях можно использовать *Steigbild* как один из эффективных и экономичных методов стандартизации. На основании проведенных исследований разработаны разделы проекта фармакопейной статьи на настойку матричную ферментированную (водную) *Bryophyllum e foliis ferm 33b* для гомеопатической фармакопеи России.

В последние годы отмечается значительное возрастание интереса к гомеопатическому методу лечения, а также увеличение объемов регистрации новых гомеопатических препаратов. В отечественной фармации появился новый раздел — гомеопатическая фармация, объектом исследования которого являются гомеопатические лекарственные средства, применяемые в здравоохранении в соответствии с принципами гомеопатического метода лечения.

К приоритетным задачам гомеопатической фармации относится создание и совершенствование нормативной базы, регламентирующей изготовление и контроль качества гомеопатических лекарственных препаратов, расширение ассортимента отечественных гомеопатических лекарственных средств, а также совершенствование современных методов контроля качества и стандартизации [1].

Качество гомеопатических лекарственных средств в значительной степени обусловлено применением стандартных гомеопатических субстанций, приготовленных в соответствии с правилами GMP. Исходным сырьем для получения большинства гомеопатических лекарственных средств являются матричные настойки.

Настойки гомеопатические матричные представляют собой жидкие водно-спиртовые или спиртовые извлечения из сырья растительного или животного происхождения. Настойки гомеопатические матричные получают способом мацерации или перколяции. Контроль качества настоек гомеопатических матричных

ных заключается в количественном определении действующих веществ в них, определении подлинности и других показателей в соответствии с требованиями частной нормативной документации [2].

Наряду с методами, изложенными в фармакопейной статье «Настойки гомеопатические матричные», в Германии, Швейцарии, Швеции и других странах для приготовления настоек матричных используется метод водной экстракции из растительного сырья с ферментацией. При этом получают настойки матричные, качественно отличающиеся по биологически активным веществам от водно-спиртовых настоек.

Настойки гомеопатические матричные ферментированные представляют собой жидкие водные извлечения из свежего или высушенного лекарственного растительного сырья, получаемые ферментацией при заданных параметрах температурного режима, величины рН и других факторов.

Настойки гомеопатические водные получают путем настаивания измельченного свежего или высушенного лекарственного растительного сырья с очищенной свежеприготовленной водой при одновременном взаимодействии ферментов, микроорганизмов или молочных бактерий. При этом используются натуральный мед, лактоза, молочная сыворотка.

Качество настоек гомеопатических водных оценивают по показателям: описание, цвет, запах, подлинность, плотность, сухой остаток, рН, тяжелые металлы, микробиологическая чистота. Количественное определение биологически активных веществ в настойках определяют в соответствии с требованиями частных нормативных документов [2, 3].

Наши исследования проводились на базе гомеопатической аптеки ООО «Лекарственные средства ВАЛА-Р», которая производит гомеопатические лекарственные препараты по рецептуре и технологии немецкой фирмы «WALA-Heilmittel GmbH».

Гомеопатические лекарственные средства фирмы «WALA-Heilmittel GmbH» изготавливаются на основе гомеопатической фармакопеи Германии с использованием естественнонаучных методов, направленных на обнаружение родства (подобия) между природными процессами как патологическими, так и здоровыми, протекающими в мире растений, животных и минералов.

Наблюдения за этими процессами в природе и лабораторных условиях позволили разработать оригинальные запатентованные методики приготовления настоек гомеопатических матричных, а также лекарственных форм из них.

«WALA» — это аббревиатура немецких слов *Wärme — Asche — Licht — Asche* (Тепло — Зола — Свет — Зола), в которой фактически заключена технологическая схема производства настоек матричных ферментированных. WALA-метод — это, в первую очередь, метод получения водных (а не спиртовых) матричных настоек, которые используются для приготовления всех лекарственных форм.

Матричные настойки из растений по WALA-методу готовят, ориентируясь на жизненный ритм роста и развития растений. Метод основан на водной экстракции лекарственных субстанций из растений, в строгом соответствии с су-

точными природными ритмами, в которых растение развивается (ритмы колебания температуры, освещенности, движения, ритмы, связанные с восходом и закатом солнца). Такие матричные настойки обозначаются как настойки *ferm* (ферментированные).

Действие приготовленных данным методом лекарственных препаратов направлено в первую очередь на нормализацию ритмической системы организма и тем самым активацию его собственных сил, способствуя более быстрому и полному выздоровлению.

К таким препаратам можно отнести гомеопатические лекарственные средства *Bryophyllum e foliis ferm D1, D3*, полученные из матричной настойки *Bryophyllum e foliis ferm 33b*, которые применяются при истерическом неврозе, нарушении менструального цикла, предменструальном синдроме, в климактерическом периоде в виде различных гомеопатических лекарственных форм.

Актуальность данного исследования обусловлена отсутствием в отечественной гомеопатической фармации методик стандартизации настойки матричной ферментированной *Bryophyllum e foliis ferm 33b*, получаемой из свежих побегов каланхое Дегремона (*Kalanchoes Daigremontianae cormus recens*) и свежих побегов каланхое перистого (*Kalanchoes pinnatae cormus recens*, семейства толстянковые — *Crassulaceae*).

Анализ научно-исследовательских публикаций дает основание предположить, что данный вопрос остается недостаточно изученным. В частности, недостаточно изучена технология приготовления настойки матричной ферментированной (водной) *Bryophyllum e foliis ferm 33b*, не определены качественные реакции на содержание флавоноидов в настойке ферментированной матричной *Bryophyllum e foliis ferm 33b*, не разработаны оптимальные методики хроматографирования и системы растворителей, а также отсутствует фармакопейная статья на настойку матричную ферментированную (водную) *Bryophyllum e foliis ferm 33b*.

Полученные результаты могут быть применены в экспресс-анализе для внедрения их в дальнейшем в практику гомеопатических аптек и контрольно-аналитических лабораторий для стандартизации данной настойки матричной ферментированной (водной).

Целью нашего исследования является разработка подходов к стандартизации матричной настойки *Bryophyllum e foliis ferm 33b*.

Задачи:

- 1) изучение физико-химических свойств матричной настойки *Bryophyllum e foliis ferm 33b*;
- 2) подбор чувствительных качественных реакций и оптимальных методик хроматографирования и систем растворителей для стандартизации матричной настойки *Bryophyllum e foliis ferm 33b*;
- 3) изучение методики *Steigbild* для экспресс-анализа настоек матричных ферментированных.

В ходе исследования описан внешний вид настойки *Bryophyllum e foliis ferm 33b* — жидкость желто-коричневого цвета со слабым специфическим запахом.

Установлены реакции подлинности на матричную настойку *Bryophyllum e foliis ferm 33b*, а также описана методика их проведения:

1. Реакция с раствором натрия гидроксида 8,5%.

Смешивают 1 мл настойки и 2 мл раствора натрия гидроксида 8,5%. Должно появиться желто-коричневое окрашивание.

2. Цианидиновая проба.

К 1 мл настойки добавляют 5—7 капель концентрированной хлористоводородной кислоты и 10—15 мг металлического Mg или Zn, через 3—5 мин. наблюдают окрашивание. Для ускорения реакции и усиления окраски рекомендуется подогреть реакционную смесь (2—3 мин.) на кипящей водяной бане. Должно появиться розовое окрашивание.

Определена оптимальная методика обнаружения биологически активных веществ в матричной настойке *Bryophyllum e foliis ferm 33b* методом хроматографии в тонком слое сорбента.

Хроматографическую камеру заполняют системой растворителей, состоящей из этилацетата, муравьиной кислоты и воды в соотношении 84:8:8. Закрывают крышкой во избежание испарения.

Приготовление исследуемого раствора. В делительную воронку отмеривают 2,5 мл матричной настойки и добавляют 15 мл этилацетата, встряхивают в течение 10 минут. Отделяют органическую фазу в колбу на 50 мл с притертой пробкой. Повторяют экстракцию водной фазы 5 мл этилацетата. Органические фазы объединяют и выпаривают, присоединив колбу с объединенными органическими фазами к водоструйному насосу. Остаток растворяют в 0,5 мл этанола.

Приготовление стандарта. В колбу отмеривают 10 мл метанола, добавляют 10 мг рутозида, 10 мг гиперозида и 10 мг галловой кислоты.

На хроматографической пластине «Силикагель 60 F₂₅₄ Merck» размером 20 × 20 см отмечают линию старта и микропипеткой наносят отдельно 20 мкл (0,02 мл) исследуемого раствора и 10 мкл (0,01 мл) стандарта в виде точек. Пластину помещают в вертикальную хроматографическую камеру, предварительно выстланную фильтровальной бумагой и насыщенную в течение 40 минут смесью растворителей. Когда фронт растворителей пройдет расстояние около 15 см, пластину вынимают, высушивают под вытяжным шкафом при комнатной температуре.

После удаления растворителей хроматограмму рассматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм, затем опрыскивают 1% раствором дифенилборилоксиэтиламина в метаноле и 5% раствором макрогола 400 в метаноле, наблюдают в дневном свете.

На хроматограмме раствора свидетеля должны обнаруживаться зона рутозида оранжевого цвета в нижней трети с R_f около 0,2, при переходе к средней трети зона гиперозида оранжевого цвета с R_f около 0,4 и зона галловой кислоты синего цвета с R_f около 0,9 в верхней трети.

На хроматограмме исследуемого раствора должны обнаруживаться выше уровня стандарта рутозида одна — две оранжевые зоны адсорбции с R_f около

0,25—0,35, между уровнями контрольных веществ гиперозид и галловой кислоты 2—4 бледно-желтые зоны адсорбции с R_f около 0,6—0,7, выше зоны адсорбции галловой кислоты 1—2 желтоватые или голубоватые зоны адсорбции с R_f около 0,9. На уровне галловой кислоты может появляться ярко-синяя зона адсорбции.

Результаты хроматографирования флавоноидных соединений методом хроматографии в тонком слое сорбента в системе растворителей этилацетат — муравьиная кислота — вода (84:8:8) указаны в табл.

Таблица

Величины R_f , цвета зон адсорбции при хроматографировании флавоноидных соединений

Объект	№ зон адсорбции	R_f	R_{fst}	Цвет зон адсорбции после проявления 1% раствором дифенилборилоксиэтиламина в метаноле, 5% раствором макрогола 400 в метаноле в дневном свете
Рутозид	1	0,26	0,23	оранжевый
	2	0,35	0,23	оранжевый
Гиперозид	3	0,63	0,47	бледно-желтый
	4	0,78	0,47	бледно-желтый
Галловая кислота	5	0,96	0,93	желтоватый

Разработанные методики позволяют стандартизировать настойку гомеопатическую матричную *Bryophyllum e foliis ferm 33b* по флавоноидным соединениям.

Качественное и количественное определение биологически активных веществ в матричной настойке *Bryophyllum e foliis ferm 33b* можно провести при помощи хроматографии в тонком слое сорбента, высокоэффективной жидкостной хроматографии, а также используя метод Steigbild, широко применяемый при внутриаптечном контроле в гомеопатических аптеках Германии.

Steigbild (в переводе с немецкого, «картина фронта») — вид восходящей бумажной хроматографии матричных настоек, иллюстративно-творческий метод антропософского исследования, оценки качества и «жизненной силы» субстанций [4, 5].

Для получения Steigbild в качестве опытных образцов использовалась настойка матричная ферментированная водная *Bryophyllum e foliis ferm 33b*. Для сравнения водных и водно-спиртовых настоек использовались *Bryophyllum e foliis ferm 33b*, с одной стороны, и *Bryophyllum e foliis 20%*, *Bryophyllum e foliis 50%* — с другой. Хроматограммы опытных образцов *Bryophyllum e foliis ferm 33b*, *Bryophyllum e foliis 20%* и *Bryophyllum e foliis 50%* ставились непосредственно после приготовления.

В нашем исследовании применялась фильтровальная бумага (ГОСТ 12026-76), закрепленная в виде цилиндра. Цилиндр устанавливался в круглую хроматографическую камеру, в которую предварительно помещался опытный образец. Затем в камеру добавляли систему растворителей: серебра нитрат 0,25% и железа сульфат (II) 0,25%. Давали подняться фронту растворителей. Полученный Steigbild высушивали, исследовали при дневном свете, а также в ультрафиолетовом при длине волны 365 нм. На хроматограммах наблюдали три ос-

новых фронта. Первый фронт был расположен на расстоянии 2—3 см от основания. Второй — фронт серебра нитрата — превосходил первый на 1 см. Фронты первой и второй фазы после высушивания хроматограммы имели вид горизонтальных линий. Третий фронт — сульфата железа — имел высоту подъема около 12 см.

Полученные Steigbild свидетельствуют о наглядности данного метода при идентификации матричных настоек. Steigbild *Bryophyllum e foliis ferm 33b* указывает на максимальную вытяжку биологически активных веществ из побегов каланхое Дегремона. Меньшее представление о биологически активных веществах дают Steigbild *Bryophyllum e foliis 20%* и Steigbild *Bryophyllum e foliis 50%*, где в качестве сырья для приготовления настойки использовались побеги измельченные, а консервантом служил этанол 20% и 50% соответственно.

Следовательно, наряду с высокоэффективной жидкостной хроматографией и хроматографией в тонком слое сорбента в экспресс-анализе настоек матричных ферментированных водных в гомеопатических аптеках и контрольно-аналитических лабораториях можно использовать Steigbild как один из эффективных и экономичных методов стандартизации.

Таким образом, в результате исследований установлен внешний вид настойки *Bryophyllum e foliis ferm 33b* — жидкость желто-коричневого цвета со слабым специфическим запахом. Определены чувствительные качественные реакции на флавоноидные соединения.

Разработана методика определения подлинности настойки *Bryophyllum e foliis ferm 33b* методом хроматографии в тонком слое сорбента, включающая пробоподготовку путем концентрирования аликвоты с растворением сухого остатка в органической фазе (этилацетат), приготовление стандарта (рутозид, гиперозид, галловая кислота в метаноле) и хроматографирование в системе растворителей этилацетат, муравьиная кислота, вода в соотношении 84 : 8 : 8.

Полученные методики позволяют стандартизировать настойку гомеопатическую матричную *Bryophyllum e foliis ferm 33b* по флавоноидным соединениям.

На основании проведенных исследований разработаны разделы проекта фармакопейной статьи на настойку матричную ферментированную (водную) *Bryophyllum e foliis ferm 33b* для гомеопатической фармакопеи России.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] *Краснюк И.И., Михайлова Г.В.* Фармацевтическая гомеопатия. — М.: Академия, 2005. — 272 с.
- [2] *Костенникова З.П., Акашкина Л.В., Островский А.З.* Введение в гомеопатическую фармацию. — М.: Симилия, 2003. — 208 с.
- [3] Сборник фармакопейных статей по гомеопатии / Под научной редакцией члена-корреспондента АМН, профессора Р.У. Хабриева. — М., 2005.
- [4] *Strüh J.* Grundlegende Phänomene bei der Ausbildung der Steigbildformen. Bildtypen und pharmazeutische Prozesse // *Elemente der Naturwissenschaft.* — 1987 — 46. — Sondernummer. — S. 22—35.
- [5] *Mandera R.* Zur Metamorphose von Pflanzenorganen, Substanzenqualitäten und Bildtypen im Steigbild // *Tycho de Brahe* Jahrbuch für Goetheanismus. — 1998 — 53. — S. 281—310.

**STANDARTIZATION TECHNIQUES
OF THE HOMEOPATHIC MATRIX FERMENTED TINCTURES
ON EXAMPLE OF BRYOPHYLLUM E FOLIIS FERM 33B**

M.I. Volzhanova, S.N. Suslina

Department of general pharmaceutical and biomedical technology
Medical faculty
Peoples' Friendship University of Russia
M-Maklaya str., 8, Moscow, Russia, 117198

R.A. Beilmann

ООО «Lekarstvennye sredstva WALA-R»
Konenkova str., 11a., Moscow, Russia, 127560

The purpose of this research is the development of approaches to standartization procedure of matrix tincture Bryophyllum e foliis ferm 33b. Particularly, an optimal technique for detecting biologically active substances in Bryophyllum e foliis ferm 33b using thin layer chromatography is obtained. Most parts of pharmacopoeia clause of Russian homeopathic pharmacopoeia for matrix fermented tincture Bryophyllum e foliis ferm 33b are written on the basis of research conducted.