

## Zmiany odczynu rozcieńczonych rozproszeń polimerów N-izopropylakryloamidu poniżej i powyżej LCST w obecności chlorheksydyny

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

### Streszczenie

Odczyn rozcieńczonych rozproszeń modyfikowanego poli(N-izopropylakryloamidu) z chlorheksydyną oceniano w temperaturze powierzchni skóry, oraz poniżej i powyżej wartości LCST (lower critical solution temperature). Zsyntetyzowano trzy różne pochodne tego polimeru za pomocą SFEP (surfactant free emulsion polymerization). pH wymienionych polimerów z chlorheksydyną badano w rozcieńczonych rozproszeniach. Kierunek zmian pH był zbliżony we wszystkich mieszaninach polimerów, w zakresie temperatury pomiędzy 25°C i 45°C. Wartości pH obniżały się od zakresu 9,87–9,94 do zakresu 9,38–9,46. Zmiana pH pomiędzy 32°C i 45°C była znacznie większa niż pomiędzy 25°C i 32°C, aczkolwiek spadek temperatury był regularny.

Zgodnie z otrzymanymi wynikami zmiana pH mieszanin polimeru z chlorheksydyną jest większa, niż zmiana pH samej chlorheksydyny w obserwowanym zakresie temperatury. Preparaty przeznaczone do stosowania miejscowego oraz doustne, powinny

## The pH changes of diluted dispersions of poly(N-isopropylacrylamide) below and over the LCST in the presence of chlorhexidine

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

<sup>1</sup> University of Maribor, Department  
for Textile Materials and Design  
Laboratory for Chemistry Dyes and  
Polymers, Slovenia

<sup>2</sup> Wrocław Medical University,  
Chair and Department of Pharmaceutical  
Technology, Poland

### Summary

The pH of diluted aqueous dispersions of modified poly(N-isopropylacrylamide) with chlorhexidine was evaluated, at normalized skin surface temperature, as well below and over the lower critical solution temperature value. Three different poly-N-isopropylacrylamides were synthesized by surfactant free emulsion polymerization. They were evaluated in the terms of pH in the aqueous dispersions in the presence of chlorhexidine. The tendency was similar in all investigated systems at increasing temperature between 25°C and 45°C. The pH value decreased from the range between 9,87 - 9,94 down to the range 9,38 - 9,46. The course of pH decrease between the temperature of 32°C and 45°C was more radical, comparing to 25°C and 32°C, however in general the decrease was monotonic.

The systems with chlorhexidine tend to change the pH with temperature increase more radically, in the comparison to the chlorhexidine alone. The formulations applied

podlegać ocenie pH w odpowiednim zakresie temperatury.

**Słowa kluczowe:** chlorheksydyna, mikrożele, N-izopropylakryloamid, termowrażliwość

on the skin surface or in the oral cavity should be evaluated in proper temperature spectrum.

**Key words:** chlorhexidine, microgels, N-isopropylacrylamide, thermosensitivity

## WPROWADZENIE

Polimery termowrażliwe w zakresie temperatur pomiędzy 32°C i 36°C znajdują szczególne zastosowanie w badaniach medycznych i farmaceutycznych, bowiem punkt ich przemiany fazowej znajduje się blisko fizjologicznej temperatury ciała ludzkiego – ok. 37°C oraz temperatury 32°C, charakterystycznej dla powierzchni skóry ludzkiego ciała. Makrocząsteczki poli(N-izopropylakryloamidu) zwane mikrożelami, są szeroko znaną i intensywnie badaną grupą związków na wielu polach biotechnologii i nauk medycznych. Przechodzą one charakterystyczną przemianę fazową w tzw. temperaturze LCST (lower critical solution temperature), zazwyczaj w temperaturze ok. 32°C, w układach wodnych [1–3]. W tej grupie polimerów sieć jest trwała, a rozmiar cząstek polimeru jest rzędu nanometrów lub mikrometrów.

W przebiegu pęcznienia polimeru czynnikiem decydującym jest dyfuzja; szybkość zapadania się sieci polimerowej zależy od wielkości porów w sieci polimeru. Na tej zasadzie substancje lecznicze mogą być dostarczane w sposób celowany do odpowiedniego miejsca działania [4, 5]. Dzięki kontrolowanemu podawaniu substancji leczniczej miejscowo na skórę, możliwe staje się utrzymanie pożądanych stężeń terapeutycznych leku, przy jednoczesnym ograniczeniu prawdopodobieństwa wystąpienia działań niepożądanych. Wiązanie stosunkowo dużych cząsteczek substancji leczniczej, takich jak insulina czy octan prednizolonu badano pod kątem możliwości zastosowania wraz z polimerami termowrażliwymi [6, 7]. Poprzez zastosowanie odpowiednich modyfikacji chemicznych polimeru można osiągnąć przedłużenie uwalniania lub celowane podanie leku. Z drugiej jednak strony potencjalne nośniki substancji leczniczych, mogą wpływać na naturalny odczyn powierzchni ciała i zmieniać pierwotne kwasowe pH skóry w kierunku wyższych wartości. Te skomplikowane systemy zawierające wodę, termowrażliwy polimer i substancję leczniczą powinny być oceniane w zakresie pH, przy zastosowaniu zróżnicowanych temperatur, w celu zapewnienia bezpieczeństwa pacjenta w przypadku preparatu leczniczego stosowanego na skórę.

## INTRODUCTION

Thermosensitive polymers in the area between 32°C and 36°C have been specifically applied in the medical and pharmaceutical research, as they are close to the interesting range of physiological temperatures of the human body - 37°C of the internal body temperature, and 32°C of the body surface temperature. The microgel particles of poly(N-isopropylacrylamide) are widely known and extensively studied in many fields of biotechnology and medical sciences. They undergo a specific volume phase transition in the point of lower critical solution temperature (LCST), usually at ca. 32°C, when assessed in aqueous solutions [1-3]. In this group of polymeric material the network is stable and the size of the particles is in the range of nanometers and micrometers.

During the swelling, the diffusion is the controlling factor - the rate of the collapsing of the microgel is correlated to the size of pores in the network. On that way the medicinal agents may be delivered in the targeted manner to the desired place of activity [4,5]. The controlled delivery of medicinal agents topically to the skin surface may provide therapeutic levels where required and minimize the undesired systemic absorption of the drug. Binding of relatively large bioactive invidious with the use of thermosensitive polymers was researched i.a. for insulin and prednisone acetate [6,7]. Through the chemical modifications of polymers the release prolongation, or targeted drug delivery may be realized. On the other hand potential drug carriers may influence the natural pH of the body surface, and change the originally acidic environment to high pH values. This sophisticated systems, containing water, thermosensitive polymer and medicinal agent the pH values should be determined at different temperatures, to maintain the safety of preparation applied on the skin.

Between high number of local antiseptics used in common bacterial and fungal skin infections one of the most applied is the chlorhexidine. This bioactive component was evaluated in the terms of release from polymeric vehicles to enhance the antibacterial activity of the formulation [8, 9].

Spośród dużej ilości stosowanych miejscowo leków o działaniu aseptycznym, chlorheksydyna jest jednym z najczęściej stosowanych w schorzeniach bakteryjnych i grzybiczych. Substancję tę badano także w aspekcie uwalniania z podłoża polimerowych, w celu zapewnienia odpowiedniej aktywności antybakteryjnej preparatu [8, 9].

W niniejszym badaniu oceniano odczyn rozcieńczonych wodnych rozproszeń zmodyfikowanego poli-(N-izopropylakryloamidu) w obecności chlorheksydyny, w temperaturze określonej jako temperatura powierzchni ciała ludzkiego, oraz w temperaturze powyżej i poniżej LCST.

## MATERIAŁ I METODY

### Materiały

Chlorheksydyna została zakupiona w firmie Sigma-Aldrich. Wodę dejonizowaną otrzymano metodą wymiany jonowej (system TKA DI 6000, Niemcy) i stosowano we wszystkich pomiarach i badaniach. N-izopropylakryloamid. Pozostałe odczynniki do syntezy zakupiono w sieci dystrybucyjnej Sigma-Aldrich.

### Stosowane polimery

W niniejszym badaniu zastosowano polimery zszyntetyzowane w poprzednich badaniach metodą SFEP. Synteza w środowisku wodnym przebiegała w temperaturze 343K, w atmosferze gazu obojętnego. Prowadzono ją zgodnie z postępowaniem opisanym przez Peltona [10], rozwinętem przez Vincenta [11], D'Emanuele'a i Dinarvanda [12]. Podstawową charakterystykę polimerów przedstawiono w tabeli 1.

### Skład badanych systemów

Skład badanych układów zestawiono w tabeli 2. Chlorheksydynę mieszano w ciągu 24h z wodną dyspersją zszyntetyzowanego polimeru, w temperaturze nie przekraczającej 25°C.

### Pomiary pH

W pomiarach pH wykorzystano specjalistyczny pehametr SevenMulti Metler Toledo z przystawką ION segment, pH/mV/ORP. Zastosowano elektrodę

In this study the pH of diluted aqueous dispersions of modified poly(N-isopropylacrylamide) in the presence of chlorhexidine was evaluated, at temperature assigned as standard human body surface temperature, and below and over the volume phase transition temperature value.

## MATERIAL AND METHODS

### Materials

Chlorhexidine was supplied by Sigma-Aldrich. Deionized water from the TKA DI 6000 unit (Germany) was used for all the preparations, and respective operations during the assessments. N-isopropylacrylamide 97%, respective initiators and co-monomer were obtained from commercial suppliers and used without further purification. The components used in the buffer solutions were of pharmacopoeial purity.

### Applied polymers

pNIPAM microgels particles derived from former experiments in the field of polymer chemistry. They were synthesized by surfactant free emulsion polymerization (SFEP) in deionised water at 343 K, under an inert nitrogen atmosphere, according to the procedure evaluated by Pelton [10] and developed i.a.

TABELA 1. Główna charakterystyka badanych polimerów

TABLE 1. Main characteristics of assessed polymers

| Oznaczenie<br>Assignment | Charakterystyka<br>Characteristics                                                       |
|--------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|
| PNM-I                    | Inicjator z anionową grupą funkcyjną<br>Initiator with anionic functional groups         |
| PNM-II                   | Inicjator z kationową grupą funkcyjną<br>Initiator with cationic functional groups       |
| PNM-III                  | Komonomer z hydrofobową grupą funkcyjną<br>Co-monomer with hydrophobic functional groups |

PNM-I, PNM-II, PNM-III – polimery/polymers

InLab 413, NTC, pH 0–14, 0–80°C, a wszystkie pomiary wykonywano z użyciem wody dejonizowanej i powtarzano pięciokrotnie.

by Vincent [11] D’Emanuele and Dinarvand [12]. The shortened characteristics of the obtained polymers is presented in the following Table 1.

### Roztwory buforowe – skład

Przygotowano roztwory buforowe o odczynie 9,18 i 10,01, bowiem ich odczyn był najbardziej zbliżony do pH badanych preparatów [13]. Składy sporządzonych roztworów buforowych przedstawiono w tabeli 3.

### Composition of evaluated systems

The composition of evaluated systems was presented in the Table 2. Chlorhexidine was combined with the dispersion of synthesized polymer. The merging period was maintained for 24 h, at the room temperature.

### WYNIKI

Wyznaczone LCST badanych systemów wynosiło ok. 32°C–36°C. Wraz ze wzrostem temperatury badanych systemów obserwowany odczyn obniżał

### pH measurements

The pH of the prepared gels were measured using the SevenMulti Metler Toledo device with attached ION segment, pH/mV/ORP. The pH electrode InLab 413, NTC, pH 0–14, 0–80°C, was used for the

TABELA 2. Skład badanych układów

TABLE 2. The composition of evaluated dispersions

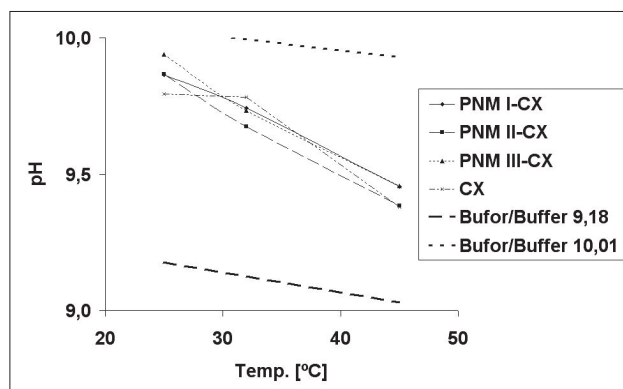
| Skład<br>Composition       | PNM-I<br>[mg] | PNM-II<br>[mg] | PNM-III<br>[mg] | CX<br>[mg] | Woda<br>Water<br>[g] |
|----------------------------|---------------|----------------|-----------------|------------|----------------------|
| PNM-I-CX                   | 2,5           | –              | –               | 2,5        | 30,00                |
| PNM-II-CX                  | –             | 2,5            | –               | 2,5        | 30,00                |
| PNM-III-CX                 | –             | –              | 2,5             | 2,5        | 30,00                |
| CX dispersion/rozproszenie | –             | –              | –               | 2,5        | 30,00                |

PNM-I, PNM-II, PNM-III – polimery/polymers, CX – chlorheksydyna/chlorhexidine

TABELA 3. Skład roztworów buforowych

TABLE 3. Composition of buffer solutions

| Składniki<br>Components                                   | Roztwór buforowy<br>Buffer solution pH 9,18 | Roztwór buforowy<br>Buffer solution pH 10,01 |
|-----------------------------------------------------------|---------------------------------------------|----------------------------------------------|
| Tetraboran disodu<br>Disodium tetraborate [M]             | 0,01                                        | –                                            |
| Węglan sodu<br>Sodium carbonate [M]                       | –                                           | 0,0125                                       |
| Wodorowęglan sodu<br>Sodium hydrocarbonate [M]            | –                                           | 0,0125                                       |
| Objętość roztworu wodnego<br>Aqueous solution volume [ml] | 1000,0                                      | 1000,0                                       |



RYC. 1. Wpływ temperatury na odczyn rozproszeń badanych polimerów N-izopropylakrylamidu i chlorheksydyny

FIG. 1. The pH of dispersions of synthesized polymers and chlorhexidine at different temperatures

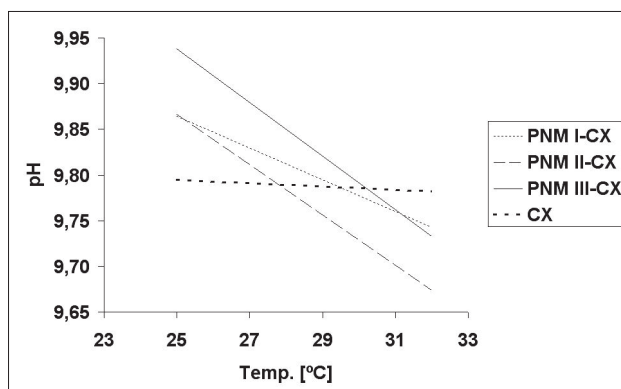
się. Dla systemu zawierającego PNM-I, pH obniżało się z ok. 9,87 w 25°C do ok. 9,74 w 32°C. Po kolejnym podwyższeniu temperatury do 45°C wartość odczynu spadła do 9,46. Podobny przebieg obserwowano w rozproszeniu chlorheksydyny zawierającym polimer PNM-II. Wysoka wartość odczynu 9,87 w temperaturze 25°C obniżyła się do ok. 9,67 w temperaturze 32°C, a następnie do 9,39. Także w przypadku PNM-III wartości pH obniżały się z 9,94 do 9,46, z wartością pośrednią 9,73 w temperaturze 32°C.

Wykonane pomiary porównano na wykresie na rycinie 1 z przebiegiem zmian pH standardowych buforów o odczynie 9,18 i 10,01, w odpowiednich temperaturach.

W celu dokładniejszej interpretacji wyników badań, wybrany obszar przedstawiony na rycinie 1 przedstawiono powiększony na rycinie 2, dla zakresu temperatury pomiędzy 25°C i 32°C. Pogrubiona przerywana linia przedstawia odczyn rozproszenia chlorheksydyny, który wynosił od 9,78 do 9,79 w tym zakresie. Dla porównania odczyn rozproszenia chlorheksydyny połączonej z polimerem obniżał się, a różnica pomiędzy temperaturą początkową (25°C) i pośrednią (32°C) przyjmowała wartości pomiędzy 0,10–0,20 jednostki pH.

## DYSKUSJA

Zazwyczaj, wraz ze zmianą temperatury badanej próbki, obserwowane wartości pH zmieniają się także, w sposób zależny od rodzaju badanej substancji. Jak to



RYC. 2. Wpływ temperatury na odczyn rozproszeń badanych polimerów N-izopropylakrylamidu i chlorheksydyny – powiększony obszar

FIG. 2. The pH of dispersions of synthesized polymers and chlorhexidine at different temperatures – the enlarged area

measurements, and five repetitions for every measurement were carried out, using deionized water.

## Buffer solutions

For comparison of pH at different temperatures, standard buffer solutions were prepared [13]. Buffer of pH 9,18 and buffer solution of pH 10,01 were assigned as more close to the pH range evaluated in present research. Composition of buffers is attached in the Table 3.

## RESULTS

LCST of the assessed systems was estimated to be in the range 32°C - 36°C. When the increased temperature was applied the pH of assessed polymeric dispersions decreased. In the case of PNM-I the pH decreased from ca. 9,87 at 25°C to ca. 9,74 at 32°C. After consequent increase of temperature up to 45°C the pH decreased to 9,46. Similar course was observed in the dispersion of PNM-II. The high pH value of 9,87 at 25°C decreased to 9,67 at 32°C, and than to 9,39. Also in the case of PNM-III, the pH values decreased from 9,94 to 9,46, with intermediate value of 9,73 at 32°C.

These measurements were compared to normalized buffer solutions of pH 9,18 and pH 10,01 at three different temperatures, and were depicted on the common graph - Figure 1.

wynika z przedstawionej w równaniu 1 zależności, odczyn zmienia się wraz ze wzrostem temperatury.

$$\text{pH} = \text{pH}_s - (E - E_s)/k \quad (1)$$

gdzie:  $E$  – potencjał (w V) elektrody pomiarowej,  $E_s$  – potencjał standardowy (w V) elektrody w znanym  $\text{pH}_s$ ,  $k$  – zmiana potencjału na jednostkę pH wyrażona w Voltach, zgodnie z równaniem Nernsta.

W przypadku roztworów buforowych o odczynie alkalicznym obserwuje się niewielki spadek pH wraz ze wzrostem temperatury pomiaru, podczas gdy dla roztworów buforowych o charakterze kwasowym uwidaczniają się w pomiarach pH nieznaczne wzrosty tych wartości. W przebiegu pomiarów pH rozprożeń chlorheksydyny w mieszaninie z badanymi polimerami, obserwowano obniżenie się pH. Obniżka pH wraz ze wzrostem temperatury była obserwowana w powtarzalnych eksperymentach i była statystycznie istotna.

Jako wyjaśnienie mechanizmu obserwowanych zmian odczynu przyjęto termowrażliwy charakter badanych polimerów. Makrocząsteczki polimeru w temperaturze powyżej LCST, pozostają w postaci niemal całkowicie rozwiniętej sieci polimerowej, stąd molekuly chlorheksydyny mogą wykazywać swoją charakterystyczną aktywność jonową. Częsteczki chlorheksydyny mogą więc swobodnie dyfundować pomiędzy rozwiniętymi łańcuchami polimeru. Faktycznie w badaniach potwierdzono, że początkowy zakres pH, zmierzony w temperaturze 25°C wynosi od 9,87 do 9,94, i spada do zakresu 9,67–9,74 w temperaturze 32°C. Natomiast rozproszenie chlorheksydyny w wymienionym zakresie temperatury, charakteryzuje się względnie stałą wartością odczynu ok. 9,785. Proponowany sposób wyjaśnienia tego zjawiska zilustrowano na rycinie 3.

Gdy badany układ charakteryzuje się temperaturą poniżej LCST, chlorheksydyna (1) może względnie łatwo dyfundować poprzez macierz polimerową (4), pomiędzy chlorheksydyną związaną z polimerem i chlorheksydyną obecną we frakcji wodnej systemu (2) ustala się stan równowagi. Wraz ze wzrostem temperatury sieć polimerowa (4) zapada się. Chlorheksydyna pozostająca w obrębie sieci polimerowej (3) może ulegać ściślejszemu związaniu z łańcuchami polimeru, tak więc równowaga dynamiczna pomiędzy związaną (3) i niezwiązaną (1) frakcją chlorheksydyny, przesuwa się na korzyść chlorheksydyny związanej.

Pytaniem otwartym pozostaje kwestia, czy polimer – jeśli jest obecny w formie rozwiniętej – wpływa na jonizację chlorheksydyny i w ten sposób wpły-

For better evaluation of the samples, the area from Figure 1 was enlarged on the graph on Figure 2, and limited to the area between 25°C and 32°C. The bold dotted line represents the pH of chlorhexidine dispersion - the pH of that dispersion was in the range between 9,78-9,79. However the pH of dispersions of chlorhexidine combined with polymers decreased, and the difference between initial temperature (25°C) and intermediate temperature (32°C) was in the range of 0,10 - 0,20 pH unit.

## DISCUSSION

Usually with the temperature change, the observed pH would also change, depending of the measured medium. As it is indicated in the following Equation 1 the pH is changing with the increase of the temperature.

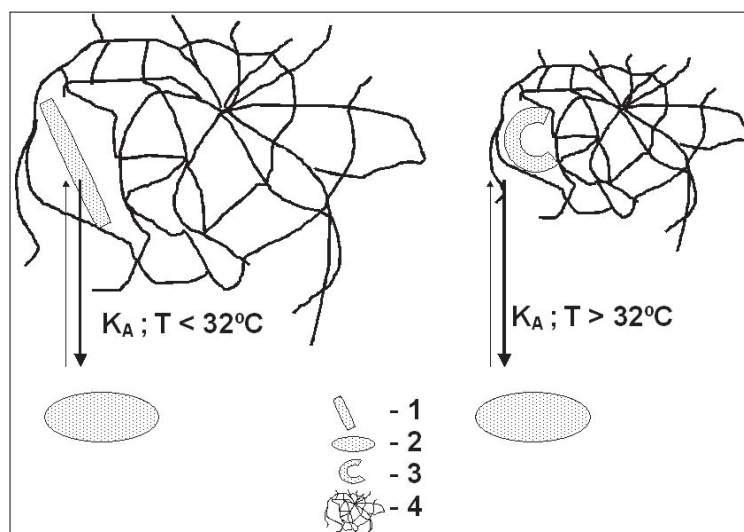
$$\text{pH} = \text{pH}_s - (E - E_s)/k \quad (1)$$

where:  $E$  - potential (in V) developed in the sensing electrode,  $E_s$  - standard potential (in V) of the electrode at known  $\text{pH}_s$ ,  $k$  - the potential change of pH per pH unit expressed in Volts, according to Nernst equation.

The slight decrease of observed pH is usually observed when alkali buffers are used. Also in the case of low pH values, an increase in acidic buffers, when they undergo heating, is observed. During the sequential measurements of polymer dispersions with chlorhexidine, consequent decrease of pH was observed in the preliminary measurements. The measured differences were statistically significant, and confirmed in multiplied repetitions.

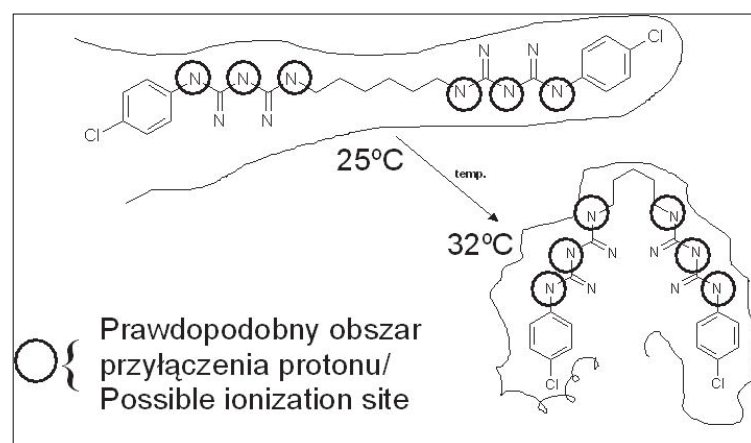
The proposed mechanism of evaluated changes in pH is the thermosensible characteristics of the polymers applied in the research. The particles of polymer are almost totally swollen below the so called LCST, and the chlorhexidine may exhibit its ionic activity. The chlorhexidine molecules may diffuse relatively fast in the aqueous environment of expanded polymer branches, and exhibit its ionic activity. This was confirmed in our research, as the initial pH is in the range of 9,87 - 9,94 at the temperature of 25°C, and decreases to 9,67 - 9,74 in the 32°C. For the non-combined chlorhexidine dispersion the pH in mentioned temperature range is stable - ca. 9,785. The proposed evaluation of the phenomena is given on the Figure 3.

When the temperature is below the LCST, the chlorhexidine (1) may relatively easy diffuse through the polymeric matrix (4), and dynamic equilibrium is



RYC. 3. Schematyczne przedstawienie równowag dynamicznych w obrębie systemu polimer-chlorheksydyna – objaśnienia w tekście

FIG. 3. Schematic representation of dynamic equilibria in the system polymer-chlorhexidine – details in the text



RYC. 4. Możliwy wpływ polimeru na jonizację cząsteczki chlorheksydyny

FIG. 4. The possible influence of polymer on the ionization of the chlorhexidine molecule

wa pośrednio na jej rozpuszczalność. Wraz ze wzrostem temperatury pH systematycznie obniża się, a stałe procesu  $K_A$  – zgodnie z ryciną 3 – mogą być uszeregowane w następujący sposób:  $K_{A(25^\circ\text{C})} > K_{A(32^\circ\text{C})} > K_{A(45^\circ\text{C})}$ . W przebiegu badań związków wielkocząsteczkowych o charakterze mikrożeli wykazano możliwość tworzenia się tzw. mezostruktur, zależnych od temperatury pomiaru [14]. Ich obecność może być czynnikiem wpływającym na obserwowany odczyn badanych systemów.

Na osobną ocenę zasługuje powiększony obszar zależności pH od temperatury pomiędzy  $25^\circ\text{C}$  i  $32^\circ\text{C}$ , przedstawiony na rycinie 3. Niemal horyzontalna, przerywana linia reprezentuje odczyn wodnego rozproszenia chlorheksydyny. Wraz ze wzrostem temperatury obserwowana zmiana odczynu ma wartość nie większą niż 0,01 jednostki pH, podczas gdy w przypadku połączeń z polimerem odczyn obniża się o 0,1–0,2 jednostki pH. Można to wyjaśnić za pomocą początkowego wpływu polimeru, na aktyw-

maintained between the chlorhexidine entrapped in the polymeric matrix and the chlorhexidine present in aqueous environment (2). With the increase of temperature the polymeric net (4) is collapsing. The chlorhexidine (3) present in the polymeric matrix area may be more strictly bounded to the polymer branches, so the dynamic equilibrium between the combined (3) and un-combined (1) chlorhexidine moves towards the combined fraction.

Intriguing is the behaviour of chlorhexidine in the presence of polymers, when compared to the pure chlorhexidine dispersions, and should be further examined. The open question is, if the polymer, when present in the expanded form, influences the ionization of chlorhexidine, and enables higher dissolution of the species. When the temperature is increasing, the pH is consequently decreasing, and the rates  $K_A$  depicted on the Figure 3, may be ordered:  $K_{A(25^\circ\text{C})} > K_{A(32^\circ\text{C})} > K_{A(45^\circ\text{C})}$ . The presence of mesostructures was studied in dispersed macromolecules of microgels,

ność jonową chlorheksydyny w rozproszeniu wodnym.

Zgodnie z pracami Blackburn'a [15] chlorheksydyna charakteryzuje się posiadaniem pięciu potencjalnych miejsc jonizacji, a związane z nimi stałe kwasowe pKa wynoszą od -4,46 do 10,15. Obecność polimeru może wpływać stymulująco na aktywność jonową chlorheksydyny w temperaturze 25°C, aczkolwiek po podwyższeniu temperatury wpływ polimeru może się obniżać, ze względu na zapadanie się sieci polimerowej.

Schemat powyższych zmian zaprezentowano na rycinie 4. W celu dokładniejszej analizy omawianych zjawisk, konieczne jest przeprowadzenie w dalszych etapach badań, oceny rozpuszczalności chlorheksydyny w obecności polimerów.

## WNIOSKI

1. Obecność chlorheksydyny wpływa na obserwowane pH w badanych systemach poli(N-izopropylakryloamid) – chlorheksydyna w zróżnicowanej temperaturze.
2. W badanych systemach przebieg zmian jest podobny we wszystkich przypadkach, w zakresie temperatury pomiędzy 25°C i 45°C. Wartość pH obniża się w zakresie od 9,87–9,94 do 9,38–9,46. Spadek pH w zakresie temperatury pomiędzy 32°C i 45°C jest większy niż spadek pomiędzy 25°C i 32°C, aczkolwiek przebieg tych zmian jest regularny.
3. Preparaty zawierające chlorheksydynę charakteryzują się znacznym spadkiem pH, w porównaniu z samą tylko chlorheksydyną rozpuszoną w wodzie.
4. Odczyn formułacji zawierających polimery termowrażliwe, a przeznaczonych do preparatów stosowanych na skórę lub w jamie ustnej, powinien być badany w odpowiednim zakresie temperatury.

## LITERATURA

- [1] PANAYIOTOU M., POHNER C., VANDEVYVER C., WANDREY C., HILBRING F., FREITAG R.: Synthesis and characterization of thermo-responsive poly(N,N'-diethylacrylamide) microgels. *React. Funct. Polym.* (2007), 67, 807–819.
- [2] JANCZEWSKI D., TOMCZAK N., HAN M.Y., VANCISO G. J.: Introduction of Quantum Dots into PNIPAM microspheres by precipitation polymere-

where the space spanning networks were formed [14]. This occurrence may also influence the pH decrease the combined mixtures of poly-N-isopropylacrylamides and chlorhexidine.

The separate evaluation should be performed for the enlarged area of dependency between pH and temperature in the range 25°C and 32°C. The almost horizontal, dotted line on the Figure 2 represents the pH of chlorhexidine water dispersion. With the increase of the temperature the difference is in the range of 0,01 pH, whereas for the polymer - chlorhexidine systems the pH decreases in the range of 0,1-0,2 pH unit. This may be elucidated by the initial influence of the polymer on the ionic activity of the chlorhexidine in the aqueous dispersion.

According to Blackburn [15] the chlorhexidine has five ionization sites with pKa values between -4,46 and 10,15. The presence of polymer induces the increased ionic activity of chlorhexidine molecule at the 25°C temperature however with the increase of the temperature to 32°C the polymer particles are collapsing, and the influence on the ionization decreases. This may be schematically represented as on the Figure 4. The respective dissolution assessments should be performed to evaluate in details this hypothesis.

## CONCLUSIONS

1. The presence of chlorhexidine influences the pH patterns of N-isopropylacrylamide polymers observed at various temperatures.
2. In the analyzed systems the tendency was similar in all systems, at increasing temperatures between 25°C and 45°C. The pH value decreased from the range between 9,87 and 9,94 down to the range between 9,38 and 9,46. The course of pH decrease between the temperature of 32°C and 45°C was more radical, comparing to 25°C and 32°C, however in general the decrease was monotonic.
3. The systems with chlorhexidine tend to change the pH with temperature increase more radically, in the comparison to the chlorhexidine alone.
4. The formulations applied on the skin surface or in the oral cavity should be evaluated in proper temperature spectrum.

**This research was financed by a Marie Curie Transfer of Knowledge Fellowship of the European Community 6th Frame Program under contract no. MTKD-CT-2005-029540-POLYSURF, and made at the University of Maribor.**

- rization above LCST. *Eur. Polym. J.* (2009), 45, 1912–1917.
- [3] SPEVACEK J.: NMR investigations of phase transition in aqueous polymer solutions and gels. *Current Opinion in Colloids and Interface Science*. (2009), 14, 184–191.
- [4] RAVAINÉ V., ANCLA C., CATARGI B.: Chemically controlled closed-loop insulin delivery. *J. Control. Release*. (2008), 132, 2–11.
- [5] SAUNDERS J. M., TONG T., LE MAITRE C. L., FREMONT 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] NOLAN C. M., GELBAUM L. T., LYON L. A.: <sup>1</sup>H NMR investigation of thermally triggered insulin release from poly(N-isopropylacrylamide) microgels. *Biomacromolecules*. (2006), 10, 2918–2922.
- [7] WEI H., ZHANG X. Z., CHENG H., CHEN W. Q., CHENG S. X., ZHUO R. X.: Self-assembled thermo- and pH responsive micelles of poly(10-undecenoic acid-b-N-isopropylacrylamide) for drug delivery. *J. Control. Release*. (2006), 116, 266–274.
- [8] MANAFI A., HASHEMLOU A., MOMENI P., MOGHIMI H. R.: Enhancing drug absorption through third-degree burn wound eschar. *Burns*. (2008), 34, 698–702..
- [9] BOWKER J. M., STAHL P. H.: Preparation of water-soluble compounds through salt formation. [in:] *Pract. Med. Chem.* 3<sup>rd</sup> Edition, Ed. by Wermuth C. G., Elsevier, Academic Press, France, 2008, pages 747–766
- [10] PELTON R.: Temperature-sensitive aqueous microgels. *Adv. Colloid Interface Sci.* (2000), 85, 1–33.
- [11] 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.
- [12] D'EMANUELE A., DINARVAN R.: Preparation, characterisation, and drug release from thermo-responsive microspheres. *Int. J. Pharm.* (1995), 118, 237–242.
- [13] Polish Pharmacopoeia, Vol. I, page 112, Warszawa, Ministry of Health, 2006.
- [14] BISCHOFBSBERGER 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.
- [15] BLACKBURN R. S., HARVEY A., KETTLE L. L., MANIAN A. P., PAYNE J. D., RUSSELL S. J.: Sorption of Chlorhexidine on Cellulose: Mechanism of Binding and Molecular Recognition. *J. Phys. Chem. B*. (2007), 111, 8775–8784.
- Badanie zostało sfinansowane w ramach programu Marie Curie Transfer of Knowledge Fellowship of the European Community 6th Framework 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
- Author's address  
University of Maribor  
Department for Textile Materials and Design  
Laboratory for Chemistry Dyes and Polymers  
2000 Maribor, Smetanova Str. 17, Slovenia  
Tel: +386 2 220-7500; Fax: +386 2 220-7990  
e-mail: bojana.voncina@uni-mb.si
- Wroclaw Medical University  
Chair and Department of Pharmaceutical Technology  
50-139 Wrocław, Szewska Str. 38, Poland  
Tel: +48 71 784-03-15  
Fax +48 71 784-03-17  
e-mail: witold@ktpl.am.wroc.pl

