

## KRÁTKÁ SDĚLENÍ

## Štúdium lokálnych anestetík – časť 200\*

## Výber optimálneho typu chitosanu pre formuláciu lokálnych anestetík karbamátového typu do hydrogélův

## Study of local anaesthetics – Part 200

## Choice of the optimal type of chitosan for the formulation of local anaesthetics of the carbamate type into hydrogels

Jozef Čižmárik • Zuzana Vitková • Petra Herdová

Došlo 18. októbra 2012 / Prijato 26. novembra 2012

## Súhrn

Cieľom tohto výskumu bolo štúdium hydrogélův na báze rôznych typův prírodného polyméru chitosanu s obsahom lokálnych anestetík karbamátového typu. Koncentrácia gélotvornej látky v hydrogélůch bola 2,5 %. Študovanými liečivami bol heptakáiniumchlorid (HEP), pentakáiniumchlorid (PEN) a karbizokaíniumchlorid (KAR). Hodnotili sa tokové vlastnosti pripravených gélov a liberácia liečiv z nich. Na základe dosiahnutých výsledkov sa stanovil optimálny typ biopolyméru pre PEN – CHIT B a KAR – CHIT C, v prípade HEP sa zistilo, že chitosan nie je vhodný ako gélotvorný základ. **Kľúčové slová:** heptakáin • pentakáin • karbizokaín • biopolymér • liberácia

## Summary

The aim of this examination was a study of hydrogels on the base of various types of the natural polymer chitosan with an assay of local anaesthetics of the carbamate type. The concentration of the gel-creating compound in hy-

drogels was 2.5%. The study included heptacainiumchloride (HEP), pentacainiumchloride (PEN) and carbisocainiumchloride (CAR). Evaluation was focused on the flow properties of prepared gels and the liberation of drugs from them. Based on the achieved results, the optimal type of biopolymer was determined: PEN – CHIT B, for CAR – CHIT C, while in the case of HEP it was found that chitosan is not suitable as a gel-creating base. **Keywords:** heptacaine • pentacaine • carbisocaine • biopolymer • liberation

## Úvod

Vstrebávanie liečiv z hydrogélův ovplyvňuje okrem teploty, pH, koncentrácie liečiva aj typ použitého polyméru. Prostredníctvom použitej gélotvornej látky možno ovplyvňovať rýchlosť a rozsah absorpcie liečiva. Optimálny gélotvorný základ by mal byť fyzikálne, chemicky a mikrobiologicky stabilný, biokompatibilný a schopný rýchlo uvoľniť liečivo do stratum corneum.

Väčšina súčasne používaných polymérov je syntetického pôvodu, ich biokompatibilita a biologická odbúrateľnosť je oveľa obmedzenejšia ako u prírodných polymérov, ku ktorým patrí aj chitín, chitosan a ich deriváty. Vo farmácii majú preto v posledných rokoch významné postavenie biodegradovateľné polyméry vďaka ich biokompatibilita, biodegradabilita, adsorbčnej schopnosti a netoxickým vlastnostiam<sup>1)</sup>.

Jeden z týchto biodegradovateľných polymérov je aj predmetom formulácie lokálnych anestetík do hodnotených hydrogélův. Jedná sa o chitosan, ktorý sa získava z chitínu kôrovcov. Patrí medzi perspektívne polysacharidy so širokou škálou využitia v rôznych aplikáciách. Uplatňuje sa ako základ pri príprave hydrogélův. Náplasti a gély s obsahom chitosanu udržujú vlhkosť a súčasne z rany absorbujú nadbytočnú vlhkosť. Pôsobia chladivo a majú upokojujúci efekt. Používa sa v terapii dekubitov a popálenín, znižuje tvorbu jaziev, podporuje hojenie

\*Venované 60. výročiu založenia Farmaceutickej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave.

J. Čižmárik  
Katedra farmaceutickej chémie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava

Zuzana Vitková • PharmDr. Petra Herdová, PhD. (✉)  
Katedra galenickej farmácie, Farmaceutická fakulta UK  
Odbojárov 10, 832 32 Bratislava, Slovenská republika  
e-mail: herdova@fpharm.uniba.sk

rán, má antimikrobiálny efekt a patrí medzi liečivá podporujúce granuláciu. Chitosan disponuje tiež výbornými biodegradačnými, biokompatibilnými, bioadhezívnymi a antioxidantnými vlastnosťami. Pri nanosení na ranu má dezinfekčný, hemostatický a analgetický účinok<sup>2)</sup>, čo vytvára predpoklad jeho možného uplatnenia pri formulácii lokálnych anestetík. Používa sa v oftalmológii – disponuje výhodnými vlastnosťami (optická jasnosť, imunologická kompatibilita, mechanická stabilita, dostatočné optické korekcie, priepustnosť plynov, zmáčanlivosť), čo sa uplatňuje pri výrobe kontaktných šošoviek. Chitosan má antacidné a antiulcerózne vlastnosti, používa sa vo funkcii nosiča rôznych liečiv s riadeným uvoľňovaním. Uplatňuje sa pri transdermálnej absorpcii, pri nosovej a orálnej aplikácii a pri formulácii vakcín<sup>1)</sup>.

Chitosan sa ľahko rozpúšťa v kyslom prostredí, kedy dochádza k protonizácii aminoskupiny, vlákna polyméru získavajú súhlasný kladný náboj a odpudzujú sa, v dôsledku čoho polymér napučíava. Zmenou jeho fyzikálno-chemických vlastností sa zabezpečí uvoľňovanie liečiva. Na základe molekulovej hmotnosti chitosanu možno ovplyvniť jeho biologickú aktivitu. Stúpajúcou molekulovou hmotnosťou sa spomaľuje liberácia liečiva z hydrogélu<sup>3)</sup>.

Vzhľadom na to, že v terapeuticknej praxi používané lokálne anestetiká sa vyrábajú vo forme gélov hlavne na báze derivátov celulózy, cieľom tejto štúdie bola formulácia vybraných lokálnych anestetík do hydrogélov na báze chitosanu. V štúdiu sa sledoval vplyv rôznych typov chitosanu na tokové vlastnosti a liberáciu vybraných lokálnych anestetík z hydrogélov.

## Pokusná časť

### Použité chemikálie

Heptakaíniumchlorid (HEP) – heptacaine-N-[(2-heptyloxyfenylylkarbamoyloxy)-ethyl]-piperidíniumchlorid; Karbizokaíniumchlorid (KAR) – 1-[2-(2-heptyloxyfenylylkarbamoyloxy)-2-metyletyl]-dietylamóniumchlorid; Pentakaíniumchlorid (PEN) – (+/-)-trans-[3-pentyloxyfenylylkarbamoyloxy]-2-cyklohexyl]-pyrolidíniumchlorid – pripravila Katedra farmaceutickej chémie, Farmaceutická fakulta, UK, Bratislava; chitosan – 3 typy: A – chitosan získaný z kreviet – molekulová hmotnosť 190 000 až 375 000 – (Sigma – Aldrich, USA); B – chitosan – molekulová hmotnosť 190 000–310 000 – (Sigma – Aldrich, USA); C – chitosan sukcinát získaný z kôrovcov – Liposan Ultra™ (Vanson Europe LTD, Cheshire, England); kyselina mliečna (Interpharm, SR); chlorid sodný (Natrii chloridum SL1) Spolchim spol. s.r.o., Bratislava, SR) na prípravu izotonického roztoku.

### Použité prístroje a materiál

Permeačná aparatúra vyrobená na KGF, FaF, UK, Bratislava, SR; Permeačná membrána (celofán) – EKOZ s. r. o, SR; Spektrofotometer – Philips Pyll Unicam 8625 Ltd., Cambridge, GB; Termostat U 10-Prüfgeräte – Werk Medingen, D; Viskotester VT 500 Haake Mess-Technik GmbH, Karlsruhe, D.

### Zloženie a príprava hydrogélov:

Navážené množstvo liečiva sa rozpustilo v 1% roztoku

ku kyseliny mliečnej, potom sa dispergoval chitosan a dovážil sa roztok kyseliny mliečnej do predpísanej hmotnosti hydrogélu. Liečivá (HEP, KAR, PEN) boli použité v 0,1% (m/m) koncentrácii. Vo funkcii gélotvornej látky sa použili 3 typy chitosanu (CHIT A, CHIT B, CHIT C). Pre porovnanie výsledkov tokových vlastností hydrogélov boli pripravené gély bez a s obsahom liečiv.

### Stanovenie reologických parametrov

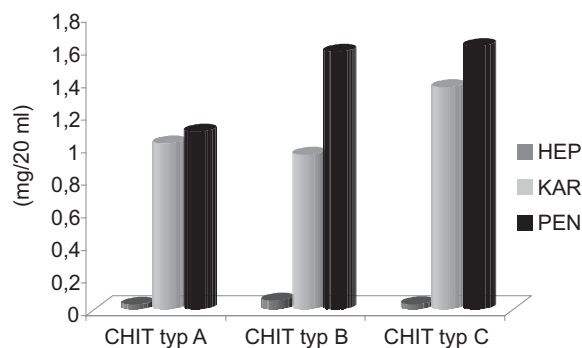
Reologické vlastnosti hydrogélov sa hodnotili 48 h po príprave hydrogélov pomocou rotačného viskozimetra VISCOTESTER VT 500 pri teplote 20° C ± 0,2° C.

### Liberácia liečiv z hydrogélov a stanovenie obsahu liečiv

Liberácia liečiv sa sledovala použitím permeačnej aparatúry v 6 komôrkach, kde do donorovej časti sa dali 3 g gélu a do akceptorovej časti 20 ml fyziologického roztoku (0,9% NaCl). Aparatúra sa temperovala na 37 °C ± 0,2 °C. Odbery sa robili v časovom rozsahu 3 hodín, t.j. po 15., 30., 45., 60., 90., 120. a 180. minúte. Ako semi-permeabilná membrána bol použitý celofán. Vykonalo sa 6 paralelných stanovení. Uvoľnené množstvo liečiv sa stanovilo spektrofotometricky pri príslušnej vlnovej dĺžke:  $\lambda_{\text{PEN}} = 238 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{\text{KAR}} = 279 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{\text{HEP}} = 233 \text{ nm}$ .

## Výsledky

V prvej časti štúdie sa hodnotila liberácia liečiva HEP z chitosanových hydrogélov. Zistilo sa, že liečivo sa veľmi pomaly uvoľňovalo, z pomedzi použitých CHIT A, B a C sa najviac liečiva uvoľnilo z CHIT B (0,055 mg/20 ml) (graf 1), potom z CHIT C (0,033 mg/20 ml) a najmenej z CHIT A (0,031 mg/20 ml). Tieto rozdiely neboli štatisticky významné. Rýchlostná konštanta uvoľňovania HEP bola najvyššia v prípade CHIT B v 180. min ( $k_{180} = 0,006 \text{ h}^{-1}$ ).



Graf 1. Uvoľnené množstvo liečiv po 180. min z hydrogélov na báze troch typov CHIT

PEN sa najpomalšie uvoľňoval z gélu CHIT A (graf 1) – uvoľnené množstvo po 180. min tvorilo 1,091 mg/20 ml (štatistický významný rozdiel ( $P < 0,05$ ) oproti CHIT B a CHIT C). Z ostatných dvoch typov chitosanových gélov bolo uvoľňovanie rýchlejšie, avšak vzájomne veľmi podobné (rozdiel nebol štatisticky významný). Po 180. min sa uvoľnilo z hydrogélu na báze CHIT C 1,620 mg/20 ml, takmer rovnaké ako

z hydrogélu na báze CHIT B 1,580 mg/20 ml. Vzhľadom na priebeh liberácie liečiva v jednotlivých časových intervaloch bol vyhodnotený ako optimálny gélotvorný základ CHIT B. Pri tomto type bola vypočítaná tiež najvyššia hodnota rýchlostnej konštanty uvoľňovania ( $k_{180} = 0,250 \text{ h}^{-1}$ ).

V prípade lokálneho anestetika KAR sa v priebehu celej liberácie najlepšie uvoľňovalo liečivo z hydrogélu na báze CHIT C (graf 1) – rozdiel oproti ostatným typom bol štatisticky významný. Po 180. min sa najvyššie uvoľnené množstvo liečiva dosiahlo 1,365 mg/20 ml s najvyššou hodnotou rýchlostnej konštanty ( $k_{180} = 0,202 \text{ h}^{-1}$ ). Pri ostatných dvoch typov základov to bolo: (CHIT A) 1,0203 mg/20 ml a (CHIT B) 0,9504 mg/20 ml.

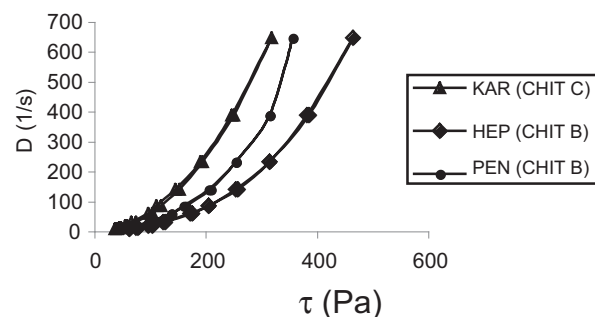
Tab. 1. Maximálna hodnota štruktúrnej viskozity chitosanových gélov bez liečiva a s lokálnym anestetikom

$\eta_{\max}$ (Pa.s) pri $D = 6,45 \text{ s}^{-1}$			
	CHIT A	CHIT B	CHIT C
BLANK	4,66	8,15	6,98
PEN	5,24	7,57	5,24
KAR	6,40	7,57	5,82
HEP	13,39	9,89	6,40

Na základe reologického merania sa vypočítali maximálne hodnoty štruktúrnej viskozity gélov (tab. 1) s liečivom a bez liečiva. V prípade gélov bez liečiv najvyššiu hodnotu štruktúrnej viskozity mal gél na báze CHIT typ B. Na pridanie liečiva reagovali hydrogély rôznym spôsobom. V prípade CHIT A nastalo pomerne výrazné zvýšenie štruktúrnej viskozity pri všetkých liečivách, pričom pri CHIT C tieto hodnoty poklesli. V prípade CHIT B liečivá PEN a KAR hodnoty štruktúrnej viskozity znížili a HEP zvýšilo.

Z výsledkov reologického merania sa zostrojili tokové krivky hydrogélov na báze optimálnych gélotvorných

základov. Z grafu 2 je vidieť, že gély mali nenewtonovské, časovo nezávislé plastické vlastnosti.



Graf 2. Tokové krivky hydrogélov

Na základe vyhodnotenia všetkých dosiahnutých výsledkov sa stanovil optimálny typ chitosanu k príprave gélotvorných základov pre študované lokálne anestetiká. V prípade liečiva PEN – CHIT B; pre liečivo KAR – CHIT C. V prípade liečiva HEP sa zistilo, že chitosan nie je vhodný ako gélotvorný základ pre formuláciu tohto lokálneho anestetika, nakoľko liečivo sa z neho uvoľňuje len v malom množstve.

Stret záujmov: žiadny.

## Literatúra

1. Majeti N.V., Kumar R. A review of chitin and chitosan applications. *React. Polym.* 2000; 46, 1–27.
2. Dasha M., Chiellini F., Ottenbrite R. M., Chiellini E. Chitosan – a versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. *Prog. Polym. Sci.* 2011; 36, 981–1014.
3. Rinaudo M. Chitin and chitosan: Properties and applications. *Prog. Polym. Sci.*, 2006; 31, 603–632.