

BRANKA B.
RODIĆ-GRABOVAC
RADANA M. ĐUĐIĆ
NADEŽDA V. ILIŠKOVIĆ

Tehnološki fakultet, Banja Luka

NAUČNI RAD

615.211+615.33:547.458.8:57-188

VEZIVANJE ANESTETIKA I ANTIBIOTIKA NA KARBOKSIMETILCELULOZU

Dobijanje biološki aktivnih materijala predstavlja jedan od najinteresantnijih trendova u hemijskom modifikovanju celuloze. U ovom radu ispituje se mogućnost dobijanja biološki aktivnog celuloznog materijala sorpcijom prokain-hidrohlorida i gentamicin-sulfata na karboksimetilcelulozu. Sorpcija hemoterapeutika na uzorcima karboksimetilceluloze (KMC) različitog stepena supstitucije izvršena je u vodenim rastvorima anestetika i antibiotika, dok je desorpcija provedena u fiziološkom rastvoru. Količine vezanog i otpuštenog hemoterapeutika određene su spektrofotometrijski u UV području. Nađeno je da koncentracija rastvora hemoterapeutika i stepen supstitucije KMC imaju značajan uticaj na količinu vezanog anestetika i antibiotika. U oba slučaja količine vezanih hemoterapeutika odgovaraju koncentracijama anestezijskog i antibiotskog preparata koji se koriste lokalno u terapijske svrhe.

Biološki aktivni depoi na bazi polimera sa kontrolisanim otpuštanjem lekovitih preparata relativno su novi sistemi za lečenje i preventivu u medicinskoj praksi. Ovi sistemi nude brojne prednosti u odnosu na konvencionalne medicinske terapije. Glavna prednost zasniva se na načinu na koji se lek "predaje" organizmu, na sigurnom i kontinuiranom otpuštanju leka u željenoj oblasti kako bi se zaustavile biohemijske i celularne promjene, odnosno usporili patološki procesi i omogućilo obnavljanje tkiva.

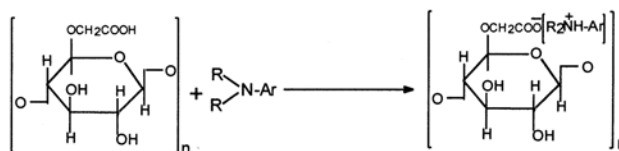
Generalno je prihvaćeno [1] da celuloza i njeni derivati čine najbezbedniju i najprihvatljiviju klasu polimera za korišćenje u higijenskim i farmaceutskim proizvodima. Pošto se dobija iz prirodnih izvora, celuloza je oslobođena hemijskih kontaminata koji su obično prisutni u sintetskim polimerima.

Brojna istraživanja bave se izradom hemijski modifikovanih celuloznih materijala sposobnih za hemijsko ili fizičko vezivanje lekovitih preparata [1-4]. Da bi se dobili celulozni materijali ovakve namene, celuloza se podvrgava određenim predtretmanima sa ciljem uvođenja funkcionalnih grupa sposobnih za vezivanje aktivnih supstanci koje poseduju terapijsko delovanje.

Karboksimetilceluloza (KMC) je celulozni eter [5] čije je dobijanje upotrebom monohloroacetne kiseline i natrijum-hidroksida patentirano još 1921 [6]. Od tog vremena natrijumova so karboksimetilceluloze sa različitim stepenom supstitucije (SS) našla je široku primenu u različitim industrijama.

Vodonikov atom karboksilne grupe KMC može se zameniti drugim katjonom koji poseduje bazne osobine, kao što je npr. katjon hemoterapeutskog

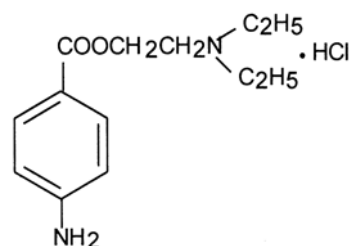
agensa. Pretpostavlja se da se inkorporiranje hemoterapeutika odvija prema reakciji:



gde je R_2N-Ar , emoterapeutski agens koji ima bazne osobine

U ovom radu ispituje se mogućnost dobijanja biološki aktivnog celuloznog materijala sa anestezijskim i antimikrobnim svojstvima sorpcijom prokain-hidrohlorida i gentamicin-sulfata na uzorke KMC različitog stepena supstitucije.

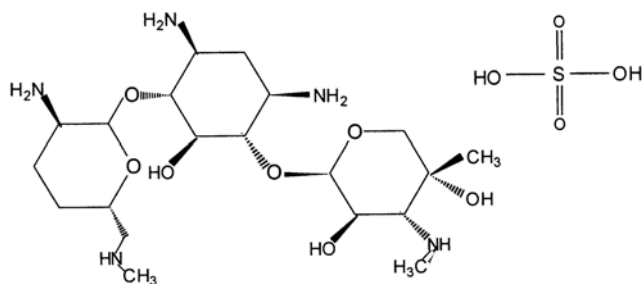
Prokain-hidrohlorid (slika 1) je lokalni anestetik esterskog tipa [7]. U svom lipofilnom ostatku ima terciarnu amino-grupu koja može ostvariti jonsku vezu sa karboksilnim grupama KMC radije nego primarna grupa u para-položaju, koja je manje bazna.



Slika 1. Prokain-hidrohlorid
Figure 1. Prokainhydrochloride

Gentamicin-sulfat (slika 2) je aminoglikozidni antibiotik sa širokim spektrom delovanja na mnoge gram-pozitivne i gram-negativne bakterije [7]. U svojoj strukturi poseduje tri primarne i dvije sekundarne amino-grupe. Može se pretpostaviti da sekundarne amino-grupe gentamicin-sulfata kao bazičnije učestvuju u stvaranje jonske veze sa karboksilnim

Adresa autora: B. Rodić-Grabovac, Tehnološki fakultet, Stepe Stepanovića 73, Banja Luka, Republika Srpska, Bosna i Hercegovina
E-mail: brankarg@blic.net
Rad primljen: Januar 11, 2007.
Rad prihvaćen: April 02, 2007.



Slika 2. Gentamicin-sulfat
Figure 2. Gentamicinsulphate

grupama karboksimetilceluloze, pre nego primarne amino-grupe.

EKSPERIMENTALNI DIO

Uzorci KMC su pripremljeni od bukove sulfite celuloze. Alkalizacija i eterifikacija alkali-celuloze sa monohlorosirćetnom kiselinom je izvođena u izopropanolu prema postupku opisanom u literaturi [8]. Na ovaj način dobijena je KMC u obliku natrijumove soli koja je za potrebe eksperimenta prevedna u slobodnu kiselinu.

Biološki aktivni celulozni materijal sa anestezijskim delovanjem je dobijen potapanjem uzoraka karboksimetilceluloze sa stepenom supstitucije (SS) 0,56; 0,83 i 1,28 u vodeni rastvor prokain-hidrohlorida koncentracije $3,5 \cdot 10^{-3}$ i $7,0 \cdot 10^{-3}$ mol/dm³ u trajanju od 1 h na temperaturi 25 i 35 °C, uz modul kupatila 1:100. Nakon dobijanja preliminarnih rezultata ispitan je uticaj stepena supstitucije KMC na količinu vezanog anestetika na sedam uzoraka KMC različitih SS. Proces sorpcije ovih uzoraka vršen je u vremenu 1, 2 i 3 h u rastvoru koncentracije $3,5 \cdot 10^{-3}$ mol/dm³ na 25 °C, uz modul kupatila 1:100. Količina anestetika vezanog na KMC određena je spektrofotometrijski na talasnoj dužini 279 nm.

Biološki aktivni celulozni materijal sa antimikrobnim delovanjem je dobijen potapanjem uzoraka karboksimetilceluloze sa stepenom supstitucije 0,69;

0,89; 1,14 i 1,24 u vodeni rastvor gentamicin-sulfata koncentracije $3,4 \cdot 10^{-3}$ mol/dm³ (odabrane prema literaturi [9,10]) u vremenu 30, 60 i 120 minuta na temperaturi 23 ± 2 °C, uz modul kupatila 1:200. Količina antibiotika vezanog na KMC određena je spektrofotometrijski na talasnoj dužini 248 nm.

Nakon procesa sorpcije anestetika i antibiotika, svi uzorci su isprani destilovanom vodom, osušeni i potopljeni u 0,95 mas.% vodeni rastvor NaCl (fiziološki rastvor) u trajanju od 1 h na temperaturi 23 ± 2 °C, uz modul kupatila 1:100. Količina otpuštenog antibiotika i anestetika sa uzoraka KMC takođe je određena spektrofotometrijski. Za desorpciju je upotrebljen vodeni rastvor NaCl jer je prethodno utvrđeno da u destilovanoj vodi nema značajne desorpcije vezanih hemoterapeutika.

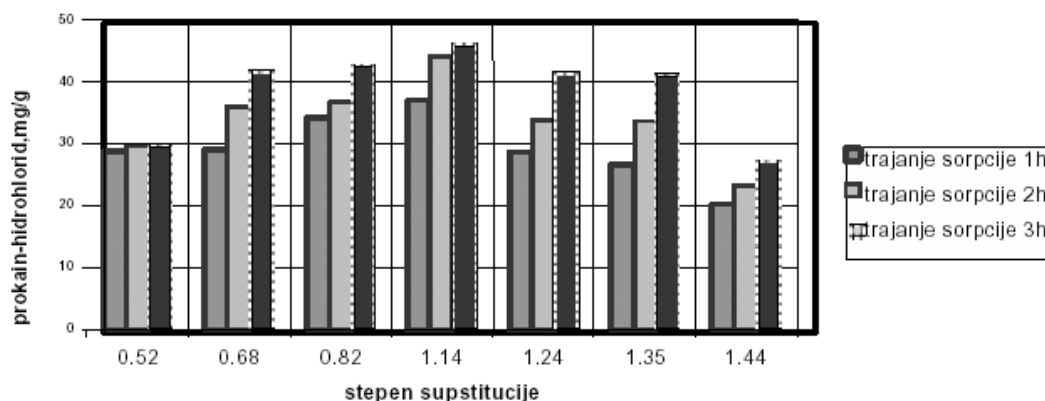
Eksperimentalni podaci za apsorpciju i desorpciju prokain-hidrohlorida su prikazani u tabelama 1 i 2, i na slikama 3 i 4. Podaci za apsorpciju i desorpciju gentamicin-sulfata dati su na slikama 5 i 6.

Tabela 1. Količina vezanog prokain-hidrohlorida na KMC (mg/g); modul kupatila 1:100, trajanje sorpcije 1h
Table 1. The amount of bonded procaine hydrochloride on CMC (mg/g); bath modulus 1:100, sorption time 1h

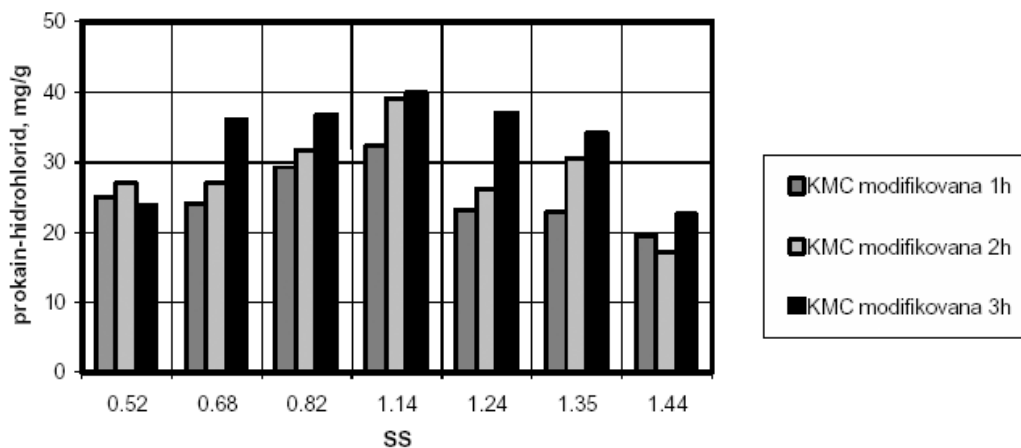
SS	$3,5 \cdot 10^{-3}$ mol/dm ³		$7,0 \cdot 10^{-3}$ mol/dm ³	
	25 °C	35 °C	25 °C	35 °C
0,56	23,75	28,02	29,93	27,75
0,83	29,57	32,97	68,63	72,15
1,28	24,38	26,16	34,45	33,72

Tabela 2. Količina otpuštenog prokain-hidrohlorida sa KMC (mg/g) nakon 1 h u 0,95% NaCl; modul kupatila 1:100
Table 2. The amount of released procaine hydrochloride from CMC (mg/g) after 1 h in 0.95% NaCl; bath modulus 1:100

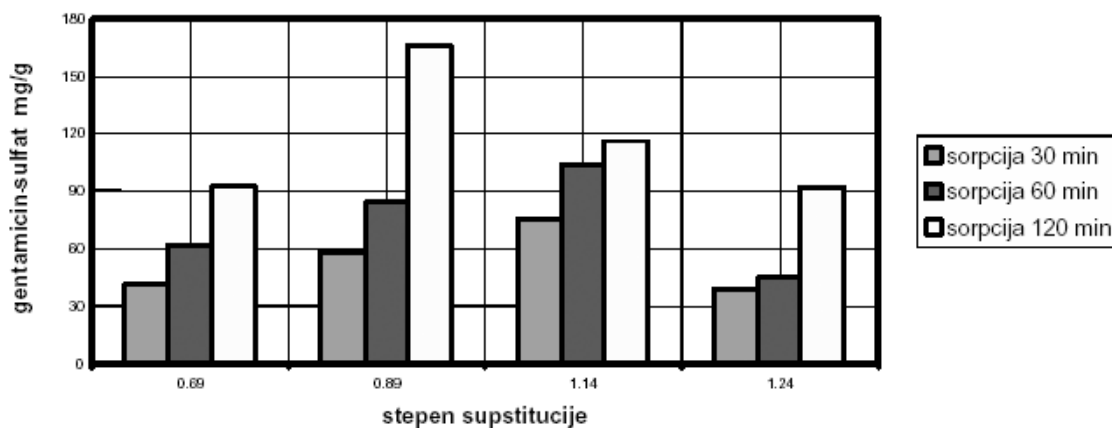
SS	$3,5 \cdot 10^{-3}$ mol/dm ³		$7,0 \cdot 10^{-3}$ mol/dm ³	
	25 °C	35 °C	25 °C	35 °C
0,56	21,54	25,42	26,89	25,22
0,83	18,77	25,19	47,64	46,87
1,28	18,18	21	27,48	27,16



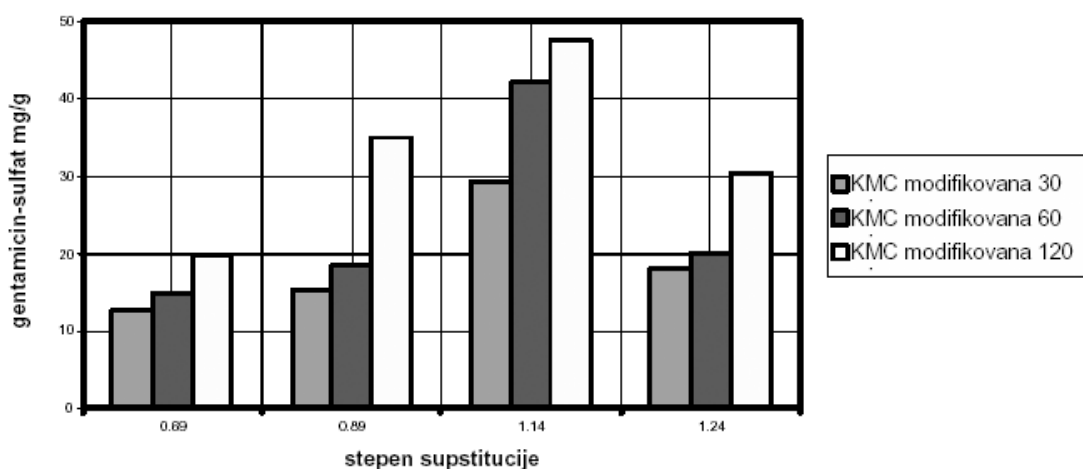
Slika 3. Količina vezanog prokain-hidrohlorida na KMC (mg/g) na 25 °C; modul kupatila 1:100
Figure 3. The amount of bonded procaine hydrochloride on CMC (mg/g) at 25 °C; bath modulus 1:100



Slika 4. Količina otpuštenog prokain-hidroklorida sa KMC (mg/g) nakon 1 h u 0,95% NaCl; modul kupatila 1:100
 Figure 4. The amount of released procaine hydrochloride from CMC (mg/g) after 1 h in 0,95% NaCl; bath modulus 1:100



Slika 5. Količina vezanog gentamicin-sulfata na KMC (mg/g); modul kupatila 1:200, koncentracija rastvora antibiotika $7,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$
 Figure 5. The amount of bonded gentamicin sulphate on CMC (mg/g); bath modulus 1:200, concentration of antibiotic solution $7,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$



Slika 6. Količina otpuštenog gentamicin-sulfata sa KMC (mg/g) u 0,95% NaCl; modul kupatila 1:100
 Figure 6. The amount of released gentamicin sulphate (mg/g) in 0,95% NaCl; bath modulus 1:100

REZULTATI I DISKUSIJA

Rezultati apsorpcije prokain–hidrohlorida prikazani u tabeli 1 pokazuju da koncentracija anestetika ima značajan uticaj na količinu vezanog prokain–hidrohlorida na uzorcima KMC sa stepenom supstitucije 0,83 i 1,28. Maksimalna količina vezanog anestetika je iznosila 72,15 mg/g za uzorak KMC sa stepenom supstitucije 0,83 u rastvoru anestetika koncentracije $7,0 \cdot 10^{-3}$ mol/dm³, nakon 1 h na temperaturi 35 °C. Takođe je uočeno da nema značajne razlike u količini vezanog anestetika na uzorcima KMC na temperaturama 25 i 35 °C.

Prema literaturi [8], lokalni anestetici u koncentraciji 5–10% ispoljavaju anestezijsko delovanje u trajanju 7–42 h. Pošto uzorci KMC sa stepenom supstitucije 0,83 nakon 1 h na 25 i 35 °C vežu 68,63 i 72,15 mg/g respektivno, može se očekivati da mogu postići zadovoljavajuće anestezijsko delovanje.

Rezultati desorpcije prokain–hidrohlorida prikazani u tabeli 2 pokazuju da uzorak sa stepenom supstitucije 0,56 otpušta relativno najveću količinu vezanog anestetika u fiziološki rastvor nakon 1 h (89,84–90,87 mas.% vezanog), dok uzorak sa SS 0,83 otpušta relativno najmanju količinu vezanog anestetika. Može se pretpostaviti da je zbog steričkog faktora otpuštanje molekula anestetika otežano kod uzorka KMC sa većim stepenom supstitucije.

Rezultati apsorpcije prokain–hidrohlorida na uzorcima sedam različitih SS, prikazani na slici 3, pokazuju da se količina vezanog anestetika povećava sa stepenom supstitucije KMC do SS 1,14, a zatim opada. Može se pretpostaviti da je uočeno smanjenje količine vezanog anestetika za SS veće od 1,14 posledica smanjene pristupačnosti karboksilnih grupa KMC prema molekulama anestetika. Kao što je očekivano, količina vezanog prokain–hidrohlorida se povećava sa trajanjem sorpcije za sve uzorke KMC. To znači da se slična količina vezanog anestetika može postići dužom sorpcijom, umesto korišćenjem veće koncentracije anestetika.

Rezultati desorpcije sedam uzoraka KMC, prikazani na slici 4, pokazuju da svi uzorci otpuštaju značajnu količinu anestetika (73,95–91,39 mas.% vezanog) nakon 1 h u 0,95 mas.% vodenom rastvoru NaCl.

Rezultati apsorpcije gentamicin–sulfata na uzorke KMC u vremenu 30, 60 i 120 minuta (prikazani na slici 5) potvrđuju da stepen supstitucije ima značajan uticaj na količinu vezanog antibiotika, kao što je utvrđeno kod apsorpcije prokain–hidrohlorida na KMC. Maksimalna količina vezanog gentamicin–sulfata postignuta je za uzorke KMC sa stepenom supstitucije 0,89 i 1,14 i iznosila je 165,49 i 115,55 mg/g KMC, respektivno.

Takođe je uočeno smanjenje količine vezanog antibiotika za stepene supstitucije iznad 1,14, a koje se tumači smanjenom pristupačnošću karboksilnih

grupa karboksimetilceluloze prema molekulama antibiotika, odnosno anestetika.

Kao što je očekivano, količina vezanog gentamicin–sulfata se povećavala sa trajanjem sorpcije za sve uzorke KMC. Nakon 120 min najmanja količina vezanog antibiotika iznosila je 91,63 mg/g KMC.

Rezultati desorpcije antibiotika u 0,95% rastvoru NaCl (prikazani na slici 6) pokazuju da uzorci KMC nakon 60 min, otpuste 21,11–46,35 mas.% od ukupne količine vezanog antibiotika. Prema literaturi [7], za lokalnu primenu na koži koristi se 0,1% rastvor gentamicin–sulfata. To znači da svi uzorci KMC nakon 30 min, vežu dovoljnu količinu hemoterapeutika i mogu ispoljiti poželjnu antibiotsku aktivnost.

ZAKLJUČAK

Biološki aktivan celulozni materijal sa anestezijskim i antimikrobnim delovanjem dobijen je sorpcijom gentamicin–sulfata na uzorke karboksimetilceluloze sa različitim stepenom supstitucije. Maksimalna količina vezanog anestetika iznosila je 72,15 mg/g KMC nakon 1 h sorpcije u vodenom rastvoru prokain–hidrohlorida koncentracije $7,0 \cdot 10^{-3}$ mol/dm³. Maksimalna količina vezanog antibiotika iznosila je 165,49 mg/g KMC nakon 120 min sorpcije u vodenom rastvoru gentamicin–sulfata koncentracije $3,4 \cdot 10^{-3}$ mol/dm³. Sa ovim količinama vezanog anestetika i antibiotika može se postići zadovoljavajuće anestezijsko i antimikrobno delovanje.

Koncentracija anestetika imala je značajan uticaj na količinu vezanog anestetika, dok za ispitivane temperature sorpcije (25 i 35 °C) nije bilo značajnije razlike u rezultatima.

Stepen supstitucije uzoraka KMC ima značajan uticaj na količinu vezanog anestetika i antibiotika. Količina vezanog prokain–hidrohlorida i gentamicin–sulfata raste sa povećanjem stepena supstitucije uzoraka KMC do SS 1,14, nakon čega se količine vezanih hemoterapeutika smanjuju. Za sve uzorke KMC sa produžavanjem procesa sorpcije raste količina vezanog anestetika i antibiotika.

Proces desorpcije izveden je u 0,95 mas.% vodenom rastvoru NaCl. Nakon 1 h uzorci KMC su otpustili 62,44–91,39 mas.% vezanog prokain–hidrohlorida i 21,11–46,33 mas.% vezanog gentamicin–sulfata, što odgovara koncentracijama–lokalnog anestezijskog i antibiotskog preparata koji se koriste u terapijske svrhe.

LITERATURA

- [1] V. Kumar, G.S. Banker, Chemically–modified Cellulosic Polymers, Drug Dev. Ind. Pharm. **19** (1993) 1.
- [2] Y. Tonukaga, T.T. Naruse, Antitumor Effect of Oxycellulose as Haemostatic During Operation, Cancer Biother. Radiopharmaceutic. **13** (1998) 437–445.
- [3] F.N. Kaputskii,–P.M. Bychkovskii, T.L. Yurkshovich, S.M. Burtin, E.C. Korolik, D.K. Buslov, Study of Pro-

- tein Sorption by Monocarboxycellulose, *Colloid J.* **57** (1995) 42–45.
- [4] R. Krishna, J.K. Pandit, Carboxymethylcellulose–sodium Based Transdermal Drug Delivery System for Propranolol, *J. Pharm. Pharmacol.* **48** (1996) 367–70.
- [5] N. Ilišković, *Organska hemijska tehnologija*, Svjetlost, Sarajevo, 1992, str. 173.
- [6] Deutsche Celluloid Fabrik Eilenburg (credited to E. Jansen by E. Heuser), German Patent 332.203, Jan. 22, 1921.
- [7] V. Varagić, M. Milošević, *Farmakologija, Medicinska knjiga*, Beograd–Zagreb, 1985, str. 204.
- [8] N. Ilišković, S. Uletilović, T. Banjac, Uticaj uslova eterifikovanja na stepen supstitucije karboksimetilceluloze, *Glas. Hem. Tehn. R. S.* **38** (1996) 15.
- [9] P. Škundrić, R. Jovanović, M. Kostić, B. Medenica, Dobijanje biološki–aktivnog vlakna sa anestezijskim efektom, *Hemijska vlakna*, **33** (1–4) (1993) 3.
- [10] P. Škundrić, A. Medović, M. Kostić, *Fibrous Systems with Programmed Biological Activity and Their Application in Medical Practice*, *AUTEX Res. J.* **2** (2) (2002) 78.

SUMMARY

THE BONDING OF ANAESTHETICS AND ANTIBIOTICS ON THE CARBOXYMETHYLCELLULOSE

(Scientific paper)

Branka B. Rodić–Grabovac, Radana M. Djudjić, Nadežda V. Ilišković
Faculty of Technology, Banja Luka

The preparation of biologically active material is one of the most interesting trends in the chemical modification of cellulose. The possibility of obtaining biologically active cellulosic material by sorption of procaine hydrochloride and gentamicin sulphate on CMC was investigated in this paper. The sorption of therapeutics on CMC samples with different degree of substitution was carried out in water solutions of anaesthetic and antibiotic, while the desorption was done in 0.95% NaCl solution. The amount of bonded and released therapeutics was determined by UV spectrophotometry. It was found that degree of substitution of carboxymethylcellulose and concentration of chemotherapeutic water solution have significant influence on the amount of bonded anaesthetic and antibiotic. The maximum amount of bonded chemotherapeutic was 72.15 mg of procaine hydrochloride and 165.49 mg of gentamicin sulphate per gram CMC. In both cases the amounts of bonded chemotherapeutics correspond to the concentration of local anaesthetic and antibiotic preparation that are used in therapeutic purposes.

Key words: Carboxymethyl cellulose • Biologically active material • Chemotherapeutic binding •

Ključne reči: Karboksimetilceluloza • Biološki aktivan materijal • Vezivanje hemoterapeutika •