

615.41-085.524

VLIVY FAKTORŮ BIOLOGICKÉHO PŮVODU NA STABILITU LÉČIV

Kapitán RNDr. PhMr. Bohumil KOUBALÍK

Vojenský lékařský výzkumný a doškolovací ústav JEP, Hradec Králové

Práce se zabývá výkladem degradačních změn v léčivech, ke kterým dochází vlivem faktorů biologického původu, zejména mikrobiálních kontaminací, enzymatickou biodeteriorací a zasažením bojovými biologickými prostředky.

Poukazuje na příčiny a podstatu rozkladných transformačních procesů, které porušují stabilitu léčiv, a vysvětluje vnější projevy a důsledky těchto nežádoucích vlivů.

U vojenské zdravotnické služby se více než kdekoli jinde setkáváme se ztíženými podmínkami pro uchovávání léčiv. Již v době míru je to především vytváření a udržování značných zásob, což je spojeno zpravidla s dlouhodobým skladováním léčiv, přičemž je mnohdy třeba léčiva ukládat společně s jiným vojenským materiálem nejen v různých, často improvizovaných skladech, ale také například na nákladních automobilech a v jiných typech vojenské techniky.

Ještě více jsou léčiva ohrožena v polních podmínkách, kde jsou zvýrazněny různé klimatické vlivy, mechanické namáhání i biologické faktory. Přes všechny tyto těžkosti je povinností vojenských lékařů a farmaceutů zabezpečit nemocným a raněným potřebné a kvalitní léky.

Z toho důvodu je třeba, aby vojenští lékaři a farmaceuti znali potenciální nebezpečí vedoucí ke znehodnocení léčiv, uměli těmto nebezpečím čelit, zasvěceně posuzovali kvalitu léčiv, eventuálně znali jejich renovaci.

Příspěvkem k této problematice je výklad degradačních změn léčiv, ke kterým dochází následkem různých nežádoucích vlivů. Po již dříve publikované souhrnné práci o vlivech fyzikálních a chemických faktorů [12], obrací tato práce pozornost k faktorům biologickým.

Uplatnění biologických faktorů

K biologickým faktorům způsobujícím znehodnocení léčiv počítáme především mikroorganismy (bakterie, kvasinky, plísňe), dále různé hmyzy a hlodavce.

Napadení léčiv mikroorganismy je velmi častým jevem a může k němu docházet již v procesu výroby léčiv, dále při jejich skladování, přepravě a jiné manipulaci. K masivnímu zamoření léčiv silně virulentními zárodky by mohlo dojít při použití bojových biologických prostředků.

Růst a množení, podobně jako metabolická aktivita mikroorganismů, jsou přímo závislé na vnějším prostředí (teplota, vlhkost, kyslík, pH, živiny aj.), v němž se mikroby uplatňují.

Výskyt mikroorganismů není prakticky omezen; jsou všudypřítomné a vůči přirozeným změnám vlastností vnějšího prostředí jsou relativně značně odolné.

Škody v léčivech způsobené mikroorganismy lze spatřovat jednak v kontaminaci samé (znehodnocují léčiva již svou přítomností, produkci toxinů a pyrogenů), jednak v enzymatické činnosti, která zapříčiňuje chemické změny ve strukturách léčiv.

Různé druhy hmyzu (mouchy, komáři aj.) a někteří hlodavci, zejména krysy, poškozují léčiva a jejich obaly jednak tím, že je sami napadají a znečišťují, jednak tím, že se stávají často aktivními přenašeči mikrobiálních zárodků.

Mikrobiální kontaminace léčiv a její vnější projevy

Československý lékopis — třetí vydání, který podstatně zpřísnil požadavky na mikrobiologickou nezávadnost léčiv, rozdělil léčiva z hlediska kritérií mikrobiologické nezávadnosti na hromadně vyráběné léčivé přípravky (HVLP) a magistraliter vyráběné přípravky (MS).

U obou těchto skupin vylučuje přítomnost patogenních zárodků a indikátorů fekálního znečištění, u HVLP povoluje maximálně 1000 nepatogenních zárodků, 100 plísňí a kvasinek a u MS maximálně 10 000 nepatogenních zárodků, 100 plísňí a kvasinek v 1 g nebo 1 ml. Makroskopické kolonie plísňí nejsou přípustné v žádných léčivech.

Tyto požadavky se vztahují na léčiva určená na jakoukoliv aplikaci s výjimkou pro parenterální podání, která musí být dokonale sterilní (4).

Pod stanoveným množstvím živých saprofytických zárodků v 1 g nebo v 1 ml léčiva, které povoluje lékopis, se však rozumí nejen počet mikroorganismů, nacházejících se v léčivu v době jeho přípravy, ale i po dobu celého období jeho uchovávání.

Při výzkumu stability léčiv se provádějí zkoušky urychleného stárnutí za zvýšené teploty, při kterých se ověřuje, zda zárodky mikroorganismů nacházejících se v léčivu nejsou schopny rozmnožovat se takovým způsobem, aby se tím porušila mikrobiologická nezávadnost léčiva, popřípadě aby se tím snížila stabilita a zkrátil čas a bezpečnost skladovatelnosti léčiva (18).

Problémy mikrobiologické nezávadnosti léčiv jsou především záležitostí aseptické přípravy a hygieny při technologickém zpracování, kvality použitých surovin, obalů apod. (1).

Závažnost a složitost kontaminace léčiv úzce souvisí také s tím, jaké prostředí léčiva představují, tj. jaké skýtají podmínky pro růst a rozmnožování mikroorganismů, zda léčiva vytvářejí živnou půdu, či zda růst mikroorganismů inhibují. Dobré růstové podmínky vytváří voda, vodné roztoky léčiv, sirupy, roztoky glukózy, některé druhy masť, emulgátorů a mnohé pomocné látky (6). Kromě použitých surovin významně ovlivňuje stupeň kontaminace také druh mikroorganismů a jeho rozmnožovací schopnosti.

Léčiva znečištěná mikroorganismy se navenek projevují většinou již organoleptickými změnami, jako jsou zákal, sedimenty, znečišťující povlaky na povrchu léčiv, změny barvy, konzistence, charakteristického zápachu apod. Sekundárně, jako produkty látkové výměny mikroorganismů, se uvolňují toxiny, pyrogenní látky a enzymy, které mohou způsobovat další rozkladné změny léčiv a komplexně mohou zvyšovat jejich toxicitu. Kontaminovaná léčiva tedy potenciálně ohrožují lidské zdraví, zejména

proto, že se nejčastěji aplikují do organismu chorobně již oslabeného a mnohdy cestami, které pro vstup mikroorganismů nebývají přirozené (otevřená poranění, parenterální aplikace apod.).

Vážným problémem je například kontaminace očních mastí a kolýrií, která představuje riziko mnohých komplikací při aplikaci do nemocného oka. Takové případy mohou vést k rozsáhlým ulceracím rohovky a dokonce až ke ztrátě zraku (8, 18). Podobně kontaminované masti, používané při ošetřování chirurgických ran a popálenin, nebo léčiva podávaná parenterálně nebo zaváděná do tělních dutin (například do močového, dělohy, prsních žláz, plicních alveol, zubních kanálků apod.) mohou způsobovat sekundární infekce u ošetřovaných pacientů. Perorálně podávaná léčiva s nepřípustnou kontaminací mohou způsobit střevní intoxikace (například pankreatin, práškovaná thyreoidea, různé druhy tablet s bramborovým škrobem apod.).

Jako další příklady léčiv a pomocných látek snadno podléhajících mikrobiální kontaminaci je možno uvést škrob, bílou hlinku, arabskou klovatinu, talek, laktózu, mléčnan vápenatý, ale i tablety antibiotik, barbiturátů, srdečních glykosidů, steroidní krémy apod. (2). Rovněž infúzní roztoky, do nichž se přidávají elektrolyty a směsi vitaminů, bývají často kontaminovány (16). Dokonce i z roztoků kyseliny borité, kterým se připisují antiseptické vlastnosti, byly izolovány různé bakterie, plísňe a kvasinky (5).

Enzymatická degradace léčiv

V živých organismech existují zvláštní katalyzátory bílkovinné povahy, které umožňují nebo urychlují průběh biochemických reakcí, a tím celého metabolismu. Tyto katalyzátory se nazývají enzymy a hrají významnou roli při syntetických i rozkladných pochodech.

Enzymy produkované mikroorganismy

Všechny druhy patogenních i běžných saprofytických mikroorganismů, ať již jsou to bakterie, plísňe, či kvasinky, produkují při svých metabolických pochodech různé enzymy, kterými působí na své okolí. Pokud se dostanou tyto enzymy do styku s léčivem, může dojít k enzymatické degradaci molekuly účinné látky neboli k biodeterioraci.

K těmto deterioračním reakcím katalyzovaným enzymovými systémy přítomných mikroorganismů — kontaminantů, a tím i ke znehodnocení terapeutických vlastností léčiva, může docházet i v léčivech obsahujících menší počet saprofytických mikroorganismů, který nepřesahuje hranici stanovující limit mikrobiologické nezávadnosti (3).

Biodeteriorační reakce probíhající na molekulách léčiv jsou buďto jednoduché, nebo většinou komplexní a lze je rozdělit na tři základní reakční typy:

- oxidoredukce,
- štěpení vazby mezi uhlíky,
- hydrolýza.

Typ reakčního pochodu, jeho průběh a rychlost jsou závislé jak na chemické struktuře a léčivé formě terapeuticky účinné složky, tak na mikrobiálním druhu způsobujícím kontaminaci léčiva. S biodeterioračními reakcemi se setkáváme prakticky v celé farmaceutické chemii, ať již jde o sloučeniny z oblasti antibiotik, vitaminů, alkaloidů, antiseptik, chemoterapeutik, antimykotik, dermatologik, oftalmologik aj., je možno uvést celou řadu konkrétních příkladů (3, 7, 14).

Aromatické sloučeniny podléhají biodeterioraci tak, že nejprve dochází k hydroxylaci aromatického kruhu za vzniku pyrokatecholu nebo kyseliny pyrokatechové. V dalším reakčním stupni dochází k otevření aromatického kruhu za vzniku derivátů kyseliny mukonové. Léčiva typu kyseliny benzoové, salicylové, fenolu, naph-tolu, kyseliny mandlové, o-kresolu a benzenu jsou transformována cestou přes pyrokatechol, zatímco léčiva typu m-kresolu, p-kresolu, kyseliny p-hydroxybenzoové, p-hydroxymandlové a p-aminobenzoové jsou transformována přes kyselinu pyrokatechovou.

Chloramfenikol se postupně odbourává přes řadu meziproductů na kyselinu p-aminobenzoovou a dále až na kyselinu pyrokatechovou, která se v konečné fázi mění na derivát kyseliny mukonové.

Riboflavin je nejprve hydroxylován na aromatickém kruhu, potom dochází k rozštěpení isoaloxasinového jádra na derivát pyrogallolu s následující tvorbou laktonu.

Steroidy podléhají enzymatickému rozštěpení skeletu za vzniku seko-derivátů. Yohimbínové alkaloidy, thymol, heterocyklické sloučeniny typu kyseliny nalidixové a nikotinové podléhají mikrobiální hydroxylaci, což podstatně ovlivňuje jejich terapeutický účinek.

Alifatické a alicyklické sloučeniny jsou transformovány mikrobiální oxidací. Po enzymatickém zavedení kyslíku do molekuly degradovaného léčiva vznikají postupně alkoholy, aldehydy a karboxylové kyseliny. Probíhá-li mikrobiální oxidace na nenasyceném konci molekuly, vzniká jako meziproduct epoxid, který přechází dále v diol, aldehyd a kyselinu karboxylovou.

S hydrolytickými pochody se setkáváme při biodeterioraci některých antibiotik majících ve své molekule beta-laktamový nebo laktonový kruh. Tyto štěpné reakce byly zjištěny u penicilínu, aktinomycinu, u polyenových antibiotik, jako je fungicidin, amfotericin, pimarinin apod.

Z ostatních léčiv, která podléhají biodeterioračním procesům a ztrácejí farmakologickou aktivitu, je možno uvést streptomycin, tetracyklin, gramicidin, kolistin, bacitracin, polymyxin, oxytetracyklin a kanamycin.

K enzymatickému rozkladu dochází také u některých emulgátorů typu sorbitanesterů

mastných kyselin, které jsou hydrolyzovány v esterové vazbě, čímž se anuluje jejich povrchová aktivita a následkem toho dochází k rozrušení emulzního systému [17].

Ve farmaceutické chemii jsou reakce probíhající na molekulách léčiv za katalytického účinku mikrobiálních enzymových systémů velmi častým zjevem. Využívá se jich v technologii celé řady finálních preparátů nebo jejich meziproduktů, jako jsou například kortisol, kortison, prednison, prednisolon, kyselina 6-aminopenicilinová a mnohé další. V případě biodeteriorace probíhají tyto reakce jako nežádoucí pochody v důsledku mikrobiální kontaminace léčiv a navenek bývají provázeny různými organoleptickými změnami, například změnou viskozity, vůně, barvy, tvorbou sedimentu, kvašením apod.

Enzymy produkované rostlinami

Výsledkem různých biochemických reakcí v rostlinném organismu, ovlivňovaných činností enzymů, je vznik četných složitých organických látek, z nichž mnohé jsou cennými léčivy. Jsou to jednak přímé asimiláty, jako sacharidy nebo bílkoviny, jednak produkty specifického metabolismu určitých rostlin, například alkaloidy, silice, pryskyřice, glykosidy, třísloviny aj.

Enzymy jako katalyzátory složitých reakcí se zúčastňují nejen těch pochodů, které probíhají za života rostliny, ale aktivně zasahují i do reakcí probíhajících v rostlinném organismu odumírajícím nebo již mrtvém. V odumírajících rostlinných orgánech nabývají rychle převahu disimilační (štěpné) pochody, jejichž výsledkem jsou pronikavé změny ve složení i množství obsahových látek vytvořených za života rostliny.

Tyto tzv. sekundární změny obsahových látek vznikají následkem činnosti enzymů v rostlinném materiálu při jeho zpracování v drogy a mají zásadní vliv na konečnou hodnotu a stabilitu těchto drog. Pokud jde o typ těchto rozkladných reakcí, jsou to většinou pochody oxidoredukční a hydrolytické štěpení. Zvláště některé velmi významné látky jako glykosidy a látky glykosidního charakteru se štěpí velmi snadno na své složky, takže droga obsahuje látky jiné, než byly původně vytvořeny živou rostlinou, což se samozřejmě projevuje i odlišnými účinky [13, 15].

Znehodnocení léčiv bojovými biologickými prostředky

Různé vysoce virulentní choroboplodné zárodky (bakterie, virusy, riketsie, plísňe), používané jako prostředky biologických zbraní, mohou znehodnocovat léčiva v podstatě dvěma způsoby: buďto jde jen o kontaminaci povrchu, nebo o přímé zasažení léčiv [9, 11].

Povrchová kontaminace

Při kontaminaci povrchu (různé druhy vnitřních i vnějších obalů) se léčiva v první fázi

zpravidla přímo znehodnocují, ale může k tomu docházet při každé příležitosti otevírání takto kontaminovaných obalů. Tímto způsobem zamoření se tedy léčiva zpravidla nenávratně neničí, ale jsou dočasně vyřazena z použitelnosti, neboť mohou zprostředkovat přenos nákazy. Na rozdíl od léčiv přímo zamořených se takto kontaminovaná léčiva dají renovovat [9].

Je samozřejmé, že u léčiv může docházet rovněž ke kombinovaným znehodnocením choroboplodnými zárodky (například primárně kontaminovanými obaly je sekundárně zamořeno léčivo, anebo naopak).

Přímé zasažení léčiv

Pronikne-li noxa přímo do léčiva, záleží do značné míry na tom, zda má toto léčivo antibakteriální účinky a zabráňuje dalšímu růstu mikroorganismů, či zda léčivo představuje pro tyto zárodky živné prostředí (například různé masti, masťové základy, gely, vodné roztoky některých léčiv, infúzní roztoky apod.). V druhém případě dochází k rychlému pomnožení zárodků, což vede k masivnímu znehodnocení léčiva. Taková léčiva se nedají renovovat a je nutno je zničit [9].

Navenek se toto znehodnocení projevuje různými změnami v barvě léčiv (nebarevné léčivo se zbarvuje nebo barevné mění charakteristickou barvu), konzistencí (krupičkovatění mastí, ztekucování gelů a jiných pevných lékových forem, oddělování fází v emulzích), vůni, čirosti (v léčivech se vytvářejí povlaky, zákaly, nápadné barevné artefakty, sedimenty, sraženiny aj.), v hladkosti povrchu apod. Pochopitelně se tyto změny odrážejí i ve snížení nebo až vymizení farmakodynamického účinku a zvýšení toxicity postižených léčiv.

Na závěr zbývá dodat, že všechny uvedené faktory biologického původu mohou být při svém působení na léčiva ovlivňovány ještě celou řadou současně působících faktorů fyzikálních nebo chemických (teplota, záření, vlhkost, znečištění apod.) a že výsledné degradační změny mohou být nejrozumnějším způsobem modifikovány [10].

Literatura

1. Bábík, I., Lieskovský, F.: Farm. obzor, 43, 1974, s. 271.
2. Buriánek, J., Havlenová, V., Synek, J., Němec, J.: Farm. obzor, 43, 1974, s. 19.
3. Čapek, A.: Farm. obzor, 43, 1974, s. 29.
4. Československý lékopis, třetí vydání, Praha, Avicenum 1970.
5. Georch, D., Šaršunová, M., Schubertová, B.: Českoslov. farm., 16, 1967, s. 359.
6. Gruntová, Z., Thurzová, S.: Českoslov. farm., 20, 1971, s. 299.
7. Harkness, D. R., Stadtman, E. R.: J. Biol. Chem., 240, 1965, s. 4089.
8. Kadlecová, O., Entnerová, K., Kolbasová, J., Kahay, J.: Farm.-obzor, 43, 1974, s. 73.

9. Koubalík, B.: Speciální očista léčiv a zdravotnického materiálu po zamoření otravnými látkami a bojovými biologickými prostředky. V tisku.
10. Koubalík, B.: Stabilita léčiv I., Učební texty VLVDÚ-JEP, Hradec Králové, 1975.
11. Koubalík, B.: Účinky ZHN na zdravotnický materiál a jeho speciální očista. Přednáška VLVDÚ-JEP, Hradec Králové, 1973.
12. Koubalík, B., Kovář, A.: Informační zpravodaj VLVDÚ, Hradec Králové, 15, 1974, č. 3, s. 5.
13. Krakowka, L.: Českoslov. farm., 20, 1971, s. 26.
14. Lingens, F., et al.: Biochim. Biophys. Acta, 130, 1966, s. 345.
15. Rada, K.: Farm. obzor, 34, 1965, s. 201.
16. Wilkinson, W. R., et al.: Drug Intell. Clin. Pharm., 7, 1973, s. 226.
17. Zathurecký, L.: Českoslov. farm., 12, 1963, s. 516.
18. Zathurecký, L., Rybáček, L., Rybáček, L. ml.: Stabilita a stabilizácia liečiv, Martin, Osveta 1971.