

Antiflogistické hydrogély na báze ľalie bielej

ZUZANA VITKOVÁ¹, DANIEL GRANČAI², MÁRIA HALADOVÁ², PETRA HERDOVÁ¹,
MÁRIA CUPÁKOVÁ³, DRAHOMÍRA RAUOVÁ³

¹Univerzita Komenského Bratislava, Farmaceutická fakulta, Katedra galenickej farmácie

²Univerzita Komenského Bratislava, Farmaceutická fakulta, Katedra farmakognózie a botaniky

³Univerzita Komenského Bratislava, Farmaceutická fakulta, Toxikologické a antidopingové centrum

Došlo 31. ledna 2011 / Prijato 11. dubna 2011

SÚHRN

Antiflogistické hydrogély na báze ľalie bielej

Príspevok sa zaoberá formuláciou hydrogélů na báze karboméru s etanolovým extraktom ľalie bielej s protizápalovým účinkom. Účinné látky spracované do hydrogélů boli vo forme 60% a 80% etanolového extraktu z ľalie bielej a etanolového ľaliového extraktu, ktorý dodala Calendula, a. s., Nová Lubovňa. Tokové vlastnosti pripravených hydrogélů sa hodnotili rotačným viskozimetrom 2., 7., 14. a 28. deň od prípravy. Na základe získaných výsledkov vykazoval najvýhodnejšie tokové vlastnosti 1% karbopolový hydrogél s obsahom 2,4 % 80% etanolového ľaliového extraktu. Na základe liberácie účinných látok z pripravených hydrogélů a samotných etanolových extraktů ľalie bielej sa gravimetricky stanovil obsah extraktívnych látok. Tento obsah sa štandardizoval na hlavnú flavonoidnú zložku – kempferol – kolorimetricky. Vzhľadom na najvyšší obsah kempferolu a optimálne reologické vlastnosti bol vyhodnotený ako najvhodnejší hydrogél s obsahom 2,4 % 80% etanolového extraktu ľalie bielej.

Kľúčové slová: hydrogél – karbopol – ľalia biela – reologické parametre – liberácia

Čes. slov. Farm., 2011; 60, 189–192

SUMMARY

Antiphlogistic hydrogels based on the white lily

The paper describes the formulation of hydrogels based on carbopol with an ethanol extract of the white lily with an anti-inflammatory effect. The active ingredients of the hydrogel were in the form of 60% and 80% ethanol extracts from the white lily and the ethanol lily extract supplied by Calendula, a. s. Nová Lubovňa, Slovakia. Flow characteristics of the prepared hydrogels were evaluated by a rotational viscosimeter on the 2nd, 7th, 14th and 28th days after preparation. Based on the achieved results, the best flow characteristics were obtained from 1% carbopol hydrogel with a 2.4% concentration of 80% ethanol lily extract. According to the liberation of the active ingredients from the prepared hydrogels as well as the solitary ethanol extracts of the white lily, the content of extractive compounds was determined by the gravimetric method. The content was then colorimetrically standardized to the main flavonoid part – kempferol. Due to the highest content of kempferol and its optimal rheological properties, the hydrogel with 2.4% of 80%-ethanol extract of the white lily was evaluated as the most suitable one.

Key words: hydrogel – carbopol – white lily – rheological parameters – liberation

Čes. slov. Farm., 2011; 60, 189–192

Má

Adresa pro korespondenci:

PharmDr. Petra Herdová

Katedra galenickej farmácie FaF UK

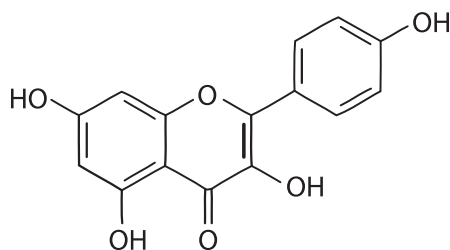
Odbojárov 10, 832 32 Bratislava, Slovenská republika

e-mail: herdova@fpharm.uniba.sk

Úvod

Etanolvý extrakt ľalie bielej sa vyznačuje predovšetkým protizápalovými, protikvasinkovými a adstringentnými účinkami^{1, 2)}. Práve kvôli širokej použiteľnosti extraktov tejto rastliny je v súčasnosti tendencia ich formulácie do liekovej formy hydrogélou pre terapeutické použitie.

Ľalia biela (*Lilium candidum* L.) je trváca bylina, pôvod má v Stredomorí, u nás sa pestuje približne od 16. storočia. Staroveké národy ju pestovali na okrasné účely, aj keď jej široká indikačná paleta bola známa už v antike. Často používaný a obľúbený bol hlavne výťažok



Obr. 1. Štruktúra kempferolu

z kvetov v olivovom oleji kvôli svojmu výraznému protizápalovému účinku. Liehové a olejové extrakty z kvetov a cibúľ majú protizápalové a adstringentné pôsobenie, urýchľujú čistenie zahnisaných rán, sú vhodné na rany a popáleniny menšieho rozsahu. Sú používané aj pri akné, opuchoch, zápaloch nechťového lôžka a pri dermatitídach³⁾. V posledných rokoch sa v extraktoch zistila protinádorová¹⁾ a protikvasinková aktivita⁴⁾. Bol tiež preukázaný inhibičný účinok na lipoxigenázu²⁾.

Obsahové látky *Lilium candidum* L. sú predmetom dlhodobého výskumu. Z ľalie bielej boli izolované a identifikované látky rôzneho charakteru a rôznej chemickej štruktúry. Jedná sa hlavne o organické kyseliny, flavonoidy, glykozidy, steroidné zlúčeniny a dusíkaté látky. Hlavným flavonoidom obsiahnutým v kvetoch ľalie bielej je kempferol, ktorý je účinným inhibítorom enzýmu lipoxigenázy. Lipoxigenázy majú kľúčovú úlohu v procese biosyntézy leukotriénov, ktoré majú významnú úlohu v patofyziológii niektorých zápalových ochorení. Okrem kempferolu (obr. 1) ako najúčinniejšieho inhibítora uvedeného enzýmu vykazujú inhibičné účinky aj dusíkaté zlúčeniny (jatropham, jeho glukozid, dimérne dusíkaté zlúčeniny). V prípade steroidných saponínov bola zistená len 20% inhibícia^{2, 5-9)}.

Karbopolové gély patria do skupiny univerzálnych pomocných látok, ktoré sú čoraz častejšie používané vo farmaceutickej technológii. Carbopol® 940 patrí medzi umelé (syntetické) aniónové polyméry kyseliny akrylovej. Farmaceuticky používané polyakryláty sa vyrábajú pod názvom Carbopol 934, 940. Sú to vo vode málo sa rozpúšťajúce biele prášky, ktorých disperzie majú vo vode pH 3 a približne rovnakú viskozitu ako voda. Koloidný charakter získavajú až po neutralizácii anorganickými alebo organickými zásadami. Používa sa napríklad hydroxid sodný, amoniak, ale tiež amíny (trolamín).

Zásada sa pridáva až po dosiahnutí pH 6–7, lebo pri ňom má disperzia najvyššiu viskozitu, ktorá sa ďalším zvyšovaním pH po 10 už nemení. Koloidné sústavy polyakrylátov sú číre a tiež bezfarebné. Koagulujú už pri nízkych koncentráciách vápenatých a hlinitých solí, ale tiež sú citlivé na iné soli. Môžu obsahovať do 35 % liehu¹⁰⁻¹²⁾.

Karbopolové gély sa využívajú hlavne ako zahusťovadlá roztokov, stabilizátory emulzií a suspenzií, pri výrobe tabliet a kapsúl. Pre svoje bioadhezívne vlastnosti môžu byť použité pri výrobe nasálií, bukálií, vaginálií a rektálií. Osvedčili sa tiež ako vhodný materiál pri príprave liekov s riadeným uvoľňovaním, pretože zlepšujú ich biologickú dostupnosť. Sú tepelne stabilné, nealergizujú a sú fyziologicky inertné. Samotný gél je účinný ako chladivé externum pri svrbivých a mierne zápalových prejavoch, napríklad po uštipnutí hmyzom. Hydrogély sú tiež vhodné základy pre steroidné hormóny, pre nesteroidné protizápalové liečivá, antiseptiká, antiseboroiká, antiaknózne liečivá a mnohé iné z rôznych farmakologických skupín. Tiež majú svoj nezastupiteľný význam v telovej i vlasovej kozmetike, ale aj v oftalmológii¹³⁾.

POKUSNÁ ČASŤ

Použité suroviny

Tekutý extrakt ľalie bielej – Calendula, a. s., Nová Lubovňa; 80% a 60% etanolvý extrakt čerstvých kvetov *Lilium candidum* L. – pripravila katedra Farmakognózie a botaniky FaF UK; etanol 80%; etanol 60% (Ethanolum 96% SL 1 – Liehovary, Leopoldov, SR); čistená voda (Aqua purificata SL 1 – FaF UK, SR); trolamín (Trolaminum SL – Slovakofarma a.s., SR); Carbopol® 940 – (Noveon, Inc., USA).

Použité prístroje

Analytické váhy – Mettler-Toledo Ag, Greinfensee Swiss, dodal ARID Brno, (CZ); elektrická miešačka – WEB ML W Prüfgeräte – Werk (Nemecko); Viskotester VT 500 – Haake Mess-Technik GmbH (Nemecko), pH meter – Metrohm (Švajčiarsko); vákuová rotačná odparovačka – Vacuum rotary evaporator type 350, Unipan, (Poľsko); kolorimeter – CARL ZEISS JENA (SPECOL; Nemecko).

Príprava tekutých extraktov *Lilium candidum* L.

Čerstvé kvety ľalie bielej (600 g) sa zaliali (2 × 5 l) 80% etanolom a rovnako sa 600 g čerstvých kvetov zalialo (2 × 5 l) 60% etanolom a nechali macerovať za studena po dobu 2 × 7 dní. Maceráty sa prefiltrovali cez filtračný papier.

Zloženie hydrogélou

Pripravili sa 1% gély Carbopolu® 940 (CAR) s prísadou: 80% a 60% pripraveného etanolového extraktu ľalie

bielej (ELB) a etanolového ľaliového extraktu od výrobcu Calendula, a. s., (CAL). Na upravenie pH sa použil trolamín (TRA). Pripravené gély boli skladované 48 hodín pri teplote 5 °C.

Blank: 1% CAR + TRA + H₂O

Vzorka č. 1: 1% CAR + 2,4 % (80%) ELB + TRA + H₂O

Vzorka č. 2: 1% CAR + 4,8 % (80%) ELB + TRA + H₂O

Vzorka č. 3: 1% CAR + 1,8 % (60%) ELB + TRA + H₂O

Vzorka č. 4: 1% CAR + 3,6 % (60%) ELB + TRA + H₂O

Vzorka č. 5: 1% CAR + 1,8 % CAL + TRA + H₂O

Vzorka č. 6: 1% CAR + 3,6 % CAL + TRA + H₂O

Liberácia účinných látok z hydrogélů

Uvoľňovanie obsahových látok sa robilo na permeačnej aparátúre zostavenej zo šiestich sklenených komôrok uložených v dvoch radoch za sebou. Komôrky boli vzájomne prepojené prostredníctvom plastových hadičiek, v ktorých cirkulovala termostatom vyhrievaná voda o teplote 37 °C. Do vonkajšej strany komôrky bol lokalizovaný výhrevný plášť. Permeačná komôrka bola zložená z donátorovej a akceptorovej časti, oddelených membránou – celofánová fólia. V akceptorovej časti bolo umiestnené magnetické miešadlo otáčajúce sa okolo svojej osi. Na celofánovú membránu sa navázilo 3,0 g hydrogélů. Do akceptorovej časti komôrky sa napipetovalo 20,0 ml vody. Obsah komôrok sa temperoval a premiešaval po celý čas uvoľňovania. Z akceptorovej časti permeačnej komôrky sa po 3 hodinách odobrálo po 10 g vzorky a použilo na určenie obsahových látok.

Stanovenie extraktívnych látok a kolorimetrické stanovenie kempferolu

Odobraté vzorky (vodné roztoky získané po uvoľňovaní z gélov) sa odparili pomocou rotačnej vákuovej odparovačky. Z odparku sa vypočítalo percento extraktívnych látok.

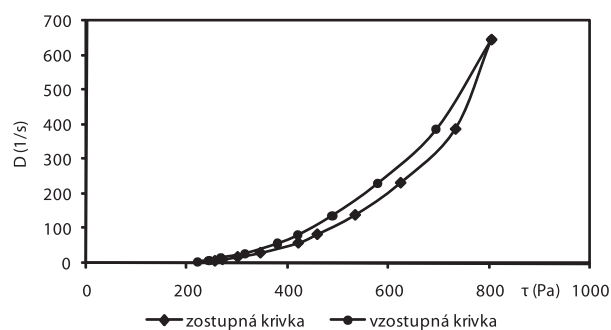
Stanovila sa absorbancia odparkov rozpustených v acetóne pri vlnovej dĺžke 410 nm, ako blank sa použil acetón. Z nameraných absorbancií sa z kalibračnej krivky kempferolu v acetóne odčítal obsah kempferolu (v mg) a vypočítalo množstvo uvoľneného kempferolu z hydrogélů.

Stanovenie tokových vlastností

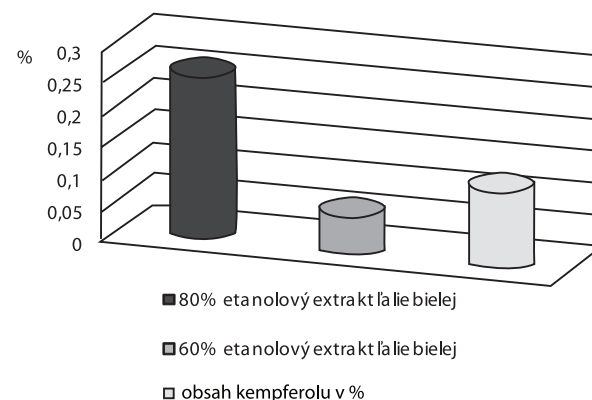
Reologické vlastnosti hydrogélů sa stanovili po 2, 7, 14 a 28 dňoch po príprave hydrogélů podľa práce¹⁴⁾.

VÝSLEDKY

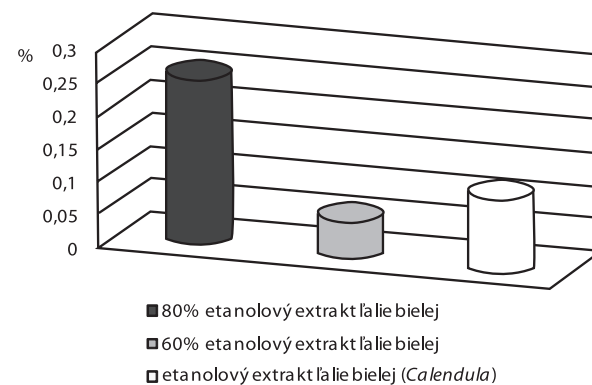
Tixotropia je vo farmaceutickej technológii dermálnych polotuhých liekov výhodnou vlastnosťou, pretože mechanickým pôsobením (roztriepaním na pokožku, pretrepaním) sa viskozita zníži, čím sa dosiahne lepšie uvoľnenie liečiva z tejto liekovej formy a následne keď mechanická sila prestane pôsobiť, pôvodná štruktúra a viskozita sa obnovia.



Obr. 2. Toková krivka vzorky č. 1



Obr. 3. Obsah kempferolu (%) v etanolových extraktoch ľalie bielej

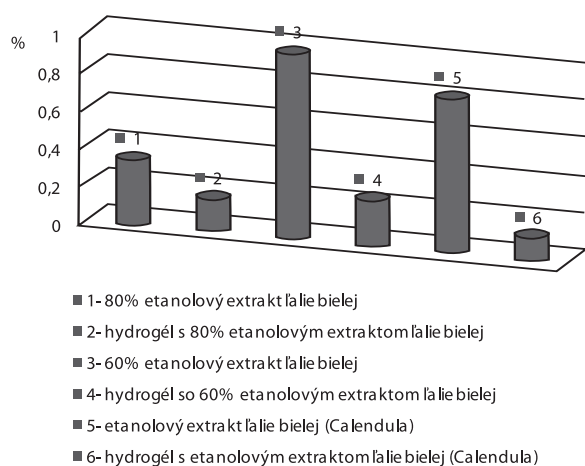


Obr. 4. Obsah kempferolu (%) v hydrogélůch s etanolovým extraktom ľalie bielej

Tejto požiadavke z pripravených hydrogélů najviac vyhovovala vzorka č. 1 s obsahom 2,4 % 80% etanolového extraktu ľalie bielej, ktorá si zachovala tixotropný charakter aj po 28 dňoch od prípravy (obr. 2).

U hydrogélů s etanolovým extraktom ľalie bielej (Calendula a. s., Nová Ľubovňa) nebol pozorovaný významný rozdiel tixotropie medzi dvoma použitými koncentraciami. Výhodnejšími tokovými vlastnosťami disponoval hydrogél s obsahom 3,6 % etanolového extraktu ľalie bielej (vzorka č. 6).

Stanoveniu obsahu extraktívnych látok v jednotlivých hydrogélůch predchádzalo trojhodinové uvoľňovanie v permeačnej aparátúre. Obsah extraktívnych látok sa hodnotil gravimetricky presná hmotnosť vzorky (10 g) odobratej z permeačnej aparátúry sa odparila pomocou



Obr. 5. Percentuálne zastúpenie extraktívnych látok v hydrogélloch a čistých extraktoch

rotačnej vákuovej odparovačky, čím sa získal odparok, ktorý sa odvážil. Keďže odparovaním dochádza k stratám prchavých zložiek ľaliového extraktu, nehodnotilo sa zastúpenie obsahových látok, ale extraktívnych látok. Obsah týchto látok sa následne štandardizoval na kempferol – hlavnú zložku ľaliového extraktu flavonoidnej štruktúry. Pre porovnanie sa hodnotil tiež obsah extraktívnych látok a kempferolu priamo v 60% a 80% etanolových extraktoch a v ľaliovom extrakte z Calendula a. s. (bez spracovania do hydrogéllov).

V rámci extraktov sa najväčší odparok získal zo 60% etanolového extraktu ľalie bielej (0,98 %) a extraktu dodaného Calendulou, a. s. (0,82 %). Percentuálne zastúpenie kempferolu bolo však v 60% etanolovom extrakte ľalie bielej najnižšie (0,06 %), v v prípade etanolového extraktu ľalie bielej z Calendula, a. s., bol zistený dvojnásobne vyšší obsah kempferolu (0,12 %). Najvyššie zastúpenie kempferolu (0,26 %) bolo zistené v 80% etanolovom extrakte ľalie bielej (obr. 3).

Pri porovnaní liberácie kempferolu z pripravených hydrogéllov s etanolovým extraktom ľalie bielej boli namerané hodnoty výrazne nižšie ako boli zistené pri samotných etanolových extraktoch ľalie bielej. Tak ako aj pri liberácii etanolových extraktov ľalie bielej, tak i v prípade ich hydrogéllov bol zistený najvyšší obsah kempferolu v hydrogéli s 80% etanolovým extraktom ľalie bielej (0,15 %). Druhý najvyšší obsah bol zistený tak isto v prípade hydrogéllov s obsahom etanolového extraktu ľalie bielej z Calendula, a. s. (0,05 %) a najmenšie percento kempferolu obsahoval gél so 60% etanolovým extraktom ľalie bielej (0,035 %) (obr. 4).

ZÁVER

Na základe výsledkov merania reológie a liberácie možno konštatovať, že na výrobu hydrogéllov s etanolovým extraktom ľalie bielej je najvhodnejší hydrogél

s 80% etanolovým extraktom ľalie bielej. V prípade tohto hydrogéllov bolo nameraný najvyšší obsah kempferolu a zároveň gél vykazoval žiaduce tixotropné vlastnosti, ktoré zostali zachované i po 28 dňoch skladovania.

Tento výskum bol podporený grantami VEGA č. 1/0024/11 a 1/0059/11 a grantom FaF UK 2/2011.

LITERATÚRA

1. Vacháľková, A., Eisenreichová, E., Haladová, M., Mučaji, P., Józová, B., Novotný, L.: Potential carcinogenic and inhibitory activity of compounds isolated from *Lilium candidum* L. *Neoplasma* 2000; 47, 313–318.
2. Bezáková, L., Mučaji, P., Eisenreichová, E., Haladová, M., Pauliková, I., Obložinský, M.: Effect of different compounds from *Lilium candidum* L. on lipoxygenase activity. *Acta Facult. Pharm. Univ. Comenianae* 2004; 51, 45–50.
3. Mučaji, P., Haladová, M., Eisenreichová, E.: Stanovenie extraktívnych látok a vybraných sekundárnych metabolitov v *Lilium candidum* L. *Farm. Obzor* 2006; 75, 10–13.
4. Mučaji, P., Hudecová, D., Haladová, M., Eisenreichová, E.: Protikvasinková aktivita etanolových extraktov *Lilium candidum* L. *Čes. slov. Farm.* 2002; 51, 297–300.
5. Eisenreichová, E., Mašterová, I., Bučková, A., Haladová, M., Tomko, J.: Obsahové látky *Lilium candidum* L. *Čes. slov. Farm.* 1985; 34, 408–409.
6. Haladová, M., Eisenreichová, E., Mučaji, P., Buděšínský, M., Ubík, K.: Steroidal saponins from *Lilium candidum* L. *Collect. Czech. Chem. Commun.* 1998; 63, 205–210.
7. Mučaji, P., Haladová, M., Eisenreichová, E., Buděšínský, M., Ubík, K.: Jatropham 5-O-β-D-glucopyranoside from *Lilium candidum* L. *Collect. Czech. Chem. Commun.* 1996; 61, 1662–1664.
8. Uhrín, D., Bučková, A., Eisenreichová, E., Haladová, M., Tomko, J.: Constituents of *Lilium candidum* L. *Chem. Papers* 1989; 43, 793–796.
9. Haladová, M., Eisenreichová, E., Bučková, A., Tomko, J., Uhrín, D., Ubík, K.: Dimeric pyrrolidine alkaloids from *Lilium candidum* L. *Collect. Czech. Chem. Commun.* 1991; 56, 436–438.
10. Chalabala, M., et al.: Liekové formy. 2.vyd. Martin: Osveta 1985; 360 s.
11. Lichnerová, I., Souadatou, D.: Tokové vlastnosti gélov Carbopolu 934. *Farm. Obzor* 1993; 62, 187.
12. Juránek, I., Suchý, V., Stará, D., Mašterová, I., Grančaiová, Z.: Antioxidative activity of hemioisoflavonoids from *Muscari racemosum* and *cinnabari*. *Pharmazie* 1993; 48, 310.
13. Brázdovičová, B., Vitková, Z., Grančaiová, K., Liščáková, A.: Vplyv exogénnych faktorov na reologické vlastnosti hydrogéllov Carbopolu®940 s Bukofitom. *Farm. Obzor* 2008; 77, 211–214.
14. Vitková, Z., Herdová, P., Šubová, M., Šimunková, V.: Formulácia chlórhexidínu do hydrogéllov. *Čes. slov. Farm* 2009; 58, 116–118.