

PŮVODNÍ PRÁCE

Formulácia benzetóniumchloridu do gélov

Formulation of benzethonium chloride into gels

Jozef Čižmárik • Zuzana Vitková • Petra Herdová • Alexandra Kodadová • Daniel Vími

Došlo 13. mája 2014 / Prijato 23. mája 2014

Súhrn

Predmetom tejto štúdie bolo pripraviť gély s antimikrobiálnym účinkom. Vo funkcii liečiva bola použitá kvartérna amóniová soľ – benzetóniumchlorid v koncentrácii 0,01–0,5 % (m/m). Vo funkcii humektantu bol použitý propylénglykol v 5 % a 10 % (m/m) koncentrácii. Na prípravu gélov boli použité dva typy katiónových polymérov – chitosan a hydroxyetylcelulóza, v rovnakej koncentrácii 2,5 % (m/m). V práci sa hodnotili tokové vlastnosti pripravených gélov, ich reologické parametre a pH gélov. Na základe vyhodnotenia dosiahnutých výsledkov boli vyhodnotené vzorky optimálneho zloženia pre gél na báze CHIT a HEC:

2,5 % (m/m) CHIT + 0,05 % (m/m) BZCl + 10 % (m/m) PG;
2,5 % (m/m) HEC + 0,05 % (m/m) BZCl + 5 % (m/m) PG.

Kľúčové slová: benzetóniumchlorid • chitosan • hydroxyetylcelulóza • tokové vlastnosti.

Summary

This study is focused on the preparation of gels with antimicrobial effects. A quaternary ammonium salt, benzethonium chloride, in a concentration of 0.01–0.5% (w/w) was employed as the drug. The humectant employed was propylene glycol in concentrations of 5% and 10% (w/w). Two types of polymers, chitosan and hydroxyethyl cellulose, in the same concentrations of 2.5% (w/w), were used for gel preparation. Finally the flow properties, rheological parameters and pH values of the gels were evaluated. Based on the obtained results, the

samples of the gels prepared on the basis of chitosan and hydroxyethyl cellulose, which have the following optimum composition shown below, were found:

2.5% (w/w) CHIT + 0.5% (w/w) BZCl + 10% (w/w) PG;
2.5% (w/w) HEC + 0.5% (w/w) BZCl + 5% (w/w) PG.

Keywords: benzethonium chloride • chitosan • hydroxyethyl cellulose • rheological properties

Úvod

Dezinficiencia a antiseptiká patria medzi liečivá s účinkom antiinfekčným a antiparazitárnym – protiinfekčné liečivá. Medzi protiinfekčnými liečivami ako profylaktiká a terapeutiká majú popredné miesto. Ako dezinficiencia sa označujú látky s baktericídny účinkom, ktoré usmrcujú patogény vo vonkajšom prostredí. Antiseptiká blokádou rozmnožovania patogénnych aj nepatogénnych mikroorganizmov vo vonkajšom prostredí aj vo vnútri organizmu účinkujú prednostne baktériostaticky¹⁾.

Kvartérne amóniové zlúčeniny majú medzi dezinficienciami a antiseptikami dominantné postavenie. Antimikrobiálne účinné kvartérne amóniové soli (QAC) patria do skupiny katiónových tenzidov, nakoľko nevyhnutnou podmienkou antimikrobiálneho účinku je amfifilný charakter kvartérneho katiónu. V najjednoduchšom prípade sa jedná o dlhší nevetvený reťazec, používajú sa aj zložitejšie štruktúry ako napr. benzetóniumchlorid, ktorý bol použitý v tejto štúdií. Obsahujú centrálny dusíkový atóm, ktorý je spojený so štyrmi radikálmi a jedným kyselinovým radikálom. Organický radikál môže byť napríklad alkyl, aryl, alebo aralkyl (alkylový radikál, kde jeden alebo viac vodíkov je nahradených arylovou skupinou) a dusík môže byť časťou kruhovej siete. QAC preukazujú rôzne chemické, fyzikálne a biologické vlastnosti a väčšina z nich je rozpustná vo vode. Ak vezmeme do úvahy štruktúru, tak QAC delíme do niekoľkých skupín a to, monokvartérne amóniové soli, bikvartérne soli, biguanidy a polymérne biguanidy^{2, 3)}.

Porovnaním mechanizmu účinku jednotlivých skupín zistíme, že vykazujú isté podobnosti. Kladne nabité molekuly QAC sa viažu na záporne nabitú bakteriálnu membránu buniek, čím dochádza k ovplyvneniu permeability

J. Čižmárik • Z. Vitková • PharmDr. Petra Herdová, PhD. (✉)
Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta,
Katedra farmaceutickej chémie
Odbojárov 10, 832 32 Bratislava, SR
e-mail: herdova@fpharm.uniba.sk

A. Kodadová • D. Vími
Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta
Katedra galenickej farmácie

bunky, strate enzýmův, koenzýmův a mezuproduktův metabolismu a následnému zániku bunky. Samotný účinek sa líši od QAC a od druhu baktérie. Navyše QAC sú zvyčajne formulované s prísadami, ktoré menia ich vlastnosti a tým môže byť ich antimikrobiálny profil zosilnený a odlišný od profilu čistého QAC. Na tomto mieste treba poznamenať, že QAC nemožno kombinovať s aniónovými tenzidmi, nakoľko sa spolu zrážajú na nerozpustný aglomerát^{2, 3)}.

QAC sa používajú najčastejšie v koncentračnom rozsahu 1 : 20 000 až 1 : 100, závisí to od kritickej micelárnej koncentrácie konkrétnej QAC. Pôsobia spoľahlivo baktericídne proti širokému spektru baktérii, hlavne gram-pozitívnym, spoľahlivosť u vírusov, húb a tuberkulózných baktérii nie je dobrá. Ich účinnosť silno závisí aj na prostredí, alkalické prostredie ich účinkom uľahčuje. Veľkou výhodou tejto skupiny je nízka lokálna a systémová toxicita⁴⁾.

V súčasnej dobe sa čoraz väčšia pozornosť venuje hydrogélom, ktoré sa stali medzi pacientami veľmi obľúbené nielen z hľadiska ľahkej aplikácie a možnosti aplikácie kedykoľvek v priebehu dňa, nakoľko nezanechávajú mastný pocit a rýchlo sa vstrebávajú, ale aj z miníma nežiaducich účinkov.

Hydrogély sú hydrofilné molekulové koloidné disperzie. Sú to gély reverzibilné. Vzhľadom na vysoký obsah vody sú mikrobiologicky nestále, často sú stabilizované konzervantmi. Napriek tejto nestabilite sú veľmi často používanými farmaceutickými disperziami vo funkcii stabilizátorov emulzií, suspenzií, regulátorov viskozity, stabilizátorov čapíkových základov⁵⁾.

Pri spracovaní liečiva do vhodnej liekovej formy má dôležitú úlohu výber vhodných pomocných látok, pretože aj od nich závisí konečná kvalita, stabilita a účinnosť lieku. Okrem správnej voľby gélovornej látky ovplyvňuje dostupnosť liečiva z hydrogélův aj jej koncentrácia, od ktorej zase závisí štruktúrna viskozita hydrogélů. Pomocné látky umožňujú formovanie liekovej formy, určujú jej vlastnosti, ovplyvňujú biologickú dostupnosť, majú vplyv na stabilitu liekov.

Cieľom tejto práce bolo pripraviť gél s obsahom liečiva benzetóniumchlorid, ktorý disponuje optimálnymi vlastnosťami z hľadiska dermálnej aplikácie. V práci sa sledoval vplyv koncentrácie liečiva a vybraných pomocných látok zo skupiny humektantův (propylénglykol) a polymérov (chitosan, hydroxyetylcelulóza) na pH a tokové vlastnosti gélov.

Pokusná časť

Použitá chemikálie

Benzetóniumchlorid (BZCl) – Benzetónii chloridum SL1 – Sigma – Aldrich, USA; Hydroxyetylcelulóza – Natrosol 250 HR (HEC) – (Aqualon, USA); Chitosan – stredná molekulová hmotnosť – stupeň deacetylácie 75–85 % (CHIT) – Sigma – Aldrich, USA; Propylénglykol (PG) – (Merck, Darmstadt, Nemecko); kyselina mliečna – Interpharm, SR; čistená voda – FaF UK, Bratislava, SR.

Použitá prístroje a materiál

Analytické váhy – Kern & Sohn GmbH (Nemecko); elektrická miešačka VEB ML W Prüfgeräte – Werk (Nemecko); Viskotester VT 500 – Haake Mess-Technik GmbH (Nemecko); pH meter – WTW Weilheim (Švajčiarsko); Termostat U 10-Prüfgeräte – Werk Medingen, (Nemecko).

Zloženie a príprava hydrogélův

Pripravili sa gély na báze 2,5 % (m/m) CHIT. Nakoľko CHIT sa rozpúšťa a tvorí gély len v kyslom prostredí, použila sa kyselina mliečna v 1 % (m/m) koncentracii. Pridávalo sa liečivo benzetóniumchlorid použité v koncentraciách 0,01; 0,05; 0,1; 0,5 % (m/m). Vo funkcii humektantu sa pridával propylénglykol v koncentraciách 5 a 10 % (m/m). Ako alternatívna gélotvorná látka bola použitá HEC v koncentracii 2,5 % (m/m). Pre porovnanie výsledkov boli pripravené blanky.

vzorka č. 1: 2,5 % (m/m) CHIT+ 0,01 % (m/m) BZCl

vzorka č. 2: 2,5 % (m/m) CHIT+ 0,05 % (m/m) BZCl

vzorka č. 3: 2,5 % (m/m) CHIT+ 0,1 % (m/m) BZCl

vzorka č. 4: 2,5 % (m/m) CHIT+ 0,5 % (m/m) BZCl

vzorka č. 5A: 2,5 % (m/m) CHIT+ 0,05 % (m/m) BZCl + 5 % (m/m) PG

vzorka č. 5B: 2,5 % (m/m) CHIT+ 0,05 % (m/m) BZCl + 10 % (m/m) PG

vzorka č. 6A: 2,5 % (m/m) HEC+ 0,05 % (m/m) BZCl + 5 % (m/m) PG

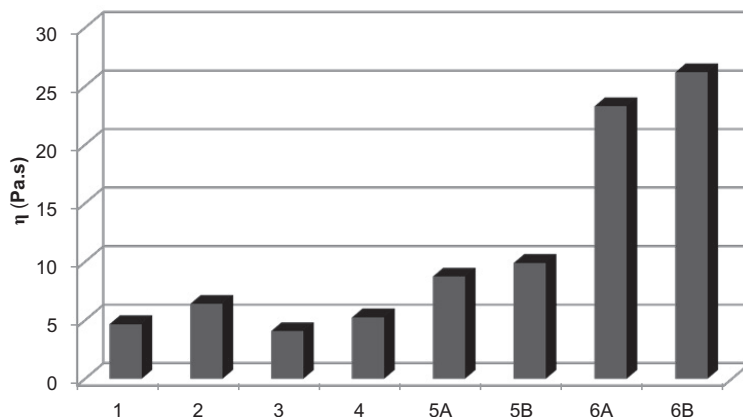
vzorka č. 6B: 2,5 % (m/m) HEC+ 0,05 % (m/m) BZCl + 10 % (m/m) PG

Stanovenie pH gélov

pH sa meralo 48 h po príprave hydrogélův na pH- metri, ktorý bol kalibrovaný dvoma referenčnými tlmivými roztokmi- ftalanovým o pH $4 \pm 0,02$ a boritanovým o pH $9 \pm 0,02$ pri $20 \pm 0,2$ °C.

Stanovenie reologických parametrov

Reologické vlastnosti hydrogélův sa hodnotili 48 h po príprave hydrogélův pomocou rotačného viskozimetra VISCOTESTER VT 500 pri teplote $20 \pm 0,2$ °C.

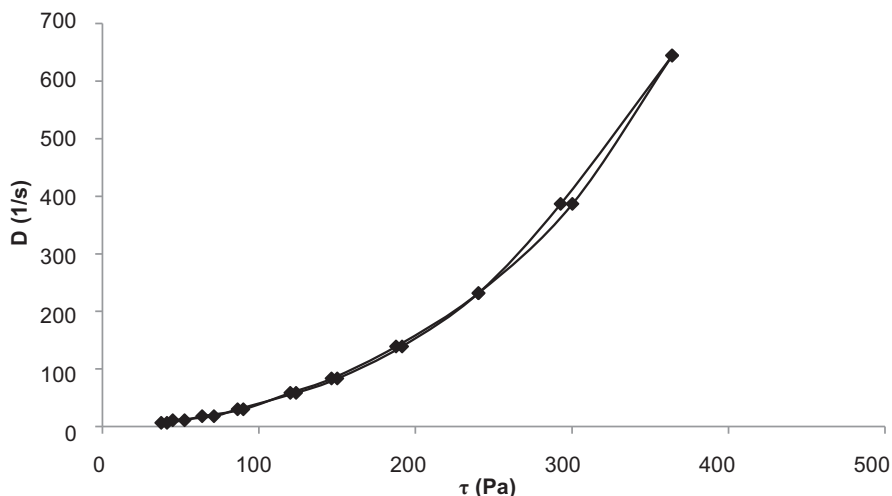


Obr. 1. Maximálna hodnota štruktúrnej viskozity η pri rýchlostnom spáde $D = 6,45$ (s^{-1})

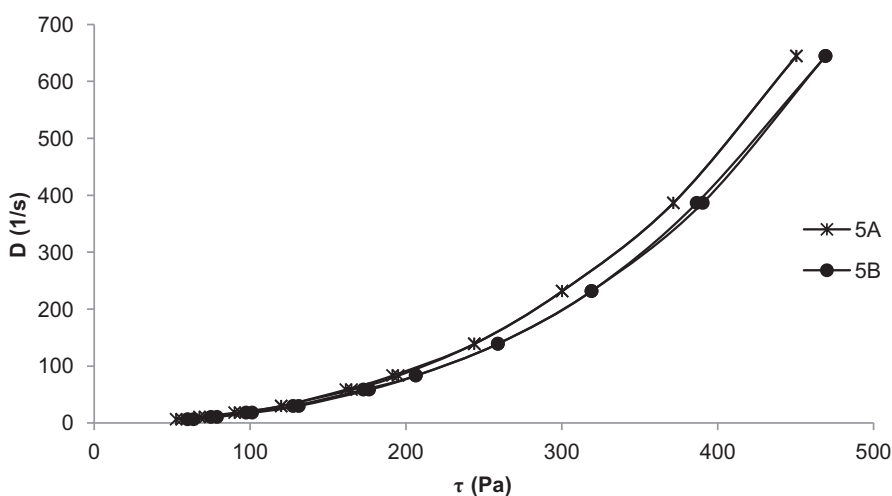
Výsledky

Predmetom tejto štúdie bolo pripraviť hydrogél s dezinfekčným a antiseptickým účinkom. Vo funkcii liečiva bol použitý benzetóniumchlorid. Koncentrácia BZCl pri ktorej vykazuje baktericídnu aktivitu sa pohybuje už od 0,005 až 0,01 %⁶⁾. Táto kvartérna amóniová soľ plní zároveň aj funkciu tenzidu, preto je dôležité poznať jej kritickú micelovú koncentráciu (CMC). Na základe poznatkov z predchádzajúcej štúdie⁷⁾ bola zvolená koncentrácia BZCl pod CMC 0,01 %; 0,05 % a 0,1 % (m/m) a nad CMC 0,5 % (m/m).

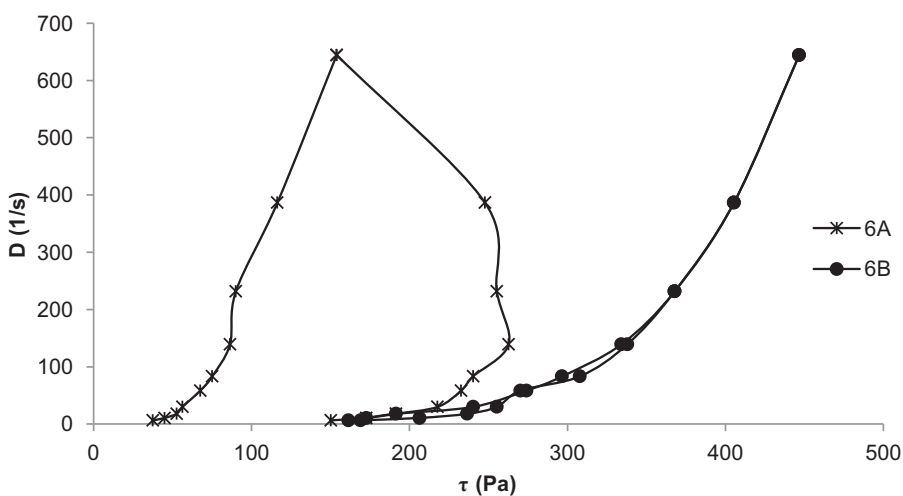
V prvej etape výskumu sa hodnotili tokové vlastnosti a reologické parametre gélov. Všetky pripravené hydrogély vykazovali charakter newtonovskej sústavy s časovo nezávislým pseudoplastickým tokom. Na základe maximálnej hodnoty štruktúrnej viskozity pri rýchlostnom spáde $D = 6,45 \text{ s}^{-1}$ bol vyhodnotený gél s obsahom 0,05 % BZCl (vzorka č. 2) ako optimálny pre dermálnu aplikáciu (obr. 1) s pseudoplastickým tokom (obr. 2). Na základe týchto výsledkov sa v ďalšej časti pripravovali gély s koncentráciou 0,05% BZCl s obsahom humektantu. Ako vidieť z obrázku 1 prídavok 5 a 10 % PG mal pozitívny vplyv na zvýšenie maximálnej hodnoty štruktúrnej viskozity, pričom charakter pseudoplastickej sústavy zostal zachovaný (obr. 3). Pre porovnanie boli pripravené gély toho istého zloženia a tej istej koncentrácie ale s gélotvornou látkou HEC. Oproti CHIT géloom boli zistene štastisticky významné rozdiely ($P < 0,05$) v maximálnej hodnote štruktúrnej viskozity (obr. 1). Podobne bol zistený aj vplyv gélotvornej látky HEC na zmenu tokových kriviek. Ako vidieť na obrázku 4 gél na báze HEC s prídavkom 5 % PG (vzorka 6A) vykazoval časovo závislý tixotropný tok, pričom gél s 10 % PG



Obr. 2. Toková krivka vzorky č. 2



Obr. 3. Toková krivka vzorky č. 5A, 5B



Obr. 4. Toková krivka vzorky č. 6A, 6B

(vzorka 6B) už časovo nezávislý plastický charakter sústavy.

Nameraná hodnota pH hydrogélů na báze HEC bola v neutrálné oblasti, v rozmedzí 6,56–6,79. V prípade hydrogélů na báze CHIT sa pH pohybovalo v rozmedzí 4,97–5,85. Toto slabokyslé pH napomáha regenerácii kožnej bariéry aj vtedy, ak bola chemicky či mechanicky poškodená, stimuluje enzymatické procesy, podporuje odstraňovanie odumretých buniek. Mierne kyslé pH pôsobí tiež antimikrobiálne. Pre všetky uvedené dôvody sú hydrogély s mierne kyslým pH vhodnými na dermálnu aplikáciu.

Záverom možno konštatovať, že gély s obsahom BZCl, ako na báze HEC, tak aj na báze CHIT, ktoré vykazujú optimálne tokové vlastnosti, pH a sú vhodné na dermálnu aplikáciu.

V prípade CHIT gélov bola vyhodnotená vzorka 5B ako optimálna, dosahovala najvyššiu hodnotu štruktúrnej viskozity z pomedzi všetkých CHIT gélov a disponovala pseudoplastickými vlastnosťami.

Z gélov na báze HEC bola vyhodnotená ako optimálna vzorka 6A, nakoľko vykazovala tixotropné vlastnosti, ktoré sú pri samotnej aplikácii gélu žiaduce.

Stret záujmov: žiadny.

Literatúra

1. **Borovanský A., Csöllei J.** Farmaceutická chemie : (farmakochemie) VI. Léčiva s účinkem antiinfekčným a antiparazitárným. Brno: FaF VŠVF 2003. 294 s.
2. **Cross, J., Singer, E.J.** Cationic surfactants: analytical and biological evaluation. New York: Marcel Dekker Inc. 1994.
3. **Gilbert P., Moore L. E.** Cationic antiseptics: diversity of action under a common epithet. In: Journal of applied microbiology, 2005; 99(4), 703–715.
4. **Lüllmann H., Mohr K., Wehling M.** Farmakologie a toxikologie. 2.vyd. Praha: Grada Publishing 2004.
5. **Aulton M. E.** The Design and Manufacture of Medicine. 3. vyd. New York: Churchill Livingstone 2007.
6. NTP Toxicology and Carcinogenesis Studies of Benzethonium Chloride (CAS No. 121-54-0) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Dermal Studies). Natl Toxicol Program Tech Rep Ser. 1995; 438, 1–220. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12595925> [cit. 12.5.2014]
7. **Oremusová J., Vitková Z., Vitko, A.** Study of micelle properties and thermodynamics of micellization of the benzethonium chloride. In: Tenside Surfactants Detergents 2012; 49(4), 322–329.

ZPRÁVA

● 9. světová konference farmacie, biofarmacie a farmaceutické technologie

(9th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology – PB Meeting)

Ve dnech 30. března až 4. dubna 2014 se v portugalském Lisabonu konala 9. světová konference farmacie, biofarmacie a farmaceutické technologie. Světová konference tohoto typu je pravidelně pořádána každé 2 roky. Poradního sboru této významné konference se účastnila prof. PharmDr. Miloslava Rabišková, CSc. z Farmaceutické fakulty UK Hradec Králové, která je významnou představitelkou farmaceutické technologie nejen v České republice.

V lisabonském kongresovém centru se současně přednášelo ve čtyřech přednáškových místnostech s vlastním tematickým zaměřením. Přibližně v poledne se program sekcí přerušil a v hlavním sále probíhala plenární přednáška. Hlavními tématy konference v Lisabonu byla jak tradiční technologická témata (pevné lékové formy

s řízeným uvolňováním léčiva, obalování pevných lékových forem, problematika generických léků aj.), tak témata moderní zabývající se oblastí nanočástic, překonávání biologických bariér, místně specifického přívodu léčiv aj. Na konferenci byly představeny také moderní analytické metody, např., skenovací interferometrie v bílém světle a její využití ve farmaceutické technologii.

Plenární přednášky prezentovali přední světoví vědci zabývající se vysoce aktuálními tématy dnešní farmaceutické technologie:

Alexander Kabanov, Severní Karolína (USA) – téma Nanoléčiva

Susanne Arbogast, Roche (Německo) – téma Personalizovaná medicína – fakta a fikce

Maria José Alonso, Santiago de Compostela (Španělsko) – téma Překonání biologických bariér: od buněčné membrány ke sliznici

V samostatných sekcích pak proběhlo souhrnně kolem 70 kratších přednášek. V oblasti prezentace formou panelového sdělení měla lisabonská konference více než 300 účastníků ze všech oblastí světa. Součástí byla prezentace významných farmaceutických firem, které představovaly své produkty pro výzkum a vývoj lékových forem.

Konference v Lisabonu měla vysokou vědeckou úroveň, a i přes neočekávanou nepřízeň počasí ji lze hodnotit jako velmi přínosnou. Celkově se této akce zúčastnilo 1361 přihlášených z 68 zemí světa. Místem konání obdobné konference za dva roky bude skotské Glasgovo.

K. Dvořáčková