

Zastosowanie pomiarów konduktometrycznych w ocenie potencjalnego pulsacyjnego uwalniania chlorowodoru lidokainy z termowrażliwych mikrożeli na bazie N-izopropylakryloamidu

WITOLD MUSIAŁ^{1, 2}, VANJA KOKOL¹,
BOJANA VONCINA¹

¹ Uniwersytet w Mariborze,
Zakład Materiałów Włókienniczych,
Laboratorium Chemii Barwników
i Polimerów, Slovenia

² Akademia Medyczna we Wrocławiu,
Katedra i Zakład Technologii Postaci
Leku, Polska

Streszczenie

Celem pracy była wstępna ocena zmian przewodnictwa w kompartmentie wodnym, zawierającym chlorowodorek lidokainy i mikrożel – pochodną N-izopropylakryloamidu, w trakcie zmian temperatury w przedziale pomiędzy 25°C i 42°C, jako wskazówki do wykazania możliwości zastosowania tych mikrożeli w pulsacyjnym uwalnianiu substancji leczniczej wraz ze zmianami temperatury. Przewodnictwo systemów składających się odpowiednio z polimeru i chlorowodoru lidokainy w systemach oznaczonych jako PNM I-LD, PNM II-LD i PNM III-LD wynosiło 39,91 µS/cm – 53,30 µS/cm w temperaturze 25°C, 46,14 µS/cm – 56,16 µS/cm w temperaturze 32°C oraz 53,30 µS/cm i 118,42 µS/cm w temperaturze 42°C.

Podczas ogrzewania lub chłodzenia mikrożeli, pochodnych N-izopropylakrylamidu, istnieje możliwość uzyskania pulsacyjnego uwalniania chlorowodoru lidokainy

The use of conductometric assessments for development of pulsed release of lidocaine hydrochloride from thermosensitive N-isopropylacrylamide microgels

WITOLD MUSIAŁ^{1, 2}, VANJA KOKOL¹,
BOJANA VONCINA¹

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

² Wrocław Medical University, Chair
and Department of Pharmaceutical
Technology, Poland

Summary

The aim of present work was preliminary assessment of the conductivity changes in aqueous compartment, consisting of lidocaine hydrochloride, and N-isopropylacrylamide derivative microgel, during increasing the temperature between 25° and 42°C, as a prerequisite to demonstrate the possibility of applying this microgel for pulsed release of lidocaine hydrochloride, when increased temperature is applied. Conductivity of respective systems composed of polymer and lidocaine hydrochloride were assigned as PNM I-LD, PNM II-LD, and PNM III-LD: obtained values were in the ranges: 39,91 µS/cm – 53,30 µS/cm in the 25°C temperature, 46,14 µS/cm – 56,16 µS/cm in the temperature of 32°C, and 53,30 µS/cm – 118,42 µS/cm at 42°C.

During heating or cooling of the microgels derivatives of N-isopropylacrylamide, there is possibility to obtain pulsed release of lidocaine hydrochloride from the polymeric bead in the range between 25°C and 42°C, according to the conductivity measurements.

z podłoża polimerowego, w zakresie temperatur pomiędzy 25°C i 42°C, jak na to wskazują pomiary przewodnictwa.

Słowa kluczowe: chlorowodorek lidokainy, mikrożel, N-izopropylakryloamid, uwalnianie pulsacyjne, termowrażliwość, przewodnictwo

WPROWADZENIE

Lidokaina jako chlorowodorek znajduje zastosowanie w znieczuleniu miejscowym, często jako anestetyk w jamie ustnej [1]. Naskórne podawanie lidokainy jest zalecane w ranach pooparzeniowych, a w badaniach mieszaniny epinefryny i lidokainy w postaci podania podskórnego, u pacjentów operowanych z powodu ran oparzeniowych, wykazano przedłużone działanie przeciwbólowe takiej mieszaniny oraz jej działanie hemostatyczne [2]. Preparaty lidokainy wykorzystywane są także do zwalczania bólu wywołanego wirusem półpaśca, oraz w neuralgii po zakażeniu półpaścem [3]. Lidokainę stosuje się w postaci mieszanin z innymi miejscowymi anestetykami, takimi jak prilokaina, w celu uśmierzania bólu wywołanego biopsją przezodbytniczą prowadzoną za pomocą ultrasonografii na gruczole krokowym [4]. Lidokaina znajduje także miejscowe zastosowanie przeciwbólowe w formie mieszaniny eutektycznej podawanej na dziąsła [5].

Mieszaninę lidokainy i epinefryny badano pod kątem jej przydatności w zwalczaniu bólu w obrębie miazgi zębowej [6]. Ostatnio scharakteryzowano interesujące przeciwwzpalne działanie lidokainy, które może być wykorzystane w zwalczaniu bólów związanych z wyraźną komponentą zapalną [7]. Opracowanie odpowiednich systemów kontrolowanego i celowanego podawania lidokainy ma istotne znaczenie, ze względu na możliwość wystąpienia ciężkich intoksykacji wywołanych naskórnym podaniem tego leku [8]. W celu opracowania odpowiedniej postaci leku do podania na śluzówkę jamy ustnej wykorzystywano polimery mukoadhezyjne – hydroksypropylocelulozę, glikol polioksyetylenowy i poliwinylpiperolidon [9].

Do podania naskórnego zaproponowano dwufazowe stopy, zawierające lidokainę i tymol. Badania dowiodły skuteczności przeciwbólowej takiego systemu w uzyskaniu znieczulenia skóry, przy 5% stężeniu lidokainy [10]. Obecnie proponowane są mikrosfery alginianowe, jako nośniki chlorowodoru lido-

Key words: lidocaine hydrochloride, micro-gel, N-isopropylacrylamide, pulsed release, thermosensitivity, conductivity

INTRODUCTION

Lidocaine hydrochloride is usually applied as local anaesthetic, often in the oral cavity [1]. Dermal application of lidocaine is advised, when burn wounds occur, and the efficacy of the adrenaline–lidocaine subcutaneous infiltration was assessed in patient undergoing burn surgery, including the haemostatic effect of the infiltration [2]. The formulations of lidocaine are applied to decrease the pain caused by Herpes zoster infection, and postherpetic neuralgia [3]. Lidocaine is also used in mixtures with other local analgesics, like prilocaine for pain control in the course of transrectal ultrasound guided prostate biopsy [4], or for topical anesthesia of gingival mucosa in the form of eutectic system [5].

Mixture of lidocaine and epinephrine was assessed for pulpal anesthesia in stomatology [6]. The lidocaine possesses also interesting anti-inflammatory activity which may be considered as the additional synergistic feature, addressed to diseases with pain and inflammation [7]. Development of proper delivery systems for controlled and targeted delivery of lidocaine is of high importance, as there is possibility of severe cutaneous intoxication [8]. For development of lidocaine intra-oral, topical formulations, mucoadhesive polymers are extensively researched – the hydroxypropylcellulose, polyoxyethyleneglycol, polyacrylic resin, and polyvinylpyrrolidone were investigated [9].

Two phase, melt systems, containing lidocaine and thymol were evaluated for the topical application on the skin – 5% cream prepared with the systems was highly effective in the term of obtaining dermal anesthesia [10]. Contemporary some authors proposed binding of lidocaine hydrochloride in alginate microspheres [11]. Gorner proposed lidocaine-loaded biodegradable nanospheres for targeted analgesics delivery [12]. In the newer research the local implants were developed by Liu [13]. This implants consisted of polyanionic, i.e. carbopol hydrogels or polycationic, i.e. chitosan systems, and obtained release rates from the implants were described by the Higuchi model.

Thermosensitive sol-gel reversible hydrogels are still interesting polymers for development of the controlled drug delivery devices. The so called lower critical solution temperature (LCST), in which the

kainy [11]. Gorner zaproponował biodegradowalne nanosfery, zawierające lidokainę, do celowanego podawania substancji znieczulających [12]. W najnowszych badaniach Liu opracował lokalne wszczepy z lidokainą [13]. Implanty te składały się z polianionowego, tj. carbopolowego lub polikationowego, tj. chitozanowego systemu, który pozwalał na kontrolowane uwalnianie lidokainy zgodnie z modelem Higuchiego.

Hydrożele charakteryzujące się odwracalną przemianą zolu w żel, wciąż pozostają interesującą grupą polimerów dla badaczy, zajmujących się opracowywaniem nowych produktów leczniczych o kontrolowanym uwalnianiu substancji czynnej. Tak zwany parametr LCST, w którym zachodzi przemiana fazowa pod wpływem zmiany temperatury, występuje w temperaturach pomiędzy 30°C a 160°C, a na przeciwnych końcach tego zakresu można wymienić takie polimery jak poli(N-winylokaprolaktam) i poliwinylpiperolidon [14]. W przypadku poli(N-izopropylakryloamidu) precypitacja polimeru może być obserwowana w środowisku wodnym jako opalescencja w temperaturze powyżej 32°C, co następuje wraz z dehydratacją hydrofobowych grup izopropylowych, w trakcie zapadania się cząsteczki polimeru, zwanego mikrożelem.

Fundueanu i wsp. opracowali dla lidokainy, chlorowodoru lidokainy, propranololu i chlorowodoru propranololu oraz dla cyjanokobalaminy stabilną postać mikrożelu [15]. Tasdelen opracował kopolimer N-izopropylakryloamidu i kwasu itakonowego, w celu kontrolowanego uwalniania lidokainy – w tym przypadku zarówno temperatura, jak i odczyn wpływały na kinetykę uwalniania [16].

Analiza konduktometryczna jest stosowana od wielu lat, w celu oznaczania jakościowego i ilościowego różnych substancji w układach wodnych. Wykorzystanie elektroanalizy w naukach biomedycznych rozwijano w licznych zastosowaniach praktycznych. Nowe techniki uwzględniają m. in. zminiaturyzowane czujniki konduktometryczne, o szerokim zakresie pomiarowym [17]. Badania elektrochemiczne znajdują zastosowanie często w ocenie struktur micelarnych – Lorente i wsp. stosowali konduktometrię do oceny miceli zawierających chlorowodorek lidokainy [18].

Ocena mikroemulsji z diklofenakiem sodowym była prowadzona za pomocą pomiarów konduktometrycznych, w celu wykazania wpływu ilości wody na właściwości formulacji [19]. W ostatniej dekadzie Merclin i Beronius zaproponowali urządzenie do testowania właściwości i zjawisk transportu w elektro-

transition point occurs, is in the range between 30 °C and 160°C, with poly(N-vinylcaprolactam) and poly(vinyl pyrrolidone) on the lowest and highest end of the scale respectively [14]. In case of poly(N-isopropylacrylamide) the precipitation in aqueous environment is visualized as opalescence in temperature above 32°C, according to the dehydration of the hydrophobic isopropyl groups during the coil-to-globule transition. For lidocaine, lidocaine hydrochloride, propranolol, propranolol hydrochloride, and cyanocobalamine Fundueanu and al. developed a stable form of microgel preparation [15]. Tasdelen evaluated a co-polymer of N-isopropylacrylamide and itaconic acid to enable the controlled release of lidocaine, and concluded that both temperature and pH influence the release process [16].

The conductometric analysis has a long history in the terms of indicating and assessment of different substances in aqueous media. The use of electroanalysis in biomedical science is developed for numerous application. New techniques involve miniaturized electrolytic conductivity probe with a wide range [17]. Electrochemical studies are often applied for the evaluation of micelle structures – Lorente et. al. exploited the conductometry for micelles containing tetracaine hydrochloride [18].

The characterization of microemulsions with diclofenac sodium was performed by the conductivity measurements, to evaluate the influence of water amount on the properties of the formulation [19]. In last decade Merclin and Beronius proposed interesting device for testing the structure and transport phenomena of electrolytes in liquid solutions, applying the lidocaine hydrochloride as model substance [20]. The idea of the device is based on the conductometric assessments.

The aim of the work was preliminary assessment of the conductivity changes in aqueous compartment, consisting of lidocaine hydrochloride, and N-isopropylacrylamide derivative microgel, during increasing the temperature between 25° and 42°C, as a prerequisite to demonstrate the possibility of applying this microgel for pulsed release of lidocaine hydrochloride, when increased temperature is applied.

MATERIAL AND METHODS

Material

pNIPAM microgels particles derived from previous works in the field of polymer science. The poly-

litach w płynnych roztworach i zastosowali chlorowoderek lidokainy jako substancję modelową [20]. Koncepcja urządzenia opiera się na pomiarach konduktometrycznych.

Celem pracy była wstępna ocena zmian przewodnictwa w kompartmentcie wodnym, zawierającym chlorowoderek lidokainy i mikrożel – pochodną N-izopropylakryloamidu, w trakcie zmian temperatury w przedziale pomiędzy 25°C i 42°C, jako wskazówki do wykazania możliwości zastosowania tych mikrożeli w pulsacyjnym uwalnianiu substancji leczniczej wraz ze zmianami temperatury.

MATERIAŁ I METODY

Materiał

Polimery zastosowane w badaniach pochodziły z poprzednio wykonanych prac w zakresie chemii polimerów. Polimery zsyntetyzowano metodą SFEP (surfactant free emulsion polymerization), w dejonizowanej wodzie, w temp. 343 K, w atmosferze obojętnego azotu. Charakterystykę polimerów zaprezentowano w tabeli 1. Chlorowoderek lidokainy zakupiono w firmie Sigma Aldrich. Wodę oczyszczoną otrzymywano z systemu TKA DI 6000 (Niemcy) i stosowano we wszystkich eksperymentach. N-izopropylakryloamid > 99%. Inicjatory i komonomery uzyskano od komercyjnych dostawców.

Skład ocenianych systemów

Skład badanych systemów przedstawiono w tabeli 2. Odpowiednie ilości wagowe chlorowodoru lidokainy mieszano z rozproszeniem zsyntetyzowanego polimeru. Mieszanie prowadzono przez okres 24 godzin, w temperaturze pokojowej.

mers were synthesized by surfactant free emulsion polymerization (SFEP) in de-ionized water at 343 K, under an inert nitrogen atmosphere. The characteristics of the polymers is presented in the Table 1. Lidocaine hydrochloride was purchased from Sigma-Aldrich. Purified water obtained from the TKA DI 6000 system (Germany) was used for all the experiments. N-isopropylacrylamide 99%, initiators and co-monomer were obtained from commercial suppliers.

Composition of assessed systems

The composition of evaluated systems was presented in the Table 2. The respective mass of lidocaine hydrochloride was mixed with the dispersion of synthesized polymer. The mixing period was maintained for 24 h, at the room temperature.

The conductivity assessments

The conductivity was assessed in evaluated systems, at specified temperatures, i.e.: 25°C, 32°C, and 42°C. The conductivity of pure solutions of lidocaine hydrochloride was assessed in concentrations applied in the systems. The SevenMulti Metler Toledo, with conductivity segment TDS/SAL/resistivity with the conductivity sensor InLab 730, NTC, 0,001–1000 mS/cm, measurements range –5°C–100°C was applied.

RESULTS

The conductivity of evaluated systems was in the range between 8,73 $\mu\text{S/cm}$ and 44,63 $\mu\text{S/cm}$ in the case of synthesized microgels PNM I, PNM II, and PNM III. For the 25°C temperature the conductivity was 8,73 $\mu\text{S/cm}$ –11,79 $\mu\text{S/cm}$, whereas when temperature increased, the conductivity increased as well – up to

TABELA 1. Charakterystyka zastosowanych w badaniach polimerów

TABLE 1. Characteristics of polymers applied in the present study

Typ mikrożelu Type of microgel	Zastosowane grupy funkcyjne Implemented functional groups
PNM I	Grupa kwasowa/Acidic group
PNM II	Grupa zasadowa/Alkalic group
PNM III	Grupa kwasowa & Grupa lipofilowa/Acidic group & Lipophilic group

TABELA 2. Skład badanych układów

TABLE 2. The composition of evaluated dispersions

Skład Composition	PNM-I [mg]	PNM-II [mg]	PNM-III [mg]	LD [mg]	Woda Water [g]
PNM I –LD	5,00	–	–	5,00	60,00
PNM II –LD	–	5,00	–	5,00	60,00
PNM III –LD	–	–	5,00	5,00	60,00
LD	–	–	–	5,00	60,00

PNM I, PNM II, PNM III – polimery/polymers, LD – chlorowodorek lidokainy/lidocaine hydrochloride

Badania konduktometryczne

Przewodnictwo oznaczano w badanych systemach w określonych temperaturach, tj. 25°C, 32°C i 42°C. Również przewodnictwo roztworu lidokainy oceniano w stężeniu stosowanym w badanych układach. Zastosowano do pomiarów urządzenie Seven-Multi Metler Toledo, TDS/SAL/resistivity z czujnikiem InLab 730, NTC, 0,001–1000 mS/cm, zakres –5°C–100°C.

WYNIKI

Przewodnictwo badanych systemów pozostawało w zakresie pomiędzy 8,73 $\mu\text{S/cm}$ i 44,63 $\mu\text{S/cm}$ w przypadku zsyntetyzowanych mikrożeli PNM I, PNM II i PNM III. Dla 25°C przewodnictwo wynosiło 8,73 $\mu\text{S/cm}$ –11,79 $\mu\text{S/cm}$, natomiast gdy temperatura wzrastała, również przewodnictwo przybierało wyższe wartości – do zakresu 10,25 $\mu\text{S/cm}$ –13,31 $\mu\text{S/cm}$ przy 32°C, oraz do zakresu 22,08 $\mu\text{S/cm}$ –44,63 $\mu\text{S/cm}$ przy najwyższej zastosowanej temperaturze – kolumna 1 w tabeli 3. Odpowiednie przewodnictwa dla roztworu chlorowodoru lidokainy, zebrane w kolumnie 2 w tabeli 3 wynosiły: 41,46 $\mu\text{S/cm}$ dla 25°C, 41,62 $\mu\text{S/cm}$ dla 32°C i 55,66 $\mu\text{S/cm}$ dla 42°C.

Również przewodnictwo systemów składających się odpowiednio z polimeru i chlorowodoru lidokainy zmierzono i zaprezentowano w tabeli 3, kolumna 3. W tych systemach oznaczonych jako PNM I-LD, PNM II-LD i PNM III-LD, otrzymane wartości pomiarowe były w następujących zakresach: 39,91 $\mu\text{S/cm}$ –53,30 $\mu\text{S/cm}$ w temperaturze 25°C oraz 46,14 $\mu\text{S/cm}$ –56,16 $\mu\text{S/cm}$ w temperaturze 32°C. Kiedy temperatura wzrastała do 42°C, przewodnictwo systemów pozostawało w zakresie 53,30 $\mu\text{S/cm}$ i 118,42 $\mu\text{S/cm}$.

10,25 $\mu\text{S/cm}$ –13,31 $\mu\text{S/cm}$ range for the 32°C, and up to the range 22,08 $\mu\text{S/cm}$ –44,63 $\mu\text{S/cm}$ for the highest assessed temperature – 42°C – column 1 in Table 3. The respective conductivities for the solution of lidocaine hydrochloride, gathered in the column 2 of Table 3 were in following ranges: 41,46 $\mu\text{S/cm}$ for 25°C, 41,62 $\mu\text{S/cm}$ for 32°C, and 55,66 $\mu\text{S/cm}$ for 42°C.

Also the conductivity of respective systems composed of polymer and lidocaine hydrochloride were measured and presented in column 3, Table 3. In this systems assigned as PNM I-LD, PNM II-LD, and PNM III-LD, the obtained values were in the ranges: 39,91 $\mu\text{S/cm}$ –53,30 $\mu\text{S/cm}$ in the 25°C temperature, 46,14 $\mu\text{S/cm}$ –56,16 $\mu\text{S/cm}$ in the temperature of 32°C. When the temperature increased to 42°C, the conductivity of complexed systems was in the range 53,30 $\mu\text{S/cm}$ and 118,42 $\mu\text{S/cm}$.

The theoretically estimated values enumerated in column 4 of the Table 3 based on the assumption of additive characteristics of the conductivity in this systems. The calculated values for the PNM I-LD, PNM II-LD, and PNM III-LD systems were in the range of 50,19 $\mu\text{S/cm}$ –53,25 $\mu\text{S/cm}$ at 25°C, 51,87 $\mu\text{S/cm}$ –66,28 $\mu\text{S/cm}$ at 32°C, and 77,74 $\mu\text{S/cm}$ –100,29 $\mu\text{S/cm}$ at 42°C. In the last two columns, namely number 5 and 6, the differences between measured and calculated values were presented in absolute numbers and as the percentage values.

DISCUSSION

The microgel particles possess an interesting property of collapsing and expanding itself, usually in the aqueous environment, when the temperature increases or decreases. According to that fact, the availability of the functional groups would be limited

TABELA 3. Przewodnictwo badanych systemów, w których zastosowano polimery i chlorowoderek lidokainy
TABLE 3. Conductivity of assessed systems with polymers and lidocaine hydrochloride

Tempera- tura Tempera- ture [°C]	Typ Type	Przewodnictwo/Conductivity [μS/cm]					
		1	2	3	4	5	6
		Mikro- żel Micro- gel	LD	Wartości zmierzone LD + mikrożel Measured values LD + microgel	Wartości obliczone LD + mikrożel Estimated values LD + microgel	Różnica Poz. 4 i 3 Difference It. 4 and 3	Przyrost (+) lub spadek (-) Increase (+) or decrease (-) [%]
25	PNM I	8.73	41.46	39.91 ± 1.97 SD	50.19	-10.29	-25.78
32	PNM I	10.25	41.62	56.16 ± 0.73 SD	51.87	4.29	+7.65
42	PNM I	23.24	55.66	118.42 ± 0.49 SD	78.90	39.52	+33.37
25	PNM II	11.61	41.46	42.24 ± 0.57 SD	53.07	-10.83	-25.65
32	PNM II	24.66	41.62	46.14 ± 1.18 SD	66.28	-20.14	-43.66
42	PNM II	44.63	55.66	53.30 ± 0.60 SD	100.29	-46.99	-88.16
25	PNM III	11.79	41.46	52.26 ± 1.58 SD	53.25	-0.99	-1.89
32	PNM III	13.31	41.62	49.24 ± 0.75 SD	54.93	-5.69	-11.55
42	PNM III	22.08	55.66	60.08 ± 0.41 SD	77.74	-17.66	-29.40

PNM I, PNM II, PNM III – polimery/polymers, LD – chlorowoderek lidokainy/lidocaine hydrochloride, SD – odchylenie standardowe/standard deviation

Teoretycznie wyznaczone, obliczone wartości przewodnictwa podano w kolumnie 4 w tabeli 3, przyjmując addytywność przewodnictwa w badanych systemach. Obliczone wartości dla układów PNM I-LD, PNM II-LD, and PNM III-LD były w zakresie 50,19 μS/cm–53,25 μS/cm w 25°C, 51,87 μS/cm–66,28 μS/cm w 32°C i 77,74 μS/cm–100,29 μS/cm w 42°C. W dwóch ostatnich kolumnach 5 i 6 w tabeli 3 przedstawiono różnicę pomiędzy wartościami zmierzonymi i obliczonymi, zarówno w postaci liczb bezwzględnych, jak i w postaci procentowej.

DYSKUSJA

Cząsteczki mikrożeli charakteryzują się interesującą właściwością zapadania się i rozwijania swojej usieciowanej struktury, zazwyczaj w środowisku wodnym, wraz ze spadkiem lub wzrostem temperatury. Zgodnie z tym faktem, dostępność grup funkcyjnych w obrębie sieci polimerowej może zwiększać

or enhanced, depending on the degree of expansion of the polymeric net in the defined temperature conditions. This fact should have consequences in binding of other substances, like biologically actives, protein molecules, drugs, etc. In this research the influence of temperature on the conductivity of polymer–water soluble drug systems was evaluated, as a prerequisite to discuss the possibility of pulsed release of that drug from proposed formulation.

As it can be seen from the Fig. 1 the conductivity of polymer PNM I and PNM III increases slowly with the increase in temperature. Additionally the increase of the conductivity has similar course like in the case of lidocaine hydrochloride solution. However in the case of PNM II the increase is much harder expressed. This may lead to the conclusion, that the increase of temperature leads to increased activity of ionic groups in the PNM II polymer, and this information would be applicable for development of the pulsed release system.

The comparison of the conductivity changes of the components in aqueous systems with the changes

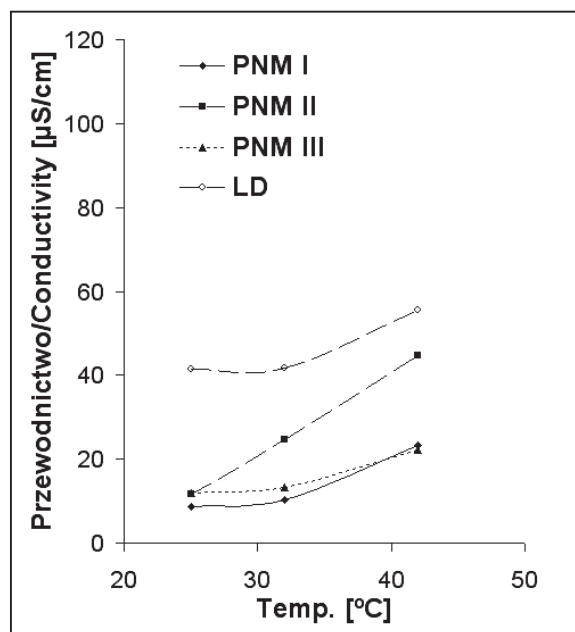
się lub zmniejszać, zależnie od stopnia rozwinięcia sieci polimerowej w określonych warunkach termicznych. To zjawisko ma konsekwencje w zagadnieniu wiązania innych substancji przez mikrożel, np. substancji biologicznie czynnych, polimerów, itd. W niniejszych badaniach wpływ temperatury na przewodnictwo układów polimer-lek rozpuszczalny w wodzie, badano w celu dyskusji i oceny możliwości pulsacyjnego uwalniania leku z zaproponowanych formułacji.

Zgodnie z ryciną 1 przewodnictwo polimeru PNM I i PNM III wzrasta powoli wraz ze wzrostem temperatury. Ponadto wzrost przewodnictwa ma przebieg zbliżony do przebiegu zmian przewodnictwa roztworu chlorowodoru lidokainy. Jednakże w przypadku PNM II wzrost ten jest znacznie mocniej zaznaczony. Może to prowadzić do wniosku, że wzrost temperatury wiąże się ze zwiększoną aktywnością grup jonowych polimeru PNM II i ta informacja może znaleźć zastosowanie w opracowywaniu postaci leku o pulsacyjnym uwalnianiu.

Porównanie zmian przewodnictwa składników badanych systemów w wodzie, ze zmianami przewodnictwa gotowych systemów polimer-lek, wraz ze wzrostem temperatury, pozwala na uzyskanie ważnych informacji. Zgodnie z danymi przedstawionymi na wykresie na rycinie 2, systemy z lidokainą zawierające polimer PNM II i PNM III charakteryzują się umiarkowanym zróżnicowaniem przewodnictwa, gdy następuje wzrost temperatury. Jednak w przypadku układu PNM I-LD zaobserwowano charakterystyczny wzrost przewodnictwa, który odzwierciedla zmiany w przewodnictwie roztworu chlorowodoru lidokainy.

W przypadku PNM II-LD także obserwowano konsekwentny wzrost przewodnictwa, jednak nie tak znaczący jak dla PNM I-LD. Nieco odmiennie prezentuje się zmiana przewodnictwa w przypadku PNM III-LD. Gdy temperatura wzrastała obserwowano początkowo spadek przewodnictwa z 52,29 $\mu\text{S}/\text{cm}$ do 49,24 $\mu\text{S}/\text{cm}$, a następnie wzrost do 60,08 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

Kiedy porównuje się dane w tabeli 3, kolumna 6, można zaobserwować pewne nieregularności, a wartości oznaczone eksperymentalnie odbiegają od tych obliczonych. Dla mieszanin PNM I-LD, zmierzonych w 25°C, przewodnictwo wynosiło prawie 26% mniej w porównaniu z wyliczonym. W tych warunkach można wnioskować, że część chlorowodoru lidokainy jest związana z polimerem lub przynajmniej jego jonizacja zmalała. Jednak w wyższych temperaturach zmierzone wartości były prawie 8% i 33% wyższe, porównując do teoretycznie wyzna-



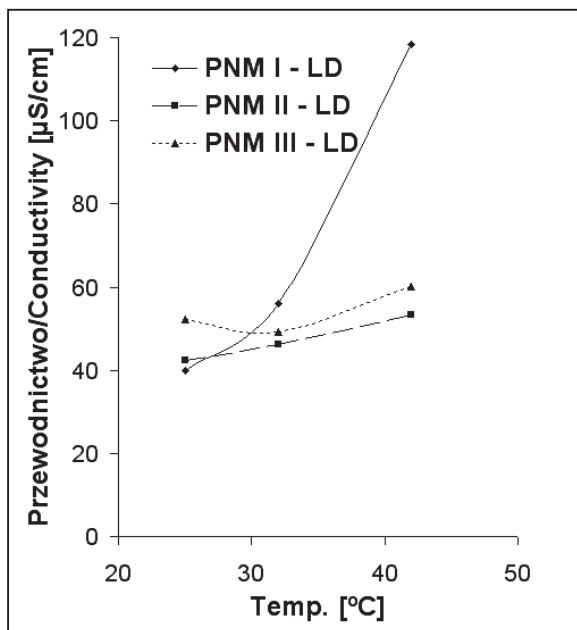
RYC. 1. Wpływ temperatury na przewodnictwo badanych polimerów i chlorowodoru lidokainy, PNM I, PNM II, PNM III – polimery, LD – chlorowodorek lidokainy

FIG. 1. Influence of temperature on the conductivity of assessed polymers and lidocaine hydrochloride, PNM I, PNM II, PNM III – polymers, LD – lidocaine hydrochloride

in conductivity of resulting polymer-drug systems gives important information. According to the data presented on the graph, in Fig. 2, the systems with PNM II and PNM III polymer are characterized by moderate variability, when the increased temperature is applied. However, in the case of PNM I-LD system, the characteristic increase in the conductivity is observed, which reflects the changes in the conductivity for the solution of lidocaine hydrochloride.

In the case of PNM II-LD also the consequent increase of conductivity was observed, but not so remarkable, as in the case of PNM I-LD. Curiously, when the temperature of PNM III-LD system increased, its conductivity in the first step decreased from 52,29 $\mu\text{S}/\text{cm}$ to the 49,24 $\mu\text{S}/\text{cm}$, and then increased to 60,08 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

When data from table 3, column 6 are compared, some irregularities are observed, considering the predicted and assessed values of conductivity. For PNM I-LD mixtures, the measured conductivity at 25°C was almost 26% lower than that calculated. So it may be assumed that in this conditions, part of the lidocaine hydrochloride is bonded to the polymer, or



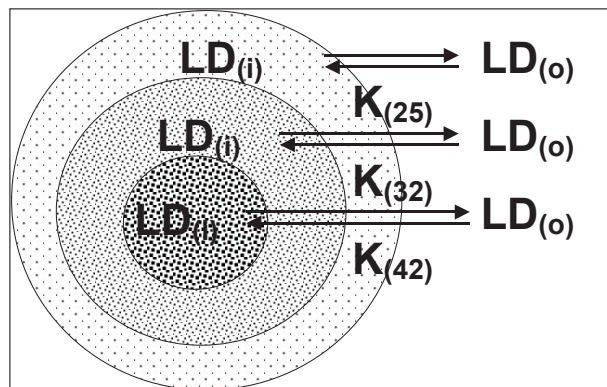
Ryc. 2. Wpływ temperatury na przewodnictwo badanych systemów zawierających polimery i chlorowodorek lidokainy, PNM I-LD, PNM II-LD, PNM III-LD: odpowiednie mieszaniny polimerów i chlorowodoru lidokainy

Fig. 2. Influence of temperature on the conductivity of assessed systems containing polymers and lidocaine hydrochloride, PNM I-LD, PNM II-LD, PNM III-LD: respective mixtures of polymers and lidocaine hydrochloride

czonych, tak więc obserwuje się wzrost ilości zjonizowanych cząsteczek w badanym układzie. Należy zauważyć, że badana interakcja była obserwowana w przypadku polimeru zsyntetyzowanego z zastosowaniem kwasowego inicjatora – w tym przypadku można przyjmować wystąpienie interakcji jonowej.

Przeciwną charakterystykę ma układ PNM II – LD. W tym przypadku przewodnictwo konsekwentnie spada, wraz ze wzrostem temperatury. Porównując wartości estymowane i zmierzone, zmienia się ono z ok. 26%, poprzez 44%, do 88%. Biorąc pod uwagę alkaliczny charakter zastosowanego inicjatora można stwierdzić, że otrzymany wynik jest wynikiem interakcji pomiędzy polimerem i lekiem.

Dane z obecnie prowadzonych eksperymentów powinny być dalej poszerzane, szczególnie w zakresie wpływu zwiększonej lipofilowości polimeru PNM III na przewodnictwo odpowiednich systemów z lidokainą. Zgodnie z otrzymanymi wynikami, wraz ze wzrostem temperatury przewodnictwo w ocenianym systemie spada, porównując wartości przewidywane. Być może



Ryc. 3. Wizualizacja wiązania chlorowodoru lidokainy z mikrożelami, w zależności od temperatury pomiaru. LD_(i) – chlorowodorek lidokainy związany w mikrosferach polimerowych, LD_(o) – chlorowodorek lidokainy poza mikrosferami polimerowymi, gęstość zacielenia odpowiada zmianom morfologicznym zachodzącym w trakcie podgrzewania i chłodzenia rozproszenia mikrosfer polimerowych

Fig. 3. Visualization of the influence of temperature on the binding of lidocaine hydrochloride with microgels. LD_(i) – lidocaine hydrochloride bonded to polymeric microspheres, LD_(o) – lidocaine hydrochloride outside the polymeric microspheres, density of the dots represents the changes during heating and cooling the microspheres

its ionization decreased. However at higher temperatures, the measured values are almost 8% and 33% higher, comparing to the theoretically calculated, so there is increase in the presence of ionized individual in the solution. It should be noted, that this interaction was observed when the polymer synthesized with acidic initiator was applied – so the ionic interaction may be involved.

The PNM II-LD system behaves oppositely – the conductivity consequently decreases, with the temperature increase, comparing the predicted and measured values, from ca. 26%, through 44%, to 88%.

Regarding the alkali character of the initiator applied in the synthesis, this is logical result of the interaction between the polymer and drug. There are data from present experiment, which should be further evaluated, namely the influence of the increased lipophilicity of PNM III on the conductivity of related system with lidocaine hydrochloride. According to acquired data, when the temperature increases, the conductivity falls down in this system, when is compared to the predicted values. Probably the opening of lipophilic polymer structure inhibits the movement of some ions in

otwarcie sieci polimerowej makrocząsteczki zawierającej lipofilowe grupy funkcyjne zmniejsza ruchliwość niektórych jonów w matrycy polimerowej, poprzez ich wiązanie lub zmniejszenie ich zdolności ruchu.

Proponowane zależności w obrębie cząsteczek mikrożeli, gdy temperatura wzrasta, zaprezentowano na rycinie 3. Stałe $K_{(25)}$, $K_{(32)}$ i $K_{(42)}$ reprezentują w naszym badaniu powinowactwo leku do mikrożelu we wzrastającej temperaturze. Wartości K różnią się w badanych systemach i zależą zarówno od rodzaju badanego systemu, jak i od temperatury. Dla systemu PNM I – LD wartości te układają się w następujący sposób: $K_{(25)} < K_{(32)} < K_{(42)}$. W przypadku PNM II i PNM III wzajemne zależności można zaprezentować w następującej kolejności: $K_{(25)} > K_{(32)} > K_{(42)}$.

WNIOSKI

1. Podczas ogrzewania lub chłodzenia mikrożeli, pochodnych N-izopropylakryloamidu, istnieje możliwość uzyskania pulsacyjnego uwalniania chlorowodoru lidokainy z podłoża polimerowego, w zakresie temperatur pomiędzy 25°C i 42°C, jak na to wskazują pomiary przewodnictwa.
2. Zastosowanie anionowego inicjatora wpływa korzystnie, zgodnie z wynikami badań konduktometrycznych, na możliwość zastosowania mikrożelu N-izopropylakryloamidu, jako systemu uwalniającego lidokainę wraz ze wzrostem temperatury.
3. Mikrożele zsyntetyzowane z użyciem inicjatora alkalicznego lub z dodatkiem lipofilowego ugrupowania, mogą charakteryzować się pulsacyjnym uwalnianiem chlorowodoru lidokainy w trakcie obniżania temperatury łożyska polimerowego.

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

LITERATURA

- [1] MEECHAN J. G.: Intra-oral topical anaesthetics: a review. *J. Dent.* (2000), 28, 3–14.
- [2] GACTO P., MIRALLES F., PEREYRA J. J., PEREZ A., MARTINEZ E.: Haemostatic effects of adrenalin-lidocaine subcutaneous infiltration at donor sites. *Burns.* (2009), 35, 343–347.

the polymeric matrix, attracting them to the net, or slowing down the movement of the particles.

The proposed relations in a microgel particle, when the temperatures are changing are presented on Fig. 3. The $K_{(25)}$, $K_{(32)}$, and $K_{(42)}$ values represent in our study the affinity of the drug to the microgel in increasing temperatures, according to the conductivity measurements. The K values differ in various systems, depending both on the applied system and temperature of assessments. When PNM I – LD system is considered, the values are in following pattern: $K_{(25)} < K_{(32)} < K_{(42)}$. For PNM II and PNM III systems the values reach the order $K_{(25)} > K_{(32)} > K_{(42)}$.

CONCLUSIONS

1. During heating or cooling the microgels, derivatives of N-isopropylacrylamide, there is possibility to obtain pulsed release of lidocaine hydrochloride from the polymeric bead in the range between 25°C and 42°C, according to the conductivity measurements.
2. In the case of anionic initiator the observed conductivity changes suggest that the N-isopropylacrylamide polymer may be involved in devices, which release lidocaine hydrochloride, when increased temperature is applied.
3. Oppositely, the N-isopropylacrylamide derivatives synthesized with alkali initiator, or characterized by increased lipophilicity, may exhibit the pulsed release during cooling the polymeric beads.

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.

- [3] WALLACE M. S., OXMAN M. N.: Acute Herpes zoster and postherpetic neuralgia. *Anesthes. Clin. North Am.* (1997) 15 371–405.
- [4] GIANNARINI G., AUTORINO R., VALENT F., MORGOROVICH A., MANASSERO F., DE MARIA M., MORELLI G., BARBONE F., DI LORENZO G., SELLI C.: Combination of Perianal-Intrarectal Lidocaine-Prilocaine Cream and Periprostatic Nerve Block for Pain Control During Transrectal Ultrasound Guided Prostate Biopsy: A Randomized, Controlled Trial. *J. Urol.* (2009), 181, 585–593.

- [5] HAASIO J., NUMMINEN M., ROSENBERG P. H., JO-KINEN T.: Topical anaesthesia of gingival mucosa by 5% eutectic mixture of lignocaine and prilocaine or by 10% lignocaine spray., *Brit. J. Oral Maxillofac. Surg.* (1990), 28, 99–101.
- [6] MASON R., DRUM M., READER A., NUSSTEIN J., BECK M.: A Prospective, Randomized, Double-blind Comparison of 2% Lidocaine With 1:100,000 and 1:50,000 Epinephrine and 3% Mepivacaine for Maxillary Infiltrations. *J. Endodont.* (2009), 35, 1173–1177.
- [7] CARACAS H. C. P. M., MACIEL J. V. B., MARTINS P. M. R. S., DE SOUZA M. M. G., MAIA L. C.: The use of lidocaine as an anti-inflammatory substance: A systematic review. *J. Dent.* (2009), 37, 93–97.
- [8] LIE R. L., VERMEER B. J., EDELBROEK P. M.: Severe lidocaine intoxication by cutaneous absorption. *J. Am. Acad. Dermatol.* (1990), 23, 1026–1028.
- [9] SALAMAT-MILLER N., CHITTCHANG M., JOHNSTON T. P.: The use of mucoadhesive polymers in buccal drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* (2005), 57, 1666–1691.
- [10] KANG L., JUN H. W., MANI N.: Preparation and characterization of two-phase melt systems of lidocaine. *Int. J. Pharm.* (2001), 222, 35–44.
- [11] SALAS S., TALERO B., RABASCO A. M., GONZALEZ-RODRIGUEZ M. L.: Development and validation of a reverse-phase liquid chromatographic method for the assay of lidocaine hydrochloride in alginate-Gantrez(R) microspheres. *J. Pharm. Biomed. Anal.* (2008), 47, 501–507.
- [12] GORNER T., GREF R., MICHENOT D., SOMMER F., TRAN M. N., DELLACHERIE E.: Lidocaine-loaded biodegradable nanospheres. I. Optimization of the drug incorporation into the polymer matrix. *J. Control. Release.* (1999), 57, 259–268.
- [13] LIU D.Z., SHEU M.-T., CHEN C.-H., YANG Y.-R., HO H.-O.: Release characteristics of lidocaine from local implant of polyanionic and polycationic hydrogels. *J. Control. Release.* (2007), 118, 333–339.
- [14] JEONG B., KIM S. W., BAE Y. H.: Thermosensitive sol-gel reversible hydrogels. *Adv. Drug Deliv. Rev.* (2002), 54, 37–51.
- [15] FUNDUEANU G., CONSTANTIN M., ASCENZI P.: Poly(N-isopropylacrylamide-co-acrylamide) cross-linked thermoresponsive microspheres obtained from preformed polymers: Influence of the physico-chemical characteristics of drugs on their release profiles. *Acta Biomater.* (2009), 5, 363–373.
- [16] TASDELEN B., KAYAMAN-APOHAN N., GUVEN O., BAYSAL B. M.: Preparation of poly(N-isopropylacrylamide/itaconic acid) copolymeric hydrogels and their drug release behavior. *Int. J. Pharm.* (2004), 278, 343–351.
- [17] PARK S., SWERDLOW H.: Miniature Electrolytic Conductivity Probe with a Wide Linear Range Electroanalysis. (2007), 19, 2294–2300.
- [18] LORENTE E., RODRÍGUEZ A., AICART E., JUNQUERA E.: Non-ionic and cationic micelle nanostructures as drug solubilization vehicles: spectrofluorimetric and electrochemical studies. *J. Coll. Polym. Sci.* (2007), 285, 1435–1536.
- [19] KANTARCI G., ÖZGÜNEY I., KARASULU H. Y., ARZIK S., GÜNERI T.: Comparison of different water/oil microemulsions containing diclofenac sodium: Preparation, characterization, release rate, and skin irritation studies, *J. AAPS Pharm-SciTech.* (2007), 8, 75–81.
- [20] MERCLIN N., BERONIUS P.: Improvements of conductivity measurements of electrolyte solutions using a new conductometric cell design. *J. Pharm. Biomed. Anal.* (2002), 29, 61–67.

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,
50-139 Wrocław, ul. Szewska 38, 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

