

Resorpce herbálních složek do lidského organismu

V rámci výzkumných aktivit jsme se zabývali otázkou, do jaké míry dochází k resorpci herbálních složek přípravku Phyteneo Kolodium forte do lidského organismu. Předmětem našeho zájmu byla nativní rostlinná surovina *Thuja occidentalis* (Zerav západní), respektive její terminální větévky a nať sušené rostlinné suroviny *Chelidonium majus* (Vlaštovičník větší). Jelikož nejsou doposud k dispozici žádná relevantní data o resorpci výše uvedených látek, zrealizovali jsme spolu s lékařskou a přírodovědeckou fakultou University Palackého v Olomouci výzkumný projekt týkající se této problematiky. Níže uvádíme souhrn výsledků tohoto projektu.

Screening účinných látek

V první řadě bylo nutné provést screening účinných látek v rostlinných drogách s cílem, aby byly identifikovány a následně i kvantifikovány analyty, které (1) tvoří 90 % celkové plochy odezvy za použití příslušné metody, počínaje největším příspěvkem, (2) jejichž odezva vykazuje více než 5 % celkové plochy analytů a (3) pokud se u analytu nechají předpokládat toxikologicky významné vlastnosti, tzn. analyt je identifikovatelný na základě informací z knihovny spekter a existují dostupné informace o toxikologických nebo farmakologických účincích anebo lze na základě např. hmotnostního spektra předpokládat, že náleží do skupiny látek, o kterých existují dostupné informace o toxikologických nebo farmakologických účincích.

U drogy *Thuja occidentalis* byl screening prováděn technikou GC-MS a doplňkově také HPLC-MS. Výsledky jsou uvedeny v **tab. 1**, jedná se o přehled výsledků získaných pomocí GC-MS. Podle předpokladů technika HPLC identifikovala analyty, které z pohledu použití přípravku a studia resorpce nebyly relevantní. Podíl z celkové odezvy analytů je uvedený jako průměr 5ti paralelních měření z různých vzorků rostlinného materiálu.

Tučně vyznačené analyty byly vybrány jako markery kvality herbálních složek. Pro další měření nebyly vybrány analyty methylované cukry a glykosidy a to z důvodu, že lze předpokládat, že nejsou z hlediska farmakologického ani vzhledem k jejich potenciální toxicitě významné a proto nebyla ani dále zpřesňována jejich identifikace. Naopak, do dalších měření byly zahrnuty, přestože jejich relativní odezvy byly nižší než kritérium 5 %, analyty beta-phellandrene a fenchone. Do dalších měření byl dále zahrnut rovněž analyt pinene, který je do přípravku vnášen další přidávanou složkou a to čištěnou borovicovou silicí (*Terebinthinae etheroleum rectificatum*).

U drogy *Chelidonium majus* byl screening prováděn technikou HPLC-MS a doplňkově také GC-MS. Výsledky jsou uvedeny v **tab. 2**, jedná se o přehled výsledků získaných pomocí HPLC-MS. Podle předpokladů technika GC-MS neidentifikovala žádné relevantní analyty. Podíl z celkové odezvy analytů je uvedený jako průměr 5ti paralelních měření z různých vzorků rostlinného materiálu. Tučně vyznačené analyty byly vybrány jako markery kvality herbálních složek. Pro další měření nebyl vybrán pouze analyt O-glutaryl carnitine a to z důvodu, že není z hlediska farmakologického ani vzhledem k potenciální toxicitě významný. Naopak, do dalších měření byly zahrnuty, přestože jejich relativní odezvy byly nižší než kritérium 5 %, analyty protropine, berberine, sanguinarine a chelerythrine.

Testy resorpce

U přípravku Kolodium forte byla studována resorpce jednotlivých analytů resp. účinných látek. Obecně je žádoucí, aby resorpce u tohoto topicky aplikovaného přípravku byla minimální, tzn. aby léčba zasahovala organismus jen lokálně v místě použití a systémová expozice byla co nejmenší.

Resorpce byla stanovována za podmínek, které odpovídají jednorázové aplikaci v množství 0,2 ml přípravku.

V **tab. 3** je uveden přehled míry resorpce látek při aplikaci přípravku Kolodium forte. Hodnota míry resorpce je průměrem z 12ti vzorků kůže. Hodnota resorpce je vyjádřena jako procentuální poměr koncentrace analytu v akceptačním roztoku (tzn. množství, které prošlo kůží) oproti koncentraci analytu na té straně pokožky, kde byl nanesený přípravek Kolodium forte.

V **tab. 4.** je uveden přehled míry resorpce látek při aplikaci přípravku Kolodium forte. Hodnota míry resorpce je průměrem z 12ti vzorků kůže. Hodnota resorpce je vyjádřena jako absolutní množství jednotlivých látek, které by s ohledem na míru resorpce (viz tab. 4) bylo resorbováno pokožkou při nanesení jedné průměrné dávky (0,2 ml) přípravku Kolodium forte.

Závěr

Z výsledků je zřejmé, že míra resorpce se pohybuje na nízké úrovni do 10 %, výjma analytu protropin, kde hodnota resorpce značně vybočuje až na úroveň zhruba 26 %. Z hlediska systémové expozice organismu je množství látek, které při aplikaci přípravku na pokožku přecházejí do organismu, na velmi nízké úrovni. Tato v podstatě zanedbatelná míra systémové expozice je způsobená tím, že (1) při aplikaci provedené dle návodu k použití přípravku se nanáší relativně malé množství přípravku, (2) koncentrace sledovaných analytů v přípravku je relativně nízká a (3) míra resorpce je relativně velice nízká.

R _t (min)	m/z	název sloučeniny	podíl z celkové odezvy (%)
4		solvent	0,88
6,7	136	beta-phellandrene	1,1
14,05	152	fenchone	2,74
15,9	152	thujone	8,01
17	152	beta-thujone	1,76
19,6	152	camphor	0,66
31,5	196	bornyl acetate	0,66
40,7	204	caryophyllene	0,66
53		methylované cukry	10,65
57		methylované cukry	12,84
61		methylované cukry	17,45
68	272	phenanthrene, 7-ethenyl-1,2,3,4,4a,4b,5,6,7,8,8a,9-dodecahydro-1,1,4b,7-tetramethyl-, [4aS-(4a.alpha.,4b.beta.,7.alpha.,8a.alpha.)]-	1,43
71,3	272	17-Norkaur-15-ene, 13-methyl-, (8.beta.,13.beta.)-	1,43
78,5	296	phytol	0,66
86,3	286	glykosidy 1	6,15
87,9	302	Pimaric acid	1,87
88,5	302	neidentifikovaný analyt	0,66
92,5	302	glykosidy2	20,64
	288	androst-5-en-17.beta.-ol-3-one	0
93	302	abietic acid	2,31
110,1		neidentifikovaný analyt	1,1
110,8	400	neidentifikovaný analyt	1,87
111,6	398	furo[3',4':6,7]naphtho[2,3-d]-1,3-dioxol-6(5aH)-one, 5,8,8a,9-tetrahydro-5-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-, [5R-(5.alpha.,5a.beta.,8a.alpha.)]-	2,74
112,5	414	gama-Sitosterol	1,76

Tab. 1.: Přehled analytů a jejich relativních odezvy v nativní droze *Thuya occidentalis* získaných technikou GC-MS

R _t (min)	sumární vzorec	m/z	název sloučeniny	podíl z celkové odezvy (%)
1	C12H22NO6	276,1447	O-glutaryl carnitine	10,8
1,28	C27H27O6	447,1828	neidentifikováno	úroveň LOD
1,6	C16H29N2O10	409,183	neidentifikováno	úroveň LOD
1,73	C16H18NO3	272,1287	vittatine	1,03
1,84	C19H24NO3	314,1756	oblongine	úroveň LOD
1,96	C12H14NO3	220,0974	neidentifikováno	0,26
2,51	C19H22NO4	328,1549	scoulerine	úroveň LOD
2,58	C20H24NO4	342,1706	reticuline	0,9
2,73	C19H20NO4	326,139	cheilanthifoline	0,58
3,18	C20H20NO5	354,134	protopine	2,76
3,18	C21H24NO5	370,1655	allocryptopine	úroveň LOD
3,45	C46H33N2O9	757,2172	neidentifikováno	0,6
3,76	C19H17NO4	323,3425	stylopine	18,63
3,76	C20H20NO5	354,1342	chelidonine	7,98
3,76	C19H18NO4	324,1232	demethyleneberberine	úroveň LOD
4,14	C19H14NO4	320,0927	coptisine	26,12
5,09	C18H18NO4	312,1233	erythraline	0,46
5,55	C20H18NO4	336,1236	berberine	2,29
5,68	C20H14NO4	332,0919	sanguinarine	1,38
6,58	C28H33O16	625,1758	neidentifikováno	0,47
7,4	C21H18NO4	348,1234	chelerytrine	3,18
7,76	C18H20NO4	314,1397	neidentifikováno	2,14
11,78	C28H23N2O4	451,1658	neidentifikováno	0,53
	C15H31O15			
12,24	C30H27N2O6	511,187	neidentifikováno	0,35
12,82	C20H14NO5	348,0897	oxysanguinarine	3,88
13,21	C20H14NO4	332,0926	neidentifikováno	úroveň LOD
13,4	C22H18NO6	392,1136	spallidamine	4,03
13,4	C21H20NO4	350,1391	dihydrochelerytrine	úroveň LOD
14,15	C20H16NO4	334,1081	dihydrosanguinarine	11,63

Tab. 2.: Přehled analytů a jejich relativních odezev v surovině *Chelidonium majus* získaných technikou HPLC-MS. Pozn.: LOD = Limit Of Detection analytické metody

analyt	resorpce (%)
protopine	26,1
chelidonine	9,2
coptisine	6,4
stylopine	3,9
berberine	3,9
sanguinarine	0
chelerytrine	0
dihydrochelerytrine	0
dihydrosanguinarine	0
pinen	2,7
beta- phellandrene	0,2
fenchone	3
thujone	1,6
beta-thujone	6,6

Tab. 3.: Přehled míry resorpce látek při aplikaci přípravku *Kolodium forte* (v %)

analyt	resorpce (ng)
protopine	91,704
chelidonine	20,914
coptisine	19,578
stylopine	16,146
berberine	1,05
sanguinarine	0
chelerythrine	0
dihydrochelerythrine	0
dihydrosanguinarine	0
pinen	0,001
beta- phellandrene	0
fenchone	0
thujone	0,083
beta-thujone	0,001

Tab. 4.: Přehled míry resorpce látek při aplikaci přípravku Kolodium forte (v absolutním množství)