

5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan - ein neues Konservierungsmittel für die Kosmetik

PETER LORENZ*

Synopsis — 5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan — A New Preservative for Cosmetics. — Bronidox®, a new preservative, is 5-bromo-5-nitro-1,3-dioxane. In concentrations of 0.02 to 0.05 % it is active against gram-positive and gram-negative bacteria as well as fungi. Toxicological and dermatological investigations demonstrate that the compound is tolerated without adverse reactions. Attempts to produce sensitization reactions failed. This compound is currently recommended for the preservation of shampoos and foam baths.

1. Einleitung

Bei der Entwicklung und Produktion von Kosmetika hat das Problem der Konservierung einen hohen Stellenwert. Unter Konservierung versteht man normalerweise die Aufrechterhaltung eines gegebenen Zustandes. Dabei muß man beachten, daß der Zustand eines kosmetischen Erzeugnisses durch mancherlei Einflüsse beeinträchtigt werden kann. Zu erwähnen wären physikalisch-chemische Einflüsse wie Licht, Sauerstoff, Wärme und Verpackungsmaterial, Wirkungen von Enzymen, die durch Pflanzen- und Organextrakte eingebracht werden, und nicht zuletzt Einflüsse von Mikroorganismen, die durch Rohstoffe, den Herstellungsprozeß und den Verbraucher in das Kosmetikum gelangen können.

Durch mikrobiellen Befall kann die Ansehnlichkeit eines kosmetischen Präparates stark in Mitleidenschaft gezogen werden. Es kommt zu Verfärbungen, Geruch und pH-Wert werden verändert, sichtbarer Bewuchs tritt auf (*Bild 1*), durch Konsistenzveränderung trennen sich die Phasen (*Bild 2*), in klaren Produkten treten Flocken auf (*Bild 3*), Emulsionen brechen, und durch Gasbildung kommt es zu Bombagen. Diesen äußeren, ästhetischen Merkmalen geht eine

* Fa. Henkel & Cie GmbH, Düsseldorf.

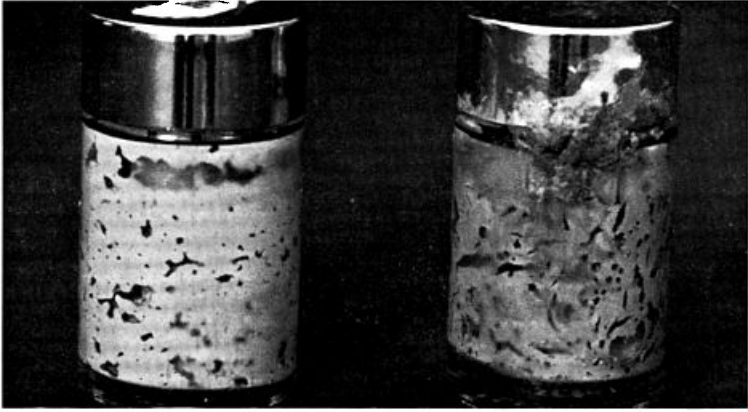


Bild 1

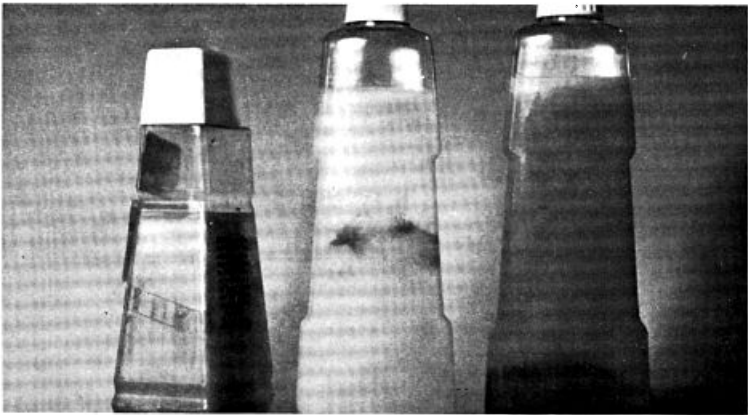


Bild 2

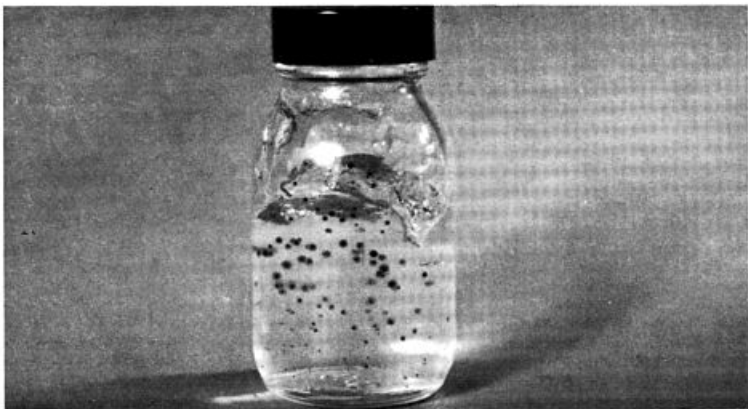


Bild 3

Beeinträchtigung der Wirksamkeit und eine Verminderung der Verträglichkeit des Kosmetikum parallel, so daß eine Konservierung gegen den mikrobiellen Verderb eine unabdingbare Forderung wird.

Im Sinne der eingangs gegebenen Definition von Konservierung als Aufrechterhaltung eines gegebenen Zustands käme für Kosmetika prinzipiell die Behandlung mit gespanntem Wasserdampf, das Tyndallisieren oder die Einwirkung von ionisierenden Strahlen in Frage. Auch die Sterilfiltration oder die Verwendung von Einmaldosis-Behältern wäre zu diskutieren, aber aus mancherlei Gründen, auf die hier nicht eingegangen werden soll, sind diese Methoden nicht praktikabel. Was bleibt, ist die Verwendung von mikrobistisch bzw. mikrobicid wirkenden Substanzen, den sogenannten Konservierungsmitteln.

Bei der Auswahl des geeigneten Konservierungsmittels muß nun eine Reihe von Kriterien beachtet werden.

Für die Kontamination kosmetischer Präparate ist sowohl mit Pilzen — vorwiegend Penicillium-, Mucor- und Aspergillus-Arten — als auch mit Bakterien — überwiegend gramnegative Keime — zu rechnen (1). Bei der Bekämpfung dieser Keime zeigen jedoch die einzelnen Konservierungsmittel sehr unterschiedliche Wirkungsspektren. Bekannt ist beispielsweise bei den niedermolekularen p-Hydroxybenzoesäureestern sowie bei Germall 115® und Irgasan DP 300® eine Schwäche oder fehlende Wirkung gegen Hefen und andere Pilze (2). Andererseits kommt es häufig zu Inkompatibilitäten zwischen Antimikrobika und anderen kosmetischen Inhaltsstoffen. Auch der pH-Wert des zu konservierenden Produktes muß beachtet werden, da eine Reihe von Konservierungsmitteln nur einen begrenzten pH-Einsatzbereich hat.

In engem Zusammenhang damit steht die Stabilität des antimikrobiellen Wirkstoffs, die selbstverständlich in dem Kosmetikum gegeben sein muß.

Schließlich, und damit wird ein besonders wichtiger Gesichtspunkt angesprochen, muß auf eine gute physiologische Verträglichkeit des Produktes geachtet werden. Die Diskussionen um Hexachlorophen und quecksilberhaltige Konservierungsmittel nehmen einen breiten Raum in der Literatur ein (3), und Formaldehyd ist als Konservierungsmittel für Kosmetika beispielsweise in Japan verboten worden.

2. BRONIDOX®*, ein neues Konservierungsmittel

Die chemische Bezeichnung für Präp. B ist 5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan. Das folgende Schema (*Bild 4*) verdeutlicht den Syntheseweg.

* E. W. der Fa. Henkel & Cie GmbH, im folgenden Präp. B genannt.

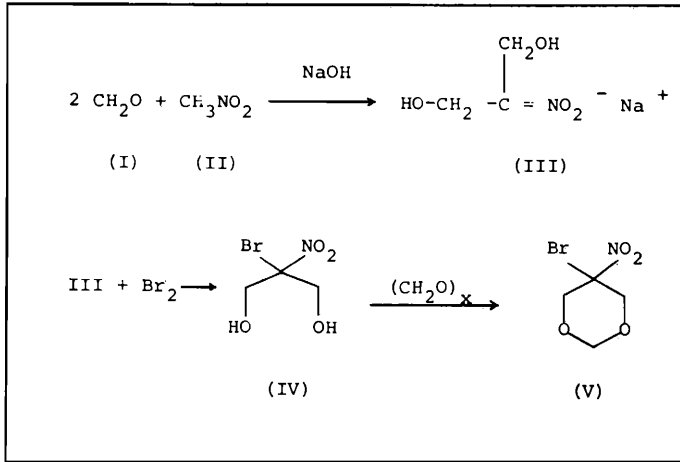


Bild 4

Synthese von 5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan

Das Zwischenprodukt (IV) ist bereits 1919 von Schmidt und Wilkendorf (4) beschrieben worden und unter dem Markenzeichen Bronopol® (Boots Pure Drug Co. Ltd.) bekannt.

2.1 Physikalische und chemische Eigenschaften von Präp. B

Es ist ein fast farbloses kristallines Produkt. Seine physikalischen Konstanten sind in Bild 5 zusammengestellt.

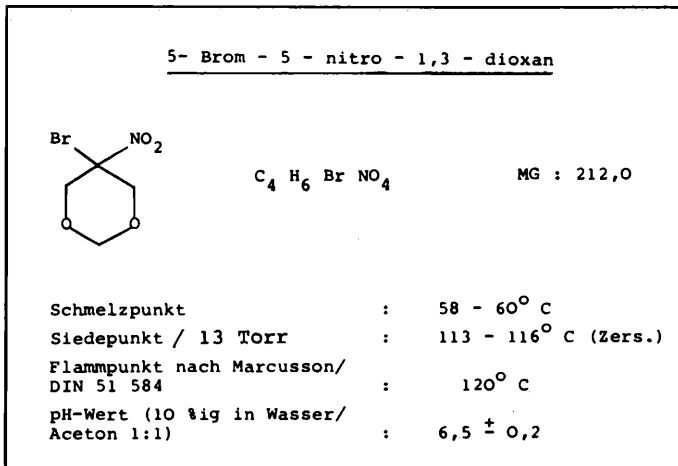


Bild 5

An Verunreinigungen enthält das Produkt $< 0,2\%$ Natriumsulfat und einen Br-Anteil von $< 0,3\%$ des Gesamt-Bromgehalts; es läßt sich anhand des Infrarotspektrums identifizieren, welches in *Bild 6* wiedergegeben ist.

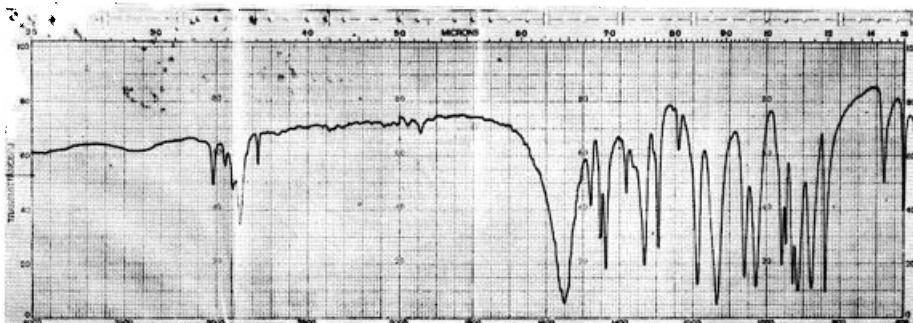


Bild 6

IR-Spektrum von 5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan

Dünnschichtchromatographisch zeigt Präp. B auf Fertigplatten aus Kieselgel F 254 (E. Merck) einen R_F -Wert von 0,7, wenn man als Laufmittel Benzol/Chloroform/Isopropanol : 60/40/35 verwendet.

Ein wichtiges Kriterium für ein Konservierungsmittel ist seine Stabilität unter den Anwendungsbedingungen. Lösungen von 10 g in 60 g Äthanol und 30 g Wasser bzw. Pufferlösung wurden 10 Stunden auf 50°C erhitzt. Nach Abkühlung wurde mit Salpetersäure angesäuert und das abgespaltene Brom potentiometrisch titriert. Dabei ergaben sich zwischen pH 5 und 9 die in *Bild 7* wiedergegebenen Werte.

pH-Wert	Ionogenes Brom in % des Gesamt-Bromgehalts
5,2	0,63
7,0	0,63
9,0	0,96

Bild 7

Stabilität von 5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan

Andere Lagertests über 17 Monate zeigten ebenfalls eine gute Stabilität zwischen pH 5 und 9. Auch die Lichtstabilität ist gut, was sowohl für die Substanz als auch in deren wässrigen und nichtwässrigen Lösungen gilt. Mehrwöchige Belichtungsversuche bei Raumtemperatur führten weder zu farblichen noch geruchlichen Veränderungen.

Mit mikrobiellem Verderb kosmetischer Produkte ist vor allem dann zu rechnen, wenn es sich um wasserhaltige Präparate handelt, denn Mikroben benötigen einen wässrigen Lebensraum. Deshalb ist für die Wirksamkeit eines antimikrobiellen Mittels eine gewisse Wasserlöslichkeit zu fordern. Die Löslichkeit von Präp. B in Wasser bei 20° C beträgt 0,46 ‰. Dieser geringe Wert ist zweifellos von Nachteil, spielt aber keine allzu große Rolle, da Präp. B bereits bei einer Konzentration von 0,02 ‰ seine antimikrobielle Wirkung voll entfaltet. Außerdem ist eine Lösung in 1,2-Propylenglykol auch kalt verarbeitbar. Eine allgemeine Übersicht der Löslichkeit in den gängigen Lösungsmitteln ist in *Bild 8* zusammengestellt.

Lösungsmittel	Temp. °C	Löslichkeit (g/100 g Lösungsmittel)
Wasser	20	0,46
	50	1,70
Äthanol	20	25
Isopropanol	20	10
1,2-Propylenglykol	20	10
Chloroform	20	50
pflanz. Öle	-	leicht löslich
Paraffinöl	-	unlöslich

Bild 8

Löslichkeit von 5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan

2.2 Antimikrobielle Eigenschaften von Präp. B

Das zentrale Anliegen eines Konservierungsmittels ist sein Wirkungsspektrum gegenüber Mikroorganismen. Bei den zu bekämpfenden Mikroben handelt es sich sowohl um Bakterien als auch um Pilze. Viren können weitgehend aus dieser Betrachtung ausgeschlossen werden, da sie sich nicht in totem Material, also auch nicht in Kosmetika, vermehren können, sondern nur in Gegenwart lebender Organismen.

Von den Bakterien treten vorwiegend die sogenannten gramnegativen Arten auf, während die grampositiven Spezies für Kosmetika eine untergeordnete Rolle spielen. Aber gerade die gramnegativen Typen sind besonders schwer zu bekämpfen, und Mikrobiologen kennen den Keim *pseudomonas aeruginosa* als sogenannten Problemkeim.

Man muß also von einem Konservierungsmittel für Kosmetika erwarten, daß es gerade gegen gramnegative Organismen eine gute, zumindest ausreichende Wirkung hat. In *Bild 9* ist die Hemmwirkung von Präp. B gegen einige solcher Bakterien im Vergleich zu gängigen Konservierungsmitteln aufgeführt.

	Hemmwerte in ppm						
	5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan	PHB-Äthylester	Chloracetamid	Hexachlorophen	Formaldehyd	Benzalkoniumchlorid	Phenylmercurinitrat
<i>Escherichia coli</i>	50	800	2500	500	62	20	0,3
<i>Pseud. aeruginosa</i>	50	800	2500	500	125	20	0,3
<i>Proteus vulgaris</i>	50	-	-	-	-	-	-
<i>Aerobacter aerog.</i>	50	-	-	-	-	-	-
<i>Pseud. fluoresc.</i>	50	-	-	-	-	-	-
<i>Salmonella typhosa</i>	50	-	-	-	-	-	-
<i>Serratia marcescens</i>	25	-	-	-	-	-	-

Bild 9

Hemmung gramnegativer Bakterien

Ein Vergleich dieser Werte zeigt, daß Präp. B eine hohe Aktivität gegen gramnegative Bakterien besitzt, was insbesondere auch für den „Problemkeim“ *pseudomonas aeruginosa* gilt. Damit ist einerseits eine relativ sichere Beherrschung dieser Organismen gewährleistet, andererseits deuten die Zahlen bereits an, daß die Einsatzkonzentration im Vergleich zu anderen Konservierungsmitteln recht niedrig sein wird. An dieser Stelle sei auf die sehr niedrigen Hemmwerte von Benzalkoniumchlorid und Phenylquecksilbernitrat (siehe *Bild 9*) hingewiesen, auf die später noch näher eingegangen werden soll. Wenn auch grampositive Bakterien von untergeordneter Bedeutung für die Konservierung von Kosmetika sind, so soll doch in *Bild 10* ein Eindruck der Wirkung von Präp. B gegen diese Mikrobenklasse gegeben werden.

	Hemmwerte in ppm						
	5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan	PHB-Äthylester	Chloracetamid	Hexachlorophen	Formaldehyd	Benzalkoniumchlorid	Phenylmercurinitrat
Staphylococcus aureus	75	500	2500	1-10	62	5	0,1
Staphylococcus albus	50	-	-	-	-	-	-
Mikrococcus varians	25	-	-	-	-	-	-
Streptococcus faecalis	75	-	-	-	-	-	-

Bild 10

Hemmung grampositiver Bakterien

Die Hemmwerte von Präp. B gegenüber grampositiven Keimen liegen in der gleichen Größenordnung wie die gegenüber gramnegativen Keimen. Das steht im Gegensatz zu zahlreichen anderen Antimikrobika, die gegenüber gramnegativen Bakterien deutlich weniger wirksam sind.

Betrachtet man schließlich die antimikrobielle Aktivität gegen Pilze, so stellt man fest, daß hier zahlreiche Konservierungsmittel Lücken in ihrem Wir-

	Hemmwerte in ppm				
	5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan	PHB-Äthylester	Chloracetamid	Formaldehyd	Benzalkoniumchlorid
Candida albicans	25	800	1250	250	10
Saccharomyces cerevisiae	10	-	-	-	-
Aspergillus niger	10	250	1250	250	20
Mucor plumbeus	25	-	-	-	-
Penicillium cameronense	25	-	-	-	-
Fusarium species	10	-	-	-	-

Bild 11

Hemmung von Pilzen

kungsspektrum haben. Dies gilt nicht für Präp. B, dessen antimykotische Wirkung in *Bild 11* wiedergegeben ist.

Die Hemmwerte gegenüber Pilzen liegen in der gleichen Größenordnung wie die gegenüber Bakterien. Damit erweist sich diese Substanz als breit anwendbar, eine Lücke im Wirkungsspektrum tritt, im Gegensatz zu einigen anderen Konservierungsmitteln, nicht auf. Dies soll in *Bild 12* verdeutlicht werden, in welchem Auszüge aus einer Literaturzusammenstellung (2) wiedergegeben werden.

	durchschnittliche Hemmwerte in ppm		
	Staphylococcus aureus	gramnegative Bakterien	Pilze
5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan	75	50	25
Benzylalkohol	25	2250	5000
Formaldehyd	62	100	250
Pionin	5	50	100
Osmaron	10	50	1000
Bronopol	50	25	125

Bild 12

Mit dem genannten Zahlenmaterial soll nicht der Eindruck erweckt werden, daß mit Präp. B jeder Keim beherrscht werden kann. Es sind auch bereits Mikroben bekannt, wie gewisse *Nocardia*-Typen, die den Actinomyceten zuzurechnen sind, bei denen Hemmwerte von 100 ppm gefunden werden. Ebenso ist nicht auszuschließen, daß es bei massiver Dauerbelastung, zum Beispiel bei mangelnder Betriebshygiene, zur Ausbildung resistenter Stämme kommen kann. Die bisher bekannten umfangreichen Ergebnisse, die hier nur auszugsweise wiedergegeben werden konnten, weisen Präp. B jedoch als Konservierungsmittel von großer Wirkungsbreite und hoher Aktivität aus.

An dieser Stelle ist eine kurze Bemerkung zum Mechanismus der antimikrobiellen Wirkung von Präp. B angebracht. Die Verbindung wirkt nicht als Formaldehydabspalter, etwa in Umkehrung der Synthese-Reaktion. Dies ist zum einen durch Stabilitätsprüfungen nachgewiesen, zum anderen sind die Hemmwerte gegenüber den meisten Keimen viel geringer als die von Formaldehyd.

Die derzeit wahrscheinlichste Erklärung der antimikrobiellen Wirkung von Präp. B beruht auf einer Oxidation der Thiolgruppen von Mercaptoamino-säuren. Stretton und Manson (5) deuten die Wirkung von α -Bromnitroverbindungen auf Mikroorganismen nach folgendem Schema (Bild 13).

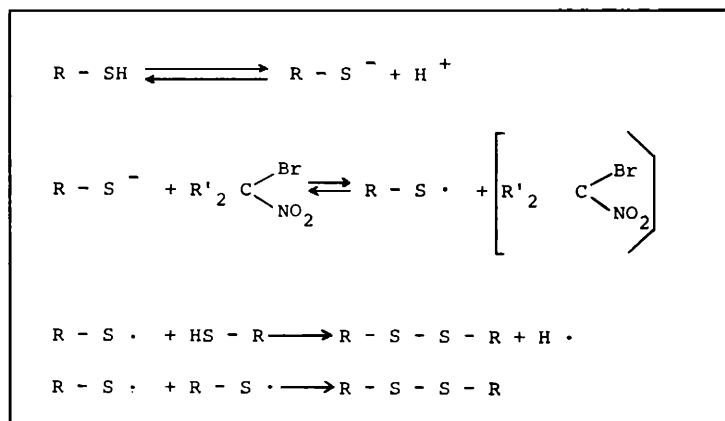


Bild 13

Reaktion von α -Bromnitroverbindungen mit Sulfohydrylgruppen

Demnach würde in einem reversiblen Schritt die Bromnitroverbindung von einem Thiolat-Anion ein Elektron übernehmen und das gebildete Schwefelradikal in einem irreversiblen Schritt zu einer Verbindung mit einer Disulfidbrücke reagieren. Diese Deutung wird auch von der Tatsache gestützt, daß als Enthemmungsreagens für Präp. B bei mikrobiologischen Experimenten Cystein Verwendung findet.

2.3 Präp. B als Konservierungsmittel in Kosmetika

Wenden wir uns nun der konservierenden Wirkung in Kosmetika unter Bedingungen der Praxis zu, so muß zunächst einmal festgestellt werden, daß für eine diesbezügliche Aussage nicht allein gute Hemmwerte gegen Mikroorganismen genügen. So ist bekannt, daß es zwischen Konservierungsmitteln und anderen kosmetischen Inhaltsstoffen zu Inkompatibilitäten kommen kann. PHB-Ester, Chlorbutanol, phenolische Verbindungen, quaternäre Ammoniumverbindungen und Phenylquecksilberverbindungen werden beispielsweise an Polyäthylenglykole oder an Carboxymethylcellulose mehr oder weniger stark gebunden und in ihrer Aktivität gehemmt. Die Wirkung kationischer Konservierungsmittel wird von Aniontensiden unterbunden, und nicht-

ionische Emulgatoren vermindern oder unterbinden die konservierenden Eigenschaften von PHB-Estern, Dehydracetsäure oder β -Phenyläthanol.

Eine Auskunft über die Eignung eines Konservierungsmittels in Kosmetika kann erst der Praxistest liefern. Das Konservierungsmittel wird in kosmetische Rezepturen eingebracht, die anschließend mit einem geeigneten Gemisch aus Testkeimen belastet werden. In diesem Gemisch kommen grampositive und gramnegative Bakterien ebenso vor wie Hefen und andere Pilze.

Präp. B hat sich bei solchen Tests in einer Fülle von kosmetischen Präparationen bewährt. Dabei wurden alle Arten von Emulgatoren, Tensiden und Ölkomponten sowie Pflanzen- und Organextrakte verwendet, und es wurden keinerlei Inkompatibilitäten beobachtet. In allen Fällen wurde ein guter Konservierungserfolg erzielt, und auch bei erhöhten Temperaturen und längeren Lagerungszeiten veränderten sich die Kosmetika weder farblich noch geruchlich, noch hinsichtlich ihrer Konsistenz. Letzteres ist aufgrund der bereits beschriebenen Stabilität von Präp. B auch nicht zu erwarten.

Für den angegebenen Konservierungserfolg ist eine Konzentration von 0,02 bis 0,05 % erforderlich, also eine im Vergleich mit den meisten bekannten Konservierungsmitteln äußerst geringe Menge. Als besonders vorteilhaft erweist sich dabei die Verwendung einer 10%igen Lösung in 1,2-Propylenglykol, die bei ca. 40° C den kosmetischen Rezepturen zugegeben werden kann.

Im Hinblick auf die vielen Variationsmöglichkeiten in der Zusammensetzung von kosmetischen Erzeugnissen ist es empfehlenswert, im Einzelfall die zur Konservierung erforderliche Mindestkonzentration durch Vorversuche und entsprechende Lagerungs- und Belastungstests zu ermitteln.

Nach den vorstehenden Ausführungen erfüllt Präp. B die mikrobiologischen und anwendungstechnischen Bedingungen, die an ein modernes Konservierungsmittel für Kosmetika gestellt werden müssen. Von ausschlaggebender Bedeutung ist jedoch auch die physiologische Verträglichkeit kosmetischer Inhaltsstoffe, also auch und gerade von Konservierungsmitteln.

2.4 Toxikologisch-dermatologische Untersuchungen von Präp. B

Zur Klärung dieser Frage sind Experimente an Tieren und Menschen erforderlich, und die umfangreichen toxikologisch-dermatologischen Versuchsergebnisse sollen abschließend dargestellt werden.

Die akute Toxizität liegt bei 590 mg/kg Maus bzw. 455 mg/kg Ratte, jeweils durch orale Applikation ermittelt. Der entsprechende Wert für intraperitoneale Applikation an der Ratte liegt bei 31,5 mg/kg.

Zur Ermittlung der subakuten oralen Toxizität wurden SPF-Ratten einem 90-Tage-Test unterzogen. Als tägliche Dosierung wurden 10 mg, 50 mg und 100 mg gewählt. Wie bei solchen Experimenten üblich, wurde auch eine unbehandelte Kontrollgruppe beobachtet, und weder hinsichtlich des Körpergewichtes, des Blutbildes und der Harnzusammensetzung noch bei biochemischen Untersuchungen ergaben sich für die 10-mg- und 50-mg-Gruppe Abweichungen von der Kontrollgruppe.

Zur Ermittlung der lokalen Verträglichkeit wurde eine Hautverträglichkeitsprüfung mit wiederholter Benetzung nach Burckhardt (6) am Kaninchen und am Menschen durchgeführt. Bei einer 0,5%igen Anwendungskonzentration konnten keine negativen Befunde erhoben werden. Ebenfalls ohne Befund war der Patch-Test an Kaninchen und Mensch, wobei die Anwendungskonzentration 0,5 % und die Kontaktdauer 24 Stunden betragen.

Die Hautverträglichkeit wurde auch am Testmodell der haarlosen Maus geprüft. Dazu wurde das Produkt 1%ig 14 Tage lang täglich einmal auf den Rücken der Tiere gebracht, ohne daß es zu irgendwelchen Reaktionen kam. Dieselbe Prozedur wurde mit 5%iger Lösung ebenfalls reaktionslos vertragen.

Versuche zur Sensibilisierung am Meerschweinchen mit Hilfe des Freund'schen Adjuvans verliefen ohne negativen Befund. Auch bei Sensibilisierungsversuchen am Menschen erwies sich Präp. B als harmlos.

Schließlich wurde unter Aufsicht eines Dermatologen ein umfangreicher Gebrauchstest an einem großen Personenkollektiv durchgeführt, wobei mit Präp. B konservierte Shampoos und Schaumbäder zur Anwendung gelangten. Nachdem auch dieser Test mit gutem Erfolg abgeschlossen wurde, kann festgestellt werden, daß — bei sachgerechter Anwendung — das toxikologische Risiko gering ist.

Unter sachgerechter Anwendung ist gegenwärtig zu verstehen, daß das Produkt vom Hersteller für die Konservierung von Shampoos und Schaumbadpräparaten empfohlen wird. Speziell für diese Einsatzgebiete liegen umfangreiche Verträglichkeitsprüfungen vor.

Zusammenfassung

5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan ist ein neues Konservierungsmittel, das in Konzentrationen von 0,02 bis 0,05 % sowohl gegen grampositive als auch gramnegative Keime und Pilze wirksam ist. Toxikologisch-dermatologische Untersuchungen erweisen die reaktionslose Verträglichkeit. Versuche zur Sensibilisierung ergeben negative Befunde. Das Produkt wird gegenwärtig zur Konservierung von Shampoos und Schaumbädern empfohlen.

Literatur

- [1] Bellinger, H., *J. Soc. Chem.* **18**, 727 (1967).
- [2] Wallhäußer, K.-H., *Seifen-Öle-Fette-Wachse* **100**, 11 (1974).
- [3] Gäbelein, K., *Angewandte Kosmetik* **1973**, [4], 9.
- [4] Schmidt, E., und Wilkendorf, R., *Ber. dtsh. chem. Ges.* **52**, 389 (1919).
- [5] Stretton, R. J., und Manson, T. W., *J. appl. Bact.* **36**, 61 (1973).
- [6] Burckhardt, W., Schmidt, R., und Schmid, P., *XIII. Congressus Internationalis Dermatologiae, München, vom 31. 7. - 5. 8. 1967, Vol. I*, 224 - 226.