

## **Wpływ chlorowodorku lidokainy na odczyn rozcieńczonych rozproszeń poli(N-izopropylakryloamidu) w temperaturze poniżej i powyżej LCST**

WITOLD MUSIAŁ<sup>1,2)</sup>, VANJA KOKOL<sup>1)</sup>, BOJANA VONCINA<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Uniwersytet w Mariborze, Zakład Materiałów Włókienniczych,  
Laboratorium Chemii Barwników i Polimerów, Słowenia

<sup>2)</sup> Akademia Medyczna we Wrocławiu, Katedra i Zakład Technologii Postaci Leku,  
Polska

---

### **Streszczenie**

W niniejszym badaniu oceniano wpływ chlorowodorku lidokainy na odczyn pH zmodyfikowanych polimerów, pochodnych N-izopropylakryloamidu, w temperaturze określonej jako temperatura powierzchni skóry, oraz w temperaturze powyżej i poniżej punktu przemiany fazowej. Zsyntetyzowano trzy zróżnicowane polimery metodą SFEP (surfactant free emulsion polymerization), oraz oceniano pH rozcieńczonych rozproszeń otrzymanych polimerów, również w obecności chlorowodorku lidokainy.

Zmiany odczynu wraz ze wzrostem temperatury, w obecności chlorowodorku lidokainy, przebiegały podobnie w przypadku wszystkich trzech polimerów. Wartość pH wzrastała od zakresu 5,39 - 5,90 do zakresu 6,22 - 6,55. Jednakże zmiana odczynu była bardziej uwidoczniła w zakresie temperatury pomiędzy 25°C i 32°C, niż w zakresie pomiędzy 32°C i 45°C.

Obecność chlorowodorku lidokainy wpływa na obserwowane wartości pH badanych układów. W przebiegu prac badawczo-rozwojowych dotyczących produktów leczniczych podawanych na skórę, w przypadku stosowania polimerów termowrażliwych należy w szczególności uwzględnić ocenę odczynu w zróżnicowanych zakresach temperatury.

**Słowa kluczowe:** chlorowodorek lidokainy, mikrożele, N-izopropylakryloamid, termowrażliwość

---

## WPROWADZENIE

Mikrożele na bazie poli(N-izopropylakrylamidu) są stosowane w wielu dziedzinach techniki, a atrakcyjność badań tych związków wiąże się z faktem, że charakteryzują się punktem przemiany fazowej - w układzie wodnym około temperatury 32°C [1-3]. Mikrożele charakteryzuje się jako trwałe sieci polimerowe, o wymiarach rzędu nanometrów i mikrometrów. W procesie pęcznienia czynnikiem decydującym o szybkości jest dyfuzja, a stała szybkości zapadania się sieci polimerowej jest uzależniona od wielkości porów w tej sieci [4].

Polimery termowrażliwe znajdują zastosowanie w badaniach medycznych, jako termowrażliwe nośniki substancji leczniczej, zmieniające swoje właściwości w zakresie temperatury pomiędzy 32°C i 36°C. Dzięki temu substancje lecznicze mogą być dostarczane do miejsca działania w sposób celowany [5]. Zastosowanie tzw. kontrolowanego dostarczania substancji czynnej, np. po podaniu na skórę, może przyczynić się do zapewnienia terapeutycznych stężeń leku w miejscu podania, oraz zmniejszenia ryzyka wystąpienia ewentualnych działań niepożądanych.

W tym celu oceniano między innymi wiązanie kwasu benzoowego, diltiazemu, cyjanokobalaminy, dekstranu z podłożami termowrażliwymi [6]. Chemiczna modyfikacja w tej grupie polimerów może prowadzić do uzyskania efektu przedłużonego działania leku, lub zapewnić celowane podawanie substancji czynnej do właściwego miejsca działania.

Należy jednak pamiętać, że potencjalne polimerowe nośniki leków mogą także wpływać na odczyn powierzchni skóry i zmieniać go w niekorzystnym kierunku. W skomplikowanych systemach wodnych, z polimerem termowrażliwym i substancją czynną, odczyn pH powinien być oceniany w szerszym zakresie temperatury, w celu wykazania odpowiednich właściwości preparatu w miejscu jego stosowania. Jednym z częściej stosowanych lokalnych anestetyków jest chlorowodorek lidokainy, który badano pod kątem uwalniania z podłoża polimerowego [7, 8].

Celem badania była ocena wpływu chlorowodoru lidokainy, leku miejscowo znieczulającego, na odczyn rozcieńczonych wodnych układów zawierających modyfikowane pochodne N-izopropylakryloamidu.

## **MATERIAŁ I METODY**

### **Materiały**

Chlorowodorek lidokainy został zakupiony w firmie Sigma-Aldrich. Wodę dejonizowaną otrzymano metodą wymiany jonowej (system TKA DI 6000, Niemcy) i stosowano we wszystkich pomiarach i badaniach. N-izopropylakryloamid, a pozostałe odczynniki do syntezy zakupiono w sieci dystrybucyjnej Sigma-Aldrich. Jako substancje wyjściowe do sporządzenia buforów zastosowano diwodorofosforan potasu i wodorofosforan disodowy, zgodne z wymaganiami farmakopealnymi.

### **Badane polimery**

W niniejszym badaniu zastosowano polimery zszyntetyzowane w poprzednich badaniach metodą SFEP. Synteza w środowisku wodnym przebiegała w temperaturze 343 K, w atmosferze gazu obojętnego. Prowadzono ją zgodnie z postępowaniem opisanym przez Peltona [9] i rozwiniętym m. in. przez Vincenta [10], oraz D'Emanuele'a i Dinarvanda [11]. Polimer PNM-I charakteryzował się anionowymi grupami terminalnymi, podczas gdy PNM-II zawierał kationowe grupy terminalne, zgodnie z zastosowanym inicjatorem procesu polimeryzacji. Przyjęto, że polimer PNM-III charakteryzuje się zwiększoną hydrofobowością, wynikającą z wykorzystania wysoce lipofilowego komonomera.

### **Skład badanych systemów**

Skład ocenianych systemów przedstawiono w tabeli 1. Odpowiednie ilości chlorowodoru lidokainy mieszano przez 24 h z wodną dyspersją zszyntetyzowanego polimeru, w temperaturze pokojowej.

## **Pomiary pH**

Pomiarów pH dokonywano za pomocą specjalistycznego pehametru SevenMulti Metler Toledo z zastosowaniem przystawki ION segment, pH/mV/ORP. Wykorzystano elektrodę InLab 413, NTC, pH 0–14, 0–80°C, a wszystkie pomiary wykonywano z użyciem wody dejonizowanej i powtarzano pięciokrotnie.

## **Roztwory buforowe**

W celach porównawczych przygotowano roztwory buforowe o odczynie 6,87 i 7,41 - ich wartości pH były najbardziej zbliżone do odczynu badanych preparatów [12]. Skład roztworów buforowych przedstawiono w tabeli 2.

## **Ocena LCST metodą turbidymetryczną**

Badanie turbidymetryczne przeprowadzono w zakresie temperatury od 18°C do 50 °C. Wartość ta pozwalała na pokrycie całego obszaru temperatury przemiany fazowej.

## **WYNIKI**

LCST wyznaczone dla badanych systemów wynosiło ponad 32°C i przedstawiono je dla poszczególnych polimerów w tabeli 3. Zaobserwowane wartości układają się w następującej kolejności: PNM-I<PNM-II<PNM-III.

Wartości pH badanych rozproszeń polimerów zmieniały się wraz ze wzrostem temperatury. pH PNM-I wzrastało z ok. 6,21 w temperaturze 25°C do około 6,66 w temperaturze 32°C. Po kolejnej wyższej temperatury do 45°C zaobserwowano jednak spadek pH do wartości 6,38. Przeciwnie zależności zaobserwowano w przypadku polimeru PNM-II. Względnie wysokie pH ok. 6,87 w temperaturze 25°C obniżyło się do minimum 6,14 przy 32°C, po czym wzrosło do 6,54 dla 45°C. Podobne zależności zaobserwowano w przypadku PNM-III, aczkolwiek bezwzględne różnice pH były znacznie mniejsze niż dla PNM-II. Dla porównania przedstawiono na załączonych wykresach także pH standardowego roztworu buforowego (pH 6,87) (rycina 1).

Wraz z dodatkiem chlorowodoru lidokainy zmieniała się także wartość pH systemu. Przebieg zmian był podobny w przypadku wszystkich trzech systemów. Wartość pH wzrastała od zakresu ok. 5,39-5,90 do wartości pomiędzy 6,22-6,55. Jednakże zmiana odczynu pomiędzy temperaturą 25°C i 32°C była bardziej widoczna, niż w przypadku zmiany pH w zakresie od 32°C do 45°C. Dla układu zawierającego PNM-II, zmiana była niewielka z pH 6,13 do pH 6,22, odpowiednio przy wzroście temperatury z 32°C do 45°C.

Zmierzono także pH roztworów buforowych (pH 6,87 i 7,41) w badanym zakresie temperatur i zamieszczono na wspólnym wykresie z wynikami pomiarów pH systemów polimer-lidokaina. Przebieg linii ukazujących odczyn buforu w zależności od temperatury jest zbliżony do linii prostej, nie obserwowano zasadniczych minimów lub maksimów (rycina 2).

## DYSKUSJA

Odczyn systemu wodnego, badanego w różnych temperaturach może się różnić, co wynika z równania 1. Przedstawia ono zależność zmierzonego potencjału od temperatury.

$$E = E^0 - 2,3 (RT/nF) \log a_{H^+} \quad (1)$$

gdzie: E - potencjał (w mV) pomiędzy elektrodą czujnika i odniesienia,  $E^0$  - potencjał standardowy gdy  $a_{H^+} = 1$  mol/l, R - stała gazowa, T - temperatura, n - wartościowość jonu

Aktywność jonów wodorowych może podlegać w roztworze zmianom, zależnym od temperatury, podobnie jak charakterystyka elektrody. Niewielki spadek odczynu bywa obserwowany w przypadku buforów zasadowych, po ich ogrzaniu. Przeciwnie, w przypadku buforów kwasowych obserwowano wzrost wartości pH. Zgodnie z pomiarami pH rozproszeń zsintetyzowanych polimerów, oraz ich mieszanin z chlorowodorkiem lidokainy, w niektórych przypadkach wykazano minima i maksima pH w biegu wzrastającej temperatury, a różnice te były istotne statystycznie.

Proponowane wyjaśnienie tych zmian, porównując ze standardowym buforem, opiera się na fakcie, że otrzymane polimery wykazują się tzw.

termowrażliwością. Poniżej temperatury punktu przemiany fazowej (LCST) cząsteczki polimeru pozostają w formie całkowicie rozwiniętej, a woda ma swobodny dostęp do makromolekuły. Pozostałości inicjatora reakcji polimeryzacji, wciąż obecne w makrocząsteczce, mogą przyczyniać się do aktywności jonowej dającej w efekcie odczyn bardziej kwasowy lub zasadowy, zależnie od użytego inicjatora.

Przedstawiona koncepcja znalazła potwierdzenie w wynikach badań, bowiem początkowy odczyn polimeru zsyntetyzowanego z użyciem inicjatora kwasowego wynosił ok. 6,87. Wraz ze wzrostem temperatury do punktu przemiany fazowej (LCST), makromolekuła zapadała się i pozostałości inicjatora zamykane były w obszarze mezoformicznym. Obecność mezostruktur badano w rozproszonych w wodzie makromolekułach białek [13], polimerów syntetycznych [14,15], a także mikrożeli [16], gdzie wykryto formowanie się sieci polimerowej o specyficznych właściwościach.

W kolejnym kroku - po wyraźnym podwyższeniu temperatury systemu powyżej LCST zgodnie z danymi bibliograficznymi - dochodzi do demontażu struktur „mezo” i ostatecznego pozbycia się resztek wody lub roztworu wodnego z przestrzeni sieci polimeru. Obserwowane wartości odczynu mogą być przypisane usuniętem z przestrzeni sieciowej resztkom inicjatora, aczkolwiek część jego może pozostawać związana z polimerem, w tym etapie pozostającym w formie ściśle upakowanej. Stąd odczyn polimeru nie osiąga w temperaturze powyżej LCST wartości pierwotnych, tj. odpowiadających początkowej temperaturze. Odpowiedni schemat przedstawiono na rycinie 3.

W przypadku wprowadzenia do układu polimerowego chlorowodorku lidokainy, wartości pH wzrastają wraz ze wzrostem temperatury. Nie obserwuje się tutaj, jak w przypadku pierwotnych dyspersji polimerów, minimów lub maksimów pH, a jedynie konsekwentny wzrost pH, bardziej zaznaczony w przypadku zmiany pH z 25°C na 32°C. Polimer PNM-III zasadniczo nie zmienia odczynu pomiędzy temperaturą 32°C i 45°C. Fakt ten można wyjaśnić szybkim i niemal całkowitym zakończeniem procesu usuwania wodnego roztworu lidokainy z obszaru wewnątrz polimeru. Jest to prawdopodobnie związane z nasiloną lipofilowością polimeru PNM-III. Zależność pomiędzy stałymi równowagi, zgodnie z ryciną 4, może być wyrażona szeregiem:  $K_I < K_{II} < K_{III}$ , chociaż  $\Delta K_{II} - K_I$  jest wyższa, niż  $\Delta K_{III} - K_{II}$ .

## WNIOSKI

1. Zgodnie z przedstawionymi wynikami, polimery N-izopropylakrylamidu charakteryzują się interesującymi właściwościami zmiany odczynu w zależności od temperatury.

2. Obecność chlorowodoru lidokainy wpływa w istotny sposób na zmiany odczynu badanych polimerów w zróżnicowanej temperaturze.

3. Zakres odczynu badanych rozproszeń polimerów wynosił od 5,39 do 6,55. Porównanie tych wartości z fizjologicznym odczynem skóry ludzkiej wskazuje na korzystne właściwości tych polimerów w zakresie zgodności pH.

4. Należy jednak pamiętać, że dla systemów termowrażliwych temperatura ma szczególny wpływ na obserwowane wartości odczynu. Powinny one być szczegółowo ocenione w przypadku zamiaru stosowania tych polimerów na powierzchnie skóry lub błon śluzowych.

## LITERATURA

- [1] Graham N. B., Cameron A.: Nanogels and microgels: The new polymeric materials playground. *Pure App. Chem.* (1998), 70, 1271-1275.
- [2] Mason T. G., Lin M. Y.: Density profiles of temperature-sensitive microgel particles. *Phys. Rev. E.* (2005), 71, 408011-408014.
- [3] Saunders B. R., Crowther H. M., Morris G. E., Mears S. J., Cosgrove T., Vincent B., : Factors affecting the swelling of poly(N-isopropylacrylamide) microgel particles: fundamental and commercial implications. *Coll. Surf. A. Physicochem. Eng. Asp.* (1999), 149, 57-64.
- [4] Bromberg L. E., Ron E. S.: Protein and peptide release from temperature-responsive gels and thermogelling polymer matrices. *Adv. Drug Delivery Revs.* (1998), 31, 197-221.
- [5] Saunders J. M., Tong T., Le Maitre C. L., Freemont T. J., Saunders B. R.: A study of pH-responsive microgel dispersions: from fluid-to-gel transitions to mechanical property restoration for load-bearing tissue. *Soft Matter* (2007), 3, 486-494.

- [6] Coughlan D. C., Corrigan O. I.: Drug-polymer interactions and their effect on thermoresponsive poly(N-isopropylacrylamide) drug delivery systems. (2006), 313, 163-174.
- [7] Ganguly S., Dash A. K.: A novel in situ gel for sustained drug delivery and targeting. *Int. J. Pharm.* (2004), 276, 83–92.
- [8] Ricci E. J., Lunardi L. O., Nanclares D. M. A., Marchetti J. M.: Sustained release of lidocaine from Poloxamer 407 gels. *Int. J. Pharm.* (2005), 288, 235–244.
- [9] Pelton R.: Temperature-sensitive aqueous microgels. *Adv. Colloid Interface Sci.* (2000), 85, 1-33.
- [10] Vincent B., Clarke J., Barnett K. G.: The flocculation of non-aqueous sterically-stabilised latex dispersions in the presence of free polymer. *Coll. Surf.* (1986), 17, 51-65.
- [11] D'Emanuele A., Dinarvan R.: Preparation, characterisation, and drug release from thermoresponsive microspheres. *Int. J. Pharm.* (1995), 118, 237-242.
- [12] Polish Pharmacopoeia, Vol. I, page 112, Warszawa, Ministry of Health, 2006.
- [13] Manski J. M., van der Goot A. J., Boom R. M.: Advances in structure formation of anisotropic protein-rich foods through novel processing concepts. *Trends in Food Sci. Techn.* (2007) 18, 546-557.
- [14] Ba J., Polleux J., Antonietti M., Niederberger M.: Nonaqueous synthesis of tin oxide nanocrystals and their assembly into ordered porous mesostructures. *Adv. Mater.* (2005), 17, 2509.
- [15] Ma Y., Borner H. G., Hartmann J., Colfen H.: Synthesis of DL-alanine hollow tubes and core-shell mesostructures. *Chem. Eur. J.* (2006), 12, 7682-7688.
- [16] Bischofsberger I., Trappe V.: Intriguing behaviour of gels formed by poly-N-isopropylacrylamide particles. [in:] UK Polymer Colloids Forum, University of Greenwich, London, 28-29 August, 2008. Abstract Book.

**Badanie zostało sfinansowane w ramach programu Marie Curie Transfer of Knowledge Fellowship of the European Community 6th Frame Programme, kontrakt nr MTKD-CT-2005-029540-POLYSURF i wykonane w Uniwersytecie w Mariborze.**



Adres autorów

Uniwersytet w Mariborze

Wydział Materiałów Włókienniczych

Laboratorium Chemii Barwników i Polimerów

2000 Maribor, Smetanova 17, Słowenia

Tel: +386 2 220-7500; Fax: +386 2 220-7990

e-mail: bojana.voncina@uni-mb.si

Akademia Medyczna we Wrocławiu

Katedra i Zakład Technologii Postaci Leku

ul. Szewska 38, 50-139 Wrocław, Polska

Tel: +48 71 784-03-15; Fax +48 71 784-03-17

e-mail: witold@ktpl.am.wroc.pl

Tabela1. Skład badanych układów

Table 1. The composition of evaluated dispersions

Skład Composition	PNM-I [mg]	PNM-II [mg]	PNM-III [mg]	LD [mg]	Woda Water [g]
PNM-I-LD	2,5	-	-	2,5	30,00
PNM-II-LD	-	2,5	-	2,5	30,00
PNM-III-LD	-	-	2,5	2,5	30,00
LD	-	-	-	2,5	30,00

PNM-I, PNM-II, PNM-III - polimery/polymers,  
LD - chlorowoderek lidokainy/lidocaine hydrochloride

Tabela 2. Skład porównawczych roztworów buforowych

Table 2. Composition of buffer solutions

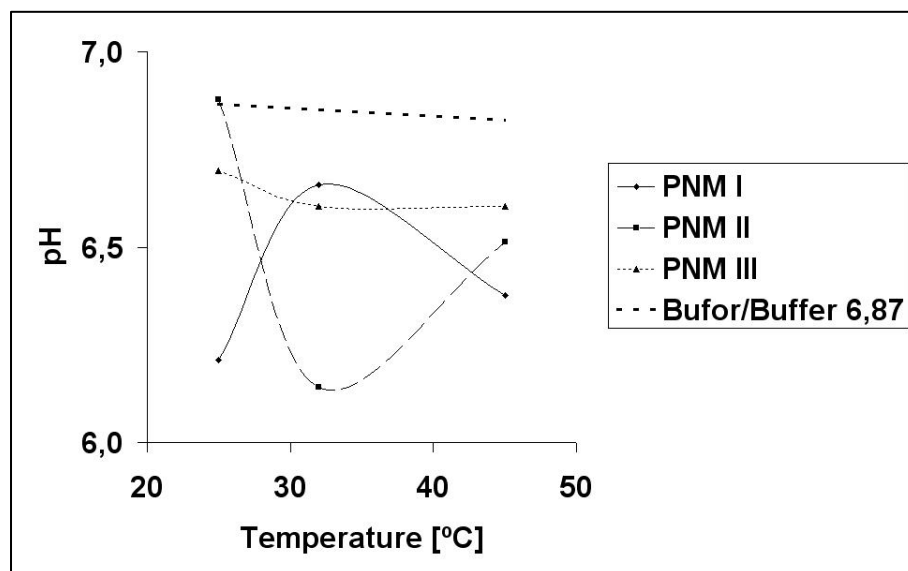
Składniki Components	Roztwór buforowy Buffer solution pH 6,87	Roztwór buforowy Buffer solution pH 7,41
Diwodorofosforan potasu Monopotassium phosphate [M]	0,0125	0,00435
Wodorofosforan sodu Disodium phosphate [M]	0,0125	0,01515
Objętość roztworu wodnego Aqueous solution volume [ml]	1000,0	1000,0

Tabela 3. LCST badanych systemów

Table 3. The LCST of assessed systems

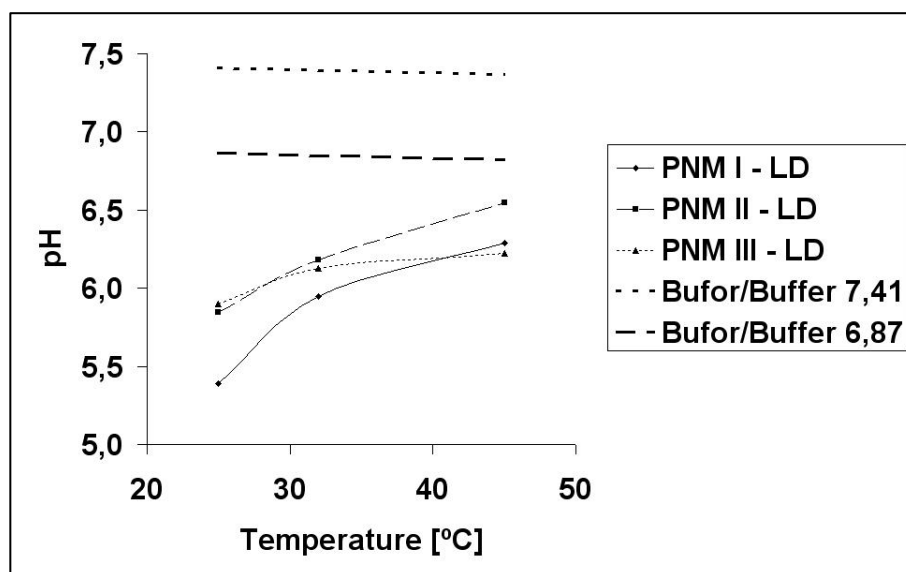
Polimer	LCST [°C]
PNM-I	32
PNM-II	34
PNM-III	35

LCST - temperatura w punkcie przemiany fazowej  
/lower critical solution temperature



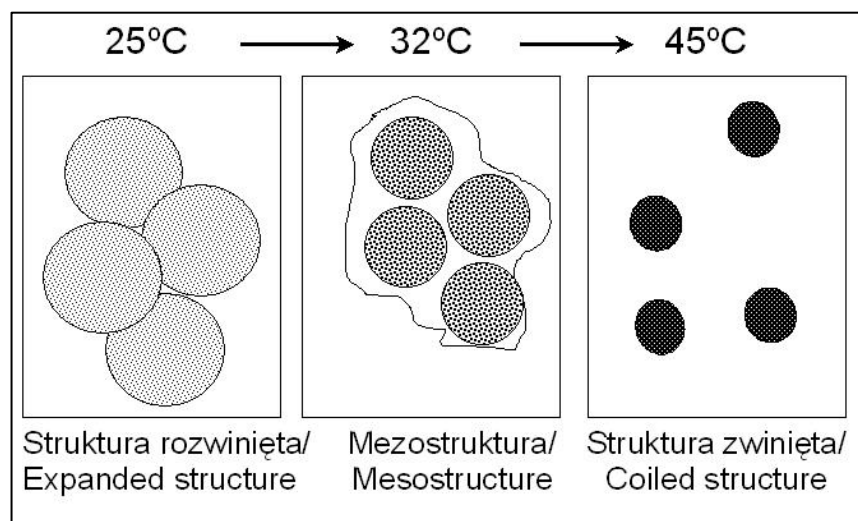
Ryc.1. Wpływ temperatury na odczyn badanych polimerów  
N-izopropylakryloamidu

Fig.1. The environmental pH of synthesized polymers at different  
temperatures



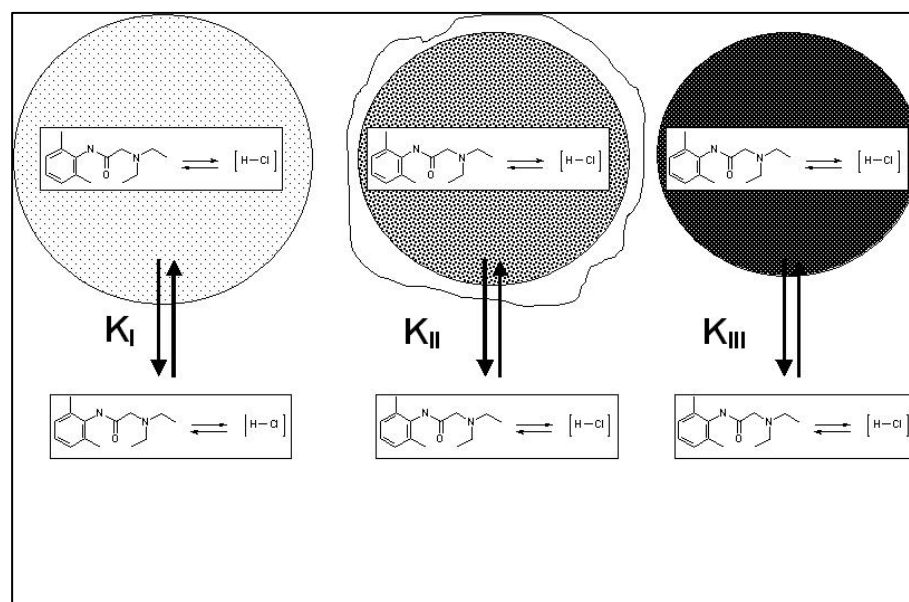
Ryc.2. Odczyn rozcieńczonych układów lidokaina–polimer

Fig. 2. The influence of lidocaine hydrochloride on the pH of diluted dispersions of synthesized polymers



Ryc.3. Schematyczne przedstawienie zmian średnicy i morfologii zsyntetyzowanych polimerów

Fig. 3. Schematic representation of changes in the diameter and morphology of synthesized thermosensitive polymers



Ryc. 4. Zobrazowana równowaga dynamiczna pomiędzy cząsteczkami lidokainy pozostającymi w obrębie nośnika polimerowego, oraz w otaczającym go środowisku wodnym

Fig. 4. Depicted dynamic equilibrium between lidocaine hydrochloride attached to the polymeric carrier and present in the aqueous environment