



# Caracterização do intumescimento de sistemas líquido-cristalinos de fase lamelar de monoleína e água contendo polihexametilenobiguanida.

Cynthia Pinheiro Cremonez<sup>1</sup>; Maria Vitória Lopes Badra Bentley<sup>1</sup>; Marilisa Guimarães Lara<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP.

## RESUMO

A monoleína é um lipídeo polar capaz de absorver água e formar sistemas líquido-cristalinos, os quais são utilizados como sistemas de liberação para administração de vários fármacos. Neste estudo foi avaliado o potencial de sistemas de fase lamelar constituídos por monoleína e água para veicular polihexametilenobiguanida (PHMB). A formação dos sistemas líquido-cristalinos foi caracterizada por microscopia de luz polarizada. Estudos de intumescimento foram realizados gravimetricamente em várias condições avaliando-se os efeitos de parâmetros como pH, força iônica e temperatura do meio de imersão. O processo de intumescimento foi caracterizado através da obtenção dos perfis de intumescimento e análise de sua cinética, além da determinação da capacidade máxima de intumescimento dos sistemas. Os sistemas de fase lamelar foram obtidos em presença de PHMB, os quais absorveram água rapidamente de acordo com cinética de segunda ordem e sofreram transição de fase, formando a fase cúbica. O intumescimento dos sistemas não foi influenciado pela presença do fármaco nos vários meios de imersão estudados, exceto pela imersão em meio ácido, no qual a presença do PHMB aumentou a captação de água. O intumescimento dos sistemas contendo PHMB não foi afetado pela força iônica do meio de imersão, porém foi diminuído com o aumento da temperatura. Desta maneira, sistemas líquido-cristalinos de monoleína e água foram obtidos e o processo de intumescimento foi caracterizado. Os sistemas apresentaram potencial para serem propostos como sistemas de liberação para administração de PHMB e estudos de liberação de fármacos serão realizados futuramente.

*Palavras-chave:* Monoleína. Polihexametilenobiguanida. Cristais líquidos. Estudos de intumescimento.

## INTRODUÇÃO

Cristais líquidos são sistemas que se apresentam em um estado intermediário entre o estado sólido e

líquido, também denominado estado mesomórfico, e podem ser formados por lipídeos polares em contato com água. (Larsson, 1989). Devido à estrutura complexa que apresentam, sistemas líquido-cristalinos vêm sendo estudados como sistemas de liberação lenta de fármacos, uma vez que a difusão do fármaco no sistema pode modificar as propriedades de liberação do mesmo. A monoleína, monoleato de glicerila, é um lipídeo polar capaz de absorver água e formar cristais líquidos. Os sistemas líquido-cristalinos de monoleína e água têm sido estudados como carreadores de fármacos em várias formas farmacêuticas, como matrizes semisólidas, implantes subcutâneos e intramusculares, sistemas bioadesivos, dispersões de nanopartículas, entre outros.

Vários trabalhos reportam a capacidade destes sistemas de sustentar a liberação de fármacos incorporados, apresentando muitas vezes, cinética de liberação controlada por difusão. Além disso, estes sistemas são capazes de incorporar fármacos hidrofílicos e lipofílicos, que podem ser formados em temperatura corporal e apresentam propriedades mucoadesivas, o que prolonga o tempo de permanência do sistema no sítio de ação. Estas propriedades sugerem o uso destes sistemas como veículos interessantes para administração de fármacos em várias vias de administração (Burrows et al., 1994; Geraghty et al., 1996; Nielsen et al., 1998; Ganen-Quintanar et al., 2000; Shah et al., 2001; Turchiello et al., 2003; Boyd et al., 2006; Lopes et al., 2006; Guo et al., 2010; Phan et al., 2011). Várias fases líquido-cristalinas podem ser formadas por monoleína em contato com água (fase lamelar, cúbica ou hexagonal) dependendo do teor de água do sistema e da temperatura (Fong et al., 2012). No entanto, a presença de fármacos ou aditivos no sistema pode afetar a formação de fases líquido-cristalinas e provocar transições de fases.

Polihexametilenobiguanida (PHMB) é uma biguanida polimérica que apresenta atividade antibacteriana a qual é atribuída a interações com componentes da membrana celular, especificamente fosfolipídeos aniônicos (Rosin et al., 2002; Krebs et al., 2005). A PHMB tem sido usada como composto antimicrobiano em várias aplicações em medicina, odontologia e como biocida ambiental devido à sua atividade de amplo espectro, estabilidade química e baixa toxicidade (Hübner et al., 2010; Paula et al., 2011). Dentre as várias aplicações de PHMB, destaca-se o uso como agente antiplaca e antisséptico bucal (Pitten & Kramer, 1999; Rosin et al., 2001; Rosin et al., 2002; Welk et al., 2005), utilização no tratamento de infecções

em oftalmologia (Lee et al., 2002; Larkin, 1992; Seal, 2003; Ferrari et al., 2011; Rebong et al., 2011) e como antisséptico local no tratamento de feridas, em que demonstra ser bem tolerado pelos tecidos traumatizados, além de favorecer a cicatrização (Willeneger et al., 1995; Fabry et al., 2006; Sibbald et al., 2011; Elzinga et al., 2011; Dissemond et al., 2010). A aplicação de PHMB também foi avaliada para o tratamento local de vaginose bacteriana, com resultados semelhantes a antibióticos convencionais como metronidazol e clindamicina (Gerli, 2003). A concentração usual de PHMB varia de acordo com o uso e a via de administração e deve ser adequada para cada situação clínica proposta (Dissemond et al., 2010).

A administração de PHMB para diferentes aplicações é feita na forma de soluções ou géis hidrofílicos como, por exemplo, soluções para uso na cavidade oral (enxaguatórios bucais) (Rosin et al., 2001; Rosin et al., 2002; Welk et al., 2005) ou ainda soluções para impregnação de curativos, soluções para irrigação ou géis indicados para limpeza e hidratação de feridas crônicas ou cirúrgicas (Dissemond et al., 2010).

O desenvolvimento de formas farmacêuticas capazes de liberarem o fármaco e/ou permanecerem no local de aplicação por tempo prolongado é interessante, pois garante a presença do fármaco no sítio de ação por determinado período de tempo, sem a necessidade de repetidas aplicações do produto. Sistemas líquido-cristalinos de monoleína e água podem ser usados como sistemas de liberação de fármacos com esta característica (Phan et al., 2011), o que pode apresentar vantagens em várias situações, como por exemplo, aplicação local na mucosa bucal onde a permanência de produtos é comprometida por fatores como fala e fluxo de saliva, ou ainda antisepsia local em feridas, que requer tempo de exposição longo com o fármaco. Em vista disso, o uso de sistemas líquido-cristalinos de monoleína e água como veículo para administração de PHMB pode otimizar a utilização deste composto devido à sua capacidade de modificar a liberação do fármaco e prolongar o tempo de permanência no sítio de administração. No entanto, é necessário avaliar as propriedades do sistema na presença do fármaco, uma vez que a presença de substâncias (fármacos e/ou aditivos) pode levar a transições de fase e alterações nas propriedades do sistema.

Um aspecto importante a ser considerado no desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos à base de monoleína e água é o intumescimento sofrido pelos sistemas quando em contato com excesso de água. A captação de água que ocorre durante o intumescimento de matrizes utilizadas como sistemas líquido-cristalinos de liberação de fármacos é importante, tendo em vista vários aspectos diferentes. Inicialmente, a captação de água pelos sistemas é determinante para a formação das fases líquido-cristalinas e transições de fase que podem ocorrer no momento da administração do sistema, quando se dá em presença de água. O intumescimento de sistemas de monoleína também pode influenciar as características de mucoadesão do sistema quando o mesmo é utilizado em mucosas, uma vez que o mecanismo de mucoadesão apresentado pela monoleína é dependente da captação de água no sítio de administração (Nielsen et al., 1998; Lee et al., 2001).

Outra propriedade que pode ser modificada pelo intumescimento é a liberação de fármacos incorporados no sistema, pois o processo de relaxamento e rearranjo estrutural que ocorre durante o intumescimento pode influenciar o mecanismo de liberação de fármacos incorporados (Colombo et al., 1995). Como o intumescimento pode influenciar significativamente o comportamento de um sistema de liberação de fármacos, a avaliação e caracterização desta propriedade são importantes no desenvolvimento destes sistemas, a fim de que possam ser correlacionadas com os estudos de liberação que deverão ser realizados posteriormente. Embora a captação de água por sistemas de monoleína/água tenha sido bem caracterizada, a presença de fármacos ou aditivos pode modificar esta propriedade e por isso, deve ser avaliada no desenvolvimento de sistemas de liberação de monoleína/água contendo um fármaco em particular (Chang & Bodmeier, 1998; Lee et al., 2003). O objetivo deste trabalho é a obtenção e caracterização do intumescimento de um sistema líquido-cristalino de fase lamelar constituído por monoleína e água contendo PHMB a fim de avaliar o seu potencial para veiculação de PHMB.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Obtenção dos sistemas líquido-cristalinos de fase lamelar

A monoleína utilizada foi uma preparação comercial de monoglicerídeos derivados de óleo de canola denominada Myverol 18-99<sup>0</sup>, gentilmente cedida por Kerry do Brasil. Foi utilizado PHMB de origem comercial na forma de cloridrato em solução aquosa na concentração de 20% (p/p) denominado Cosmocil PG<sup>0</sup>, gentilmente cedida pela empresa Arch Chemicals.

Sistemas líquido-cristalinos de monoleína e água de fase lamelar foram preparados com teor inicial de água de 10,0% (p/p) contendo ou não PHMB em excesso (2,0% p/p) para avaliar a influência do fármaco nas propriedades do sistema. Os sistemas foram preparados por fusão da monoleína a 40°C e adição de água na quantidade requerida à mesma temperatura. A adição de PHMB foi feita na fase aquosa no momento de preparo dos sistemas e os mesmos foram deixados em repouso por 24 horas para equilíbrio. A formação de fases líquido-cristalinas nos sistemas desenvolvidos foi avaliada antes e depois dos estudos de intumescimento, através de observação do aspecto macroscópico e por microscopia de luz polarizada a 37°C usando microscópio óptico Axiopan 2 (Carl Zeiss) equipado com filtro polarizador e câmera digital Axiocam HRc com sistema de aquisição automática de imagem acoplado e sistema de aquecimento controlado de placa modelo THMSG 600 (Linkam). A identificação das fases foi feita de acordo com Tyle (1989) e Rosevear (1954).

Estudos de intumescimento dos sistemas

O intumescimento dos sistemas foi avaliado gravimetricamente. As amostras dos sistemas líquido-cristalinos foram acondicionadas em suportes cilíndricos com membrana de acetato de celulose acoplada em uma das extremidades e imersas no meio de imersão mantido em temperatura controlada por sistema de banho-maria por 24 horas. Em tempos determinados, os suportes foram

retirados da imersão e pesados. A porcentagem de água absorvida pelos sistemas foi calculada pela diferença de peso antes e após a imersão. Os estudos foram realizados em triplicata (Lara et al., 2005).

Inicialmente o intumescimento foi caracterizado usando tampão fosfato isotônico pH 7,4 como meio de imersão. Além disso, o intumescimento dos sistemas foi avaliado sob várias condições a fim de caracterizar este processo, estudando-se a influência de parâmetros que podem afetá-lo. Foram avaliados diferentes meios de imersão, variando-se os valores de pH (7,4; 1,5 e 10) e força iônica (tampão fosfato isotônico pH 7,4 contendo cloreto de sódio nas seguintes concentrações: 20mM, 40mM, 60mM, 80mM, 100mM e 120mM). Também foram realizados estudos de intumescimento usando tampão fosfato pH 7,4 em diferentes temperaturas: 23, 37 e 60°C (Chang & Bodmeier, 1997; Lee et al., 2003; Bertram & Bodmeier, 2006).

Os dados obtidos no estudo de intumescimento foram avaliados segundo Schott (1992), utilizando-se modelos de primeira e segunda ordem (equações 1 e 2, respectivamente). O intumescimento das matrizes foi caracterizado por obtenção do perfil de intumescimento e avaliação de sua cinética e cálculo da capacidade de intumescimento dos sistemas.

$$\ln \frac{W_8}{(W_8 - W)} = kt \quad \text{equação (1)}$$

$$\frac{t}{W} = \frac{1}{k W_8^2} + \frac{t}{W} \quad \text{equação (2)}$$

Em que:  $W_\infty$  é a captação máxima de água (capacidade máxima de intumescimento),  $W$  é a captação de água em determinado tempo  $t$ ,  $(W_\infty - W)$  é captação de água não realizada e  $K$  é uma constante de proporcionalidade.

A cinética de intumescimento foi avaliada graficamente. No modelo de primeira ordem, deve ser encontrada uma relação linear quando são plotados o  $\ln W_\infty / (W_\infty - W)$  em função do tempo. Já no modelo de segunda ordem, deve ser encontrada linearidade quando plotados  $t/W$  em função do tempo. A capacidade máxima de intumescimento ( $W_\infty$ ) é definida como o intumescimento máximo que ocorre quando a pressão de intumescimento se iguala à tensão de recuperação elástica do sistema. De acordo com o modelo de segunda ordem, esta capacidade pode ser calculada graficamente pelo recíproco da inclinação da reta do gráfico de  $t/W$  em função do tempo. A unidade de  $W_\infty$  é gramas de meio de imersão absorvido por grama de matriz. (Schott, 1992; Lee et al., 2003, Lara et al., 2005).

## RESULTADOS

Os sistemas obtidos apresentaram-se opacos e viscosos. Quando observados por microscopia de luz polarizada, mostraram-se anisotrópicos com estrutura característica de fase lamelar. Estes resultados estão de acordo com estudos semelhantes descritos na literatura para

sistemas de monoleína e água com baixos teores de água (Clogston et al., 2000; Qiu & Caffrey, 2000). A presença do PHMB não provocou alterações na fase líquido-cristalina apresentada pelo sistema, como pode ser observado na Figura 1.

Após o contato com excesso de água nos estudos de intumescimento em todas as condições apresentadas, foi observada a formação de fase cúbica, caracterizada através de seu aspecto macroscópico (gel rígido e transparente) e por apresentar isotropia sob microscopia de luz polarizada.

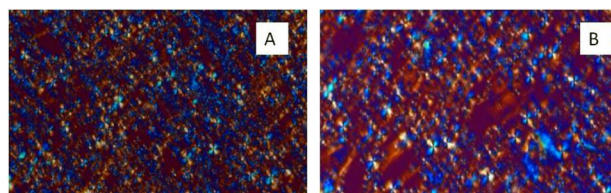


Figura 1. Fotomicrografias dos sistemas líquido-cristalinos avaliados por microscopia de luz polarizada: (A) sistema de fase cúbica sem PHMB e (B) sistema de fase lamelar contendo 2,0% (p/p) de PHMB.

Os perfis de intumescimento dos sistemas contendo ou não PHMB após contato com tampão fosfato isotônico pH 7,4 a 37°C estão apresentados na Figura 2. Os sistemas apresentaram rápida captação de água até atingir um estado de equilíbrio. O intumescimento dos sistemas foi bastante semelhante até 6 horas de estudo, indicando que o fármaco não influenciou o processo no período em que o mesmo foi mais pronunciado.

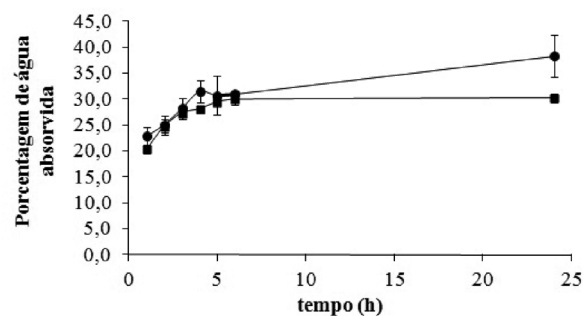


Figura 2. Perfis de intumescimento dos sistemas líquido-cristalinos contendo (■) ou não (●) PHMB a 2,0% (p/p) após imersão em tampão fosfato isotônico pH 7,4 a 37°C. (n=3)

Os dados obtidos no estudo de intumescimento foram submetidos a modelos matemáticos para avaliação de sua cinética e os resultados estão apresentados na Figura 3 e Tabela 1. Como pode ser observado, foi obtida linearidade nos gráficos referentes à equação 2, que descreve o modelo de segunda ordem. Os coeficientes de correlação linear obtidos para os dois sistemas estudados estão apresentados na Tabela 1, indicando que a presença do PHMB não modificou o modelo cinético do intumescimento dos sistemas. Os valores de capacidade de intumescimento encontrados também foram próximos para os sistemas contendo ou não PHMB.

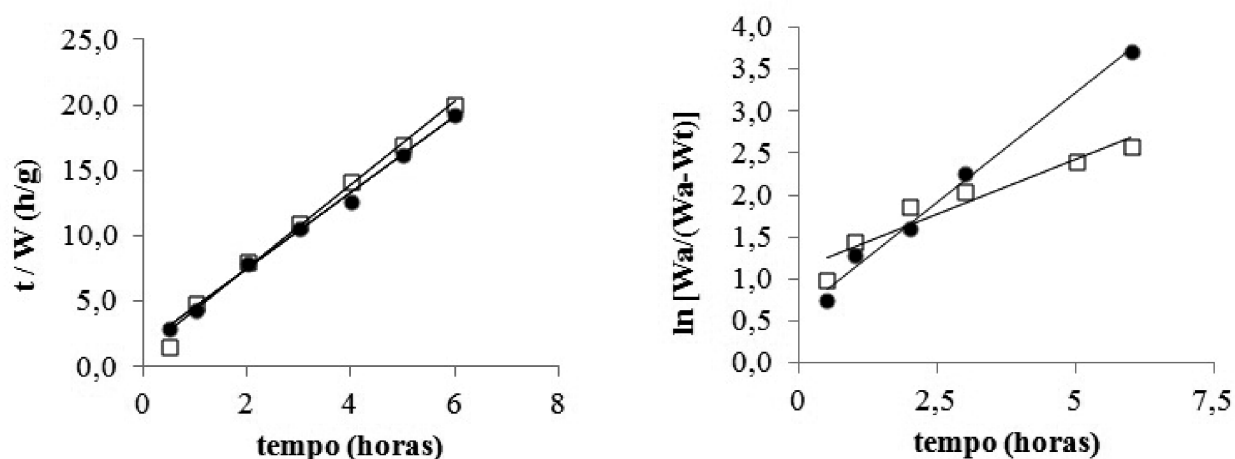


Figura 3. Modelos cinéticos aplicados aos dados de intumescimento dos sistemas contendo (□) ou não (○) PHMB após imersão em tampão fosfato isotônico pH 7,4 a 37°C, segundo Schott (1992).

Tabela 1. Coeficientes de correlação linear obtidos no estudo de intumescimento dos sistemas contendo ou não PHMB a 2,0% (p/p) após imersão em tampão fosfato isotônico pH 7,4 a 37°C.

	Modelo de 1º ordem*	Modelo de 2º ordem*	Capacidade de intumescimento (g/g)**
sem PHMB	0,9901	0,9965	0,3418
com PHMB	0,9781	0,9911	0,3111

\*de acordo com Schott (1992)

\*\*de acordo com modelo de segunda ordem

Os resultados dos estudos de intumescimento com géis de fase lamelar contendo PHMB em diferentes meios de imersão estão apresentados nas Figuras 4, 5 e 6 e Tabela 2.

A Figura 4 apresenta os perfis obtidos em meios com diferentes valores de pH, que demonstram que houve intumescimento em todos meios utilizados. A avaliação da fase líquido-cristalina apresentada após intumescimento mostrou que houve formação de fase cúbica, o que demonstra que o pH do meio de imersão não afeta o tipo de estrutura formada após intumescimento. Como pode ser observado, foram obtidos perfis de absorção de água semelhantes para os sistemas estudados nos meios com pH 7,4 e pH 10. No entanto, o intumescimento em meio ácido foi maior. Esta diferença poderia estar associada à presença do fármaco ou à capacidade de intumescimento do sistema líquido-cristalino em meio ácido. Em vista disto foi realizado um estudo de intumescimento do sistema sem o fármaco em meio ácido, que apresentou um perfil de intumescimento semelhante aos obtidos nos meios com outros valores de pH, indicando que o aumento do intumescimento observado em meio ácido deve-se à presença do fármaco.

A análise da cinética de intumescimento dos sistemas em meios de imersão com diferentes valores de pH foi realizada graficamente como descrito anteriormente e os parâmetros cinéticos estão apresentados na Tabela 2. Os sistemas apresentaram valores maiores de coeficiente de correlação de acordo com o modelo de segunda ordem em

todos os valores de pH, indicando que o intumescimento não teve cinética alterada em função do pH do meio de imersão. Também foi observada maior capacidade de intumescimento para o sistema contendo PHMB em meio ácido, o que pode ser atribuído à presença do fármaco.

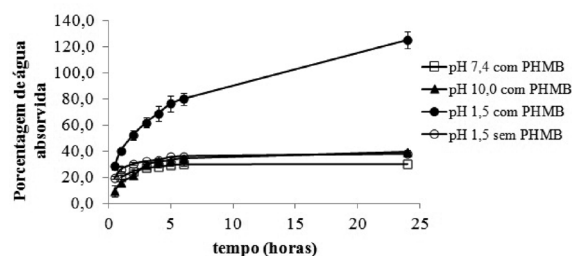


Figura 4. Perfis de intumescimento de sistemas líquido-cristalinos contendo ou não 2,0% (p/p) PHMB, em meios de imersão com valores diferentes de pH a 37°C. (n=3)

A influência da força iônica do meio de imersão no intumescimento dos sistemas pode ser avaliada nos perfis apresentados na Figura 5. Como pode ser observado, foram obtidos perfis de absorção de água semelhantes para os sistemas estudados em meios de imersão, variando-se a força iônica do meio, portanto, não houve mudança no perfil de intumescimento dos sistemas independentemente da concentração de cloreto de sódio utilizada. Os resultados da análise cinética de intumescimento estão apresentados na Tabela 2. Os sistemas apresentaram cinética de intumescimento de acordo com modelo de segunda ordem em todos os meios de imersão, independente da concentração de cloreto de sódio do meio.

A influência da temperatura no intumescimento dos sistemas pode ser avaliada nos perfis apresentados na Figura 6. Foi observada uma menor captação de água com a elevação da temperatura. O intumescimento dos sistemas foi linear de acordo com cinética de 2ª ordem em todos os valores de temperatura e foi observada uma diminuição da capacidade de intumescimento dos sistemas com o aumento da temperatura (Tabela 2).

Tabela 2. Coeficientes de correlação linear e capacidades de intumescimento obtidos no estudo de intumescimento do sistema líquido-cristalino de fase lamelar contendo 2% (p/p) de PHMB em diferentes meios de imersão.

Meios de imersão	Modelo de 1ª ordem*	Modelo de 2ª ordem*	Capacidade de intumescimento (g/g)**
Efeito do pH			
pH 10,0	0,9732	0,9903	0,4709
pH 7,4	0,9781	0,9911	0,3111
pH 1,5	0,9862	0,9896	0,9715
pH 1,5 sem fármaco	0,9757	0,9983	0,3897
Efeito da força iônica			
20mmol NaCl	0,9815	0,9920	0,3912
40mmol NaCl	0,9724	0,9975	0,4156
60mmol NaCl	0,8363	0,9983	0,3779
80mmol NaCl	0,7888	0,9943	0,3824
100mmol NaCl	0,7937	0,9887	0,4047
120mmol NaCl	0,7937	0,9887	0,4047
Efeito da temperatura			
25°C	0,9485	0,9978	0,4924
37°C	0,6368	0,9994	0,3583
60°C	0,5712	0,9996	0,2848

\*de acordo com Schott (1992)

\*\*de acordo com modelo de segunda ordem

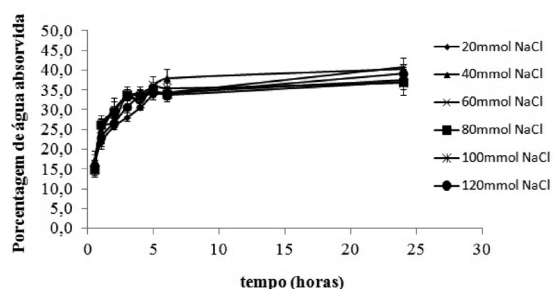


Figura 5. Perfis de intumescimento do sistema líquido-cristalino contendo 2% (p/p) de PHMB, após imersão em tampão fosfato isotônico pH 7,4 a 37°C contendo diferentes concentrações de cloreto de sódio. (n=3).

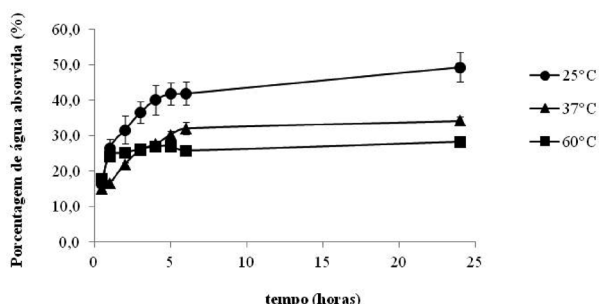


Figura 6. Perfis de intumescimento do sistema líquido-cristalino contendo 2% (p/p) de PHMB, após imersão em tampão fosfato pH 7,4 em diferentes temperaturas. (n=3)

## DISCUSSÃO

Os resultados obtidos demonstram que fases líquido-cristalinas de fase lamelar de monoleína e água podem ser

obtidas em presença de PHMB na concentração estudada. A formação de uma fase líquido-cristalina depende da estrutura e geometria dos lipídeos formadores do sistema, que definem o fator de empacotamento dos lipídeos em contato com água. Dependendo do fator de empacotamento do lipídeo, diferentes estruturas líquido-cristalinas podem ser formadas. A formação das diferentes estruturas também é influenciada por fatores como pH, força iônica, temperatura, pressão e presença de aditivos ou fármacos que podem provocar transições de fase (Guo et al., 2010; Fong et al., 2012).

Foi observado que a adição de PHMB não modificou a fase líquido-cristalina do sistema de fase lamelar obtidos com monoleína e água. Quando em contato com excesso de água nos estudos de intumescimento, os sistemas apresentaram rápida captação de água com transição para fase cúbica. Estes resultados estão de acordo com o comportamento de sistemas de monoleína e água, descritos na literatura, indicando que a presença do PHMB não alterou a formação dos cristais líquidos. Em presença de água, a monoleína arranja-se na forma de bicamadas lipídicas com a porção polar do lipídeo voltada para fora da bicamada. Estas bicamadas alternam-se com camadas de água, formando a fase lamelar. O aumento da hidratação expande o arranjo nos domínios polares das moléculas de monoleína, levando à curvatura da bicamada lipídica, com formação da fase cúbica. A fase líquido-cristalina formada em sistemas de lipídeo/água depende da estrutura da molécula lipídica envolvida, bem como das interações existentes na interface polar/apolar, as quais vão determinar a curvatura das bicamadas lipídicas.

Já foi demonstrado que a monoleína absorve água até atingir 40,0% (p/p) de hidratação, que é seu teor de hidratação de equilíbrio, no qual se apresenta na fase cúbica (Seddon, 1990; Clogston et al., 2000; Shah et al., 2001; Shah & Paradkar, 2005; Qiu & Caffrey, 2000). Géis de fase cúbica de monoleína e água têm sido propostos como sistemas de liberação de fármacos devido a diferentes características, tais como, ser termodinamicamente estável e ser capaz de controlar a liberação de fármacos incorporados. No entanto, sua alta viscosidade dificulta sua aplicação para determinadas vias de administração. Neste sentido, o uso da fase lamelar que é mais fluida pode facilitar a aplicação e espalhamento do sistema no local de aplicação e sofrer transição de fase para fase cúbica após contato com água no local de aplicação (Guo et al., 2010). Em vista disto, o uso de sistemas precursores que se transformam em fase cúbica *in situ* tem sido estudado no desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos para várias vias de administração (Chang & Bodmeier, 1998; Norling et al., 1992; Engström et al., 1992; Kumar et al., 2004; Shah & Paradkar, 2005; Bruschi et al., 2008; Shah & Paradkar, 2007).

A captação de água pelos sistemas precursores de fases líquido-cristalinas que ocorre durante o intumescimento é fator determinante para a transição de fases e formação da fase cúbica *in situ*. Os resultados obtidos no presente estudo demonstram que houve uma rápida captação de água durante o intumescimento com formação de fase cúbica e que a presença do fármaco não influenciou este processo.

A cinética de intumescimento de sistemas de liberação de fármacos tem sido avaliada nos estudos

de desenvolvimento de novos sistemas. Schott (1992) descreve os processos de intumescimento de acordo com modelos de primeira e segunda ordem e, segundo o autor, muitas matrizes poliméricas usadas como sistemas de liberação de fármacos apresentam intumescimento de acordo com cinética de primeira ordem, no qual a velocidade de intumescimento é controlada por difusão. Sistemas líquido-cristalinos de monoleína e água, por sua vez, tiveram seu intumescimento caracterizado por vários autores e apresentaram cinética de acordo com modelo de segunda ordem (Lee et al., 2003; Lara et al., 2005). Esta cinética também foi obtida por sistemas líquido-cristalinos constituídos por fitantriol, que é outro lipídeo polar capaz de formar cristais líquidos (Rizwan et al., 2009).

Como a presença de fármacos ou aditivos pode modificar o processo de intumescimento, os sistemas estudados neste trabalho tiveram sua cinética de intumescimento caracterizada de acordo com os modelos de primeira e segunda ordem e em todos os casos foi obtida cinética de segunda ordem, característica de sistemas de monoleína e água. Portanto, não foram observadas alterações devido à presença do fármaco. De acordo com Schott (1992), em um sistema que sofre intumescimento segundo cinética de segunda ordem, o processo é controlado pela relaxação que ocorre no sistema durante a captação de água. Neste caso, a velocidade de intumescimento diminui de maneira diretamente proporcional à capacidade de intumescimento e também é diretamente proporcional à área interna dos sítios que ainda não interagiram com água num determinado tempo  $t$ .

O comportamento de um sistema de liberação de fármacos não depende apenas de sua composição e estrutura, mas também das condições fisiológicas do seu sítio de administração. As diferentes vias de administração de fármacos podem expor o sistema a condições variáveis como diferentes valores de pH, teor de íons e osmolalidade. Além disso, vários trabalhos demonstram que o intumescimento de sistemas de liberação de fármacos é influenciado por características diferentes do meio de imersão usado no estudo de intumescimento, tais como pH, força iônica e temperatura (Bertram & Bodmeier, 2006; Chang & Bodmeier, 1997).

Em vista disto, foram realizados estudos de intumescimento dos sistemas estudados neste trabalho em diferentes meios de imersão. Os sistemas apresentaram intumescimento e transição de fase para fase cúbica em todos os meios de imersão estudados. Foi observado um maior intumescimento do sistema contendo PHMB em meio ácido (Figura 4). Bertram & Bodmeier (2006) estudaram o intumescimento de matrizes poliméricas de liberação de fármacos variando-se o pH do meio de imersão e observaram que o processo foi influenciado pela variação de pH do meio de imersão apenas para matrizes constituídas por polímeros ionizáveis. Esta diferença foi atribuída à neutralização de grupos ionizáveis negativos, o que reduz a pressão osmótica na matriz, diminuindo o intumescimento.

No entanto, a monoleína não é carregada, portanto, seu intumescimento não deve sofrer interferência do pH do meio de imersão. Assim, o perfil de intumescimento maior em meio ácido apresentado na Figura 4 deve ser devido à presença do fármaco e não ao comportamento do

sistema. Com o intuito de avaliar a importância da presença do fármaco no intumescimento em diferentes meios de imersão, foi preparado um sistema de monoleína/água sem a presença de PHMB, e nesse caso observou-se que o intumescimento desse sistema em meio ácido foi semelhante ao intumescimento em meio alcalino (Figura 4). Portanto, podemos concluir que o maior intumescimento encontrado em meio ácido na presença de PHMB apresentado na Figura 4 deve-se à presença do fármaco.

A influência de fármacos ou aditivos no intumescimento de sistemas líquido-cristalinos pode ser decorrente da estrutura físico-química da molécula do fármaco/aditivo ou de alterações que a mesma pode provocar na estrutura líquido-cristalina dos sistemas. Chang & Bodmeier (1997) estudaram o intumescimento de um sistema constituído de monoleína/água em meios com diferentes valores de pH, obtendo intumescimentos semelhantes quando não havia a incorporação de nenhum fármaco ou aditivo ao sistema, enquanto que a adição de ácido oleico modificou a fase líquido-cristalina do sistema e influenciou o intumescimento em meio ácido.

No entanto, no presente estudo, os resultados obtidos por microscopia de luz polarizada mostraram que a presença de PHMB não modificou a estrutura líquido-cristalina dos sistemas. Assim, a influência da adição de PHMB no intumescimento dos sistemas em meio ácido pode ser atribuída à estrutura de sua molécula que, devido à presença de grupos guanidina, encontra-se protonada em pH 1,5 (Paula et al., 2011). É possível que a presença de carga positiva na molécula em meio ácido aumente a pressão osmótica no sistema aumentando, consequentemente, a captação de água.

Os efeitos da força iônica do meio de imersão no intumescimento de matrizes de liberação de fármacos têm sido estudados e a influência deste parâmetro também se mostra mais pronunciada quando o sistema é constituído de polímero ionizável, nos quais mudanças na composição do meio de imersão (pH, força iônica, adição de co-solventes) podem perturbar o balanço osmótico e causar alterações significativas no grau de equilíbrio do intumescimento dos sistemas (Firestone & Siegel, 1994; Bertram & Bodmeier, 2006). Os perfis obtidos neste trabalho em meios com força iônica diferentes foram semelhantes e a presença do PHMB não influenciou o comportamento dos sistemas em meios com diferentes valores de força iônica. Chang & Bodmeier (1997) estudaram o efeito da força iônica do meio de imersão no intumescimento de sistemas de monoleína e água e encontraram resultados semelhantes.

A temperatura é outro parâmetro que pode afetar o intumescimento de sistemas líquido-cristalinos. Sistemas de monoleína e água são cristais líquidos liotrópicos, cuja formação é dependente do teor de água do sistema e da temperatura. Portanto, uma variação na temperatura pode levar a transições de fase e até mesmo influenciar na maneira como esses sistemas irão captar água. Os resultados obtidos neste estudo mostraram que o intumescimento dos sistemas diminuiu com o aumento da temperatura. Resultados semelhantes foram encontrados por Chang & Bodmeier (1997) e Lee et al. (2003).

Desta maneira, sistemas líquido-cristalinos de monoleína e água foram obtidos e o processo de intumescimento foi caracterizado. Os sistemas apresentaram

potencial para serem propostos como sistemas de liberação para administração de PHMB, uma vez que a estrutura líquido-cristalina foi mantida e houve formação de fase cúbica após intumescimento. Devido às propriedades desta fase, é esperada uma liberação lenta do fármaco e estudos de liberação de PHMB serão realizados futuramente para a caracterização do perfil de liberação do sistema.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Pró Reitoria de Pesquisa da Universidade de São Paulo pelo suporte financeiro para a realização deste trabalho.

## ABSTRACT

*Characterization of swelling of lamellar phases of monoolein and water containing polyhexamethylene biguanide*

**Monoolein is a polar lipid that absorbs water and forms liquid crystalline systems that are used as drug delivery systems for different medications. The aim of the present study was to investigate lamellar phases formed by monoolein and water as potential vehicles for the administration of polyhexamethylene biguanide (PHMB). Lamellar phase systems formed by monoolein and water containing PHMB were characterized by polarizing microscopy. Swelling studies were performed gravimetrically under different conditions for the evaluation of the effects of pH, ionic strength and temperature. Analyses of swelling profiles, swelling kinetics and maximum swelling capacity were performed. The lamellar phase systems of monoolein and water obtained in the presence of PHMB absorbed water very quickly following second-order swelling kinetics and formed a cubic phase. The swelling of the systems was not influenced by the presence of the drug in the immersion media studied, except under acidic conditions, in which the drug exhibited increased water uptake. The swelling of systems containing PHMB was not affected by the ionic strength of the immersion media, but was reduced with an increase in temperature. Liquid crystalline systems of monoolein and water were obtained and swelling behavior was investigated. The systems exhibited the potential for use as a drug delivery system for PHMB administration. However, further drug-release studies should be performed.**

*Keywords:* Monoolein. Polyhexamethylene biguanide. Liquid crystals. Swelling studies

## REFERÊNCIAS

- Bertram U, Bodmeier R. Parameters affecting the drug release from in situ gelling nasal inserts. *Eur J Pharm Biopharm.* 2006;63(3):310-9.
- Boyd BJ, Whittaker DV, Khoo SM, Davey G. Lyotropic liquid crystalline phases formed from glycerate surfactants as sustained release drug delivery systems. *Int J Pharm.* 2006;309(1-2):218-26.
- Bruschi ML, Freitas O, Lara EHG, Panzeri H, Gremião MPD, Jones DS. Precursor system of liquid crystalline phases containing própolis microparticles for the treatment of periodontal disease: development and characterization. *Drug Dev Ind Pharm.* 2008;34(3):267-78. DOI: 10.1080/03639040701655911.
- Burrows R, Collett JH, Attwood D. The release of drugs from monoglyceride-water liquid crystalline phases. *Int J Pharm.* 1994;111(3):283-93.
- Chang CM, Bodmeier R. Swelling of and drug release from monoglyceride-based drug delivery systems. *J Pharm Sci.* 1997;86(6):747-52.
- Chang CM, Bodmeier R. Low viscosity monoglyceride-based drug delivery systems transforming into a highly viscous cubic phase. *Int J Pharm.* 1998;173(1-2):51-60.
- Clogston J, Rathman J, Tomasko D, Walker H, Caffrey M. Phase behaviour of a monoacylglycerol (Myverol 18-99K/water system). *Chem Phys Lipids.* 2000;107(2):191-220.
- Colombo P, Bettini R, Massimo G, Cattelani PL, Santi P, Peppas NA. Drug diffusion front movement is important in drug release control from swellable matrix tablets. *J Pharm Sci.* 1995;84(8):991-7.
- Dissemmond J, Gerber V, Kramer A, Riepe G, Strohal R, Vassel-Biergans A, Eberlein T. A practice-oriented recommendation for treatment of critically colonized and locally infected wounds using polyhexanide. *J Tissue Viability.* 2010;19(3):106-15. DOI: 10.1016/j.jtv.2010.06.002.
- Elzinga G, van Doorn J, Wiersema AM, Klicks RJ, Andriessen A, Alblas JG, Spits H, Post A, van Gent M. Clinical evaluation of a PHMB-impregnated biocellulose dressing on paediatric lacerations. *J Wound Care.* 2011;20(6):280-4.
- Engström S, Engström, L. Phase behaviour of the lidocaïne-monoolein-water system. *Int J Pharm.* 1992;79(2-3):113-22.
- Fabry W, Trampenau C, Bettag C, Handschin AE, Lettgen B, Huber FX, Hillmeier J, Kock HJ. Bacterial decontamination of surgical wounds treated with Lavasept. *Int J Hyg Environ Health.* 2006;209(6):567-73.
- Ferrari G, Matuska S, Rama P. Double-biguanide therapy for resistant Acanthamoeba keratitis. *Case Rep Ophthalmol* 2011;2:338-42. DOI: 10.1159/000334270.
- Firestone BA, Siegel RA. pH, salt, and buffer dependent swelling in ionizable copolymer gels: Test of the ideal Donnan equilibrium theory. *J Biomater Sci Polymer Edn.* 1994;5(5):433-50.
- Fong C, Le T, Drummond CJ. Lyotropic liquid crystal engineering-ordered nanostructured small molecule

- amphiphile self-assembly materials by design. *Chem Soc Rev*. 2012;41(3):1297-322. DOI: 10.1039/c1cs15148g.
- Ganen-Quintanar A, Quintanar-Guerreiro D, Buri P. Monoolein: a review of the pharmaceutical applications. *Drug Dev Ind Pharm*. 2000;26(8):809-20.
- Geraghty PB, Attwood D, Collett JH, Dandiker Y. The in vitro release of some antimuscarinic drugs from monoolein/water lyotropic liquid crystalline gels. *Pharm Res*. 1996;13(8):1265-71.
- Gerli S, Rossetti D, Di Renzo GC. A new approach for the treatment of bacterial vaginosis: use of polyhexamethylene biguanide. A prospective, randomized study. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2003;7(5):127-30.
- Guo C, Wang J, Cao F, Lee RJ, Zhai G. Lyotropic liquid crystals systems in drug delivery. *Drug Discov Today*. 2010;15(23/24):1032-40.
- Hübner NO, Kramer A. Review on the efficacy, safety and clinical applications of polihexanide, a modern wound antiseptic. *Skin Pharmacol Physiol*. 2010;23(suppl):17-27.
- Krebs FC, Miller SR, Fergusson ML, Labib M, Rando RF, Wigdahl B. Polybiguanides, particularly polyethylene hexamethylene biguanide, have activity against human immunodeficiency virus type 1. *Biomed Pharmacother*. 2005;59(8):438-45.
- Kumar MK, Shah MH, Ketkar A, Mahadik KR, Paradkar A. Effect of drug solubility and different excipients on floating behavior and release from glyceryl monooleate matrices. *Int J Pharm*. 2004;272(1-2):151-60.
- Lara MG, Bentley MVLB, Collett JH. In vitro drug release mechanism and drug loading studies of cubic phase gels. *Int J Pharm*. 2005;293(1-2):241-50.
- Larkin DF, Kilvington S, Dart JK. Treatment of Acanthamoeba keratitis with polyhexamethylene biguanide. *Ophthalmology*. 1992;99(2):185-91.
- Larsson K. Cubic lipid-water phases: structures and biomembrane aspects. *J Phys Chem*. 1989;93(21):7304-14.
- Lee J, Choi SU, Yoon MK, Choi YW. Kinetic characterization of swelling of liquid crystalline phases of glyceryl monooleate. *Arch Pharm Res*. 2003;26(10):880-5.
- Lee GA, Gray TB, Dart JK, Pavesio CE, Ficker LA, Larkin DF, Matheson MM. Acanthamoeba Sclerokeratitis. Treatment with systemic immunosuppression. *Ophthalmology*. 2002;109(6):1178-82.
- Lee J, Young SA, Kellaway IW. Water quantitatively induces the mucoadhesion of liquid crystalline phases of glyceryl monooleate. *J Pharm Pharmacol*. 2001;53(5):629-36.
- Lopes LB, Lopes JLC, Oliveira DCR, Thomazini JA, Garcia MTJ, Fantini MCA, Collett JH, Bentley MVLB. Liquid crystalline phases of monoolein and water for topical delivery of cyclosporine A: characterization and study of in vitro and in vivo delivery. *Eur J Pharm Biopharm*. 2006;63(2):146-55.
- Nielsen LS, Schubert L, Hansen J. Bioadhesive drug delivery systems. I. Characterization of mucoadhesive properties of systems based on glyceryl mono-oleate and glyceryl monolinoleate. *Eur J Pharm Sci*. 1998;6(3):231-9.
- Norling T, Lading P, Engström S, Larsson K, Krog N, Nissen SS. Formulation of a drug delivery system based on a mixture of monoglycerides and triglycerides for use in the treatment of periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 1992;19(9 Pt 2):687-92.
- Paula GF, Netto GI, Mattoso LHC. Physical and chemical characterization of poly(hexamethylene biguanide) hydrochloride. *Polymers*. 2011;3:928-941. DOI:10.3390/polym3020928.
- Phan S, Fong WK, Kirby N, Hanley T, Boyd BJ. Evaluating the link between self-assembled mesophase structure and drug release. *Int J Pharm*. 2011;421(1):176-82. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2011.09.022.
- Pitten FA, Kramer A. Antimicrobial efficacy of antiseptic mouthrinse solutions. *Eur J Clin Pharmacol*. 1999;55(2):95-100.
- Qiu H, Caffrey M. The phase diagram of the monoolein/water system: metastability and equilibrium aspects. *Biomaterials*. 2000;21(3):223-34.
- Rebong RA, Santaella RM, Goldhagen BE, Majka CP, Perfect JR, Steinbach WJ, Asfari NA. Polyhexamethylene biguanide and calcineurin inhibitors as novel antifungal treatments for *Aspergillus* Keratitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52(10):7309-15. DOI: 10.1167/iovs.11-7739.
- Rizwan SB, Hanley T, Boyd BJ, Rades T, Hook S. Liquid crystalline systems of phytantriol and glyceryl monooleate containing a hydrophilic protein: characterization, swelling and release kinetics. *J Pharm Sci*. 2009;98(11):4191-204.
- Rosevear FB. The microscopy of the liquid crystalline neat and middle phases of soaps and synthetic detergents. *J Am Oil Chem Soc*. 1954;31(12):628-39.
- Rosin M, Welk A, Bernhardt O, Ruhnau M, Pitten FA, Kocher T, Kramer A. Effect of a polyhexamethylene biguanide mouthrinse on bacterial counts and plaque. *J Clin Periodontol*. 2001;28(12):1121-6.
- Rosin M, Welk A, Kocher T, Majic-Todt A. The effect of a polyhexamethylene biguanide mouthrinse compared to an essential oil rinse and a chlorhexidine rinse on bacterial counts and 4 day plaque regrowth. *J Clin Periodontol*. 2002;29(5):392-9.
- Shah MH, Paradkar A. Cubic liquid crystalline glyceryl monooleate matrices for oral delivery of enzymes. *Int J Pharm*. 2005;294(1-2):161-71.
- Shah MH, Paradkar A. Effect of HLB of additives on the properties and drug release from the glyceryl monooleate matrices. *Int J Pharm Biopharm*. 2007;67(1):166-74.
- Shah JC, Sadhale Y, Chilukuri DM. Cubic phase gels as drug delivery systems. *Adv Drug Deliv*. 2001;47(2-3):229-50.



Seal D. Treatment of Acanthamoeba keratitis. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2003;1(2):205-08.

Schott H. Kinetics of swelling of polymers and their gels. *J Pharm Sci.* 1992; 81(5):467-70.

Sibbald RG, Coutts P, Woo KY. Reduction of bacterial burden and pain in chronic wounds using a new polyhexamethylene biguanide antimicrobial foam dressing-clinical trial results. *Adv Skin Wound Care.* 2011;24(2):78-84.

Seddon JM. Structure of the inverted hexagonal ( $H_{II}$ ) phase, and non-lamellar phase transitions of lipids. *Biochim Biophys Acta.* 1990;1031(1):1-69.

Turchiello RF, Vena FC, Maillard P, Souza CS, Bentley MV, Tedesco AC. Cubic phase gel as a drug delivery system for topical application of 5-ALA, its ester derivatives and m-THPC in photodynamic therapy (PDT). *J Photochem Photobiol B.* 2003;70(1):1-6.

Tyle P. Liquid crystal and their application in drug delivery. In: \_\_\_\_\_. *Controlled release of drug: polymers and aggregate systems.* New York: Morton Rosoff UHC Publishers; 1989. P. 125-62.

Welk A, Splieth CH, Schmidt-Martins G, Schwahn CH, Kocher TH, Kramer A, Rosin M. The effect of a polyhexamethylene biguanide mouthrinse compared with a triclosan rinse and a chlorhexidine rinse on bacterial counts and 4 day plaque re-growth. *J Clin Periodontol.* 2005;32(5):499-505.

Willenegger HMD, Roth BMD, Oschsner PMD. The return of local antiseptics in surgery. *Injury.* 1995;26(Suppl.1):S-A28-S-A33.

Recebido em 14 de agosto de 2012

Aceito para publicação em 27 de novembro de 2012

