

Wpływ polimeru anionowego i niejonowego na ustalenie pH preparatu chloroheksydyny z uwzględnieniem jej rozpuszczalności

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

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

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

Streszczenie

Rozpuszczalność chloroheksydyny jest w dużym stopniu uzależniona od rodzaju soli obecnej w roztworze. Celem obecnych badań jest ocena wpływu dwóch polimerów: kwasu poliakrylowego i metylocelulozy na odczyn otrzymanych preparatów z chloroheksydyną. W dyskusji uwzględniono także aspekt rozpuszczalności, jako istotny czynnik wpływający na rozwój postaci leku.

Preparaty chloroheksydyny z metylocelulozą charakteryzują się wysokim odczynem w zakresie pomiędzy 9,70–9,98, w zależności od temperatury pomiarów. Dla preparatów chloroheksydyny z kwasem poliakrylowym wyznaczono pH na poziomie 5,31–5,72, co było wartością zbliżoną do fizjologicznego odczynu skóry. Kwas poliakrylowy ma znaczenie buforujące i umożliwia utrzymanie pH w zakresie zbliżonym do odczynu fizjologicznego skóry. Połączenia chloroheksydyny i kwasu poliakrylowego wydają się być kompleksami o dużej sile wiązania, stąd dalszym etapem badań winna być ocena ich aktywności przeciw-

The influence of anionic and non-ionic polymer on adjustment of pH of chlorhexidine preparation including respective solubility aspect

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 solubility of chlorhexidine is highly dependent on the salt present in solution. The aim of present research was evaluation of the effect of two polymers: polyacrylic acid and methylcellulose on the pH of resulting preparation, containing chlorhexidine. Also the solubility aspect was considered in the discussion, as an helpful issue in development in drug form technology.

Preparations of chlorhexidine with methylcellulose are characterized by high pH in the range between 9,70–9,98 depending on the temperature of measurements. For preparations of chlorhexidine and polyacrylic acid pH of 5,31–5,72 was evaluated, which was near the physiological values of skin pH. The polyacrylic acid acts as a buffer and enables maintaining of pH near to physiological values. As the connection between polyacrylic acid and chlorhexidine seems to be strong, respective assessments of antimicrobial ac-

bakteryjnej, w celu ustalenia dalszych możliwości zastosowania tych połączeń.

Słowa kluczowe: kwas poliakrylowy, metyloceluloza, chlorohexydyne, powierzchnia skóry, rozpuszczalność, pH

WPROWADZENIE

Chlorohexydyne jest znaną substancją, stosowaną jako czynnik przeciwbakteryjny i przeciwgrzybiczy w jamie ustnej oraz na powierzchni skóry. Charakteryzuje się działaniem bakteriobójczym i bakteriostatycznym przeciwko bakteriom Gram-dodatnim i Gram-ujemnym, aczkolwiek większa aktywność wykazuje wobec tych pierwszych. Pomimo intensywnego rozwoju nowych produktów dezynfekcyjnych, chlorohexydyne wciąż pozostaje ważnym środkiem przeciwbakteryjnym wykorzystywanym w wielu sytuacjach klinicznych, takich jak zabiegi chirurgiczne, czy przemywanie soczewek kontaktowych. Z powodu ograniczonej rozpuszczalności zazwyczaj podawana jest w postaci soli, np. glukonianu, chlorowodoru lub octanu. Rozpuszczalność chlorohexydyny jest w dużym stopniu uzależniona od rodzaju soli obecnej w roztworze [1]. W badaniach uwalniania wykazano m. in. wpływ chlorku sodowego na kinetykę uwalniania chlorohexydyny z matrycy kopolimerowej [2]. Ograniczona rozpuszczalność sprawia problemy praktyczne – próbowano je rozwiązać poprzez stosowanie substancji kwasowych z takich grup jak: kwas glukonowy, glukonolakton, kwas laktobionowy, D-galakto-gamma-lakton, D-(-)-guluno-gamma-lakton, kwas D-(+)-galakturonowy, oraz alfa-D-heptaglukono-gamma-lakton, co doprowadziło do otrzymania stabilnych proszków [3].

W ostatnich latach badano sole chlorohexydyny z różnymi związkami powierzchniowo czynnymi, w celu zwiększenia aktywności bakteriobójczej tego związku, np. zaproponowano kwasy alkiloetylokarboksylowe i alkiloaryloetylokarboksylowe, a także inne o działaniu powierzchniowo czynnym [4]. Również polielektrolity anionowe powinny wpływać na rozpuszczalność i pH rozproszenia chlorohexydyny. W strukturze cząsteczki chlorohexydyny znajduje się kilka miejsc, których jonizacja wpływa na rozpuszczalność chlorohexydyny w roztworach kwasowych (tabela 1).

Zeng i współpracownicy oceniali jonizację oraz wpływ tego zjawiska na powstawanie agregatów róż-

tivity should be performed, to evaluate the applicative value of the preparations.

Key words: polyacrylic acid, methylcellulose, chlorhexidine, skin surface, solubility, pH

INTRODUCTION

Chlorhexidine is known active substance applied as antibacterial and antifungal agent in oral cavity, and on skin surface. It has bactericidal and bacteriostatic activity against gram-positive and gram-negative bacteria, however is more active against the first kind of mentioned microorganisms. In spite of extensive development of new disinfectants, chlorhexidine still is an important bioactive, applied in numerous fields, including surgical interventions, and aseptic procedures for contact lens cleansing. Due to the limited solubility and high pH the practical application is usually possible in the form of a salt, like gluconate, hydrochloride or acetate. The solubility is highly dependent on the chlorhexidine salt present in solution [1]. In release experiments influence of sodium chloride on chlorhexidine release from copolymer reservoir devices was observed [2]. Also the limited stability is an important issue – the problem was resolved applying sugar acids and lactones from groups of: gluconic acid, gluconolactone, lactobionic acid, D-galacto-gamma-lactone, D-(-)-guluno-gamma-lactone, D-(+)-galacturonic acid, and alfa-D-heptaglucono-gamma-lactone, to obtain stable powders [3].

In last years salts of chlorhexidine with different surfactants were evaluated to increase the antibacterial activity of this compound – e.g. alkylethoxycarboxylic acids, alkylarylethoxycarboxylic acid, and other with surface activities [4]. Theoretically also the acidic polyelectrolyte should influence the solubility and pH value of chlorhexidine dispersion. There are several ionization places in the structure of chlorhexidine molecule, influencing the solubility behavior in acidic solutions – Table 1.

The ionization and influence of this phenomena on formation of aggregates in different salts was developed by Zeng et al. [6] Chlorhexidine was evaluated as a component of prolonged drug forms, e.g. with montmorillonite [7]. Another formulations were proposed with polycaprolactone [8], chitosan [9], or polyurethane [10].

The aim of present research was evaluation of the effect of two polymers: polyacrylic acid and me-

TABELA 1. Stałe dysocjacji oraz masa cząsteczkowa chlorheksydyny

TABLE 1. Ionization constants and molecular weight of chlorhexidine

Stała dysocjacji/Ionization constant [5]		Masa cząsteczkowa/Molecular weight
pK_{a1}	-4,46	505,46
pK_{a2}	2,50	
pK_{a3}	3,10	
pK_{a4}	9,55	
pK_{a5}	10,15	

nych soli [6]. Rozwijano badania nad preparatami chlorheksydyny o przedłużonym działaniu, np. z montmorillonitem [7]. Proponowano także formu-lacje z polikaprolaktonem [8], chitozanem [9] czy poliuretanem [10].

Celem niniejszego badania jest ocena wpływu dwóch polimerów: kwasu poliakrylowego i metylo-celulozy na odczyn otrzymanych preparatów z chlo-roheksydyną. W dyskusji uwzględniono także aspekt rozpuszczalności, jako istotny czynnik wpływający na rozwój postaci leku.

MATERIAŁY

Chlorheksydyna została zakupiona w firmie Sigma-Aldrich. Wodę dejonizowaną otrzymano me-todą wymiany jonowej (system TKA DI 6000, Niem-cy) i stosowano we wszystkich pomiarach i bada-niach. Metyloceluloza została zakupiona w firmie Sigma-Aldrich – metyloceluloza 4000 (o lepkości 4000 cp dla 2% roztworu, w temp. 20°C). Polimer kwasu akrylowego – Carbopol 934 P NF – pocho-dził z Lubrizol Corporation.

thylcellulose on the pH of resulting preparation, con-taining chlorhexidine. Also the solubility aspect was considered in the discussion, as an helpful issue in development in drug form technology.

MATERIALS

Chlorhexidine was purchased from Sigma-Aldrich. Deionized water obtained in a device TKA DI 6000 sys-tem (Germany) was used for all the evaluated prepara-tions, and respective operations during the measure-ments. Methylcellulose (MC) 4000 (cP per 2% in aque-ous solution at 20°C) was obtained from Sigma-Aldrich Corp. Preparation of polyacrylic acid – Carbopol 934 P NF (PA) was bought at Lubrizol Corporation.

METHODS

The composition of evaluated systems is pre-sented in the Table 2. Chlorhexidine was dispersed in dispersion of polymer – methylcellulose or poly-acrylic acid. The mixing was maintained for 24 hrs, at the room temperature.

TABELA 2. Skład systemów z chlorheksydyną na bazie kwasu poliakrylowego i metylocelulozy

TABLE 2 Composition of systems with chlorhexidine and polyacrylic acid or methylcellulose

Formulacja Formulation	PA [g]	MC [g]	CX [g]	Woda Water
PA-CX	0,125	–	0,125	25,750
MC-CX	–	0,125	0,125	25,750

MC – metyloceluloza/methylcellulose, LID – chlorowodorek lidokainy/lidocaine hydrochloride, CX – chloro-heksydyna/chlorhexidine, PA-CX, MC-CX – odpowiednie formu-lacje/respective formulations

METODY

Skład badanych systemów przedstawiono w tabeli 2. Chloroheksydynę rozpraszano w układzie polimerowym, zawierającym metylocelulozę lub kwas poliakrylowy. Mieszanie prowadzono przez 24 godziny 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. Warunki pomiaru odpowiadały tradycyjnej metodzie badania uwalniania zgodnie z Farmakopeą Europejską, z określoną zgodnie z wymaganiami niniejszego badania temperaturą. Utrzymywana temperatura odzwierciedlała: warunki przechowywania (22°C), przeciętną temperaturę powierzchni ciała (32°C), oraz podwyższoną temperaturę ciała (41°C). Kompartiment donorowy został sporządzony z półprzepuszczalnej błony, o objętości ok. 30 cm³, podczas gdy w kompartmencie akceptorowym umieszczono wodę destylowaną.

W czasie badania naczynia były zamknięte, powietrze usuwano za pomocą sprężonego azotu. pH mierzono na początku badania oraz po 24 godzinach, w wymienionych wyżej warunkach temperaturowych.

Wizualizacja próbek

Obrazy próbek zapisywano za pomocą kamery cyfrowej Olympus DP12, U-TVO.5XC-2, w świetle dziennym, za pomocą mikroskopu optycznego Olympus BX51, z okularami 20 × 0.46 mm i 50 × 0.80 mm.

WYNIKI I DYSKUSJA

Roztwór pozostający w równowadze z osadem chloroheksydyny, która w tym przypadku występuje w postaci roztworu nasyconego, charakteryzowany jest wysokimi wartościami pH. Wzrost temperatury w niewielkim stopniu wpływa na pH obserwowane w kompartmencie donorowym. W przypadku zastosowania niejonowego polimeru metylocelulozy,

pH measurements

pH of the composed preparations was evaluated by the SevenMulti Metler Toledo device, possessing respective ION segment, pH/mV/ORP. The pH electrode InLab 413, NTC, pH 0–14, 0–80°C, was used in measurements, and 5 repetitions for every measurement were performed, in de-ionized water. The conditions analogical to the traditional release experiment were maintained, due to the European Pharmacopoeia monography, with defined temperature modification. In present study defined temperature was maintained, reflecting the so called shelf-conditions (22°C), standardized skin surface temperature (32°C), and increased body temperature (41°C). The donor compartment was prepared from the semipermeable membrane, and its volume was ca. 30 cm³, whereas in the acceptor compartment the purified water was placed.

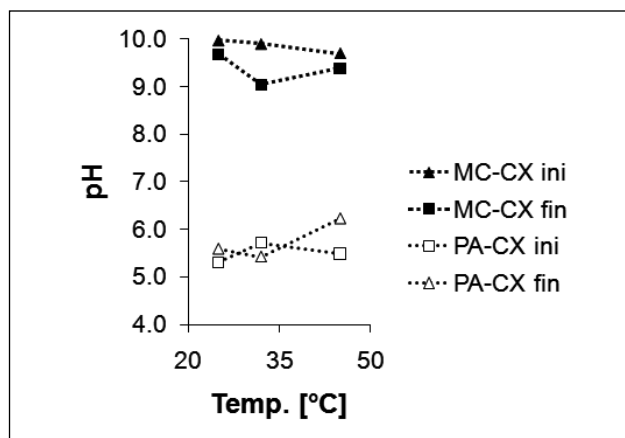
The vessel, where the process occurred, was tightly closed and air was removed from the water surface, using pressurized nitrogen. pH was measured at the start of the dialysis, and after 24 hours, at mentioned before temperatures.

Visualization of the samples

The samples images were recorded by the digital camera Olympus DP12, U-TVO.5XC-2, in direct daylight using the optical microscope Olympus BX51, with oculars 20× 0.46 mm and 50 × 0.80 mm.

RESULTS AND DISCUSSION

The dispersion of chlorhexidine, which solution in this case is saturated, is characterized by high pH value. The increase in temperature influenced the pH of donor compartment only slightly, but observably. When the methylcellulose, non-ionic polymer was applied, the high pH was observed, reflecting merely influenced values of pH of chlorhexidine dispersion, by “neutral” polymer. However, slight decrease in pH was observed, probably due to the changes in the viscosity of assessed systems, in the range between 9.70–9.98. The pH values observed after the finished course of release were in the range of 9.01–9.68 as it is presented in Fig. 1 – upper part. Opposite situation was revealed for the preparation of polyacrylic acid with chlorhexidine. The high pH of chlorhexidine was reduced to range 5.31 – 5.72 when measured at the zero-point of release, whereas after-

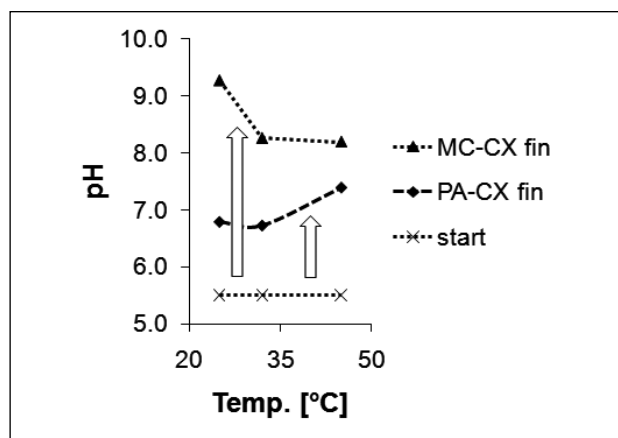


Ryc. 1. Odczyn w kompartmentie donorowym oceniany na początku i po 24 godzinach uwalniania chloroheksydyny. MC-CX – pH obserwowane dla preparatu chloroheksydyny na bazie metylocelulozy, PA-CX – pH obserwowane dla preparatu chloroheksydyny na bazie kwasu poliakrylowego, ini – pH na początku uwalniania, fin – pH po zakończeniu uwalniania

FIG. 1. pH in donor compartment, evaluated at the start, and after 24 hrs in conditions reflecting chlorhexidine release. MC-CX – pH of chlorhexidine preparation with methylcellulose, PA-CX – pH of chlorhexidine preparation with polyacrylic acid, ini – pH at the start, fin – pH at the finish

obserwowano wysokie wartości pH, odzwierciedlające wysoki odczyn roztworu chloroheksydyny, niezmieniony w wyniku interakcji z polimerem niejonowym. Jednakże zaobserwowano tu nieznaczne spadki pH, prawdopodobnie związane ze zmianą lepkości systemu. Wartości te wynosiły 9,70–9,98. pH obserwowane po zakończeniu badania, po 24 godzinach wynosiło 9,01–9,68, jak to przedstawiono na rycinie 1 – górna część. Przeciwnie zależności obserwowano w przypadku preparatu kwasu poliakrylowego z chloroheksydyną. Wysoki odczyn chloroheksydyny został tutaj obniżony do zakresu 5,31–5,72 na początku badania, do zakresu 5,42–6,23 po 24 godzinach. Wartości pH zmieniały się nieznacznie wraz ze zmianą temperatury, przyjmując najniższą wartość dla 22 °C, a najwyższe dla 41 °C – jak to przedstawiono na rycinie 1, część dolna.

W kompartmentie akceptorowym końcowa wartość odczynu była zróżnicowana, w zależności od rodzaju polimeru. Preparat MC-CX był zasadowy, o odczynie 8,19–9,27. Tendencja do spadku pH wraz ze wzrostem temperatury była tutaj bardziej



Ryc. 2. Odczyn w kompartmentie akceptorowym, oceniany na początku i po 24 godzinach uwalniania chloroheksydyny. MC-CX – pH obserwowane dla preparatu chloroheksydyny na bazie metylocelulozy, PA-CX – pH obserwowane dla preparatu chloroheksydyny na bazie kwasu poliakrylowego, po zakończeniu uwalniania (fin). Start określa początkowy odczyn systemu akceptorowego

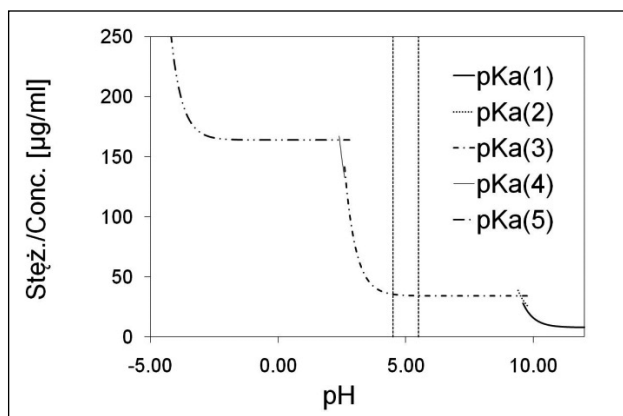
FIG. 2. pH in acceptor compartment, evaluated at the start, and after 24 hrs in conditions reflecting chlorhexidine release. MC-CX – pH of chlorhexidine preparation with methylcellulose, PA-CX – pH of chlorhexidine preparation with polyacrylic acid, pH at the finish (fin). Start reflects the starting pH of acceptor compartment

wards the pH was ca.5,42–6,23, depending slightly on the temperature, and being lowest and highest in the limiting temperatures, for respectively 22 and 42 °C. – Fig. 1 – below.

In the acceptor compartment the final value of pH differed, depending on the type of polymer used. MC-CX preparation was alkali, with pH 8,19–9,27. The tendency to decrease with the increase of temperature was here more clearly observed, than in concentrated donor systems, due to the illustration on the Fig 2 – MC-CX line. In the case of PA-CX preparation the pH of acceptor compartment increased also after finishing drug release, however not as much as in the case of MC-CX system, and gained values between 6,73–7,40. Oppositely, comparing to MC-CX, the pH value rather increased with the temperature – Fig. 2 – PA-CX line.

For titration of a weak base Fedorov and Shmata [11] proposed following equation:

$$\text{pH} = \{\ln(v_1 + x) - \ln[\text{fna}(x)]\} / \ln 10 \quad (\text{Eq. 1})$$



RYC. 3. Wpływ odczynu na dostępne stężenie rozpuszczonej chlorohexydyny

FIG. 3. Influence of pH on the concentration of chlorhexidine available in solution

wyrazista, niż w przypadku stężonych układów w kompartmentie donorowym – rycina 2 – linia MC-CX. W przypadku preparatu PA-CX odczyn w kompartmentie akceptorowym także wzrastał w miarę przebiegu procesu, aż do jego zakończenia po 24 godzinach, jednak nie tak intensywnie jak w przypadku systemu z metylocelulozą. Oznaczone wartości wynosiły od 6,37 do 7,40. Przeciwnie, dla MC-CX, wartości pH wzrastały wraz ze wzrostem temperatury – rycina 2 – linia PA-CX.

Fedorov i Shmata [11] zaproponowali dla słabej zasady następujące równanie opisujące jej odczyn w roztworze wodnym:

$$PH = \{\ln(v_1 + x) - \ln[fna(x)]\} / \ln 10 \quad (1)$$

Symbol x oznacza zmienne objętości titranta dodanego w zdefiniowanym punkcie miareczkowania. Wyrażenie $fna(x) = xn_2 - v_1n_1$, gdzie v_1 jest objętością roztworu analitu, n_1 jest normalnością roztworu analitu, n_2 jest normalnością roztworu titranta.

Kramer i Lynn [12] zaproponowali równanie opisujące wpływ odczynu na rozpuszczalność słabej zasady.

$$S_t = [BH^+]_s + [B] \quad (2)$$

S_t to całkowita rozpuszczalność substancji w określonych warunkach odczynu środowiska, $[BH^+]$ jest stężeniem zjonizowanej zasady pozostającej w równowadze z osadem, zaś $[B]$ opisuje stężenie niezjonizowanej zasady.

Teoretycznie wyznaczona rozpuszczalność chlorohexydyny, zgodnie z Eq. 2, w warunkach obniżającego się pH, została przedstawiona na rycinie 3.

The x denotes the variable of the volume of the titrant added at a given titration point. The value $fna(x) = xn_2 - v_1n_1$, where v_1 is the volume of the analyte solution, n_1 is the normality of the analyte solution, n_2 is the normality of titrant solution.

This rule is supported by another equation evaluated by Kramer and Flynn [12], for the solubility of weak base at decreasing pH value.

$$S_t = [BH^+]_s + [B] \quad (\text{Eq. 2})$$

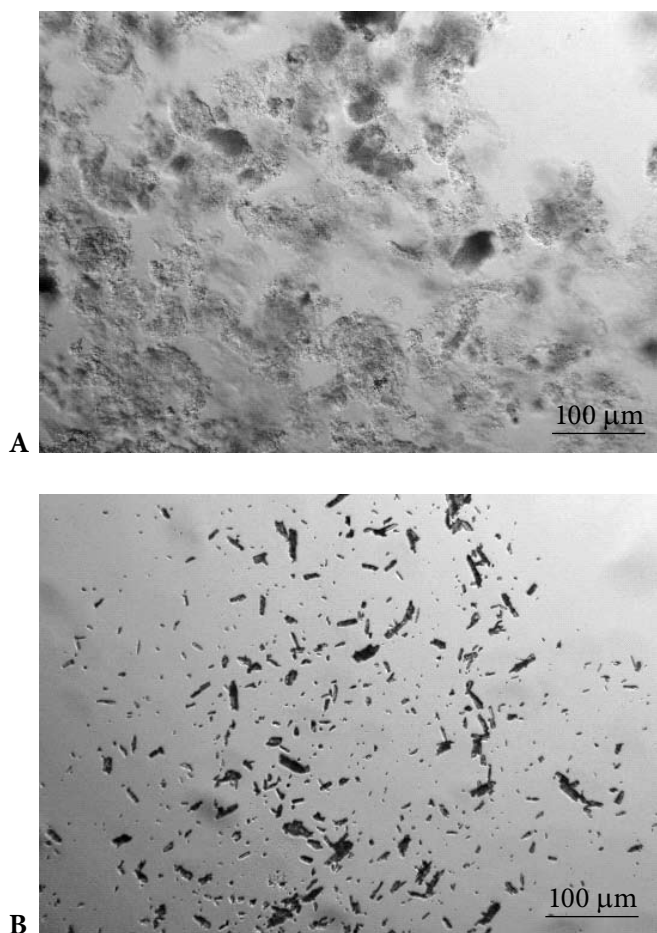
S_t is the total equilibrium solubility at specified pH conditions, $[BH^+]_s$ is concentration of protonated species of the base in equilibrium with the solid phase, $[B]$ is the free base concentration.

The theoretically predicted solubility of chlorhexidine at decreasing pH value, due to the applied equation 2 was presented on Fig. 3.

As it is clear from the image, when simple acidification is applied, involving sequentially the ionically active groups, chlorhexidine solubility in the range of 34 – 36 µg/ml may be obtained for the pH of ca. 5,00. To obtain higher chlorhexidine concentrations, decreased pH should be applied. E.g. for the pH 2,50 the predicted solubility increases to ca. 100 µg/ml. The lowest MIC range for the Gram-negative bacteria was evaluated to be 1 µg/ml, whereas for the Gram-positives the lowest limit was fixed at 0,25 µg/ml. 1,00 µg/ml value of MIC for chlorhexidine against *Staphylococcus aureus* or *Staphylococcus pyogenes* were recently assessed [13]. However for some highly resistant strains of Gram-negative microorganisms the MBC value may attain 128 µg/ml.

According to the predicted solubility, at sufficiently low pH values the activity of chlorhexidine may be maintained applying the solubility term. On the other hand the chlorhexidine has an unique ability to deposit on the biosurfaces [14], including human skin surface [15]. When 1 min rinse of chlorhexidine was applied into the oral mouth, 30% of the chlorhexidine was deposited on the oral mucus for the 24 hrs period [16]. In the clinical situation part of the chlorhexidine in dispersed form, which is the case below 50 µg/ml chlorhexidine concentration, is in direct contact with biological surface, multiplying the antimicrobial effect of solubilized part of the drug.

Actually in the present research in the case of methylcellulose dispersion the chlorhexidine crystals were randomly dispersed in continuous methylcellulose phase, as it is presented on the Fig. 4A. In this case part of the chlorhexidine was present in a solution, in concentration reflecting the low solubility of this molecule. The Fig. 4B gives more



RYC. 4. Mikrofotografia mieszaniny kwasu poliakrylowego z chloroheksydyną (A) oraz metylcelulozy z chloroheksydyną (B)

FIG. 4. The microphotography image of mixtures of polyacrylic acid with chlorhexidine (A) and methylcellulose with chlorhexidine (B)

Jak wynika z ryciny 3, w przebiegu prostego zakwaszania, wraz z jonizacją kolejnych miejsc w obrębie cząsteczki chloroheksydyny, może dojść do zwiększenia jej rozpuszczalności w pH ok. 5,00 do wartości 34–36 µg/ml. W celu uzyskania wyższych stężeń chloroheksydyny należy stosować odpowiednio obniżony odczyn środowiska. Na przykład przy pH ok. 2,50 wyznaczona teoretycznie rozpuszczalność wynosić będzie ok. 100 µg/ml. Najniższe wartości MIC, w przypadku bakterii Gram-ujemnych zostały dla chloroheksydyny wyznaczone na ok. 1 µg/ml, podczas gdy dla bakterii Gram-dodatnich MIC wynosi nawet 0,25 µg/ml. Dla drobnoustrojów *Staphylococcus aureus* i *Staphylococcus pyogenes* MIC wynosi zaledwie ok. 1 µg/ml [13]. Jednakże niektóre szczególnie odporne drobnoustroje ulegają unieszkodliwie-

niom, co daje bardziej szczegółowe spojrzenie na interakcję między chlorheksydyną a kwasem poliakrylowym. Wyniki pomiarów pH odpowiadają wiązaniu chlorheksydyny przez jonowy polimer. Według masy cząsteczkowej chlorheksydyny i równoważnej masy polimeru obliczonej z liczby grup karboksylowych, stosunek stechiometryczny w ocenianych preparatach chlorheksydyny : karboksylowe grupy jest taki jak 15:100. Gdy weźmiemy pod uwagę kolejne miejsca jonizacji w cząsteczce chlorheksydyny, stosunek może wzrosnąć do ok. 30:100 dla dwóch miejsc jonizacji, ok. 45:100 dla trzech miejsc jonizacji, i ok. 60:100 dla czterech miejsc jonizacji, bez korekty dla nieliniowego przebiegu procesu jonizacji.

W widoku mikroskopowym obserwujemy osad, co zostało wcześniej ocenione w doświadczeniach [17]. pH oceniane w naszych pomiarach było niskie ze względu na wolne – nie związane z kwasem poliakrylowym – grupy karboksylowe. Kwas poliakrylowy działa jako bufor i umożliwia utrzymanie pH bliskiego wartościom fizjologicznym. Ponieważ połączenie między kwasem poliakrylowym a chlorheksydyną wydaje się być silne, odpowiednie oceny aktywności przeciwdrobnoustrojowej powinny być przeprowadzone, aby ocenić wartość aplikacyjną preparatów.

CONCLUSIONS

1. Preparations of chlorhexidine with methylcellulose are characterized by high pH in the range between 9,70–9,98 depending on the temperature of measurements.
2. For preparations of chlorhexidine and polyacrylic acid pH of 5,31–5,72 was evaluated, which was near the physiological values of skin pH.
3. Maintaining of optimal pH of chlorhexidine preparation is connected with respective assurance of solubility of chlorhexidine in the range of MIC or MBC, what is possible due to theoretical consideration around 34–36 µg/ml.
4. The preparation of polyacrylic acid and chlorhexidine should be further evaluated, to assess its antimicrobial activity.

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.

niu dopiero po osiągnięciu przez chloroheksydynę stężenia 128 µg/ml (MBC).

Zgodnie z przewidzianą rozpuszczalnością, przy niskim pH aktywność chloroheksydyny jest zachowywana dzięki jej odpowiednio wysokiej rozpuszczalności. Chloroheksydyna posiada ponadto szczególną właściwość depozycji na niektórych powierzchniach, szczególnie na ożywionych [14], także na powierzchni skóry ludzkiej [15]. Po jednodominowym płukaniu jamy ustnej roztworem chloroheksydyny, 30% tego związku ulega odłożeniu w błonie śluzowej jamy ustnej na okres 24 godzin [16]. W warunkach klinicznych dodatkowa ilość chloroheksydyny w formie rozproszonej, tutaj w stężeniu poniżej 500 µg/ml, może bezpośrednio oddziaływać na powierzchnię biologiczną, zwiększając efekt mikrobójczy rozpuszczonej substancji czynnej (ryc. 4).

Faktycznie w przebiegu badania stwierdzono, że cząstki chloroheksydyny są rozproszone w fazie ciągłej preparatu metylocelulozowego, jak to przedstawiono na rycinie 4A. W tym przypadku chloroheksydyna jest obecna w roztworze w ilości odpowiadającej jej rozpuszczalności w roztworze o pH bliskim obojętnemu. Na rycinie 4B przedstawiono preparat chloroheksydyny z kwasem poliakrylowym i - jak to widać - prawdopodobne jest powstanie kompleksów jonowych. Wyznaczony niski odczyn badanego układu potwierdza fakt wiązania chloroheksydyny z polimerem. Zgodnie z masą molową chloroheksydyny, oraz z obliczoną ilością grup karboksylowych w kwasie poliakrylowym, stosunek stechiometryczny chloroheksydyny do grup karboksylowych ma się tak jak 15:100. Jednak po uwzględnieniu w obliczeniach dwóch miejsc jonizacji wartość ta wzrasta do 30:100, a przy wykorzystaniu kolejnych miejsc jonizacji stosunek ten wzrasta odpowiednio do 45:100 i 60:100, w przybliżeniu.

Na zdjęciu mikroskopowym obserwowane są precypitaty, które były oceniane poprzednio m. in. z zastosowaniem klasycznej techniki badania uwalniania [17]. Odczyn badanego systemu PA-CX był niski, co wiązało się z wysoką zawartością wolnych - nie związanych z chloroheksydyną - grup karboksylowych polimeru. Kwas poliakrylowy ma znaczenie buforujące i umożliwia utrzymanie pH w zakresie zbliżonym do odczynu fizjologicznego skóry. Połączenia chloroheksydyny i kwasu poliakrylowego wydają się być kompleksami o dużej sile wiązania, stąd dalszym etapem badań winna być ocena ich aktywności przeciwbakteryjnej, w celu ustalenia dalszych możliwości zastosowania tych połączeń.

WNIOSKI

1. Preparaty chloroheksydyny z metylocelulozą charakteryzują się wysokim odczynem w zakresie pomiędzy 9,70–9,98, w zależności od temperatury pomiarów.
2. Dla preparatów chloroheksydyny z kwasem poliakrylowym wyznaczono pH na 5,31–5,72, co było wartością zbliżoną do fizjologicznego odczynu skóry.
3. Utrzymanie optymalnej wartości pH preparatu chloroheksydyny związane jest z zapewnieniem odpowiedniej rozpuszczalności chloroheksydyny w zakresie MIC lub MBC, co odpowiada wartościom pomiędzy 34–36 µg/ml.
4. Preparat kwasu poliakrylowego i chloroheksydyny powinien być dalej oceniany w celu wyznaczenia jego aktywności przeciwbakteryjnej.

LITERATURA

- [1] ZENG P., ARUNA R., WIEDEMANN T. S., BOWLES W.: Solubility properties of chlorhexidine salts. *Drug. Dev. Ind. Pharm.* (2009), 35, 172–176.
- [2] NERURKAR M. J., ZENTNER G. M., RYTTING J. H.: Effect of chloride on the release of chlorhexidine salts from metyl methacrylate:2-hydroxyethyl methacrylate copolymer reservoir devices. *J. Control. Release.* (1995), 33, 357–363.
- [3] WERLE P., MERZ F., JORGENSEN J. N., TRAGESER M.: Chlorhexidine formulations, new chlorhexidine salts, solutions containing these and their use, United States Patent, 6500466, published 12.12.2002.
- [4] NAVARRO R.: Surfactant chlorhexidine salts and compositions. European Patent, EP0200607, published 04.05.1989.
- [5] 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.
- [6] ZENG P., ZHANG G., RAO A., BOWLES W., WIEDEMANN T. S.: Concentration dependent aggregation properties of chlorhexidine salts. *Int. J. Pharm.* (2008), 367, 73–78.
- [7] MENG N., ZHOU N. L., ZHANG S. Q., SHEN J.: Controlled release and antibacterial activity chlorhexidine acetate (CA) intercalated in montmorillonite. *Int. J. Pharm.* (2009), 382, 45–49.
- [8] MEDLICOTT N. J., TUCKER I. G., RATHBONE M.

- J., HOLBOROW D. W., JONES D. S.: Chlorhexidine release from poly(epsilon-caprolactone) films prepared by solvent evaporation. *Int. J. Pharm.* (1996), 143, 25–35.
- [9] GIUNCHEDI P., JULIANO C., GAVINI E., COSSU M., SORRENTI M.: Formulation and in vivo evaluation of chlorhexidine buccal tablets prepared using drug-loaded chitosan microspheres. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* (2002), 53, 233–239.
- [10] HUYNH T. T. N., PADOIS K., SONVICO F., ROSSI A., ZANI F., PIROT F., DOURY J., FALSON F.: Characterization of polyurethane – based controlled release system for local delivery of chlorhexidine diacetate. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* (2009), in print, corrected proof.
- [11] FEDOROV A. A., SHMATA T. S.: Computer assisted calculation and graphical presentation of titration curves. *J. l of Anal. Chemi.* (2004), 59, 402–406.
- [12] KRAMER S. F., FLYNN G. L.: Solubility of organic hydrochlorides. *J. Pharm. Sci.* (1972), 61, 1896–1904.
- [13] KOLJALG S., NAABER P., MIKELSAAR M.: Antibiotic resistance as an indicator of bacterial chlorhexidine susceptibility. *J. Hosp. Inf.* (2002), 51, 106–113.
- [14] PUSATERI C. R., MONACO E. A., EDGERTON M.: Sensitivity of *Candida albicans* biofilm cells grown on denture acrylic to antifungal proteins and chlorhexidine. *Arch. Oral Biol.* (2009), 54, 588–594.
- [15] AKI H., KAWASAKI Y.: Thermodynamic clarification of interaction between antiseptic compounds and lipids consisting of stratum corneum. *Thermochimica Acta.* (2004), 416, 113–119.
- [16] BONESWOLL P., LOKKEN G., ROLLA G., PAUS P. N.: Retention of chlorhexidine in the human oral cavity after mouth rinses. *Arch. Oral. Biol.* (1974), 19, 209–212.
- [17] MUSIAŁ W., KOKOL V., VONCINA B.: The deposition of chlorhexidine loaded into the non-ionic and anionic polymer – using SEM, EDS, and applying release study at the skin surface temperature. *Chem. Pap.* (2010), accepted, in print.

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.

Adres autorów

Uniwerytet 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 ulica 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, ul. Szewska 38, Poland
Tel: +48 71 784-03-15, Fax: +48 71 784-03-17
e-mail: witold@ktpl.am.wroc.pl

