



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Ellison Neves de Lima

Desenvolvimento e caracterização de géis termossensíveis de levobupivacaína para
analgesia de longa duração

RECIFE
2018

DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Ellison Neves de Lima

Desenvolvimento e caracterização de géis termossensíveis de levobupivacaína para
analgesia de longa duração

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como parte do requisito para obtenção do título de doutor.

Área de concentração: Fármacos e Medicamentos

Orientador: Prof. Dr. Davi Pereira de Santana

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Leila Bastos Leal

RECIFE

2018

L732d	Lima, Ellison Neves de. Desenvolvimento e caracterização de hidrogel termossensível de levobupivacaína para analgesia de ação prolongada / Ellison Neves de Lima. – Recife: o autor, 2018. 83 f.; il.; 30 cm. Orientador: Davi Pereira de Santana. Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências da Saúde. Programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. Inclui referências e apêndices. 1. Anestésicos locais. 2. Poloxâmero. 3. Preparações de ação retardada. I. Santana, Davi Pereira de (orientador). II. Título.
615.3 CDD (23.ed.)	UFPE (CCS 2018 - 234)

Nome: Ellison Neves de Lima

Título: Desenvolvimento e caracterização de géis termosensíveis de levobupivacaína para analgesia de longa duração

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco para obtenção do título de Doutor.

Aprovado em: 28 / 02 / 2018

Banca Examinadora

Prof. Dr. Davi Pereira de Santana (Departamento de Farmácia- PPGCF- UFPE)

Prof. Dr. José Lamartine Soares Sobrinho (Departamento de Farmácia- PPGCF- UFPE)

Prof. Dr. Carlos Eduardo Miranda de Sousa (Centro Universitário Tabosa de Almeida- ASCES)

Dra. Giovana Damasceno Sousa (Departamento de Farmácia - NUDFAC - UFPE)

Prof.^a Dra. Ana Amélia Moreira Lira (Centro de Ciências Biológicas e da Saúde - UFS)

À minha família.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela proteção, força e paz interior.

Aos professores Davi e Leila pela continuação nessa jornada de orientação, confiança e aprendizado.

À minha família pelo apoio, incentivo, paciência e compreensão em todos os momentos.

À todos que foram e são do NUDFAC / Farmácia Escola, que direta ou indiretamente ajudaram e apoiaram para a elaboração desse projeto.

Ao CETENE, por colaborar no auxílio na realização das análises.

Aos professores e funcionários da Pós-graduação.

À CAPES pela concessão da bolsa.

“42”

(Douglas Adams em “O Guia do Mochileiro das Galáxias”, 1979)

RESUMO

A gestão adequada da analgesia, por métodos farmacológicos ou não, é uma grande desafio. Os anestésicos locais são usados para alívio da dor, principalmente por via parenteral, intramuscular, cateter e outras vias de administração. O uso da formação *in situ* os sistemas se tornam uma alternativa para o controle da dor. A presente pesquisa investiga desenvolvimento de termogéis contendo poloxâmero e levobupivacaína. Todas as formulações foram preparadas pelo método frio, as compatibilidades dos excipientes foram avaliadas por DSC, reologia e viscosidades, temperatura de transição, seringa, liberar cinética e permeação. A compatibilidade dos excipientes testados com o fármaco foi inicialmente observado, todas as formulações tiveram aumento de viscosidade a 37 ° C. Diferentes As taxas de liberação foram observadas tanto no estudo de liberação quanto na permeação. O desenvolvimento os sistemas mantiveram a liberação *in vitro* do medicamento por um longo período, provavelmente diminuindo efeitos colaterais *in vivo* e evitando a necessidade de analgesia suplementar por outras rotas.

PALAVRAS-CHAVE: Anestésicos locais. Poloxâmero. Levobupivacaína.

ABSTRACT

The adequate management of analgesia, by pharmacological methods or not, is a great challenge. Local anesthetics are used for pain relief, mainly by parenteral, intramuscular, catheter and other routes of administration. The use of *in situ* forming systems becomes an alternative for the control of pain. The present research investigates development of thermogels containing poloxamer and levobupivacaine. All formulations were prepared by the cold method, the compatibilities of the excipients were evaluated by DSC, rheology and viscosities, transition temperature, syringeability, release kinetics and permeation. The compatibility of the tested excipients with the drug was initially observed, all formulations had viscosity increase at 37 ° C. Different delivery rates were observed in both the release and permeation study. The developed systems maintained the *in vitro* release of the drug for a long period, likely decreasing side effects *in vivo* and avoiding the need for supplementary analgesia by other routes.

KEYWORDS: Anesthetics, Local. Poloxamer. Levobupivacaine.

LISTAS DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Exemplos de amidas incluem a lidocaína, a bupivacaína e prilocaína.....	22
Figura 2 – Cloridrato de bupivacaína.....	23
Figura 3 – mecanismo de geleificação do poloxâmero em presença de água.....	26
Figura 4 - Estrutura da glicoproteína da mucina e suas interações mucoadesivas.....	28
Figura 5 – Perfis de sistemas de liberação controlada versus convencional.	30
Figura 6 – Reômetro MCR 500 (Anton Paar).....	34
Figura 7 – Analisador de textura CT3 Texture Analyzer (Brookfield®).....	36
Figura 8 – Desenho do equipamento utilizado na determinação do trabalho de seringueamento.....	36
Figura 9 – Sistema de difusão Vision® Microette.....	39
Figura 10 – Termograma de DSC do fármaco, excipientes e suas misturas.	43
Figura 11 – Gráfico de viscosidade versus temperatura das formulações....	45
Figura 12 – Gráfico de liberação da LBPV versus tempo das formulações F1 – F6.....	51
Figura 13 – Gráfico de liberação da LBPV versus tempo das formulações F7 – F10.....	51
Figura 14 – Gráfico de permeação da LBPV versus tempo das formulações F1 – F6.....	53
Figura 15 – Gráfico de permeação da LBPV versus tempo das formulações F7 – F10.....	54

LISTAS DE TABELAS

Tabela 1 – fármaco recomendado de acordo com o grau de intensidade da dor.....	20
Tabela 2 – Composição quantitativa (% p/p) das formulações.....	33
Tabela 3 – Valores transição de estado e viscosidade das formulações....	44
Tabela 4 – Valores de pH das formulações.....	46
Tabela 5 – Propriedades mecânicas das formulações.....	48
Tabela 6 – Parâmetros de permeação.....	53
Tabela 7 - Coeficiente de correlação das formulações.....	55

LISTAS DE ABREVIações

ANOVA Análise de variância

APT Análise do perfil de textural

CLAE Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

DP Desvio Padrão

DSC Calorimetria Exploratória Diferencial

HEC Hidroxietilcelulose

IFA Insumo Farmacêutico Ativo

LBPV Levobupivacaína

P407 Poloxâmero 407

pH Potencial hidrogeniônico

T_{sol-gel} Temperatura de transição do estado sol-gel

UV Ultravioleta

LISTAS DE SÍMBOLOS

% percentual

® marca registrada

g grama

G' módulo elástico

G'' módulo viscoso

h hora

J_{ss} fluxo de estado constante

Kp coeficiente de permeação

mL mililitro

mm milímetro

N Newton

°C grau Celsius

Pa Pascal

R coeficiente linearidade

s segundos

λ comprimento de onda

μg micrograma

μL microlitro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 OBJETIVOS.....	16
2.1 OBJETIVO GERAL.....	16
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	17
3.1 Dor.....	17
3.2 Métodos para o Controle da Dor.....	19
3.3 Tratamentos Farmacológico da Dor.....	20
3.4 Levobupivacaína.....	23
3.5 Termogel.....	24
3.6 Bioadesão.....	27
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	32
4.1 Materiais.....	32
4.2 Métodos.....	32
4.2.1 <i>Desenvolvimento do sistema termossensível.....</i>	<i>32</i>
4.2.2 <i>Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....</i>	<i>33</i>
4.2.3 <i>Determinação da temperatura de gelificação.....</i>	<i>34</i>
4.2.4 <i>Determinação do pH.....</i>	<i>35</i>
4.2.5 <i>Seringueabilidade.....</i>	<i>35</i>
4.2.6 <i>Análise do perfil de textura.....</i>	<i>37</i>
4.2.7 <i>Estudo do perfil de liberação in vitro das preparações.....</i>	<i>37</i>
4.2.8 <i>Estudo de permeação in vitro.....</i>	<i>38</i>
4.2.9 <i>Condições cromatográficas.....</i>	<i>40</i>
4.2.10 <i>Análise de dados.....</i>	<i>40</i>
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
5.1 Desenvolvimento do sistema termossensível.....	42
5.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	42
5.3 Determinação da temperatura de gelificação.....	43
5.4 Determinação do pH.....	46
5.5 Seringueabilidade.....	47
5.6 Análise do perfil de textura.....	49
5.7 Estudo do perfil de liberação in vitro das preparações.....	50
5.8 Estudo de permeação in vitro.....	52
5.9 Modelagem matemática.....	54
6 CONCLUSÃO.....	56
REFERÊNCIAS.....	57
APÊNDICE A – Submissão do manuscrito.....	72

1 INTRODUÇÃO

Sendo um dos fenômenos mais observados no pós-cirúrgico a dor traz além de ansiedade, riscos ao paciente (POLOMANO et al., 2008) . Dependendo do tratamento e modo de recuperação, a dor pode converter em algo permanente (ARGOFF, 2011; ASHBURN, 1999) . O correto manejo irá ocasionar em bem estar do paciente, melhor recuperação e redução de recursos (APFELBAUM et al., 2003; ASHBURN, 1999) .

Para tal tratamento, diversos sistemas estão disponíveis assim como fármacos, entre eles os anestésicos locais. Estes são aplicados, de forma segura, por injeções, com a finalidade anestésica e analgésica (BUTZ et al., 2015; ILFELD et al., 2015; SURDAM et al., 2015) .

O cloridrato de bupivacaína é o fármaco mais utilizado para a anestesia peridural; é comercializado como sua mistura racêmica. A cardiotoxicidade tem sido apontada como principal efeito adverso (FOSTER; MARKHAM, 2000) . Sendo o responsável por esse efeito a forma enantiomérica R (BERGAMASCHI, F.; BALLE, V.R.; GOMES, M.E.W.; MACHADO, S.B.; MENDES, 2005; MOORE; HERSH, 2010) . Ao ser utilizada misturas não equimolar de seus isômeros, foi observado que os efeitos colaterais em diferentes respostas, a mistura na proporção 75S / 25R, constatou-se que os efeitos eram os mesmos do isômero S isolado (SIMONETTI, M.P.B, VALINETI, E.A., FERREIRA, 1997) .

Os sistemas de formação *in situ* que podem ser aplicado para aplicações farmacêuticas, seja por administração oral, oftálmicas, tópicas e injetáveis (BONACUCINA et al., 2011; JONES et al., 2000) . O poloxâmero 407 (P407), é usado, por exemplo, como agente gelificante para sistemas de formação *in situ* em concentrações ente 10%-25%, exibindo comportamento termossensível (DUMORTIER et al., 2006; RICCI et al., 2002) . O estado de transição sol-gel (Tsol-gel) dependerá da concentração utilizada, quanto maior a concentração, menor a temperatura da transição de estado (VINTILOIU; LEROUX, 2008) .

A adição de insumos farmacêuticos ou não irá influenciar nas propriedades do gel, seja a temperatura de transição ou viscosidade ou velecidade na liberação do fármaco, por exemplo (ALMEIDA et al., 2014; PARK et al., 2012) .

Diante do exposto a diminuição ou alívio da dor e reduzir o uso de outras drogas, justifica a aplicação de gel injetável, para prolongar a liberação da bupivacaína 75S / 25R no local de origem.

Considerando que a dor pós operatória, principalmente em grandes intervenções cirúrgicas, pode desencadear além de complicações em relação a comorbidades existentes, atendimentos de emergência, alterações psicológicas ao paciente. O desenvolvimento de uma forma farmacêutica que irá atuar nesse estágio pós operatório, traz como mais uma alternativa, aos tratamentos já existentes, para minimização da dor, e inovação tecnológica ao fármaco.

Sob essa perspectiva e a possibilidade de ampliação de seu portfólio o laboratório Cristália firmou parceria com o NUDFAC para o desenvolvimento dessa forma farmacêutica.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo da presente pesquisa é desenvolver forma farmacêutica gel termossensível, contendo levobupivacaína para o controle da dor em pacientes pós-cirurgiados.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Desenvolver as formulações;
- ✓ Avaliar as características organolépticas;
- ✓ Caracterizar as formulações;
- ✓ Identificar do ponto de geleificação pelo método de inversão de tubo;
- ✓ Estabelecer do ponto de geleificação por reometria;
- ✓ Avaliar a cinética de liberação e permeação das formulações;

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Dor

Dor é um fenômeno muito frequente no pós-operatório e pode resultar em sofrimento e exposição dos doentes a riscos desnecessários (PIMENTA et al., 2001) . A dor pós-operatória é classificada como dor aguda, sua ocorrência depende da influência de fatores psicológicos como ansiedade, depressão, medo, extensão do trauma durante a intervenção cirúrgica, tipo de incisão dentre outros fatores (BASSANEZI; OLIVEIRA FILHO, 2006; VILA; MUSSI, 2001) . Os mecanismos da dor pós-operatória são complexos e não totalmente compreendidos (SADATSUNE; CLIVATTI; SAKATA, 2011) . O controle algico é tão importante, que o Comitê de Organização de Acreditação dos Cuidados em Saúde incluiu o controle da dor como um dos oito parâmetros a serem avaliados na qualidade do atendimento hospitalar (VAZ, 2005) .

Dor pós-operatória aguda, particularmente quando mal controlada, pode tornar-se dor crônica. A *American Academy of Pain* relata que a dor afeta mais americanos do que diabetes, doenças cardíacas e câncer combinados (MEDICINE, [s.d.]) . Em um estudo realizado nos EUA, 76,5 milhões de pessoas relataram ter dor experiente no mês passado imediato de ser vistoriado, e 4,2 milhões relataram dor com duração superior a três meses. De acordo com outro estudo, mais de 50 milhões de americanos experimentam dor crônica. Estima-se que a cada ano, 40 milhões de americanos passar por cirurgia e sofrem de controle inadequado da dor pós-operatória (ARGOFF, 2011; POLOMANO et al., 2008) .

Prevenção e alívio eficaz da dor no período perioperatório, principalmente a dor aguda, relacionada ao pós-operatório, pode melhorar os resultados clínicos, evitar complicações clínicas, economizar recursos de saúde e melhorar a qualidade de vida (APFELBAUM et al., 2003; ASHBURN, 1999) .

Os pacientes podem encontrar muitos prestadores de saúde cuja a sobreposição de papéis na gestão de dor são confusas, na pior das hipóteses conduz a um sobre ou subtratamento da dor. Como alternativa, os pacientes podem experimentar uma falta de de gerência eficaz da dor em diferentes contextos de cuidados (COLEY et al., 2002; POLOMANO et al., 2008) . A comunicação e interferência apropriadas entre os provedores de dentro de uma organização e na comunidade em geral, devem apresentar uma organização com enormes oportunidades para melhorar a continuidade de terapias e medicamentos concebidos para satisfazer as necessidades diversas únicas de cada paciente com dor (LAUWERS; WHITEHURST, 2012) . Estas complexas relações dentro e fora do ambiente de cuidados de saúde pode causar confusão sobre quem é responsável por vários componentes de gestão da dor de um paciente. Tal ambiguidade tem um tremendo potencial de comprometer a qualidade do atendimento ao paciente e impactar o balanço financeiro de uma organização e pode contribuir para o seguinte: agravamento de comorbidades; atendimentos de emergência; readmissões não planejadas (VOSCOPOULOS; LEMA, 2010) .

O medo da dor pós-operatória não controlada está entre as principais preocupações de muitos pacientes que vão ser submetidos a cirurgia. Durante as últimas duas décadas, as novas tecnologias para ajudar no controle pós-operatório, dor ganharam uso generalizado, e os serviços formais de dor aguda têm evoluído em muitas instituições (STACEY; RUDY; NELLHAUS, 1997) . Resultados da dor não tratada em uma série de consequências adversas, os efeitos fisiológicos incluem sono de má qualidade, mobilidade reduzida, com consequente perda de força, comprometimento imunológico levando a um aumento da susceptibilidade à infecção e recorrência do câncer, e ao desenvolvimento de alterações no sistema nervoso que levam a síndromes de dor crônica (APFELBAUM et al., 2003) . Os efeitos psicológicos e sociais incluem depressão, ansiedade, falta de concentração, e as relações com as outras pessoas com deficiência, juntamente com cuidador angústia como os entes queridos dor testemunha (BRENNAN; CARR; COUSINS, 2007) .

3.2 Métodos para o Controle da Dor

Houve muitos avanços na gestão clínica da dor, nos últimos anos, especialmente em técnicas de gestão, tais como farmacologia e no reconhecimento emergente do tratamento da dor como uma especialidade clínica. Exemplos disso são as intervenções regionais de anestesia, como a colocação de cateteres periféricos para perfusão anestesia local, e as técnicas cognitivo-comportamentais sem uso de drogas, tais como medicina complementar (VILA; MUSSI, 2001) . O manejo da dor tornou-se cada vez mais sofisticados, com os avanços da farmacologia e da utilização de dispositivos complexos (incluindo analgésicos epidurais e cateteres periféricos) e regimes terapêuticos mono e multimodal com uso de analgésicos anti-inflamatórios não hormonais e morfínicos, intervenções cognitivo-comportamentais, como técnicas educativas, de relaxamento, distração e imaginação dirigida; uso de agentes físicos como massagens, aplicação de calor ou frio e eletroanalgesia através da Estimulação Elétrica Transcutânea (PIMENTA et al., 2001) .

O uso de analgesia perineural contínua está crescendo em popularidade, tanto para pacientes internados e ambulatoriais. Estas técnicas oferecem a capacidade para proporcionar analgesia focal eficaz e reduz a necessidade de analgésicos opioides sistêmicos e são considerados como tendo um menor risco de complicações hemorrágicas em pacientes (RATHMELL; LAIR; NAUMAN, 2005) . No entanto, o desempenho destas técnicas requer habilidade e uma infraestrutura formal para tratamento pós-operatório. É possível a ocorrência de complicações como infecção, sedação, migração do cateter para o espaço subaracnoideo, saída acidental e quebra (LAUWERS; WHITEHURST, 2012) .

A Analgesia Controlada pelo Paciente (ACP) é conceito fundamentado no princípio do retrocontrole. Ao sentir dor, o doente pode dispor de dose adicional de analgésico, de modo independente. Este conceito pode ser utilizado para administrações de analgésicos por via oral, subcutânea, endovenosa e intratecal (BASSANEZI; OLIVEIRA FILHO, 2006) . Dispositivos IV-PCA têm sido utilizados por mais de 25 anos e tornaram-se amplamente aceito como o meio preferido para a

entrega de analgésicos opioides para analgesia pós-operatória, bem como outras condições de dor aguda. Com base nas evidências disponíveis (LIMA et al., 2008; RATHMELL et al., 2006) , a diferença mais consistente está relacionada ao paciente satisfação e preferência por PCA v controlado por enfermeiros. Este resultado pode refletir satisfação com a capacidade de manter um grau de controle durante a hospitalização, especialmente sobre algo tão individual como o controle da dor.

3.3 Tratamentos Farmacológico da Dor

O uso de fármacos para o controle da dor é feito, principalmente, baseado na escala proposta pela OMS (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER., 2001), tabela 1.

Tabela 1 – fármaco recomendado de acordo com o grau de intensidade da dor.

Potência dos esquemas analgésicos	Intensidade da dor
0 - ausência de analgésicos	0 - sem dor
1 - analgésico anti-inflamatório não hormonal	1 - dor de intensidade de 1 a 3 - leve
2 - opiáceo fraco (codeína)	2 - dor de intensidade de 4 a 7 - moderada
3 - opiáceo forte (morfina)	3 - dor de intensidade de 8 a 10 - intensa

Fonte – Adaptado de BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **Cuidados Paliativos Oncológicos** -. Rio de Janeiro.

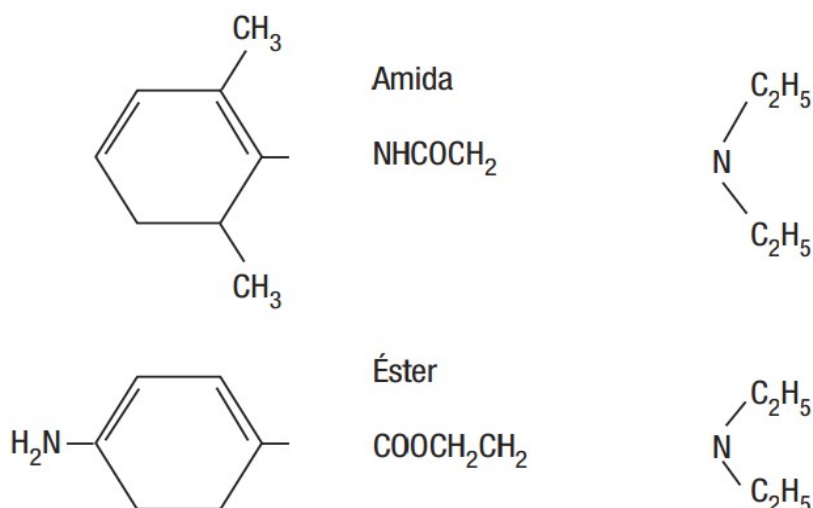
Os fármacos utilizados para o tratamento de dor leve, é comumente tratada com analgésicos não opioides, fármacos inibidores da COX, tais como dipirona, paracetamol e diclofenaco (PATEL; KOPF, 2010) .

Os opioides, utilizados para níveis maiores de dor, exercem seus efeitos através da ligação a receptores opioides que são proteínas complexas embutidas na membrana celular dos neurônios, produzem analgesia potente quando administrados sistemicamente. Porém independente da forma como seja administrado, oral ou sistêmica, seus efeitos são efeitos colaterais são bem conhecidos: sedação; depressão respiratória; rigidez muscular; náuseas; vômito; redução da mobilidade gastrointestinal; prurido (LAUWERS; WHITEHURST, 2012; PEDROSA; PIMENTA; CRUZ, 2007) .

Os anestésicos locais, quando aplicados em concentrações apropriadas deprimem reversivelmente a condução periférica do tecido nervoso. Por possuir segurança e eficácia invejável, os anestésicos locais são administrados em várias formas (MOORE; HERSH, 2010; YAGIELA, 1991) .

A inibição da condução nervosa se dá pelo bloqueio dos canais de sódio (Na^+) da membrana da célula nervosa (YAGIELA, 1991) . A ligação específica ocorre no meio intracelular, onde o anestésico local, na sua forma molecular, ultrapassa a membrana plasmática, sofre ionização e segue a inativação do canal iônico (EDGCOMBE; HOCKING, 2005) . Os anestésicos locais têm geralmente um grupo hidrofóbico aromático solúvel em lípido e um carregado, grupo amida hidrofílico (figura 1). A ligação entre estes dois grupos determina a classe do fármaco, e pode ser amida ou éster (COSTA; PAIVA; CAVALCANTI, 2005) .

Figura 1 - Exemplos de amidas incluem a lidocaína, a bupivacaína e prilocaína.



Fonte: autoria própria.

Todos os agentes anestésicos locais são bases fracas, seu pK_a define o pH no qual ambas as formas existem em quantidades iguais medida que o pH dos tecidos difere. O pK_a de um anestésico local determina a quantidade que existe numa forma ionizada a qualquer dado pH. A um pH fisiológico (7,4) todos os anestésicos locais são mais ionizado que não ionizada (como todos os valores de pK_a são maiores do que 7,4). No entanto, as proporções variam entre as drogas: lidocaína possui um pK_a de 7,9 e é de aproximadamente 25% não ionizada a pH 7,4. Bupivacaína tem um pK_a de 8,1 e, conseqüentemente, menos do fármaco é não ionizada a pH 7,4 (cerca de 15%) (COURTNEY, 1980; YAGIELA, 1991) .

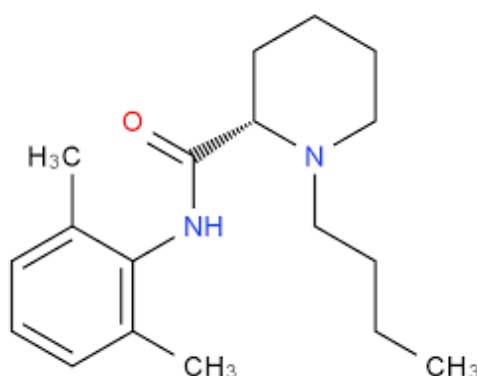
Características físico-químicas, tais como a estrutura de anel aromático e do comprimento da cadeia de hidrocarboneto de um anestésico local particular determinam a solubilidade lipídica do fármaco e conseqüentemente a sua potência. Isto faz sentido, uma vez que a droga mais solúvel em lípido penetra na membrana celular mais facilmente exerce o seu efeito. Quanto mais potente o fármaco, menor será a quantidade necessária para produzir um dado efeito. Assim bupivacaína - o que é altamente solúvel em lípidos - é aproximadamente quatro vezes mais potente do que a lidocaína (MOORE; HERSH, 2010) .

3.4 Levobupivacaína

O cloridrato de bupivacaína (figura 2) é a droga mais utilizada para a anestesia peridural, na estrutura química possui um carbono quiral, se trata da mistura racêmica de dois enantiômeros: a S(-) bupivacaína e a R(+)bupivacaína, que exibem estereo-seletividade . Porém seu uso, resultou em alguns casos, em cardiotoxicidade (arritmia e depressora dos batimentos), após administração (FOSTER; MARKHAM, 2000) .

Estudos tem demonstrado que após a separação enantiomérica, das duas formas enantioméricas R e S, tanto em animais quanto em seres humanos, a forma levogira apresentou ser mais potente e ter menos efeitos colaterais quando comparada com as formas dextrogira e a mistura racêmica (MCCLELLAN; SPENCER, 1998; SIMONETTI, M.P.B, VALINETI, E.A., FERREIRA, 1997) .

Figura 2 – Cloridrato de bupivacaína.



Fonte: SIMONETTI, M.P.B; BATISTA, R.A.; FERREIRA, F. M. C. Estereoisomeria A Interface Da Tecnologia Industrial De Medicamentos E Da Racionalização Terapêutica. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 48, n. 5, p. 390–399, 1998.

Em estudos anteriores, foi relatado que a mistura, em diferentes concentrações, das duas formas enantioméricas, contribuiu para o aumento de tempo de residência do fármaco no local de ação, sem interferir nos efeitos colaterais, como a cardiotoxicidade (BERGAMASCHI, F.; BALLE, V.R.; GOMES,

M.E.W.; MACHADO, S.B.; MENDES, 2005; SIMONETTI, M.P.B; BATISTA, R.A.; FERREIRA, 1998) .

3.5 Termogel

Sistemas de formação *in situ* são baseado em diferentes abordagens incluindo, troca de solventes, radiação UV, pH e temperatura (DUMORTIER et al., 2006) . Os sistemas de formação *in situ* são formulações de fluido que podem ser injetadas no corpo de forma minimamente invasiva antes de se transformar em um semissólido dentro do tecido desejado, órgão ou cavidade corporal (ALMEIDA et al., 2014) . Eles são aplicáveis em campos como liberação de medicamentos, reparo de tecidos e encapsulamento celular. Para a liberação de medicamentos, esses sistemas oferecem várias vantagens em relação aos sistemas ou dispositivos implantáveis e microesferas, incluindo facilidade de administração, potencial para liberação específica no local, potencial para melhorar a estabilidade do fármaco e fabricação simplificada (LIU et al., 2016; ZHANG et al., 2011) .

Em muitos casos, a liberação direcionada para o local pode proporcionar vantagens em relação à distribuição sistêmica e potencialmente produzir efeitos ótimos específicos de drogas (BHARDWAJ; BLANCHARD, 1996; PAAVOLA; BERNARDS; ROSENBERG, 2016) . As altas concentrações locais de fármacos podem ser alcançadas e mantidas no tecido alvo sem níveis sistêmicos significativos, evitando assim efeitos colaterais sistêmicos ou toxicidade (ZHANG et al., 2002) . Além disso, o metabolismo da droga e as barreiras de excreção e permeabilidade podem ser contornadas pela liberação local (JONES et al., 2000) . A liberação de fármaco diretamente para o tecido alvo através de um sistema de formação *in situ* pode melhorar a eficácia do fármaco em uma fração das doses que são necessárias para uma administração sistêmica (PARMAR; LUMBHANI, 2012; SIVARAMAN; BANGA, 2016) .

Mais frequentemente, os sistemas de formação *in situ* compreendem um polímero ou veículo natural ou sintético (ex. quitosana, derivados da celulose, poloxâmero 407 e suas modificações sintéticas) e um solvente. A formação *in situ* é

conseguida através de estratégias tais como remoção de solvente, reticulação e polímeros sensíveis à temperatura (BOHREY; CHOURASIYA; PANDEY, 2016; HUANG et al., 2016b; VHORA et al., 2014) .

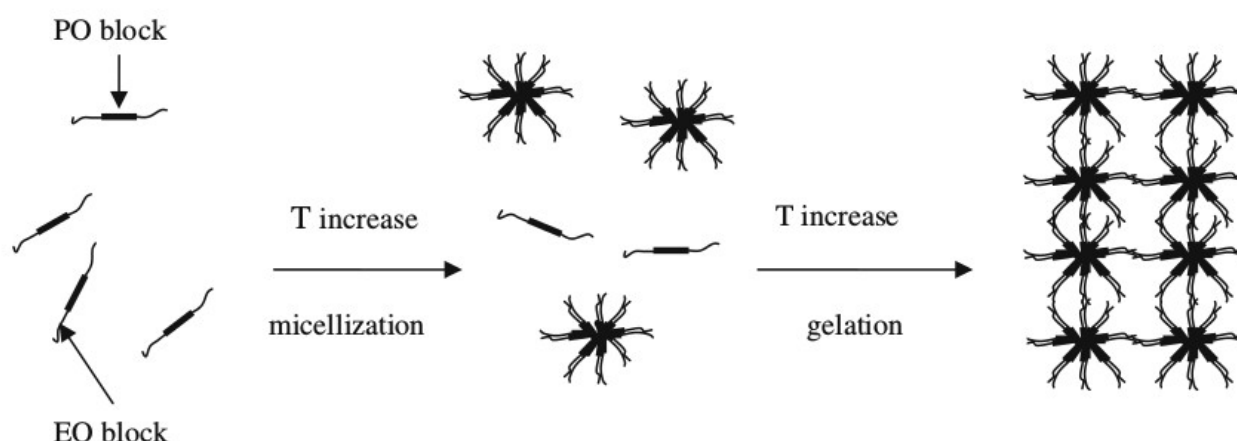
Os termogéis formados através de reticulação física injetáveis ou *in situ* têm atraído interesse devido à sua capacidade de evitar algumas das limitações mencionadas anteriormente. Sua natureza responsiva ao cisalhamento permite a injeção e evitando a cirurgia, bem como uma geleificação rápida, uma vez injetada no ambiente fisiológico, estas ligações cruzadas físicas podem ser formadas em uma natureza responsiva ao estímulo usando um gatilho físico (por exemplo, pH e / ou temperatura) ou pela interação física dos componentes do gel de pré-polímero através de uma série de interações, como eletrostática e hidrofóbica (MAITRA; SHUKLA, 2014; PATENAUDE; SMEETS; HOARE, 2014) . No entanto, esses hidrogéis fisicamente reticulados geralmente oferecem controle mínimo sobre o mecanismo de degradação, com algumas formulações, como o poloxâmero 407 (HOARE; KOHANE, 2008) , sendo altamente sensíveis à diluição *in vivo* e, portanto, rapidamente eliminados e outros ligados tão fortemente ao ponto o material não é funcionalmente degradável, levando ao acúmulo e inflamação potencial tecidual (FITZPATRICK et al., 2010) .

Copolímeros em bloco já são utilizados, em diversas aplicações, pelo setor farmacêutico há muito tempo (BONACUCINA et al., 2011) . Tais polímeros consiste do arranjo estrutural de um homopolímero com ambas as terminações ligadas a outro homopolímero. O Poloxâmero 407 (P407), que consta, do arranjo do óxido de etileno, como homopolímero de extremidade com o óxido de propileno, como homopolímero central, é usado na indústria farmacêutica como agente gelificante, tensoativo e outros, para diferentes tipos de preparações, soluções orais, oftálmicas, produtos tópicos, por exemplo (AL-KASSAS et al., 2016; PARK et al., 2012) .

O P407, quando em alta concentração (10% - 25%), apresenta o comportamento termossensível (RICCI et al., 2005) , sendo bastante estudado em sistemas de formação *in situ* (VINTILOIU; LEROUX, 2008) . Como a temperatura

aumenta, as moléculas de copolímero de poloxâmero 407 agregam-se em micelas, esta micelização é seguida da geleificação (figura 3) (DUMORTIER et al., 2006) .

Figura 3 – mecanismo de geleificação do poloxâmero em presença de água.



Fonte: DUMORTIER, Gilles et al. A review of poloxamer 407 pharmaceutical and pharmacological characteristics. **Pharmaceutical research**, v. 23, n. 12, p. 2709-2728, 2006.

Seu uso já é aprovado seu uso por diversos órgãos regulatórios de saúde em países da Ásia, Europa e América do Norte, comprovando sua biocompatibilidade e biodegradabilidade, estas propriedades fazem do P407 material bastante estudado para sua utilização como um veículo para liberação controlada de fármacos, podendo ser injetados na forma líquida e sofrerem gelificação *in situ*, sem as desvantagens apresentadas pelo polimetilmetacrilato, por exemplo (ALSAAB et al., 2016; ASIJA; KUMAWAT; SHARMA, 2013; KABANOV; BATRAKOVA; VALERY, 2002).

A temperatura de transição do estado sol-gel ($T_{\text{sol-gel}}$), varia de acordo com a concentração do polímero na solução, quanto maior a concentração utilizada menor a temperatura de transição de estado físico (VINTILOIU; LEROUX, 2008) . Outros excipientes e insumos farmacêuticos ativos (IFA) podem afetar, também, essa temperatura tais como: sais; agentes geleificantes; solventes; diclofenaco; vitamina B12 (DUMORTIER et al., 2006) . A alteração na $T_{\text{sol-gel}}$, irá afetar propriedades

reológicas do gel, quando formado, e consequente alterações na adesividade e força do gel (VINTILOIU; LEROUX, 2008) .

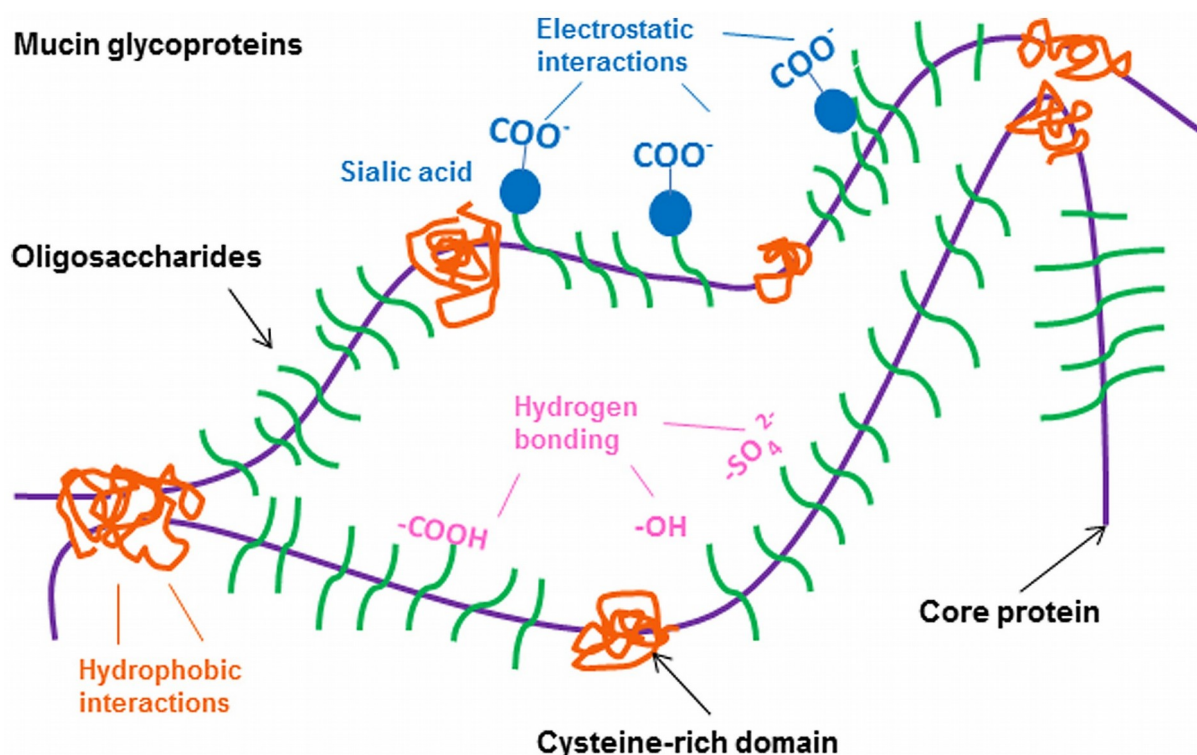
A produção dos géis termossensíveis não difere muito dos hidrogéis, sendo seu método simples e reprodutível, sua produção está descrita há bastante tempo na literatura científica (GILBERT et al., 1987; SCHMOLKA, 1972; SHAKER et al., 2016) . Assim como o desenvolvimento, os métodos de avaliações e caracterização desses sistemas são disseminados e diversificados, os principais parâmetros avaliados são: clareza; análise de textura; temperatura de transição de fase; viscosidade e reologia; análise térmica; teste de liberação *in vitro*; avaliações *in vivo* (BOFFITO et al., 2016; FERREIRA et al., 2015; LUSIANA; MÜLLER-GOYMANN, 2011; M.A. FATHALLA et al., 2017) .

3.6 Bioadesão

Bioadesão, também chamada adesão tecidual, é um processo pelo qual qualquer substrato (biológico ou não) adere a um substrato biológico por diferentes mecanismos (SMART, 2005) . Os materiais bioadesivos, em particular os polímeros bioadesivos, são de interesse atual tanto na pesquisa como nos campos clínicos para sua aplicação potencial para hemostasia, selagem não invasiva de tecidos e administração local de transdérmica e tópica de drogas (REECE; MAXEY; KRON, 2001) .

As membranas mucosas circundam as paredes de várias partes do corpo humano e são constituídas por tecido conjuntivo orientado abaixo de uma camada de células epiteliais. Mucina é uma glicoproteína que está presente como uma camada adesiva de gel na superfície da mucosa ou em uma forma solúvel adjacente a essa camada (ASIJA; KUMAWAT; SHARMA, 2013) . A figura 4 mostra a estrutura típica das glicoproteínas do muco, juntamente com os vários tipos de interações, como estruturas glicoproteicas que podem apoiar e promover interações adesivas, a complexa estrutura tridimensional da rede de fibra com proteínas adesivas anexas fornece um substrato para adesão e migração celular (NIKODE; DIXIT; UPADHYA, 2016) .

Figura 4 - Estrutura da glicoproteína da mucina e suas interações mucoadesivas.



Fonte: YANG, Xiaoyun et al. Immobilization of pseudorabies virus in porcine tracheal respiratory mucus revealed by single particle tracking. **PloS one**, v. 7, n. 12, 2012.

Existem muitos fatores que são levados em consideração ao selecionar um polímero bioadesivo, flexibilidade das cadeias de polímero, a capacidade de ligação de hidrogênio, o peso molecular, a concentração, a densidade de reticulação e a carga do polímero estão entre alguns dos fatores mais importantes que afetam a bioadesão do polímero (CARVALHO et al., 2010; ROY; PRABHAKAR, 2010). Os polímeros de maior peso molecular possuem propriedades bioadesivas superiores, embora seja observado um efeito de teto em que a bioadesão caia após o excesso de um peso molecular ideal, na mesma concentração para cada polímero peso molecular diferente (ZHU et al., 2013). Os polímeros de maior peso molecular possuem propriedades bioadesivas superiores, embora seja observado um efeito limite em que a bioadesão caia após o excesso de um peso molecular ideal, este efeito também se aplica à concentração de polímero; uma concentração maior do que o ótimo resultará em uma queda drástica na bioadesão devido à aglomeração estérica e subsequente indisponibilidade das cadeias para interpenetração

(PEPPAS; SAHLIN, 1996; ZHU et al., 2013) . No entanto, se a concentração de polímero for muito baixa, as cadeias de polímero disponíveis por área superficial do substrato biológico diminuem, enfraquecendo a resistência à bioadesão entre o polímero e o tecido biológico (CARVALHO et al., 2010; ZHU et al., 2013) .

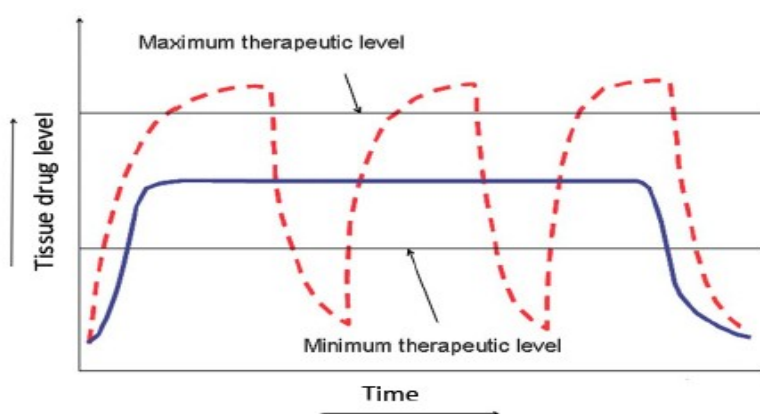
Diferentes tipos de polímeros aderem principalmente por diferentes mecanismos. A adesão de polímeros aniônicos ao tecido é tipicamente atribuída à ligação de hidrogênio entre os grupos de tecido e carboxilo na cadeia polimérica, enquanto que a bioadesão de polímero catiônico é principalmente eletrostática e a adesão de polímero não iônico é conduzida principalmente por uma combinação de ligação de hidrogênio e interpenetração de cadeia. Embora estes principais mecanismos conduzam principalmente a bioadesão em cada grupo de polímeros, eles não são os únicos fatores que contribuem para a bioadesão de tais materiais (KUMAR et al., 2014; PARK; ROBINSON, 1984) .

Fatores ambientais e fisiológicos também são levados em consideração ao escolher um polímero bioadesivo, incluindo a natureza do substrato biológico sobre o qual o polímero será aplicado, o contato inicial e a força de aplicação do polímero e tecido e o pH ambiental. Diferentes substratos biológicos têm diferentes densidades de carga superficial, bem como tipos de grupos funcionais e concentrações (ANDREWS; LAVERTY; JONES, 2009; ASIJA; KUMAWAT; SHARMA, 2013) . O pH local determina o grau de ionização dos grupos funcionais de polímero e interface de acordo com a constante de dissociação (pK_a) dos grupos funcionais, se o pK_a não estiver na faixa de trabalho do sistema, o grupo funcional permanecerá sem carga e a ligação de hidrogênio será a única interação entre o polímero e o substrato biológico, sem contribuição de carga (ASIJA; KUMAWAT; SHARMA, 2013) . A quitosana é insolúvel a $pH > 6,5$ e o grupo amina é protonado a $pH < 6,5$; portanto, sua resistência bioadesiva está presente apenas a um pH menor, onde o quitosana é então solúvel e sua carga catiônica promoverá a bioadesão. O conteúdo de água do sistema também pode afetar fortemente a adesão (CAVALLARI; BRIGIDI; FINI, 2015; QI et al., 2016; RADIVOJŠA; GRABNAR; GRABNAR, 2013) .

Os sistemas de liberação de fármaco mucoadesivos oferecem potencial para fornecer a liberação de fármaco localizado nas regiões desejadas, aumentando o tempo de residência do medicamento, reduzindo assim a frequência de doses, e aumentando o contato íntimo do fármaco com membranas do sistema biológico para melhor absorção da droga no local de aplicação (MANSURI et al., 2016; SMART, 2005; WOLINSKY; COLSON; GRINSTAFF, 2012) .

Tais sistemas são desenvolvidos para permitir a liberação direcionada e controlada de uma substância terapêutica abordando as barreiras fisiológicas que diminuem a eficácia de uma droga (SANDRI et al., 2006; YU et al., 2013) . A figura 5 mostra os perfis convencionais de liberação controlada de fármaco versus comprimidos, com liberação controlada, minimizando o risco de sobredosagem e maximizando a duração do tempo em que a concentração local de fármaco está dentro da faixa terapêutica, dependendo de a medicação e a forma como é administrada, os efeitos secundários indesejáveis também podem ser evitados ou minimizados com veículos de liberação controlada (PEGORARO; MACNEIL; BATTAGLIA, 2012) . Em particular, para medicamentos destinados a ter efeitos locais, por exemplo, agentes de quimioterapia, a liberação local controlada minimiza a toxicidade sistêmica do medicamento (HE et al., 2011; SANDRI et al., 2011; WOLINSKY; COLSON; GRINSTAFF, 2012) .

Figura 5 – Perfis de sistemas de liberação controlada versus convencional.



Fonte: PEGORARO, Carla; MACNEIL, Sheila; BATTAGLIA, Giuseppe. Transdermal drug delivery: from micro to nano. **Nanoscale**, v. 4, n. 6, p. 1881-1894, 2012.

A possibilidade da injeção diminui significativamente o dano causado no tecido alvo e ao redor, o que reduz o risco de infecção, inflamação, dor do paciente e tempo de cicatrização (JIANG et al., 2016; YU et al., 2013) . Além disso, sua capacidade de geleificar no local da injeção permite que o termogel tome a forma do tecido que o rodeia, preenchendo todas as cavidades e vazios indesejados de uma maneira particularmente essencial para aplicações (JUNG et al., 2016; YAN et al., 2010) .

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

O IFA cloridrato de levobupivacaína (LBPV) foi doado pela Cristália Ltda. (Itapira, Brasil). O polímero HEC foi obtido de Samsung Fine Chemicals (Coreia do Sul) e o copolímero Poloxâmero 407 (Pluronic F-127®BASF) (Ludwigshafen, Alemanha) foram adquiridos por recursos do NUDFAC .

Metanol grau HPLC da Merck (Frankfurt, Alemanha) e água ultrapura foram usados como solventes. Bicarbonato de amônio (NH_4HCO_3) obtido da ISO FAR (Rio de Janeiro, Brasil).

Como meio de dissolução foram utilizados fosfato de potássio monobásico (KH_2PO_4) (ISO FAR, Rio de Janeiro, Brasil) e azida sódica (NaN_3) (VETEC, Rio de Janeiro, Brasil).

4.2 Métodos

4.2.1 Desenvolvimento do sistema termossensível

Foram preparadas formulações monopoliméricas contendo 15% e 15,5% (p/p) de P407, utilizando o 'método a frio' (SCHMOLKA, 1972) , dispersando a quantidade requerida de P407 em solução salina fisiológica a 4°C sob leve agitação. Formulações poliméricas binárias também foram preparadas contendo 15 ou 15,5% (p/p) de P407 com 0,10; 0,20% (p/p) de HEC, utilizando também o 'método a frio' descrito por Schmolka (1972), inicialmente, o HEC foi incorporado paulatinamente em soro fisiológico, sob agitação mecânica constante até a hidratação e dispersão completa do polímero, em seguida incorporou-se o P407 no gel de HEC, deixando a preparação em repouso na geladeira até a hidratação e dispersão completa deste outro polímero. Por último fora acrescentado a LBPV numa concentração de 0,5%, dispersando o fármaco na solução a frio com rápida agitação mecânica, retornando

novamente ao repouso em geladeira. Outras formulações foram preparadas, contendo 1,5% do IFA, conforme Tabela 2.

Tabela 2 – Composição quantitativa (% p/p) das formulações.

Formulação	P407 (%)	HEC (%)	LBPV (%)	Teor (%)
F1	15,0	0,0	0,5	98,02
F2	15,5	0,0	0,5	96,00
F3	15,0	0,1	0,5	97,10
F4	15,5	0,1	0,5	96,17
F5	15,0	0,2	0,5	97,64
F6	15,5	0,2	0,5	96,28
F7	15,0	0,0	0,5	97,97
F8	15,5	0,0	0,5	102,10
F9	15,0	0,1	1,5	96,82
F10	15,0	0,2	1,5	98,33

* q.s.p. 100%

Fonte: autoria própria

4.2.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As análises de DSC foram conduzidas utilizando o equipamento STA 449-F3 JUPITER da NETZSCH (Alemanha). As amostras do IFA e excipientes foram analisadas em placas de alumínio herméticas (NETZSCH) fechadas e para cada análise foram utilizados 10 a 20 mg de material (determinados em uma balança analítica, marca METTLER, modelo UMX5). As análises foram realizadas em triplicata aquecendo a amostra com uma taxa de aquecimento de 10 °C/min, até atingir a temperatura de 300 °C, sob fluxo de Nitrogênio (50 mL/min).

As análises foram feitas com cada amostra isoladas (LBPV; P407; HEC) e suas misturas, na seguinte forma: LBPV / P407 (1:1); LBPV / HEC (1:1); LBPV / P407 / HEC (1:1:1).

4.2.3 Determinação da temperatura de gelificação

A temperatura de transição sol/gel ($T_{\text{sol/gel}}$) das formulações monopoliméricas contendo P407 e das poliméricas binárias foi determinada utilizando um reômetro de tensão e gradiente controlados MCR 500 (Anton Paar®) (figura 6), no modo oscilatório com rampa de temperatura. A geometria utilizada foi a de duplos cilindros concêntricos de tamanho padrão (rotor com raio externo de 21,96 mm e interno de 20,38 mm; estator com raio interno de 20,00 mm; altura do cilindro de 59,50 mm e vão de 0,5 mm).

Figura 6 – Reômetro MCR 500 (Anton Paar).



Fonte: Anton-Paar. Produtos, série de reômetros MCR. Disponível em: <<https://www.anton-paar.com/br-pt/produtos/detalhes/serie-de-reometros-mcr/>>. Acesso em: 27 nov. 2017.

Cada amostra foi cuidadosamente aplicada dentro do estator do reômetro, assegurando o mínimo cisalhamento e permitindo um tempo de repouso (relaxamento da tensão introduzida antes da análise) de 5 minutos antes de cada determinação. A análise de varredura de temperatura foi conduzida através da faixa de 20 °C a 40 °C, com incrementos de temperatura de 1 °C/min, seguindo a aplicação de uma tensão constante e frequência de 1,0 Hz. O módulo elástico (G'), o módulo viscoso ou de perda (G'') e a viscosidade dinâmica (η') foram então determinados utilizando o programa Rheoplus® (Anton Paar®).

As análises foram realizadas em triplicata para cada formulação. A $T_{sol/gel}$ foi definida como o ponto onde o módulo elástico (G') módulo de perda (G'') apresentaram valores iguais (JIANG et al., 2016; MAZIA et al., 2016; SVIRSKIS et al., 2016) , a temperatura de transição também foi definida como o ponto de inflexão da curva, do gráfico de viscosidade *versus* temperatura (CHARRUEAU et al., 2001; DUMORTIER et al., 2006; WANG et al., 2016) .

A temperatura de transição dos termogéis também foram determinadas pelo método de tubo invertido (UR-REHMAN; TAVELIN; GRÖBNER, 2011; XU et al., 2016) . Frascos contendo 2mL das formulações, a temperatura ambiente e em triplicata, foram submetidos a aquecimento gradual da temperatura de 1°C até equilíbrio da amostras em banho-maria. A geleificação foi considerada completa quando a determinada temperatura não observa-se escoamento da amostra pelo frasco.

4.2.4 Determinação do pH

A determinação do pH das formulações foi realizada utilizando-se aparelho medidor de pH modelo PG 1800 (GEHAKA®) previamente calibrado com soluções tampão pH 4,0 e 7,0, a temperatura ambiente sem diluição do produto.

4.2.5 Seringueabilidade

O trabalho de seringueamento de cada formulação polimérica foi determinado utilizando um analisador de textura CT3 Texture Analyzer (Brookfield®) (Figura 7), no modo de compressão. Cada formulação foi cuidadosamente adicionada no interior de seringas plásticas de 1,0 mL até alcançar uma altura de 30 mm, evitando a introdução de bolhas de ar. A seringa foi presa verticalmente e o *probe* abaixado até que o contato inicial com o êmbolo da seringa fosse observado. Com uma velocidade constante de 2.0 mm/s e ao longo de uma distância de 30 mm (BORGHI-

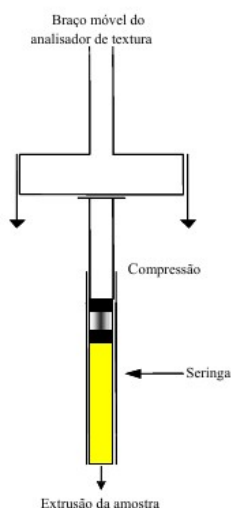
PANGONI et al., 2016; BRUSCHI et al., 2007; RENÇBER et al., 2016) , o *probe* foi movimentada para baixo (Figura 8).

Figura 7 – Analisador de textura CT3 Texture Analyzer (Brookfield®).



Fonte: Brookfield. Products, Texture analyzers. Disponível em: <<https://www.brookfieldengineering.com/products/texture-analyzers/ct3-texture-analyzer>>. Acesso em: 13 ago. 2017.

Figura 8 – Desenho do equipamento utilizado na determinação do trabalho de seringueamento.



Fonte: BRUSCHI, M.L. Desenvolvimento e caracterização de sistemas de liberação de própolis intrabolsa periodontal. 2006. 318f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas), Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2006.

A resistência à expressão do conteúdo da seringa (trabalho realizado) foi determinada através do cálculo da área sob a curva força versus distância, do gráfico obtido durante a compressão do êmbolo. Todas as medidas foram realizadas a 25 °C e, no mínimo, em três replicatas.

4.2.6 Análise do perfil de textura

A análise do perfil de textura (APT) das formulações foi realizada utilizando um analisador de textura CT3 Texture Analyzer (Brookfield®), no modo de análise de textura.

Uma quantidade da formulação foi colocada em frascos de vidro com tampa de rosca, evitando a introdução de bolhas de ar. No modo APT, um *probe* analítico de policarbonato (12,7 mm de diâmetro) foi comprimida duas vezes no interior da amostra, com velocidade de 2 mm/s, profundidade de 15 mm e tempo de 15 s entre o final da primeira e o início da segunda compressão. A análise foi realizada em, no mínimo, três replicatas e nas temperaturas de 25 e 37 °C. A partir do gráfico resultante da força versus distância e força versus tempo, a dureza (força necessária para atingir uma dada deformação), a elasticidade (trabalho necessário para deformar o produto durante a primeira compressão da prova) e a adesividade (o trabalho necessário para superar as forças de atração entre a superfície da amostra e a superfície do *probe*) foram calculados (BORGHI-PANGONI et al., 2016; MAZIA et al., 2016; RENÇBER et al., 2016). As análises foram realizadas em, no mínimo, cinco replicatas para cada amostra.

4.2.7 Estudo do perfil de liberação *in vitro* das preparações

O ensaio de perfil de liberação *in vitro* dos termogéis foi realizado usando o método sem membrana, tal método é descrito da seguinte maneira: transferindo 1 g da amostra em tubo criogênico e colocado em banho sob aquecimento a 37 °C, após observar a geleificação, 2 mL do meio receptor, também a 37 °C, foi cuidadosamente depositado sobre o gel, os ensaios de cada formulação foi realizado em seis

replicatas (HUANG et al., 2016b; RADIVOJŠA; GRABNAR; GRABNAR, 2013; ZHANG et al., 2002) .

Alíquotas de 0,4 mL foram coletadas a intervalos de tempo predeterminados (0,5h; 1h; 2h; 4h; 8h; 12h; 24h; 36h; 48h; 60h; 72h; 84h; 96h; 108h e 120h), após cada coleta o mesmo volume foi, imediatamente, resposto com novo líquido receptor a temperatura de 37 °C.

O líquido receptor (tampão fosfato pH 5,0) e o volume utilizados garantiram as condições *sink* (NALLAGUNDLA; PATNALA; KANFER, 2014; RICCI et al., 2005; SHAKER et al., 2016) .

A quantificação do volume coletado foi realizado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-UV).

4.2.8 Estudo de permeação *in vitro*

Para o estudo de permeação foi utilizada pele de ratos Wistar com peso entre 200 – 300g, a pele foi obtida por excisão, posterior da eutanásia por inalação com dose letal de isoflurano. O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), sob o registro de número 23076.007923/2017-61, encontrando-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794 de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009.

A avaliação da permeação foi realizada usando células de difusão de Franz (Vision® Microette automated diffusion system, Chatsworth, EUA) (figura 9). Após a excisão da pele 0,5 mL do termogel foi injetada por via subcutânea e a pele posta em contato com a câmara receptora da célula. No compartimento receptor estava preenchido com solução tampão fosfato pH 7,4, contendo 0,05% de azida sódica, como sistema conservante, mantido sob aquecimento a 37°C em água em circulação e agitação constante, com auxílio de agitador magnético (300 rpm).

As alíquotas retiradas foram de 1 mL, nos seguintes intervalos de tempo: 2; 4; 6; 8; 10; 12; 24; 36; 48; 60 e 72h, em todos os intervalos após cada coleta um

volume igual foi imediatamente reposto com meio receptor novo e a mesma temperatura. Todas as alíquotas foram feitas em seis replicatas e analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-UV).

Figura 9 – Sistema de difusão Vision® Microette.



Fonte: Hanson Research. Diffusio, Diffusion Testing. Disponível em:
<<https://hansonresearch.com/diffusion-testing/vision-microette/>>. Acesso em: 13 ago. 2017.

4.2.9 Condições cromatográficas

Para avaliação do teor, diluições a partir de uma solução mãe 1 mg/mL em solução tampão pH 5,0 foram analisadas utilizando uma curva de calibração com concentrações 10; 20; 50; 100; 150; 200 µg/mL.

As análises foram realizadas em um sistema composto por cromatógrafo Shimadzu Prominence® com controlador CBM-20A, auto Injetor SIL-30AC, bomba LC-30AD, Detector SPD-M20A. O método utilizado foi proposto pelo fabricante da coluna (PHENOMENEX®). Sendo realizado a validação parcial da metodologia, ou seja, avaliando os parâmetros de seletividade, precisão e exatidão.

Estas soluções foram filtradas em membrana de PTFE modificado (0,45 µm) e analisadas por CLAE. Utilizou-se uma coluna C-18 (Gemini® - Phenomenex® 5 µm), com dimensões de 250 x 4,6 mm e pré-coluna embutida, e um equipamento de CLAE com duas bombas de injeção de solvente, controle automático de fluxo, detector espectrofotométrico com fotodiodo (DAD), sistema de integração e sistema de injeção automático. O sistema de eluição utilizado foi isocrático, composto por (A) metanol e (B) solução aquosa composta por NH_4HCO_3 10 mM + 0,1% DEA (70:30), previamente filtrado e desgaseificado em banho de água com ultrassom. As análises foram realizadas em um volume de injeção de 20 µL sob fluxo de 1,0 mL/min, detecção em 220 nm e com tempo de retenção médio de 4,7 minutos.

4.2.10 Análise de dados

Os perfis de liberação foram analisados em intervalos de tempo definidos e os seguintes modelos foram aplicados de acordo com as equações: ordem zero, primeira ordem e Higuchi. O coeficiente linear (R) foi determinado para cada modelo cinético através de análise de regressão linear. O modelo com maior valor de R foi selecionado. O valor da taxa de liberação corresponde à inclinação (a) da porção linear do modelo cinético selecionado (COSTA; SOUSA LOBO, 2001) .

Todos os valores foram expressos como média $\pm$ desvio padrão (DP). As diferenças estatísticas foram determinadas através da ANOVA *one-way* e do teste pós-hoc de Tukey; as diferenças foram consideradas significativas para $p < 0,05$.

O fluxo de estado constante (Jss) e o tempo de latência para cada formulação foram calculados, o coeficiente de permeabilidade (Kp) também foi calculado usando a seguinte equação: $Kp = Jss / C_0$, onde C_0 é a concentração inicial de fármaco. As análises matemáticas e estatísticas foram realizadas com o software Calc (LibreOffice®) e Prism (GraphPad®).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Desenvolvimento do sistema termossensível

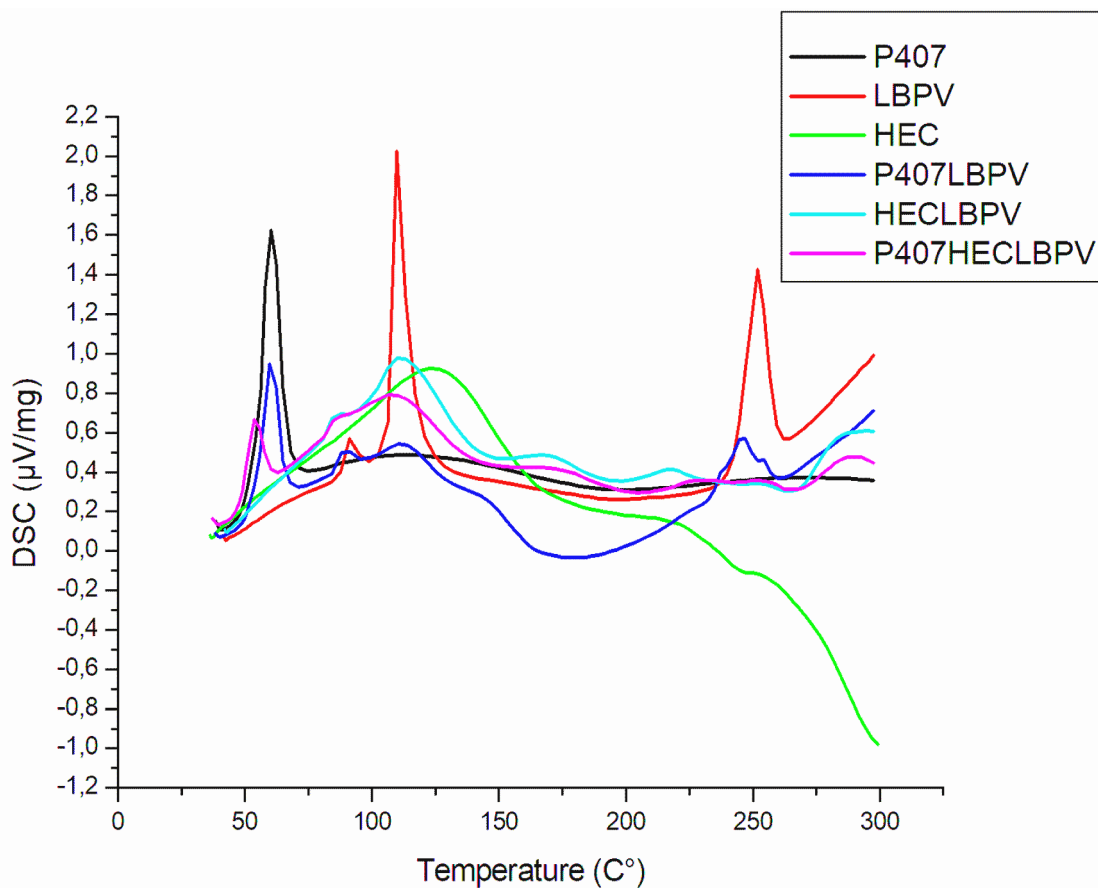
Os sistemas preparados contendo apenas o P407 ou a mistura binária dos polímeros P407 e HEC, com diferentes concentrações dos polímeros e IFA, apresentaram-se líquidos a baixa temperatura (4°C), com aparência límpida e translúcida.

5.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Estudos de DSC foram realizados para determinar a interação entre o fármaco e os polímeros nos géis preparados. Esta técnica também indica a compatibilidade entre o fármaco e os polímeros, em estudos de estabilidade (GONJARI et al., 2010) . O pico encontrado foi de 109,53 ° C para LBPV, 60,16 ° C para poloxâmero 407 e 122,72 ° C para HEC. A mistura do fármaco e P407 apresentaram picos endotérmicos que se assemelhavam ao pico da droga pura. A mistura do fármaco e dos polímeros (1: 1: 1) não apresentou pico, uma vez que ambos os polímeros fundiram. Assim, não se observou nenhum pico proeminente semelhante ao pico da droga; o maior pico exotérmico foi observado a 100 °C. Representando polimorfos permanecem presentes em maior concentração em sua forma amorfa (figura 10).

Os termogramas mostram que não há alterações significativas no ponto de fusão do IFA quando este é misturado aos polímeros.

Figura 10 – Curva de DSC do fármaco, excipientes e suas misturas.



Fonte: autoria própria

5.3 Determinação da temperatura de gelificação

Os valores da temperatura de transição do estado sol-gel obtidos através das diferentes metodologias são mostrados na Tabela 3.

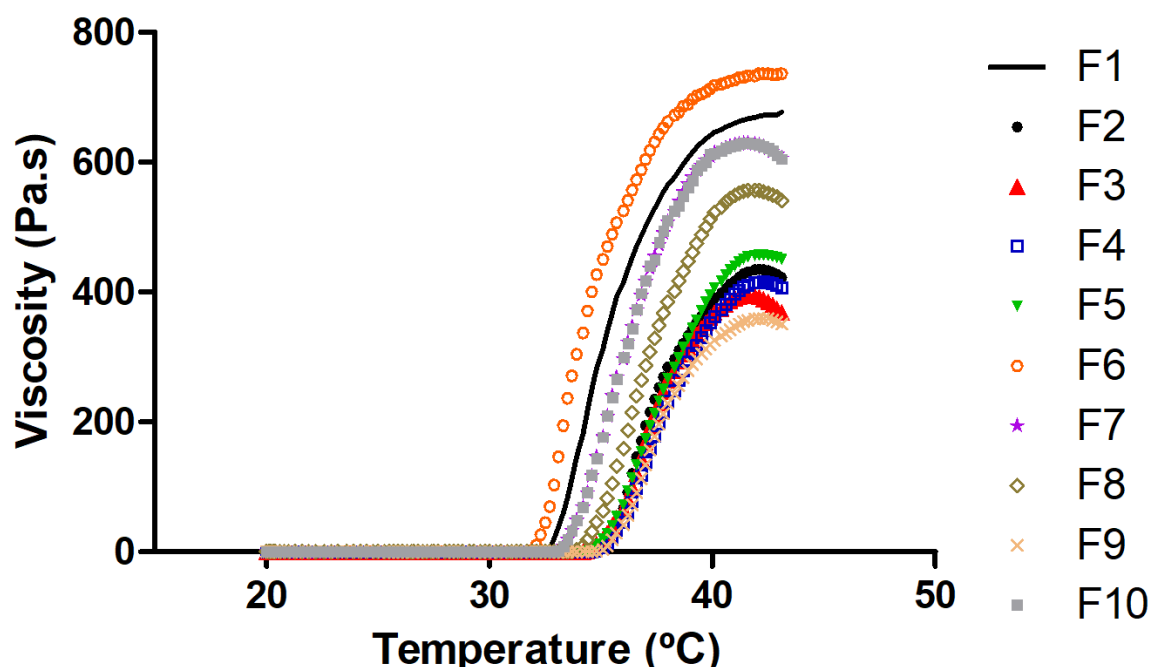
Tabela 3 – Valores transição de estado e viscosidade das formulações.

Formulação	Ponto de inflexão (°C)	$G' = G''$ (°C)	Tubo invertido (°C)	Viscosidade a 37°C (Pa.s)
F1	32,9	32,82	33	194
F2	35,1	34,80	35	168
F3	34,8	35,43	37	138
F4	35,1	35,36	35	287
F5	34,6	34,45	37	604
F6	32,3	34,57	36	416
F7	33,3	33,22	38	134
F8	33,9	33,67	35	174
F9	35,1	35,09	36	214
F10	33,3	34,13	35	300

Fonte: autoria própria.

A Figura 11 mostra a viscosidade versus temperatura, onde é possível determinar graficamente a temperatura de gelificação, como o ponto de inflexão da curva. Esta metodologia permite a observação do aumento da viscosidade em função da temperatura. Micelas organizam durante o aquecimento até atingir uma viscosidade máxima, demonstrando a integridade do processo (BOFFITO et al., 2016; KABANOV; BATRAKOVA; VALERY, 2002) .

Figura 11 – Gráfico de viscosidade versus temperatura das formulações.



Fonte: autoria própria.

O aumento na concentração de P407 (15 a 15,5%) não altera a temperatura de transição, semelhante à inserção de HEC, onde apenas um leve aumento na temperatura de transição é observado. A presença de derivados de celulose aumenta G' e a viscosidade complexa. Este aumento é devido a interações micelar e o efeito sobre a cadeia hidrofílica, conforme descrito por Dumortier (2006).

Resultados semelhantes foram observados através de outras metodologias, bem como seu comportamento (Tabela 3), quando se utiliza o método de inversão do tubo. O último é um método visual e, portanto, subjetivo, embora simples e fácil de reproduzir (BHATTARAI et al., 2005; CHUNG et al., 2002). A geleificação ocorreu ligeiramente abaixo da temperatura fisiológica, ou seja, 37°C para todos os géis avaliados. O último é uma característica requerida para permitir que a formulação seja administrada através de uma seringa à temperatura ambiente, formando o gel após a injeção (CHARRUEAU et al., 2001; SVIRSKIS et al., 2016).

Observou-se um aumento da viscosidade das formulações a 37°C, em comparação com a viscosidade à temperatura ambiente e refrigerada. Isso indica que a formação da estrutura do gel é induzida pelo aumento da temperatura, atuando sobre o poloxâmero (DEKA; DEB; DASH, 2016; SHASTRI et al., 2016) . Este mecanismo de aumento de viscosidade é devido à embalagem de micelas, como resultado da desidratação do bloco PPO (RUEL-GARIÉPY; LEROUX, 2004) .

5.4 Determinação do pH

O pH ideal de uma formulação é padronizado de acordo com o pH de estabilidade dos componentes ativos utilizados e a tolerância do organismo (MONTEIRO; GOTARDO, 2005; SILVA et al., 2009) .

Os valores observados na Tabela 4 confirmam que as formulações têm um pH compatível com as características do fármaco, as formulações e o organismo (ARBELAEZ-CAMARGO et al., 2016; BARSE; KOKARE; TAGALPALLEWAR, 2016) .

Tabela 4 – Valores de pH das formulações.

Formulação	pH $\pm$ (DP)
F1	6.72 $\pm$ 0.02
F2	6.54 $\pm$ 0.02
F3	6.58 $\pm$ 0.06
F4	6.62 $\pm$ 0.01
F5	6.43 $\pm$ 0.02
F6	6.36 $\pm$ 0.05
F7	6,61 $\pm$ 0,03
F8	6,66 $\pm$ 0,01
F9	6,65 $\pm$ 0,04
F10	6,68 $\pm$ 0,06

Fonte: autoria própria.

5.5 Seringueabilidade

A seringueabilidade é um parâmetro importante em relação ao desenvolvimento de géis termossensíveis, uma vez que detecta a facilidade com que a formulação é expulsa da seringa, esta não deve ser tão baixa que causa vazamento do material de armazenamento ou do local de aplicação (RENÇBER et al., 2016) .

Os resultados do teste realizado em um analisador de textura são mostrados na Tabela 5. Não foi observada diferença estatística entre as formulações, em relação à força de expulsão. Os valores obtidos, ou seja, 9,51N (valor mais baixo) e 14,23N (valor mais alto), estão dentro do intervalo relatado na literatura, mostrando que valores até 380 N são adequados para aplicação (BRUSCHI et al., 2007; JUNQUEIRA et al., 2016) .

Tabela 5 – Propriedades mecânicas das formulações.

	25°C						37°C							
	Dureza (N)		Adesividade (N.mm)		Elasticidade (mm)		Dureza (N)		Adesividade (N.mm)		Elasticidade (mm)		Seringueabilidade (N)	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
F1	0,11	0,01	0,10	0,10	1,04	0,08	0,15	0,04	0,33	0,21	1,40	0,09	13,50	3,99
F2	0,17	0,10	0,06	0,03	1,13	0,08	0,44	0,20	0,13	0,05	1,99	0,06	10,15	2,05
F3	0,21	0,04	0,13	0,06	1,62	0,06	0,24	0,05	0,73	0,29	1,42	0,02	12,49	6,95
F4	0,09	0,02	0,17	0,12	1,02	0,03	0,36	0,09	1,20	0,40	1,44	0,08	12,67	4,21
F5	0,13	0,01	0,12	0,07	1,12	0,04	0,22	0,12	0,30	0,26	1,05	0,10	16,09	7,03
F6	0,13	0,01	0,60	0,06	1,18	0,05	0,25	0,07	0,74	0,22	1,23	0,06	11,81	6,84
F7	0,15	0,03	0,05	0,03	1,02	0,03	0,39	0,30	0,26	0,08	1,04	0,07	9,51	5,09
F8	0,11	0,01	0,12	0,04	1,02	0,07	0,37	0,02	0,37	0,16	1,96	0,08	10,90	2,66
F9	0,11	0,01	0,33	0,06	1,20	0,03	0,26	0,10	0,88	0,17	1,42	0,07	13,34	3,05
F10	0,09	0,01	0,43	0,03	1,28	0,04	0,19	0,03	0,93	0,15	1,90	0,05	14,23	6,53

Fonte: autoria própria.

5.6 Análise do perfil de textura

A análise do perfil de textura das formulações foi realizada utilizando um analisador de textura (CT3 texture Analyzer, Brookfield) no modo de análise de textura.

Uma amostra da formulação foi colocada em frascos de vidro, evitando a introdução de bolhas de ar. Uma sonda analítica de policarbonato (12,7 mm de diâmetro) foi comprimida duas vezes dentro da amostra, no modo APT, com uma velocidade de 2 mm / s, profundidade de 15 mm e uma janela de 15 s entre o final do primeiro e o início de a segunda compressão. A análise foi realizada para pelo menos três repetições a temperaturas de 25 °C e 37 °C. A dureza (força necessária para alcançar uma determinada deformação), elasticidade (capacidade de estiramento e retorno ao tamanho e forma original) e adesividade (trabalho necessário para superar as forças de atração entre a superfície da amostra e a superfície do teste) foram calculados a partir das parcelas da força versus distância e força versus tempo (BORGHI-PANGONI et al., 2016; MAZIA et al., 2016; RENÇBER et al., 2016) .

As propriedades mecânicas (dureza, adesividade e elasticidade) das formulações também foram investigadas e são exibidas na Tabela 5. Essas propriedades permitem sondar a adequação das formulações como sistemas de liberação controlada termossensíveis (LI; RODRIGUES; TOMÁS, 2012) .

Os valores de dureza foram entre 0,09-0,21N (25°C) e 0,15-0,44N (37°C). Não foi observada diferença estatística entre as formulações. O aumento da concentração de P407 e a adição de HEC não influenciaram a dureza. As concentrações dos polímeros e do fármaco utilizado neste estudo não afetaram as propriedades mecânicas, em contraste com outros estudos, onde um aumento desses valores foi observado quando as concentrações de HEC acima de 3% foram utilizadas (JONES et al., 2000) .

A elasticidade é a capacidade de esticar e retornar ao seu tamanho e forma originais; os resultados mostraram valores de baixa elasticidade, portanto melhores características, já que o tempo necessário para criar e estruturar uma formulação

será menor. A aderência, o trabalho necessário para superar as forças de atração entre a superfície da amostra e da sonda, pode levar à maior retenção da superfície biológica e, portanto, pode melhorar a eficácia clínica (FERREIRA et al., 2017; MAZIA et al., 2016; RENÇBER et al., 2016) . Conforme demonstrado na propriedade da dureza, não foi observada diferença estatística entre as formulações.

A adição de polímeros causou um aumento da viscosidade, funcionando como um sistema de matriz através da retenção do fármaco na formulação e causando adesão aos tecidos ou órgãos aos quais foi aplicado. Além disso, a adesividade maior ou menor será diretamente proporcional à concentração de mucina na região aplicada (JAIN, 2016; KLOUDA; MIKOS, 2008) .

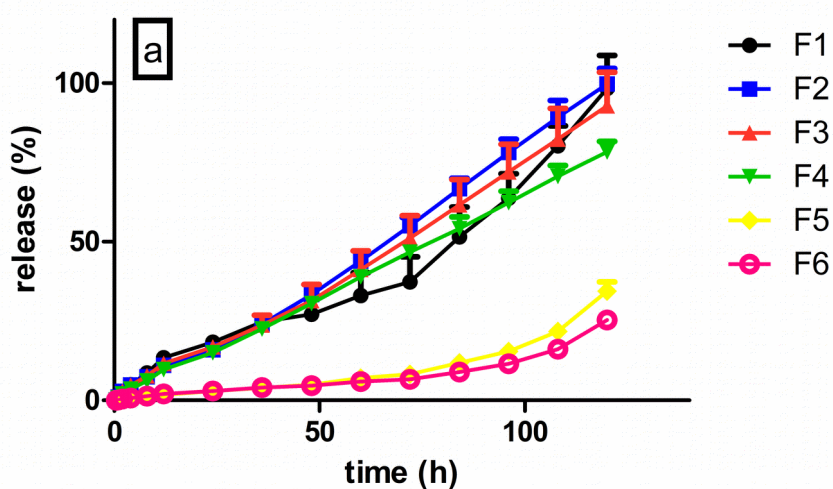
5.7 Estudo do perfil de liberação *in vitro* das preparações

As Figuras 12 e 13 mostram a porcentagem de liberação em função do tempo, para as formulações estudadas. As formulações F1, F2 e F3 atingiram quase 100% de liberação de LBPV após 5 dias, observou-se o mesmo comportamento em formulações F7, F8, F9 e F10 mais concentradas, enquanto as outras formulações contendo 0,5% de LBPV exibiram menos de 40% de liberação de fármaco após nesse mesmo período. Assim, todas as formulações termossensíveis mostram apresentar um comportamento prolongado de liberação de fármaco. Esta liberação pode ser atribuída às micelas formadas pelo polímero (P407) e principalmente à estrutura tortuosa do gel HEC, explicando os resultados das formulações F5 e F6 (RADIVOJŠA; GRABNAR; GRABNAR, 2013) . Estudos *in vivo* adicionais são necessários para determinar se esta baixa taxa de liberação é farmacologicamente eficaz.

O modelo livre de membrana utilizado para estudar a liberação *in vitro* do medicamento a partir de géis termossensíveis permite que o meio de liberação esteja em contato direto com a superfície do gel. Os géis se dissolvem rapidamente, resultando em liberação controlada por dissolução. Devido à administração subcutânea pretendida, espera-se que este modelo seja o mais próximo das condições *in vivo*, uma vez que o gel viria em contato direto com o líquido

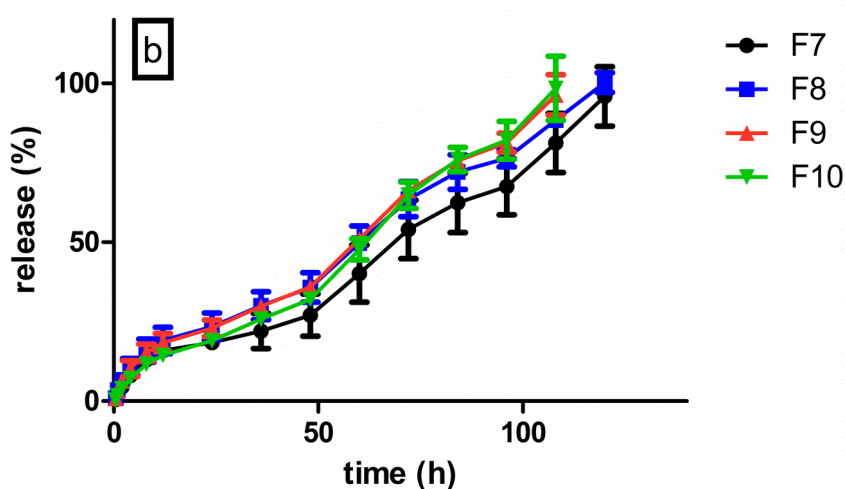
extracelular, dissolvendo-se rapidamente após a injeção. Com isso em mente, foi levado em consideração que 2 mL do líquido receptor são biorelevantes (HUANG et al., 2016b; YU et al., 2013) . Considerando esta afirmação como verdadeira, as formulações F5 e F6 interferem fortemente o fármaco, dificultando a liberação do medicamento (30% liberados em 5 dias).

Figura 12 – Gráfico de liberação da LBPV versus tempo das formulações F1 – F6.



Fonte: autoria própria.

Figura 13 – Gráfico de liberação da LBPV versus tempo das formulações F7 – F10.



Fonte: autoria própria.

5.8 Estudo de permeação *in vitro*

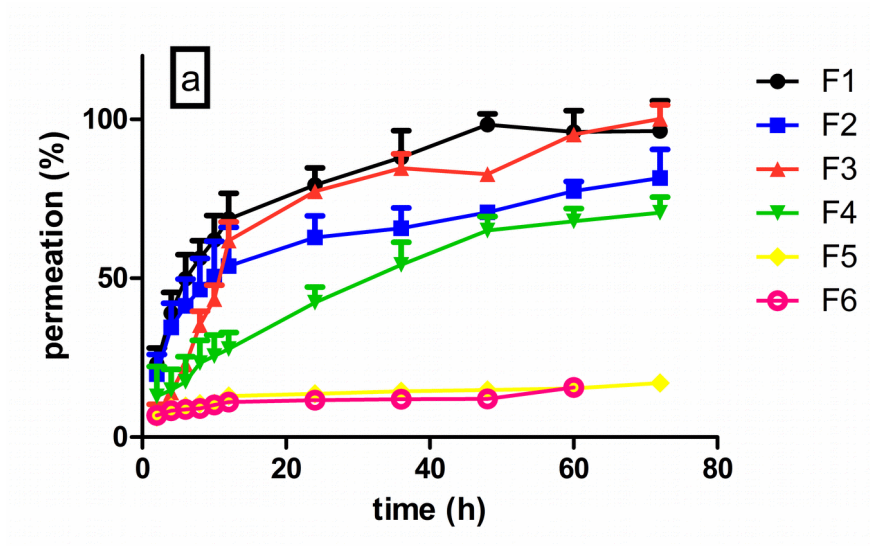
Estudos de permeação são comumente usados para avaliar a liberação (transporte cutâneo) de medicamentos destinados à aplicação da pele, em várias formas de dosagem (BALZUS et al., 2016) . Estudos de permeação *in vitro* foram realizados para comparar a liberação do fármaco em 10 formulações diferentes. A permeação *in vitro* foi maior para as formulações F1, F2, F3, F7, F8, F9 e F10, liberando mais de 50% do fármaco em 12 horas e menor para as formulações F4-F6, com menos de 30%. Quando comparados entre as formulações que contêm 1,5% do fármaco, todos liberaram mais de 50% em 12 horas (Figuras 14 e 15). Os perfis de permeação da pele de F5 e F6 foram significativamente diferentes quando comparados às demais formulações ($P < 0,05$). A diferença significativa na permeabilidade da LBPV entre as formulações é provavelmente devido à maior concentração de HEC nos termogels avaliados. O efeito decrescente da liberação do fármaco HEC pode ser atribuído à sua capacidade de aumentar a viscosidade geral do produto, bem como a sua capacidade de distorcer ou "espremer" os canais aquoso extra-micelares das micelas de poloxâmero, através dos quais a droga difunde, assim, retardando o processo de liberação (GONJARI et al., 2010) . Essas diferenças podem ser observadas quando os parâmetros da quantidade de LBPV permeada (Q_{12h}) e do fluxo (J_{ss}) após 12h são comparados (Tabela 6). Considerando que o objetivo deste trabalho é obter uma formulação com maior duração de efeito no local de aplicação (tecido subcutâneo / áreas ao redor da cirurgia), quanto mais lentamente ocorre a permeação do fármaco, melhor, exceto no caso em que o fármaco não deixa a formulação como observado para F5 e F6. Diante disso, as formulações de escolha a seguir serão F10, F1 e F4 (com alta, média e baixa liberação). Estudos *in vivo* adicionais são necessários para determinar se esta quantidade e a taxa de permeação são farmacologicamente eficazes.

Tabela 6 – Parâmetros de permeação.

Formulação	Quantidade ($\times 10^3$) μg	DP ($\times 10^3$)	Fluxo 12h ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$)	DP	Kp ($\times 10^{-3}$)	DP ($\times 10^{-3}$)
F1	1,924	0,469	38,606	16,621	15,4	6,65
F2	2,952	0,451	44,948	10,185	18,0	4,07
F3	2,526	0,258	66,945	14,304	22,68	5,72
F4	0,914	0,111	23,807	5,073	9,52	2,02
F5	0,405	0,057	6,407	1,849	2,56	0,74
F6	0,254	0,069	4,827	2,372	1,93	0,949
F7	7,090	0,632	183,222	11,225	24,4	1,5
F8	7,231	0,614	181,941	14,752	24,3	1,97
F9	6,925	0,992	178,468	19,714	23,8	2,63
F10	7,021	0,640	184,893	28,077	24,7	3,74

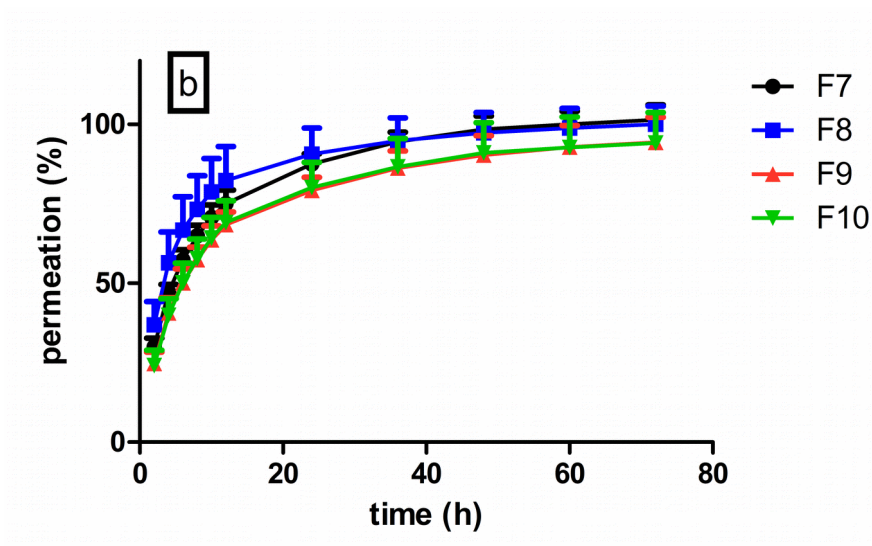
Fonte: autoria própria.

Figura 14 – Gráfico de permeação da LBPV versus tempo das formulações F1 – F6.



Fonte: autoria própria.

Figura 15 – Gráfico de permeação da LBPV versus tempo das formulações F7 – F10.



Fonte: autoria própria.

5.9 Modelagem matemática

O mecanismo de liberação da LBPV foi investigado através de modelos de ordem zero, primeira ordem e Higuchi (Tabela 7). A análise dos coeficientes de determinação indicou o modo de liberação do medicamento a partir dos géis (GRILLO et al., 2010; PEREIRA et al., 2013; QI et al., 2016) .

O modelo de liberação proposto por Higuchi sugere que a liberação do fármaco ocorre por meio da difusão. Assim, pode-se concluir que o passo de determinação da velocidade da liberação de LBPV do termogel é a difusão do fármaco através das micelas P407 (AKKARI et al., 2016; PANAPISAL; CHAROENSRI; TANTITUVANONT, 2012) , combinadas com a difusão do fármaco através dos hidrogéis até chegar ao local de ação (RICCI et al., 2005) .

Além disso, verificou-se que as micelas P407 funcionam como um reservatório para a liberação de substâncias e, portanto, são úteis para a liberação prolongada de fármaco em sistemas semissólidos (SUH; JUN, 1996) . Além disso, os géis mais concentrados se dissolvem mais devagar, devido à diminuição do coeficiente de difusão da água no gel (ANDERSON; PANDIT; MALLAPRAGADA,

2001) . No entanto, as diferenças em relação à liberação de produtos com menor concentração são devidas à presença de HEC (CAVALLARI; BRIGIDI; FINI, 2015; HUANG et al., 2016a; PAAVOLA et al., 1995) .

Tabela 7 - Coeficiente de correlação das formulações.

Formulação	Percentual liberado	0 ordem	1ª ordem	Higuchi
F1	98,342 ± 10,391	0,8117	0,7044	0,9135
F2	99,757 ± 4,853	0,9214	0,6722	0,9938
F3	92,806 ± 10,661	0,9852	0,7172	0,9859
F4	78,372 ± 3,238	0,9844	0,6443	0,9867
F5	34,454 ± 2,939	0,7287	0,6635	0,8502
F6	25,381 ± 2,110	0,6984	0,6555	0,8361
F7	95,927 ± 9,365	0,9771	0,7230	0,9921
F8	100,242 ± 3,094	0,9761	0,6222	0,9925
F9	96,378 ± 6,345	0,9227	0,7480	0,9308
F10	98,458 ± 10,089	0,9036	0,7175	0,97

Fonte: autoria própria.

6 CONCLUSÃO

✓ Os sistemas binários poliméricos de gel foram desenvolvidos utilizando polímeros mucoadesivos, sua análise DSC indicou compatibilidade entre os polímeros e a droga;

✓ Verificou-se que estes géis tinham uma temperatura de gelificação satisfatória, além de seringueabilidade e propriedades mecânicas (dureza, elasticidade e adesão);

✓ O estudo reológico das formulações indicou que os géis apresentaram reologia pseudoplástica, como mostrado pelo incremento da força de cisalhamento e uma diminuição da viscosidade ao aumento da velocidade angular;

✓ Estudos *in vitro* de permeação da pele e estudos de cinética de liberação indicaram um modelo de Higuchi para ser o mais adequado;

✓ Em geral, conclui-se que foi possível desenvolver termogéis que possam manter a liberação do fármaco por um longo período de tempo, provavelmente diminuindo os efeitos colaterais e evitando a necessidade de analgesia suplementar por outras rotas;

✓ Estudos *in vivo* adicionais são, naturalmente, necessários para determinar se esta quantidade e a permeação da taxa são farmacologicamente eficazes.

REFERÊNCIAS

AKKARI, A. C. S. et al. Poloxamer 407/188 binary thermosensitive hydrogels as delivery systems for infiltrative local anesthesia: Physico-chemical characterization and pharmacological evaluation. **Materials Science and Engineering C**, v. 68, p. 299–307, 2016.

AL-KASSAS, R. et al. Transdermal delivery of propranolol hydrochloride through chitosan nanoparticles dispersed in mucoadhesive gel. **Carbohydrate Polymers**, 2016.

ALMEIDA, H. et al. *In situ* gelling systems: A strategy to improve the bioavailability of ophthalmic pharmaceutical formulations. **Drug Discovery Today**, v. 19, n. 4, p. 400–412, 2014.

ALSAAB, H. et al. Organogels in Drug Delivery: A Special Emphasis on Pluronic Lecithin Organogels. **Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences**, v. 19, n. 2, p. 252, 12 jul. 2016.

ANDERSON, B. C.; PANDIT, N. K.; MALLAPRAGADA, S. K. Understanding drug release from poly(ethylene oxide)-b-poly(propylene oxide)-b-poly(ethylene oxide) gels. **Journal of Controlled Release**, v. 70, n. 1–2, p. 157–167, 2001.

ANDREWS, G. P.; LAVERTY, T. P.; JONES, D. S. Mucoadhesive polymeric platforms for controlled drug delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 71, n. 3, p. 505–518, 2009.

APFELBAUM, J. L. et al. Postoperative pain experience: results from a national survey suggest postoperative pain continues to be undermanaged. **Anesthesia and analgesia**, v. 97, n. 2, p. 534–540, table of contents, 2003.

ARBELAEZ-CAMARGO, D. et al. Preformulation and characterization of a lidocaine hydrochloride and dexamethasone sodium phosphate thermo-reversible and bioadhesive long-acting gel for intraperitoneal administration. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 498, n. 1–2, p. 142–152, 2016.

ARGOFF, C. Review Mechanisms of pain transmission and pharmacologic management. **Current Medical Research and Opinion**, v. 27, n. 10, p. 2019–2031, 2011.

ASHBURN, M. A. Future Challenges in Anesthesia-based Acute Postoperative Pain Management. **ASA Refresher Courses in Anesthesiology**, v. 27, n. 1, p. 1–12, 1999.

ASIJA, R.; KUMAWAT, J. K.; SHARMA, D. Mucoadhesive drug delivery system: a review. **Journal of Drug Discovery and Therapeutics**, v. 1, n. 12, p. 1–8, 2013.

BALZUS, B. et al. Comparison of different *in vitro* release methods used to investigate nanocarriers intended for dermal application. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 513, n. 1–2, p. 247–254, 2016.

BARSE, R.; KOKARE, C.; TAGALPALLEWAR, A. Influence of hydroxypropylmethylcellulose and poloxamer composite on developed ophthalmic *in situ* gel: Ex vivo and in vivo characterization. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 33, p. 66–74, 2016.

BASSANEZI, B. S. B.; OLIVEIRA FILHO, A. G. DE. Analgesia pós-operatória. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 33, n. 2, p. 116–122, 2006.

BERGAMASCHI, F.; BALLE, V.R.; GOMES, M.E.W.; MACHADO, S.B.; MENDES, F. F. Levobupivacaína Versus Bupivacaína em Anestesia Peridural para Cesarianas. Estudo Comparativo. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 55, n. 6, p. 606–613, 2005.

BHARDWAJ, R.; BLANCHARD, J. Controlled-release delivery system for the α -MSH analog Melanotan-I using poloxamer 407. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 85, n. 9, p. 915–919, 1996.

BHATTARAI, N. et al. PEG-grafted chitosan as an injectable thermosensitive hydrogel for sustained protein release. **Journal of Controlled Release**, v. 103, n. 3, p. 609–624, 2005.

BOFFITO, M. et al. Novel polyurethane-based thermosensitive hydrogels as drug release and tissue engineering platforms: Design and *in vitro* characterization. **Polymer International**, v. 65, n. 7, p. 756–769, 2016.

BOHREY, S.; CHOURASIYA, V.; PANDEY, A. Preparation, optimization by 23 factorial design, characterization and *in vitro* release kinetics of lorazepam loaded PLGA nanoparticles. **Polymer Science Series A**, v. 58, n. 6, p. 975–986, 2016.

BONACUCINA, G. et al. Thermosensitive Self-Assembling Block Copolymers as Drug Delivery Systems. **Polymers**, v. 3, n. 2, p. 779–811, 2011.

BORGHI-PANGONI, F. B. et al. Screening and *in Vitro* Evaluation of Mucoadhesive Thermoresponsive System Containing Methylene Blue for Local Photodynamic Therapy of Colorectal Cancer. **Pharmaceutical Research**, v. 33, n. 3, p. 776–791, 2016.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **Cuidados Paliativos Oncológicos** -. Rio de Janeiro: [s.n.].

BRENNAN, F.; CARR, D. B.; COUSINS, M. Pain management: A fundamental human right. **Anesthesia and Analgesia**, v. 105, n. 1, p. 205–221, 2007.

BRUSCHI, M. L. et al. Semisolid Systems Containing Propolis for the Treatment of Periodontal Disease: *In Vitro* Release Kinetics, Syringeability, Rheological, Textural, and Mucoadhesive Properties. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 96, n. 8, p. 2074–2089, ago. 2007.

BUTZ, D. R. et al. Postoperative Pain and Length of Stay Lowered by Use of Exparel in Immediate, Implant-Based Breast Reconstruction. **Plastic and Reconstructive Surgery - Global Open**, v. 3, n. 5, p. e391, 2015.

CARVALHO, F. C. et al. Mucoadhesive drug delivery systems. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 46, n. 1, p. 1–17, mar. 2010.

CAVALLARI, C.; BRIGIDI, P.; FINI, A. Ex-vivo and in-vitro assessment of mucoadhesive patches containing the gel-forming polysaccharide psyllium for buccal delivery of chlorhexidine base. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 496, n. 2, p. 593–600, 2015.

CHARRUEAU, C. et al. Poloxamer 407 as a Thermogelling and Adhesive Polymer for Rectal Administration of Short-Chain Fatty Acids. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 27, n. 4, p. 351–357, 2001.

CHUNG, Y.-M. et al. Sol-gel transition temperature of PLGA-g-PEG aqueous solutions. **Biomacromolecules**, v. 3, n. 3, p. 511–516, 2002.

COLEY, K. C. et al. Retrospective Evaluation of Unanticipated Admissions and Readmissions After Same Day Surgery and Associated Costs. **Journal of Clinical Anesthesia**, v. 14, n. 5, p. 349–353, 2002.

COSTA, L.; PAIVA, D. A.; CAVALCANTI, A. L. Anestésicos locais em odontologia: uma revisão de literatura local anesthetics in dentistry: a literature review. **Publicatio UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 11, n. 2, p. 35–42, 2005.

COSTA, P.; SOUSA LOBO, J. M. Modeling and comparison of dissolution profiles. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 13, n. 2, p. 123–133, 2001.

COURTNEY, K. R. Structure-activity relations for frequency-dependent sodium channel block in nerve by local anesthetics. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 213, n. 1, p. 114–119, 1980.

DEKA, D.; DEB, P.; DASH, S. Formulation development and evaluation of thermosensitive oral gel containing doxycycline hyclate. **WORLD JOURNAL OF PHARMACY AND PHARMACEUTICAL SCIENCES**, v. 5, n. 6, p. 1346–1357, 2016.

DUMORTIER, G. et al. A review of poloxamer 407 pharmaceutical and pharmacological characteristics. **Pharmaceutical research**, v. 23, n. 12, p. 2709–28, dez. 2006.

EDGCOMBE, H.; HOCKING, G. Local Anaesthetic Pharmacology 11/07/05. **World Anaesthetic Tutorial of the Week**, p. 1–7, 2005.

FERREIRA, S. B. DE S. et al. Rheological, mucoadhesive and textural properties of thermoresponsive polymer blends for biomedical applications. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 55, p. 164–178, 2015.

FERREIRA, S. B. DE S. et al. Linear correlation between rheological, mechanical and mucoadhesive properties of polycarbophil polymer blends for biomedical applications. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 68, n. November 2016, p. 265–275, 2017.

FITZPATRICK, S. D. et al. PNIPAAm-Grafted-Collagen as an injectable, *in situ* gelling, bioactive cell delivery scaffold. **Biomacromolecules**, v. 11, n. 9, p. 2261–2267, 2010.

FOSTER, R. H.; MARKHAM, A. Levobupivacaine: a review of its pharmacology and use as a local anaesthetic. **Drugs**, v. 59, n. 3, p. 551–79, mar. 2000.

GILBERT, J. C. et al. The effect of solutes and polymers on the gelation properties of pluronic F-127 solutions for controlled drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 5, n. 2, p. 113–118, 1987.

GONJARI, I. D. et al. Use of factorial design in formulation and evaluation of ophthalmic gels of gatifloxacin: Comparison of different mucoadhesive polymers. **Drug Discoveries & Therapeutics**, v. 4, n. 6, p. 423–434, 2010.

GRILLO, R. et al. Polymeric alginate nanoparticles containing the local anesthetic bupivacaine. **Journal of drug targeting**, v. 18, n. 9, p. 688–699, 2010.

HE, Z. et al. Doxycycline and hydroxypropyl- β -cyclodextrin complex in poloxamer thermal sensitive hydrogel for ophthalmic delivery. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 1, n. 4, p. 254–260, 2011.

HOARE, T. R.; KOHANE, D. S. Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges. **Polymer**, v. 49, n. 8, p. 1993–2007, 2008.

HUANG, L. et al. Thermo-sensitive composite hydrogels based on poloxamer 407 and alginate and their therapeutic effect in embolization in rabbit VX2 liver tumors. **Oncotarget**, p. 1–12, 2016a.

HUANG, W. et al. Preparation, pharmacokinetics and pharmacodynamics of ophthalmic thermosensitive *in situ* hydrogel of betaxolol hydrochloride. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 83, p. 107–113, 2016b.

ILFELD, B. M. et al. Safety and Side Effect Profile of Liposome Bupivacaine (Exparel) in Peripheral Nerve Blocks. **Regional Anesthesia and Pain Medicine**, v. 40, n. 5, p. 572–582, 2015.

JAIN, D. Newer Trends in *In Situ* Gelling Systems for Controlled Ocular Drug Delivery. **Journal of Analytical & Pharmaceutical Research**, v. 2, n. 3, p. 1–16, 26 maio 2016.

JIANG, Y. et al. Modified chitosan thermosensitive hydrogel enables sustained and efficient anti-tumor therapy via intratumoral injection. **Carbohydrate Polymers**, v. 144, p. 245–253, 2016.

JONES, D. S. et al. Design, characterisation and preliminary clinical evaluation of a novel mucoadhesive topical formulation containing tetracycline for the treatment of periodontal disease. **Journal of Controlled Release**, v. 67, n. 2–3, p. 357–368, jul. 2000.

JUNG, Y. et al. Thermo-sensitive injectable hydrogel based on the physical mixing of hyaluronic acid and Pluronic F-127 for sustained NSAID delivery. **Carbohydrate Polymers**, 2016.

JUNQUEIRA, M. V. et al. Evaluation of the methylene blue addition in binary polymeric systems composed by poloxamer 407 and Carbopol 934P using quality by design: rheological, textural, and mucoadhesive analysis. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 9045, n. May, p. 1–41, 2016.

KABANOV, A. V; BATRAKOVA, E. V; VALERY, Y. A. Pluronic block copolymers as novel polymer therapeutics for drug and gene delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 82, p. 189–212, 2002.

KLOUDA, L.; MIKOS, A. G. Thermoresponsive hydrogels in biomedical applications. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 68, n. 1, p. 34–45, jan. 2008.

KUMAR, K. et al. Bioadhesive polymers: Novel tool for drug delivery. **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology**, v. 42, n. 4, p. 274–283, 16 ago. 2014.

LAUWERS, K.; WHITEHURST, S. M. **Pain Management: A systems approach to improving quality and safety**. 5. ed. Oakbrook Terrace: Joint Commission Resources, 2012.

LI, Y.; RODRIGUES, J.; TOMÁS, H. Injectable and biodegradable hydrogels: gelation, biodegradation and biomedical applications. **Chemical Society reviews**, v. 41, n. 6, p. 2193–2221, 2012.

LIMA, L. R. DE et al. Controle da dor no pós-operatório de cirurgia cardíaca: uma breve revisão. **Revista eletrônica de enfermagem**, v. 10, n. 2, p. 521–9, 2008.

LIU, D. et al. An *In Situ* Gelling Drug Delivery System for Improved Recovery after Spinal Cord Injury. **Advanced Healthcare Materials**, v. 5, n. 12, p. 1513–1521, 2016.

LUSIANA; MÜLLER-GOYMANN, C. C. Preparation, characterization, and *in vitro* permeation study of terbinafine HCl in poloxamer 407-based thermogelling formulation for topical application. **AAPS PharmSciTech**, v. 12, n. 2, p. 496–506, jun. 2011.

M.A. FATHALLA, Z. et al. Poloxamer-based thermoresponsive ketorolac tromethamine *in situ* gel preparations: Design, characterisation, toxicity and transcorneal permeation studies. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 114, p. 119–134, 2017.

MAITRA, J.; SHUKLA, V. K. Cross-linking in Hydrogels - A Review. **American Journal of Polymer Science**, v. 4, n. 2, p. 25–31, 2014.

MANSURI, S. et al. Mucoadhesion: A promising approach in drug delivery system. **Reactive and Functional Polymers**, v. 100, p. 151–172, 2016.

MAZIA, R. S. et al. Formulation and Evaluation of a Mucoadhesive Thermoresponsive System Containing Brazilian Green Propolis for the Treatment of Lesions Caused by Herpes Simplex Type i. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 105, n. 1, p. 113–121, 2016.

MCCLELLAN, K. J.; SPENCER, C. M. Levobupivacaine. **Drugs**, v. 56, n. 3, p. 355–362, 1998.

MEDICINE, T. A. A. OF P. **FACTS AND FIGURES ON PAIN**. Disponível em: <http://www.painmed.org/patientcenter/facts_on_pain.aspx#hhs>. Acesso em: 10 jan. 2018.

MONTEIRO, M.; GOTARDO, M. A. Ftalato de di-(2-etilexila) (DEHP) em bolsas de PVC para soluções parenterais de grandes volumes. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 26, n. 1, p. 9–18, 2005.

MOORE, P. A.; HERSH, E. V. **Local Anesthetics: Pharmacology and Toxicity**Dental Clinics of North America, 2010.

NALLAGUNDLA, S.; PATNALA, S.; KANFER, I. Comparison of *in vitro* release rates of acyclovir from cream formulations using vertical diffusion cells. **AAPS PharmSciTech**, v. 15, n. 4, p. 994–9, ago. 2014.

NIKODE, S.; DIXIT, G.; UPADHYA, K. *In situ* gel: application and uses of polymers. **WORLD JOURNAL OF PHARMACY AND PHARMACEUTICAL SCIENCES**, v. 5, n. 7, p. 1638–1658, 2016.

PAAVOLA, A. et al. **Controlled release of lidocaine from injectable gels and efficacy in rat sciatic nerve block** *Pharmaceutical Research*, 1995.

PAAVOLA, A.; BERNARDS, C. M.; ROSENBERG, P. H. Controlled release ibuprofen-poloxamer gel for epidural use – A pharmacokinetic study using microdialysis in pigs. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 108, p. 180–186, 2016.

PANAPISAL, V.; CHAROENSRI, S.; TANTITUVANONT, A. Formulation of microemulsion systems for dermal delivery of silymarin. **AAPS PharmSciTech**, v. 13, n. 2, p. 389–99, jun. 2012.

PARK, K.; ROBINSON, J. R. Bioadhesive polymers as platforms for oral-controlled drug delivery: method to study bioadhesion. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 19, n. 2, p. 107–127, abr. 1984.

PARK, M. H. et al. Biodegradable thermogels. **Accounts of Chemical Research**, v. 45, n. 3, p. 424–433, 2012.

PARMAR, V.; LUMBHANI, A. FORMULATION AND DEVELOPMENT OF THERMO-REVERSIBLE MUCOADHESIVE INTRANASAL *IN SITU* HYDROGEL BY USING A COMBINATION OF POLYMERS. **Bulletin of Pharmaceutical Research**, v. 2, n. 3, p. 167–174, 2012.

PATEL, N. B.; KOPF, A. **Guide to Pain Management in Low-Resource Settings**. Seattle: International Association for the Study of Pain, 2010.

PATENAUDE, M.; SMEETS, N. M. B.; HOARE, T. Designing injectable, covalently cross-linked hydrogels for biomedical applications. **Macromolecular Rapid Communications**, v. 35, n. 6, p. 598–617, 2014.

PEDROSA, M. F. V.; PIMENTA, C. A. DE M.; CRUZ, D. DE A. L. M. DA. Efeitos Dos Programas Educativos No Controle Da Dor Pós-Operatória. **Ciência, Cuidado e Saúde**, v. 6, n. 1, p. 21–32, 2007.

PEGORARO, C.; MACNEIL, S.; BATTAGLIA, G. Transdermal drug delivery: from micro to nano. **Nanoscale**, v. 4, n. 6, p. 1881, 2012.

PEPPAS, N. A.; SAHLIN, J. J. Hydrogels as mucoadhesive and bioadhesive materials: A review. **Biomaterials**, v. 17, n. 16, p. 1553–1561, 1996.

PEREIRA, R. R. DE A. et al. Preparation and characterization of mucoadhesive thermoresponsive systems containing propolis for the treatment of vulvovaginal candidiasis. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 102, n. 4, p. 1222–1234, 2013.

PIMENTA, C. A. D. M. et al. Controle da dor no pós-operatório. **Rev Esc Enferm USP**, v. 35, n. 2, p. 180–3, 2001.

POLOMANO, R. C. et al. Perspective on pain management in the 21st century. **Pain management nursing: official journal of the American Society of Pain Management Nurses**, v. 9, n. 1 Suppl, p. S3–S10, 2008.

QI, X. et al. Intra-articular Administration of Chitosan Thermosensitive *in Situ* Hydrogels Combined with Diclofenac Sodium-Loaded Alginate Microspheres. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 105, n. 1, p. 122–130, 2016.

RADIOVJŠA, M.; GRABNAR, I.; GRABNAR, P. A. Thermoreversible *in situ* gelling poloxamer-based systems with chitosan nanocomplexes for prolonged subcutaneous delivery of heparin: Design and *in vitro* evaluation. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 50, n. 1, p. 93–101, 2013.

RATHMELL, J. P. et al. Acute Post-Surgical Pain Management: A Critical Appraisal of Current Practice. **Regional Anesthesia and Pain Medicine**, v. 31, n. 4, p. 1–42, 2006.

RATHMELL, J. P.; LAIR, T. R.; NAUMAN, B. The Role of Intrathecal Drugs in the Treatment of Acute Pain. **Anesthesia & Analgesia**, v. 101, n. 5S, p. 30–43, 2005.

REECE, T. B.; MAXEY, T. S.; KRON, I. L. A prospectus on tissue adhesives. **The American Journal of Surgery**, v. 182, n. 2, p. S40–S44, 2001.

RENÇBER, S. et al. Mucoadhesive in situ gel formulation for vaginal delivery of clotrimazole: formulation, preparation, and *in vitro/in vivo* evaluation. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 7450, n. April, p. 1–11, 2016.

RICCI, E. J. et al. Rheological characterization of Poloxamer 407 lidocaine hydrochloride gels. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 17, n. 3, p. 161–167, 2002.

RICCI, E. J. et al. Sustained release of lidocaine from Poloxamer 407 gels. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 288, n. 2, p. 235–244, 2005.

ROY, S. K.; PRABHAKAR, B. Bioadhesive polymeric platforms for transmucosal drug delivery systems - A review. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 9, n. 1, p. 91–104, 2010.

RUEL-GARIÉPY, E.; LEROUX, J. C. *In situ*-forming hydrogels - Review of temperature-sensitive systems. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 58, n. 2, p. 409–426, 2004.

SADATSUNE, E. J.; CLIVATTI, J.; SAKATA, R. K. Dor crônica pós-operatória: fi siopatologia , fatores de risco e prevenção. **Revista Dor**, v. 12, n. 1, p. 58–63, 2011.

SANDRI, G. et al. Ophthalmic delivery systems based on drug-polymer-polymer ionic ternary interaction: In vitro and *in vivo* characterization. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 62, n. 1, p. 59–69, 2006.

SANDRI, G. et al. An *in situ* gelling buccal spray containing platelet lysate for the treatment of oral mucositis. **Current drug discovery technologies**, v. 8, n. 3, p. 277–85, 2011.

SCHMOLKA, I. R. Artificial skin I. Preparation and properties of pluronic F-127 gels for treatment of burns. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 6, n. 6, p. 571–582, nov. 1972.

SHAKER, D. S. et al. *In situ* thermosensitive Tamoxifen citrate loaded hydrogels: An effective tool in breast cancer loco-regional therapy. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 35, p. 155–164, 2016.

SHASTRI, D. H. et al. Formulation Development and Evaluation of a Gastroretentive *in situ* oral gel of Cefuroxime Axetil. **Journal of Young Pharmacists**, v. 8, n. 4, p. 324–329, 2016.

SILVA, J. A. et al. Physicochemical Characterization and Development of a Microemulsion System for Transdermal Use. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 31, n. 1, p. 1–8, 15 dez. 2009.

SIMONETTI, M.P.B, VALINETI, E.A., FERREIRA, F. M. C. Avaliação Da Atividade Anestésica Local Da S(-)Bupivacaína: Estudo Experimental *In Vivo* No Nervo Ciático De Rato. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 47, n. 5, p. 424–434, 1997.

SIMONETTI, M.P.B; BATISTA, R.A.; FERREIRA, F. M. C. Estereoisomeria A Interface Da Tecnologia Industrial De Medicamentos E Da Racionalização Terapêutica. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 48, n. 5, p. 390–399, 1998.

SIVARAMAN, A.; BANGA, A. K. Formulation and evaluation of sublingual delivery of piroxicam using thermosensitive polymer with an inverted Franz diffusion cell. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 68, n. 1, p. 26–35, 2016.

SMART, J. D. The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 57, n. 11, p. 1556–1568, 2005.

STACEY, B. R.; RUDY, T. E.; NELLHAUS, D. Management of patient-controlled analgesia: A comparison of primary surgeons and a dedicated pain service. **Anesthesia and Analgesia**, v. 85, n. 1, p. 130–134, 1997.

SUH, H.; JUN, H. W. Physicochemical and release studies of naproxen in poloxamer gels. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 129, n. 1–2, p. 13–20, mar. 1996.

SURDAM, J. W. et al. The use of exparel (liposomal bupivacaine) to manage postoperative pain in unilateral total knee arthroplasty patients. **Journal of Arthroplasty**, v. 30, n. 2, p. 325–329, 2015.

SVIRSKIS, D. et al. Injectable thermosensitive gelling delivery system for the sustained release of lidocaine. **Therapeutic Delivery**, v. 7, n. 6, p. 359–368, jun. 2016.

UR-REHMAN, T.; TAVELIN, S.; GRÖBNER, G. Chitosan *in situ* gelation for improved drug loading and retention in poloxamer 407 gels. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 409, n. 1–2, p. 19–29, 2011.

VAZ, J. L. M. V. M. S. C. Fisiopatologia da Dor Pós-operatória. **Educação Médica Continuada do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 1, n. 2, p. 3–10, 2005.

VHORA, I. et al. Caprylate-conjugated Cisplatin for the development of novel liposomal formulation. **AAPS PharmSciTech**, v. 15, n. 4, p. 845–57, ago. 2014.

VILA, V. DA S. C.; MUSSI, F. C. Postoperative patient's pain relief under perspective of Nurses of the intensive care unit. **REVISTA DA ESCOLA DE ENFERMAGEM DA USP**, v. 35, n. 3, p. 300–307, 2001.

VINTILOIU, A.; LEROUX, J. Organogels and their use in drug delivery — A review. **Journal of Controlled Release**, v. 125, n. 3, p. 179–192, 2008.

VOSCOPOULOS, C.; LEMA, M. When does acute pain become chronic? **British journal of anaesthesia**, v. 105 Suppl, p. i69–i85, 2010.

WANG, W. et al. In vitro drug release and percutaneous behavior of poloxamer-based hydrogel formulation containing traditional Chinese medicine. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 148, p. 526–532, 2016.

WOLINSKY, J. B.; COLSON, Y. L.; GRINSTAFF, M. W. Local drug delivery strategies for cancer treatment: Gels, nanoparticles, polymeric films, rods, and wafers. **Journal of Controlled Release**, v. 159, n. 1, p. 14–26, 2012.

XU, H.-L. et al. Thermo-sensitive hydrogels combined with decellularised matrix deliver bFGF for the functional recovery of rats after a spinal cord injury. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 38332, 2016.

YAGIELA, J. A. Local anesthetics. **Anaesthesia Progress**, v. 38, n. 4–5, p. 128–141, 1991.

YAN, J. et al. Biocompatibility evaluation of chitosan-based injectable hydrogels for the culturing mice mesenchymal stem cells in vitro. **Journal of Biomaterials Applications**, v. 24, n. 7, p. 625–637, 2010.

YU, L. et al. In vitro and *in vivo* evaluation of a once-weekly formulation of an antidiabetic peptide drug exenatide in an injectable thermogel. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 102, n. 11, p. 4140–4149, 2013.

ZHANG, L. et al. Development and in-vitro evaluation of sustained release Poloxamer 407 (P407) gel formulations of ceftiofur. **Journal of Controlled Release**, v. 85, n. 1–3, p. 73–81, 2002.

ZHANG, Z. et al. Biodegradable and thermoreversible PCLA-PEG-PCLA hydrogel as a barrier for prevention of post-operative adhesion. **Biomaterials**, v. 32, n. 21, p. 4725–4736, 2011.

ZHU, Z. et al. The development of polycarbophil as a bioadhesive material in pharmacy. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 8, n. 4, p. 218–227, 2013.

APÊNDICE A – Submissão do manuscrito

AAPS PharmSciTech

Development and Characterization of Injectable Thermosensitive Hydrogel of Levobupivacaine for Long-acting Analgesia

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	
Full Title:	Development and Characterization of Injectable Thermosensitive Hydrogel of Levobupivacaine for Long-acting Analgesia
Article Type:	Research Article
Section/Category:	NOT APPLICABLE (Choose this section if you have NOT been invited to submit a manuscript)
Keywords:	Poloxamer, Levobupivacaine, Thermogel, in vitro release, Subcutaneous delivery
Corresponding Author:	Ellison Neves de Lima Universidade Federal de Pernambuco Recife, Pernambuco BRAZIL
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	Universidade Federal de Pernambuco
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Ellison Neves de Lima
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	Ellison Neves de Lima Davi Pereira de Santana Ana Rosa Brissant de Andrade Leila Bastos Leal
Order of Authors Secondary Information:	
Manuscript Region of Origin:	BRAZIL
Abstract:	The adequate management of analgesia, by pharmacological methods or not, is a great challenge. Local anesthetics are used for pain relief, mainly by parenteral, intramuscular, catheter and other routes of administration. The use of in situ forming systems becomes an alternative for the control of pain. The present research investigates development of thermogels containing poloxamer and levobupivacaine. All formulations were prepared by the cold method, the compatibilities of the excipients were evaluated by DSC, rheology and viscosities, transition temperature, syringeability, release kinetics and permeation. The compatibility of the tested excipients with the drug was initially observed, all formulations had viscosity increase at 37 ° C. Different delivery rates were observed in both the release and permeation study. The developed systems maintained the in vitro release of the drug for a long period, likely decreasing side effects in vivo and avoiding the need for supplementary analgesia by other routes.
Suggested Reviewers:	Eryvaldo Socrates Egito, Dr. Universidade Federal do Rio Grande do Norte socratesegito@gmail.com Sarah Cordery, Dr. University of Bath s.cordery@bath.ac.uk

INTRODUCTION

Pain is a frequent phenomenon in the postoperative period and may result in patient suffering and exposure to unnecessary risks (1). Furthermore, acute postoperative pain may become chronic, in particular, when poorly controlled. An estimated 40 million Americans who undergo surgery every year, suffer from inadequate control of postoperative pain (2,3).

Effective prevention and relief of pain in the perioperative period, especially acute postoperative pain, can improve clinical outcomes, avoid clinical complications, save resources, and improve the quality of life (4,5).

Drug delivery systems, that prolong drug release, were studied using local anesthetic agents. Injections would be applied into soft tissue surrounding the surgical site, or by applying into subcutaneous tissue, and used to surround the surgical area, for the purpose of postoperative analgesia (6–8).

Local anesthetics, when applied at appropriate concentrations, reversibly inhibit peripheral nerve conduction. Because of their safety and efficacy, local anesthetics are administered in various forms (9,10).

Bupivacaine hydrochloride is the most commonly used drug for epidural anesthesia; it is present as the racemic mixture of two enantiomers. However, in some cases, cardiotoxicity has been associated with its administration (11). Several studies, both in animals and humans, showed that after the separation of the R and S enantiomeric forms, the levorotatory form was more potent and showed fewer side effects, compared to the dextrorotatory form and the racemic mixture (12,13). Previous studies also reported that the mixture of the two enantiomeric forms, at different concentrations, contributed to an increased residence time of the drug at the active site, without side effects, such as cardiotoxicity (14,15). Side effects, according to the study by Simonetti, were not observed in the 75S / 25R ratio of bupivacaine. Generating patent and being commercialized in Brazil, as "levobupivacaine hydrochloride in enantiomeric excess of 50%" (bupivacaine 75S/25R).

In situ forming systems are based on different approaches, including solvent exchange, UV radiation, pH, and temperature (16). Block copolymers have long been used in the pharmaceutical industry for different applications (17). These polymers consist of a homopolymer with both termini attached to another homopolymer. Poloxamer 407 (P407), which consists of an ethylene oxide chain, as the end homopolymer, and propylene oxide, as the central homopolymer, is used, for instance, as a gelling agent and a surfactant in different types of preparations, including oral and ophthalmic solutions and topical products (18,19).

At high concentrations (10%-25%) poloxamer 407 exhibits thermosensitive behavior (20), being extensively studied in *in situ* forming systems (21). As the temperature increases, the copolymer molecules of Poloxamer 407 aggregate into micelles, followed by gelation (16).

The transition temperature of the sol-gel state ($T_{\text{sol-gel}}$) varies according to the polymer concentration in solution. The higher the concentration, the lower the temperature of the state transition (21). Other excipients and active pharmaceutical ingredients (API) may also affect this temperature, such as: salts, gelling agents, solvents, diclofenac, and vitamin B12 (16). $T_{\text{sol-gel}}$ variations affect the rheological properties as well as the adhesiveness and strength of the gel (21).

The addition of other polymers alters or may confer additional important properties to thermogels, such as adhesiveness, viscosity, influence on drug release, among others (22,23). The polymers most commonly used in formulations are: polyvinyl alcohol (PVA), polyalcohol, polyacrylic acid (PAA), polyethylene oxide (PEO), polymethacrylate, polyalkylcyanoacrylate systems, xanthan gum, and cellulose derivatives (methylcellulose, carboxymethylcellulose, hydroxypropylcellulose, hydroxyethylcellulose (HEC) (24).

The aim of minimizing pain and reducing the use of other drugs, justifies the application of injectable gel, to prolong the release of bupivacaine 75S/25R in the site of origin.

MATERIALS AND METHOD

Poloxamer 407 (Pluronic F-127 ®) was purchased from BASF. Hydroxyethylcellulose (HEC) was obtained from Samsung Fine Chemicals (South Korea). Levobupivacaine (LBPV) hydrochloride was kindly provided by Cristália Indústria Química e Farmacêutica Ltda (Brazil). The ammonium bicarbonate salt (NH_4HCO_3) and the potassium phosphate monobasic (KH_2PO_4) was purchased from ISO FAR (Brazil). HPLC grade methanol was obtained from Merck (Germany). All solutions were prepared in purified water.

Methods

Gel preparation

Monopolymer formulations containing 15% and 15.50% (w/w) P407 were prepared using the ‘cold method’ (25), through dispersion of the required amount of P407 in saline solution at 4 °C, under mild stirring. In addition, formulations containing 15% and 15.50% (w/w) of P407 with 0.1 and 0.2% (w/w) of hydroxyethylcellulose, were also prepared using the method described by Schmolka, and four more formulations were prepared containing 1.5% of LBPV, according to Table 1.

Differential scanning calorimetry (DSC)

Differential scanning calorimetry (DSC; STA 449 F3 –JUPITER, NETZSCH, Germany) was performed to assess the thermotropic properties and thermal behavior of levobupivacaine, P407 and HEC, a physical mixture of LBPV/P407 (1:1), a physical mixture of LBPV/HEC (1:1), and a physical mixture of LBPV/P407/HEC (1:1:1). The samples (10-20 mg) were heated in aluminum pans with lid at a constant heating rate of 10 °C/min, up to 300°C. Nitrogen was used as a purge gas through the DSC cell.

Sol-gel transition temperature

The determination of the gelling temperature was performed by means of a rotational rheometer of concentric cylinders, Searle-type (Anton Paar MCR 500), with rotation of the internal cylinder, while the external cylinder remains at rest. Rheoplus ® software was used to describe the flow characteristics (v. 3.40, Anton Paar). The formulation was heated from 20 °C to 40 °C, at a heating rate of 1 °C per minute. The transition temperature was defined as the inflection point of the curve (16,26,27). The storage modulus (G') and the loss modulus (G'') were also assessed with the same apparatus. The sol/gel T was defined as the T at which the values of the storage modulus equal those of the loss modulus (28–30).

The gelation temperatures of the formulations were also determined by the “Tube Inversion Method”, following Ur-Rehman, Tavelin, Gröbner (31) and Lin *et al.* (32). Flasks in triplicate, containing 2 mL of the formulation at room temperature, were submitted to a gradual increase of temperature of 1°C in a water bath. Gelling was considered complete when the sample no longer slid in the flask.

pH determination

The pH of the formulations was determined by a pH meter model PG 1800 (GEHAKA®), at a temperature of 4 °C, without dilution of the product.

Syringeability

The syringe work of the thermo-responsive systems was measured using a compression-mode texture analyzer (CT3 texture Analyzer, Brookfield). The formulations were carefully filled in identical plastic syringes of 1 mL, up to 30 mm in height, avoiding air bubbles. The syringe was placed vertically in a holder and the probe was lowered until the first contact with the plunger of the syringe. The probe was then lowered at a constant speed (2.0 mm/s) through a distance of 30 mm (33–35). The area under the resulting curve was used to determine the expulsion work. All evaluations were performed at 25°C with three replicates.

Texture Profile

Analysis of the texture profile of the formulations was performed using a texture analyzer (CT3 texture Analyzer, Brookfield) in the texture analysis mode.

A sample of the formulation was placed in glass flasks, preventing the introduction of air bubbles. A polycarbonate analytical probe (10 mm diameter) was compressed twice inside the sample, in the APT mode, with a velocity of 2 mm/s, 15 mm depth, and a time window of 15 s between the end of the first and the beginning of the second compression. The analysis was performed for at least three replicates at temperatures of 25 °C and 37 °C. The hardness (force required to achieve a given deformation), elasticity (ability the stretch and return to original size and shape), and adhesiveness (work required to overcome the forces of attraction between the surface of the sample and the surface of the test) were calculated from the plots of the force versus distance and force versus time (29,34,35).

Kinetics - *In vitro* Release Study

The evaluation of the *in vitro* release profile of the drug from the formulations was performed by the membrane free method (36,37); 1g of sample was transferred to a cryogenic tube and placed in a bath under heating at 37 °C; after gelation 2ml of the receiving medium (phosphate buffer solution pH 5.0) , also at 37 °C, was carefully placed over the gel. 0.4 mL aliquots were withdrawn at predetermined time intervals (0.5h, 1h, 2h, 4h, 8h, 12h, 24h, 36h, 48h, 60h, 72h, 84h, 96h, 108h, and 120h); the same volume was restored immediately after each collection. The quantification was performed by HPLC-UV.

In vitro permeation study

These experiments on rats were approved by the Ethical Committee of the Federal University of Pernambuco (Registration no. 23076.007923/2017-61) and performed in Franz diffusion cells (Vision® Microette automated diffusion test system, Chatsworth, USA).

Wistar rat skin was obtained by excision, after euthanasia with a lethal isoflurane dose, and maintained in a bed with controlled temperature (37°C) during the subcutaneous application of 0.5ml of the formulation. At the end, the skin was mounted between the donor and receptor chamber. The receiving compartment was filled with phosphate buffer solution pH=7.0, under heating with water circulation (37°C) and magnetic stirring (300 rpm). 1 mL aliquots were collected (the percentage of LBPV were analyzed by HPLC-UV) at predetermined time intervals (2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 36, 48, 60, and 72h) and immediately replaced with an equal volume of the receptor medium.

Chromatographic conditions

A HPLC-UV validated method was developed to determine the amount of drug in the samples. The analyses were performed in a system consisting of a Shimadzu chromatograph with CBM-20A controller, auto injector SIL-30AC, LC-30AD pump, and a SPD-M20A detector adjusted for a wavelength of 220 nm. The separation was performed by reverse phase column Shimadzu® 150 x 4.60 mm C18 (5 µm) under a flow of 1.2 mL/min, calibrated with a 10-200 µL curve. The mobile phase was comprised of methanol:ammonium bicarbonate solution, 20 mM, (70:30, v/v).

Data analysis

The release profiles were analyzed against defined time intervals and the following models were applied according to the equations: zero order, first order, and Higuchi. The linear coefficient (R) was determined for each kinetic model through linear regression analysis. The model with the highest value of R was selected. The release rate value corresponds to the slope (a) of the linear portion of the selected kinetic model (38).

All values were expressed as mean ± standard deviation (SD). Statistical differences were determined through one-way ANOVA and Tukey's post-hoc test; differences were considered significant for $p < 0.05$.

Steady state flux (J_{ss}) and lag time for each formulation were calculated, permeability coefficient (K_p) also was calculated using the following equation: $K_p = J_{ss}/C_0$, where, C_0 is the initial drug concentration.

The mathematical and statistical analyses were performed with the Calc (LibreOffice®) and Prism (GraphPad®) software.

RESULTS AND DISCUSSIONS

pH determination

The ideal pH of a formulation is standardized according to the stability pH of the active components used, and the tolerance of the organism (39,40)

The values observed in Table 2 confirm that the formulations have a pH compatible with the characteristics of the drug, the formulations, and the organism (23,41).

Differential scanning calorimetry (DSC)

DSC studies were carried out to determine the interaction between the drug and the polymers in the prepared gels. This technique also indicates the compatibility between the drug and polymers, in stability studies (42). The peak point was 251.72 °C for LBPV, 60.16 °C for Poloxamer 407, and 122.72 °C for HEC. This shows that the LBPV used was in a pure form. A mixture of the drug and P407 showed endothermic peaks resembling the peak of the pure drug. The mixture of the drug and the polymers (1: 1: 1) showed no peak, as both polymers melted. Thus, no prominent peak resembling the drug peak was observed; the largest exothermic peak was seen at 100 °C. Representing polymorphs remain present in higher concentration in their amorphous form (figure 1).

Rheological Analysis

The values of the transition temperature of the sol-gel state obtained through the different methodologies are shown in Table 3.

Figure 2 shows the viscosity versus temperature, where it is possible to determine the gelling temperature graphically, as the inflection point of the curve. This methodology allows observation of the increase of the viscosity as a function of temperature. Micelles organize during the heating until a maximum viscosity is reached, demonstrating the completeness of the process (43,44) .

The increase in the concentration of P407 (15 to 15.5%) does not alter the transition temperature, similar to the HEC insertion, where only a mild increase in the transition temperature is observed. The presence of cellulose derivatives increases G' and the complex viscosity. This increase is due to inter-micellar interactions and the effect on the hydrophilic chain, as described by Dumortier (16) .

Similar results were observed through other methodologies, as well as their behavior (Table 3), when using the tube inversion method. The latter is a visual method and, therefore, subjective, although simple and easy to reproduce (45,46). Gelation occurred slightly below the physiological temperature for all the gels. The latter is a required characteristic in order to allow the formulation to be administered through a syringe at room temperature, forming the gel after injection (26,30).

An increase of the viscosity of the formulations was observed at 37 °C, compared to the viscosity at refrigerated and room temperatures. This indicates that formation of the gel structure is induced by the temperature increase, acting on the Poloxamer (47,48). This mechanism of increase of viscosity is due to packing of micelles, as a result of PPO block dehydration (49).

Syringeability and Texture Profile

The syringeability is an important parameter with respect to the development of thermosensitive gels, since it probes the ease with which the formulation is expelled from the syringe, but not so low as to cause leakage of the storage material or application site (35).

The results of the test performed on a texture analyzer are shown in Table 4. No statistical difference between the formulations, regarding the expulsion force, was observed. The values obtained, namely, 9.51N (lowest value) and 14.23N (highest value), are within the range reported in the literature, showing that values up to 380 N are suitable for application (50,51) .

The mechanical properties (hardness, adhesiveness, and elasticity) of the formulations were also investigated and are exhibited in Table 4. These properties allow probing the formulations' suitability as thermosensitive controlled release systems (52).

Hardness values were between 0.09-0.21N (25°C) and 0.15-0.44N (37°C); no statistical difference between the formulations was observed. The increase of P407 concentration and the addition of HEC did not influence hardness. The concentrations of the polymers and of the drug used in this study did not affect the mechanical properties, in contrast to other studies, where an increase of these values was observed when HEC concentrations above 3% were used (13).

Elasticity is the capacity to stretch and return to its original size and shape; the results showed low elasticity values, thus better characteristics, since the time required to create and structure a formulation will be less. Adhesiveness, the work required to overcome the attraction forces between sample and probe surfaces, can lead

to major biological surface retention, and therefore could improve clinical efficacy (29,33,35). As demonstrated in hardness property, no statistical difference between the formulations was observed.

The addition of polymers caused an increase in viscosity, working as a matrix system through retention of the drug in the formulation, and causing adhesion to the tissues or organs to which it was applied. Furthermore, the greater or lower adhesiveness will be directly proportional to the concentration of mucin in the applied region (24,53).

Kinetics - *In vitro* release study

Figure 3 shows the percentage of release as a function of time, for the studied formulations. Formulations F1, F2 and F3 reached almost 100% LBPV release after 5 days, the same behavior was observed in more concentrated F7, F8, F9 and F10 formulations, while the other formulations containing 0.5% LBPV, exhibited less than 40% drug release after that same period. Thus, all thermoresponsive formulations are shown to exhibit prolonged drug release behavior. This release can be attributed to the micelles formed by the polymer (P407) and mainly to the tortuous structure of the HEC gel, explaining results for F5 and F6 formulations (36). Additional *in vivo* studies are needed to determine whether this low release rate is pharmacologically effective.

The membrane free model used to study the *in vitro* release of the drug from thermosensitive gels allows the release medium to be in direct contact with the surface of the gel. The gels dissolve rapidly, resulting in dissolution-controlled release. Due to the intended subcutaneous administration, this model is expected to be the closest to the *in vivo* conditions, since the gel would come in direct contact with the extracellular fluid, rapidly dissolving after injection. With this in mind, it has been taken into account that 2 mL of the receptor liquid is biorelevant (54,55). Considering this assertion as true, formulations F5 and F6 strongly trap the drug, making it difficult to release the drug (30% released within 5 days).

In vitro permeation

Permeation studies are commonly used to evaluate the release (cutaneous transport) of drugs intended for skin application, in various dosage forms (56). *In vitro* cutaneous permeation studies were performed to compare drug release in 10 different formulations. *In vitro* skin permeation was higher for the F1, F2, F3, F7, F8, F9 and F10 formulations, releasing over 50% of the drug in 12 hours, and lower for the F4-F6 formulations, with less than 30%. When compared among formulations that contain 1.5% of the drug, all released more than 50% in 12 hours (Figure 4). The skin permeation profiles of F5 and F6 were significantly different when compared to the other formulations ($P < 0.05$). The significant difference in the permeability of LBPV between the formulations is probably due to the higher concentration of HEC in the thermogels evaluated. The HEC drug release decreasing effect can be attributed to its ability to increase the overall viscosity of the product, as well as its ability to distort or 'squeeze' the extra-micellar aqueous channels of poloxamer micelles, through which the drug diffuses, thus, delaying the release process (42). These differences can be seen when the parameters of amount of LBPV permeated (Q_{12h}) and the flux (J) after 12h are compared (Table 5). Considering that the objective of this work is to obtain a formulation with a longer duration of effect at the site of application (subcutaneous tissue / areas around the surgery), the more slowly the drug permeation occurs, the better, except in the case where the drug does not leave the formulation as observed for F5 and F6 s. In view of this, the formulations of choice to take forward would be F10, F1 and F4 (with high, medium and low release). Additional *in vivo* studies are needed to determine whether this amount and the permeation rate is pharmacologically effective.

Mathematical modeling

The LBPV release mechanism was investigated through models of zero order, first order, and Higuchi (Table 6). Analysis of the determination coefficients indicated the mode of release of the drug from the gels (57–59).

The release model proposed by Higuchi suggests that the release of the drug occurs through diffusion. Thus, it can be concluded that the rate determining step of the LBPV release from the thermogel, is the diffusion of the drug through the P407 micelles (60,61), combined with the diffusion of the drug through the hydrogels until reaching the site of action (20).

Moreover, evidence has been found that P407 micelles work as a reservoir for the release of substances and are, therefore, useful for prolonged drug release in semisolid systems (62). In addition, more concentrated gels dissolve more slowly, due to the decrease of the water diffusion coefficient in the gel (63). However, the

differences relative to the release of products with lower concentration are due to the presence of HEC (55,64,65).

CONCLUSION

Gel polymeric binary systems were developed using mucoadhesive polymers. DSC analysis indicated compatibility between the polymers and the drug. These gels were found to have a satisfactory gelling temperature, as well as syringeability and mechanical properties (hardness, elasticity, and adhesion). The rheological study of the formulations indicated that the gels exhibited pseudoplastic rheology, as shown by shear thinning and a decrease in viscosity at increased angular velocity. *In vitro* skin permeation studies, and release kinetics studies, indicated a Higuchi model to be the most suitable. Overall, it is concluded that it was possible to develop thermogels that can maintain the release of the drug for a long period of time, likely decreasing side effects and avoiding the need for supplementary analgesia by other routes; additional *in vivo* studies are of course needed to determine whether this amount and the rate permeation is pharmacologically effective.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Brazil) for the grant, NUDFAC/ Farmácia Escola Carlos Drummond de Andrade/UFPE, Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE).

REFERENCES

1. Pimenta CADM, Santos EMM, Chaves LD, Martins LM, Gutierrez BAO. Controle da dor no pós-operatório. *Rev Esc Enferm USP*. 2001;35(2):180–3.
2. Polomano RC, Dunwoody CJ, Krenzischek D a, Rathmell JP. Perspective on pain management in the 21st century. *Pain Manag Nurs*. 2008;9(1 Suppl):S3–10.
3. Argoff C. Review Mechanisms of pain transmission and pharmacologic management. *Curr Med Res Opin*. 2011;27(10):2019–31.
4. Ashburn MA. Future Challenges in Anesthesia-based Acute Postoperative Pain Management. *ASA Refresh Courses Anesthesiol*. 1999;27(1):1–12.
5. Apfelbaum JL, Chen C, Mehta SS, Gan TJ. Postoperative pain experience: results from a national survey suggest postoperative pain continues to be undermanaged. *Anesth Analg*. 2003;97(2):534–540.
6. Butz DR, Shenaq DS, Rundell VLM, Kepler B, Liederbach E, Thiel J, et al. Postoperative Pain and Length of Stay Lowered by Use of Exparel in Immediate, Implant-Based Breast Reconstruction. *Plast Reconstr Surg - Glob Open* [Internet]. 2015;3(5):e391. Available from: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=01720096-201505000-00003>
7. Ilfeld BM, Viscusi ER, Hadzic A, Minkowitz HS, Morren MD, Lookabaugh J, et al. Safety and Side Effect Profile of Liposome Bupivacaine (Exparel) in Peripheral Nerve Blocks. *Reg Anesth Pain Med* [Internet]. 2015;40(5):572–82. Available from: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00115550-201509000-00018>
8. Surdam JW, Licini DJ, Baynes NT, Arce BR. The use of exparel (liposomal bupivacaine) to manage postoperative pain in unilateral total knee arthroplasty patients. *J Arthroplasty* [Internet]. 2015;30(2):325–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.arth.2014.09.004>

9. Yagiela J a. Local anesthetics. *Anaesth Prog* [Internet]. 1991;38(4–5):128–41. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2190304/>
10. Moore P a., Hersh E V. Local Anesthetics: Pharmacology and Toxicity. Vol. 54, *Dental Clinics of North America*. 2010. p. 587–99.
11. Foster RH, Markham A. Levobupivacaine: a review of its pharmacology and use as a local anaesthetic. *Drugs* [Internet]. 2000 Mar [cited 2014 Oct 6];59(3):551–79. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10776835>
12. Simonetti, M.P.B, Valinetti, E.A., Ferreira FMC. Avaliação Da Atividade Anestésica Local Da S(-)Bupivacaína: Estudo Experimental In Vivo No Nervo Ciático De Rato. *Rev Bras Anesthesiol*. 1997;47(5):424–34.
13. Jones DS, Woolfson AD, Brown AF, Coulter WA, McClelland C, Irwin CR. Design, characterisation and preliminary clinical evaluation of a novel mucoadhesive topical formulation containing tetracycline for the treatment of periodontal disease. *J Control Release* [Internet]. 2000 Jul;67(2–3):357–68. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168365900002315>
14. Simonetti, M.P.B; Batista, R.A.; Ferreira FMC. Estereoisomeria A Interface Da Tecnologia Industrial De Medicamentos E Da Racionalização Terapêutica. *Rev Bras Anesthesiol*. 1998;48(5):390–9.
15. Bergamaschi, F.; Balle, V.R.; Gomes, M.E.W.; Machado, S.B.; Mendes FF. Levobupivacaína Versus Bupivacaína em Anestesia Peridural para Cesarianas. Estudo Comparativo. *Rev Bras Anesthesiol*. 2005;55(6):606–13.
16. Dumortier G, Grossiord JL, Agnely F, Chaumeil JC. A review of poloxamer 407 pharmaceutical and pharmacological characteristics. *Pharm Res* [Internet]. 2006 Dec [cited 2014 Nov 7];23(12):2709–28. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17096184>
17. Bonacucina G, Cespi M, Mencarelli G, Giorgioni G, Palmieri GF. Thermosensitive Self-Assembling Block Copolymers as Drug Delivery Systems. *Polymers (Basel)*. 2011;3(2):779–811.
18. Park MH, Joo MK, Choi BG, Jeong B. Biodegradable thermogels. *Acc Chem Res*. 2012;45(3):424–33.
19. Al-Kassas R, Wen J, Cheng AE-M, Kim AM-J, Liu SSM, Yu J. Transdermal delivery of propranolol hydrochloride through chitosan nanoparticles dispersed in mucoadhesive gel. *Carbohydr Polym* [Internet]. 2016; Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861716307718>
20. Ricci EJ, Lunardi LO, Nanclares DMA, Marchetti JM. Sustained release of lidocaine from Poloxamer 407 gels. *Int J Pharm*. 2005;288(2):235–44.
21. Vintiloiu A, Leroux J. Organogels and their use in drug delivery — A review. *J Control Release*. 2008;125(3):179–92.
22. Almeida H, Amaral MH, Lobão P, Lobo JMS. In situ gelling systems: A strategy to improve the bioavailability of ophthalmic pharmaceutical formulations. *Drug Discov Today*. 2014;19(4):400–12.
23. Arbelaez-Camargo D, Suñé-Negre JM, Roig-Carreras M, García-Montoya E, Pérez-Lozano P, Miñarro-Carmona M, et al. Preformulation and characterization of a lidocaine hydrochloride and dexamethasone sodium phosphate thermo-reversible and bioadhesive long-acting gel for intraperitoneal administration. *Int J Pharm*. 2016;498(1–2):142–52.
24. Jain D. Newer Trends in In Situ Gelling Systems for Controlled Ocular Drug Delivery. *J Anal Pharm Res* [Internet]. 2016 May 26;2(3):1–16. Available from: <http://medcraveonline.com/JAPLR/JAPLR-02-00022.php>

25. Schmolka IR. Artificial skin I. Preparation and properties of pluronic F-127 gels for treatment of burns. *J Biomed Mater Res* [Internet]. 1972 Nov;6(6):571–82. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/jbm.820060609>
26. Charrueau C, Tuleu C, Astre V, Grossiord J-L, Chaumeil J-C. Poloxamer 407 as a Thermogelling and Adhesive Polymer for Rectal Administration of Short-Chain Fatty Acids. *Drug Dev Ind Pharm* [Internet]. 2001;27(4):351–7. Available from: www.dekker.com
27. Wang X, Zhao X, Lin T, Guo H. Thermo-sensitive hydrogel for preventing bowel injury in percutaneous renal radiofrequency ablation. *Int Urol Nephrol* [Internet]. 2016 Oct 9;48(10):1593–600. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s11255-016-1349-1>
28. Jiang Y, Meng X, Wu Z, Qi X. Modified chitosan thermosensitive hydrogel enables sustained and efficient anti-tumor therapy via intratumoral injection. *Carbohydr Polym* [Internet]. 2016;144:245–53. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.02.059>
29. Mazia RS, De Araújo Pereira RR, De Francisco LMB, Natali MRM, Dias Filho BP, Nakamura CV, et al. Formulation and Evaluation of a Mucoadhesive Thermoresponsive System Containing Brazilian Green Propolis for the Treatment of Lesions Caused by Herpes Simplex Type i. *J Pharm Sci*. 2016;105(1):113–21.
30. Svirskis D, Chandramouli K, Bhusal P, Wu Z, Alphonso J, Chow J, et al. Injectable thermosensitive gelling delivery system for the sustained release of lidocaine. *Ther Deliv* [Internet]. 2016 Jun;7(6):359–68. Available from: <http://www.future-science.com/doi/10.4155/tde.15.92>
31. Ur-Rehman T, Tavelin S, Gröbner G. Chitosan in situ gelation for improved drug loading and retention in poloxamer 407 gels. *Int J Pharm* [Internet]. 2011;409(1–2):19–29. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.02.017>
32. Lin J-Y, Lai P-L, Lin Y-K, Peng S, Lee L-Y, Chen C-N, et al. A Poloxamer-polypeptide Thermosensitive Hydrogel as Cell Scaffold and Sustained Release Depot. *Polym Chem*. 2016;2976–85.
33. De Souza Ferreira SB, Da Silva JB, Borghi-Pangoni FB, Junqueira MV, Bruschi ML. Linear correlation between rheological, mechanical and mucoadhesive properties of polycarbophil polymer blends for biomedical applications. *J Mech Behav Biomed Mater* [Internet]. 2017;68(November 2016):265–75. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmbbm.2017.02.016>
34. Borghi-Pangoni FB, Junqueira MV, De Souza Ferreira SB, Silva LL, Rabello BR, Caetano W, et al. Screening and in Vitro Evaluation of Mucoadhesive Thermoresponsive System Containing Methylene Blue for Local Photodynamic Therapy of Colorectal Cancer. *Pharm Res*. 2016;33(3):776–91.
35. Rençber S, Karavana SY, Şenyiğit ZA, Eraç B, Limoncu MH, Baloğlu E. Mucoadhesive *in situ* gel formulation for vaginal delivery of clotrimazole: formulation, preparation, and *in vitro/in vivo* evaluation. *Pharm Dev Technol* [Internet]. 2016;7450(April):1–11. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/10837450.2016.1163385>
36. Radivojša M, Grabnar I, Grabnar PA. Thermoreversible in situ gelling poloxamer-based systems with chitosan nanocomplexes for prolonged subcutaneous delivery of heparin: Design and in vitro evaluation. *Eur J Pharm Sci* [Internet]. 2013;50(1):93–101. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejps.2013.03.002>
37. Huang W, Zhang N, Hua H, Liu T, Tang Y, Fu L, et al. Preparation, pharmacokinetics and pharmacodynamics of ophthalmic thermosensitive in situ hydrogel of betaxolol hydrochloride. *Biomed*

- Pharmacother [Internet]. 2016;83:107–13. Available from:
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0753332216305686>
38. Costa P, Sousa Lobo JM. Modeling and comparison of dissolution profiles. *Eur J Pharm Sci.* 2001;13(2):123–33.
 39. Da Silva JA, De Santana DP, Bedor DGC, Borba VFDC, Lira AAM, Egito ESTD. Estudo de liberação e permeação in vitro do diclofenaco de dietilamônio em microemulsão gel-like. *Quim Nova.* 2009;32(6):1389–93.
 40. MONTEIRO M, GOTARDO MA. Ftalato de di-(2-etilexila) (DEHP) em bolsas de PVC para soluções parenterais de grandes volumes. *Rev Ciências Farm Básica e Apl.* 2005;26(1):9–18.
 41. Barse R, Kokare C, Tagalpallewar A. Influence of hydroxypropylmethylcellulose and poloxamer composite on developed ophthalmic in situ gel: Ex vivo and in vivo characterization. *J Drug Deliv Sci Technol* [Internet]. 2016;33:66–74. Available from:
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1773224716301034>
 42. Gonjari ID, Karmarkar AB, Khade TS, Hosmani AH, Navale RB. Use of factorial design in formulation and evaluation of ophthalmic gels of gatifloxacin: Comparison of different mucoadhesive polymers. *Drug Discov Ther.* 2010;4(6):423–34.
 43. Kabanov A V, Batrakova E V, Valery YA. Pluronic block copolymers as novel polymer therapeutics for drug and gene delivery. *J Control Release.* 2002;82:189–212.
 44. Boffito M, Gioffredi E, Chiono V, Calzone S, Ranzato E, Martinotti S, et al. Novel polyurethane-based thermosensitive hydrogels as drug release and tissue engineering platforms: Design and in vitro characterization. *Polym Int.* 2016;65(7):756–69.
 45. Chung Y-M, Simmons KL, Gutowska A, Jeong B. Sol-gel transition temperature of PLGA-g-PEG aqueous solutions. *Biomacromolecules* [Internet]. 2002;3(3):511–6. Available from:
<http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=12005522&retmode=ref&cmd=prlinks%5Cnpapers2://publication/uuid/0A979C20-72A7-4487-877F-C711E265EC65>
 46. Bhattarai N, Ramay HR, Gunn J, Matsen FA, Zhang M. PEG-grafted chitosan as an injectable thermosensitive hydrogel for sustained protein release. *J Control Release.* 2005;103(3):609–24.
 47. Deka D, Deb P, Dash S. Formulation development and evaluation of thermosensitive oral gel containing doxycycline hyclate. *WORLD J Pharm Pharm Sci.* 2016;5(6):1346–57.
 48. Shastri DH, Dodiya HD, Shelat P, Bhanupriy AK. Formulation Development and Evaluation of a Gastroretentive in situ oral gel of Cefuroxime Axetil. *J Young Pharm* [Internet]. 2016;8(4):324–9. Available from: <http://www.jyoungpharm.org/article/891>
 49. Ruel-Gariépy E, Leroux JC. In situ-forming hydrogels - Review of temperature-sensitive systems. *Eur J Pharm Biopharm.* 2004;58(2):409–26.
 50. Bruschi ML, Jones DS, Panzeri H, Gremião MPD, de Freitas O, Lara EHG. Semisolid Systems Containing Propolis for the Treatment of Periodontal Disease: In Vitro Release Kinetics, Syringeability, Rheological, Textural, and Mucoadhesive Properties. *J Pharm Sci* [Internet]. 2007 Aug;96(8):2074–89. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022354916323243>
 51. Junqueira MV, Borghi-Pangoni FB, Ferreira SB de S, Bruschi ML. Evaluation of the methylene blue addition in binary polymeric systems composed by poloxamer 407 and Carbopol 934P using quality by

- design: rheological, textural, and mucoadhesive analysis. *Drug Dev Ind Pharm* [Internet]. 2016;9045(May):1–41. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/03639045.2016.1188111>
52. Li Y, Rodrigues J, Tomás H. Injectable and biodegradable hydrogels: gelation, biodegradation and biomedical applications. *Chem Soc Rev* [Internet]. 2012;41(6):2193–221. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22116474>
 53. Klouda L, Mikos AG. Thermoresponsive hydrogels in biomedical applications. *Eur J Pharm Biopharm* [Internet]. 2008 Jan;68(1):34–45. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0939641107002470>
 54. Yu L, Li K, Liu X, Chen C, Bao Y, Ci T, et al. In vitro and in vivo evaluation of a once-weekly formulation of an antidiabetic peptide drug exenatide in an injectable thermogel. *J Pharm Sci*. 2013;102(11):4140–9.
 55. Huang L, Shen M, Li R, Zhang X, Sun Y, Gao P, et al. Thermo-sensitive composite hydrogels based on poloxamer 407 and alginate and their therapeutic effect in embolization in rabbit VX2 liver tumors. *Oncotarget* [Internet]. 2016;1–12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27602579>
 56. Balzus B, Colombo M, Sahle FF, Zoubari G, Staufenbiel S, Bodmeier R. Comparison of different in vitro release methods used to investigate nanocarriers intended for dermal application. *Int J Pharm* [Internet]. 2016;513(1–2):247–54. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378517316308638>
 57. Grillo R, de Melo NFS, de Araújo DR, de Paula E, Rosa AH, Fraceto LF. Polymeric alginate nanoparticles containing the local anesthetic bupivacaine. *J Drug Target*. 2010;18(9):688–99.
 58. de Araújo Pereira RR, Ribeiro Godoy JS, Stivalet Svidzinski TI, Bruschi ML. Preparation and characterization of mucoadhesive thermoresponsive systems containing propolis for the treatment of vulvovaginal candidiasis. *J Pharm Sci*. 2013;102(4):1222–34.
 59. Qi X, Qin X, Yang R, Qin J, Li W, Luan K, et al. Intra-articular Administration of Chitosan Thermosensitive in Situ Hydrogels Combined with Diclofenac Sodium-Loaded Alginate Microspheres. *J Pharm Sci* [Internet]. 2016;105(1):122–30. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.xphs.2015.11.019>
 60. Panapisal V, Charoensri S, Tantituvanont A. Formulation of microemulsion systems for dermal delivery of silymarin. *AAPS PharmSciTech* [Internet]. 2012 Jun [cited 2014 Sep 16];13(2):389–99. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3364378&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 61. Akkari ACS, Papini JZB, Garcia GK, Franco MKKD, Cavalcanti LP, Gasperini A, et al. Poloxamer 407/188 binary thermosensitive hydrogels as delivery systems for infiltrative local anesthesia: Physico-chemical characterization and pharmacological evaluation. *Mater Sci Eng C* [Internet]. 2016;68:299–307. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2016.05.088>
 62. Suh H, Jun HW. Physicochemical and release studies of naproxen in poloxamer gels. *Int J Pharm* [Internet]. 1996 Mar;129(1–2):13–20. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0378517395042105>
 63. Anderson BC, Pandit NK, Mallapragada SK. Understanding drug release from poly(ethylene oxide)-b-poly(propylene oxide)-b-poly(ethylene oxide) gels. *J Control Release*. 2001;70(1–2):157–67.

64. Paavola A, Yliruusi J, Kajimoto Y, Kalso E, Wahlstrom T, Rosenberg P. Controlled release of lidocaine from injectable gels and efficacy in rat sciatic nerve block. Vol. 12, Pharmaceutical Research. 1995. p. 1997–2002.
65. Cavallari C, Brigidi P, Fini A. Ex-vivo and in-vitro assessment of mucoadhesive patches containing the gel-forming polysaccharide psyllium for buccal delivery of chlorhexidine base. Int J Pharm [Internet]. 2015;496(2):593–600. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.10.077>