



UNIVERSITAT DE  
BARCELONA

**Desarrollo galénico de un gel  
termosensible y bioadhesivo de clorhidrato  
de lidocaína y fosfato sódico de dexametasona,  
para administración intraperitoneal**

Diana Arbelaez Camargo

**ADVERTIMENT.** La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) i a través del Dipòsit Digital de la UB ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

**ADVERTENCIA.** La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) y a través del Repositorio Digital de la UB ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

**WARNING.** On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) service and by the UB Digital Repository ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.



UNIVERSITAT DE  
BARCELONA

FACULTAD DE FARMACIA Y CIENCIAS DE LA ALIMENTACIÓN

Programa de doctorado en *Recerca, Desenvolupament i Control de Medicaments*

**DESARROLLO GALÉNICO DE UN GEL TERMOSENSIBLE Y BIOADHESIVO  
DE CLORHIDRATO DE LIDOCAÍNA Y FOSFATO SÓDICO DE  
DEXAMETASONA, PARA ADMINISTRACIÓN INTRAPERITONEAL**

Memoria presentada por Diana Arbelaez Camargo para optar al título de doctora  
por la Universidad de Barcelona

Director y tutor de tesis

Dr. Josep Maria Suñe Negre

Diana Arbelaez Camargo

Barcelona, 2020



## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, un especial agradecimiento a mi tutor y director de tesis, JM Suñe, por todo el apoyo incondicional y la confianza. Gracias por sumergirme en el mundo de la galénica, por enseñarme a amar mi trabajo, por todas las lecciones académicas, pero sobre todo por todas las lecciones de vida, una persona sabia en todo el sentido de la palabra.

A todos los profesores y colaboradores del departamento por el apoyo que me han dado. A mis compañeros del SDM, personas grandiosas que hacen que tanto el arte de la galénica como del lugar donde trabajan sea algo maravilloso. Al Señor Roig por toda la colaboración, es una mente privilegiada siempre dispuesta a ayudar.

Finalmente, agradezco a mi familia por todo el soporte constante, los ánimos para seguir adelante y todo el cariño y amor, son las personas que, a pesar de estar en otras partes del mundo, siempre me hacen sentir acompañada y me ayudan en todo. A la tía F y Josepe por acogerme y hacerme sentir siempre en casa., por el apoyo y siempre su buena disposición.

A Mauricio, padre, compañero, amigo y revisor, por ser tal como es, por siempre apoyarme y hacer de cada momento y situación algo único Junto a el, la tristeza se convierte en felicidad, las dificultades en oportunidades y la soledad no existe.

Olivia, porque todo en ella es perfecto, me hace mejor persona, algún día te explicaré el porque de todos los días de piscina y parque sin mamá.





## APORTACIONES

- **Artículos en revistas indexadas:**

- **Arbelaez-Camargo, D.**, Suñé-Negre, J.M., Roig-Carreras, M., García-Montoya, E., Pérez-Lozano, P., Miñarro-Carmona, M., Ticó-Grau, J.R.. Preformulation and characterization of a lidocaine hydrochloride and dexamethasone sodium phosphate thermo-reversible and bioadhesive long-acting gel for intraperitoneal administration. *Int. J. Pharm.* 498, 142–152 (2016).

**FI 2016 – 3,649 (Q1)**

- **Arbelaez-Camargo, D.**, Roig-Carreras, M., García-Montoya, E., Pérez-Lozano, P., Miñarro-Carmona, M., Ticó-Grau, J.R., Suñé-Negre, J.M. Osmolality predictive models of different polymers as tools in parenteral and ophthalmic formulation development. *Int. J. Pharm.* 543, 190–200 (2018).

**FI 2018 – 4,213 (Q1)**

- **Artículos en revisión en revistas indexadas:**

- **Diana Arbelaez Camargo**, Albert M. Manich, Manel Roig Carreras, Marc Suñé Pou, Anna Nardi Ricart,, Josep Maria Suñé Negre. Bioadhesiveness improvement of a Poloxamer thermo-reversible gel. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* (Revisión 2019)

**FI 2018 – 3,532 (Q2)**

- **Comunicaciones en formato póster en congresos internacionales:**

- **Diana Arbelaez-Camargo**, Manel Roig-Carreras, Encarna García-Montoya, Pilar Pérez-Lozano, Montserrat Miñarro-Carmona, Josep Ramon Ticó-Grau, Josep Suñé-Negre. Rheological and physicochemical characterization of a

thermosensitive and bioadhesive gel for postoperative pain management and determination of the effect of Polyethylene glycol 400 in the formula. 10<sup>th</sup> World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology. April 2016. Glasgow, United Kingdom.

- **Diana Arbelaez-Camargo**; Isaac Nofrerias; Marc Suñe; Josep Suñé-Negre, Expert; Encarna García-Montoya; Pilar Pérez-Lozano. Effect of Polyethylene glycol 4000 in a thermosensitive and bioadhesive gel for postoperative pain treatment. 8th International Conference and Exhibition on Pharmaceutics & Novel Drug Delivery Systems. March 2016. Madrid, Spain.
  
- **Comunicación oral/conferencia:**
  - X Jornada de recerca. Facultat de Farmàcia i Ciències de l'Alimentació. Universitat de Barcelona. 2017. Desarrollo galénico de un gel termosensible y bioadhesivo con actividad analgésica para administración intraperitoneal.

## NOTA DEL AUTOR

La tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros. Se informa que se han adjuntado imágenes y figuras de artículos y/o paginas webs, debidamente referenciadas con finalidad estrictamente educativa, sin ánimo de lucro y sin finalidades comerciales.



## ABREVIACIONES

AC1: Ca(2+)-sensitive type 1 adenylyl cyclase

AL: Anestésicos locales

AMPA: Ácido  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico

AMPC: Adenosina monofosfato cíclico

CaM: Calmodulina

CCK: Colecistoquinina

CMT: Temperatura de micelización crítica

COX: Ciclooxygenasa

CREB: cAMP response element-binding

CS: Sulfato de condroitín

DSP: Fosfato sódico de dexametasona

DVLO: Derjaguin, Landau, Vervej, Overbeek

ECA: Enzima convertidora de angiotensina

EHEC: Etilhidroxietilcelulosa

EVA: Escala Visual Análoga

FNT: Factor de necrosis tumoral

GABA: Ácido gamma-aminobutírico

GDP: Guanosín difosfato

GP:  $\beta$  glicerofosfato

GRAS: Generally Recognized As Safe

HPMC: Hidroxipropilmetilcelulosa

HS: Hialuronato de sodio

HT: Tiempo de retención

IQR: Rango intercuartil

KAR: Receptores de Kainato

LC: Clorhidrato de lidocaína

LCST: Temperatura crítica de solución inferior

LIA: Infiltración de anestésicos locales

MC: Metilcelulosa

Me: Mediana

MMAD: Masa media de diámetro aerodinámico

NMDA: Ácido N-metil-D-aspartico

NOTES: Natural Orifice Translumenal Endoscopic Surgery

NRS: Escala numérica del dolor

NRS: Escala Verbal Numérica

OVE: Ecuación virial osmótica

P407: Poloxámero 407

PCA: Analgesia controlada por el paciente

PEG: Polietilenglicol

PKA: Proteína quinasa A

POE: Oxido de polietileno

POP: Oxido de polipropileno

PSA: Adhesivo Sensible a la Presión

PVA: Polivinilalcohol

PVP: Polivinilpirrolidona

RT: Tiempo de ejecución

SNC: Sistema nervioso central

SR: Velocidad de rotación

TAP: Plano transversal del abdomen

TRPV-1: Receptor de potencial transitorio V1

UCST: Temperatura crítica de solución superior

VIP: Polipéptido intestinal vasoactivo

## RESUMEN

Los implantes de formación in-situ, son formulaciones que permiten la administración de fármacos en un lugar anatómico específico. En el caso de la administración postoperatoria de anestésicos en el peritoneo, permiten el control de factores claves como son el control de dosis, la administración continua del fármaco durante las primeras 24-48 horas después de la intervención y la administración en el lugar anatómico óptimo.

Con el fin de desarrollar una forma farmacéutica para la administración intraperitoneal de anestésicos locales que permita la administración sencilla y al mismo tiempo actúe como un implante de formación in-situ; se ha desarrollado y caracterizado un hidrogel bioadhesivo y termosensible de clorhidrato de lidocaína (LC) y de Fosfato sódico de dexametasona(DSP).

La pre-formulación del gel se lleva a cabo mediante la variación sistemática de la concentración de los polímeros escogidos, hasta establecer una relación que permite obtener una formulación que tenga una temperatura de gelificación entre 29 a 33 °C y permita la formación de un gel de viscosidad suficiente para comportarse como un implante. El poloxámero 407 (P407) se utiliza como el polímero principal y su concentración se fija a un valor inferior a 15% para evitar efectos adversos. La hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) se usa como agente bioadhesivo y la polivinilpirrolidona (PVP) para ajustar la temperatura de gelificación y propiedades fisicoquímicas y térmicas.

Para mejorar su bioadhesividad intraperitoneal, se realizó un estudio con diferentes polímeros, evaluando su efecto en las propiedades fisicoquímicas y la bioadhesividad. Entre los polímeros usados, cabe destacar los resultados obtenidos al usar el polivinil-alcohol (PVA).



Los diferentes geles se caracterizan en tiempo de gelificación, pH, viscosidad a 25 °C y 37 °C y osmolalidad, obteniéndose 2 formulaciones con características fisicoquímicas deseadas que sirven de base para el desarrollo completo de un producto con alto interés sanitario.

## ABSTRACT

The in-situ forming implants, are formulations designed to forma depot to administrate a drug in a specific anatomic site. In the case of peritoneal administration of analgesics in the postoperative period, they allow the continuous administration of the drug the first 24-48 postoperative hours, when maximum acute pain appear; and the administration at an optimal anatomic place where the greatest tissue damage has occurred or where nerve block should occur for a correct analgesia.

With the aim of developing a pharmaceutical form for intraperitoneal administration of local anesthetics that allows both: simple administration and in-situ forming implant, a bioadhesive thermosensitive long acting hydrogel of lidocaine hydrochloride and dexamethasone sodium phosphate was formulated and characterized.

The gel preformulation was carried out by a systematic variation of the concentrations of chosen polymers, until obtaining a combined formulation that gelifies at temperature between 29 and 32°C with enough viscosity to behave as an implant. The poloxamer 407 (P407) was used as the main polymer and its concentration was set at values below 15% to avoid adverse effects. The hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) was used as a bioadhesive agent and the polyvinyl pyrrolidone (PVP) was added to adjust gelation temperature and physicochemical properties.

To improve intraperitoneal bioadhesiveness, a study was performed with different kind of polymers, evaluating its effects on physicochemical and bioadhesive properties, measured with an innovative and reproducible method. It is worth noting the results obtained with the addition of polyvinyl-alcohol (PVA).

The different gels were characterized in gelation time, pH, viscosity at 25 and 37°C; and osmolality. Two formulations with desirable physicochemical characteristics were obtained and serve as the basis for the final development of a profitable sanitary product.



# ÍNDICE



## Índice

<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>1</b>
1. OBJETIVOS.....	3
<b>MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>7</b>
2. INTRODUCCIÓN .....	9
2.1. <i>Anatomía del peritoneo</i> .....	13
2.2. <i>Cirugía abdominal</i> .....	17
2.3. <i>Mecanismos del dolor</i> .....	20
2.4. <i>Analgesia en cirugía abdominal</i> .....	25
2.5. <i>Tratamiento farmacológico del dolor</i> .....	31
2.6. <i>Geles</i> .....	46
- Geles termosensibles .....	48
- Excipientes de geles termosensibles .....	51
2.7. <i>Bioadhesión</i> .....	66
- Polímeros bioadhesivos .....	71
<b>PARTE EXPERIMENTAL.....</b>	<b>75</b>
3. MATERIALES Y MÉTODOS .....	77
3.1. <i>Materiales</i> .....	79
3.2. <i>Metodología</i> .....	83
- Preparación de los geles .....	83
- Determinación de la capacidad reguladora .....	84
- Determinación de la temperatura de gelificación (LCST).....	85
- Determinación del tiempo de gelificación .....	85
- Determinación de la viscosidad.....	86
- Determinación del pH .....	87
- Determinación de la densidad .....	87
- Determinación de la osmolalidad .....	87
- Medición de la bioadhesión .....	88
- Estudio de estabilidad .....	90
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	91

4.1.	<i>Artículo 1</i> .....	93
4.2.	<i>Artículo 2</i> .....	109
4.3.	<i>Artículo 3</i> .....	125
4.4.	<i>Resultados y discusión adicional</i> .....	145
	- Capacidad reguladora .....	145
	- Estudio de bioadhesión .....	148
5.	DISCUSIÓN GENERAL.....	157
6.	CONCLUSIONES .....	169
7.	BIBLIOGRAFÍA.....	173
8.	ANEXOS.....	195



## OBJETIVOS





## 1. OBJETIVOS

---



## OBJETIVO PRINCIPAL

1. Desarrollo galénico de un gel inyectable termosensible y bioadhesivo de administración intraperitoneal como herramienta en el manejo multimodal del dolor postoperatorio.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

2. Determinar las características fisicoquímicas de los principios activos, con el fin de conocer su comportamiento y así garantizar su estabilidad en la formulación.
  - Estudio de compatibilidad teórica de los principios activos
  - Determinación de los parámetros que afectan la estabilidad de los principios activos en la fórmula
3. Determinar los excipientes, su compatibilidad con los principios activos y su concentración para la obtención de hidrogeles termosensibles con características deseadas.
  - Estudio de compatibilidad teórica de los principios activos y los excipientes
  - Caracterización de los excipientes
  - Determinación de la concentración de excipientes
  - Comprobar la estabilidad del gel
4. Desarrollo de un hidrogel termosensible y de temperatura de gelificación entre 29-33°C
  - Determinar método de preparación del hidrogel
  - Determinar métodos de caracterización de la fórmula

- Fijar concentración de excipientes

5. Obtención del perfil de bioadhesión del hidrogel

- Estudio de compatibilidad teórica de polímeros con la fórmula
- Determinar método de caracterización de la bioadhesividad
- Determinar el efecto de la adición de bioadhesivos a la formulación.



## MARCO TEÓRICO



## 2. INTRODUCCIÓN

---





Las cirugías son procesos que generan un gran impacto para los pacientes, provocan un alto grado de estrés y causan grandes cambios fisiológicos, que van desde el trauma tisular, que produce una cascada inflamatoria sistémica; a la estimulación de nociceptores, que inicia la experiencia dolorosa, favorece la inmovilidad y la disminución de la calidad de vida (1). Hoy por hoy, a pesar de los progresos recientes en el manejo del dolor postoperatorio, los estudios siguen demostrando que más de la mitad de los pacientes presentan dolor moderado (de 4 a 6 en una escala de calificación numérica 0–10 [NRS]) a intenso (NRS  $\geq$ 7) después de una cirugía (2). También, se observa que el dolor postoperatorio es la preocupación más común (59%) entre los pacientes.

El dolor post operatorio varía según el tipo de cirugía y de las características fisiológicas de cada paciente. Se ha demostrado que el mal control del dolor agudo postoperatorio conlleva efectos adversos sistémicos y está asociado a la aparición de dolor crónico postquirúrgico(3). En cirugía abdominal, el riesgo estimado de padecer dolor crónico postquirúrgico es de aproximadamente 20% (18% para cirugía gastrointestinal, 15% a 32% para histerectomías) y un 5% para la colecistectomía laparoscópica (4). El dolor postoperatorio se asocia a estancia hospitalaria y tiempo de recuperación prolongados, a aumento de la morbilidad y aumento de los costes sanitarios.

Actualmente, el control del dolor postoperatorio se realiza mediante la combinación de técnicas y fármacos con el fin de crear un sinergismo que potencia el efecto analgésico y disminuye la hiperalgesia. Este abordaje del dolor es conocido como analgesia multimodal (5,6), siendo la infiltración de anestésicos locales (LIA) una de las técnicas más usadas (7). Si bien su efectividad está bien documentada, ésta depende del tipo de cirugía y la localización anatómica. A nivel de cirugía abdominal, su mayor inconveniente es la localización profunda de los plexos nerviosos y los lechos quirúrgicos que dificulta la correcta distribución de la medicación líquida, que tiende a distribuirse en zonas declives, que no necesariamente son las zonas donde se produce el daño quirúrgico y la activación de los nociceptores. El desarrollo de

nuevas formas farmacéuticas permitiría la correcta localización del medicamento a infiltrar, y así mejorar la respuesta analgésica y disminuir los efectos adversos que se producen por la absorción errática del anestésico a nivel de todo el espacio peritoneal (8–11).

## 2.1. ANATOMÍA DEL PERITONEO

El peritoneo es un órgano de origen mesodermal que puede llegar a tener un área de más de 100 m<sup>2</sup> (12). Está conformado por una capa de células escamosas epiteliales planas, simples y estratificadas llamada mesotelio, cuya superficie contiene una película de glicoproteínas ricas en ácido hialurónico y microvellosidades. Esta capa celular se encuentra sobre la lámina basal, la cual cubre una capa de tejido conectivo de espesor fino en las zonas distensibles; y grueso en las zonas más rígidas (13).

Anatómicamente es una membrana transparente, delgada y de aspecto brillante constituido por dos capas: el peritoneo parietal y el peritoneo visceral. La primera, está en contacto con la cara interna de la pared abdominal y el retroperitoneo; y la segunda está en contacto con la cara externa de los órganos abdominales (12). Estas dos capas forman la llamada cavidad peritoneal, la cual está cerrada en el hombre y abierta en la mujer, a nivel del pabellón de las trompas de Falopio. Es un espacio que contiene aproximadamente 100 ml de fluido seroso, compuesto por agua, electrolitos, proteínas donde predomina la albúmina, células mesoteliales, linfocitos (20%), macrófagos (70%), mastocitos (10%) y fibroblastos. Es de color amarillo claro con una gravedad específica baja (<1,016) y un pH de 7,5 a 8 con capacidad buffer. Actúa como líquido lubricante que permite el libre movimiento de las vísceras. Tiene una tasa de recambio de aproximadamente 5 ml/24 horas (208 µl/h) y una filtración total aproximada de 100 µl/min desde los capilares (18 mmHg) al espacio peritoneal (17 mmHg). El fluido peritoneal retorna al torrente sanguíneo a través de la capa mesotelial hacia el intersticio y los vasos linfáticos por un proceso de ultrafiltrado gobernado por las fuerzas de Starling. El transporte se hace a través de canales linfáticos que tienen una distribución relativamente uniforme por todo el peritoneo, o por hendiduras entre las células endoteliales. La linfa pasa primero al mediastino anterior y luego al conducto linfático derecho, o a través de los vasos linfáticos del epiplón hacia el conducto linfático torácico. En la actualidad, la teoría de los tres poros es la que explica con más detalle el transporte entre los vasos y la

cavidad peritoneal. En ésta, se describen tres tipos de canales: el poro pequeño, que es el más frecuente y permite el paso de agua y solutos pequeños; el poro grande, muy poco frecuente y permeable a las proteínas; y el ultra pequeño, (también llamados acuaporinas-1) permeable únicamente al agua (12,14).

Las vísceras recubiertas por el peritoneo visceral, y sostenidas por los pliegues del peritoneo son los órganos peritoneales, conformados por el estómago, intestinos, hígado, sistema biliar, páncreas y bazo. Los riñones y las glándulas suprarrenales son órganos que están entre la pared de la cavidad corporal y el peritoneo parietal y se denominan órganos retroperitoneales (15). Su disposición puede variar de individuo a individuo, por las posiciones corporales y la respiración. Los órganos más móviles son aquellos que están unidos al mesenterio por ligamentos (16).

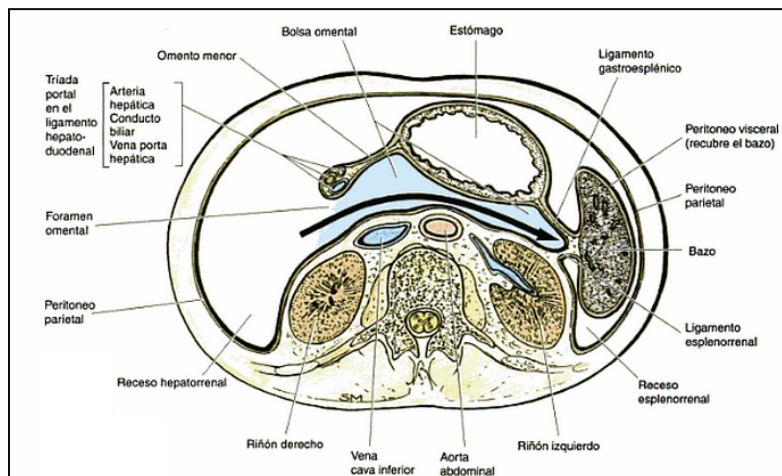
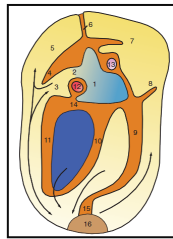


FIGURA 1 SECCIÓN TRANSVERSAL DEL ABDOMEN A NIVEL LUMBAR (17)

Los epiplones, mesos y ligamentos son reflexiones que consisten en prolongaciones del peritoneo parietal hacia el interior de la cavidad abdominal en forma de pliegues, que continúan hacia el peritoneo visceral del órgano y por donde transcurren los vasos y los nervios. La reflexión peritoneal hacia el yeyuno e íleon se denomina el mesenterio y hacia el colon se denomina mesocolon (18). El mesocolon transverso divide la cavidad peritoneal en un espacio superior y un espacio inferior.

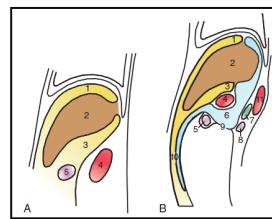
El mesenterio del intestino delgado divide la cavidad peritoneal inferior. Dichas reflexiones sobre las diferentes vísceras forman una serie de espacios, entre los que cabe destacar el saco mayor, que se extiende desde el diafragma hasta el suelo pélvico; el saco menor (bolsa omental), ubicado en el espacio subhepático izquierdo (12) y que comunica con el saco mayor por el orificio epiploico (16); el espacio subhepático derecho denominado saco de Morrison; el espacio subfrénico derecho se encuentra por encima del hígado y está limitado por el ligamento coronario derecho; el espacio subfrénico izquierdo está en comunicación con el saco mayor a través del espacio alrededor de la zona anterior del bazo; y en la zona pélvica de la cavidad peritoneal de la mujer se encuentra el saco de Pouch (12).

El epiplón mayor es un doble pliegue peritoneal que conecta el estómago a la pared abdominal posterior, se extiende desde mesocolon transverso hasta el borde inferior del estómago, cubriendo la cavidad peritoneal inferior (18).



**FIGURA 2 REFLEXIONES PERITONEALES POSTERIORES Y SACOS DE LA CAVIDAD PERITONEAL(18)**

1 saco de menor; 2 foramen de Winslow; 3 bolsa de Morrison; 4, el ligamento triangular derecho; 5 espacio subfrénico derecho; 6 ligamento falciforme; 7 espacio subfrénico izquierdo; 8 ligamento frenocólico; 9 colon descendente; 10 mesenterio del intestino delgado; 11 colon ascendente; 12 duodeno; 13 esófago; 14 mesocolon transverso; 15 recto; 16 vejiga.



**FIGURA 3 CORTE SAGITAL DE LA CAVIDAD PERITONEAL(18)**

A cuadrante superior derecho: 1 espacio subfrénico; 2 hígado; 3 espacio subhepático; 4 riñón derecho; 5 colon transverso.

B cuadrante superior izquierdo: 1 espacio subfrénico; 2 lóbulo izquierdo del hígado; 3 espacio subhepático; 4 estómago; 5 colon transverso; 6 saco menor; 7 páncreas; 8 duodeno; 9 mesocolon transverso; 10 epiplón; 11 riñón izquierdo.

La invasión del peritoneo parietal difiere de la invasión del peritoneo visceral. El peritoneo parietal es de invasión unilateral y es invadido por los nervios espinales del músculo que lo recubre, desde el nivel T6 hasta L1, aunque el peritoneo que

limita con el diafragma es inervado por la C4 por fibras del nervio frénico y el intercostal. El peritoneo visceral es inervado por los nervios que inervan la respectiva víscera; de inervación bilateral, es inervado por el nervio vago y fibras simpáticas y parasimpáticas con terminaciones quimiorreceptoras y mecanorreceptoras insensibles al dolor pero si a la tracción y distensión (12).

Hay un eje neuro-immuno-humoral, donde, por vía paracrina, citoquinas locales actúan en terminaciones nerviosas aferentes. Hay dos tipos de terminaciones nerviosas: aferentes vágales y aferentes espinales, las cuales transmiten información sensorial desde el tracto gastrointestinal al sistema nervioso central. Las aferentes vágales son de localización intramuscular o intraganglionar y tienen el cuerpo en el ganglio nodoso cerca del tronco cerebral; por otro lado, las aferentes espinales, están localizadas en la serosa, submucosa y en el mesenterio del tracto gastrointestinal, tienen el cuerpo celular en la raíz del ganglio dorsal, proyectándose al cuerno dorsal de la medula espinal(13).

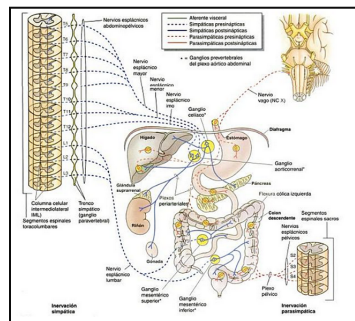


FIGURA 4 ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN DE LAS FIBRAS PRESINÁPTICAS SIMPÁTICAS /PARASIMPÁTICAS (19)

Los principales neurotransmisores y neuromoduladores, son CCK (colecistoquinina), la sustancia P, el VIP (polipéptido intestinal vasoactivo), la somatostatina y las encefalinas.

## 2.2. CIRUGÍA ABDOMINAL

El abordaje quirúrgico del abdomen es variado y se disponen de varias técnicas quirúrgicas con fines diagnósticos o curativos. Cabe destacar la laparotomía, la laparoscopia y la cirugía endoscópica transluminal a través de orificios naturales.

La laparotomía es la vía intra-abdominal tradicional (20), que se realiza en caso de no poder utilizar técnicas menos invasivas. Consiste en una incisión en el abdomen, el tamaño y localización depende de la necesidad quirúrgica y las áreas afectadas.

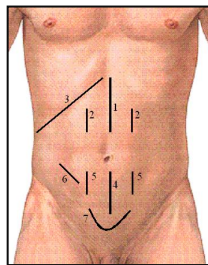


FIGURA 5 INCISIONES DEL ABDOMEN EN LA LAPAROTOMÍA (21)

1 Supra umbilical, 2 Pararectal superior derecha e izquierda, 3 Subcostal, 4 Infra umbilical, 5 Pararectal inferior derecha e izquierda, 6 Mac Burney, 7 Pfannerstie

Esta técnica quirúrgica tiene la ventaja de ser rápida y de fácil acceso para un amplio rango de procedimientos; pero está asociada a una recuperación y tiempo de hospitalización más prologado (20).

En emergencias quirúrgicas, la incisión en la línea media es de elección, usando anestesia general en caso de realizarse una incisión supra umbilical, y anestesia espinal en caso de incisión infra umbilical, sólo si el paciente está estable.

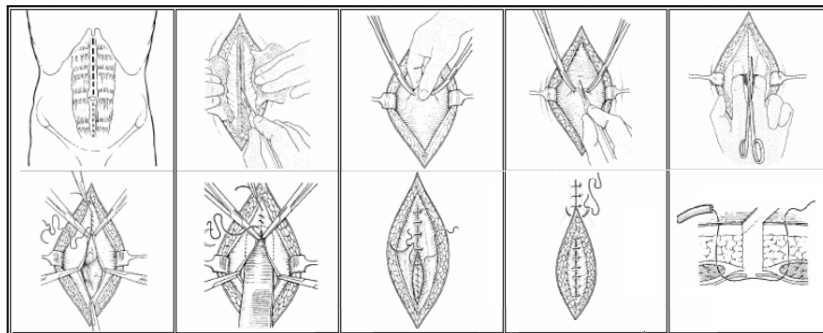


FIGURA 6 INCISIÓN EN LA LÍNEA MEDIA (22)



Las técnicas quirúrgicas menos invasivas como la laparoscopia, son de elección en la mayoría de casos. La laparoscopia, comparada con la laparotomía, ofrece una serie de ventajas incluyendo menor costo, menor dolor postoperatorio, menor tiempo de hospitalización, recuperación más rápida y resultados cosméticos que superan ampliamente a la técnica abierta (20).

Esta técnica quirúrgica consiste en realizar varias pequeñas incisiones (puertos) donde se insertan trocares, a través de los cuales, se pasan los instrumentos y el laparoscopio. En uno de estos puertos, se introduce una llave de gas para establecer un pneumoperitoneo de 10 a 20 mmHg de presión, para lo cual, se insufla un gas (generalmente dióxido de carbono) a una velocidad de 4 – 6 L/min hasta la presión deseada y luego se mantiene por el flujo continuo de gas a 200 – 400 ml/min (23).

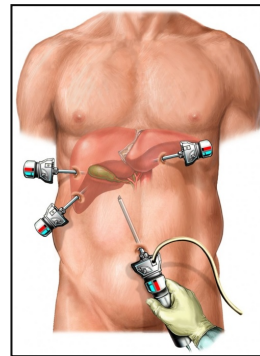
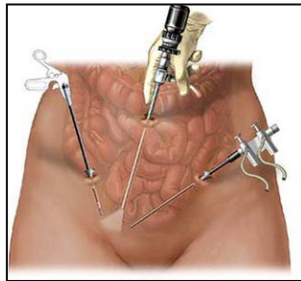


FIGURA 7 LA LAPAROSCOPIA (24)(25)

La cirugía endoscópica transluminal a través de orificios naturales (NOTES, del inglés Natural Orifice Translumenal Endoscopic Surgery), es una técnica quirúrgica, la cual, usa los orificio naturales (ej: boca, ano, uretra, vagina) para acceder a la cavidad peritoneal, realizando una pequeña incisión de 3 a 5 mm (26). Entre los beneficios de esta técnica, resalta la reducción en el traumatismo de la pared abdominal, que disminuye el dolor incisional y el riesgo de complicaciones parietales, produce menor respuesta inflamatoria, menor formación de adherencias intraperitoneales y menor estancia hospitalaria e incapacidad laboral.

Por otra parte, existe un potencial riesgo de infecciones, inherente a la flora bacteriana de dichos orificios; también existe un riesgo potencial de revisceración por un cierre incorrecto de la incisión, hemorragia parietal y visceral en la puerta de entrada, lesión de las vísceras adyacentes a la entrada y dificultad en el control de las complicaciones (27).

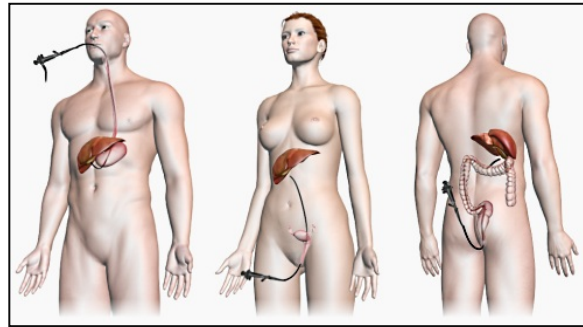


FIGURA 8 *CIRUGÍA ENDOSCÓPICA TRANSLUMINAL A TRAVÉS DE ORIFICIOS NATURALES*  
NOTES (28)

### 2.3. MECANISMOS DEL DOLOR

Para explicar el dolor en cirugía abdominal se ha clasificado el dolor según su origen en: dolor parietal, dolor visceral y dolor referido.

El dolor parietal es originado por la incisión en la dermis, la pared abdominal y el peritoneo parietal. Es un dolor agudo, intenso y bien localizado (29), los estímulos viajan desde el cuerno dorsal de la medula espinal, a las fibras contralaterales del haz espino-talámico lateral hasta el tálamo y luego a la corteza. Es característico el reflejo autónomo que se produce a nivel medular a través de las vías eferentes simpáticas y la transmisión de impulsos al cuerno anterior, dando lugar a un componente motor, traducido en la contracción muscular de los músculos inervados por las mismas fibras.

El dolor visceral es originado por factores mecánicos, inflamatorios o isquémicos en las vísceras y el peritoneo visceral. Es un dolor de carácter sordo y de localización poco precisa y se puede acompañar de sintomatología vagal (29). La conducción de los estímulos dolorosos al SNC, es igual que la de los estímulos somáticos, con diferencia de la baja cantidad de fibras A delta (no hay dolor primario) y la predominancia de fibras C. También hay un reflejo autónomo a nivel medular a través de las vías eferentes simpáticas (30).

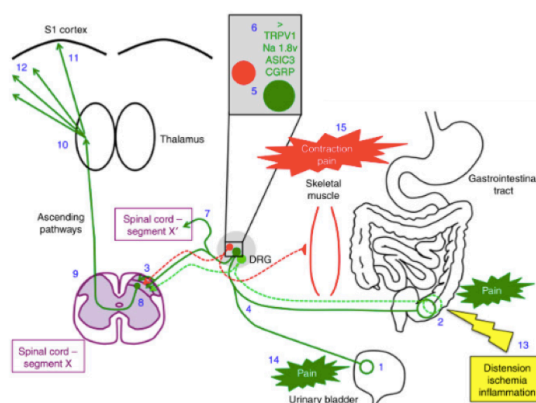


FIGURA 9 DOLOR VISCERAL (31)

El dolor referido se produce porque las fibras nerviosas de diferentes zonas comparten segmentos neuronales sensoriales. Es un dolor localizado parecido al dolor parietal, que se percibe en regiones anatómicas distales de la zona afectada (32). Un ejemplo claro, es la experiencia dolorosa del hombro por la tracción o inflamación en la región del peritoneo que limita con el diafragma, inervado por la C4, por fibras del nervio frénico y el intercostal, estimuladas durante la laparoscopia (12).

El daño tisular provocado en la cirugía, activa nociceptores periféricos y libera una serie de mediadores inflamatorios (histamina, bradiquinina, prostaglandinas, serotonina, factor crecimiento nervioso, leucotrienos, FNT) que, a su vez, estimulan nociceptores periféricos. Esta estimulación provoca la liberación de neurotransmisores, como el péptido relacionado con el gen de la calcitonina, la sustancia P y la colecistoquinina (33).

La estimulación de nociceptores periféricos provoca un impulso nervioso, que viaja por las neuronas primarias, las fibras A delta (rápidas – 1º dolor) y las fibras C (lentas – 2º dolor), hasta el cuerno dorsal de la médula espinal, específicamente a la lamina I y lamina V, en las cuales ocurre la sinapsis. La neurona presináptica libera glutamato y aspartato que se unen y activan receptores específicos. Primero activan los receptores ácido  $\alpha$ - amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico (AMPA) y los receptores de kainato (KAR), provocando la entrada de sodio a la neurona postsináptica, que produce la despolarización de la membrana (- 70  $\rightarrow$  - 35) (34). Esta despolarización, provoca la separación del magnesio que se encuentra unido al receptor ácido N-metil-D-aspartico (NMDA), dejándolo funcional para ser activado por el glutamato del espacio presináptico. La activación del receptor de NMDA, provoca la entrada de calcio que despolariza la neurona secundaria y se asocia con el proceso de hiperalgesia y sensibilización central.

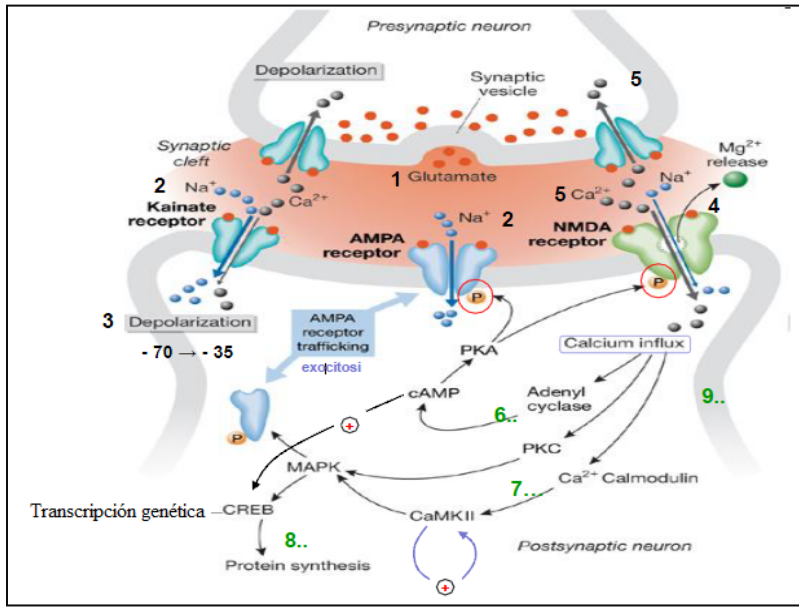


FIGURA 10 SINAPSIS NEURONAL (34)

Una neurona secundaria puede formar sinapsis con más de una neurona primaria en el cuerno posterior de la médula espinal. Esta sinapsis está modulada por interneuronas, que son, pequeñas neuronas características de esta zona. Las neuronas secundarias dan origen a tres haces ascendentes contralaterales: el neoespinotalámico y el paleoespinotalámico, que conforman la vía espinotalámica, y el espinoreticulotalámico (de gran importancia en el componente afectivo del dolor) (35). Algunos axones ascienden en forma ipsilateral y otros lo hacen a través de los cordones posteriores que conducen fibras propioceptivas de tipo A, para luego cruzar a nivel del bulbo y ascender al tálamo. Esto explica algunos de los fracasos de técnicas analgésicas, como la cordotomía anterolateral. Al llegar al tálamo, ocurre la sinapsis y se procesa la información de la percepción del dolor. Desde aquí, viaja otro impulso por la neurona terciaria hasta la corteza donde se procesa la información de la localización del dolor. La activación de receptores NMDA en la médula espinal y en los centros superiores del cerebro, como la circunvolución cingular anterior, la amígdala y la médula rostroventral, juegan un papel importante en la sensibilización central, en el componente afectivo y cognitivo del dolor, junto con otros mecanismos y neurotransmisores (36,37). La potenciación a largo plazo del dolor se genera por la continua estimulación de neurotransmisores de las vías

dolorosas en el cuerno de la medula espinal, centros cerebrales superiores como la corteza del cíngulo anterior, la amígdala y el hipocampo entre otros. La liberación de neurotransmisores y mediadores inflamatorios (histamina, bradiquinina, prostaglandinas, factor de crecimiento neuronal, leucotrienos, interleucinas, sustancia P) (33), amplifican la respuesta neuronal y provocan el proceso de sensibilización central, desplazando la curva de estímulo-intensidad a la izquierda. Esta se describe como hiperalgesia, alodinia (dolor al tacto suave) y/o el dolor crónico persistente (38).

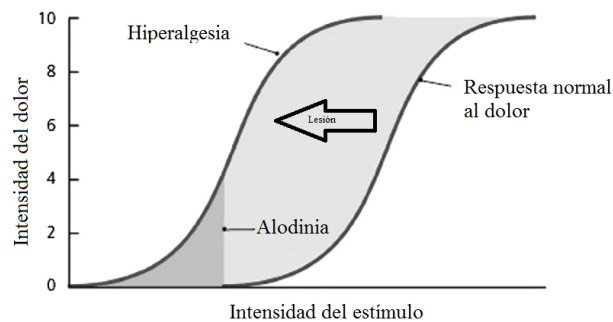


FIGURA 11 SENSIBILIZACIÓN (3)

Las neuronas y las redes neuronales, tienen la capacidad de cambiar, temporal o permanentemente, sus características bioquímicas, fisiológicas y morfológicas para adaptarse (30). El excesivo calcio intracelular producido por la repetida activación de los receptores NMDA, en la corteza del cíngulo anterior, se une a la calmodulina (CaM) que activa la adenilciclase-CaM (AC1) y una serie de proteínquinasas  $Ca^{+2}/CaM$ , como la proteína quinasa C (PKC), calcio calmodulina Kinasa CaMK y CaMIK. Estas quinasas contribuyen en el tráfico y la fosforilación del receptor de AMPA, provocando una sensibilización al glutamato extracelular. Por otra parte, la activación de AC1 activa la proteína quinasa A (PKA) y la proteína CREB (cAMP response element-binding, en inglés), que participa en la transcripción génica para genera nuevos receptores AMPA (39).

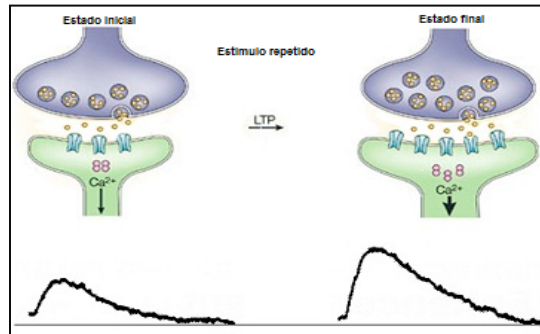


FIGURA 12 GENERACIÓN DE NUEVOS RECEPTORES AMPA (40)

El dolor crónico postquirúrgico se refiere al dolor que persiste más allá de tres meses después de la cirugía, afecta aproximadamente a más del 10% de los pacientes (38,41)

El adecuado control del dolor perioperatorio mejora la satisfacción del paciente; disminuye la probabilidad de desarrollar dolor a largo plazo y sus complicaciones; disminuye el tiempo de recuperación; reduce el tiempo de hospitalización, disminuye la morbilidad y disminuye costos (33). El control del dolor perioperatorio multimodal implica la actuación antes, durante y después de la cirugía; con el uso concomitante de adyuvantes, analgésicos, opioides y diferentes técnicas analgésicas; que actúan de forma aditiva o sinérgica con el fin de un mejor tratamiento del dolor, minimizando los efectos adversos. Es importante tener en cuenta que la percepción del dolor postoperatorio varía de paciente en paciente (42), y que el dolor es más que la reacción del cuerpo a un estímulo nociceptivo; es una experiencia individualizada y multifactorial, donde influye el dolor pre-existente (crónico y/o agudo), el sexo, la edad, las alteraciones psicológicas, el catastrofismo y la lesión nerviosa, entre otros (36). Para la medición objetiva del dolor se usan escalas que pueden ser unidimensionales o multidimensionales. Las unidimensionales solo miden la intensidad del dolor, destacan la Escala Visual Análoga (EVA) y la Escala Verbal Numérica (NRS), son muy similares pero no intercambiables entre sí. El EVA falla en un 7 – 11% de los pacientes por deficiencia visual o psicomotora por lo que se prefiere usar la NRS (42,43).

## 2.4. ANALGESIA EN CIRUGÍA ABDOMINAL

En el tratamiento analgésico multimodal perioperatorio, existen varias vías y técnicas de administración de los diferentes fármacos, desde las menos invasivas como es la vía oral hasta técnicas más complejas como el bloqueo del plano transversal del abdomen (TAP) y el bloqueo epidural.

- Analgesia sistémica

- Vía oral

La administración por esta vía permite obtener efectos sistémicos de una forma indolora y cómoda para el paciente. En contrapartida, la administración depende del estado gastrointestinal y de conciencia del paciente y existe una gran variabilidad en la biodisponibilidad, y por tanto del efecto farmacológico.

- Vía Intravenosa

La vía intravenosa es una de las cuatro vías parenterales que existen, se requiere del acceso a la circulación sanguínea por medio de una inyección o una vía venosa. Se tiene una disposición inmediata del fármaco en plasma, consiguiendo concentraciones plasmáticas deseadas muy rápidamente y permite la administración de grandes volúmenes, ya sea en bolus (concentraciones plasmáticas deseadas en un corto periodo de tiempo) o mediante infusión continua (concentraciones plasmáticas constantes durante un tiempo prolongado). Por otra parte, los efectos adversos son sistémicos y de difícil prevención; genera dolor en el lugar de administración y puede provocar hematomas, abscesos y daño en vasos sanguíneos. En caso de cateterismos se pueden producir extravasación del medicamento o infecciones.



- Analgesia Regional

Este tipo de analgesia se basa en el bloqueo del impulso nervioso desde la zona donde se genera el estímulo doloroso hasta el sistema nervioso central. El objetivo es la interrupción de las vías nociceptivas del dolor (44). La principal limitación de estas técnicas es la corta duración del efecto anestésico, limitando su efectividad a 24 horas aproximadamente (45).

- Vía espinal

Esta vía de administración se divide en bloqueo peridural o intratecal. Su administración es realizada por un especialista y requiere de medidas especiales como condiciones estériles, una determinada posición del paciente y ubicación exacta del espacio deseado para la administración.

La analgesia por vía epidural se caracteriza por un bloqueo metamérico dosis dependiente. La administración puede ser única o en infusión continua a través de un catéter, tiene una acción prolongada y permite la administración de volúmenes de hasta 20 ml (46,47). El efecto es de comienzo lento ya que se requiere atravesar las meninges y la farmacocinética dependerá de las características fisicoquímicas (lipo/hidro solubilidad) del fármaco que determinan el paso.

La analgesia por vía intratecal o subaracnoidea provoca un bloqueo completo similar a la sección medular, la duración del efecto está determinada por la dosis. Se administra poco volumen (2 – 3 ml) en inyección única obteniendo una acción inmediata al no depender del paso por membranas (48–50).

- Bloqueo TAP

El plano transverso del abdomen (TAP), es un espacio entre el músculo oblicuo interno y el músculo transverso que se extiende por toda la pared abdominal hasta finalizar en la aponeurosis del músculo recto. El bloqueo TAP se basa en la

inyección de un anestésico local en este espacio anatómico, para bloquear las fibras aferentes somáticas que inervan la pared abdominal anterior desde los dermatomas T6 a L1 (51–53). La correcta localización del espacio se realiza mediante ecografía usando la técnica medio-axilar, entre el margen costal y la cresta ilíaca, la técnica subcostal y una variante de localización ecográfica en pediatría. (54). Se genera una analgesia unilateral, pero cabe resaltar que esta técnica sólo afecta el componente somático del dolor postoperatorio de la cirugía de abdomen inferior, y no hay efecto analgésico del dolor visceral (55,56).

#### - Infiltración

La infiltración de anestésico local en la piel y el tejido subcutáneo antes de realizar la incisión es la aproximación más simple y segura en analgesia regional. Actualmente, la LIA es usada tanto en la anestesia quirúrgica como en la analgesia postoperatoria, con el fin de obtener un efecto localizado y evitar los efectos adversos sistémicos y el bloqueo motor consecuente de otras técnicas analgésicas. Esta técnica se basa en la inyección o infusión local de anestésico cerca de la incisión quirúrgica, con el fin de proporcionar una analgesia localizada.

Se han descrito diferentes modalidades de LIA entre las que cabe destacar: inyección única intraoperatoria de la herida, catéteres permanentes en la herida para la infusión continua y la más reciente, la técnica de gran volumen asociada a la cirugía de reemplazo de articulaciones (57). Si bien su efectividad está bien documentada, ésta depende del tipo de cirugía y la localización anatómica (58–61). En ocasiones, esta técnica por sí misma no es suficiente para disminuir la intensidad del dolor postoperatorio, por lo que se ha convertido en un componente importante del régimen multimodal de anestesia en cirugía (62).

La laparoscopia, a pesar de ser un procedimiento menos invasivo que la laparotomía, produce dolor y el tratamiento analgésico adecuado, sigue siendo un factor clave en la recuperación de los pacientes. Después de la laparotomía el dolor

es principalmente por el daño tisular asociado a la incisión quirúrgica para acceder a la cavidad peritoneal, aunque hay un componente de dolor visceral importante (63). El dolor derivado de una laparoscopia es de origen multifactorial: trauma por la incisión de los puertos, el dolor asociado a los cambios locales por el neumoperitoneo (isquemia, acidosis, estiramiento diafragmático y peritoneal,), cambios sistémicos (hipercapnia que provoca excitación del sistema nervioso simpático, lo que conlleva a una amplificación de la respuesta inflamatoria local) y dolor específico derivado de la manipulación visceral específica de cada cirugía.

La instilación de anestésicos locales en la cavidad peritoneal después de la laparoscopia ha demostrado ser efectiva, disminuyendo el dolor postoperatorio y disminuyendo el tiempo de recuperación de los pacientes, siendo más efectivo al realizarlo justo después de la cirugía (64,65).

Un estudio aleatorizado de 80 pacientes, en el cual se evaluó el efecto en la disminución y el manejo del dolor postoperatorio tras la administración de anestésico local por instilación peri trocal, intraperitoneal y su combinación, en colecistectomía por laparoscopia; concluyó que la infiltración peri trocal disminuye significativamente el dolor parietal y la instilación intraperitoneal disminuye significativamente el dolor visceral y el dolor referido del hombro (66,67).

Una revisión bibliográfica de 23 estudios clínicos aleatorizados de la base de datos Medline, en los cuales se evaluó el efecto de la administración de anestésico local intraperitoneal después de una colecistectomía por laparoscopia, concluye que hay un efecto benéfico en 14 de ellos, encontrando una reducción en la intensidad de dolor. A pesar de que los efectos adversos son raros, la dosis de anestésico debe ser monitorizada para evitar toxicidad (68). Una revisión bibliográfica en MEDLINE/PubMed, EMBASE, y Ovid MEDLINE donde se estudia la efectividad de la instilación intraperitoneal en cirugías ginecológicas por la laparoscopia, demostró que esta técnica disminuye significativamente el dolor durante las 6 horas posteriores a la intervención (69). Estudios comparando la ropivacaína, bupivacaína

y la lidocaína demostraron que los tres fármacos son seguros y efectivos en el control postoperatorio en este tipo de procedimientos.

La instilación de anestésicos locales en la herida con o sin catéteres subcutáneos o subfasciales, es de gran uso en el tratamiento del dolor postoperatorio en diferentes procedimientos quirúrgicos (70–72). En un estudio clínico aleatorizado de cien mujeres sometidas a cesárea bajo anestesia general, la infiltración de la herida y el *sprayado* del peritoneo demostró una reducción del dolor y la necesidad de opiáceos (73). Otro estudio prospectivo aleatorizado de sesenta pacientes sometidos a cirugía aórtica abdominal mínimamente invasiva, comparó la efectividad analgésica de la infusión epidural y la infiltración local de la herida. Evaluaron las escalas de dolor, la reanudación en la alimentación oral, la reanudación en la deambulación, el día del alta, y las complicaciones postoperatorias inmediatas (30 días) y a largo plazo (2 años), observándose en ambos grupos un buen control del dolor y recuperación, a pesar de que el grupo sometido a la infiltración local necesitó una dosis más altas de anestésico (en este caso bupivacaína) (74).

La hernia inguinal es uno de los procedimientos más dolorosos hoy en día (2). Un metaanálisis de cinco estudios clínicos aleatorizados, en el cual hay un total de 288 pacientes involucrados, y en donde se estudia la eficacia en la reducción del dolor postoperatorio de una bomba de infusión continua de anestésico local en la herida mediante un catéter instalado justo antes de cerrar la incisión, frente a un placebo; demostró que dicho sistema es efectivo en la reducción del dolor en comparación a un placebo (75).

Con el fin de poder prolongar el efecto anestésico, se realiza una infusión continua de anestésico en la herida con el uso de un catéter y una bomba elastomérica. Diferentes estudios han demostrado su eficacia, concluyendo que esta técnica no es inferior a la técnica epidural en referencia a la puntuación en las escalas de dolor (64). También, se observa que los anestésicos locales pueden atenuar el efecto de estrés por la inflamación local. A pesar del gran número de estudios realizados, falta determinar con certeza la localización óptima del catéter, así como la concentración

y volumen adecuado (76). Es una técnica segura con pocos efectos secundarios, las complicaciones más importantes que hay que tener en cuenta, son su inadecuada ejecución y fallo de la técnica, infección de la herida y migración o salida del catéter.

## 2.5. *TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO DEL DOLOR*

La cirugía abdominal da lugar a una mayor incidencia de complicaciones pulmonares y gastrointestinales, de inmovilidad y en consecuencia prolonga el tiempo de recuperación. Para lograr una correcta analgesia, se usan una combinación de agentes farmacológicos y técnicas analgésicas. La anestesia general o regional puede ser apropiada para los pacientes sometidos a cirugía abdominal; la base de la anestesia general es un equilibrio entre anestésicos inhalatorios, opioides y bloqueadores neuromusculares (77,78). Por otra parte, la anestesia regional se basa en el bloqueo nervioso de fibras aferentes sensitivas. El tipo de técnicas y agentes farmacológicos usados varía según el historial médico del paciente, comorbilidades, y el tipo de cirugía. Esto normalmente implica la combinación de analgésicos opioides, no opioides, y adyuvantes (79–81).

### - Opiodes

Son los principales fármacos para el control del dolor intenso y continúan siendo una de las estrategias analgésicas perioperatorias más usadas, a pesar de su gran controversia (82). Los opioides se pueden clasificar según su origen siendo naturales (codeína y morfina), semisintéticos (oxicodona e hidrocodona), sintéticos (fentanilo, metadona, tramadol), o endógenos (endorfina, encefalinas, dimorfina) (3). También se pueden clasificar según su potencia, determinada por la afinidad de unión a los receptores y la capacidad de atravesar membranas según su solubilidad, lipofilia y estado de ionización (42).

Se unen a receptores específicos Mu, Kappa, Delta o Sigma y sus múltiples subtipos; localizados en las terminales presinápticas del sistema nervioso central (cerebro, tronco cerebral y áreas medulares), vías sensitivas periféricas, y otras partes anatómicas como el plexo mientérico y la médula adrenal. Son receptores de membrana acoplados a proteína G, que consta de tres subunidades  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ . La proteína G tiene una porción exterior y una porción catalítica proyectada al interior

de la célula y acoplada a la GDP (nucleótido de guanina) en la porción  $\alpha$ . La unión de un agonista al receptor provoca un cambio conformacional que facilita el acoplamiento entre la proteína G y el receptor. La subunidad  $\alpha$  se disocia de las subunidades  $\beta$  y  $\gamma$  y se acopla al efector modulando la señal transmembrana a través de la adenilciclase (AMPC cíclico), canales de potasio, calcio, sodio, proteínas transportadoras y fosfolipasas A2 y C (83–85). Estos efectos se traducen en una disminución de la liberación de neurotransmisores desde los terminales que llevan el impulso nociceptivo, por la hiperpolarización de las neuronas, que provoca la inhibición de la transmisión sináptica del impulso.

A pesar de ser fármacos con un potente efecto analgésico, tienen efectos adversos importantes entre los que caben destacar las náuseas, vómitos, somnolencia, prurito, depresión respiratoria, estreñimiento, disfunción intestinal, tolerancia y adicción.

Una ventaja de los opioides es la gran variedad de vías de administración, aparte de las vías tradicionales como con la oral, rectal, y parenteral; también es de gran uso la vía transdérmica y vías menos convencionales como la intranasal, intratecal y epidural (86). Los sistemas de analgesia controlada por el paciente (PCA) son una bomba programable para suministrar una dosis bolo de opiáceos a demanda, determinada por un especialista, con una velocidad de infusión basal opcional. La PCA mejora el control del dolor y la satisfacción del paciente. A pesar de que se asocia a una dosis total de opioides más alta, no está asociada a un mayor riesgo de efectos secundarios peligrosos, como la depresión respiratoria. La morfina, hidromorfona y fentanilo son los fármacos más comunes para la administración con bombas PCA con dosis de 1 mg, 0,2 mg, y 12.5  $\mu$ g, a una frecuencia de 6-10min. El mecanismo de seguridad inherente de PCA radica en el hecho de que un paciente que está cómodo o está sedado no pulsa el botón para administrarse otra dosis (87).

- Paracetamol

Se usa como un adyuvante para el control del dolor postoperatorio. Su mecanismo de acción no se conoce con exactitud, pero su efecto analgésico es por un posible aumento del umbral de dolor (88). Su mecanismo puede implicar la inhibición de la vía óxido nítrico, mediadora de una variedad de receptores de neurotransmisores incluyendo N-metil-D-aspartato y la sustancia P. En estudios in vitro, se demostró que es un débil inhibidor de la síntesis de prostaglandinas. Debido a que el paracetamol es un inhibidor débil in vitro tanto de la COX -1 y COX-2, existe la posibilidad de que se inhiba una forma hasta ahora no identificada de la COX, tal vez la COX-3. Carece de efecto antiplaquetario y efectos tóxicos gastrointestinales (89,90). La administración intravenosa de paracetamol es segura y eficaz en el dolor leve a moderado. La combinación de paracetamol IV con opiáceos, reduce el dolor, la sedación y las náuseas y los vómitos postoperatorios (91,92)

- Ibuprofeno

Es un AINE prototipo con propiedades analgésicas y antipiréticas. El ibuprofeno es un inhibidor no selectivo de las ciclooxigenas. Su mecanismo de acción se basa en la inhibición de la ciclooxigenasa-2 (COX-2), lo que disminuye la síntesis de prostaglandinas involucradas en la mediación de la inflamación, el dolor y la fiebre (93,94). Su efecto antipirético se debe su acción hipotalámica, dando como resultado, un aumento del flujo de sangre periférica, vasodilatación y en consecuencia la disipación de calor. Su poca selectividad sobre las ciclooxigenas, es la responsable de los efectos adversos. La inhibición de la ciclooxigena-1 (COX-1) está implicada en la formación de úlceras gastrointestinales (95). El ibuprofeno se administra en forma de una mezcla racémica, el enantiómero R es metabolizado en enantiómero S, siendo éste último más activo farmacológicamente (96).



- Capsaicina

La 8-metil-N-vanillil-6-nonenamida es un agonista del receptor de potencial transitorio canal catiónico miembro de la subfamilia V (TRPV-1), provoca la liberación sostenida de sustancia P (razón por la cual da sensación de quemadura), agotándola y provocando así, una disminución de la activación en fibras C (97). No tiene efecto sobre las fibras delta y fibras alfa, por lo tanto, no tiene efectos sobre la percepción del tacto y la temperatura (98). Se administra con precaución en casos de tener las enzimas hepáticas elevadas y con el uso concomitante de (ECA) enzima convertidora de angiotensina. La capsaicina está disponible en formas tópicas e inyectables, las formas tópicas se usan para la artritis y dolor neuropático como la neuralgia post herpética; mientras que la forma inyectable se puede utilizar para dolor postoperatorio en cirugía ortopédica o abdominal (99).

- Gabapentina

El uso de analgésicos adyuvantes incluyendo antiepilépticos tales como gabapentina, sirve para disminuir la dosis de opioides y mejorar la eficacia en el control del dolor postoperatorio.

La gabapentina es un análogo del ácido gamma-aminobutírico (GABA), originalmente comercializado como medicamento anticonvulsivante, pero en la actualidad, se usa para el dolor neuropático y, más recientemente, para la analgesia perioperatoria.

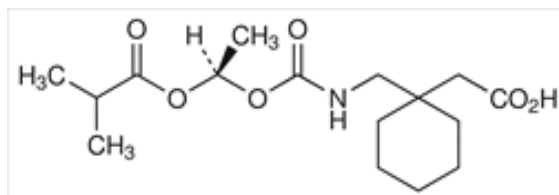


FIGURA 13 ESTRUCTURA QUÍMICA GABAPENTINA (100)

A pesar de su estructura química, no parece unirse a los receptores GABA, ni afecta la recaptación de GABA o su metabolismo. No actúa como un precursor de GABA o de otras sustancias activas en los receptores. Como otros anticonvulsivantes tiene efecto sobre los canales de sodio y calcio(101). Se une a la subunidad  $\alpha_2\delta$  de los canales de calcio dependientes de voltaje, lo que resulta en una disminución de la entrada de calcio a las terminales nerviosas, inhibiendo la liberación de neurotransmisores (102). Bloquea la sinapsis excitatoria por el bloqueo de los canales de calcio voltaje dependientes, al impedir la unión de trombospondina a la subunidad alfa-2-delta del canal de calcio (103).

Varios estudios confirman que el uso perioperatorio de gabapentina reduce el consumo de opiáceos y el dolor postoperatorio, al tiempo que tiene otros beneficios, como la reducción de la ansiedad pre-operatorio, la atenuación de la respuesta hemodinámica a la intubación y la reducción de las náuseas y vómitos postoperatorios(104,105). Los efectos secundarios más comunes asociados con la gabapentina son somnolencia, mareos, ataxia, fatiga y trastornos cognitivos(100).

- Dexmedetomidina

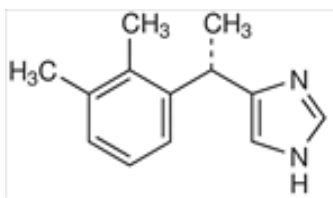


FIGURA 14 ESTRUCTURA QUÍMICA DEXMEDETOMIDINA (106)

La dexmedetomidina es un agonista  $\alpha_2$  adrenérgico intravenoso, más selectivo que la clonidina, se utiliza en cuidados intensivos, en sedación perioperatorias y como analgésico. En la práctica anestésica, se usa para reducir los requisitos de anestésicos en anestesia general y en la prevención de escalofríos después de la anestesia regional o general. Al ser más selectivo por los receptores alfa-2 presinapticos, se minimizan sus efectos secundarios como la hipotensión,

bradicardia y sedación (107). Hay varias teorías de su mecanismo de acción en el dolor, entre las que destacan, la existencia de un aumento de la activación de las vías inhibitorias descendentes del dolor a través del locus coeruleus, un efecto inhibitor directo sobre la descarga neuronal y una reducción en la liberación de la sustancia P (101).

Además, actúa de manera similar a los opiáceos a nivel cerebral (por ejemplo, la activación de proteínas G y de acoplamiento de potasio), potenciando la analgesia y permitiendo una reducción en la dosis de éstos (108,109). En el mercado está disponible como un inyectable a una concentración de 4 µg/ ml premezclado con cloruro de sodio al 0,9%. La dosis habitual en el control de dolor es 0.2 a 1 µg/kg·h en bolus, diez minutos después de la inducción y en infusión continua entre 0,2 a 0,5 µg/kg·h (110).

- Ketamina

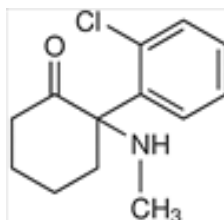


FIGURA 15 ESTRUCTURA QUÍMICA KETAMINA (111)

Sintetizada por primera vez en 1962 durante la guerra de Vietnam para su uso en los soldados, fue introducido en 1970 al resto de la población como un anestésico. Es un inhibidor no competitivo del receptor NMDA a nivel del sistema nervioso central y la médula espinal. Existen dos isómeros que difieren en efecto analgésico y anestésico, el enantiómero S (+) que tiene mayor afinidad por el receptor y por tanto es más potente y el enantiómero R (-) menos potente. Interacciona levemente con los receptores Mu y Kappa y a altas dosis tiene propiedades de anestésico local por la inhibición de canales de sodio. Provoca síntomas anticolinérgicos por la inhibición de receptores nicotínicos y muscarínicos. (112). Se utiliza como

coadyuvante en la analgesia intraoperatorio a dosis subanestésicas y su uso en el postoperatorio es común (110). Se ha observado que dosis intraoperatorias de 0,25 a 0,50 mg/kg en bolus IV o infusión continua de 0,2 a 0,3mg/kg/h; e infusión continua de 1,25 a 5 µg/kg/h, disminuyen el dolor postoperatorio, las náuseas y el consumo de opioides (113,114). Se administra generalmente por vía intravenosa o intramuscular, pero la vía oral y la vía rectal ha sido usada con éxito en niños. En el mercado está disponible como clorhidrato de ketamina en concentraciones equivalentes a 10, 50, o 100 mg / ml de base de ketamina. Las inyecciones también contienen 0,1 mg / ml de cloruro de bencetonio. En solución tiene un pH entre 3,5 a 5,5 (115).

- Sulfato de Magnesio

Se ha demostrado que el magnesio tiene efectos antinociceptivos en modelos animales y humanos mediante el bloqueo del receptor de NMDA y de los canales de calcio asociados, evitando así la sensibilización central causada por la estimulación nociceptiva periférica (116). Actúa como un antagonista no competitivo del receptor de NMDA evitando la entrada de calcio extracelular a la célula. Bloquea los canales de calcio, provocando vasodilatación periférica, broncodilatación y la relajación uterina a través de sus efectos sobre el músculo liso. Se usa como coadyuvante para la anestesia en dosis de carga de 50 mg / kg seguido de 8 mg / kg / hr. La adición de sulfato de magnesio a anestésicos locales para anestesia neuroaxial, prolonga la duración de ésta y mejora la calidad de la analgesia. Un meta-análisis en 2013 de ensayos controlados aleatorios demostraron que la administración perioperatoria de magnesio intravenoso reduce el dolor postoperatorio y el consumo de opioides (110). Es soluble en agua, pero poco soluble en glicerol y alcohol; tiene un pH entre 5,0 y 9,2 (solución al 5% en agua). El sulfato de magnesio se usa para atenuar la respuesta hemodinámica no deseable asociada a la intubación. Dosis parenterales excesivas de sales de magnesio conducen al desarrollo de hipermagnesemia, que provoca depresión respiratoria y la pérdida de los reflejos tendinosos profundos por el bloqueo neuromuscular. Otros

síntomas de hipermagnesemia pueden incluir náuseas, vómitos, enrojecimiento de la piel, sed, hipotensión debida a la vasodilatación periférica, somnolencia, confusión, dificultad para hablar, visión doble, debilidad muscular, bradicardia, coma y paro cardíaco.

- Dexametasona

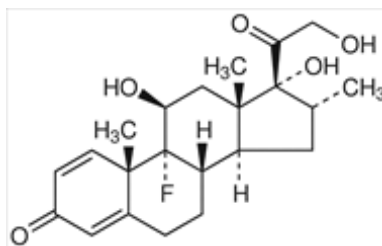


FIGURA 16 ESTRUCTURA QUÍMICA DEXAMETASONA (117)

La dexametasona es un glucocorticoide de alta potencia, 25 veces más potente que la hidrocortisona y hasta dieciséis veces más potente que la prednisolona. Actúa sobre los receptores nucleares 3C, activando múltiples vías de señalización, incluyendo la unión directa al ADN que resulta en cambios en la transcripción génica. Esto da lugar a cambios en los hidratos de carbono, proteínas y metabolismo de las grasas, así como cambios en la gluconeogénesis. De interés en el contexto perioperatorio, es la disminución de la liberación de bradiquinina, factor de necrosis tumoral, interleucina-1, interleucina-2 e interleucina-6 y la disminución de la producción de prostaglandinas. Hay una disminución de la transmisión de los impulsos en las fibras C que provoca un bloqueo motor y sensorial (118,119). La unión al receptor también altera la vida media del ARNm ya producido dentro de la célula, lo que disminuye tanto la expresión del ARNm del receptor, como la respuesta a la unión del ligando (120). Utilizada ampliamente en el contexto perioperatorio, una dosis única preoperatoria de dexametasona, actúa como agente profiláctico de náuseas y vómitos.

Los beneficios antiinflamatorios y analgésicos, también se han demostrado claramente en la anestesia, a pesar que la dosis ideal y la vía de administración no

están claras. Se ha demostrado el efecto analgésico con dosis entre 9 a 40 mg de dexametasona durante el período perioperatorio (121).

Encapsular dexametasona con un anestésico local se ha formulado y estudiado, mostrando que aumenta el tiempo de anestesia durante varios días (122). Su poca actividad mineralocorticoide la hace adecuada para el tratamiento de condiciones en las que la retención de agua es una desventaja. Para la administración parenteral, se usa el éster de fosfato de sodio, administrado tanto por vía intravenosa mediante bolus o infusión; como intramuscular. Las dosis utilizadas, expresadas en términos de fosfato de dexametasona, son de aproximadamente 0,5 a 24 mg al día (aproximadamente 0,4 a 20 mg de dexametasona). También se administra de forma intraarticular, intralesional, o inyección de tejidos blandos. Las dosis intraarticulares son entre 0,8 a 4 mg de fosfato de dexametasona dependiendo del tamaño de la articulación. En las partes blandas, la dosis varía entre de 2 a 6 mg (117).

La solución para inyección de Fosfato sódico de dexametasona tiene un pH de 7.5 a 10.5, debe ser protegidas de la luz y de la congelación. Por otra parte, el fosfato sódico de dexametasona es lábil al calor y no debe ser autoclavado para esterilizar el exterior del vial, la esterilización se debe hacer por filtrado en dextrosa al 5%, cloruro sódico al 0,9% o solución Ringer lactato, a través de un filtro de membrana de éster de celulosa de 0,22 micras (Ivex-2 Filtrar Set), o un filtro de membrana de policarbonato de 0,22  $\mu\text{m}$  (en Sure Set Filter) (123).

#### - Anestésicos locales

Los anestésicos locales (AL) se utilizan para la anestesia durante la cirugía y para el manejo del dolor agudo y crónico. Actúan bloqueando de forma reversible los canales de sodio voltaje dependientes, lo cual previene la despolarización de la membrana del nervio por inhibición del flujo de sodio. Se unen a receptores específicos de la membrana, localizados en los canales de sodio en la membrana del axón. También bloquea los canales de calcio, potasio y los receptores

potenciales transitorios vaniloide tipo 1 (124–126). Los anestésicos locales también interrumpen el acoplamiento entre ciertas proteínas G y sus receptores asociados, lo que provoca un efecto antiinflamatorio. Inhiben la respuesta inflamatoria local, ya que reducen la liberación de mediadores inflamatorios producidos por los neutrófilos, reducen la adhesión de los neutrófilos al endotelio, reduce la formación de radicales libres de oxígeno y disminuyen el edema (127).

El mecanismo de acción de los anestésicos locales está determinado por las dos formas existentes en solución, la base libre y la catiónica o ionizada, que vienen determinadas por el pH de la solución y el pKa de la sustancia. Los de elevada solubilidad en lípidos y valores bajos de pKa tienen un inicio de acción más rápido. La estructura del anestésico local también determina el mecanismo de acción. La proporción de base libre penetra las membranas biológicas y la fracción ionizada es la forma activa que se une al receptor, de esta forma se explican dos diferentes mecanismo de acción (128):

- ✓ Hidrofílico: Es el principal mecanismo de acción, el anestésico local en forma no ionizada atraviesa la membrana celular hasta llegar al interior de la neurona, en donde pasa a la forma ionizado y se une a la parte interior de los canales de Na<sup>+</sup> voltaje dependiente abierto y provoca el bloqueo.
- ✓ Hidrofóbico: Es el mecanismo de acción secundario. Aproximadamente el 10% del anestésico local atraviesa la membrana cuando el canal está cerrado.

Los anestésicos locales se pueden clasificar en dos grupos basados en su estructura química, amidas [-NH-CO-] y ésteres [-o-CO-] (122).

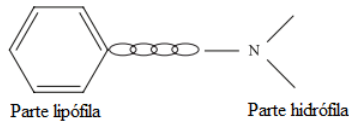


FIGURA 17 ESTRUCTURA GENERAL DE LOS ANESTÉSICOS LOCALES (122)

Los de grupo éster, son bases débiles que se solubilizan para inyección en forma de sales ácidas de hidrocloreuro conjugadas. Los de grupo amida son los más usados en la clínica; incluye la lidocaína, prilocaína, levobupivacaína, bupivacaína, mepivacaína y ropivacaína.

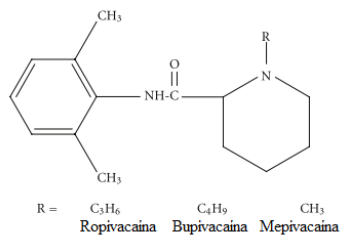


FIGURA 18 ESTRUCTURA QUÍMICA DE ALGUNOS ANESTÉSICOS LOCALES GRUPO AMIDA (122)

La lidocaína es el anestésico local más utilizado en el quirófano. Es una aminoetilamida (no contiene carbonos asimétricos) de acción intermedia, con una velocidad de inicio de acción rápida. Es un anestésico de acción media a prolongada, tiene un tiempo de vida media entre 1 – 2 horas, es principalmente metabolizada por el hígado y su principal metabolito también tiene actividad analgésica. (129). Se usa en una formulación de parche para el tratamiento del dolor asociado con la neuralgia posherpética y también se usa como agente antiarrítmico.(Cita)

La dosis máxima sugerida de clorhidrato de lidocaína es de 500 mg cuando está asociada a adrenalina; sin adrenalina la dosis máxima recomendada varía entre 200 a 300 mg según indicación. En bloqueo periférico, la dosis depende de la ruta de administración (130): para el bloque de plexo braquial se usa una dosis de 225 a



300 mg (15-20 ml de solución al 1,5%); para bloqueo intercostal 30 mg (3 ml de solución al 1%) y para un bloqueo simpático 50 mg (5 ml de solución al 1%) entre otros (131). A pesar de ser la de menor toxicidad y que los efectos adversos graves de la lidocaína son extremadamente raros, la mayoría de las reacciones adversas se deben a la colocación incorrecta de la aguja, una administración incorrecta o una sobredosis. Es importante enfatizar que varios estudios han demostrado la seguridad y efectividad de los diferentes AL, sin embargo, la lidocaína es la más conocida, tiene un costo bajo y su disponibilidad en el mercado es muy extendida.

La toxicidad de los anestésicos locales afecta principalmente el sistema nervioso central seguido del sistema cardiovascular. La miotoxicidad se debe a la alteración bioenergética en la mitocondria de las células por acción sobre los canales de sodio (132). Los AL no ionizados, atraviesan la membrana de las células neurales y cardíacas, cerrando los canales de sodio en estado inactivo y retrasando la generación y propagación de los potenciales de acción. El pKa es determinante en la toxicidad del LA, pero adicionalmente se ha visto, que el enantiómero (R) se unen con mayor afinidad a los canales de sodio cardíacos que el enantiómero (S) (122), por lo que en la actualidad, se trata de usar anestésicos locales cuya molécula corresponda a dicho enantiómero. La ropivacaína es un enantiómero (S) tipo amida de acción prolongada (133), con una eficacia y con propiedades farmacodinámicas y farmacocinéticas similares a las de bupivacaína, la cual, es una mezcla racémica (65).

Actualmente, se han desarrollado distintos dispositivos, técnicas y formulaciones de liberación prolongada para la administración continua de anestésicos locales en la herida quirúrgica y peritoneo, con el fin de evitar el uso de catéteres y mejorar la comodidad y satisfacción del paciente.

El On-Q Pain Management System (I-flow Corporation) es un sistema de irrigación continua de anestésico local en la incisión. Un estudio para comprobar la eficacia del sistema usando bupivacaína como agente farmacológico (n=20) y solución salina como placebo (n=16) en la reducción del dolor postoperatorio después de

una cesárea, demostró que el dispositivo reduce significativamente el uso de narcóticos posoperatorios (134). A pesar de que este tipo de dispositivos son de utilidad para la administración continua de fármacos, está limitado al tipo de procedimiento quirúrgico. Se han estudiado varios sistemas de administración en forma líquida sin necesidad de ningún dispositivo para la administración de anestésicos locales en la herida y el peritoneo.

La aerosolización intraperitoneal de anestésico local en la laparoscopia, es una técnica que consiste en el uso de un trocar adaptado formado por una cámara aerosolizadora, una membrana porosa y un suministro de gas propulsor (dióxido de carbono). La cámara contiene una solución del fármaco el cual, gracias al gas, es forzado a pasar por una membrana porosa de entre 3,5 y 5 MMAD (masa media de diámetro aerodinámico), localizada justo entre la cámara y el trocar y encargada de aerosolizar el fármaco (135).

Un estudio clínico aleatorizado de 80 pacientes sometidos a colecistectomía por laparoscopia evaluó el efecto analgésico de la aerosolización intraperitoneal de bupivacaína (n=20). Dividieron la muestra en cuatro grupos de tratamiento: grupo control (n=20), grupo de solución salina aerolizada (n=20), grupo de aerosolización intraperitoneal con bupivacaína (n=20) y otro grupo en el que se administro bupivacaína en la vejiga (n=20). Observaron una reducción significativa del dolor postoperatorio en el grupo de aerolización de bupivacaína, comparado con los otros métodos de tratamiento. La técnica permite una disposición homogénea de fármaco por todo el peritoneo y un control del dolor por 24 horas, acelerando la recuperación del paciente (63). Por otra parte, es una técnica en la cual, la dosis absorbida de fármaco no se puede controlar y, a las dosis estudiadas, tiene una farmacocinética semejante a la administración extravasal, donde el pico de máxima concentración plasmática está por debajo de los niveles tóxicos (135). Al comparar la instilación y la técnica de nebulización, éstas difieren en la duración de la administración de anestésico local y en la absorción sistémica.

La instilación intraperitoneal se realiza durante un período corto (por lo general dentro de 1-2 minutos) al final de la intervención quirúrgica, la zona de dispersión del anestésico local es generalmente el lecho quirúrgico de la vesícula biliar y el área circundante. En contraste, la nebulización intraperitoneal de anestésico local se lleva a cabo durante un período prolongado (aproximadamente 30 minutos), mientras que el neumoperitoneo se mantiene (es decir, la presión intraabdominal es de 12-15 mm de Hg), y la dispersión del anestésico local es por toda el área peritoneal (136). En ambas técnicas, no cabe la posibilidad de una administración continuada de fármacos más allá de la cirugía y su efecto analgésico se limita a un máximo 24 horas.

En la actualidad, se están desarrollando nuevos sistemas de liberación de anestésicos locales, que permiten el uso de grandes dosis de fármaco y un control en la liberación, proporcionando una analgesia durante un período prolongado sin toxicidad. Agentes vehiculizantes incluyen liposomas (137), lipoesferas, ciclodextrinas, micropartículas, matrices de liberación continuada , *films*, geles e hidrogeles (122).

Los implantes de matrices poliméricas de anestésico local y los *films*, bioerosionables y biodegradables producen un bloqueo nervioso continuo, pero su uso está limitado a los procedimientos quirúrgicos en los que es posible su implantación. Como alternativa a los implantes sólidos, los sistemas líquidos de liberación de fármacos compuestos por liposomas, lipoesferas y micropartículas, entre otros, han sido ampliamente estudiado en el tratamiento del dolor. La encapsulación del anestésico local proporciona una duración del efecto analgésico de varias horas o días y a pesar de que no es necesaria la implantación quirúrgica, la formulación se basa en procesos complejos y de múltiples pasos en los cuales se ve afectada su estabilidad (133). Por otra parte, estos sistemas líquidos de liberación pueden difundir libremente desde el lugar de la inyección a otras partes anatómicas, por lo que es difícil controlar el efecto local deseado (138).

Los implantes de formación *in-situ* se basan en la inyección en el cuerpo de la formulación en estado líquido, que al entrar en contacto con los fluidos corporales pasan a estado sólido por diferentes mecanismos químicos, físicos o mecánicos que provocan un cambio conformacional del sistema. Esta tecnología combina la ventaja de la liberación controlada localizada del fármaco característica de un implante sólido y la posibilidad de una administración independiente de un procedimiento quirúrgico, característica de las preparaciones líquidas.

## 2.6. GELES

Un gel es un sistema coloidal con estructura reticulada y tridimensional que retiene en su interior una gran cantidad de solvente. Es un sistema heterogéneo constituido por dos o más componentes, con propiedades de semisólido.

La formación de un gel se lleva a cabo de forma espontánea o por factores externos, donde a partir de un punto crítico, se genera un “*cluster*” de partículas que permite la generación de una red que se expande por todo el sistema. En este punto, hay un cambio de las propiedades macroscópicas observándose un paso de líquido a sólido.

La gelificación ha sido descrita por la teoría clásica de Flory (139) y Stockmayer (140), que explica como pequeñas cadenas de moléculas reaccionan y forman macromoléculas con estructura arborescente, siguiendo una transición termodinámica de tercer orden. La otra teoría aceptada es la teoría de la percolación desarrollada por De Gennes (141), que formula la existencia de una serie de monómeros que se unen por enlaces al azar. A medida que se agregan más monómeros, se genera un “*cluster*” que finalmente forma una red (142,143)

Así mismo, Flory describió cuatro tipos de geles (144):

1. Estructuras laminares bien ordenadas
2. Redes poliméricas covalentes completamente desordenadas
3. Redes poliméricas formadas por agregación física, también llamados de fase simple, constituidos por macromoléculas orgánicas distribuidas uniformemente a lo largo de un líquido, de tal manera que no existen límites aparentes entre las macromoléculas dispersadas y el líquido.
4. Estructura de partículas desordenadas, también llamados geles de dos fases, al ser una red de partículas discretas.

La gelificación puede ser dada por uniones físicas (gelificación física) o químicas (gelificación química). La gelificación química es de tipo irreversible por la formación de enlaces covalentes. Se describen dos tipos: monómeros reactivos (condensación – percolación crítica o adición – crecimiento cinético) y vulcanización (“*crosslinking polymers*”). Por otro lado, la gelificación física es de tipo reversible y puede ser fuerte o débil según el tipo de interacción.

Los geles pueden ser clasificados de muchas formas: según su comportamiento con el agua, el origen de los polímeros y según la naturaleza de la fase interna.

Los hidrogeles, cuyo disolvente mayoritario es el agua, están constituidos por un material polimérico capaz de retener una gran cantidad de agua en su red. La capacidad para retener agua es debido a los grupos hidrófilos presentes en las cadenas poliméricas de la estructura del polímero. Entretanto, la resistencia a la disolución y el mantenimiento de su estructural es debido a los enlaces (físicos o químicos) presentes entre las cadenas de la red.

Los hidrogeles que forman enlaces químicos son los llamados hidrogeles tradicionales (145). Estos forman una red de enlaces permanentes confiriendo al gel baja resistencia mecánica. Por otra parte, necesitan de un catalizador y/o agentes de copolimerización para su formación.

Los hidrogeles que forman enlaces físicos presentan una gelificación de tipo reversible. Cabe destacar entre ellos los hidrogeles sensibles al medio ambiente o inteligentes, los cuales, gelifican en respuesta a un cambio ambiental, pudiendo ser cambios en el pH, temperatura, carga eléctrica y/o luz. Son de gran interés por sus propiedades biocompatibles y el fácil control en la liberación de fármacos. Se está investigando su aplicación en la administración de fármacos, como barreras tisulares y en ingeniería de tejidos. Cabe resaltar entre sus ventajas la innecesidad de usar solventes orgánicos y agentes de co-polimerización (146).

- Geles termosensibles

Los geles termosensibles son geles de formación *in-situ*, en los cuales la gelificación está inducida por la temperatura, observándose un cambio en la interacción entre el segmento hidrofóbico y/o hidrofílico del polímero, que provoca un cambio en la solubilidad de la red.

Los polímeros usados como agentes gelificantes, no solo exhiben una transición vítrea, sino también, un comportamiento de fases a baja y/o alta temperatura (147). Esta transición de fases es delimitada por la temperatura crítica de solución superior e inferior (UCST y LCST, siglas en ingles), que demarcan el vértice donde dos curvas coinciden; la curva conocida como espinodal y un corredor sensible llamado curva de coexistencia o bidonal.

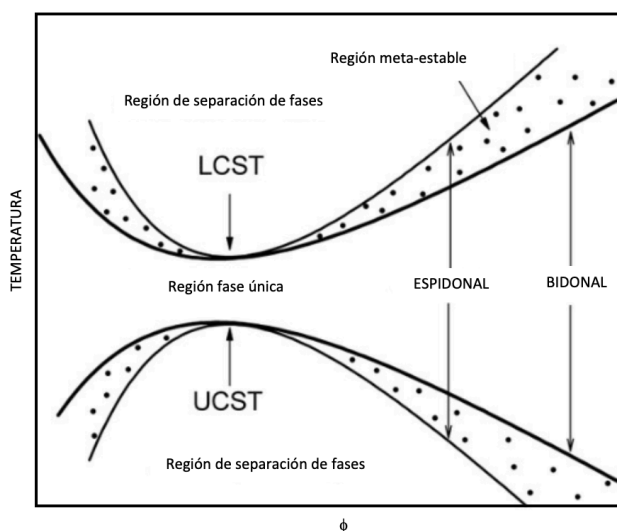


FIGURA 19 DESCRIPCIÓN ESQUEMATICA DE LA CURVA ESPIDONAL Y BIDONAL(148)

La mayoría de los polímeros presentan mayor solubilidad en agua al aumentar la temperatura (hidrogeles termosensibles positivos) y se dice que el polímero exhibe una UCST cuando están en solución a alta temperatura y presentan transición de fase al enfriar.

Por otra parte, algunos polímeros, presentan menor solubilidad en agua al aumentar la temperatura (dependencia inversa o negativa a la temperatura). Este

comportamiento poco frecuente, hace que a temperaturas bajas, haya una sola fase y al calentar por encima de la LCST se produzca el proceso de gelificación (149).

Estos polímeros son más solubles en agua fría, como resultado de un incremento en la solvatación y en la interacción de la cadena hidrofílica con el solvente; es decir; a bajas temperaturas las moléculas del polímero son rodeadas por una capa de hidratación, al aumentar la temperatura, las cadenas hidrofílicas del polímero se desolvatan como resultado del rompimiento de los enlaces (en su mayoría puentes de hidrógeno) que se habían generado. Este fenómeno favorece las interacciones hidrofóbicas polímero-polímero provocando una contracción de la cadena y así generando la formación del gel. La transición de fase de este tipo de geles está gobernada por el balance entre la fracción hidrofílica e hidrofóbica del polímero.

La transición de fase está gobernada termodinámicamente, por la energía libre de asociación que depende de la entalpía (H), entropía (S) y la temperatura (T):

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

Un aumento en la temperatura provoca un aumento en el término  $T\Delta S$ , mayoritariamente por la contribución de la entropía del agua, lo cual hace que la energía libre de asociación ( $\Delta G$ ) sea negativa favoreciendo la unión entre las cadenas del polímero (150,151).

En este tipo de geles, la gelificación sigue uno de los siguientes mecanismos (152):

- Gelificación inducida por el solvente – gelificación por formación de un complejo solvente/polímero (compuesto polímero-solvente).

La morfología de los compuestos polímero-solvente puede ser del tipo esferulítico o de tipo fibrilar dependiendo del disolvente utilizado y la tacticidad del polímero. La interacción a nivel molecular entre el polímero y las moléculas del solvente son las



principales responsables de la morfología del gel al alterar la longitud de la cadena (153).

- Gelificación inducida por cristalización – gelificación por cristalización parcial del polímero.

En los geles termoreversibles semicristalinos, pequeños cristales unidos por enlaces físicos entre las cadenas forman una red física. A temperaturas suficientemente altas, los cristales se funden y la red se transforma en una solución de polímero convencional. Los polímeros con alta estereorregularidad forman cristales y los polímeros con cadenas atácticas generan compuestos de polímeros solventes (154).

Si bien hay una gran cantidad de polímeros que generan morfologías semicristalinas, cabe resaltar que muy pocos de ellos son capaces de formar geles termoreversibles.

- Gelificación micelar – gelificación cuando a concentraciones superiores de la concentración micelar crítica y por encima de la temperatura micelar crítica hay una agregación o empaquetamiento de las micelas.

Co-polímeros lineales conformados por bloques anfifílicos pueden existir en solución como micelas agregadas o cadenas libres del copolímero. La gelificación física se produce por cambios en la solubilidad de un bloque del polímero, induciendo un autoensamblaje de las cadenas del polímero y la formación de estructuras micelares

La liberación del fármaco en los geles termosensibles se rige por diversos parámetros:

- Solubilidad del fármaco en el agua
- La velocidad de difusión del agua en el gel

- La tasa de difusión del fármaco desde el gel
- La disolución y erosión del gel dentro de las condiciones experimentales

Estos son los factores que afectan la cinética de liberación del fármaco, y es necesario el estudio experimental de disolución in vitro para predecir la cinética y el mecanismo de liberación del fármaco (155).

- *Excipientes de geles termosensibles*

Los termogeles pueden estar compuestos de una gran variedad de diferentes polímeros sintéticos o polímeros naturales con propiedades específicas (138).

La celulosa y sus derivados han sido ampliamente utilizados en aplicaciones biomédicas por su biocompatibilidad. Cuando los derivados de celulosa tienen un equilibrio óptimo de restos hidrófilos e hidrófobos, se produce una transición sol-gel en agua. La temperatura de transición sol-gel depende de la sustitución de la celulosa en el grupo hidroxilo (146).

La metilcelulosa (MC) es un éter de metilo de la celulosa, tiene propiedades de gelificación térmica, por lo cual a baja temperatura es soluble en agua formando soluciones, y al elevar la temperatura, los enlaces de hidrógeno entre el polímero y el solvente se rompen formando uniones hidrofóbicas que forman el gel. La temperatura de gelificación depende de la concentración salina de la solución. Ésta disminuye al aumentar la concentración salina, ya que las moléculas de agua tienden a solvatar las moléculas de la sal, reduciendo la solubilidad de la MC en el agua (156), viéndose totalmente precipitada a concentraciones muy altas de electrolitos (157).

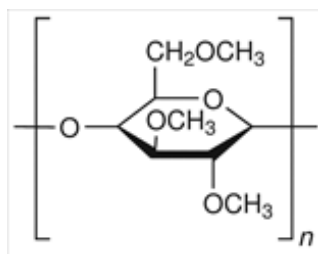


FIGURA 20 ESTRUCTURA QUÍMICA DE LA METILCELULOSA (MC) (158)

En agua fría, se hincha y se dispersa lentamente para formar una dispersión coloidal viscosa, clara y/o opalescente (157). Tiene una temperatura de gelificación (TG) entre 40 y 50°C, pero la adición de una sal, puede llegar a disminuir la TG a valores por debajo de 37°C (159)(160). En la siguiente tabla se observa la temperatura de gelificación a diferentes concentraciones de polímero y sal en el medio:

Tabla 1. Gelificación de la Metilcelulosa a diferentes concentraciones

Concentración (%)	Temperatura gelificación (°C)	Concentración de KCl (%K <sup>+</sup> )
5	>36	0.0560
6	>36	0.0560
7	36	0.0387
8	36	0

La temperatura de gelificación es usualmente mayor que la temperatura corporal, pero se puede ajustar con la adición de sales o ajustando la concentración del polímero. Se observa que a concentraciones de más de 8% de MC como único polímero en agua, no es necesaria la adición de sales para que su gelificación se efectúa a temperatura corporal (156). Este comportamiento puede variar al combinar la MC con otros polímeros.

*Tabla 2. Gelificación de la Metilcelulosa y otro polímero a diferentes concentraciones*

Concentración MC (%)	Temperatura gelificación (°C)	Concentración de KCl (%K <sup>+</sup> )
3/CMC1	>36	0,0560
4/CMC1	>36	0,0560
5/CMC2	36	0,0560
6/CMC2	36	0,0526
5/CMC1/PEG3	36	0,0480
5/CMC2/PEG2	36	0,0480
6/CMC1/PEG3	36	0,0480
6/CMC2/CS-SO <sub>3</sub> 1	36	0,0410

CMC – Carboximetilcelulosa, PEG – Polietilenglicol, CS- SO<sub>3</sub> – Chitosan Sulfato

Varios grados de metilcelulosa están disponibles en el mercado y se distinguen por un número que indica la viscosidad aparente en milipascales por segundo de una solución al 2% w /w a 20 °C. Grandes cantidades de electrolitos aumentan la viscosidad de la solución de metilcelulosa provocando su precipitación. Tiene un pH de 5,0 a 8,0 en una solución acuosa al 1% w/v. La metilcelulosa es incompatible con compuestos como el colesterol, los hidroxibenzoatos y el fenol. Los diversos grados de metilcelulosa son ampliamente utilizados en la industria farmacéutica como emulsionantes de suspensión, agentes espesantes, como diluyente y disgregante; y como agentes de recubrimiento en la fabricación de comprimidos (158).

Se han desarrollado geles inyectables termosensibles para la prevención de adherencias postquirúrgicas con buenos resultados (156). La metilcelulosa no se usa habitualmente en productos parenterales, aunque se ha utilizado en formulaciones de administración intraarticular e intramuscular. Los estudios en ratas han sugerido que la administración parenteral puede causar glomerulonefritis e hipertensión. La biocompatibilidad de la metilcelulosa en el peritoneo no se ha estudiado claramente, pero en las guías, se establece que la dosis letal 50 (DL50) intraperitoneal en ratón es de 275 g / kg (157). Las soluciones de MC se contaminan fácilmente y se deben añadir conservantes antimicrobianos para la administración parenteral. Las soluciones deben ser esterilizadas por autoclave, a pesar que este proceso puede disminuir la viscosidad de la solución. Este proceso es pH

dependiente, por lo que en soluciones de pH menor a 4, la viscosidad se ve disminuida un 20% después del proceso de Autoclavado (157). Derivados de celulosa tales como la carboximetilcelulosa (CMC) y la hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) tienen biocompatibilidad en el peritoneo (161).

La hidroxipropilmetilcelulosa es la celulosa O-metilada y O-(2-hidroxipropilada), al igual que la metilcelulosa forma geles termosensibles. La temperatura de gelificación varía de 50 °C a 90 °C dependiendo del grado y la concentración. Esta temperatura puede ser disminuida mediante modificaciones químicas o físicas. Un ejemplo de esto, es la reducción de la sustitución molar del hidroxipropil que disminuye la TG a 40 °C (160). Para temperaturas por debajo de la temperatura de gelificación, la viscosidad de la solución disminuye a medida que se incrementa la temperatura. Más allá de la temperatura de gelificación, la viscosidad aumenta con los incrementos de temperatura (162).

Los diferentes grados de HPMC en el mercado se distinguen añadiendo un número de cuatro cifras, en el cual, los dos primeros dígitos representan el contenido porcentual aproximado de grupos metoxi, y el tercero y cuarto dígito, el contenido porcentual aproximado de grupos hidroxipropil.

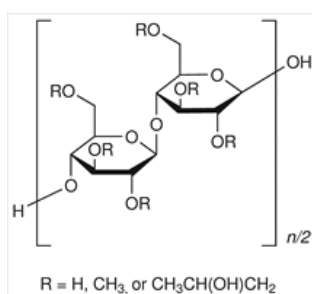


FIGURA 21 ESTRUCTURA QUÍMICA DE LA HIDROXIPROPILMETILCELULOSA (HPMC) (163)

Es incompatible con algunos agentes oxidantes, y al ser no iónico, no forma complejos con sales metálicas o compuestos orgánicos iónicos, evitando así, la formación de precipitados insolubles. Tiene un pH de 5,0-8,0 en una solución acuosa al 2% w/w.

Se encuentra en la lista GRAS (*Generally Recognized As Safe*) como aditivo alimentario y en Europa está aceptado con dicho fin. Está incluido en la base de datos de ingredientes inactivos de la FDA para uso en preparados oftálmicos y nasales; cápsulas orales, suspensiones, jarabes y comprimidos; preparaciones tópicas y vaginales. Incluido en medicamentos parenterales con licencia en el Reino Unido. Las soluciones acuosas para uso oftálmico o parenteral se deben esterilizar por autoclavado, las cuales, una vez enfriadas, deben ser agitadas para que el polímero coagulado se redisperse. La HPMC genera soluciones acuosas de una mayor claridad y con un menor número de fibras no disueltas que la MC, por lo que se utiliza preferentemente en las formulaciones oftálmicas. Tiene una dosis letal 50 (DL50) intraperitoneal en ratón de 5 g/kg y en rata de 5.2 g/kg (162). De hecho, las dosis altas se están investigando para el tratamiento de diversos síndromes metabólicos (164) y para la prevención de las adherencias peritoneales en hidrogeles en combinación con Ácido hialurónico (161).

Soluciones acuosas de etilhidroxietil celulosa (EHEC) también presentan un comportamiento termosensible, pero su viscosidad disminuye con la temperatura, lo cual la hace inapropiada para la preparación de geles de formación in-situ. Estudios han demostrado que la adición de un surfactante iónico, como el dodecil sulfato sodio a una solución diluida de 1 al 4% de EHEC, cambia su comportamiento térmico, obteniendo una temperatura de gelificación entre 30 y 40 °C. La necesidad de incorporar un surfactante para poder realizar un gel de formación in-situ, es un impedimento para formulaciones de administración parenteral (160).

El xiloglucano es un polisacárido extraído del núcleo de la semilla del tamarindo (165), compuesto por una cadena (1-4)-b-D-glucan (GLU) que presenta cadenas laterales de (1-6)a-D-xilosa (XYL) parcialmente sustituidas por cadenas (1-2)b-D-galactoxilosa (GAL) (160).

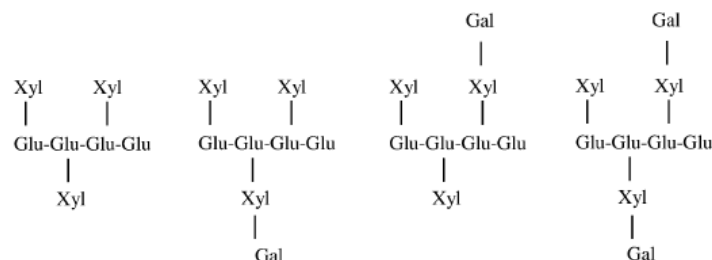


FIGURA 22 ESTRUCTURA QUÍMICA DEL XILOGLUCANO (160)

El xiloglucano, obtenido de la semilla de tamarindo, está compuesto por tres unidades de oligómeros de xiloglucano con heptasacáridos, octosacáridos y nanosacáridos, los cuales, se diferencian por el número de cadenas laterales de galactosa. Cuando el xiloglucano es parcialmente degradado por las  $\beta$ -galactosidasa, se obtiene un polímero con propiedades térmicas de gelificación. Este tipo de comportamiento no se encuentra en el xiloglucano puro de la semilla, y la gelificación sólo es posible cuando la proporción degradada de galactosa es superior al 35%. La temperatura de transición es inversamente proporcional a la concentración de polímero y a la proporción de galactosa eliminada. Por ejemplo, la transición de sol-gel de xiloglucano demostró que disminuye  $40 \pm 5$  °C cuando la de eliminación de galactosa aumentó del 35 al 58%.

Al igual que las celulosas, la formulación de geles termosensibles requiere una baja concentración de xiloglucano, lo que es una ventaja desde el punto de vista toxicológico. Tras la administración intraperitoneal en ratas de Mitomicin C en un gel al 1.5%, se observó un perfil de concentración-tiempo amplio, a diferencia de un pico estrecho y desaparición rápida del líquido peritoneal y el plasma al administrar el fármaco en solución. En contrapartida, el uso del xiloglucano sólo está aprobado como aditivo alimentario y su baja temperatura de gelificación (22 – 27 °C) hace que su manejo a temperatura ambiente sea problemático (160).

El quitosano es un polisacárido que consiste en un polímero policatiónico de glucosamina y N-acetilglucosamina. Se obtiene por la desacetilación parcial de la quitina (166), elemento estructural en el exoesqueleto de crustáceos e insectos, siendo el segundo biopolímero natural más abundante después de la celulosa (167).

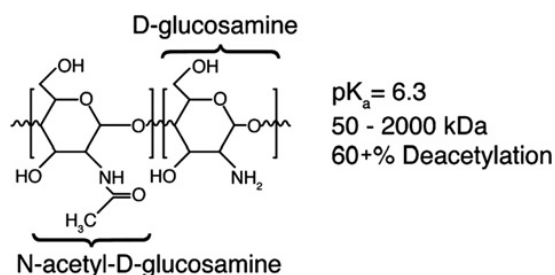


FIGURA 23 ESTRUCTURA QUÍMICA DEL QUITOSANO (167)

El grado de desacetilación necesario para obtener un producto soluble debe ser de más del 80-85%. En el mercado hay disponibles diferentes tipos y grados según su peso molecular (10000-1000000), grado de desacetilación y viscosidad (166). El quitosano tiene un pH entre 4 - 6 y es insoluble a pH neutro y alcalino. A un grado de desacetilación del 85% es soluble sólo hasta a un pH de 6,2, precipitando a un pH más alcalino formando un gel. Al usar una sal poliol de aniones ( $\beta$  glicerofosfato GP) para su neutralización, puede permanecer líquido durante largos períodos de tiempo obteniéndose un sistema a pH fisiológico (6,8 a 7,2) y donde la gelificación sólo está determinada por la temperatura del medio, observándose la formación de un gel con el aumento de la temperatura (168).

Los fosfatos de la sal de GP neutralizan los grupos de amonio del quitosano, lo que permite una mayor unión hidrófoba y de hidrógeno entre las cadenas de quitosano a temperaturas elevadas. La mezcla es un líquido transparente a temperatura ambiente que gelifica a 37 °C (167). La estabilidad de la solución a temperatura ambiente y del tiempo de gelificación aumenta a medida que el grado de desacetilación disminuye.

Hay tres tipos de interacciones implicadas en el proceso gelificación:

- La atracción electrostática entre grupos amonio del quitosano y el grupo fosfato de GP
- Enlaces de hidrógeno entre las cadenas de polímero
- Interacciones hidrofóbicas quitosano-quitosano (160).



Se ha investigado su uso en formulaciones para la administración controlada de fármacos y como un componente de formas de liberación mucoadhesivas. El quitosano es considerado como un material no tóxico y no irritante, biocompatible y biodegradable; con una DL50 (ratón, oral): > 16 g / kg (166). Se realizó un estudio de la efectividad del bloqueo del nervio ciático en rata de un gel a base de quitosano con nanopartículas de ropivacaína, atrapadas en dexametasona. Este sistema fue capaz de limitar la función motora y la función sensorial durante un máximo de 48 h (138).

Los poloxámeros, llamados también Pluronic® (Lutrol) sintetizados por la compañía BASF, son macromoléculas con estructura tribloque, formados por dos bloques hidrofílicos (óxido de polietileno) y un bloque hidrofóbico (óxido de polipropileno) unidos por enlaces covalentes. Cuando son disueltos en solventes polares como el agua, los bloques hidrofílicos se disuelven en el solvente y el bloque hidrófobo se queda en la interfase (169). Es un copolímero no iónico con una estructura (POE)<sub>x</sub>-(POP)<sub>y</sub>-(POE)<sub>x</sub>, donde x y y representan el número de unidades.

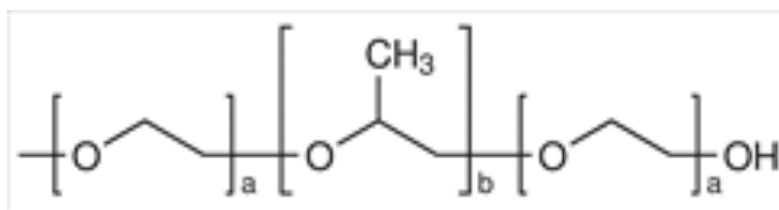


FIGURA 24 ESTRUCTURA QUÍMICA POLOXÁMERO (170)

La solubilidad del bloque hidrofóbico en agua depende de la temperatura, siendo soluble a bajas temperaturas e insoluble a altas temperaturas. Por otra parte, el bloque hidrofílico es soluble en agua en un margen de temperatura comprendido entre 0-100 °C.

La temperatura de micelización crítica (CMT) indica que, a temperaturas mayores a este valor, el bloque hidrofóbico deja de ser soluble y se agrega para formar micelas. Las micelas están formadas por un núcleo compuesto por el bloque hidrofóbico y la

corona por los bloques hidrofílicos (171). La transición solución a gel a temperaturas elevadas está relacionada con la contracción de la corona de POE de las micelas, por efecto de la temperatura sobre su solubilidad y la interacción de las cadenas de POE con el núcleo duro de POP (146). Hay una deshidratación del núcleo de POP y una hidratación de las cadenas POE (155). Para cada tipo de poloxámero hay una temperatura de micelización crítica, y viene dada por la relación entre los bloques. Es por esto, que los poloxámero se caracterizan según el peso molecular del bloque hidrofóbico y el porcentaje del bloque hidrofílico.

Tabla 3. Caracterización poloxámero (170)

Poloxámero	Estado físico	Peso moléculas medio	Grado comercial
124	Líquido	2090–2360	L 44
188	Sólido	7680–9510	F 68
237	Sólido	6840–8830	F 87
338	Sólido	12 700–17 400	F 108
407	Sólido	9840–14 600	F 127

A valores bajos de ambos parámetros se forman micelas esféricas, a medida que se incrementan se forman micelas cilíndricas y micelas tipo gusano. A valores muy elevados de ambos parámetros es posible formar cristales líquidos hexagonales, cúbicos y lamelares.

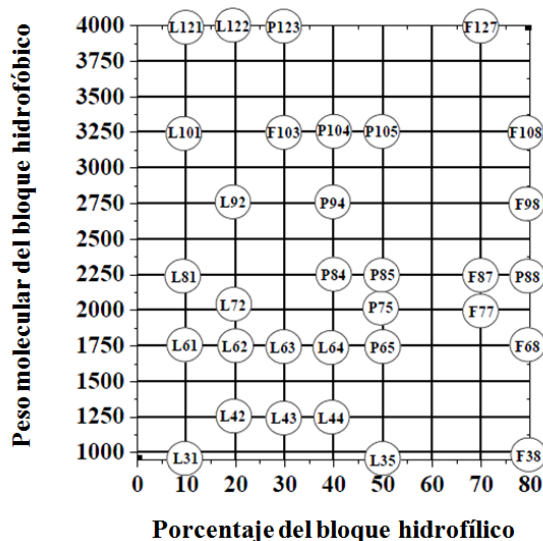


FIGURA 25. CARACTERIZACIÓN POLOXÁMERO (171)

El uso de los diferentes tipos de poloxámero está claramente definido por las autoridades, según sus propiedades, características fisicoquímicas y toxicidad.

Tabla 4. Usos citados por la FDA y la Administración del Reino Unido (170)

Tipo	US FDA	UK/UE
<b>Poloxámero 124</b>	Suspensión oral, geles y lociones de uso tópico	—
<b>Poloxámero 181</b>	Lociones de uso tópico	—
<b>Poloxámero 182</b>	Geles de uso tópico	Geles de uso tópico
<b>Poloxámero 188</b>	Cápsulas orales, concentrados, comprimidos de liberación retardada, granulados, polvos para suspensiones orales, soluciones, dispersiones, jarabes y comprimidos. Cremas tópicas Inyecciones intravenosas, polvos para reconstitución de administración intravenosa y subcutánea Soluciones oftalmológicas	Cápsulas orales, concentrados, comprimidos de liberación retardada, granulados, polvos para suspensiones orales, soluciones, dispersiones, jarabes y comprimidos. Cremas tópicas Inyecciones intravenosas, polvos para reconstitución de administración intravenosa y subcutánea Infusiones intravenosas
<b>Poloxámero 237</b>	Preparados tópicos	—
<b>Poloxámero 331</b>	Suspensiones y polvos para suspensión oral	—
<b>Poloxámero 338</b>	Recubrimiento entérico para cápsulas orales	—
<b>Poloxámero 407</b>	Cápsulas orales de recubrimiento entérico, pellets, soluciones, suspensiones y comprimidos Cremas, geles, soluciones y suspensiones tópicas Soluciones oftalmológicas	Comprimidos orales Geles y lociones tópicas

Las propiedades termosensibles de los poloxámeros, en particular del poloxámero 407, ha permitido su uso en una gran variedad de formulaciones para la administración bucal, oftálmica, rectal, vaginal, nasal y oral. Los poloxámeros también han sido investigados para su uso en la preparación de nanopartículas, implantes subcutáneos, emulsiones intravenosas, espumas tópicas y organogeles (172). En diversos estudios, se encontró que el poloxámero 407 (Pluronic® F127)

a una temperatura de 25 °C (temperatura inferior que los otros tipos de poloxámero) y a una concentración de 20% en peso, es una solución que se comporta como un líquido viscoso móvil, que se transforma en un gel transparente, semi-sólido a la temperatura corporal (37 °C), al tener una temperatura crítica inferior que los otros miembros de la serie poloxámero (160).

La temperatura de gelificación para los poloxámeros 188, 237, 338 y 407; es de más de 100 °C en solución acuosa al 1% w/v; al 10% w/v es de 71-75 °C. Una solución acuosa al 1% de poloxámero 124 tiene una temperatura de gelificación de 15-19 °C y al 10% de 24 °C. Las soluciones de poloxámero 181 al 1% tiene una temperatura de gelificación de 22-26 °C y al 10% de 32°C. La solución al 1% de poloxámero 182 tiene una temperatura de gelificación de 9-13 °C y al 10% de 15 °C (172).

Desafortunadamente, los geles de poloxámero como único componente se obtienen a altas concentraciones del polímero (entre 20 y 30%) y se erosionan rápidamente, por otra parte, no todos los tipos de poloxamer son biodegradables y pueden causar hiperlipidemia a concentraciones superiores al 15% (168). Los hidrogeles a base de poloxámero se disuelven fácilmente en el sitio de la inyección dentro de unos pocos días, pero a alta concentración (N16%, w/w), exhiben toxicidad al ser administrados por vía intraperitoneal (173).

Los poloxámeros son considerados materiales no tóxicos y no irritantes que no se metabolizan en el cuerpo, aunque el poloxámero 407 ha reportado causar alteraciones en los perfiles lipídico y posible toxicidad renal dosis dependiente, que ha comprometido su uso en aplicaciones parenterales. Los estudios de toxicidad animal en perros y conejos han demostrado que los poloxámeros no son irritantes, ni sensibilizantes a una concentración entre 5% w/v y 10% w/v en los ojos, las encías y la piel. En un estudio de 14 días de administración intravenosa en conejos a una concentración de 0,5 g/kg/día, no hubo efectos adversos evidentes. Un estudio similar con perros tampoco mostró efectos adversos al administrar dosis de 0,5 g/kg/día. En un estudio a largo plazo, ratas alimentadas con soluciones acuosas de

3% w / w o 5% w/w de poloxámero durante 2 años, no mostraron ningún síntoma significativo de toxicidad. Sin embargo, las ratas que recibieron 7,5% w / w de poloxámeros en su dieta mostraron alguna disminución en la tasa de crecimiento. No se observa hemólisis en sangre humana durante 18 horas a 25°C y a una concentración entre de 0,001-10% w/v de poloxámeros. Los datos de toxicidad aguda en animales para el poloxámero 188 son: DL50 (ratón, IP): >5 g/kg (ratón, IV): 1 g / kg, DL50 (ratón, oral): 15 g / kg, DL50 (ratón, SC): 5,5 g / kg, LD50 (rata, IV): 7,5 g / kg, DL50 (rata, oral): 9,4 g / kg. El poloxámero 407 produce hiperlipidemia a dosis entre 0,1 – 1 g/kg por administración intraperitoneal (en adulto estándar corresponde a 6 – 60 g), sin embargo, un estudio en conejos reporto efectos a dosis de 138 mg/kg (en adulto estándar corresponde a 8,3 g) (174).

Los poloxámeros son materiales estables no susceptibles a la polimerización. Las soluciones acuosas son estables en presencia de ácidos, álcalis e iones metálicos, sin embargo, son susceptibles del crecimiento de moho, pero se pueden esterilizar en autoclave (120 °C, 15 min, 1 bar) (172).

El poloxamero 407 tiene propiedades antiadherentes no específicas que previene la adherencia de proteínas y bacterias; y de este modo dificultan la aparición de infecciones (175).

Los hidrogeles a base de copolímeros con bloques de poliésteres hidrófobos tales como poli(N-isopropilacrilamida) (PNIPAM), poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) y policaprolactona (PCL) son de gran interés por sus propiedades de biodegradación y biocompatibilidad.

Actualmente hay comercializados un gran número de hidrogeles implantables de diferentes polímeros, con distintas aplicaciones terapéuticas, que abarcan desde diferentes tipos de cáncer, edema macular, dependencia alcohólica y esquizofrenia entre otras (173). Los sistemas de gelificación in-situ han adquirido gran interés en el campo farmacéutico como vehículos para la administración de fármacos por vía

dérmica, nasal, ocular, oral, bucal, vaginal, rectal y parenteral, pero formulaciones para la anestesia local hay pocas.

Se ha descrito un gel termosensible de aplicación subcutánea de diclofenaco sódico como agente analgésico; y poloxámero 407, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa y polietilenglicol, solos o en combinación, a diferentes proporciones como agentes gelificantes. Dicho estudio concluye que las distintas formulaciones desarrolladas son fáciles de fabricar, físicamente estables y de fácil administración, ayudando así, a la reducción de la frecuencia de dosificación, a mantener concentraciones plasmáticas constantes y a reducir los efectos secundarios sistémicos (155). Otro estudio realizó diferentes geles termosensibles usando un derivado de celulosa (Metolose 60SH) como material termosensible y diferentes antiinflamatorios no esteroideos (Piroxicam, ácido acetil salicílico, ibuprofeno, indometacina) como agentes farmacológicos, en el dolor e inflamación del esófago; obteniendo buenos resultados de toxicidad, mucoadhesión y cinética de liberación (176). En hidrogeles para la anestesia y control de dolor, uno de los campos de investigación es en odontología. Se han desarrollado diferentes geles de los cuales cabe destacar un gel termosensible de articaína y poloxamero 407 como agente gelificante termosensible en combinación con hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) y Carbopol 934P, como agentes mucoadhesivos. Los diferentes estudios realizados, demostraron que el sistema desarrollado es una alternativa viable para la forma de dosificación de inyectables convencionales (177).

El desarrollo de formulaciones que proporcionan analgesia prolongada con una sola administración tiene como reto el control en la liberación de anestésico local, la disminución de la toxicidad sistémica, y la nula aparición de reacciones adversas sobre el tejido local. Un grupo ha desarrollado formulaciones liposomales de saxitoxina, un compuesto con propiedades anestésicas locales con poca o ninguna citotoxicidad, obteniéndose formulaciones que producen bloqueo nervioso en nervio ciático de rata de larga duración (7,2 días), con la mínima toxicidad local y sistémica (137). Hay varios equipos formulando nuevos geles con anestésicos locales entre los que cabe destacar, un estudio que evaluó la eficacia de los geles termosensibles

de lidocaína al 2% como agente anestésico y diferentes agentes gelificantes: metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, y poloxámero 407. La eficacia in vivo de las diferentes formulaciones se evaluó en ratas mediante la inyección de estos en las proximidades del nervio ciático, y evaluando la función nociceptiva y función motora. Observaron que la cantidad acumulada de lidocaína liberada durante 8 h fue más lenta para el gel poloxámero, seguido de los geles de carboximetilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa y metilcelulosa. El efecto antinociceptivo duró más tiempo con el gel de poloxámero. El examen microscópico de las muestras de tejido no mostró irritación del tejido del músculo esquelético por los geles y concluyen que el gel de poloxámero es el vehículo más prometedor para la formulación de lidocaína (159).

Otro grupo formuló y evaluó un gel inyectable termosensible de clorhidrato de ropivacaína al 2% en poloxámero P407 y poloxámero P188. Se realizó el estudio de gelificación a 37 °C y el estudio de liberación, en el cual se determinó la concentración de ropivacaína por RP-HPLC, observándose que la matriz de poloxámero es adecuada y permite una liberación controlada del fármaco (178).

DURECT Corporation ha comercializado una solución semiviscosa de isobutirato acetato de sacarosa que contiene 12% de bupivacaína llamada POSIDUR™, el cual, gelifica al ser administrada (179). Esta tecnología conocida como SABER™ está destinada a proporcionar analgesia prolongado postquirúrgica. Se realizó un estudio clínico doble ciego, aleatorizado y controlado para evaluar la seguridad y eficacia de SABER-Bupivacaína en pacientes sometidos a cirugía abierta de hernia inguinal en cinco hospitales de Australia y Nueva Zelanda. SABER- Bupivacaína fue administrado en la herida quirúrgica al final del procedimiento y se evaluó la eficacia y seguridad, donde se observó que es un sistema seguro, que mejoró el control del dolor al reducir la necesidad de analgesia oral o parenteral y no perjudicó la cicatrización de la herida (180).

Cabe resaltar que muchas de las sustancias usadas como agentes gelificantes termosensibles también tienen propiedades antiadherentes, lo que es de gran

interés en el ámbito de las cirugías abdominales. Las adherencias son uniones anómalas entre los tejidos y órganos de aparición congénita o adquirida después de una cirugía, un traumatismo o una infección. Pueden provocar infertilidad femenina, obstrucción uretral, dolor pélvico crónico y obstrucción intestinal que puede causar la muerte (161). Hoy en día no hay estrategias definitivas para prevenir la formación de adherencias peritoneales, la más común es el uso de barreras. Una serie de hidrogeles inyectables de formación in situ se han probado con éxito para evitar la adhesión peritoneal, y por lo general están hechos de dextrano, gelatina, ácido hialurónico, derivados de la celulosa o macromonómeros de poli etilenglicol (181). La celulosa oxidada (Interceed®) tiene una buena eficacia clínica en la prevención de la formación de adherencias cuando se utiliza adecuadamente en ausencia de sangre o fluidos peritoneales. El hialuronato de sodio / carboximetilcelulosa (HA / CMC) (Septrafilm®), es una membrana reabsorbible que ha reducido la formación de adherencias en modelos animales y estudios clínicos (156). Los geles termosensibles de Poloxámero se han utilizado para prevenir las adherencias postquirúrgicas, sin embargo, son no degradables y la desaparición del hidrogel es por disolución en agua, por lo que, el tiempo de residencia es de solo dos días. Los hidrogeles de copolímeros de bloque poli (3-caprolactona-co-lactido) -b- poli (etilenglicol) -b- poli (3-caprolactona-co-lactido) (PCLAePEGePCLA) son biodegradables y su integridad puede durar varias semanas. Son altamente eficaces en la reducción de la formación de adherencias abdominales postquirúrgicas (181)



## 2.7. BIOADHESIÓN

Según la clasificación de la adherencia en sistemas biológicos hecha por Park y colaboradores, la adherencia de un hidrogel a la superficie del peritoneo sería del tipo 3: adherencia de un material artificial a un substrato biológico (182).

La bioadhesión es un fenómeno complejo de gran interés por sus aplicaciones a nivel quirúrgico y en la liberación controlada de fármaco (183). Se define como un fenómeno de atracción que ocurre entre excipientes o materiales y una superficie biológica. Hay una coexistencia de fuerzas de atracción y repulsión, generándose la adhesión cuando predominan las de atracción.

El mecanismo exacto no está totalmente elucidado, pero se han descrito diferentes teorías: entrelazamiento mecánico, adsorción química, teoría de la difusión y teoría electrónica (184,185). La contribución de cada uno de los mecanismos en el fenómeno depende del tipo de bioadhesivo, las características de la superficie y las características del medio (186). La adhesión en materiales poliméricos está determinada por uniones físicas, uniones químicas secundarias y uniones químicas primarias como enlaces iónicos o covalentes; siendo las segundas de tipo transitorio y de mayor interés en el ámbito de la liberación de fármacos.

El entrelazamiento mecánico explica la adhesión debida al llenado de las irregularidades presentes en una superficie rugosa por un líquido o semisólido. Esta rugosidad aumenta la superficie para interactuar y, por consiguiente, favorece la disipación de energía (187).

La adsorción química describe un contacto molecular en la interfase a través de interacciones químicas tales como las fuerzas de Van der Waals, puentes de hidrógeno, atracción electrostática, o interacciones hidrofóbicas y osmóticas (188). La teoría extendida DVLO (Derjaguin, Landau, Verveij, Overbeek) explica las fuerzas de atracción y repulsión de la interfase entre células vivas y un material

(189,190). Considera que la fuerza predominante cuando hay una separación de 1 y  $10^3$  nm es la fuerza electrostática de la doble capa, y cuando la separación es pequeña (1 nm), predominan las fuerzas de Van der Waals (191). Por otra parte, también expone que los puentes de hidrógeno son las fuerzas prevalentes en los polímeros que contienen grupos carboxilo, un hecho importante a tener en cuenta ya que la mayoría de los polímeros tienen en su estructura este tipo de grupos (189).

La teoría de difusión, la cual se uso inicialmente en el estudio de materiales gomosos, postula la existencia de una interdifusión de moléculas y/o segmentos de polímeros de ambas superficies a través de la interfase. Este proceso sólo ocurre si las cadenas de los polímeros tiene suficiente movilidad y el sustrato biológico presenta también dichas cadenas (tipo mucina) (187,193,194).

La teoría electrónica se basa en la premisa que el bioadhesivo y la superficie biológica tienen cargas eléctricas opuestas. Al contacto, hay una transferencia de electrones que forma una doble capa de electrones que determina la fuerza de bioadhesión (195). Es importante destacar que la generación de la doble capa de electrones no es suficiente para observar la adhesión, pero si para promover la posterior interacción química.

Por último, se expone la teoría de humectación, la cual es ampliamente aceptada para productos líquidos y semisólidos e implica la creación de fuerzas de superficie como resultado del contacto molecular entre dos materiales (191). El primer paso es la formación de fuerzas de interfase seguido por el establecimiento de un contacto continuo llamado humectación. Para que un adhesivo humecte una superficie, necesita tener una tensión superficial más baja que la tensión superficial crítica de la superficie(196). Una buena humectación ocurre en superficies donde no hay creación de burbujas o acumulación de solventes que disminuyan el área de contacto (187,193,194).

Los Adhesivos Sensibles a la Presión (PSA's, por sus siglas en inglés) se definen como aquellos adhesivo que tienen una adherencia instantánea debido a su capacidad para formar uniones de fuerza medible como resultado de un breve contacto con una superficie(197). El Criterio de Dahlquist cuantifica los requisitos reológicos de un PSA para tener un buen comportamiento adhesivo, midiendo la rigidez y resistencia del adhesivo. De manera amplia y genérica; se podría decir que un material viscoelástico absorbe energía en lugar de permitir que se propague, lo que implica que si un material está por encima de su temperatura de transición vítrea será de carácter gomoso o elástico (como nuestra formulación) y, por lo tanto, el módulo elástico estará por debajo de  $10^5$  N / m<sup>2</sup> y tendrá buenas propiedades de adhesión (198).

A medida que aumenta la temperatura, los geles termosensibles experimentan un cambio de fase que corresponde a cambios en la movilidad molecular. Esta situación es comparable a la que presentan los adhesivos sensibles a la presión, en el hecho que la transición más importante para su comportamiento elástico se consigue al alcanzar la temperatura de transición vítrea (199). Como su nombre lo indica, solo si un polímero está por encima de su temperatura de transición vítrea, puede ser gomoso o elástico y, por lo tanto, cumplir con los requisitos del criterio de Dahlquist.

A pesar del actual interés por el desarrollo de productos bioadhesivos, no existe un método estandarizado para la medición de la bioadhesión. No obstante, existen mecanismos definidos para la evaluación de la bioadhesión y a nivel experimental se han desarrollado diferentes métodos.

En la siguiente tabla se detallan varios métodos reportados:

*Tabla 5. Resumen métodos reportados para la medición de la adhesión (200)*

<b>Análisis</b>	<b>Método</b>	<b>Tipo</b>
<i>In vivo o ex vivo</i>	Fuerza tensil	
	Estudios reológicos	
	Método del saco intestinal	Saco intestinal invertido
		Saco intestinal no invertido
	Microscópicos	Microscopio Confocal Láser de BarridMio
		Microscopio de fuerza atómica
		Transductor electromagnético
		Microscopio de fluorescencia
	Canal de flujo	
	Unión Mucina-partícula	
	BIACORE®	
	Elipsómetro	
	Medidas de fuerzas de superficie	
	Espectroscopia	Resonancia magnética
		Espectroscopia dieléctrica
		Infrarojos
	Espectrofotometría	
	Método de lavado	
	Método de caída	

Como se puede observar, algunos de ellos requieren instrumentos difícilmente asequibles, muchas veces de gran complejidad experimental y de difícil disponibilidad en los laboratorios de desarrollo galénico.

La mayoría de los métodos in vitro se basan en:

- Medición de la interacción con la mucina.
- Interacción con tejidos biológicos extraídos de animales.
- Mecánicos - Tracción o fuerza de cizallamiento.

Los métodos que miden la interacción con la mucina son usados para medir la mucoadhesividad, es decir la bioadhesión a mucosas en la que hay presencia de esta glicoproteína.

Entre los métodos de interacción con tejidos biológicos se encuentra el método de lavado, el cual, consiste en atar a una pieza plástica, una sección de tejido. Luego, se aplica el producto a ensayar y las piezas plásticas se fijan a la cesta de un instrumento de disgregación de comprimidos. Se introducen las piezas en una solución buffer fosfato pH 6,8 a 37 °C y se determina la cantidad de producto no fijado y que queda remanente en la solución (201). Una modificación de este método es el método de caída en el cual se fija un trozo de tejido en una pieza plástica a la cual se le aplica el producto a estudiar. Se hace pasar una solución buffer fosfato a 37°C pH 6.4 a una velocidad de 1ml/min por 5 minutos. Se analiza las partículas separadas que han sido arrastradas por la solución buffer (202).

En los métodos mecánicos se mide la fuerza de desprendimiento, la fuerza de cizallamiento o la fuerza tensil.

La medición de la fuerza tensil es un método mecánico ampliamente utilizado. Los métodos basados en este mecanismo miden la fuerza mínima necesaria para causar una ruptura de las interacciones que unen dos materiales. Du Nouy y Wilhelmy han diseñado los métodos indirectos más comunes para medirlo (203,204).

Ambos métodos se basan en extraer un objeto con una geometría definida de la superficie de un líquido y medir la fuerza de extracción. El método de Du Noüy usa un anillo de platino – iridio y el método de Wilhelmy emplea un plato.

La medida de la fuerza tensil durante el proceso sigue el siguiente diagrama:

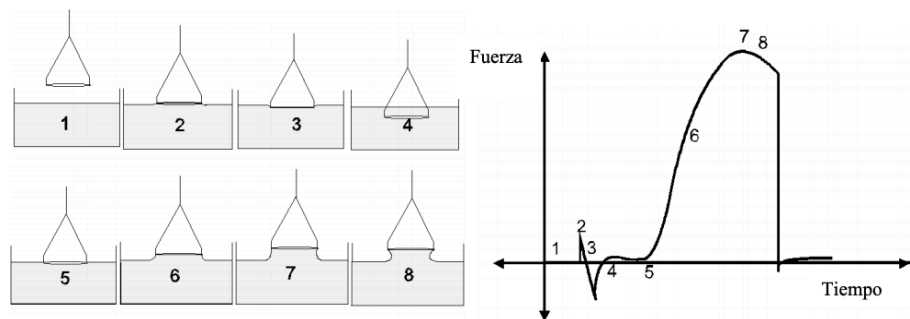


FIGURA 26 DESCRIPCIÓN DEL PROCESO Y MEDIDA DE LA FUERZA TENSIL(205)

La fuerza máxima es representada por el punto 7 y es un método útil para comparar la bioadhesión de formulaciones cuando son medidas bajo las mismas condiciones. Es una medida indirecta, cuando mayor es la fuerza de separación, mayor es la fuerza de adhesión.

En el mercado hay varios instrumentos comerciales que permiten medir la fuerza tensil, su complejidad puede ir desde lo más básicos como los dinamómetros convencionales, hasta los más complejos como los analizadores de textura y analizadores de superficie.

La medición de la fuerza de cizallamiento también se usa comúnmente. Los métodos basados en este mecanismo miden la fuerza necesaria para deslizar una superficie en una dirección paralela al contacto del plano con respecto a otra superficie. Varios autores han descrito diferentes métodos de medición, tanto ex vivo como in vitro con el mismo propósito (206,207).

- *Polímeros bioadhesivos*

Los polímeros bioadhesivos pueden ser naturales o sintéticos. El éxito de los sistemas de administración de fármacos bioadhesivos depende del enlace de bioadhesión, que está influenciado por las propiedades del polímero como son la longitud de las cadenas, la reticulación y la presencia de varios grupos funcionales (208).

La biocompatibilidad y biodegradabilidad son aspectos muy importantes ha tener en cuenta. La biocompatibilidad hace referencia a la capacidad del polímero a interaccionar con el medio biológico sin generar toxicidad ni efectos indeseables sobre el mismo. El concepto de biodegradabilidad hace referencia a la eliminación y metabolización del polímero(209)

Entre los polímeros bioadhesivos más utilizados se encuentran los polietilenglicoles, la carboximetilcelulosa, el ácido hialurónico y el quitosano, entre otros.

Los polietilenglicoles (PEG) con una fórmula general de HOCH<sub>2</sub> (CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CH<sub>2</sub>OH, son polímeros inertes solubles en agua, esencialmente no irritantes para la piel que se clasifican según fórmula estructural y peso molecular (210). Dentro de los polietilenglicoles típicos con importancia farmacéutica, el polietilenglicol 400 (PEG 400) se usa en preparaciones parenterales como agente solubilizante y el polietilenglicol 4000 (PEG 4000) se usa en la preparación intestinal antes de la colonoscopia, en algunas pruebas radiológicas y en cirugía (211).

El hialuronato de sodio (HS) es la forma más utilizada del ácido hialurónico (HA), es un polímero de alto peso molecular formado por ácido d-glucurónico y unidades de disacárido N-acetil-d-glucosamina con un peso molecular de 10 000 000 –100 000 000 Da (212). Usualmente se usa en formulaciones oftálmicas y parenterales debido a sus propiedades bioadhesivas, terapéuticas y de biodegradación.

HS es un polímero natural distribuido en el cuerpo que ayuda a mantener la integridad mecánica en los tejidos conectivos, como el humor vítreo y el cartílago. HS es conocido como un polisacárido no gelificante, aunque diferentes estudios han demostrado un comportamiento similar al gel, ya que tiene la capacidad de absorber grandes cantidades de agua, formando una red hidratada suelta (213,214).

Al igual que el HS, el sulfato de condroitín (CS) se usa ampliamente para el tratamiento del dolor por osteoartritis, como coadyuvante en procedimientos quirúrgicos oculares y para el alivio del síndrome de ojo seco. Es un glicosaminoglicano lineal formado por unidades de disacárido de N-acetil-galactosamina y ácido glucurónico (215). Cada N-acetil-galactosamina tiene un grupo sulfato en el carbono 4 o 6 que confiere a la molécula una carga negativa global. Esta carga negativa facilita las interacciones adhesivas con las membranas de la superficie celular, debido a las fuerzas repulsivas electrostáticas que conducen a la transferencia de electrones y al mecanismo bioadhesivo de inducción dipolar (216,217).

El alcohol polivinílico (PVA) es un polímero no iónico biodegradable, soluble en agua y unido sólo por enlaces carbono-carbono. Conocido por sus múltiples usos en la industria textil, plástica y farmacéutica, se utiliza como agente para aumentar la viscosidad en formulaciones tópica y oftálmica; adicionalmente se emplea como agente estabilizador de emulsiones y agente de liberación sostenida (218,219). Ampliamente conocido como un polímero mucoadhesivo, su mecanismo principal de bioadhesión es por contacto molecular interfacial a través de interacciones de enlaces de hidrógeno (220,221).







## PARTE EXPERIMENTAL



## 3. MATERIALES Y MÉTODOS

---



### 3.1. MATERIALES

Los principios activos usados se detallan en la siguiente tabla

*Tabla 6. Principios activos*

Principio activo	Nombre comercial	Distribuidor/ Fabricante	Lote	Pubchem CID
<b>Clorhidrato de lidocaína</b>	-	Fagron Iberica S.A.U, España	0707458	6314
<b>Fosfato sódico de dexametasona</b>	-	Fabricada por Newchemspa Milan, Distribuida por Fagron Iberica S.A.U, España	15A30B02	16961

Los excipientes usados en la fabricación como agentes gelificantes detallan en la siguiente tabla:

*Tabla 7. Agentes gelificantes*

Principio activo	Nombre comercial	Distribuidor/ Fabricante	Lote	Pubchem CID
<b>Poloxámero 407</b>	Lutrol F 127	BASF, Ludwigshafe, Alemania	WPWB500C	24751
	Kolliphor® P 407	Fabricado por Sigma-Aldrich Chemie GmbH, USA	BCBN0739V BCBQ1330V	24751
<b>Hidroxipropil metilcelulosa</b>	Hyporme-Ilose USP – tipo 2910 grado 615, viscosidad 15 mPa	Fabricada por Shin-Etsu Chemical Co., Ltd, Japón	509512	24832095
<b>Polivinil-pirrolidona</b>	Povidona K30 USP K-value 27-33 (vicosidad 1%)	Distribuida por Fagron Iberica S.A.U, España	14E06B06	6917

Los excipientes usados como agentes de mejora del perfil de bioadhesión se detallan en la siguiente tabla:

*Tabla 8. Agentes bioadhesivos*

Principio activo	Nombre comercial	Distribuidor/ Fabricante	Lote	Pubchem CID
<b>Polietilenglicol 400</b>	Polyglykol 400	Fabricado por Clariant (Sulzbach) Alemania	DEG4005530	174
<b>Polietilenglicol 4000</b>	-	Fabricado por Panreac AppliChem (Darmstadt) Alemania	545663 708221	174
<b>Hialuronato sódico</b>	-	Distribuida por Fagron Iberica S.A.U, España	L15070231 – OF-06185	53447380
<b>Condroitín sulfato sodio</b>				24766
<b>Aceite de castor hidrogenado Polioxietilenado -40.</b>	Cremophor RH 40	Distribuida por Fagron Iberica S.A.U, España	L15080090 – OF – 206712	
<b>Polivinil alcohol</b>	-	Fabricado por AppliChem (Barcelona) España	SP013900	11199

Los excipientes usados como reguladores de pH y amortiguadores se detallan en la siguiente tabla:

*Tabla 9. Agentes reguladores de pH*

Principio activo	Distribuidor/ Fabricante	Lote	Pubchem CID
<b>di-Sodio hidrógeno fosfato dodecahidrato</b>	Fabricado por Panreac AppliChem (Darmstadt) Alemania	00004637751	24203
<b>Potasio dihidrógeno fosfato</b>	Fabricado por Panreac AppliChem (Darmstadt) Alemania	92829XCR	516951

Los reactivos usados en las caracterizaciones de las formulaciones se detallan en la siguiente tabla:

*Tabla 10. Reactivos*

Principio activo	Nombre comercial	Distribuidor/ Fabricante	Lote	Pubchem CID
<b>Ácido clorhídrico 0,1N</b>	-	-	-	313

El agua usada en todas las preparaciones y caracterizaciones es agua purificada por ósmosis inversa suministrada por las instalaciones del SDM.

Los equipos usados en la preparación del gel son los siguientes:

- Balanza Analítica  
Sartorius Modelo ENTRIS224-1S  
(Sartorius AG, Goettingen, Alemania).
  
- Agitador magnético  
Agimatic con calefacción  
(J.P Selecta s.a, Barcelona, España)
  
- Homogenizador  
Ultra-turrax digital IKA T-25, rotor S25N-8G  
(IKA®-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Alemania)

Los equipos usados para la caracterización fisicoquímica de las formulaciones son los siguientes:

- Viscosímetro  
Brookfield 23CAP200 + L  
(Brookfield Engineering Laboratories Inc., Stoughton, USA)
  
- pH-metro  
Crison micropH 2001 microprocessor  
(Crison Instruments SA, Alella, Barcelona, Spain)
  
- Densiómetro  
Densiómetro portátil modelo DMA 35  
(Anton Paar, Benelux BVBA, Gentbrugge, Bélgica)
  
- Osmómetro  
Micro-osmómetro Advanced Modelo 3320  
(Advanced Instruments, Inc., Norwood, USA)



- Cámara climática  
Memmert HCP 105  
(Memmert GmbH+Co. KG, Schwabach, Alemania)
  
- Analizador de Textura  
Analizador textura modelo MT.LQ  
(Stable Micro Systems, Surrey, Reino Unido)

Los análisis estadísticos fueron llevados a cabo mediante los programas estadísticos STATGRAPHICS Plus 5.1 para Windows, Edición profesional 1994-2000 (Statpoint Technologies, Inc., 560 Broadview Ave, Suite 201, Warrenton, VA 20186), y SPSS Statistics versión 20.0 de IBM (IBM Corp, Armonk, NY).

### 3.2. METODOLOGÍA

#### - Preparación de los geles

Los geles se prepararon mediante modificación del "método en frío"(175,222–224). Los diferentes componentes del gel se pesaron por separado; en el caso de no usar solución tampón, el poloxamer 407 se añadió en 3/4 partes de agua preenfriada (5 °C), bajo agitación constante con un agitador magnético. Una vez que la solución es completamente transparente, cada uno de los otros componentes se agregó bajo continua agitación hasta su completa disolución.

El orden de adición establecido es:

- 1 — Hidroxipropil metilcelulosa (HPMC)
- 2 — Polivinilpirrolidona (PVP)
- 3 — Clorhidrato de lidocaína
- 4 — Dexametasona fosfato de sodio.
- 5 — Polímero bioadhesivo (en caso de adición)

Es importante sumergir la solución en un baño de hielo para mantener la temperatura y usar agitación suave durante el proceso para evitar la formación de espuma.

En los casos de usar una solución tampón, está debe ser preparada previamente y de acuerdo con el método descrito (225).

Primero, las soluciones stock A y B se prepararon separadamente disolviendo 9,08 g de dihidrógeno fosfato de potasio (solución madre A) y 24,26 g de di-Sodio hidrógeno fosfato dodecahidrato (solución madre B), en un litro de agua purificada.

Luego se mezclaron 392 ml de solución madre A con 608 ml de solución madre B y se comprobó el pH de la mezcla. Posteriormente, el gel se preparó según el "método en frío" anteriormente mencionado.

- *Determinación de la capacidad reguladora*

La capacidad reguladora ( $\beta$ ) es definida como la cantidad de ácido o base fuerte que una formulación puede neutralizar sufriendo un desplazamiento de pH de una unidad. Es decir, el volumen en ml de ácido o base fuerte a una determinada concentración que se debe añadir a la solución para modificar el valor de su pH en una unidad y viene representada por la siguiente ecuación (226):

$$\beta = \frac{\Delta B/A}{\Delta pH}$$

*Ecuación 1. Capacidad reguladora*

En donde delta,  $\Delta$ , tiene su significado habitual, un cambio finito, y  $\Delta B/A$  es el pequeño incremento en equivalentes / litro de base o ácido fuerte añadida a la formulación para producir un cambio de  $\Delta$  pH.

Para su determinación se colocó una alícuota de 50 ml de formulación en un vaso de precipitado de 50 ml con una barra magnética, sobre un agitador magnético y con el electrodo del pH-metro dentro.

Se midió el pH inicial y posteriormente se llenó la bureta con una disolución de ácido clorhídrico 0.5 N, la cual se añadió gradualmente en porciones de 0.25 ml hasta un volumen total de 25 ml.

Se presenta el resultado de la capacidad amortiguadora como moles de ácido o base por litro de disolución, para ello se aplica la siguiente fórmula:

$$\beta = \frac{V_o * NF}{V_s * \Delta pH}$$

*Ecuación 2. Capacidad reguladora experimental*

$\beta$ : Capacidad reguladora

$V_o$ : Volumen gastado de la solución valorada expresado en litros

$N$ : Normalidad de la solución ácida

$F$ : Factor de corrección

$V_s$ : Volumen de la solución problema

$\Delta pH$ : variación del pH con respecto el pH inicial

- *Determinación de la temperatura de gelificación (LCST)*

La determinación de la temperatura de gelificación se realizó mediante una variación del método de “inversión del vial” descrito por Gonjari et al.(222). Dos mililitros de la formulación a temperatura ambiente se colocaron en un vial de 5 ml con un termómetro en su interior para registrar la temperatura de la formulación. El vial se introduce en un baño de agua a una temperatura inicial de 20 °C y se aumenta gradualmente (aproximadamente en 3 °C por minuto) hasta alcanzar los 40 °C. La temperatura de gelificación se determinó visualmente considerando la gelificación, cuando el líquido ya no es fluido, la agitación manual es difícil y no se observa movimiento al invertir el vial 90 °.

- *Determinación del tiempo de gelificación*

La determinación del tiempo de gelificación se realizó añadiendo 10 ml de formulación a un vaso de precipitado de 25 ml (diámetro de 3,5 cm) con una barra magnética (8 mm longitud,  $\Phi$  de 1,5 mm) y dentro de un baño de agua a 37 °C. La muestra se agita a una velocidad constante de 500 rpm; el tiempo requerido para la

formación de una pequeña burbuja sobre la barra magnética es el tiempo de iniciación de gelificación y la formación de un pellet alrededor de la barra magnética o cuando la barra deja de girar se consideró como el tiempo de gelificación.

- *Determinación de la viscosidad*

La viscosidad es la sumatoria de las fuerzas de fricción en fluidos y son fuerzas estadísticas macroscópicas, ya que en ellas participa un gran número de moléculas. Es la propiedad que tiene los fluidos de ofrecer resistencia al movimiento relativo de sus moléculas, por lo tanto, se debe determinar de manera experimental.

La viscosidad dinámica es la propiedad de los fluidos caracterizada por la resistencia a fluir por el rozamiento entre moléculas. En el Sistema Internacional se mide en Pascales por segundo, pero la unidad más utilizada es el centipoise (cps), equivalente a 1mPa s.

La viscosidad dinámica se determinó con un Viscosímetro Brookfield 23CAP200 + L, utilizando un husillo plano cónico a 25 °C y 37 °C. Las configuraciones del instrumento (número del huso, tiempo de ejecución (RT), tiempo de retención (HT), velocidad de rotación (SR)) se detallan en la siguiente tabla

*Tabla 11. Condiciones determinación viscosidad*

<b>Principio activo</b>	<b>Muestras a 25 °C</b>	<b>Muestras a 37 °C</b>
<b>Número de husillo</b>	04	06
<b>RT (s)</b>	12	12
<b>HT (s)</b>	12	20
<b>SR (rpm)</b>	150	125

Estos parámetros fueron establecidos dependiendo de la viscosidad de las muestras y tomando en cuenta que, a temperaturas más altas, la viscosidad es más elevada debido al proceso de gelificación.

- *Determinación del pH*

El pH se define como el logaritmo decimal negativo de la concentración de iones de hidrógeno expresada en mol/L. Se usa una escala logarítmica negativa porque los números son todos menores que 1 y varían en un amplio rango. Dado que el pH es el logaritmo decimal negativo de la concentración de iones de hidrógeno, los números de pH bajos, indica concentraciones relativamente altas de iones de hidrógeno, es decir, una solución ácida. Números de pH altos, representa concentraciones más bajas de iones de hidrógeno, es decir, soluciones alcalinas (227).

El pH se determinó con un pH-metro Crison micropH 2001 medido sin dilución previa y a una temperatura de muestra de 22-23 °C.

- *Determinación de la densidad*

La densidad se define como la masa por unidad de volumen de un material. Ésta fue medida con un medidor de concentración y densidad portátil DMA 35 de Antor Paa, después de la preparación de los geles (tiempo cero) y después de 15 y 30 días de almacenamiento. Para su medición, se extrae la muestra directamente con ayuda de la bomba incorporada y la densidad se mide al instante. Los resultados se muestran en forma de densidad e indica la temperatura de la muestra. Es una medida de la gravedad específica o densidad relativa que es la relación de la densidad y la densidad del agua a la misma temperatura.

- *Determinación de la osmolalidad*

La osmolalidad es una medida de la presión osmótica ejercida por un solución a través de una membrana semipermeable. Al igual que la presión osmótica, hay otras propiedades coligativas de una solución, como el descenso de la presión de vapor,

el aumento del punto de ebullición y la depresión del punto de congelación que están directamente relacionado con la osmolalidad de la solución.

La depresión del punto de congelación en comparación con el agua pura es una medida directa de la concentración osmótica y éste es el método comúnmente usado para determinar la osmolalidad.

La osmolalidad de todas las soluciones se midió con un Microosmómetro modelo 3320. El dispositivo informa directamente la osmolalidad mediante mediciones de punto de congelación.

Un termistor de alta precisión detecta la temperatura de la muestra, controla el grado de sobreenfriamiento y congelación de inducción, midiendo punto de congelación de la muestra.

La muestra se sobreenfría varios grados por debajo de su punto de congelación, hasta un estado inestable. Posteriormente, por agitación mecánica, es parcialmente cristalizada formando un equilibrio líquido-sólido, que aumenta la temperatura de la muestra, como consecuencia del calor de fusión liberado, hasta la temperatura de meseta, momento en que el osmómetro mide la temperatura y calcula la concentración en mOsm / kg de agua.

#### - *Medición de la bioadhesión*

La prueba mucoadhesiva se realizó con un dinamómetro MT-LQ, fabricado por Stable Micro Systems y equipado con una celda de carga de tracción / compresión de 5 daN.

Se preparan cápsulas de pretri conteniendo las muestras de hidrogel en estufa a 37 °C.

Se recubre la base del cilindro de compresión P/0.5 R 12,7 mm de diámetro y 40 mm de altura con peritoneo de cerdos sanos adherido a la pared del cilindro por suturas y pegamento quirúrgico.

La cápsula conteniendo el hidrogel a 37 °C se coloca en el Dinamómetro MT-LQ equipado con celda de carga de tracción/compresión de 5 kg/f.

El cilindro de compresión desciende sobre el hidrogel a una velocidad de 0,1 mm/s y somete el peritoneo a una fuerza de contacto con el hidrogel durante 60 segundos de 1,5 cN. Pasado este tiempo el cilindro se extrae a la misma velocidad de 0,1 mm/s y se registra la fuerza de adhesión entre el hidrogel y el peritoneo adherido a la base del cilindro, describiendo la gráfica que se presenta a continuación.

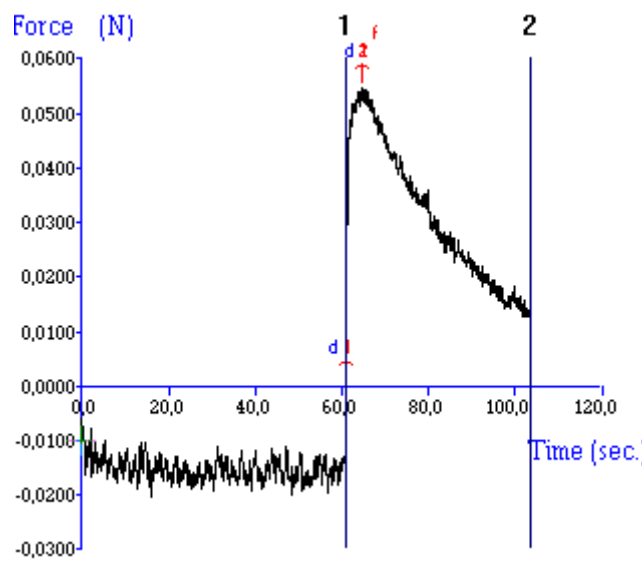


FIGURA 27 DIAGRAMA DE MEDICIÓN DE LA BIOADEHSIÓN

La fuerza máxima que se registra en la gráfica es la fuerza de adhesión.

El instrumento es calibrado antes de cada prueba usando el *software* de ordenador del instrumento y las instrucciones.

En todas las medidas se usa como blanco una solución de agua purificada.



- *Estudio de estabilidad*

Los estudios de estabilidad se realizaron a las siguientes condiciones:

- $40\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$
- $25\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$  (*Room temperatura*)

Las muestras fueron almacenadas a las diferentes condiciones por un período de 15, 30 y 60 días, de forma individual y en viales de vidrio transparente de 10 ml debidamente cerrados por septum de goma y cápsulas de aluminio.

Para realizar los estudios de estabilidad, se coge un vial de la formulación a estudiar y se determina el aspecto, el pH, la viscosidad a  $25\text{ °C}$  y  $37\text{ °C}$  y la osmolalidad.

Una vez analizado, el vial es descartado, por lo cual, se preparó el número de viales necesarios de las diferentes formulaciones, para el estudio de estabilidad a las diferentes condiciones.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---



4.1. *ARTÍCULO 1*

**Preformulation and characterization of a lidocaine hydrochloride and dexamethasone sodium phosphate thermo-reversible and bioadhesive long-acting gel for intraperitoneal administration**

Arbelaez-Camargo, D., Suñé-Negre, J.M., Roig-Carreras, M., García-Montoya, E.,  
Pérez-Lozano, P., Miñarro-Carmona, M., Ticó-Grau, J.R.

International Journal of Pharmaceutics, 2016; 498: 142 – 152

**Impact Factor 2016: 3,649 (Q1)**



**Fundamento y objetivo:** La administración continua de anestésicos locales (LA) en los plexos nerviosos durante las primeras 24 - 48 horas posteriores a una cirugía abdominal, permite mejorar el manejo postoperatorio del dolor y minimizar los efectos secundarios sistémicos por la absorción errática del fármaco. En este artículo se expone la prefomulación y caracterización de una forma farmacéutica de administración intraperitoneal, para el tratamiento del dolor en cirugía abdominal, que permita una administración sencilla y al mismo tiempo actúe como un sistema de administración continua. Se usa como principios activos la Clorhidrato de lidocaína (LC) y Fosfato sódico de dexametasona (DSP) y como polímeros principales se usa el poloxámero 407 (P407), hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) y polivinilpirrolidona (PVP).

**Material y método:** La pre-formulación del gel se lleva a cabo mediante la variación sistemática de la concentración de los tres polímeros escogidos, hasta establecer una relación que permite obtener una temperatura de gelificación entre 29 a 33 °C. El poloxámero 407 (P407) se utiliza como el polímero principal y su concentración se fija a un valor inferior a 15% para evitar efectos adversos. La hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) se usa como agente bioadhesivo y la polivinilpirrolidona (PVP) para ajustar la temperatura de gelificación y propiedades físico-químicas y térmicas.

El gel se caracteriza en tiempo de gelificación, pH, viscosidad a 25 y 37 °C, densidad y osmolalidad.

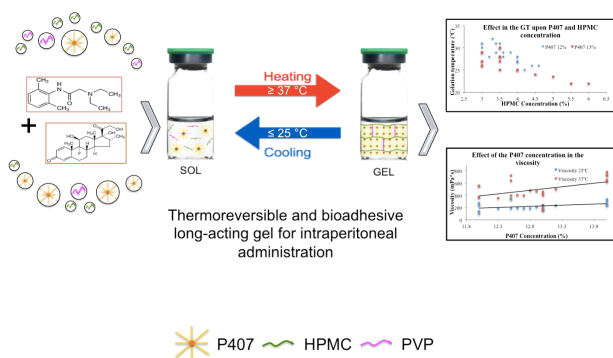
**Resultados:** Durante el estudio se observa una disminución de la temperatura de gelificación al aumentar la concentración de hidroxipropilmetilcelulosa y poloxámero 407. Este efecto también se observa al añadir los dos principios activos de carácter iónico: Clorhidrato de lidocaína y Fosfato sódico de dexametasona. La concentración de polivinilpirrolidona no tiene un efecto estadísticamente significativo en la temperatura de gelificación (p-valor 0,6797), pero sí se observa que a concentraciones < 1 % de PVP hay un aumento de la temperatura de gelificación. Entre el 1 y 2%, de concentración, la temperatura de gelificación disminuyó y a

concentraciones superiores al 2% no se observó proceso de gelificación. Debido a que la formulación tiene como vía de administración la vía parenteral, es necesario que esta tenga un pH lo más cercano al pH fisiológico para prevenir daño en el tejido y dolor. Para ello pueden adicionarse a la formulación soluciones reguladoras del pH, pero se ha comprobado que la adición de un tampón fosfato de Sørensen provoca una disminución estadísticamente significativa de la temperatura de gelificación (p-valor 0,0012). Se estudia el pH durante la estabilidad, comprobándose que se mantiene estable durante el tiempo de estudio de 60 días.

**Conclusiones:** Se obtiene una formulación base cuya composición es 12,5/3,3/0,4% (P407/ HPMC/PVP) que tiene características térmicas y fisicoquímicas adecuadas y la cual sirve de partida para estudios posteriores.

**Palabras clave:** Thermoreversible gel, Controlled release, Bioadhesive, Poloxamer 407, Intraperitoneal administration, Lidocaine, Dexamethasone

**Graphical Abstract:**





Contents lists available at ScienceDirect

## International Journal of Pharmaceutics

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/ijpharm](http://www.elsevier.com/locate/ijpharm)

## Preformulation and characterization of a lidocaine hydrochloride and dexamethasone sodium phosphate thermo-reversible and bioadhesive long-acting gel for intraperitoneal administration



Diana Arbelaez-Camargo<sup>a,\*</sup>, Josep Maria Suñé-Negre<sup>a,b</sup>, Manel Roig-Carreras<sup>a</sup>, Encarna García-Montoya<sup>a,b</sup>, Pilar Pérez-Lozano<sup>a,b</sup>, Montserrat Miñarro-Carmona<sup>a,b</sup>, Josep Ramon Ticó-Grau<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Pharmacy and Pharmaceutical Technology Department, Faculty of Pharmacy, University of Barcelona, Joan XXIII 27-32, CP 08028 Barcelona, Spain

<sup>b</sup> Pharmacotherapy, Pharmacogenetics and Pharmaceutical Technology Research Group, IDIBELL-UB, Duran i Reynals Hospital, 3a level, Gran Via de l'Hospitalet 199, CP 08908 Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain

## ARTICLE INFO

## Article history:

Received 5 October 2015  
Accepted 4 December 2015  
Available online 10 December 2015

## Keywords:

Thermoreversible gel  
Controlled release  
Bioadhesive  
Poloxamer 407  
Intraperitoneal administration  
Lidocaine  
Dexamethasone

## ABSTRACT

The search for new formulations of anaesthetic agents that allow a localized administration and provide a prolonged effect is of great interest in the multimodal management of postoperative pain. The preformulation and characterization of a lidocaine and dexamethasone thermosensitive and bioadhesive long-acting gel for intraperitoneal administration was done as a tool in the management of pain in abdominal surgeries. The pre-formulation process was conducted by a systematic variation of the concentration of the different polymers, until setting it, in a suitable concentration that allowed an adequate gelation temperature. The poloxamer 407 (P407) was used as the main polymer; hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) as the bioadhesive agent and polyvinyl pyrrolidone (PVP) to adjust the gelation temperature and physicochemical properties. The formulations were characterized by gelation temperature, pH, viscosity at 25 °C and 37 °C, gelation time, density and osmolality. Gelation temperature was decreased when increasing the concentration of hydroxypropyl methylcellulose and poloxamer 407, this effect was also observed when adding lidocaine hydrochloride and dexamethasone sodium phosphate to the formulations. The gelation temperature did not have statistically significant relation with the PVP concentration (*P*-value of 0.6797), even though, there is a tendency in the gelation temperature by varying it. Between the developed formulations, the 12.5/3.3/0.4% (P407/HPMC/PVP) formulation presents an appropriate gelation temperature, a suitable viscosity for administration by syringe, an adequate and stable pH and osmolality to prevent tissue damage and a correct gelation time that allowed the formation of a prolonged release implant.

© 2015 Elsevier B.V. All rights reserved.

### 1. Introduction

In recent years, different methods have been studied to administer local anaesthetics (LA) in abdominal surgeries with the aim of a long acting analgesic effect to reduce postoperative pain; minimise surgeries impact and improve patients recovery (Gritsenko et al., 2014). Determine which LA must be used for intraperitoneal administration in abdominal surgeries is still a point of debate. The most used anaesthetics are lidocaine, bupivacaine and ropivacaine; they differ from each other by their cardiotoxicity and

duration of the anaesthetic action. The less cardiotoxic is lidocaine (Shipton, 2012), however, it has the lowest acting time, with a half-life of 1.5–2 h in adults (Khan et al., 2012). It is important to emphasize that several studies had demonstrated the safety and effectiveness of all three LA (Boddy et al., 2006; Dahl and Møiniche, 2009; Gritsenko et al., 2014; Gupta, 2005), however, lidocaine is the most well known, has a lower cost and its availability in the market is very widespread. Dexamethasone is a high power glucocorticoid extensively used in the perioperative setting because of its anti-inflammatory and analgesic benefits (Allen, 2007; Gritsenko et al., 2014; Kahokehr et al., 2011). It has attracted great interest as it decreases the transmission of nerve impulses in the C-fibers, which are involved in the transmission of pain (Allen, 2007). The co-administration of dexamethasone and a local anaesthetic has been formulated and studied showing that dexamethasone increases the

\* Corresponding author. Fax: +34 93 4 02 45 46.  
E-mail addresses: [diancrayolina@gmail.com](mailto:diancrayolina@gmail.com), [darbeaca7@alumnes.ub.edu](mailto:darbeaca7@alumnes.ub.edu) (D. Arbelaez-Camargo).



time of the anaesthetic effect, even for several days depending in the type of formulation (Shipton, 2012).

The intraperitoneal administration of anaesthetics is a tool in the multimodal postoperative management of pain and it has been carried out by diverse techniques ranging from the infiltration of wounds, peritoneal instillation, intraperitoneal aerolization and the use of intraperitoneal catheters (Alkhamesi et al., 2007; Dahl and Møiniche, 2009; Ventham et al., 2013; Wu et al., 2014). All these techniques have been developed to administer the drug in the optimal anatomical site and to achieve a continuous administration of the drug during the first 24–48 h after surgery and avoiding systemic side effects (Alagol, 2012; Gritsenko et al., 2014; Kaye and Urman, 2014; Macrae, 2008; Salky, 1994).

The injectable in situ gel-forming thermosensitive formulations, are a good controlled drug delivery system (Foley et al., 2013) and are of great interest because of its biocompatible properties and their sol–gel transition at physiological temperature; allowing them to be injected with a syringe to then solidify at the desire side to prevent dispersion of the drug throughout the peritoneum. It should be noted, among its advantages, that they do not need an organic solvent or co-polymerization agent to gelify (Jeong et al., 2012). Within the synthetic polymers used in thermogels, it is worth mentioning the poloxamers; they are non ionic triblock copolymers formed by two hydrophilic blocks and one hydrophobic block covalently bonded, with a structure of polyoxyethylene (POE)<sub>x</sub>-polyoxypropylene (POP)<sub>y</sub>-polyoxyethylene (POE)<sub>x</sub>; where the x and y represent the number of units (Nasir et al., 2012; Pharmaceutical Excipients, 2015a,b,c). The solubility in water of the hydrophobic block (POP) depends on the temperature, being soluble at low temperatures and insoluble at high temperatures. However, the hydrophilic block is water soluble over a range of temperatures between 0 and 100 °C. There are different types of poloxamers that differ in the weight of the hydrophobic group (MwPOP) and the percentage of hydrophilic groups (%POE). The poloxamer 407 (F127 or P407) has been used in different formulations including subcutaneous implants, nanoparticles, intravenous emulsions and different types of gels (Escobar-Chávez et al., 2006). Due to its characteristics and its lower critical temperature, compared with the other types of poloxamers, it is a good excipient to prepare thermosensitive gels with a gelation induced by crystallization (cubic crystals) at a temperature near 37 °C (Armando and Martínez, 2013; Holmgren and Fagerland, 2013; Ruel-Gariépy and Leroux, 2004). Unfortunately, the gels of poloxamer 407, as the sole excipient, are obtained at high concentrations (>20%) and erode rapidly. To decrease the time of erosion and to reduce the concentration of poloxamer 407 in order to minimize its side effects (Bonacucina et al., 2011; Devi et al., 2013; Kulkarni et al., 2012; Ruel-Gariépy et al., 2000), another polymer with thermosensitive characteristics and bioadhesive properties has been used. Among the different options, the hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) and the polyvinyl pyrrolidone (PVP) had been used and investigated because of their properties. The HPMC is the O-methylated cellulose, its gelation temperature varies from 50 to 90 °C, depending on the degree and concentration (Excipients, 2015; Martindale: The Complete Drug Reference, n.d.; Pharmaceutical Excipients, n.d.) and it presents biocompatibility with the peritoneum (Ito et al., 2007). On the other hand, PVP has been widely used as an excipient in pharmaceutical formulations for many years (Pharmaceutical Excipients, 2015a,b,c) because of its bioadhesive properties, suspending/dispersing agent and because it allows to adjust the gelation temperature of the formulation (Gonjari et al., 2009; Nasir et al., 2012; Ricci et al., 2005; Ruel-Gariépy and Leroux, 2004; Taheri et al., 2011; Yuan et al., 2012).

The purpose of this study was to develop a preformulation of a thermoreversible and bioadhesive long acting gel of lidocaine

hydrochloride and dexamethasone sodium phosphate to be administered on the peritoneum and in surgical wounds, during abdominal surgeries as an important tool in the multimodal management of postoperative pain. To achieve our objective, we developed several formulations to determine the minimum concentration of the excipients to obtain a gel whose gelation temperature is between 30 and 32 °C and its physicochemical characteristics, as pH, gelation time, viscosity, density and osmolality, were within the margins of quality and acceptance (Lothian and Information, 2013; The United States Pharmacopeial Convention, 2015).

The first approximation to formulate a thermosensitive gel for intraperitoneal administration using lidocaine hydrochloride (L-HCl) and dexamethasone sodium phosphate (DSP) as the active pharmaceutical ingredients; was conducted by using the poloxamer 407 (P407) as the main polymer, setting its concentration under 20%, and to avoid sustained hypercholesterolemia and hypertriglyceridemia attributed to the dose-depending inhibition of the heparin-releasable lipoprotein lipase. Some studies have defined that doses between 5.5 and 27.5 mg/kg did not change the serum lipids in rats (Bonacucina et al., 2011). The concentration of the other two polymers was set by trial-and-error method, fixing maximum concentrations of each polymer lower than the toxic concentration (Martindale: The Complete Drug Reference, 2015; Pharmaceutical Excipients, 2015a,b,c).

## 2. Materials and methods

### 2.1. Materials

Lutrol® F 127 (poloxamer 407—PubChem CID: 24751) manufactured by BASF (Ludwigshafen Germany) in USA, batch WPWB500C, percentage of polyoxyethylene by weight of 73.2–1.7%, molecular weight calculated on the OH value of 9840–14,600 g/mol. Hypromellose USP (hydroxypropyl methylcellulose—PubChem CID: 24832095) manufactured by Shin-Etsu Chemical Co., Ltd in Japan, substitution type 2910, grade of 615 and a viscosity of 15 mPa; batch 509512. Povidone K30 USP (polyvinyl pyrrolidone—PubChem CID: 6917) distributed by Fagron Iberica S. A.U in Spain, batch 14E06B06, with a K-value (viscosity of 1%) of 27–33. Lidocaine Hydrochloride USP (PubChem CID: 6314) distributed by Fagron Iberica S.A.U in Spain, batch 0707458. Dexamethasone sodium phosphate (PubChem CID: 16961) manufactured by NewchemSpa in Milano, distributed by Fagron Iberica S.A.U in Spain, batch 15A30B02. Di-sodium hydrogen phosphate 12 hydrate (RFE, USP, BP, Ph. Eur) (PubChem CID: 24203) manufactured by Panreac in the European Union, batch 00004637751. Potassium di-hydrogen phosphate PA-ACS (PubChem CID: 516951) manufactured by Panreac in the European Union, batch 92829XCR.

### 2.2. Preparation of the poloxamer based thermogels

The gels were prepared with a modified “cold process” (Gonjari et al., 2009; Veyries et al., 1999; Xuan et al., 2010), in which, first of all, the different components of the gel were weighted separately. In the case where no buffer was used; the poloxamer 407 was added into 3/4 parts of precooled water under constant agitation with a magnetic stirrer. Once the solution was completely clear, each of the other components was added under continuous agitation until completely dissolution. The order of addition established was: 1—hydroxypropyl methylcellulose (HPMC), 2—polyvinyl pyrrolidone (PVP), 3—lidocaine hydrochloride and 4—dexamethasone sodium phosphate. It is important to immerse the solution into an ice bath to maintain the temperature and to use gentle stirring during the process to avoid foaming.

**Table 1**  
Instrument configurations.

	Samples at 25 °C	Samples at 37 °C
Spindle number	04	06
RT (s)	12	12
HT (s)	12	20
SR (rpm)	150	125

In the cases where a buffer solution was used, it has to be prepared before and according to the method described (“Buffer tables, 2004”, “Sorensen’s phosphate buffer (0.133M, pH 7.2),” 2010). First, the stock solutions A and B must be prepared by dissolving 9.08 g of potassium di-hydrogen phosphate (stock solution A) and 24.26 g di-sodium hydrogen phosphate 12 hydrate (stock solution B), separately in one liter of purified water each. Then 392 ml of stock solution a were mixed with 608 ml of stock solution B. Once the buffer solution is prepared, the pH must be checked, followed by preparing the gel using the cold method mentioned above, but instead of using water, the buffer solution must be used.

### 2.3. Determination of the gelation temperature

A modified method described by Gonjari et al. (2009) was used to determine the gelation temperature of each gel. Two milliliters of formulation at room temperature were placed in a 5 ml vial with a thermometer inside it to register the formulation temperature. The vial was introduced in a water bath at 20 °C where the temperature was gradually raised such that the gel temperature raises approximately in 3 °C per min, until 40 °C. The gelation temperature was determined visually considering gelation when the liquid is not longer fluid, the manual agitation is difficult and no movement of the solution is observed when the vial is turn in an 90° angle.

### 2.4. Determination of the viscosity

The viscosity was determined with a Brookfield 23CAP200 + L (Brookfield Engineering Laboratories Inc., Stoughton, MA) using a cone–plane spindle at 25 °C and 37 °C. The instrument configurations (number of the spindle, run time (RT), hold time (HT), speed of rotation (SR)) are detailed in Table 1 and where established depending on the viscosity of the samples and taking into account that at higher temperatures, the viscosity is higher because of the gelation process.

**Table 2**  
Formulations without APIs with the best GT.

P407 (%)	HPMC (%)	PVP (%)	Gelation temperature (°C) ± SD (n=3)
12	3.3	1.2	32.7 ± 0.6
12	3.5	1.2	30.0 ± 1.0

### 2.5. Determination of the gelation time

Ten millilitres of sample were put into a 25 ml beaker (diameter of 3.5 cm), that was introduced into a water bath at 37 °C to control temperature. The sample is stirred using a magnetic bar at constant speed of 500 rpm. The time required for the formation of a small vortex in the left of the magnetic bar is the initiation time of gelation and the formation of a bead around the magnetic bar or when the bar stopped moving were considered the complete gelation time (Ferdous et al., 2013).

### 2.6. Determination of the pH

The pH was determined with a Crison micropH 2001 microprocessor controlled pH-meter (Crison Instruments SA, Alella, Barcelona, Spain), without dilution and at a sample temperature of 22–23 °C.

### 2.7. Determination of the density

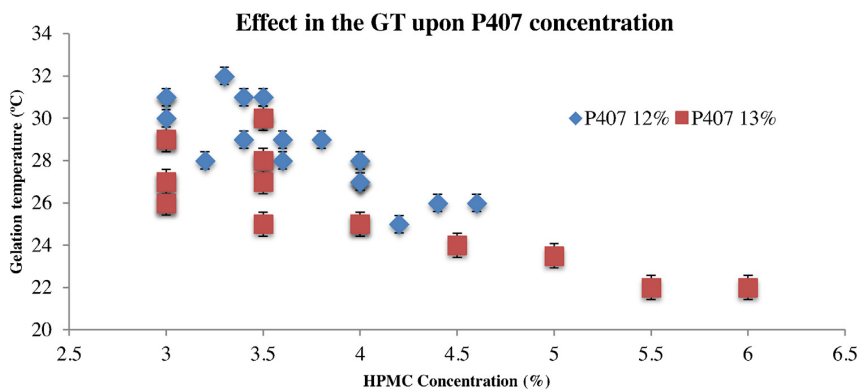
The density was measure with a DMA 35 portable density meter (Anton Paar, Benelux BVBA, Gentbrugge, Belgium).

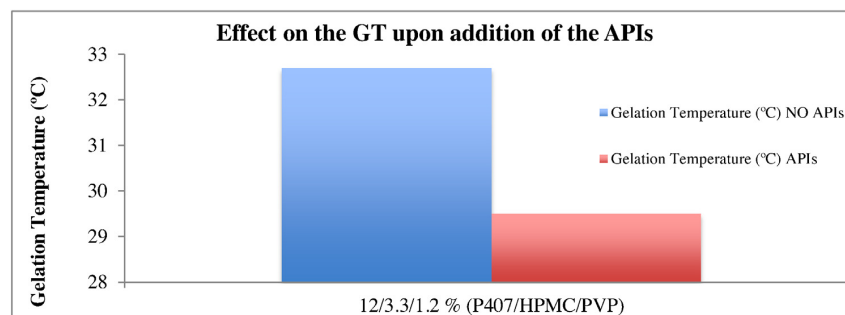
### 2.8. Osmolality measurement

An Advanced® Model 3320 Micro-Osmometer (Advanced Instruments, Inc., Norwood, MA) was used to determine by freezing-point method, the osmolality of the samples.

### 2.9. Statistical analysis

The statistical analysis was performed using STATGRAPHICS Plus for Windows 5.1. Professional Edition 1994–2000 from Statpoint Technologies, Inc., 560 Broadview Ave, Suite 201, Warrenton, VA 20186.

**Graphic 1.** Effect on the GT upon P407 and HPMC concentration.



Graphic 2. Effect on the GT upon addition of the APIs.

### 3. Results and discussion

The first approach to the formulation was conducted without active pharmaceutical ingredients (APIs) and using the poloxamer 407 (P407) as the main polymer. Based on the literature, the poloxamer concentration was set at less than 20%, being the usual polymer concentration in different formulations previously studied (Paavola et al., 1995; Ricci et al., 2005; Tornblom-Paulander et al., 2015) and HPMC as the bioadhesive agent. Adding PVP and playing with the polymers concentrations allowed us to adjust the gelation temperature and to determine the behaviour of the formulations (Table A1).

As expected and as already studied by different authors (Radivojša et al., 2013; Sinica et al., 2012; Yuan et al., 2012), the addition of a bioadhesive polymer such as hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) to a poloxamer 407 (P407) gel, causes a decrease in the gelation temperature (GT) as the concentration therefore increases. This process is described by various mechanisms, but mainly because the formulation viscosity increases by the dissolution of the bioadhesive polymer and because of its ability to join the polyoxyethylene chains of the molecule of the P407. This causes the dehydration of the P407, an increase of the interlacing of adjacent molecules and an increase of intermolecular hydrogen bonds, leading lower temperatures of gelation (Gonjari et al., 2009). The effect of lowering the gelation temperature was studied considering only the addition of a single bioadhesive polymer and not two, as is the case. A multiple regression analysis with a Box-Cox transformation could explain the 68% of the variability of the GT, where there is a statistically significant relation between the GT and the P407 and HPMC concentration ( $P$ -value of 0.006 and 0.000) but not with the PVP concentration ( $P$ -value of 0.6797).

Considering that the P407 is the main polymer in the formulation and upon which the thermo-reversibility depends; for formulations with a P407 concentration of 12%, the GT is more closely related with the concentration of the other two polymers ( $P$ -value at 12% >  $P$ -value at 13% and 14%), there was less linearity ( $R^2$  P407 12% = 65%,  $R^2$  P407 13% = 89%) and the GT was lower, compared to higher concentrations of P407. It is important to note that increasing the concentration of P407 causes a decrease in the GT (Ricci et al., 2002).

As an important component of the formulation, the HPMC has a moderately strong relation with the GT (correlation coefficient of

0.72), where increasing its concentration, entails a decrease in the gelation temperature (Graphic 1).

On the other hand, the statistical analysis to determine the effect of PVP in the formulation for the different concentrations of P407 and HPMC, showed no statistically significant relation ( $P$ -value > 0.05) between the PVP concentration and the GT. It is worth noting that to do the analysis and to explain more than 60% of the variability in the gelation temperature, it was necessary to apply a polynomial model.

Although we did not find any statistically significant relation between the PVP concentration and the GT we observed that at low PVP concentrations (<1%) the GT was increased; at concentrations between 1 and 2% the GT decreased and at higher concentrations (>2%) there was not visible gelation process. This can be explained because the PVP at low concentrations increases the solubility of poorly water soluble substance (Martindale: The Complete Drug Reference, 2015) and in this case, may increase the solubility of the hydrophobic block of the P407 and break the optimal balance of hydrophilic and hydrophobic moieties of the HPMC that allow the sol-gel transition (Nasir et al., 2012).

Once different formulations with the desired GT are found (Table 2), we proceed to add the active pharmaceutical ingredients (APIs).

The addition of the lidocaine hydrochloride and dexamethasone sodium phosphate to the formulation affects the gelation temperature (Table 3).

As anticipated by many authors (Bonacucina et al., 2011; Jeong et al., 2012, 2002; Pandit and Wang, 1998), a decrease in the GT was observed because of the salting out effect of both APIs (statistical difference  $P$ -value of 0.002). Free water is decreased because the ion-water interactions, water-water interactions and hydrogen bonding (Joshi, 2011), carry out a more easy and faster gelation process (Graphic 2).

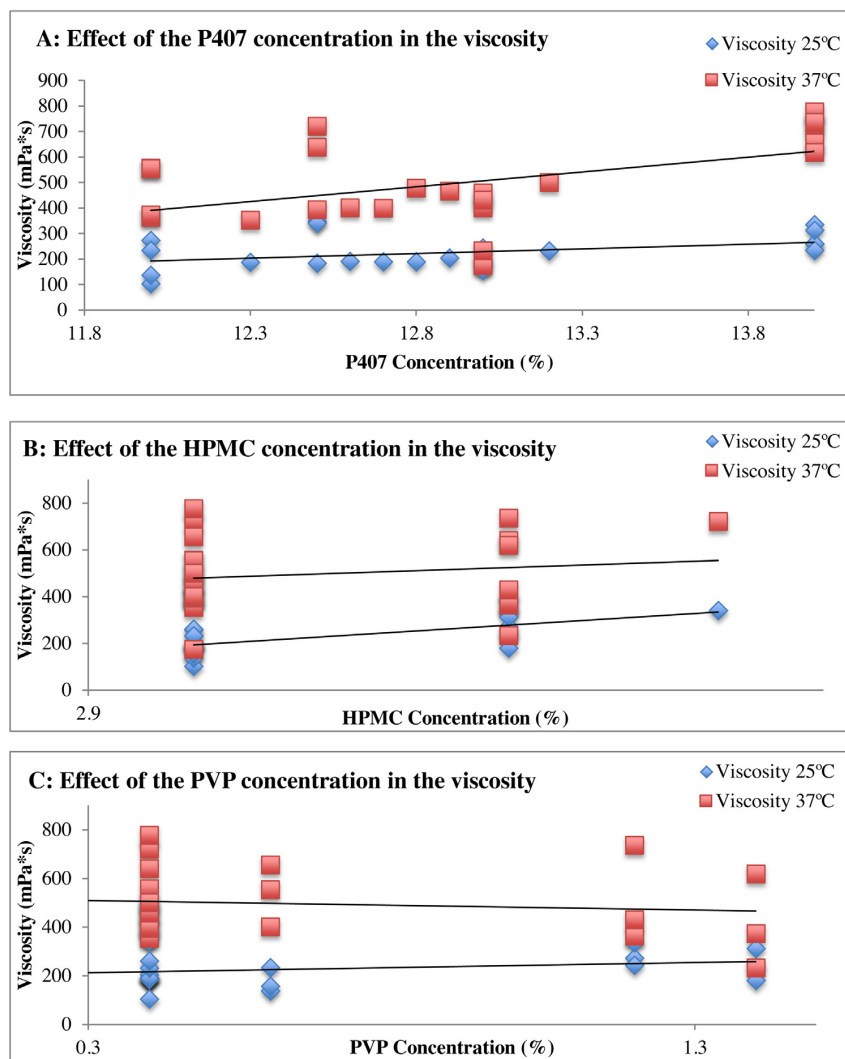
The behaviour of the GT upon the concentration of the polymers when the APIs were added is almost the same behaviour as in their absence, and as expected there is not statistically significant relation between the GT and the PVP concentration ( $P$ -value of 0.3925). Despite there was not statistically significant relation between the GT and the PVP concentration, the PVP influences the

Table 3  
Effect in the GT of formulation 12/3.3/1.2 upon addition of APIs.

Gelation temperature (°C) Without APIs ± SD (n = 3)	Gelation temperature (°C) APIs ± SD (n = 3)
32.7 ± 0.6	29.5 ± 0.6

Table 4  
GT of selected formulations.

Formulation P407/HPMC/PVP (%)	Gelation temperature (°C) ± SD (n = 10)	Degelation temperature (°C) ± SD (n = 10)
12.5/3/0.4	31.8 ± 0.6	28.3 ± 3.0
12.5/3.3/0.4	29.0 ± 0.5	27.9 ± 0.2
12.5/3.5/0.4	28.2 ± 0.6	26.5 ± 0.5



Graphic 3. Viscosity behaviour.

thermal properties of the formulations (Table A2).

The concentration of the different polymers was readjusted in order to obtain key compositions with the desired thermal characteristics (Table 4).

It is not only necessary to have the optimum thermal characteristics, it is important to take into account the viscosity before and after the gelling process. A very high viscosity at 25 °C, hinders the injection during the administration and a low viscosity

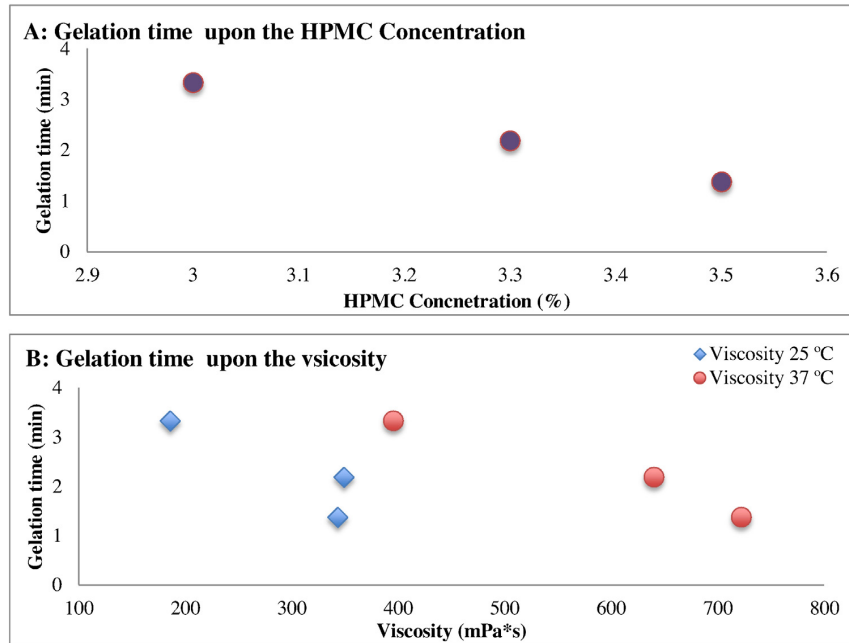
at 37 °C, causes the formulation to slide all over the peritoneum. The viscosity at 25 °C (*P*-value P407 0.000, HPMC 0.000, PVP 0.0127) and the viscosity at 37 °C depend on the concentration of the polymers (*P*-value P407 0.0028, HPMC 0.0164, PVP 0.0035). As shown in Graphic 3, increasing the concentration of the polymers

**Table 5**  
Viscosity of selected formulations.

Formulation- P407/HPMC/PVP (%)	Viscosity 25 °C (mPa·s) ± SD (n = 4)	Viscosity 37 °C (mPa·s) ± SD (n = 4)
12.5/3/0.4	185.3 ± 4.0	395.0 ± 13.7
12.5/3.3/0.4	348.7 ± 10.4	640.0 ± 19.0
12.5/3.5/0.4	342.9 ± 10.4	721.8 ± 24.9

**Table 6**  
Gelation time of selected formulations.

Formulation P407/HPMC/PVP (%)	Viscosity 37 °C ± SD (n = 4)	Gt (min)	
		INITIATION ± SD (n = 10)	Complete gelification ± SD (n = 10)
12.5/3/0.4	395.0 ± 13.7	1.525 ± 0.103	3.335 ± 0.234
12.5/3.3/0.4	640.0 ± 19.0	1.152 ± 0.138	2.188 ± 0.230
12.5/3.5/0.4	721.8 ± 24.9	0.763 ± 0.078	1.377 ± 0.210



Graphic 4. Gelation time behaviour.

increased the viscosity of the formulation at room temperature and at 37 °C. Formulations with a P407 concentration of 12% or under; a HPMC concentration under 3% and a PVP concentration below 1%; form low viscosity semifluid gels of difficult gelation (Table A3).

The viscosity of the selected formulations (Table 5) shows the trend of change depending on the HPMC concentration, were at higher concentrations of it, the viscosity at 25 °C and 37 °C increases (Graphic 3B).

The gelation time (Gt) is another parameter to consider (Table 6), which is also determined by the concentration of the polymers and by default, by the viscosity of the formulations. At higher viscosity, the gelling process was faster (Graphic 4).

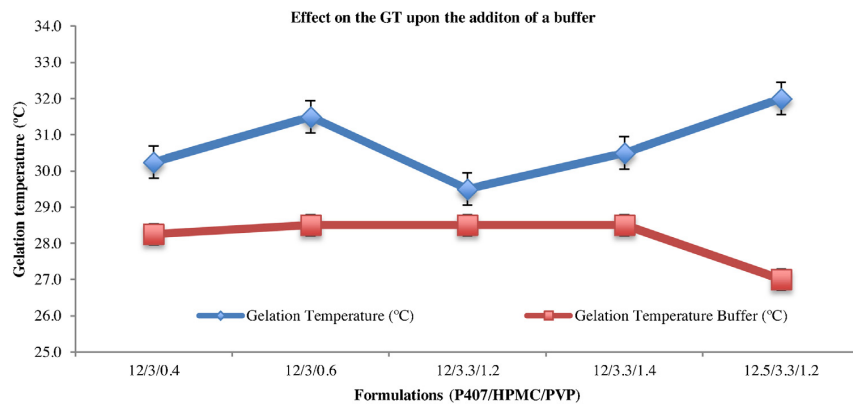
It is important to highlight that the correct administration of the formulation depends on this factor. If the Gt is slow, the formulation is going to gelify in the syringe and it cannot be administered. On the other hand, if the Gt is fast it will not form a prolonged release implant. Further studies must be accomplished

to determine which Gt is the most suitable for a correct administration.

The purpose of the formulation involves the need of having a physiological pH to prevent tissue damage when injected into the peritoneum. The addition of ionic compounds, like buffers, has an important impact in the thermal characteristics (Table 7). A statistically significant decrease (*P*-value of 0.0012 in the *t*-test) in the GT was observed when adding a Sørensen's phosphate buffer (Graphic 5), cause by a salting out effect.

A systematic variation in the concentrations of the polymers was made to adjust the GT to desired values. Despite achieving this goal, the majority of the tested formulations with PVP returned to their liquid state at 37 °C (Table A4), a phenomenon mainly seen with the formulations with a P407 concentration equal or lower than 12% and HPMC concentration lower than 3%.

Due to the difficulty to establish the polymers concentrations to achieve the desired thermal characteristics in the buffered



Graphic 5. Effect on the GT upon addition of buffer.

**Table 7**  
Effect upon the addition of a buffer.

Formulation P407/HPMC/ PVP (%)	Gelation temperature (°C)	Gelation temperature buffer (°C)
12/3/0.4	30.3	28.3
12/3/0.6	31.5	28.5
12/3.3/1.2	29.5	28.5
12/3.3/1.4	30.5	28.5
12.5/3.3/1.2	32	27

**Table 8**  
pH stability.

Time (days)	Temp. (°C)	pH 12/3/0.4	pH 12/3/0.4 buffer	pH 12/3/0.6	pH 12/3/0.6 buffer
0	22.5	6.44	7.13	6.40	7.15
7	22	6.48	7.13	6.45	7.11
14	22	6.59	7.12	6.37	7.15
21	22	6.43	7.10	6.35	7.08
28	23	6.51	7.09	6.37	7.10
ANOVA P-value	–	0.0045	0.00033	0.00152	0.00097

**Table 9**  
pH of selected formulations.

Formulation P407/HPMC/PVP (%)	pH (22 °C) ± SD (n = 3)
12.5/3/0.4	6.56 ± 0.08
12.5/3.3/0.4	6.58 ± 0.08
12.5/3.5/0.4	6.65 ± 0.01

**Table 10**  
Density of formulation 12.5/3.3/0.4.

P407/HPMC/PVP (%) – sample	Density at 22.7 °C (g/ml) ± SD (n = 3)
12.5/3.3/0.4 – M1	1.079 ± 0.0007
12.5/3.3/0.4 – M2	1.0264 ± 0.0009
12.5/3.3/0.4 – M3	1.0259 ± 0.0003

**Table 11**  
Osmolality of formulation 12.5/3.3/0.4.

P407/HPMC/PVP (%) – sample	Osmolality (mOsm/Kg) ± SD (n = 3)
12.5/3.3/0.4 – M1	378 ± 4
12.5/3.3/0.4 – M2	426 ± 3
12.5/3.3/0.4 – M3	410 ± 11

formulations, we decided to study the pH stability during a period of time to determine if it is necessary to add it. There was no statistically significant relationship ( $P$ -value < 0.05) between pH and time in the studied formulations with and without a buffer system (Table 8), there was not variation of the pH during time in the formulations.

The pH of the selected formulations was measured to ensure that there was no variation of it, in comparison with those determined during the stability test. As seen in Table 9, the pH of all three formulations is 6.5 and is within the range set to ensure the stability of the APIs.

Even though the density is not a requirement for injections and implanted drug products (The United States Pharmacopeial

Convention, 2015), it is an important parameter to know the spatial distribution of the mass and to give an idea of whether it will precipitate or float when administered in a cavity that contains fluids and blood, as the peritoneum.

The density of the selected formulation (Table 10) had a density around 1.0256 and 1.0284, lower than blood density which varies between 1.043 and 1.060 g/ml (Vitello et al., 2015).

The osmolality of parenteral formulations should be the same or as similar to the body fluid ( $300 \pm 30$  mOsm/kg) to prevent local irritation, pain or even more significant side effects as damages of endothelial or parenchymal cells.

The formulation 12.5/3.3/0.4 presents an osmolality between 373 and 429 mOsm/kg, being hyperosmolar (Table 11). The hyperosmolality of the formula is given by the ionic characteristics of P407 and the active agents, therefore, it cannot be modified.

It has been studied by other authors that an osmolality under 600 mOsm/kg, may be well tolerated under subcutaneous or intramuscular administration (Wang, 2015), although the associated pain is proportional to the solution tonicity. There are several ways to mitigate the hypertonicity-induced pain, like controlling the pH between 5 and 9, minimize the injection volume and the use of an anaesthetic agent (Del Bianco et al., 1996), all of them, intrinsic characteristics of the formulation.

#### 4. Conclusions

Different formulations were developed and its rheological and thermal characteristics were studied. As a result of the study of the gelation temperature (GT), increasing the concentration of P407 causes a decrease in the GT, as the addition of hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) to the poloxamer gel. The addition of polyvinyl pyrrolidone (PVP) did not have statistically significant relation with the gelation temperature, even though, a concentration under <1% increased the gelation temperature, from 1 to 2% and at higher values of PVP concentration (1–2%) the gelation temperature was decreased and there was no gelation at concentrations higher than 2%. The concentration of the polymers is also an important factor on viscosity and gelation time (Gt). The addition of ionic substances as lidocaine hydrochloride, dexamethasone sodium phosphate and buffer systems, caused a decrease in GT; even at high concentrations, preclude the gelation process. An increased in the concentration of HPMC, induced an increase in the viscosity and in the Gt.

The pH was not affected by the polymers concentrations and remains stable over the time. The formulations studied were hyperosmolar within the margins to avoid tissue damage and pain during administration.

Between the developed formulations, the 12.5/3.3/0.4% (P407/HPMC/PVP) had optimal characteristics, a gelation temperature of  $29.0 \pm 0.5$  °C in response to an increased of the temperature, a pH of  $6.58 \pm 0.08$ , a viscosity at 25 °C of  $348.7 \pm 10.4$  mPa s and at 37 °C of  $640.0 \pm 19.0$  mPa s, a density of  $1.0267 \pm 0.0011$  g/ml and an osmolality of  $405 \pm 22$  mOsm/kg. To determine the viability of the formulation it is necessary to study dissolution, drug release and adhesiveness to the peritoneum.

#### Acknowledgement

This research was not financially supported by any institution or foundation. The author declares that there is no conflict of interests.

#### Appendix A.

See Tables A1–A4

**Table A1**  
Formulations without active principles.

P407 (%)	HPMC (%)	PVP (%)	Gelation temperature (°C) <sup>a</sup>	P407 (%)	HPMC (%)	PVP (%)	Gelation temperature (°C) <sup>a</sup>
0	4	0	–	13	3	0	26
0	6	0	–	13	3	0,4	29
0	8	0	–	13	3	0,8	29
12	2	2	–	13	3	1,2	27
12	3	0	–	13	3	1,6	27
12	3	0,4	–	13	3	2	26
12	3	0,8	–	13	3,5	0,4	25
12	3	1	–	13	3,5	1	28
12	3	1,2	31	13	3,5	1,2	27
12	3	1,6	31	13	3,5	1,4	30
12	3	2	30	13	3,5	1,6	28
12	3,2	1,4	28	13	4	0,4	25
12	3,3	1,2	32	13	4	1	25
12	3,4	1	29	13	4,5	0,4	24
12	3,4	1,2	31	13	5	0,4	23,5
12	3,5	1	30	13	5,5	0,4	22
12	3,5	1,2	31	13	6	0,4	22
12	3,5	1,3	30	14	0	4	–
12	3,5	1,4	28	14	1	2	–
12	3,6	1	29	14	2	0	32
12	3,6	1,2	28	14	2	1	–
12	3,8	1	29	14	2	2	–
12	4	0	27	14	3	0	32
12	4	1	28	14	3	1	30
12	4	1,2	27	16	0	3	–
12	4	1,4	27	16	1	2	–
12	4	1,6	28	16	2	0	28
12	4,2	1	25	16	2	1	28
12	4,4	1	26	16	3	1	29
12	4,6	1	26	18	0	2	–
13	0	0	–	18	1	0	–
13	0	0,4	–	–	–	–	–

<sup>a</sup> The sign “–” indicates there was not gelation.



**Table A2**  
Formulations with active principles.

P407 (%)	HPMC (%)	PVP (%)	Gelation temperature (°C)	Degelation temperature (°C)
12	3	0.4	left	28
12	3	0.4	30	28
12	3	0.6	31	26
12	3	0.6	32	27
12	3.3	1.2	30	24
12	3.3	1.2	29	23
12	3.3	1.4	31	21
12	3.3	1.4	30	20.5
12.3	3	0.4	31	28
12.5	3	0.4	31	28
12.5	3.3	0.4	29	28
12.5	3.5	0.4	28	26
12.6	3	0.4	30	27.5
12.7	3	0.4	30	28
12.8	3	0.4	29	27
12.9	3	0.4	29	27.5
13	3	0	27	26
13	3	0.4	30	29
13	3	0.4	29	27.5
13	3	0.4	29.5	27
13	3	0.4	30	27
13	3	0.6	30	27
13	3.3	1.2	33	26
13	3.3	1.4	34	28
13.2	3	0.4	29	27
14	3	0	28	26
14	3	0.4	30	27
14	3	0.6	29	27
14	3.3	1.2	28	26
14	3.3	1.4	30	26

**Table A3**  
Viscosity behaviour.

P407 (%)	HPMC (%)	PVP (%)	Viscosity 25 °C (mPa·s) ± SD (n=4)	Viscosity 37 °C (mPa·s) ± SD (n=4)
12	3	0.4	104.8 ± 3.4	557.6 ± 0.3
12	3	0.6	139.2 ± 8.1	555.1 ± 1.0
12	3.3	1.2	274.2	364
12	3.3	1.4	235.0 ± 10.2	374.1 ± 3.7
12.3	3	0.4	188.7 ± 3.8	354.0 ± 9.3
12.5	3	0.4	185.3 ± 4.0	395.0 ± 13.7
12.5	3.3	0.4	348.7 ± 10.4	640.0 ± 19.0
12.5	3.5	0.4	342.9 ± 10.4	721.8 ± 24.9
12.6	3	0.4	193.3 ± 6.0	401.5 ± 12.8
12.7	3	0.4	190.2 ± 4.7	399.8 ± 13.9
12.8	3	0.4	190.3 ± 2.8	477.8 ± 26.5
12.9	3	0.4	205.4 ± 7.1	467.5 ± 32.3
13	3	0	175.1 ± 9.8	175.1 ± 9.8
13	3	0.4	192.0 ± 2.87	459.3 ± 33.98
13	3	0.6	157.9 ± 13.3	401.3 ± 20.0
13	3.3	1.2	245.4 ± 3.7	431.0 ± 34.3
13	3.3	1.4	182.3 ± 8.9	233.5 ± 15.6
13.2	3	0.4	233.2 ± 15.9	501.8 ± 20.3
14	3	0	259.6 ± 23.7	724.0 ± 24.5
14	3	0.4	262.5 ± 10.1	778.0 ± 39.1
14	3	0.6	234.8 ± 5.6	656.8 ± 18.0
14	3.3	1.2	336.2 ± 13.2	736.8 ± 16.6
14	3.3	1.4	313.3 ± 3.8	619.3 ± 2.3



**Table A4**  
Behaviour of formulations when adding a Sorensen buffer.

P407 (%)	HPMC (%)	PVP (%)	Form at 37 °C	GT (°C)	P407 (%)	HPMC (%)	PVP (%)	Form at 37 °C	GT (°C)
0	2	0	LIQ	>40	12	2.9	1.4	LIQ	29
0	3	0	LIQ	>40	12	3	0.6	LIQ	28.5
0	3	1	LIQ	>40	12	3	0.8	LIQ	28
0	4	0	LIQ	>40	12	3	1.4	LIQ	28
0	4	1	LIQ	>40	12	3.1	1.4	LIQ	28
0	8	0	LIQ	>40	12	3.2	0	GEL	23
0	12	0	LIQ	23	12	3.2	1.4	LIQ	28
0	16	0	LIQ	19	12	3.3	1.2	LIQ	29
6	12	0	GEL	5	12	3.3	1.2	LIQ	28
8	12	0	GEL	1	12	3.3	1.3	LIQ	>40
11	2	1.5	LIQ	>40	12	3.3	1.4	LIQ	28
11	2	2	LIQ	>40	12	3.3	1.4	LIQ	29
11	3	1.5	LIQ	>40	12	3.3	1.5	LIQ	>40
11	3.4	0	LIQ	>40	12	3.4	0	GEL	23
11	6	0	GEL	20	12	3.4	1.2	LIQ	24
11	8	0	GEL	17	12	3.4	1.3	LIQ	23
12	0	0	LIQ	>40	12	3.5	0	GEL	23
12	0	0	LIQ	>40	12	3.5	1.2	LIQ	24
12	0	1.4	LIQ	28	12	3.5	1.3	LIQ	22
12	1.2	0	LIQ	>40	12	3.6	0	GEL	22
12	1.5	0	LIQ	>40	12	3.6	1.2	LIQ	23
12	1.7	0	LIQ	>40	12	3.6	1.3	LIQ	24
12	1.9	0	LIQ	>40	12	3.6	1.4	LIQ	>40
12	2	2	LIQ	>40	12	4	0	GEL	22
12	2.2	0	LIQ	>40	12	4.5	0	GEL	20.5
12	2.5	0	LIQ	24	12	5	0	GEL	19
12	2.5	1.4	LIQ	29	12.5	3.3	1.2	LIQ	27
12	2.6	1.4	LIQ	29	13	3.4	0	GEL	21
12	2.7	0	GEL	23	14	0	0	LIQ	>40
12	2.7	1.4	LIQ	29	14	2	0	LIQ	23
12	2.8	0	LIQ	23	14	3	0	GEL	23
12	2.8	1.4	LIQ	29	14	3.4	0	GEL	20.5

**References**

- Alagol, A., 2012. Anesthetic management of abdominal surgery. *INTECH. InTech*, pp. 1–4.
- Alkhamesi, N.a., Peck, D.H., Lomax, D., Darzi, Wa., 2007. Intraperitoneal aerosolization of bupivacaine reduces postoperative pain in laparoscopic surgery: a randomized prospective controlled double-blinded clinical trial. *Surg. Endosc.* 21, 602–606. doi:<http://dx.doi.org/10.1007/s00464-006-9087-6>.

- Allen, K., 2007. Dexamethasone: An all Purpose Agent. *Australian Anaesthetist*, pp. 65–70.
- Armando, J.F., Martínez, S., 2013. COPOLÍMEROS TRIBLOQUE EN LA CIENCIA Y TECNOLOGÍA.
- Boddy, A.P., Mehta, S., Rhodes, M., 2006. The effect of intraperitoneal local anesthesia in laparoscopic cholecystectomy: a systematic review and meta-analysis. *Anesth. Analg.* 103, 682–688. doi:<http://dx.doi.org/10.1213/01.ane.0000226268.06279.5a>.

- Bonacucina, G., Cespi, M., Mencarelli, G., Giorgioni, G., Palmieri, G.F., 2011. Thermosensitive self-assembling block copolymers as drug delivery systems. *Polymers (Basel)* 3, 779–811. doi:<http://dx.doi.org/10.3390/polym3020779>.
- Buffer tables [WWW Document], 2004. <http://microscopy.berkeley.edu/Resources/instruction/buffers.html> (accessed 3.9.15).
- Dahl, J.B., Moïniche, S., 2009. Relief of postoperative pain by local anaesthetic infiltration: efficacy for major abdominal and orthopedic surgery. *Pain* 143, 7–11. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.pain.2009.02.020>.
- Del Bianco, E., Geppetti, P., Zippi, P., Isolani, D., Magini, B., Cappugi, P., 1996. The effects of repeated dermal application of capsaicin to the human skin on pain and vasodilatation induced by intradermal injection of acid and hypertonic solutions. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 41, 1–6.
- Devi, D.R., Sandhya, P., Hari, B.N.V., 2013. Poloxamer: a novel functional molecule for drug delivery and gene therapy. *J. Pharm. Sci. Res.* 5, 159–165.
- Escobar-Chávez, J.J., López-Cervantes, M., Naik, A., Kalia, Y.N., Quintanar-Guerrero, D., Ganem-Quintanar, A., 2006. Applications of thermo-reversible pluronic F-127 gels in pharmaceutical formulations. *J. Pharm. Pharm. Sci.* 358.
- Excipients, P., n.d. Hypromellose: Pharmaceutical Excipients [WWW Document]. [https://www.medicinescomplete.com/mc/excipients/current/1001939693.htm?q=Hydroxypropylmethylcellulose&t=search&ss=text&p=1#\\_hit](https://www.medicinescomplete.com/mc/excipients/current/1001939693.htm?q=Hydroxypropylmethylcellulose&t=search&ss=text&p=1#_hit) (accessed 4.28.15).
- Ferdous, J., Juarez-Perez, E., Shazly, T., 2013. Tailoring the molecular distribution of bioactive chemical groups to modulate adhesion to soft tissues. *Procedia Eng.* doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.proeng.2013.03.193>.
- Foley, P.L., Ulery, B.D., Kan, H.M., Burks, M.V., Cui, Z., Wu, Q., Nair, L.S., Laurencin, C.T., 2013. A chitosan thermogel for delivery of ropivacaine in regional musculoskeletal anesthesia. *Biomaterials* 34, 2539–2546.
- Gonjari, I.D., Hosmani, A.H., Karmarkar, A.B., Godage, A.S., Kadam, S.B., Dhobale, P.N., 2009. Mucoadhesive gel of fluconazole. *Drug Discov. Ther.* 3, 6–9.
- Gritsenko, K., Khelemsky, Y., Kaye, A.D., Vadivelu, N., Urman, R., 2014. Multimodal therapy in perioperative analgesia. *Best Pract. Res. Clin. Anaesthesiol.* doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.bpa.2014.03.001>.
- Gupta, A., 2005. Local anaesthesia for pain relief after laparoscopic cholecystectomy—a systematic review. *Best Pract. Res. Clin. Anaesthesiol.* 19, 275–292. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.bpa.2004.12.007>.
- Holmgren, J., Fagerland, M.J., 2013. Gelation properties of thermosensitive hydrogels under the direction of. *Res. Acad Young Sci.*
- Ito, T., Yeo, Y., Highley, C.B., Bellas, E., Benitez, C.A., Kohane, D.S., 2007. The prevention of peritoneal adhesions by in situ cross-linking hydrogels of hyaluronic acid and cellulose derivatives. *Biomaterials* 28, 975–983. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.10.021>.
- Jeong, B., Kim, S.W., Bae, Y.H., 2002. Thermosensitive sol-gel reversible hydrogels. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 54, 37–51. doi:[http://dx.doi.org/10.1016/s0169-409x\(01\)00242-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0169-409x(01)00242-3).
- Jeong, B., Kim, S.W., Bae, Y.H., 2012. Thermosensitive sol-gel reversible hydrogels. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 64, 154–162. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.012>.
- Joshi, S.C., 2011. Sol-gel behavior of hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) in ionic media including drug release. *Materials (Basel)* 4, 1861–1905. doi:<http://dx.doi.org/10.3390/ma4101861>.
- Kahokehr, A., Sammour, T., Shoshitari, K.Z., Taylor, M., Hill, A.G., 2011. Intraperitoneal local anesthetic improves recovery after colon resection: a double-blinded randomized controlled trial. *Ann. Surg.* 254, 28–38. doi:<http://dx.doi.org/10.1097/sla.0b013e318221f0fc>.
- Kaye, A.D., Urman, R.D., 2014. Perioperative analgesia and future directions. *Best Pract. Res. Clin. Anaesthesiol.* 28, 103–104. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.bpa.2014.05.002>.
- Khan, M.R., Raza, R., Zafar, S.N., Shamim, F., Raza, S.A., Pal, K.M.I., Zafar, H., Alvi, R., Chawla, T., Azmi, R., 2012. Intraperitoneal lignocaine (lidocaine) versus bupivacaine after laparoscopic cholecystectomy: results of a randomized controlled trial. *J. Surg. Res.* 178, 662–669. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.jss.2012.06.005>.
- Kulkarni, A.P., Aslam Khan, S.K., Dehghan, M.H., 2012. Evaluation of poloxamer-based in situ gelling system of artichoke as a drug delivery system for anesthetizing periodontal pockets—an in vitro study. *Indian J. Dent.* 3, 201–208. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2012.07.006>.
- Lothian, N.H.S., Information, M., 2013. The UK Injectable Medicines Guide Adopted for use in NHS Lothian.
- Macrae, W., 2008. Chronic post-surgical pain: 10 years on. *Br. J. Anaesth.* 101, 77–86. doi:<http://dx.doi.org/10.1093/bja/aen099>.
- Martindale, The Complete Drug Reference, n.d. Povidone: Martindale: The Complete Drug Reference [WWW Document]. [https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/martindale/current/ms-5450-e.htm?q=povione&t=search&ss=text&p=1#\\_hit](https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/martindale/current/ms-5450-e.htm?q=povione&t=search&ss=text&p=1#_hit) (accessed 3.9.15).
- Nasir, F., Iqbal, Z., Khan, J., Khan, A., Khuda, A., Ahmad, F., Khan, L., Khan, A., Dayoo, A., Roohullah, A., 2012. Development and evaluation of diclofenac sodium thermoreversible subcutaneous drug delivery system. *Int. J. Pharm.* 439, 120–126. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.10.009>.
- Paavola, A., Yliruusi, J., Kajimoto, Y., Kalso, E., Wahlström, T., Rosenberg, P., 1995. Controlled release of lidocaine from injectable gels and efficacy in rat sciatic nerve block. *Pharm. Res.* 12, 1997–2002.
- Pandit, N.K., Wang, D., 1998. Salt effect on the diffusion and release rate of propranolol from poloxamer 407 gel. *Int. J. Pharm.* 167, 183–189.
- Pharmaceutical Excipients, n.d. Poloxamer [WWW Document]. [http://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/excipients/current/q=poloxamer&t=search&ss=text&p=1#\\_hit](http://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/excipients/current/q=poloxamer&t=search&ss=text&p=1#_hit) (accessed 5.11.15a).
- Pharmaceutical Excipients, n.d. Povidone: Pharmaceutical Excipients [WWW Document]. [https://www.medicinescomplete.com/mc/excipients/current/1001944386.htm?q=Polyvinylpyrrolidone&t=search&ss=text&p=1#\\_hit](https://www.medicinescomplete.com/mc/excipients/current/1001944386.htm?q=Polyvinylpyrrolidone&t=search&ss=text&p=1#_hit) (accessed 4.28.15b).
- Pharmaceutical Excipients, n.d. Povidone: Pharmaceutical Excipients [WWW Document]. [https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/excipients/current/1001944386.htm?q=povione&t=search&ss=text&p=1#\\_hit](https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/excipients/current/1001944386.htm?q=povione&t=search&ss=text&p=1#_hit) (accessed 3.9.15c).
- Radivojča, M., Grabnar, I., Ahlin Grabnar, P., 2013. 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.* 50, 93–101. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejps.2013.03.002>.
- Reference, M.T.C.D., n.d. Hypromellose: Martindale: The Complete Drug Reference [WWW Document]. [https://www.medicinescomplete.com/mc/martindale/current/ms-5432-s.htm?q=hydroxypropylmethylcellulosa&t=search&ss=text&p=1#\\_hit](https://www.medicinescomplete.com/mc/martindale/current/ms-5432-s.htm?q=hydroxypropylmethylcellulosa&t=search&ss=text&p=1#_hit) (accessed 4.28.15).
- Ricci, E.J., Bentley, M.V.L.B., Farah, M., Bretas, R.E.S., Marchetti, J.M., 2002. Rheological characterization of poloxamer 407 lidocaine hydrochloride gels. *Eur. J. Pharm. Sci.* 17, 161–167. doi:[http://dx.doi.org/10.1016/s0928-0987\(02\)00166-5](http://dx.doi.org/10.1016/s0928-0987(02)00166-5).
- Ricci, E.J., Lunardi, L.O., Nanclares, D.M., Marchetti, J.M., 2005. Sustained release of lidocaine from Poloxamer 407 gels. *Int. J. Pharm.* 288, 235–244. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2004.09.008>.
- Ruel-Gariépy, E., Leroux, J.-C., 2004. In situ-forming hydrogels—review of temperature-sensitive systems. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 58, 409–426. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejpb.2004.03.019>.
- Ruel-Gariépy, E., Chenite, A., Chaput, C., Guirguis, S., Leroux, J., 2000. Characterization of thermosensitive chitosan gels for the sustained delivery of drugs. *Int. J. Pharm.* 203, 89–98.
- Salky, B., 1994. Laparoscopic abdominal surgery. *Gastrointest. Endosc.* 40, 267–268. doi:<http://dx.doi.org/10.1093/bjaccp/mkh032>.
- Shipton, E.A., 2012. New formulations of local anaesthetics—part I. *Anesthesiol. Res. Pract.* 2012, 546409. doi:<http://dx.doi.org/10.1155/2012/546409>.
- Sinica, D.P., Kumar, M.V., Aravindram, A.S., Rohitash, K., Gowda, D.V., Parjanya, K., 2012. Pelagia research library formulation and evaluation of in-situ gel of bromhexine hydrochloride for nasal delivery. *Der Pharm. Sin.* 3, 699–707.
- Sorensen's phosphate buffer (0.133 M, pH 7.2), 2010. *Cold Spring Harb. Protoc.* 2010, pdb.rec12327–pdb.rec12327. 10.1101/pdb.rec12327.
- Taheri, A., Atyabi, F., Dinarvand, R., 2011. Temperature-responsive and biodegradable PVA:PVP k30:poloxamer 407 hydrogel for controlled delivery of human growth hormone (hGH). *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* 24, 175–179.
- The United States Pharmacopeial Convention, 2015. *General Chapters, USP 38—NF33*. Rockville, MD 20852, pp. 5625–5630.
- Tornblom-Paulander, S., Tingåker, B.K., Werner, A., Liliereutz, C., Conner, P., Wessel, H., Ekman-Ordeberg, G., 2015. Novel topical formulation of lidocaine provides significant pain relief for intrauterine device insertion: pharmacokinetic evaluation and randomized placebo-controlled trial. *Fertil. Steril.* 103, 422–427. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.10.026>.
- Ventham, N.T., Hughes, M., O'Neill, S., Johns, N., Brady, R.R., Wigmore, S.J., 2013. Systematic review and meta-analysis of continuous local anaesthetic wound infiltration versus epidural analgesia for postoperative pain following abdominal surgery. *Br. J. Surg.* 100, 1280–1289. doi:<http://dx.doi.org/10.1002/bjs.9204>.
- Veyries, M.L., Couarraze, G., Geiger, S., Agnely, F., Massias, L., Kunzli, B., Faurisson, F., Rouveix, B., 1999. Controlled release of vancomycin from poloxamer 407 gels. *Int. J. Pharm.* 192, 183–193.
- Vitello, D.J., Ripper, R.M., Fettiplace, M.R., Weinberg, G.L., Vitello, J.M., 2015. Blood density is nearly equal to water density: a validation study of the gravimetric method of measuring intraoperative blood loss. *J. Vet. Med.* 7–9.
- Wang, W., 2015. Tolerability of hypertonic injectables. *Int. J. Pharm.* 490, 308–315. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.05.069>.
- Wu, C.-C., Bai, C.-H., Huang, M.-T., Wu, C.-H., Tam, K.-W., 2014. Local anesthetic infusion pump for pain management following open inguinal hernia repair: a meta-analysis. *Int. J. Surg.* 12, 245–250. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijsu.2014.01.006>.
- Xuan, J.J., Balakrishnan, P., Oh, D.H., Yeo, W.H., Park, S.M., Yong, C.S., Choi, H.G., 2010. Rheological characterization and in vivo evaluation of thermosensitive poloxamer-based hydrogel for intramuscular injection of piroxicam. *Int. J. Pharm.* 395, 317–323. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.05.042>.
- Yuan, Y., Cui, Y., Zhang, L., Zhu, H.P., Guo, Y.S., Zhong, B., Hu, X., Zhang, L., Wang, X.H., Chen, L., 2012. Thermosensitive and mucoadhesive in situ gel based on poloxamer as new carrier for rectal administration of nimesulide. *Int. J. Pharm.* 430, 114–119. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.03.054>.

- Bonacucina, G., Cespi, M., Mencarelli, G., Giorgioni, G., Palmieri, G.F., 2011. Thermosensitive self-assembling block copolymers as drug delivery systems. *Polymers (Basel)* 3, 779–811. doi:<http://dx.doi.org/10.3390/polym3020779>.
- Buffer tables [WWW Document], 2004. <http://microscopy.berkeley.edu/Resources/instruction/buffers.html> (accessed 3.9.15).
- Dahl, J.B., Moïniche, S., 2009. Relief of postoperative pain by local anaesthetic infiltration: efficacy for major abdominal and orthopedic surgery. *Pain* 143, 7–11. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.pain.2009.02.020>.
- Del Bianco, E., Geppetti, P., Zippi, P., Isolani, D., Magini, B., Cappugi, P., 1996. The effects of repeated dermal application of capsaicin to the human skin on pain and vasodilatation induced by intradermal injection of acid and hypertonic solutions. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 41, 1–6.
- Devi, D.R., Sandhya, P., Hari, B.N.V., 2013. Poloxamer: a novel functional molecule for drug delivery and gene therapy. *J. Pharm. Sci. Res.* 5, 159–165.
- Escobar-Chávez, J.J., López-Cervantes, M., Naik, A., Kalia, Y.N., Quintanar-Guerrero, D., Ganem-Quintanar, A., 2006. Applications of thermo-reversible pluronic F-127 gels in pharmaceutical formulations. *J. Pharm. Pharm. Sci.* 358.
- Excipients, P., n.d. Hypromellose: Pharmaceutical Excipients [WWW Document]. [https://www.medicinescomplete.com/mc/excipients/current/1001939693.htm?q=Hydroxypropylmethylcellulose&t=search&ss=text&p=1#\\_hit](https://www.medicinescomplete.com/mc/excipients/current/1001939693.htm?q=Hydroxypropylmethylcellulose&t=search&ss=text&p=1#_hit) (accessed 4.28.15).
- Ferdous, J., Juarez-Perez, E., Shazly, T., 2013. Tailoring the molecular distribution of bioactive chemical groups to modulate adhesion to soft tissues. *Procedia Eng.* doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.proeng.2013.03.193>.
- Foley, P.L., Ulery, B.D., Kan, H.M., Burks, M.V., Cui, Z., Wu, Q., Nair, L.S., Laurencin, C.T., 2013. A chitosan thermogel for delivery of ropivacaine in regional musculoskeletal anesthesia. *Biomaterials* 34, 2539–2546.
- Gonjari, I.D., Hosmani, A.H., Karmarkar, A.B., Godage, A.S., Kadam, S.B., Dhavale, P.N., 2009. Mucoadhesive gel of fluconazole. *Drug Discov. Ther.* 3, 6–9.
- Gritsenko, K., Khelemsky, Y., Kaye, A.D., Vadivelu, N., Urman, R., 2014. Multimodal therapy in perioperative analgesia. *Best Pract. Res. Clin. Anaesthesiol.* doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.bpa.2014.03.001>.
- Gupta, A., 2005. Local anaesthesia for pain relief after laparoscopic cholecystectomy—a systematic review. *Best Pract. Res. Clin. Anaesthesiol.* 19, 275–292. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.bpa.2004.12.007>.
- Holmgren, J., Fagerland, M.J., 2013. Gelation properties of thermosensitive hydrogels under the direction of. *Res. Acad Young Sci.*
- Ito, T., Yeo, Y., Highley, C.B., Bellas, E., Benitez, C.A., Kohane, D.S., 2007. The prevention of peritoneal adhesions by in situ cross-linking hydrogels of hyaluronic acid and cellulose derivatives. *Biomaterials* 28, 975–983. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.10.021>.
- Jeong, B., Kim, S.W., Bae, Y.H., 2002. Thermosensitive sol-gel reversible hydrogels. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 54, 37–51. doi:[http://dx.doi.org/10.1016/s0169-409x\(01\)00242-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0169-409x(01)00242-3).
- Jeong, B., Kim, S.W., Bae, Y.H., 2012. Thermosensitive sol-gel reversible hydrogels. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 64, 154–162. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.012>.
- Joshi, S.C., 2011. Sol-gel behavior of hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) in ionic media including drug release. *Materials (Basel)* 4, 1861–1905. doi:<http://dx.doi.org/10.3390/ma4101861>.
- Kahokehr, A., Sammour, T., Shoshitari, K.Z., Taylor, M., Hill, A.G., 2011. Intraperitoneal local anesthetic improves recovery after colon resection: a double-blinded randomized controlled trial. *Ann. Surg.* 254, 28–38. doi:<http://dx.doi.org/10.1097/sla.0b013e318221f0fc>.
- Kaye, A.D., Urman, R.D., 2014. Perioperative analgesia and future directions. *Best Pract. Res. Clin. Anaesthesiol.* 28, 103–104. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.bpa.2014.05.002>.
- Khan, M.R., Raza, R., Zafar, S.N., Shamim, F., Raza, S.A., Pal, K.M.I., Zafar, H., Alvi, R., Chawla, T., Azmi, R., 2012. Intraperitoneal lignocaine (lidocaine) versus bupivacaine after laparoscopic cholecystectomy: results of a randomized controlled trial. *J. Surg. Res.* 178, 662–669. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.jss.2012.06.005>.
- Kulkarni, A.P., Aslam Khan, S.K., Dehghan, M.H., 2012. Evaluation of poloxamer-based in situ gelling system of artichain as a drug delivery system for anesthetizing periodontal pockets—an in vitro study. *Indian J. Dent.* 3, 201–208. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2012.07.006>.
- Lothian, N.H.S., Information, M., 2013. The UK Injectable Medicines Guide Adopted for use in NHS Lothian.
- Macrae, W., 2008. Chronic post-surgical pain: 10 years on. *Br. J. Anaesth.* 101, 77–86. doi:<http://dx.doi.org/10.1093/bja/aen099>.
- Martindale, The Complete Drug Reference, n.d. Povidone: Martindale: The Complete Drug Reference [WWW Document]. [https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/martindale/current/ms-5450-e.htm?q=povione&t=search&ss=text&p=1#\\_hit](https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/martindale/current/ms-5450-e.htm?q=povione&t=search&ss=text&p=1#_hit) (accessed 3.9.15).
- Nasir, F., Iqbal, Z., Khan, J., Khan, A., Khuda, A., Ahmad, F., Khan, L., Khan, A., Dayoo, A., Roohullah, A., 2012. Development and evaluation of diclofenac sodium thermoreversible subcutaneous drug delivery system. *Int. J. Pharm.* 439, 120–126. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.10.009>.
- Paavola, A., Yliruusi, J., Kajimoto, Y., Kalso, E., Wahlström, T., Rosenberg, P., 1995. Controlled release of lidocaine from injectable gels and efficacy in rat sciatic nerve block. *Pharm. Res.* 12, 1997–2002.
- Pandit, N.K., Wang, D., 1998. Salt effect on the diffusion and release rate of propranolol from poloxamer 407 gel. *Int. J. Pharm.* 167, 183–189.
- Pharmaceutical Excipients, n.d. Poloxamer [WWW Document]. [http://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/excipients/current/q-poloxamer&t=search&ss=text&p=1#\\_hit](http://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/excipients/current/q-poloxamer&t=search&ss=text&p=1#_hit) (accessed 5.11.15a).
- Pharmaceutical Excipients, n.d. Povidone: Pharmaceutical Excipients [WWW Document]. [https://www.medicinescomplete.com/mc/excipients/current/1001944386.htm?q=Polyvinylpyrrolidone&t=search&ss=text&p=1#\\_hit](https://www.medicinescomplete.com/mc/excipients/current/1001944386.htm?q=Polyvinylpyrrolidone&t=search&ss=text&p=1#_hit) (accessed 4.28.15b).
- Pharmaceutical Excipients, n.d. Povidone: Pharmaceutical Excipients [WWW Document]. [https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/excipients/current/1001944386.htm?q=povione&t=search&ss=text&p=1#\\_hit](https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/excipients/current/1001944386.htm?q=povione&t=search&ss=text&p=1#_hit) (accessed 3.9.15c).
- Radivojča, M., Grabnar, I., Ahlin Grabnar, P., 2013. 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.* 50, 93–101. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejps.2013.03.002>.
- Reference, M.T.C.D., n.d. Hypromellose: Martindale: The Complete Drug Reference [WWW Document]. [https://www.medicinescomplete.com/mc/martindale/current/ms-5432-s.htm?q=hydroxypropylmethylcellulosa&t=search&ss=text&p=1#\\_hit](https://www.medicinescomplete.com/mc/martindale/current/ms-5432-s.htm?q=hydroxypropylmethylcellulosa&t=search&ss=text&p=1#_hit) (accessed 4.28.15).
- Ricci, E.J., Bentley, M.V.L.B., Farah, M., Bretas, R.E.S., Marchetti, J.M., 2002. Rheological characterization of poloxamer 407 lidocaine hydrochloride gels. *Eur. J. Pharm. Sci.* 17, 161–167. doi:[http://dx.doi.org/10.1016/s0928-0987\(02\)00166-5](http://dx.doi.org/10.1016/s0928-0987(02)00166-5).
- Ricci, E.J., Lunardi, L.O., Nanclares, D.M., Marchetti, J.M., 2005. Sustained release of lidocaine from Poloxamer 407 gels. *Int. J. Pharm.* 288, 235–244. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2004.09.008>.
- Ruel-Gariépy, E., Leroux, J.-C., 2004. In situ-forming hydrogels—review of temperature-sensitive systems. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 58, 409–426. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejpb.2004.03.019>.
- Ruel-Gariépy, E., Chenite, A., Chaput, C., Guirguis, S., Leroux, J., 2000. Characterization of thermosensitive chitosan gels for the sustained delivery of drugs. *Int. J. Pharm.* 203, 89–98.
- Salky, B., 1994. Laparoscopic abdominal surgery. *Gastrointest. Endosc.* 40, 267–268. doi:<http://dx.doi.org/10.1093/bjaceaccp/mkh032>.
- Shipton, E.A., 2012. New formulations of local anaesthetics—part I. *Anesthesiol. Res. Pract.* 2012, 546409. doi:<http://dx.doi.org/10.1155/2012/546409>.
- Sinica, D.P., Kumar, M.V., Aravindram, A.S., Rohitash, K., Gowda, D.V., Parjanya, K., 2012. Pelagia research library formulation and evaluation of in-situ gel of bromhexine hydrochloride for nasal delivery. *Der Pharm. Sin.* 3, 699–707.
- Sorensen's phosphate buffer (0.133 M, pH 7.2), 2010. *Cold Spring Harb. Protoc.* 2010, pdb.rec12327–pdb.rec12327. 10.1101/pdb.rec12327.
- Taheri, A., Atyabi, F., Dinarvand, R., 2011. Temperature-responsive and biodegradable PVA/PVP k30:poloxamer 407 hydrogel for controlled delivery of human growth hormone (hGH). *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* 24, 175–179.
- The United States Pharmacopeial Convention, 2015. *General Chapters, USP 38—NF33*. Rockville, MD 20852, pp. 5625–5630.
- Tornblom-Paulander, S., Tingåker, B.K., Werner, A., Liliereutz, C., Conner, P., Wessel, H., Ekman-Ordeberg, G., 2015. Novel topical formulation of lidocaine provides significant pain relief for intrauterine device insertion: pharmacokinetic evaluation and randomized placebo-controlled trial. *Fertil. Steril.* 103, 422–427. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.10.026>.
- Ventham, N.T., Hughes, M., O'Neill, S., Johns, N., Brady, R.R., Wigmore, S.J., 2013. Systematic review and meta-analysis of continuous local anaesthetic wound infiltration versus epidural analgesia for postoperative pain following abdominal surgery. *Br. J. Surg.* 100, 1280–1289. doi:<http://dx.doi.org/10.1002/bjs.9204>.
- Veyries, M.L., Couarraze, G., Geiger, S., Agnely, F., Massias, L., Kunzli, B., Faurisson, F., Rouveix, B., 1999. Controlled release of vancomycin from poloxamer 407 gels. *Int. J. Pharm.* 192, 183–193.
- Vitello, D.J., Ripper, R.M., Fettiplace, M.R., Weinberg, G.L., Vitello, J.M., 2015. Blood density is nearly equal to water density: a validation study of the gravimetric method of measuring intraoperative blood loss. *J. Vet. Med.* 7–9.
- Wang, W., 2015. Tolerability of hypertonic injectables. *Int. J. Pharm.* 490, 308–315. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.05.069>.
- Wu, C.-C., Bai, C.-H., Huang, M.-T., Wu, C.-H., Tam, K.-W., 2014. Local anesthetic infusion pump for pain management following open inguinal hernia repair: a meta-analysis. *Int. J. Surg.* 12, 245–250. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijsu.2014.01.006>.
- Xuan, J.J., Balakrishnan, P., Oh, D.H., Yeo, W.H., Park, S.M., Yong, C.S., Choi, H.G., 2010. Rheological characterization and in vivo evaluation of thermosensitive poloxamer-based hydrogel for intramuscular injection of piroxicam. *Int. J. Pharm.* 395, 317–323. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.05.042>.
- Yuan, Y., Cui, Y., Zhang, L., Zhu, H.P., Guo, Y.S., Zhong, B., Hu, X., Zhang, L., Wang, X.H., Chen, L., 2012. Thermosensitive and mucoadhesive in situ gel based on poloxamer as new carrier for rectal administration of nimesulide. *Int. J. Pharm.* 430, 114–119. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.03.054>.

4.2. *ARTÍCULO 2*

**Osmolality predictive models of different polymers as tools in parenteral and ophthalmic formulation development.**

Arbelaez-Camargo, D., Roig-Carreras, M., García-Montoya, E., Pérez-Lozano, P.,  
Miñarro-Carmona, M., Tico-Grau, J.R., Suñé-Negre, J.M.

International Journal of Pharmaceutics, 2018; 543: 190 – 200

**Impact Factor 2018: 4,213 (Q1)**



**Fundamento y objetivo:** Durante el desarrollo de formas farmacéuticas de administración parenteral, es necesario realizar diferentes estudios fisicoquímicos para asegurar su seguridad. La osmolalidad de este tipo de formulaciones debe ser cercana a la fisiológica para prevenir la irritación local, el dolor y efectos secundarios más significativos como el daño endotelial. Los polímeros usados como agentes de gelificación y como agentes bioadhesivos, presentan un peso molecular bastante elevado y al realizar la determinación teórica de la osmolalidad basándose en éste como único factor determinante, discrepa de los valores obtenidos de forma experimental mediante la medición de propiedades coligativas como la depresión del punto de congelación. Se realizó un estudio con el objetivo de obtener ecuaciones predictivas de la osmolalidad para formulaciones parenterales con los diferentes polímeros estudiados y que sirvan como herramienta en la formulación galénica de las mismas.

**Material y método:** Se prepararon soluciones acuosas a distintas concentraciones (% peso/peso) de diferentes polímeros (Poloxamer 407, Polietilenglicol 400, Polietilenglicol 4000, Hialuronato sódico, Condroitín sulfato sodio, Aceite de castor hidrogenado polioxietilenado-40 y Polivinilalcohol) y posteriormente se midió la osmolalidad justo después de su preparación (tiempo cero) y después de 15 y 30 días de almacenamiento, con un Micro-Osmómetro Advanced Model 3320. Se realizó el análisis estadístico de los valores de osmolalidad obtenidos experimentalmente para cada polímero y se obtuvo ecuaciones predictivas de la osmolalidad en solución acuosa en los márgenes de concentración estudiado.

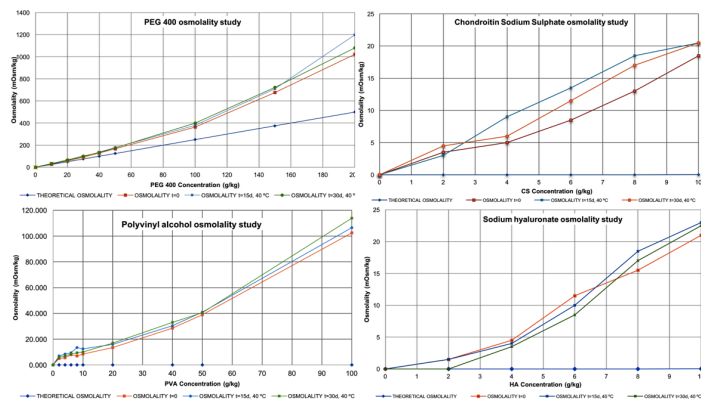
**Resultados:** La diferencia observada entre la osmolalidad teórica y la obtenida experimentalmente mediante la determinación de la depresión del punto de congelación puede conducir a la selección de un polímero inadecuado o su concentración. Esto puede causar errores en los procesos de formulación, pérdida de tiempo y de recursos. Se obtienen ecuaciones donde la osmolalidad depende la concentración y/o el tiempo de almacenamiento en términos de segundo o mayor orden., indicando así, que la osmolalidad depende no solo del peso molecular de

los polímeros si no también se debe tener en cuenta las interacciones entre solutos, el grado de polimerización, la interacción entre las cadenas y el número de partículas activas en solución (moléculas o iones).

**Conclusiones:** El análisis estadístico de los datos proporcionó una comprensión del comportamiento de la osmolalidad de los diferentes polímeros estudiados en solución acuosa y su evolución, durante un período de tiempo en el peor caso hipotético de temperatura de almacenamiento. Las ecuaciones obtenidas facilitarían información de seguridad en términos de osmolalidad durante la etapa inicial del desarrollo galénico.

**Palabras clave:** Osmolality, Fitting model equations, Parenteral pharmaceutical development, Polyethylene glycol 400, Polyethylene glycol, 4000 Poloxamer 407, Sodium Hyaluronate, Chondroitin Sulphate Sodium, Cremophor polyvinyl alcohol.

**Graphical Abstract:**



Osmolality predictive models of different Polymers as tools in parenteral and ophthalmic formulation development



Contents lists available at ScienceDirect

## International Journal of Pharmaceutics

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/ijpharm](http://www.elsevier.com/locate/ijpharm)

## Osmolality predictive models of different polymers as tools in parenteral and ophthalmic formulation development



Diana Arbelaez-Camargo<sup>a</sup>, Manel Roig-Carreras<sup>a</sup>, Encarna García-Montoya<sup>a,b,\*</sup>,  
Pilar Pérez-Lozano<sup>a,b</sup>, Montserrat Miñarro-Carmona<sup>a,b</sup>, Josep Ramon Ticó-Grau<sup>a,b</sup>,  
Josep Maria Suñé-Negre<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Pharmacy and Pharmaceutical Technology Department, Faculty of Pharmacy, University of Barcelona, Joan XXIII 27-32, CP 08028 Barcelona, Spain

<sup>b</sup> Pharmacotherapy, Pharmacogenetics and Pharmaceutical Technology Research Group, IDIBELL-UB, Duran i Reynals Hospital, 3a level, Gran Via de l'Hospitalet 199, CP 08908 Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain

## ARTICLE INFO

## Keywords:

Osmolality  
Fitting model equations  
Parenteral pharmaceutical development  
Polyethylene glycol 400  
Polyethylene glycol 4000  
Poloxamer 407  
Sodium Hyaluronate  
Chondroitin Sulphate Sodium  
Cremophor polyvinyl alcohol

## ABSTRACT

During the development of parenteral dosage forms, different physicochemical studies are required to ensure stable, effective and safe formulations. The osmolality of this kind of dosage forms should bear a close similarity to the body fluids to prevent local irritation, pain or even more significant side effects like endothelial damage. The osmotic studies performed in Polyethylene glycol 400 (PEG 400), Polyethylene glycol 4000 (PEG 4000), Poloxamer 407 (P407), Sodium Hyaluronate (SH), Chondroitin Sulphate Sodium (CS), Cremophor RH 40 (CRE40) and Polyvinyl alcohol (PVA) aqueous solutions, showed that the theoretical determination of the osmolality based on their molecular weight as the only determinant factor did not agree with the values obtained by the measurement of colligative properties such as the freezing point depression. The data obtained from this study and its analysis, provided predictive equations that can be used as tools in the primary development to estimate formulation's osmolality at different concentrations; and its evolution over a period at the hypothetical worst-case scenario of storage temperature.

## 1. Introduction

In parenteral preparations, attention should be given to osmolality to prevent local irritation, pain or endothelial damage. Polymers and surfactants are widely used in this kind of preparations (Mathew et al., 2017; Nguyen et al., 2015; Sivashanmugam et al., 2015; Thambi et al., 2017) to obtain desired pharmacokinetic characteristics such as prolonged release profiles; or to improve drugs solubility and bioavailability, considering the low aqueous solubility of most active pharmaceutical ingredients.

Osmolality (Osm) is a measure of the osmotic pressure exerted by a real solution across a semipermeable membrane. Like osmotic pressure, other colligative properties of a solution, such as vapour pressure lowering, boiling point elevation, and freezing point depression, are also directly related to the osmolality of the solution (The United States Pharmacopeial Convention, 2017). When the osmotic pressure of a solution is measured by passing it through a cell membrane and then compared to the blood plasma, we are referring to tonicity (Remington, 2013; Wang, 2015). The freezing point depression in comparison to pure water is a direct measure of the osmotic concentration, this

method is commonly used in pharmaceutical development as a fast, easy and accepted method to determine the osmolality of ophthalmic and parenteral formulations.

Generally, parenteral, ophthalmic, otic and nasal preparations are preferably isotonic (290 mOsm/kg) or moderately hypertonic (500 mOsm/kg) (Nony et al., 2001). Hyperosmolality leads to a loss of water from the cells which causes cell shrinkage and an increase in cellular viscosity (Reinhart et al., 2015).

Among the wide range of polymers used in the preparation of different drugs, Polyethylene glycols (PEGs) with a general formula of  $\text{HOCH}_2(\text{CH}_2\text{OCH}_2)_m\text{CH}_2\text{OH}$ , are water soluble inert polymers essentially non-irritant to the skin. They are classified according to their structural formula and molecular weight. Within the typical polyethylene glycols with pharmaceutical significance, the polyethylene glycol 400 (PEG 400) is used in parenteral preparations as a solubilising agent and polyethylene glycol 4000 (PEG 4000) is used in bowel preparation before colonoscopy, radiological procedures, or surgery (Martindale, 2016a; Paul J Sheskey, 2016a). Hydrogenated Castor Oil derivatives, best known as Cremophor, are a series of materials obtained by reacting varying amounts of ethylene oxide with either castor

\* Corresponding author.

E-mail addresses: [diancraayolina@gmail.com](mailto:diancraayolina@gmail.com) (D. Arbelaez-Camargo), [encarnagarcia@ub.edu](mailto:encarnagarcia@ub.edu) (E. García-Montoya).

<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.03.052>

Received 14 November 2017; Received in revised form 23 March 2018; Accepted 27 March 2018

Available online 28 March 2018

0378-5173/© 2018 Elsevier B.V. All rights reserved.



oil or hydrogenated castor oil. Cremophor RH 40 (Cre40) is a non-ionic solubilizer and emulsifying agent made by reacting one mole of hydrogenated castor oil with 40 mol of ethylene oxide, with a molecular weight of 2500 g/mol (BASF SE Care Chemicals Division Pharma Ingredients Services, 2008; Information, 2010). It is used as a solvent in vehicles for oral and topical solutions (Paul J Sheskey, 2016b). Another well-known non-ionic triblock copolymer is the Poloxamer 407 (P407), with a molecular weight of 12,500 g/mol and formed by two hydrophilic blocks and one hydrophobic block covalently bonded, is primarily used as surfactant in pharmaceutical formulations as emulsifying or solubilizing agent (Paul J Sheskey, 2015a). It is of great interest, that its micellar rearrangement in solution produces changes in viscosity when changing its temperature (Viegas and Henry, 1998), making them ideal to confer thermoreversible properties to formulations and develop novel controlled release formulations (Arbelaez-Camargo et al., 2016). Hyaluronic acid (HA), a high-molecular-weight polymer of 10,000,000–100,000,000 Da, is formed by d-glucuronic acid and N-acetyl-d-glucosamine disaccharide units (Sodium Hyaluronate: Pharmaceutical Excipients, n.d). This used in ophthalmic and parenteral formulations because of its bioadhesive, therapeutic and biodegradation properties (Martindale, 2016b). Among the bio-polymers with bioadhesive properties, the Chondroitin sulphate (CS) is a glycosaminoglycans and disaccharide polymer composed of equimolar amounts of d-glucuronic acid, d-acetylgalactosamine and sulphates in 10–30 disaccharide units (Mason, 2016). With a molecular weight of 463.36854 g/mol and an important therapeutic effect in joint cartilage and connective tissue, it is used in different formulations not just because of its therapeutic effect, but also, as a bioadhesive in ophthalmic and parenteral formulations. Polyvinyl alcohol is a non-ionic surfactant obtained by polymerisation of vinyl acetate followed by partial or almost complete hydrolysis of polyvinyl acetate. Different grades are available and they differ in their degree of polymerisation and their degree of hydrolysis, which determine the physical properties of the different grades. The mean relative molecular mass lies between 20,000 and 150,000 (Martindale, 2016c). It is commonly used to increase the viscosity of ophthalmic preparations thus prolonging contact of active ingredient with the eye, in sustained-release formulations for oral administration and transdermal patches (Paul J Sheskey, 2016c).

With the aim of predicting the osmolality of ophthalmic and parenteral formulations that contain the polymers cited above, we studied the osmolality of the different polymers at different concentrations and, over a period, we studied the hypothetical worst-case temperature scenario (40 °C) of storage.

## 2. Material and methods

### 2.1. Materials

Polyglykol 400 (Polyethylene glycol 400 – PubChem CID: 174) manufactured by Clariant (Sulzbach) Germany, batch DEG4005530. Polyethylene glycol 4000 (PEG 4000 – PubChem CID: 174) manufactured by Panreac AppliChem (Darmstadt) in Germany, batch A 545,663 and batch B 708221. Kolliphor® P 407 (Poloxamer 407 – PubChem CID: 24751) manufactured by Sigma-Aldrich (St. Louis) in USA, batch A: BCBN0739V, batch B: BCBQ1330V, percentage polyoxyethylene of 71.5–74.9%. Sodium Hyaluronate (PumChem CID: 53447380) distributed by Fagron Iberica S.A.U in Spain, batch L15070231 – OF – 06185. Chondroitin Sulphate Sodium (PubChem CID: 24766) donated by SDM (Barcelona) Spain. Cremophor RH 40 distributed by Fagron Iberica S.A.U in Spain, batch L15080090 – OF – 206712. Polyvinyl alcohol (Polyvinyl alcohol – PubChem CID: 11199) manufactured by Panreac AppliChem (Castellar del Vallès, Barcelona) Spain, batch SP013900.

### 2.2. Methods

Aqueous solutions ranging from 0.2% to 20% (weight/weight) depending on the polymer, were prepared by mass on a Sartorius ENTRIS224-1S analytical balance (Sartorius AG, Goettingen, Germany). All the mixtures were put under agitation with a magnetic stirrer until complete dissolution. All solutions were prepared using reverse osmosis purified water.

The osmolality of all solutions was measured just after their preparation (time zero) and after 15 and 30 days of storage with an Advanced Model 3320 Micro-Osmometer (Advanced Instruments, Inc., Norwood, MA).

The device directly reports osmolality from the determination of the concentration of solutions by means of freezing-point measurements.

A high-precision thermister senses the sample temperature, controls the degree of supercooling and freezes induction, measuring the freezing point of the sample.

The sample is supercooled several degrees below its freezing point where it is in an unstable state, then, by mechanical agitation it's partially crystallized forming an ice water mixture. Immediately a liquid/solid equilibrium is maintained when the liberated heat of fusion causes a rise in the temperature of the sample toward the plateau temperature. The osmometer measures this plateau temperature and calculates the concentration in mOsm/kg of water (Advanced Instruments, 2015).

Storage conditions were control by using a Memmert climatic chamber (Memmert GmbH + Co. KG, Schwabach, German), with a control temperature of  $40 \pm 3$  °C.

For the statistical analysis, STATGRAPHICS Plus for Windows 5.1. Professional Edition 1994–2000 from Statpoint Technologies, Inc., 560 Broadview Ave, Suite 201, Warrenton, VA 20,186 was used. Multifactor analysis of variance, linearization (when needed) and multiple linear regression were performed for all samples to determine the best predictive equation.

## 3. Results and discussion

The need for experimental determination of osmolality has been established and usually determined, by measuring the freezing point depression (Remington and Beringer, 2006). Theoretically, osmolality can be calculated from the value of any colligative property of the solution (The United States Pharmacopeial Convention, 2017), but there are not always known and their determination is not regularly affordable in the pharmaceutical development field.

The dissolution of a solute in a pure solvent induces changes in a direct proportion to the solute concentration in the solution's colligative property (Advanced Instruments, 2015)

- the freezing point is depressed,
- boiling point is raised,
- osmotic pressure is increased, and
- vapor pressure is lowered.

Determining the concentration of a nonvolatile solute in an aqueous solution can be easy and precise by measuring its freezing point depression.

The change in the freezing point of a pure solvent when a solute is dissolved is directly proportional to the molar concentration of the solute and can be determined using the following equation:

$$\text{Freezing point depression} \\ \Delta T = K_f \cdot m \quad (1.1)$$

Where  $\Delta T$  is the temperature change from the pure solvent's freezing point to the freezing point of the solution,  $K_f$  is the freezing point depression constant (for water is 1.86 kg °C/mol) and  $m$  is the molal concentration of the nonvolatile solute (Chang, 2007).

Freezing point measurement cannot tell us what the nature of the

particles is (size, shape or conformation); as it only depends on the number of particles in solution.

For practical purposes, osmolality (a theoretical quantity) expressed in osmoles per L of a solution is widely used (The United States Pharmacopeial Convention, 2017) and calculated from the w/v concentration using the Eq. (1.2) (Remington and Beringer, 2006).

*Theoretical osmolality*

$$\text{Osmolality} \left( \frac{\text{mOsm}}{\text{L}} \right) = \text{Concentration} \left( \frac{\text{g}}{\text{L}} \right) \times \frac{1}{\text{Molecular weight} \left( \frac{\text{mol}}{\text{g}} \right)} \times \text{number osmol/mol} \times \frac{1000 \text{ mOsm}}{\text{Osm}} \quad (1.2)$$

The number of osmol/mol is equal to 1 for nonelectrolytes and is equal to the number of ions per molecule for strong electrolytes. This calculation assumed an ideal solution and omits factors such as solvation and interionic forces.

To compute osmolality from values of theoretical osmolality (obtained from Eq. (1.2)), a density of 0.997 g/ml was used (Thiesen et al., 1900).

When the osmolality of aqueous solutions of different polymers was determined theoretically, the values obtained were different from those obtained by the measurement of the freezing point depression. In pre-formulation, this can lead to the selection of an unsuitable polymer or its concentration and cause errors in the formulation processes lost in time and resources.

These differences were expected as the osmolalities of single-solute solutions are represented in the Osmotic Virial Equation (OVE) as polynomials in concentration, where each solute has coefficients for terms of second or higher order in concentration (Elliott et al., 2007; Prickett et al., 2011), also, interactions between solutes must be taken into account.

Osmolality of polymers, depend more on the degree of polymerization and the interaction between the chains, than the number of active particles in solution (molecules or ions) (Cloizeaux, 1975; Zavitsas, 2001).

### 3.1. Polyethylene glycol 400 (PEG400)

PEG 400 is widely used in different pharmaceutical formulations, in parenteral, topical, ophthalmic, oral, and rectal preparations (Martindale, 2016a). As far as ophthalmic and parenteral preparations are concerned, the addition of PEG 400 caused an increase in/mol the osmolality, due to its action as a hyperosmolar agent.

A multifactor analysis of variance for the osmolality of different aqueous PEG 400 solutions was performed to determine if the concentration, batch and/or the time have a statistically significant effect on the osmolality.

Due to its intrinsic properties and as seen in Graphic 1, the theoretical osmolality is exhibits quite a difference from the experimental osmolality, especially at high concentrations. This effect, observed by other authors (Money, 1989), can be explained by a possible change in the PEG's molecule configuration in response to the change in the concentration; going from extended to folded configuration when increasing the concentration. This folded configuration exposed oxygens that bind with the hydrogens of the water, depressing the thermodynamic activity of water and increasing the osmolality.

In a multifactor analysis of the variance for the PEG's 400 osmolality, the p-value for concentration, time and the interaction between these two factors (AB) were less than 0.05, indicating that there is a statistically significant effect on the PEG's 400 osmolality at the 95% confidence level for all three factors.

Graphic 1 shows a strong relation between the osmolality and the PEG 400 concentration and time of storage at 40 °C.

To linearized the data obtained, a square root for PEG's 400 osmolality was applied due to the quadratic relation showed in the results

obtained from the variance analysis with polynomic contrast (F-value 152, p-value < 0.01) and explained in Graphic 2A.

To simplify the model, a multiple linear regression using the backward selection method was applied to remove from the equation the factor(s) with the highest p-value and no significance: as a result, the time of storage was removed. As seen in Graphic 2, the simplified equation fitted the model and explains 96.9% of the variability in the square root of the osmolality.

*Predicted osmolality of PEG 400 solutions*

$$\sqrt{\text{Osmolality} \left( \frac{\text{mOsm}}{\text{kg}} \right)} = 4.14 + (0.15 * \text{PEG400} \left( \frac{\text{g}}{\text{kg}} \right)) \quad (2)$$

Eq. (2) can be used as a tool for predicting the osmolality for PEG 400's aqueous solutions in the range of the studied concentrations and storage conditions.

### 3.2. Polyethylene glycol 4000 (PEG4000)

Like other polyols, PEG 4000 caused an increase in the osmolality, as it acts as a hyperosmolar agent.

Graphic 3 shows the behaviour of the osmolality for the two different batches, A and B, at different concentrations and time of storage at 40 °C.

The multifactor analysis of the variance for the PEG's 4000 osmolality indicated that all three factors and the interaction between them had statistically significant effect on the osmolality (p-value < 0.05). On the other hand, the polynomic contrast (F-value 1896 p-value < 0.01) indicated a quadratic increasing tendency of the osmolality in behalf of the concentration.

The backward selection method excluded the batch variable. Graphic 4 shows the representation of the fitted model which explains 99.2% of the variability in the square root of osmolality.

The equation of the fitted model is Eq. (3) Predicted osmolality of PEG 4000 solutions

$$\sqrt{\text{Osmolality} \left( \frac{\text{mOsm}}{\text{kg}} \right)} = -0.5 + \left( 0.12 * \text{PEG4000} \left( \frac{\text{g}}{\text{kg}} \right) \right) + (0.02 * \text{time}(\text{days})) \quad (3)$$

Eq. (3) can be used as a tool for predicting the osmolality for PEG 4000's aqueous solutions in the range of the studied concentrations and storage conditions.

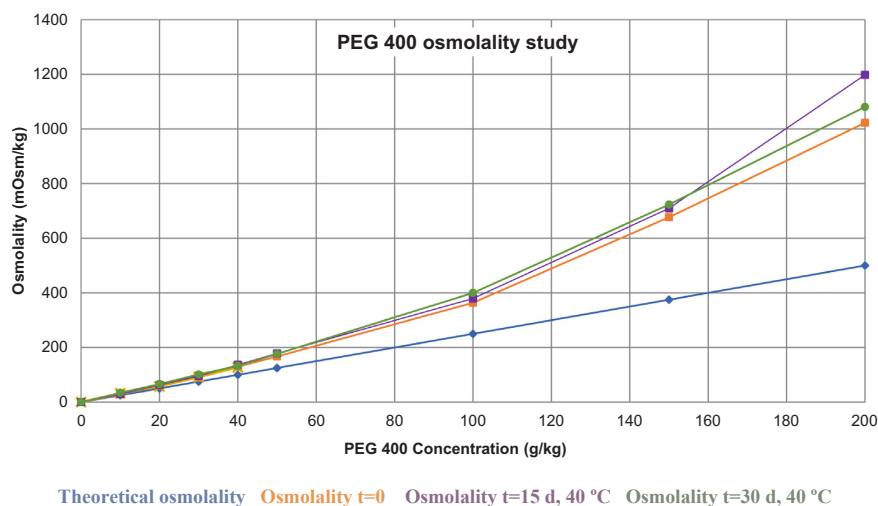
### 3.3. Poloxamer 407

Poloxamers are synthetic block copolymers of ethylene oxide and propylene oxide, widely used in cosmetics and pharmaceuticals (Arbelaez-Camargo et al., 2016). They are used as emulsifying agents for intravenous fat emulsions, as solubilising agents to maintain clarity in elixirs and syrups, and as wetting agents for antibacterials (Paul J Sheskey, 2015a).

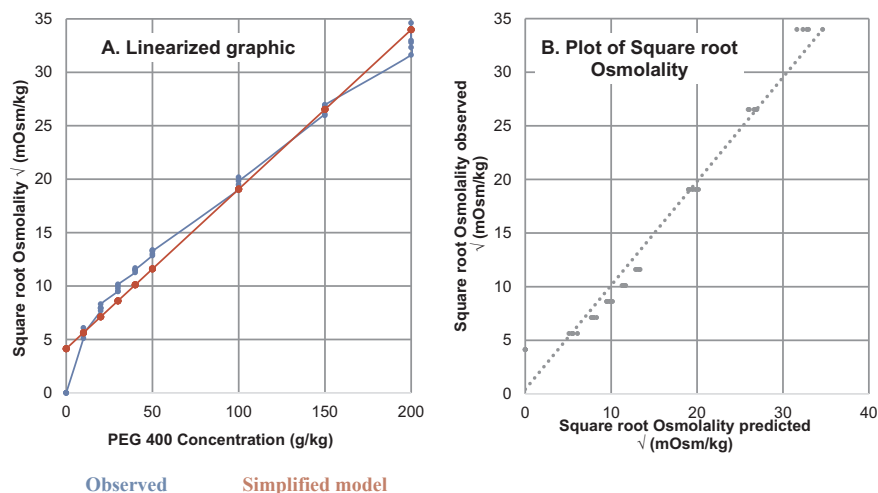
Like other poloxamers, Poloxamer 407's (P407) osmolality was expected to be insignificant in aqueous solutions because of its high molecular weight (12,200 g/moles), but this was not the case. As observed by other authors, the osmolality was described by polynomial equations (Viegas and Henry, 1998).

The multifactor analysis of the variance for the P407 osmolality indicated that all three factors studied and the interaction between them had statistically significant effect on the osmolality (p-value < 0.05). As shown in Graphic 5, a quadratic increasing tendency of the osmolality was indicated by polynomic contrast (F-value 203 p-value < 0.01).

Graphic 5 shows that as the concentration of P407 increases, the osmolality increases in a non-linear way. At low concentration where the gel is not form, the curve is linear; when increasing the



**Graphic 1.** Experimental osmolalities of differently concentrated aqueous solutions of PEG 400's after their preparation (time zero) and after 15 and 30 days of storage. Theoretical osmolalities of differently concentrated aqueous solutions of PEG 400, estimated using Eq. (1.2).



**Graphic 2.** (A) PEG 400's osmolality square root for linearization to describe the original nonlinear model and the fitted model. (B) Observed vs Predicted Scatter Plot.

concentration, solvent-polymer interactions and intermolecular associations become stronger causing a loss of linearity (Viegas and Henry, 1998). The so that is bound to the polymer should be considered part of the solute and not part of the dissolving solvent. Water molecules bound to the solute more strongly than to other water molecules, making easier the elimination of water in the freezing point depression (Zavitsas, 2001). As the temperature increased, the same behaviour occurred and as a result, the osmolality increased when stored at 40 °C for 15 and 30 days, but in a lesser measure (Eq. (4)).

Graphic 6 shows the representation of the fitted model that explains the 94% of the variability in the square root of osmolality in the studied conditions, taking into account that the backward selection method excluded the batch variable.

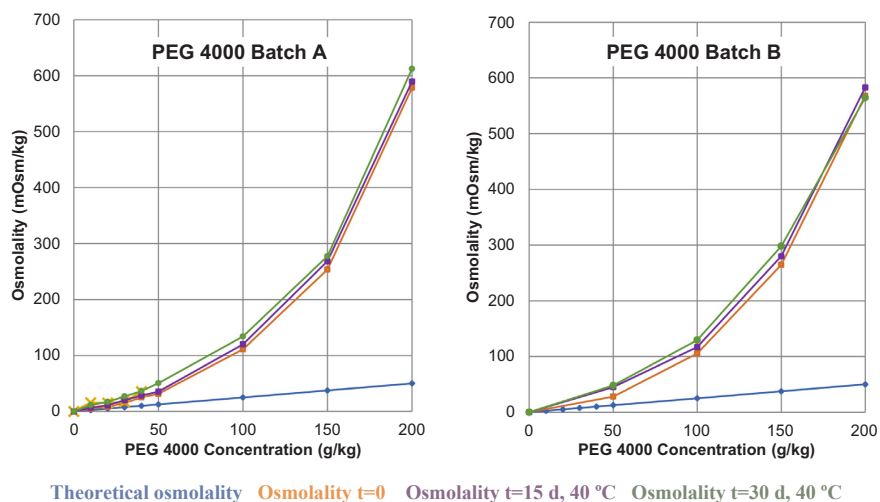
The equation of the fitted model represented in Graphic 6A, Predicted osmolality of P407 solutions

$$\sqrt[2]{\text{Osmolality} \left( \frac{\text{mOsm}}{\text{kg}} \right)} = -0.8 + \left( 0.11 * P407 \left( \frac{\text{g}}{\text{kg}} \right) \right) + (0.03 * \text{time}(\text{days})) \tag{4}$$

Eq. (4) can be used as a tool for predicting the osmolality of P407's aqueous solutions in the range of the studied concentrations and storage conditions.

### 3.4. Sodium Hyaluronate (SH)

Hyaluronic acid is a natural polymer commonly distributed in the body. It is part of different body tissues and intracellular fluids as the vitreous humour and synovial fluid (Martindale, 2016b). Sodium hyaluronate (SH) is the predominant form of hyaluronic acid at physiological pH and is the most common form used in cosmetics, parenteral, and ophthalmic pharmaceutical formulations (Paul J Sheskey, 2015b). Since SH is widely used as an excipient in different pharmaceutical forms and as active principle for intra-articular treatment in knee



**Graphic 3.** Experimental osmolalities of differently concentrated aqueous solutions of PEG 4000's and two different product batches, just after their preparation (time zero) and after 15 and 30 days of storage. Theoretical osmolalities of differently concentrated aqueous solutions of PEG 4000's, estimated using Eq. (1.2).

osteoarthritis (Altman et al., 2015; Duarte et al., 2012; Hoare and Kohane, 2008; Ito et al., 2007; Mayol et al., 2008), knowledge of its behaviour in terms of physicochemical properties, such as the osmolality, is of great interest to predict its behaviour in the pharmaceutical development. With an average molecular weight of 12,220 g/moles and the formation of large size aggregates in solution, it was expected to have a negligible osmotic effect. Graphic 7 shows the behaviour of SH aqueous solutions at different concentrations and times of storage at 40 °C. As shown, the osmolality determined experimentally differed from the theoretical value.

The study of the variability of the osmolality of the SH aqueous solutions due to the concentration and time of storage at 40 °C was statistically analyzed. At a confidence level of 95%, it can be stated that only the concentration has a statistically significant effect in the osmolality (p-value < 0.05) on the studied conditions.

The SH properties are the results of the properties of a population of molecules with a wide chain length, as is established to be polydispersed. In solution, it behaves as a stiffened random coil that occupies a large hydrated volume and consequently has solute–solute

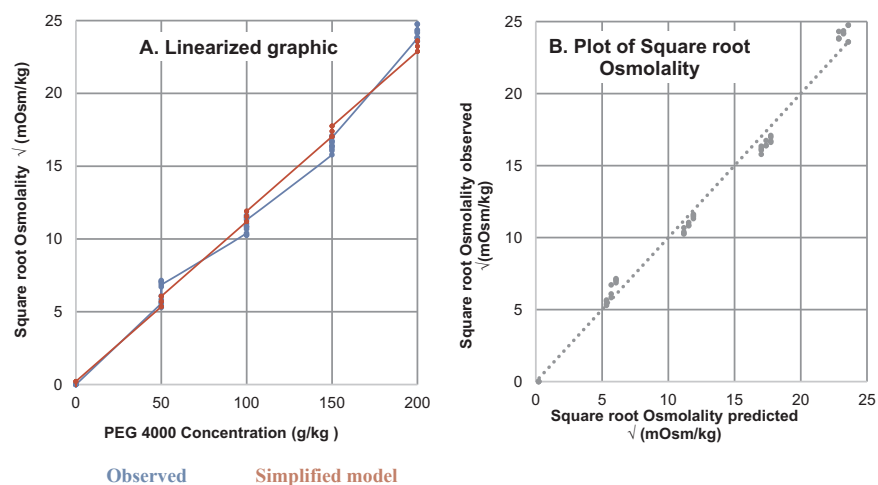
interactions at an unusually low concentration (Hardingham, 2004). The osmolality corresponds to the concentration of osmotically active molecules, capable of exerting osmotic pressure. SH, a biopolymer with multiple roles in almost all biological tissues, has a high osmotic pressure that reinforces various physicochemical properties necessary to maintain the hydration and lubrication of tissues. One of the factors contributing to the high observed osmolalities, is the polyelectrolytic character of the molecule due to dissociation of the counter-ion (Horkay et al., 2009).

As shown in Graphic 8, a squared-SH concentration model described 96.3% of the relationship between the osmolality and the SH concentration. Eq. (5) explained the fitted model.

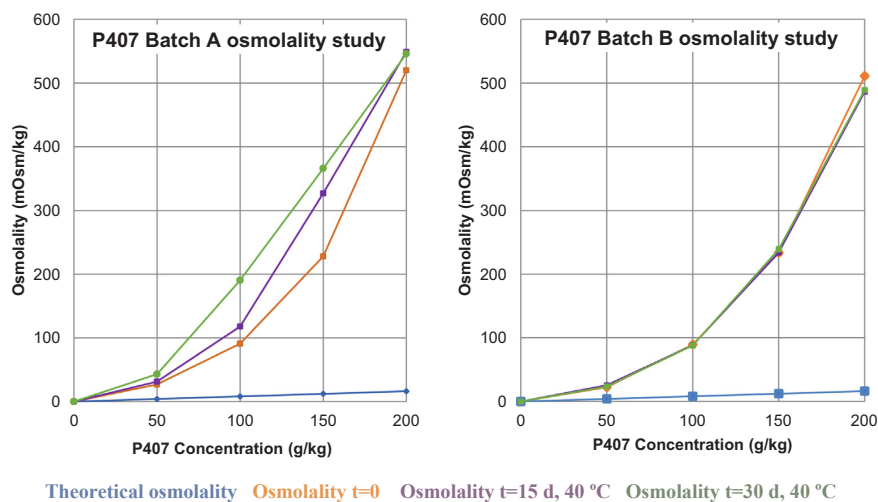
Osmolality prediction for SH solutions

$$\text{Osmolality} \left( \frac{\text{mOsm}}{\text{kg}} \right) = 0.60 + 0.23 * \text{SH} \left( \frac{\text{g}}{\text{kg}} \right)^2 \tag{5}$$

The correlation coefficient equal 0.98, indicating a relatively strong relationship between the variables.



**Graphic 4.** (A) PEG 4000's square root for osmolality linearization to describe the original nonlinear model and the fitted model. (B) Observed vs Predicted Scatter Plot.



**Graphic 5.** Experimental osmolalities of P407’s aqueous solutions at different concentrations and two different batches, just after their preparation (time zero) and after 15 and 30 days of storage. Theoretical osmolalities of differently concentrated aqueous solutions of P407’s, estimated using Eq. (1.2).

Eq. (5) can be used as a tool for predicting the osmolality for HS’s aqueous solutions in the range of the studied concentrations and storage conditions

### 3.5. Chondroitin Sulphate Sodium (CS)

Chondroitin sulphate is a natural polymer present in most cartilaginous tissues. For medical applications, the sodium salt, chondroitin sodium sulphate, is used orally and in ocular surgical procedures, among others (Martindale, 2016d).

As expected for a highly charged molecule, CS’s associated counterions generate an osmotic pressure, represented by the osmolality, that plays an important biologic effect in tissue hydration. The theoretical osmolality calculated from the Eq. (2), considers the contribution of the counter-ions in the osmolality, thus, the theoretical osmolality is far from the observed osmolality (Graphic 9). These results reinforce the theory, that even though the electrostatic contribution is of great importance, it cannot be taken into account by itself, since the non-electrostatic contributions coming from the intermolecular and solute interactions also affect the osmolality, particularly at low concentrations

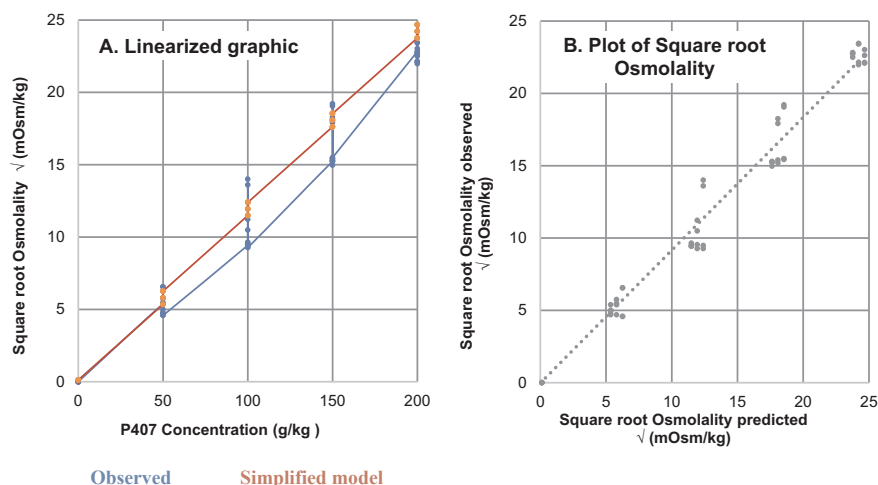
in which non-electrostatic contributions account for about 1/3 of the total osmotic pressure (Bathe et al., 2005; Ehrlich et al., 1999). It is known that at low temperatures CS is stable, but in the other hand, at high temperatures and after 500–600 h, degradation process occurs producing low-molecular-mass fragments and desulfated products (Volpi et al., 1999), that will contribute, increasing the osmolality.

The influence of the CS concentration and the time of storage at 40 °C on the osmolality was evaluated at a confidence level of 95%. The results showed that the concentration, the time of storage at 40 °C and their interaction had a statistically significant effect in the osmolality (p-value < 0.05) on the studied conditions.

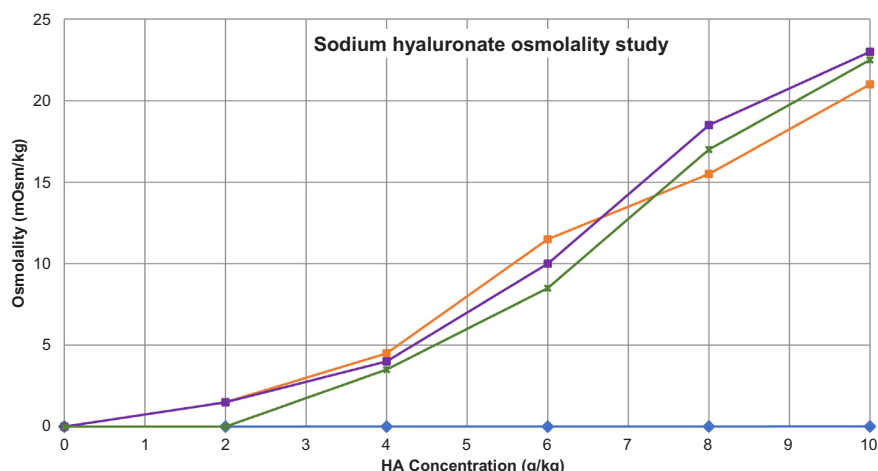
A multiple linear regression using the backward selection method was applied to simplify the model, the result excluded the time of storage, but included the interaction between it and the concentration. The hierarchical principle indicates that if a model contains the interaction between two variables it must take into account both variables, whereby, the simplified model was not used (Bishop et al., 2007).

The fitted linear regression model shown in Graphic 9, explained 94.8% of the variability in osmolality at a 95% confidence level.

Eq. (6) of the fitted model is represented in Graphic 10A.



**Graphic 6.** (A) P407’s osmolality square root for linearization to describe the original nonlinear model and the fitted model. (B) Observed vs Predicted Scatter Plot.



Theoretical osmolality Osmolality t=0 Osmolality t=15 d, 40 °C Osmolality t=30 d, 40 °C

**Graphic 7.** Experimental osmolalities of differently concentrated aqueous solutions of SH’s after their preparation (time zero) and after 15 and 30 days of storage. Theoretical osmolalities of differently concentrated aqueous solutions of SH’s, estimated using Eq. (1.2).

*Predicted osmolality of CS solutions*

$$\text{Osmolality} \left( \frac{\text{mOsm}}{\text{kg}} \right) = -0.67 + \left( 1.87 * \text{CS} \left( \frac{\text{g}}{\text{kg}} \right) \right) + (0.01 * \text{time}(\text{days})) + \left( 0.01 * \text{CS} \left( \frac{\text{g}}{\text{kg}} \right) * \text{time}(\text{days}) \right) \quad (6)$$

Eq. (6) can be used as a tool for predicting the osmolality for CS’s aqueous solutions in the range of the studied concentrations and storage conditions

**3.6. Cremophor RH 40**

The main constituent of Cremophor RH 40 (CRE 40) is glycerol polyethylene glycol hydroxy-stearate, which, together with fatty acid glycerol polyglycol esters, forms the hydrophobic part of the product. Despite its surface active properties, CRE does not cause haemolysis and

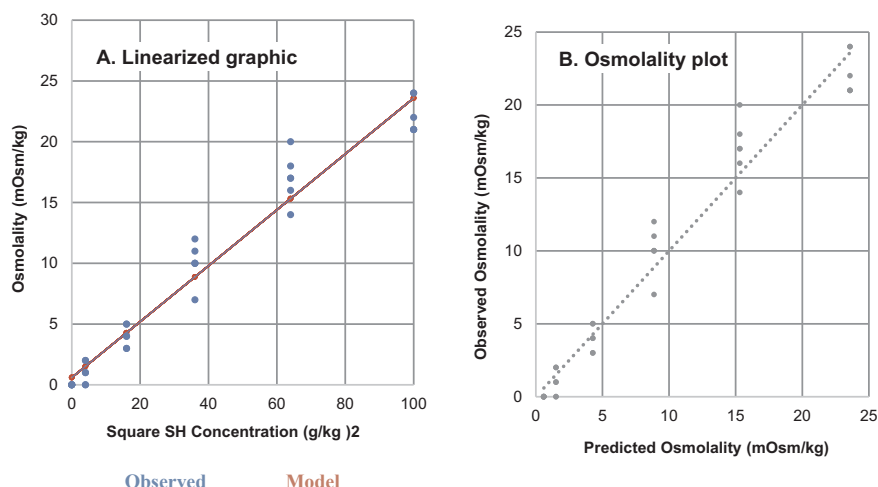
its use in pharmaceutical preparations for parenteral application (BASF SE Care Chemicals Division Pharma Ingredients Services, 2008).

Graphic 11 shows a deviation from the theoretical osmolality at concentrations higher than 100 g/kg. This effect may be due to the molecular behaviour of the CRE 40 in solution but insufficient information is available to explain the deviation observed.

The maximum CRE 40 concentration studied had an osmolality below the physiological osmolality, which may explain the fact that it does not cause hemolysis despite its surface active properties (Hork and Lais, 2002).

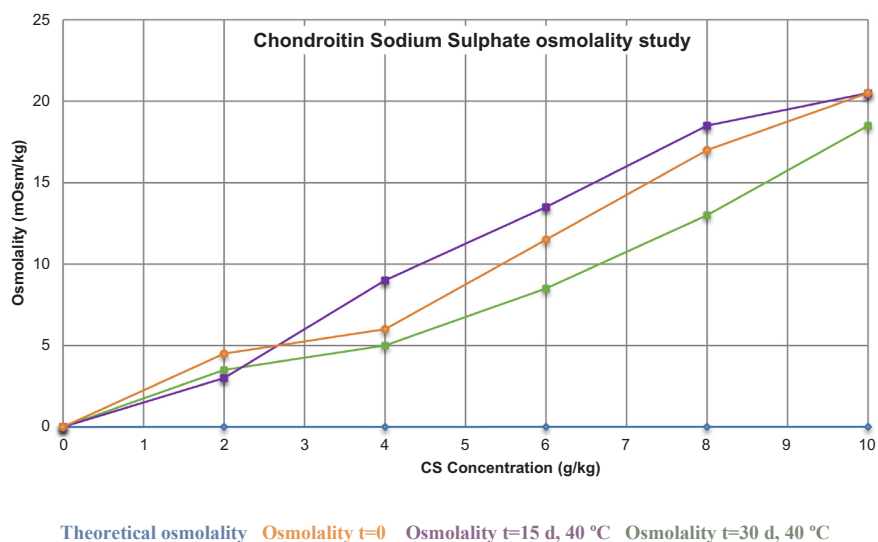
The statistical study of the osmolality of Cremophor Polyoxyl 40 Hydrogenated Castor Oil evaluated at a confidence level of 95%, showed that both, the concentration and the time of storage at 40 °C, had statistically significant effect on the osmolality (p-value < 0.05).

A multiple linear regression using the backward selection method was applied to simplify the model and excluded the storage time and the interaction between the storage time and concentration.



**Graphic 8.** (A) Squaring SH concentration for linearization to describe the original nonlinear model and the fitted model. (B) Observed vs Predicted Scatter Plot.





**Graphic 9.** Experimental osmolalities of differently concentrated aqueous solutions of CS's after their preparation (time zero) and after 15 and 30 days of storage. Theoretical osmolalities of differently concentrated aqueous solutions of CS, estimated using Eq. (1.2).

The fitted model expressed by Eq. (7) and shown in Graphic 12, explains 99.5% of the variability in the osmolality at a 95% confidence level.

Predicted osmolality of CRE 40 solutions

$$\sqrt[2]{\text{Osmolality} \left( \frac{\text{mOsm}}{\text{kg}} \right)} = 0.18 + \left( 0.07 * \text{CRE}40 \left( \frac{\text{g}}{\text{kg}} \right) \right) \quad (7)$$

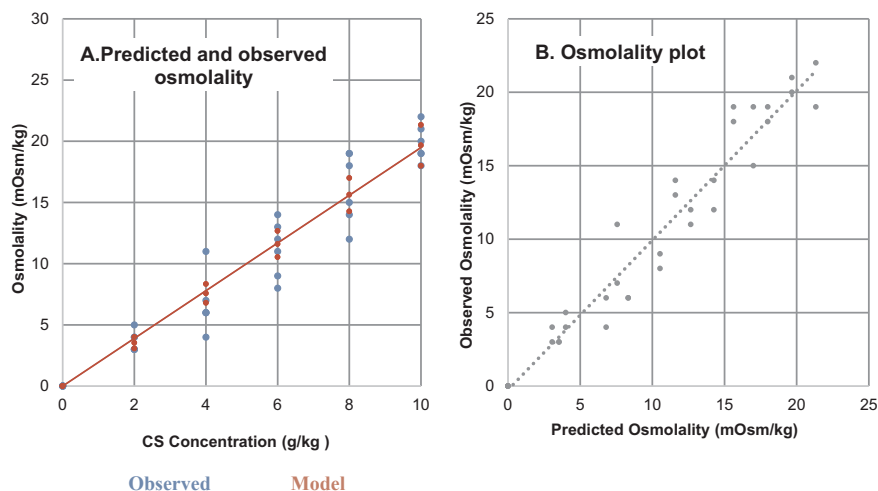
Eq. (7) can be used as a tool for predicting the osmolality for CRE 40's aqueous solutions in the range of the studied concentrations and storage conditions

### 3.7. Polyvinyl alcohol

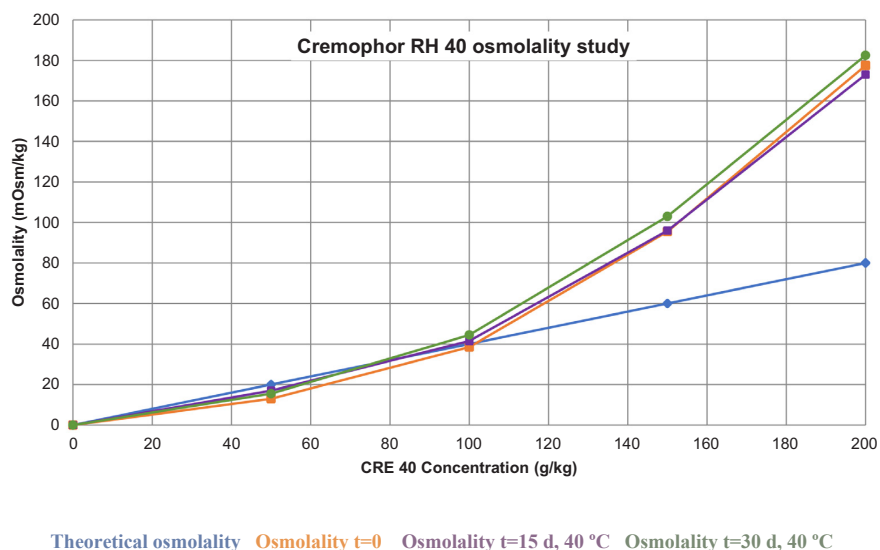
Polyvinyl alcohol (PVA) is a polar polymer widely used because of its mechanical properties, high melting temperature and biocompatibility (Tacx et al., 2000). It is used both alone and crosslinked. It is also used in the formulation of hydrogels, nanoparticles and beads.

With a molecular weight of approximately 85,000 g/mol, it is expected to have a negligible osmolality. The results obtained, as observed in the Graphic 13, showed an increase of the osmolality when increasing the concentration. A slight increase in osmolality due to time in the conditions studied was also observed.

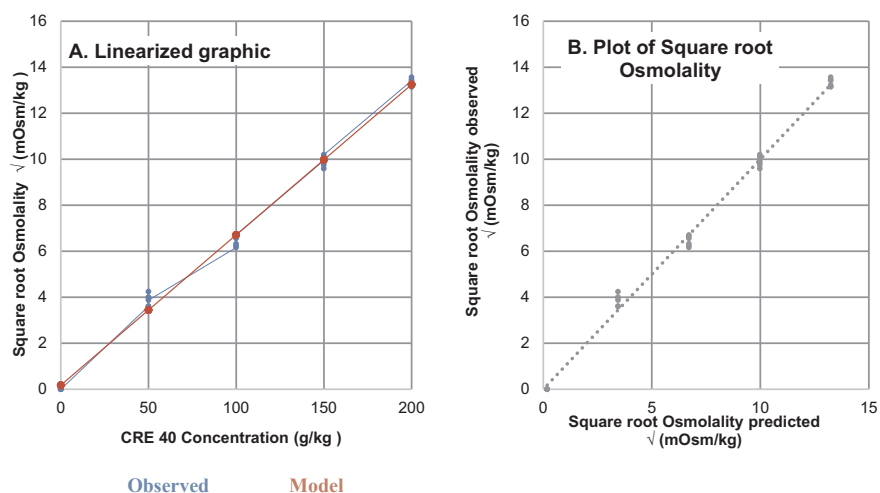
Statistical multifactor analysis of the osmolality indicated that both, the concentration and storage time at 40 °C, had a statistically significant effect on the osmolality (p-value < 0.05), but their interaction did not. This effect can be explained by the fact that PVA, in water, forms an intricate molecular network in which there is water of hydration bound to the polymer-free hydroxyl groups acting like a zipper between two polymer chains. This results in the formation of aggregates, decreasing the free water in the solution. At high temperatures there is a higher interaction between water and PVA molecules, breaking the zipper action; undoing aggregates; and facilitating the interaction of the PVA free chains with water-free molecules: decreasing free water molecules (Krzeminski and Molisak-tolwinska, 1991; Tacx et al., 2000; Vigneswari et al., 2016).



**Graphic 10.** (A) Linear regression to describe the original and the fitted model of the Osmolality vs CS's concentration plot. (B) Observed vs Predicted Scatter Plot.



**Graphic 11.** Experimental osmolalities of differently concentrated aqueous solutions of CRE 40's after their preparation (time zero) and after 15 and 30 days of storage. Theoretical osmolalities of differently concentrated aqueous solutions of CRE 40, estimated using Eq. (1.2).



**Graphic 12.** (A) CRE 40's osmolality square root for linearization to describe the original nonlinear model and the fitted model. (B) Observed vs Predicted Scatter Plot.

A multiple linear regression using the backward selection method was applied to simplify the model, the result excluded the time of storage at 40 °C and explained the 96.0% of the variability in osmolality (Graphic 14).

The equation of the fitted model is:  
*Predicted osmolality of PVA solutions*

$$\sqrt[2]{\text{Osmolality} \left( \frac{\text{mOsm}}{\text{kg}} \right)} = 2.0 + \left( 0.09 * \text{PVA} \left( \frac{\text{g}}{\text{kg}} \right) \right) \tag{8}$$

Eq. (8) can be used as a tool for predicting the osmolality for PVA's aqueous solutions in the range of the studied concentrations and storage conditions.

**4. Conclusions**

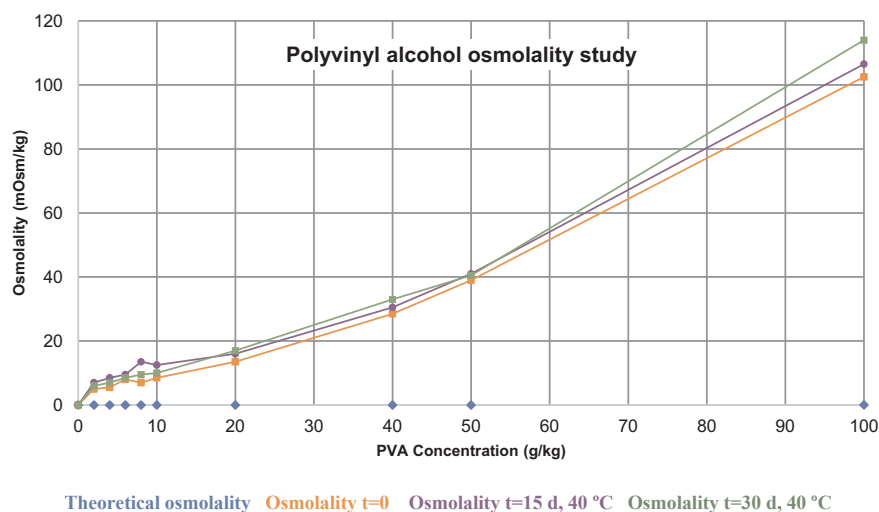
The data obtained from this study showed that the theoretical

determination of the osmolality of the different polymers; based on molecular weight as the only determinant factor, did not agree with the values obtained by measurement of colligative properties, such as the freezing point depression. The data analysis provided an understanding of the osmolality behaviour of the different studied polymers in aqueous solution and its evolution over a period at the hypothetical worst case of storage temperature. Application of this knowledge would facilitate primary galenic development of safe parenteral and ophthalmic dosage forms in terms of osmolality, by its estimation using the predictive obtained equations.

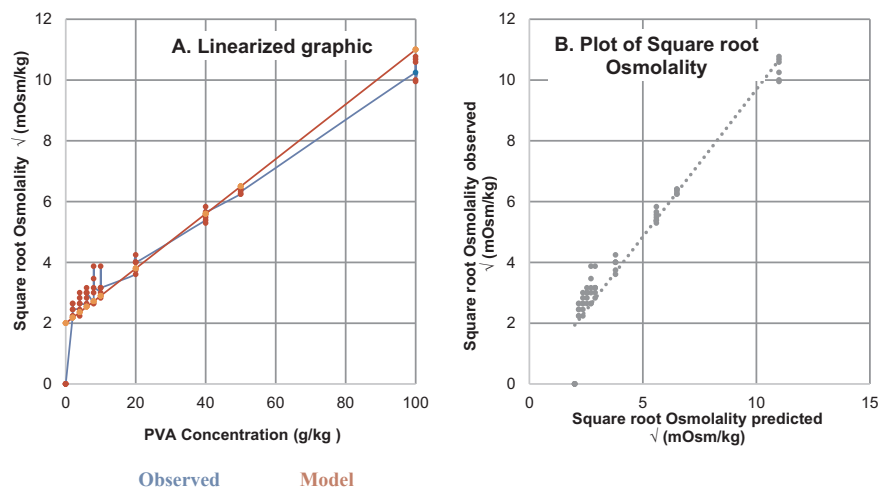
**Acknowledgement**

This research was not financially supported by any institution or foundation. The author declares that there is no conflict of interests.





**Graphic 13.** Experimental osmolalities of differently concentrated aqueous solutions of PVA's after their preparation (time zero) and after 15 and 30 days of storage. Theoretical osmolalities of differently concentrated aqueous solutions of PVA, estimated using Eq. (1.2).



**Graphic 14.** (A) PVA's osmolality square root for linearization to describe the original nonlinear model and the fitted model. (B) Observed vs Predicted Scatter Plot.

## References

- Advanced Instruments. INC, 2015. The Advanced® Micro-Osmometer Model 3320 User's Guide.
- Altman, R.D., Schemitsch, E., Bedi, A., 2015. Assessment of clinical practice guideline methodology for the treatment of knee osteoarthritis with intra-articular hyaluronic acid. *Semin. Arthritis Rheum.* 45, 132–139. <http://dx.doi.org/10.1016/j.semarthrit.2015.04.013>.
- Arbelaez-Camargo, D., Suñé-Negre, J.M., Roig-Carreras, M., García-Montoya, E., Pérez-Lozano, P., Miñarro-Carmona, M., Ticó-Grau, J.R., 2016. Preformulation and characterization of a lidocaine hydrochloride and dexamethasone sodium phosphate thermo-reversible and bioadhesive long-acting gel for intraperitoneal administration. *Int. J. Pharm.* <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.12.012>.
- BASF SE Care Chemicals Division Pharma Ingredients & Services, 2008. *Pharma Ingredients & Services* 1–12.
- Bathe, M., Rutledge, G.C., Grodzinsky, A.J., Tidor, B., 2005. Osmotic pressure of aqueous chondroitin sulfate solution: a molecular modeling investigation. *Biophys. J.* 89, 2357–2371. <http://dx.doi.org/10.1529/biophysj.105.067918>.
- Bishop, Y.M.M., Fienberg, S.E., Holland, P.W., 2007. *Discrete Multivariate Analysis Theory and Practice*. Springer, New York, NY. Doi: 10.1007/978-0-387-72806-3.
- Chang, R., 2007. *CHEMISTRY*, 9th ed. Tata McGraw-Hill Education Pvt, Ltd.
- Cloizeaux, J., 1975. *At Intermediate Concentrations*.
- Duarte, A.P., Coelho, J.F., Bordado, J.C., Cidade, M.T., Gil, M.H., 2012. Surgical adhesives: Systematic review of the main types and development forecast. *Prog. Polym. Sci.* 37, 1031–1050. <http://dx.doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2011.12.003>.
- Ehrlich, S., Wolff, N., Schneiderman, R., Maroudas, A., Parker, K.H., Winlove, C.P., 1999. The osmotic pressure of chondroitin sulphate solutions: experimental measurements and theoretical analysis. *Biotechnology* 35, 383–397. [http://dx.doi.org/10.1016/S0006-355X\(99\)80018-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0006-355X(99)80018-3).
- Elliott, J.A.W., Prickett, R.C., Elmoazzen, H.Y., Porter, K.R., McGann, L.E., 2007. A multisolute osmotic virial equation for solutions of interest in biology. *J. Phys. Chem. B*. <http://dx.doi.org/10.1021/jp0680342>.
- Hardingham, T.I.M., 2004. Chapter 1, *Chemistry and Biology of Hyaluronan*. Elsevier Ltd. Doi: 10.1016/B978-0-08-044382-9.50032-7.
- Hoare, T.R., Kohane, D.S., 2008. Hydrogels in drug delivery: progress and challenges. *Polymer (Guildf)*. 49, 1993–2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.polymer.2008.01.027>.
- Horkay, M., Lais, K., 2002. Separation and first structure elucidation of Cremophor EL-components by hyphenated capillary electrophoresis and delayed extraction-matrix assisted laser desorption/ionization-time of flight-mass spectrometry. *Electrophoresis* 23, 1053–1062. [http://dx.doi.org/10.1002/1522-2683\(200204\)23:7<1053::AID-ELPS1053>3.0.CO;2-3](http://dx.doi.org/10.1002/1522-2683(200204)23:7<1053::AID-ELPS1053>3.0.CO;2-3).
- Horkay, F., Basser, P.J., Londono, D.J., Hecht, A.-M., Geissler, E., 2009. Ions in hyaluronic acid solutions. *J. Chem. Phys.* 131, 184902. <http://dx.doi.org/10.1063/1.3262308>.
- Information, T., 2010. *Cremophor® RH Grades Personal Care Ingredients* 1–8.
- Ito, T., Yeo, Y., Hingley, C.B., Bellas, E., Benitez, C.A., Kohane, D.S., 2007. The prevention of peritoneal adhesions by in situ cross-linking hydrogels of hyaluronic acid and cellulose derivatives. *Biomaterials* 28, 975–983. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.10.021>.

- Krzeminski, J., Molisak-tolwinska, H., 1991. The structure of water-swollen poly(vinyl alcohol) and the swelling mechanism. *J. Macromol. Sci. Part A Chem.* 28, 413–429. <http://dx.doi.org/10.1080/0022339108052151>.
- Martindale, W., 2016a. Macrogols. *Martindale: The Complete Drug Reference* [WWW Document]. Martindale Complet. Drug Ref. URL [https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/martindale/current/1922-a.htm?q=polyethylene glycol&t=search&ss=text&p=1#\\_hit](https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/martindale/current/1922-a.htm?q=polyethylene%20glycol&t=search&ss=text&p=1#_hit) (accessed 1.31.16).
- Martindale, W., 2016b. Hyaluronic Acid. *Martindale: The Complete Drug Reference* [WWW Document]. Martindale Complet. Drug Ref. URL [https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/martindale/current/ms-19888-x.htm?q=%22hyaluronic acid%22&t=search&ss=text&p=1#\\_hit](https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/martindale/current/ms-19888-x.htm?q=%22hyaluronic%20acid%22&t=search&ss=text&p=1#_hit) (accessed 2.20.16).
- Martindale, W., 2016c. Polyvinyl Alcohol. *Martindale: The Complete Drug Reference* [WWW Document]. Martindale Complet. Drug Ref. URL [https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/martindale/current/468-b.htm?q=Polyvinyl Alcohol&t=search&ss=text&tot=189&p=1#\\_hit](https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/martindale/current/468-b.htm?q=Polyvinyl%20Alcohol&t=search&ss=text&tot=189&p=1#_hit) (accessed 12.17.16).
- Martindale, W., 2016d. Chondroitin Sulfate Sodium. *Martindale: The Complete Drug Reference* [WWW Document]. Martindale Complet. Drug Ref. URL [https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/martindale/current/21845-q.htm?q=chondroitin&t=search&ss=text&tot=416&p=2#\\_hit](https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/martindale/current/21845-q.htm?q=chondroitin&t=search&ss=text&tot=416&p=2#_hit) (accessed 4.14.16).
- Mason, P., 2016. Chondroitin Sulphate [WWW Document]. Diet. Suppl. URL [https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/diet/current/c23.htm?q=chondroitin sulphate&t=search&ss=text&p=1#\\_hit](https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/diet/current/c23.htm?q=chondroitin%20sulphate&t=search&ss=text&p=1#_hit) (accessed 2.20.16).
- Mathew, A.P., Uthaman, S., Cho, K.-H., Cho, C.-S., Park, I.-K., 2017. Injectable hydrogels for delivering biotherapeutic molecules. *Int. J. Biol. Macromol.* 11. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.11.113>.
- Mayol, L., Quaglia, F., Borzacchiello, A., Ambrosio, L., Rotonda, M.I.La., 2008. A novel poloxamers/hyaluronic acid in situ forming hydrogel for drug delivery: Rheological, mucoadhesive and in vitro release properties. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 70, 199–206. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejpb.2008.04.025>.
- Money, N.P., 1989. Osmotic pressure of aqueous polyethylene glycols I relationship between molecular weight and vapor pressure deficit. *Plant Physiol.* 91, 766–769.
- Nguyen, Q.V., Huynh, D.P., Park, J.H., Lee, D.S., 2015. Injectable polymeric hydrogels for the delivery of therapeutic agents: a review. *Eur. Polym. J. J. J. J.* 72, 602–619. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2015.03.016>.
- Nony, P., Girard, P., Chabaud, S., Hessel, L., Thébaud, C., Boissel, J.P., 2001. Impact of osmolality on burning sensations during and immediately after intramuscular injection of 0.5 ml of vaccine suspensions in healthy adults. *Vaccine* 19, 3645–3651. [http://dx.doi.org/10.1016/S0264-410X\(01\)00098-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0264-410X(01)00098-6).
- Paul J Sheskey, W.G.C. and C.G.C., 2016a. Polyethylene Glycol [WWW Document]. *Handb. Pharm. Excipients*. URL [https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/ingredients/current/1001943522.htm?q=polyethylene glycol&t=search&ss=text&p=1#\\_hit](https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/ingredients/current/1001943522.htm?q=polyethylene%20glycol&t=search&ss=text&p=1#_hit) (accessed 1.31.16).
- Paul J Sheskey, W.G.C. and C.G.C., 2016b. Castor Oil, Hydrogenated [WWW Document]. *Handb. Pharm. Excipients*. URL [https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/ingredients/current/EXP-TD-c31-mn0001.htm?q=cremophor&t=search&ss=text&p=3#\\_hit](https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/ingredients/current/EXP-TD-c31-mn0001.htm?q=cremophor&t=search&ss=text&p=3#_hit) (accessed 1.31.16).
- Paul J Sheskey, W.G.C. and C.G.C., 2016c. Polyvinyl Alcohol: Pharmaceutical Excipients [WWW Document]. *Handb. Pharm. Excipients*. URL [https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/ingredients/current/1001943346.htm?q=poloxamer&t=search&ss=text&p=1#\\_hit](https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/ingredients/current/1001943346.htm?q=poloxamer&t=search&ss=text&p=1#_hit) (accessed 5.11.14).
- Paul J Sheskey W.G.C. and C.G.C., 2015a. Poloxamer [WWW Document]. *Handb. Pharm. Excipients*. URL [https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/ingredients/current/1001945720.htm?q=%22hyaluronic acid%22&t=search&ss=text&p=1#\\_hit](https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/ingredients/current/1001945720.htm?q=%22hyaluronic%20acid%22&t=search&ss=text&p=1#_hit) (accessed 2.20.16).
- Prickett, R.C., Elliott, J.A.W., McGann, L.E., 2011. Application of the multisolute osmotic virial equation to solutions containing electrolytes. *J. Phys. Chem. B* 115, 14531–14543. <http://dx.doi.org/10.1021/jp206011m>.
- Reinhart, W.H., Piety, N.Z., Goede, J.S., Shevkopyas, S.S., 2015. Effect of osmolality on erythrocyte rheology and perfusion of an artificial microvascular network. *Microvasc. Res.* 98, 102–107. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mvr.2015.01.010>.
- Remington, 2013. *Remington – An Introduction to Pharmacy*. Pharmaceutical Press, 1 Lambeth High Street, London SE1 7JN, UK ©.
- Remington, Joseph P., Beringer, Paul E., 2006. *Remington The Science and Practice of Pharmacy*, 21st ed. Lippincott Williams & Wilkins, cop., Philadelphia (1847–1918).
- Sivashanmugam, A., Arun Kumar, R., Vishnu Priya, M., Nair, S.V., Jayakumar, R., 2015. An overview of injectable polymeric hydrogels for tissue engineering. *Eur. Polym. J.* 72, 543–565. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2015.05.014>.
- Taxt, J.C.J.F., Schoffeleers, H.M., Brands, A.G.M., Teuwen, L., 2000. Dissolution behavior and solution properties of polyvinylalcohol as determined by viscometry and light scattering in DMSO, ethyleneglycol and water. *Polymer (Guildf)*. 41, 947–957. [http://dx.doi.org/10.1016/S0032-3861\(99\)00220-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0032-3861(99)00220-7).
- Thambi, T., Li, Y., Lee, D.S., 2017. Injectable hydrogels for sustained release of therapeutic agents. *J. Control Release* 267, 57–66. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.08.006>.
- The United States Pharmacopeial Convention, 2017. <785> OSMOLALITY AND OSMOLARITY. In: Rockville, M.D. (Ed.), *United States Pharmacopeia and National Formulary (USP 40-NF 35)*. United States Pharmacopeia Convention, pp. 656–658.
- Thiesen, M., Scheel, K., Diesselhorst, H., 1900. Density of Water. *Wiss. Abhandl. Phys. Tech. Reichs.*
- Viegas, T.X., Henry, R.L., 1998. Osmotic behavior of poloxamer 407 and other non-ionic surfactants in aqueous solutions. *Int. J. Pharm.* 160, 157–162. [http://dx.doi.org/10.1016/S0378-5173\(97\)00316-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-5173(97)00316-5).
- Vigneswari, M., Saravanakumar, S.S., Suresh, V.N., Sankararajan, S., 2016. Molecular interactions in solutions of poly vinyl alcohol: an ultrasonic study. *Int. J. Adv. Chem.* 4, 15. <http://dx.doi.org/10.14419/ijac.v4i2.6333>.
- Volpi, N., Mucci, A., Schenetti, L., 1999. Stability studies of chondroitin sulfate. *Carbohydrate Res.* [http://dx.doi.org/10.1016/S0008-6215\(99\)00034-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0008-6215(99)00034-8).
- Wang, W., 2015. Tolerability of hypertonic injectables. *Int. J. Pharm.* 490, 308–315. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.05.069>.
- Zavitsas, A.A., 2001. Properties of water solutions of electrolytes and nonelectrolytes. *J. Phys. Chem. B* 105, 7805–7817. <http://dx.doi.org/10.1021/jp011053l>.



4.3. *ARTÍCULO 3*

**Bioadhesiveness improvement of a Poloxamer thermo-reversible gel**

Diana Arbelaez Camargo, Albert M. Manich, Manel Roig Carreras, Marc Suñé Pou, Anna Nardi Ricart, Josep Maria Suñé Negre

European Journal of Pharmaceutical Sciences, En revisión 2019

**Impact Factor 2018: 3,532 (Q2)**



**Fundamento y objetivo:** La administración continua de anestésicos locales en los plexos nerviosos durante las primeras 24 a 48 horas después de la cirugía abdominal, permite una mejora en el manejo del dolor postoperatorio y minimiza los efectos secundarios sistémicos debido a la absorción errática de los medicamentos por el peritoneo. Los hidrogeles termosensibles son formas farmacéuticas, que consisten en un líquido fluido a temperatura ambiente y que gelifica a medida que aumenta la temperatura, actuando como un dispositivo de liberación durante un período de tiempo. Para mejorar la bioadhesión intraperitoneal del gel termosensible de poloxamer 407 (P407) desarrollado; se realizó un estudio con diferentes polímeros, para evaluar su efecto sobre las propiedades fisicoquímicas y bioadhesivas.

**Material y método:** Se preparan geles a partir de una fórmula base y se añaden diferentes polímeros a distintas concentraciones. Los polímeros usados son los siguientes: PEG 400, PEG 4000, SH, CS, PVA. Los geles se caracterizan en temperatura y tiempo de gelificación, pH, viscosidad a 25 y 37 °C y osmolalidad. Por otra parte, se realiza un estudio comparativo de la bioadhesión mediante la medición de la resistencia a la tracción, capaz de medir la fuerza necesaria para separar ambas superficies.

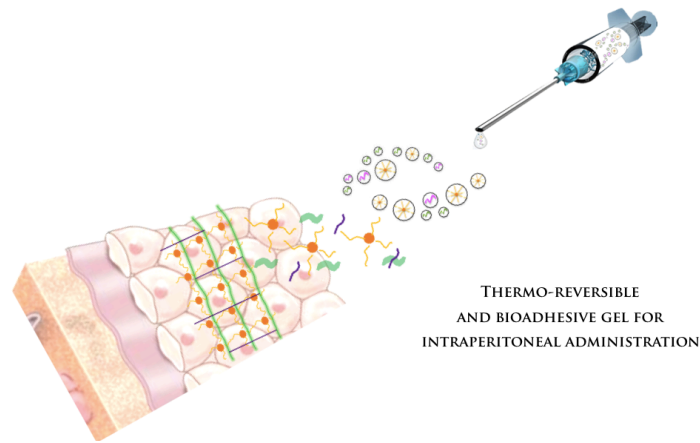
**Resultados:** Para mejorar la bioadhesión intraperitoneal del gel poloxamer 407 (P407) termosensible. Entre los polímeros utilizados, cabe destacar los resultados obtenidos al agregar alcohol polivinílico (PVA), que no modificó las propiedades térmicas de la formulación y mejoró la bioadhesividad del gel. La adición de PEG 400 provoca un aumento de viscosidad y de osmolalidad que imposibilita su uso. También se observó, que la adición de PEG4000, HS y CS cambia las propiedades térmicas del gel, revirtiendo sus propiedades de gelificación al aumentar la temperatura.

**Conclusiones:** La fórmula inicial obtenida de la preformulación tiene buenos parámetros fisicoquímicos y de bioadhesión. La adición de PVA a la fórmula mejora

su bioadhesión, por lo que son dos fórmulas que se pueden usar para estudios posteriores por lo que se procede a realizar el comunicado científico de la información.

**Palabras clave:** Termosensible gel, Abdominal surgery, Postoperative pain management, Bioadhesion, Local delivery system.

**Graphical Abstract:**



## Bioadhesiveness improvement of a Poloxamer thermo-reversible gel

Diana Arbelaez Camargo<sup>a</sup>, Albert M. Manich<sup>b</sup>, Manel Roig Carreras<sup>a</sup>, Marc Suñé Pou<sup>a,c</sup>, Anna Nardi Ricart<sup>a</sup>, Josep Maria Suñé Negre<sup>a,c</sup>

a. Pharmacy and Pharmaceutical Technology Department, Faculty of Pharmacy, University of Barcelona, Joan XXIII 27-32, CP 08028 Barcelona - Spain.

b. IQAC, Institute of Advanced Chemistry of Catalonia. CSIC, Spanish National Research Council.

c. Pharmacotherapy, Pharmacogenetics and Pharmaceutical Technology Research Group, IDIBELL-UB, Duran i Reynals Hospital, 3a level, Gran Via de l'Hospitalet 199, CP 08908 Hospitalet de Llobregat, Barcelona - Spain.

### Corresponding author

Marc Suñé Pou

### Abstract

The continuous administration of local anesthetics (LA) in the nerve plexuses during the first 24 - 48 hours after abdominal surgery allows an improvement in postoperative pain management and minimizes systemic side effects due to the erratic absorption of the drugs. Thermosensitive hydrogels are pharmaceutical dosage forms, which consist of a fluid liquid at room temperature that gelify as the temperature increases, working as a continuous release depot for a small period of time. To improve the intraperitoneal bioadhesion of the already developed thermosensitive poloxamer 407 (P407) gel; a study was carried out with different polymers, to evaluate their effect on the physicochemical and bioadhesive properties. Among the polymers used, it is worth highlighting the results obtained by adding polyvinyl alcohol (PVA), which did not change the thermal properties of the formulation and improved the bioadhesiveness of the gel. The method used to measure the adhesion, was a tensile strength measurement method, capable of measuring the force needed to separate both surfaces and compare it between different formulas, maintaining the measurement conditions equal for all the samples.

### Key words

Thermosensible gel, Abdominal surgery, Postoperative pain management, Bioadhesion, Local delivery system.

### 1. Introduction

The continuous administration of local anesthetics (LA) in the optimal anatomical side during the first 24 - 48 hours after abdominal surgery minimizes systemic side effects and improves postoperative pain management (Dunn and Durieux, 2017; Jha and Jha, 2017; Patel et al., 2017; Polanco-García et al., 2017; W, 2017). Amongst the different local anesthetics available in the market, lidocaine is wide used in clinics because of its good efficacy and low toxicity (MedicinesComplete © Royal Pharmaceutical Society, n.d.). Concomitant administration of a LA with dexamethasone prolongs the duration of analgesia by decreasing the transmission of nerve impulses in the C-fibers (Pehora et al., 2017; Zhang et al., 2019). Implants, biodegradable polymeric matrices and bioerodible films of LA, produced a continuous nerve block, but their use is limited to surgical procedures where their implantation is possible (Santamaria et al., 2017; Wang et



al., 2009). Thermosensitive hydrogels are pharmaceutical dosage forms, which are a fluid liquid at room temperature and gellify when increasing the temperature.

Once the thermosensitive gel was formulated and described elsewhere (Arbelaez-Camargo et al., 2016), the aim of the study was to improve the bioadhesive profile of the formulation, to achieve an optimal local delivery system for the correct administration of Lidocaine Hydrochloride (LC) and Dexamethasone Sodium Phosphate (DSP) in the peritoneum. We studied the effect on the different rheological and physicochemical parameters when adding another bioadhesive polymers to the base formula. We also designed an in-vitro method, using pig peritoneum tissue to compare the bioadhesive capacity confer by adding different bioadhesives polymers to the formula.

According to the classification of the adhesion in biological systems, the adhesion of a hydrogel to the peritoneum surface would be within the type 3: adhesion of an artificial material to a biological substrate (Dumitriu and Popa, 2013).

Bioadhesion is of great interest because its application in surgery and drug delivery (Jadhav Khanderao et al., 2013). Is defined as a complex adhesive phenomenon that occurs between the excipients or material and a biological surface. As the exact mechanism is not completely elucidated, but, four main molecular level mechanisms have been described: mechanical interlocking, chemical adsorption, diffusion theory and electronic theory (Al-Kawaz, n.d.; Ebnesajjad, 2009). The contribution of each of the mechanisms depends on the type of bioadhesive, the characteristics of the surface and the characteristics of the environment (Palacio and Bhushan, 2012).

The mechanical interlocking mechanism explained the adhesion due to the filling of irregularities in a rough surface by a liquid. These roughnesses increase the surface area available to interact and thus favour the dissipation energy (Das Neves and Sarmento, 2014).

The chemical adsorption describes an intimate interfacial molecular contact through secondary chemical interactions such as Van der Waals forces, hydrogen bridges, electrostatic attraction or hydrophobic and osmotic interactions (Brogly, 2011). The extended DLVO Theory can explain the intersurface repulsive and attractive forces between live cells and a material (Achinas et al., 2019; Ghosh, n.d.). It considers the electrostatic double layer force, that dominate at a larger separation between surfaces and the van der Waals forces that dominate at a smaller separation ( $R^{-6}$ th, 2018). For example, hydrogen bridges are the forces prevalent in polymers containing carboxyl groups, an important fact to take into account, as almost all polymers show in their structure, these kinds of groups (Adair et al., 2001).

The diffusion theory exposes the existence of an interdiffusion of molecules and/or segments of polymers of both surfaces through the interface. This process only occurs if the polymers have enough mobility in their chains and is limited to specific situations (Anil and Sudheer, 2013; Das Neves and Sarmento, 2014; Giuliano et al., 2018).

The electronic theory is based on the premise that both bioadhesives and biological materials have opposite electrical charge. Upon contact, there is an electron transfer forming an electronic double layer that determines the bioadhesive force (Packham, 2018). Important to highlight that any electrical double layer generated is not enough to observed adhesion.

The wetting theory ( $R^{-6}$ th, 2018) implies the development of surface forces as result of the molecular contact of two materials. The first step is the formation of interfacial forces followed by the

establishment a continuous contact, called wetting. For an adhesive to wet a surface, it needed to have lower surface tension than the critical surface tension of the surface (Bonn et al., 2009). A good wetting occurs on smooth surfaces where there is no creation of air bubbles or solvent that reduce the contact area, due to the irregularity of the surface (Anil and Sudheer, 2013; Das Neves and Sarmiento, 2014; Giuliano et al., 2018).

Pressure-sensitive adhesives (PSAs) (Benedek and Feldstein, 2009) have an instantaneous adhesion because of their ability to form bondings of measurable strength consequent to a brief contact with a surface. Dahlquist criterion (Benedek and Feldstein, 2009) quantifies the rheological requirements of a PSA to have a good adhesive behaviour, measuring the stiffness and resistance of the adhesive. In a broad and generic way; it could be said that the viscoelastic material, will absorb energy instead of allowing it to propagate and implies that if a polymer is above its glass transition temperature can be rubbery, or elastic (as our formulation) and therefore its elastic modulus will be below 105 N/m<sup>2</sup> (Pa) (Andrady, 2009).

As the temperature rises, thermosensitive gels undergo a phase change that corresponds to a change in molecular mobility. A comparable situation with pressure-sensitive adhesives is the fact that the most important transition for behaviour is the glass transition temperature (sometimes referred to as the glass-rubber transition temperature) (A.K. Teotia, H. Sami, A. Kumar, 2015). As the name implies, only if a polymer is above its glass transition temperature, it can be rubbery, or elastic, and therefore able to meet the requirements of the Dahlquist criterion. This means that the minimum requirement for pressure-sensitive adhesive behaviour is that the material should have a glass transition temperature below room temperature.

Different bioadhesive polymers were added to the base formula to study the effect in the different thermal and physicochemical parameters.

Although there is current interest in the development of products with bioadhesive capacity, there is no standardized method to measure bioadhesion or retention at the site of application of different injectable prolonged release systems. Despite the mentioned lack, there are defined mechanisms for the evaluation of bioadhesion and researchers have been developing different methods.

Among the mechanisms used to measure bioadhesiveness, the measurement of the tensile strength is widely used. The methods based on these mechanisms, measure the minimum force to cause a breakage of the interactions between two materials. Du Nouy and Wilhelmy design the most common indirect methods to measure it (Ebnesajjad and Ebnesajjad, 2006; Rapp and Rapp, 2017).

The measurement of the shear strength is also commonly used. Methods based on this mechanism, measure the force necessary to slide a surface in a direction parallel to the plan contact with respect to another surface.

Several authors have described different methods of measurement, both *ex vivo* and *in vitro* for the same purpose (Davidovich-Pinhas and Bianco-Peled, 2010; Kumar et al., 2014).

## **2. Material and methods**

### **Materials**

Kolliphor<sup>®</sup> P 407 manufactured by Sigma-Aldrich Chemie GmbH, St. Louis, USA (Poloxamer 407-PubChem CID: 24751). Hypromellose USP, substitution type 2910 and grade of 615,

manufactured by Shin-Etsu Chemical Co., Ltd, Japan (Hydroxypropyl methylcellulose-PubChem CID: 24832095). Povidone K30 USP distributed by Fagron Iberica S.A.U, Spain (Polyvinyl Pyrrolidone- PubChem CID: 6917). Lidocaine Hydrochloride USP distributed by Fagron Iberica S.A.U, Spain (PubChem CID: 6314). Dexamethasone sodium phosphate manufactured by Newchemspa in Milano, distributed by Fagron Iberica S.A.U in Spain (PubChem CID: 16961). Polyglykol 400 (Polyethylene glycol 400 - PubChem CID: 174) manufactured by Clariant (Sulzbach) Germany, batch DEG4005530. Polyethylene glycol 4000 (PEG 4000 - PubChem CID: 174) manufactured by Panreac AppliChem (Darmstadt) in Germany. Sodium Hyaluronate (PumChem CID: 53447380) distributed by Fagron Iberica S.A.U in Spain, batch L15070231 - OF- 06185. Chondroitin Sulphate Sodium (PubChem CID: 24766) donated by SDM (Barcelona) Spain. Cremophor RH 40 distributed by Fagron Iberica S.A.U in Spain, batch L15080090 - OF - 206712. Polyvinyl alcohol (Polyvinyl alcohol - PubChem CID: 11199) manufactured by AppliChem GmbH (Darmstadt) Germany, donated by SDM (Barcelona) Spain.

## Methods

### Gel Preparation

The gels were prepared by a variation of the "cold method"(Arbelaez-Camargo et al., 2016). The P407 was added into 7æ parts of pre-cooled water under gentle stirring to avoid foaming and into an ice bath. When it was completely dissolved each of the other components were added under continuous agitation until complete dissolution.

### Gelation Temperature and de-gelation temperature

A variation of the described method was performed (ALTUNTA≈û and AKDOfûAN, 2017; Gonjari et al., 2009) by adding two milliliters of the formula where into a 5 ml vial and then placed it in a water bath at 25 °C. The temperature of the bath was increased in 2-3 °C/min to determine the gelation temperature visually, considering gelation when the formulation did not show movement when the vial was turned in a 90° angle. The de-gelation temperature was measure visually too, but with the opposite method.

### Gelation time

Ten milliliters of the formulation were stirred at a constant speed of 500 rpm. The formation of a small vortex in the center of the magnetic bar was considered the initiation time of gelation; the formation of a bead around the magnetic bar or when the bar stopped moving was considered the complete gelation time.

### Viscosity

A Brookfield 23CAP200+L (Brookfield Engineering Laboratories Inc., Stoughton, MA) viscometer was used to determine the viscosity at 25 °C (Spindle n° 04, RT 12 s, HT 12 s, SR 150 RPM) and 37 °C (Spindle n° 06, RT 12 s, HT 20 s, SR 150 RPM).

### pH

The pH was determined without dilution of the samples and at a temperature of 22 - 23 °C with a CRISON microPH 2001 microprocessor controlled pH-meter (Crison Instruments SA, Alella, Barcelona, Spain).

## Osmolality

The osmolality of all solutions was measured just after their preparation with an Advanced Model 3320 Micro-Osmometer (Advanced Instruments, Inc., Norwood, MA). The osmolality was determined by freezing-point method with an Advanced Model 3320 Micro-Osmometer (Advanced Instruments, Inc. Norwood, MA).

## Mucoadhesive test

The mucoadhesive test was performed with a MT-LQ dynamometer, manufactured by Stable Micro Systems and equipped with a tensile/compression load cell of 5daN. The load cell was calibrated at the beginning of each test.

For the study, native peritoneal tissue from healthy pigs was coupled by sutures and surgical glue to a P/O.5R cylinder of 12.7 mm diameter and 40 mm height (without affecting the integrity of the tissue at the base), that at the same time, was coupled to the load cell.

The thermosensitive hydrogels to test were placed in petri glass dishes and put in a chamber at 37 °C until the gel gain that temperature.

The cylinder is pressed to the petri glass dish that contained the gel at a speed of 0.1 mm / s until an impressing force of 0.15 N, the contact was maintained up to 60 s. The cylinder is then separated at the same speed and the adhesion force (and work) was measured (separation).

## Statistical analysis

For the statistical analysis, STATGRAPHICS Plus for Windows 5.1. Professional Edition 1994-2000 (Statpoint Technologies, Inc., 560 Broadview Ave, Suite 201, Warrenton, VA 20186), and IBM SPSS Statistics version 20.0 (IBM Corp, Armonk, NY) were used.

### 3. Results and discussion

The base formula was set using different polymers to achieve proper stability, toxicity, rheological and physicochemical parameters. Because of its thermal properties, the poloxamer 407 (P407) was used as the main polymer. In this study, its concentration was set at 12.5%, below the usual concentration (>18%) (Gonjari et al., 2009) in order to avoid hypertriglyceridemia and hypercholesterolemia (McLain, 2008). The Hidroxypropyl methylcellulose (HPMC) used as bioadhesive agent was set at 3% and Polyvinyl Pyrrolidone (PVP) was used to modify and adjust the gelation temperature, set at 0.4%. Lidocaine Hydrochloride (LC) and Dexamethasone Sodium Phosphate (DSP) were the active principles (PAI's) and were set at 2% and 0.4% respectively.

**Table 1.** Base formula composition

	<b>P407</b>	<b>HPMC</b>	<b>PVP</b>	<b>LC</b>	<b>DSP</b>
<b>Ingredient (w/w%)</b>	12.5	3.0	0.4	2.0	0.4

To improve the bioadhesive profile of the formulation and due to the physiological characteristics of the peritoneum and other non-mucosal tissues (Blackburn and Stanton, 2014), different bioadhesive polymers were added to the base formula to study how they affect the different critical parameters.

**Table 2.** Polymers studied concentrations

	Polymer concentration (w/w %)									
	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5	
Polyethyleneglycol 400	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5	
Polyethyleneglycol 4000	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5	
Sodium Hyaluronate	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0					
Chondroitin Sulphate	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0					
Polyvinyl alcohol	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0					

Polyethyleneglycols (PEGs) with a general of formula of HOCH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>CH<sub>2</sub>OH, are water soluble inert polymers, essentially non-irritant to the skin (MedicinesComplete © Royal Pharmaceutical Society, n.d.). They are classified according to their structural formula and molecular weight. Within the typical polyethylene glycols with pharmaceutical significance, the polyethylene glycol 400 (PEG 400) is used in parenteral preparations as a solubilising agent and polyethylene glycol 4000 (PEG 4000) is used in bowel preparation before colonoscopy, radiological procedures, or surgery (MedicinesComplete © Royal Pharmaceutical Society, n.d.).

Polyethylene glycol 400 (PEG 400) and Polyethylene glycol 4000 (PEG 4000) were added to the base formula separately, to study the effect in the different parameters.

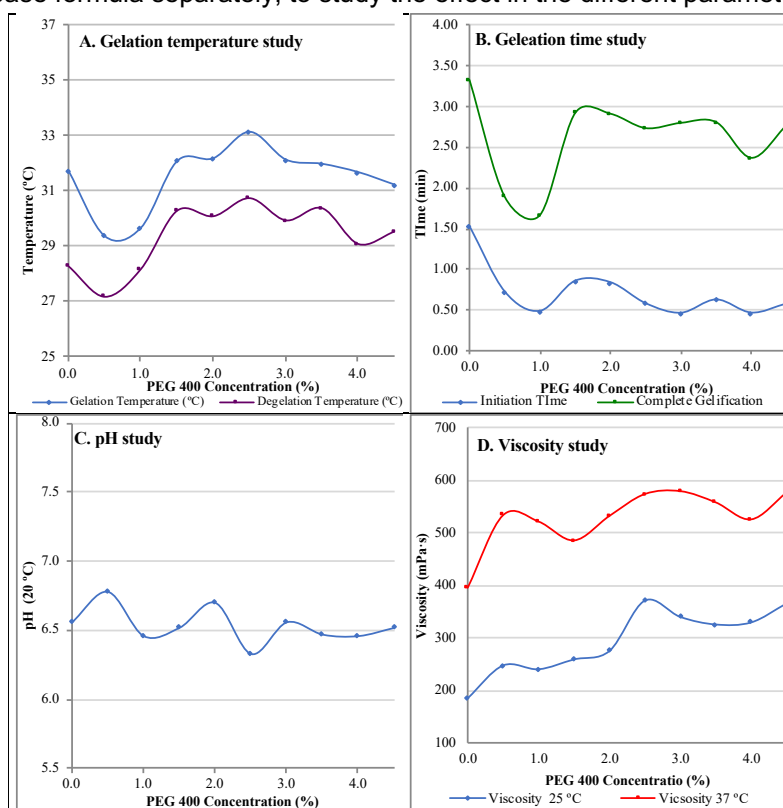


Figure 1. Gel characterization- PEG 400 addition

As seen in Figure 1- A, the gelation temperatures were below body temperature to allow the formation of a sustained release system. The effect of PEG 400 in the gelation temperature agreed with the

results reported by different authors. The initial addition of PEG 400 caused a decrease in the gelation temperature, but the progressive increase of PEG 400 concentration causes a raise in the gelation temperature through an interference of PEG 400 molecules in the poloxamer micellization process.

The de-gelation temperature, although not reported in previous studies, is affected by the PEG 400 concentration (p-value 0.0068) and it's a measure of the reversibility of gelation.

Viscosity at room temperature (<25 °C) of the different formulations was low enough to easily flow during the administration by syringe and the body temperature viscosity (37 °C) was high enough to form a consistent implant (Figure 1-D) The addition of PEG 400 increased the viscosity at 25 °C (p-value 0.0262). At 37°C, although a tendency can be observed in Figure 1-A, there was no relation between the PEG 400 concentration and the viscosity (p-value 0.3960).

Additionally, Figure 1-B show that increasing PEG 400 concentration only affects the time to complete the gelification process (p-value 0.0715) but not the time to begin it (p-value 0.4903).

The pH was not affected by PEG 400, it remained between 6.33 and 6.78, values that provide the API's stability and prevent tissue damage.

Osmolality as security parameter of the formulation to prevent local irritation, pain or endothelial damage (Arbelaez-Camargo et al., 2018), was studied. The addition of PEG 400 affected considerable the osmolality (p-value 0.0000) and out of the expected values (<400 mOsm/kg).

Most parameters were within acceptable limits for a parenteral formulation in the range of the studied PEG 400 concentrations, although the values of osmolality were above the recommended.

The addition of Polyethylene glycol 4000 (PEG 4000) to the base formula, caused a change in the thermosensitive properties of the gel, therefore, no gelation was observed when increasing the temperature. At the same time, there was a decrease in the viscosity (Figure 2) when increasing the temperature and the PEG 4000 concentration. According to statistical analysis, a reciprocal-Y model, explained the relation between the concentration of PEG 4000 and the viscosity at room temperature. Since the p-value from the ANOVA test is less than 0.01, there was a statistically significant relation between the viscosity at 25 °C and the PEG 4000 concentration for a confidence level of 99%. Furthermore, there was also a statistically significant relation between the viscosity at 37 °C and the PEG 4000 concentration, but in this case, an X-square root model explains the 91% of relation. These results confirmed a change in the properties of the gel.

In terms of security of the formulation, the pH and osmolality were studied and the addition of PEG 4000 caused a decrease in the pH of base formulation, but nevertheless, when increasing its concentration, the pH was not affected (p-value 0.3902) and remained between 6.20 and 6.30, values that provide API's stability and prevent tissue damage.

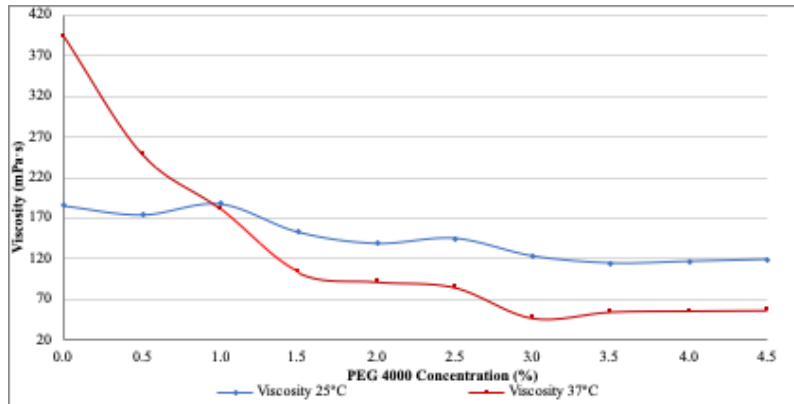


Figure 2. Gel viscosity characterization – PEG 4000 addition

Initial addition of PEG 4000 caused a decrease in osmolality, but when increasing its concentration, a linear increase in osmolality was observed (linear model explains 96% of the data). There was a statistically significant relation between the osmolality and the PEG 4000 concentration for a confidence level of 99%. A significant difference is observed between the theoretical osmolality and osmolality experimental.

Sodium Hyaluronate (SH) is the most use form of the Hyaluronic acid (HA), is a high-molecular-weight polymer formed by d-glucuronic acid and N-acetyl-d-glucosamine disaccharide units with a molecular weight of 10 000 000–100 000 000 Da (MedicinesComplete © Royal Pharmaceutical Societl, n.d.). Usually used in ophthalmic and parenteral formulations because of its bioadhesive, therapeutic and biodegradation properties.

SH is a natural polymer commonly distributed in the body that helps to maintain the mechanical integrity in connective tissues such as the vitreous humour and cartilage. SH is known as a non-gelling polysaccharide, although different studies have shown a gel-like behaviour, since it has the ability to absorb large amounts of water forming a loose hydrated network (Burdick and Stevens, 2005; Ivanova et al., 2014).

Because of the SH's gel-like behaviour (Fujiwara et al., 2000), its addition to the base formula caused a change in its thermoreversible properties in a dose dependant way. At a concentration below 0.5 % no thermal properties were observed and the viscosities at room temperature were equal to the viscosities at 37 °C. Above this concentration, thermosreversible properties couldn't be seen as shown in Figure 3

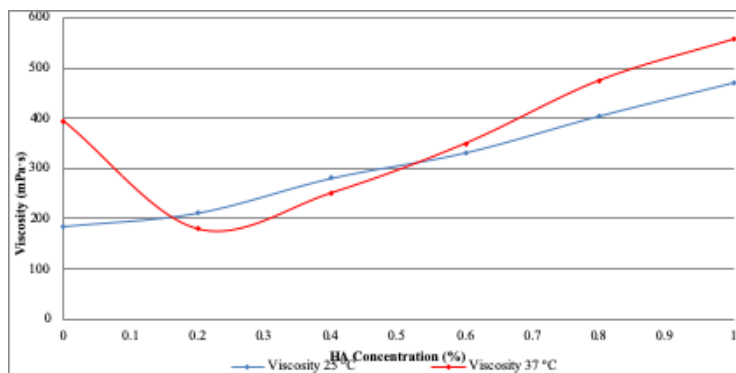


Figure 3. Gel viscosity characterization – HS addition

This phenomenon can be explained by the decrease in the free water available as a result of the hyaluronic gel formation (Larrañeta et al., 2018), changing the solvation of the Poloxamer POE and POP blocks that consequently, allows the aggregation phenomena that forms the micelle, which is the first step of gelation (Bodratti and Alexandridis, 2018).

As SH solutions are highly viscous, with non-Newtonian flow properties (Ahumada et al., 2016), its addition to the formula caused an increase in the viscosity at room temperature and at 37 °C ( $\tau_b = 0.802$  and  $0.607$ ;  $p < 0.001$ ), an important effect to consider when assessing the thermal properties as it can be a confusion factor.

An increase in the osmolality dependant on the SH concentration ( $\tau_b = 0.795$   $p < 0.001$ ) also was observed. At concentrations higher of 0.5%, when thermosreversible properties were observed, the osmolality of the formulations was higher than 550 mOm/kg and possibly when injected, caused tissue damage. In the other hand, its addition did not affect the pH ( $p > 1$ ).

Like the HS, the Chondroitin Sulphate (CS) is widely used for its therapeutic applications such as: reactive arthritis, adjunct to ocular surgical procedures and relief of dry eye. It is a linear glycosaminoglycan formed by disaccharide units of N-acetyl-galactosamine and glucuronic acid (MedicinesComplete © Royal Pharmaceutical Society, n.d.). Each N-acetyl-galactosamine has a sulphate groups at carbon 4 or 6 that confers the molecule a global negative charge. This negative charge facilitates adhesive interactions with cell surface membranes, due to electrostatic repulsive forces that leads to electron transfer and dipole induction bioadhesive mechanism (Chicatum et al., 2017; Djerbal et al., 2017).

As HS, the addition of CS to base formula caused disruption in gel formation, probably induce by solvation changes in the Poloxamer POE and POP blocks and/or steric impediment.

It was not observed that it affected neither the pH nor the osmolality ( $p = 0.301$  and  $p = 0.124$ ), but it affect the viscosity (Figure 4), causing a decrease when increasing the concentration at room temperature and at 37 °C ( $\tau_b = -0.820$  and  $-0.931$ ;  $p < 0.001$ ).

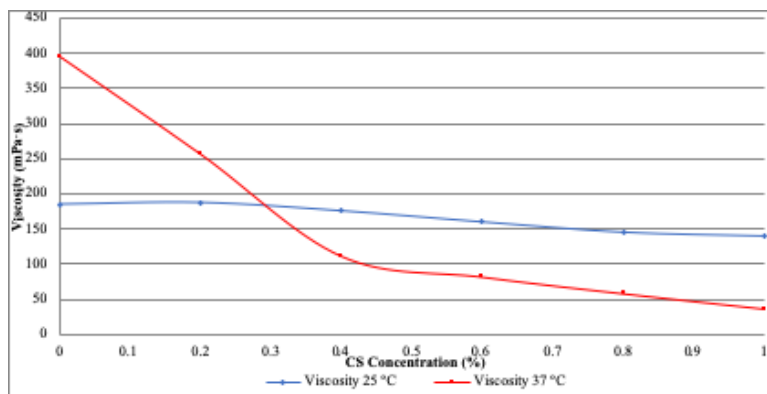


Figure 4. Gel viscosity characterization – CS addition

Polyvinyl alcohol (PVA) is a non-ionic water soluble and biodegradable polymer, joined by only carbon–carbon linkages. Known for its multiple uses in different fields such as textile, plastic and pharmaceutical industry, in which, it is used in topical and ophthalmic formulation as a viscosity-



increasing agent, emulsion stabilizing agent and sustained-release agent (MedicinesComplete © Royal Pharmaceutical Society, n.d.; MedicinesComplete © Royal Pharmaceutical Society, n.d.). Widely known as a mucoadhesive polymer, its main mechanism of bioadhesion is by intimate interfacial molecular contact through hydrogen bond interactions (Bag and Valenzuela, 2017; Briscoe and Luckham, 2000).

There is a statistically significant relationship between the concentration of PVA and the thermal characteristics of the formula as seen in Figure 5.

A significant decreasing trend is observed in the thermal properties, it means, for both temperatures and time: the gelation temperature ( $\tau_b = -0.877$ ;  $p < 0.001$ ), the de-gelation temperature ( $\tau_b = -0.857$ ;  $p < 0.001$ ) and gelation time ( $\tau_b = -0.806$ ;  $p < 0.001$ ).

These decreases can be explained by the PVA gelation mechanism, as it is describe by the formation of semicrystalline structures form through intramolecular hydrogen bonds (Nagarkar and Patel, 2019; Rudnik, 2019). This intramolecular hydrogen bonds could interfere with the process of micellation and gelation, given by the high concentration of hydroxyl groups present in the PVA molecule.

Despite a significant increase in the viscosity at room temperature ( $\tau_b = -0.873$ ;  $p < 0.001$ ), the formulation still sufficiently fluid to be easily injected at all the studied concentrations. Also, a significant increase in the viscosity at 37 °C ( $\tau_b = -0.838$ ;  $p < 0.001$ ) was observed.

pH was not affected by the addition of PVA at any studied concentration ( $p = 0.519$ ), but the osmolality, significantly increase ( $\tau_b = 0.865$ ;  $p < 0.001$ ), reaching values higher than the limit value from a 0.5% PVA concentration.

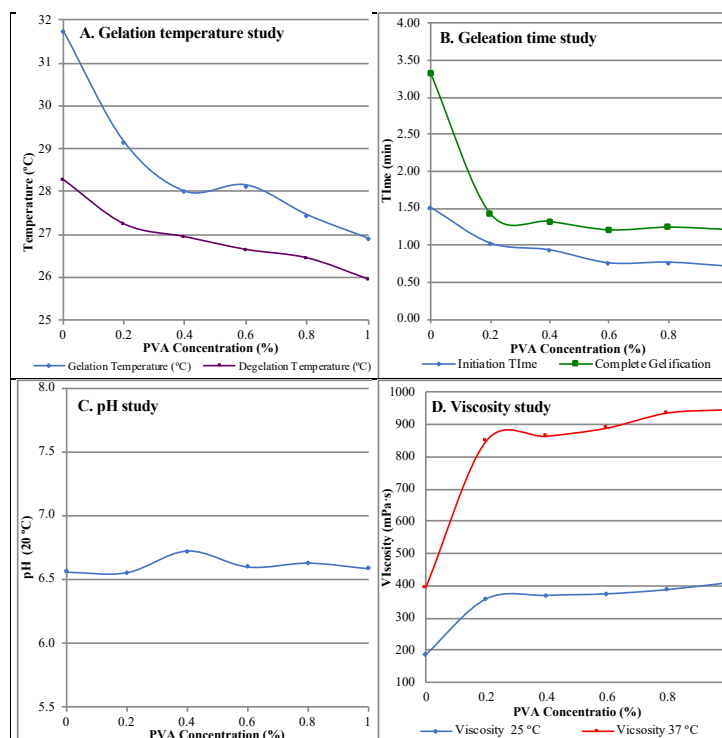


Figure 5. Gel characterization- PVA addition

After the analysis of the addition of the different polymers to the base formula in terms of physicochemical and thermal characteristics, a bioadhesion study with the addition of PEG 4000, PEG 400, PVA and CS were carried out.

For each polymer the optimal concentration of it within the base formula was chosen and the bioadhesion was measured by using dynamometer, the maximum force recorded in the graph (Figure 6) was the adhesion force.

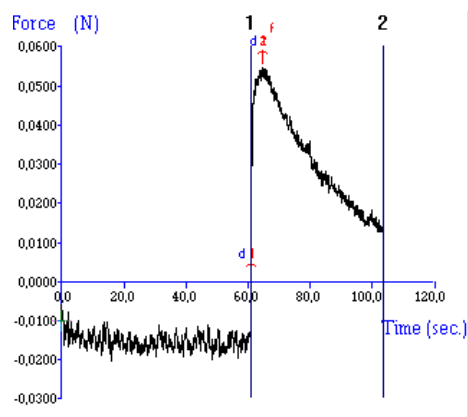


Figure 6. Dynamometer graphical measurement

The formulations studied are described below in table 3

**Table 3.** Formulation composition for bioadhesive studies

Ingredient (%)	Formulation Number							
	1	2	3	4	5	6	7	9
<b>P407</b>	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5
<b>HPMC</b>	3.3	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
<b>PVP</b>	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
<b>LC</b>	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
<b>DSP</b>	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
<b>PEG 400</b>	-	-	1.5	2.0	-	-	-	-
<b>PEG 4000</b>	-	-	-	-	0.5	-	-	-
<b>CS</b>	-	-	-	-	-	-	-	0.2
<b>PVA</b>	-	-	-	-	-	0.1	0.2	-

The maximum force registered, correspond to the force needed to separate both surfaces and equal to the adhesion force.

The Shapiro-Wilk statistical test was used to know the normality of the data obtained, confirming a non-normal distribution. Therefore, to determine if the addition of the bioadhesive polymer affects the bioadhesion of the formula, the non-parametric Kuskal-Wallis statistical test was performed.

It is noted that formulations 2 and 5, that correspond to the base formula without any addition of extra bioadhesive polymer and the PEG4000 formulation, had the lowest value of adhesion. These results were expected since both formulations were not thermoreversible gels and had low viscosity, that decreases when heated.

It also can be said that the results obtained for formulations 9, 1, 7, 4 and 3 were not statistically significant different from formulations 2 and 5, but, statistically significant different from the formulation 6, which had the highest value of adhesion.

#### 4. Conclusions

The initial formula obtained from the formulation has good physicochemical and bioadhesion parameters. The addition to the formula of PVA in a concentration up to 0.1%, improves its bioadhesion and can be used in further studies in the development of the final product.

The method used to measure the adhesion, is able to measure it and compare it between different formulas, only if the conditions of measurement are equal for all the samples. It can be useful to measure the adhesion to different surfaces only by modifying the material subject to the cylinder. In the other hand, the method must be standardized for each test as the data obtained depend on all the parameters (speed, time of contact and compression force).

#### Acknowledgement

This research was not financially supported by any institution or foundation. The author declares that there is no conflict of interests

#### References

- A.K.TeotiaH.SamiA.Kumar, 2015. Thermo-responsive polymers: structure and design of smart materials, in: *Switchable and Responsive Surfaces and Materials for Biomedical Applications*. Woodhead Publishing, pp. 3–43. doi:10.1016/B978-0-85709-713-2.00001-8
- Achinas, S., Charalampogiannis, N., Euverink, G.J.W., 2019. A Brief Recap of Microbial Adhesion and Biofilms. *Appl. Sci.* 9, 2801. doi:10.3390/app9142801
- Adair, J.H., Suvaci, E., Sindel, J., 2001. Surface and Colloid Chemistry. *Encycl. Mater. Sci. Technol.* 1–10. doi:10.1016/B0-08-043152-6/01622-3
- Ahumada, L.A.C., González, M.X.R., Sandoval, O.L.H., Olmedo, J.J.S., 2016. Evaluation of hyaluronic acid dilutions at different concentrations using a quartz crystal resonator (QCR) for the potential diagnosis of arthritic diseases. *Sensors (Switzerland)* 16. doi:10.3390/s16111959
- Al-Kawaz, A., n.d. *Paints and Adhesives Theories of Adhesion*.
- ALTUNTAŞ, B., AKDOĞAN, M.Ş., 2017. Pazarlama İletişim Sürecinde Örtü Kullanımı: Üniversite Öğrencileri Üzerinde Bir Uygulama. *Adnan Menderes Üniversitesi Sos. Bilim. Enstitüsü Derg.* 3, 1–19. doi:10.30803/adusobed.287977
- Andrady, A.L., 2009. Introduction to Polymer Solutions. *Sci. Technol. Polym. Nanofibers* 27–53. doi:10.1002/9780470229842.ch2
- Anil, A., Sudheer, P., 2013. Mucoadhesive Polymers - A Review Why. *J. Pharm. Res.* 17, 1–11. doi:10.18579/jpcrk/2018/17/1/119566
- Arbelaez-Camargo, D., Roig-Carreras, M., García-Montoya, E., Pérez-Lozano, P., Miñarro-Carmona, M., Ticó-Grau, J.R., Suñé-Negre, J.M., 2018. Osmolality predictive models of different polymers as tools in parenteral and ophthalmic formulation development. *Int. J. Pharm.* 543. doi:10.1016/j.ijpharm.2018.03.052
- Arbelaez-Camargo, D., Suñé-Negre, J.M., Roig-Carreras, M., García-Montoya, E., Pérez-Lozano, P., Miñarro-Carmona, M., Ticó-Grau, J.R., 2016. Preformulation and characterization of a lidocaine hydrochloride and dexamethasone sodium phosphate thermo-reversible and bioadhesive long-acting gel for intraperitoneal administration. doi:10.1016/j.ijpharm.2015.12.012
- Bag, M.A., Valenzuela, L.M., 2017. Impact of the hydration states of polymers on their

hemocompatibility for medical applications: A review. *Int. J. Mol. Sci.* doi:10.3390/ijms18081422

Benedek, I., Feldstein, M.M., 2009. *Fundamentals of pressure sensitivity*. CRC Press.

Blackburn, S.C., Stanton, M.P., 2014. Anatomy and physiology of the peritoneum. *Semin. Pediatr. Surg.* 23, 326–330. doi:10.1053/j.sempedsurg.2014.06.002

Bodratti, A.M., Alexandridis, P., 2018. Formulation of poloxamers for drug delivery. *J. Funct. Biomater.* 9. doi:10.3390/jfb9010011

Bonn, D., Eggers, J., Indekeu, J., Meunier, J., 2009. Wetting and spreading, *Reviews of Modern Physics*. doi:10.1103/RevModPhys.81.739

Briscoe, B., Luckham, P., 2000. The effects of hydrogen bonding upon the viscosity of aqueous poly(vinyl alcohol) solutions. *Polymer (Guildf)*. 41, 3851–3860. doi:10.1016/S0032-3861(99)00550-9

Brogly, P.M., 2011. Forces Involved in Adhesion, in: *Handbook of Adhesion Technology*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 39–63. doi:10.1007/978-3-642-01169-6\_3

Burdick, J.A., Stevens, M.M., 2005. Biomedical hydrogels, in: *Biomaterials, Artificial Organs and Tissue Engineering*. Elsevier Inc., pp. 107–115. doi:10.1533/9781845690861.2.107

Chicatur, F., Griffanti, G., McKee, M.D., Nazhat, S.N., 2017. Collagen/chitosan composite scaffolds for bone and cartilage tissue engineering, in: *Biomedical Composites*. Elsevier, pp. 163–198. doi:10.1016/b978-0-08-100752-5.00008-1

Das Neves, J., Sarmiento, B., 2014. Mucosal delivery of biopharmaceuticals: Biology, challenges and strategies. *Mucosal Deliv. Biopharm. Biol. Challenges Strateg.* 9781461495, 1–601. doi:10.1007/978-1-4614-9524-6

Davidovich-Pinhas, M., Bianco-Peled, H., 2010. Mucoadhesion: a review of characterization techniques. *Expert Opin. Drug Deliv.* 7, 259–271. doi:10.1517/17425240903473134

Djeral, L., Lortat-Jacob, H., Kwok, J., 2017. Chondroitin sulfates and their binding molecules in the central nervous system. *Glycoconj. J.* doi:10.1007/s10719-017-9761-z

Dumitriu, S., Popa, V.I., 2013. *Polymeric Biomaterials: Medicinal and Pharmaceutical Applications, Volumen 2*. CRC Press.

Dunn, L.K., Durieux, M.E., 2017. Perioperative Use of Intravenous Lidocaine. *Anesthesiology* 126, 729–737. doi:10.1097/ALN.0000000000001527

Ebnesajjad, S. (Ed.), 2009. *Introduction and Adhesion Theories, Adhesives Technology Handbook*. William Andrew Publishing. doi:10.1016/B978-0-8155-1533-3.50004-9

Ebnesajjad, S., Ebnesajjad, S., 2006. Surface Tension and Its Measurement. *Surf. Treat. Mater. Adhes. Bond.* 9–28. doi:10.1016/B978-081551523-4.50004-3

Fujiwara, J., Takahashi, M., Hatakeyama, T., Hatakeyama, H., 2000. Gelation of hyaluronic acid through annealing. *Polym. Int.* 1604–1608.

Ghosh, P., n.d. DLVO Theory and Non-DLVO Forces.

Giuliano, E., Paolino, D., Fresta, M., Cosco, D., 2018. Mucosal applications of poloxamer 407-based hydrogels: An overview. *Pharmaceutics* 10, 1–26. doi:10.3390/pharmaceutics10030159

Gonjari, I.D., Hosmani, A.H., Karmarkar, A.B., Godage, A.S., Kadam, S.B., Dhabale, P.N., 2009. Formulation and evaluation of in situ gelling thermoreversible mucoadhesive gel of fluconazole. *Drug Discov. Ther.* 3, 6–9.

Ivanova, E.P., Bazaka, K., Crawford, R.J., 2014. Natural polymer biomaterials: advanced applications, in: *New Functional Biomaterials for Medicine and Healthcare*. Elsevier, pp. 32–70. doi:10.1533/9781782422662.32

Jadhav Khanderao, R., Pawar Ashish, Y., Talele Gokul, S., 2013. Bioadhesive drug delivery system: An overview. *Asian J. Pharm. Clin. Res.* 6, 1–10.

Jha, N., Jha, A.K., 2017. Intraperitoneal Instillation of Local Anesthetics. *Anesth. Analg.* 125, 352. doi:10.1213/ANE.0000000000002136

Kumar, K., Dhawan, N., Sharma, H., Vaidya, S., Vaidya, B., 2014. Bioadhesive polymers: Novel tool for drug delivery. *Artif. Cells, Nanomedicine, Biotechnol.* 42, 274–283.

doi:10.3109/21691401.2013.815194

Larrañeta, E., Henry, M., Irwin, N.J., Trotter, J., Perminova, A.A., Donnelly, R.F., 2018. Synthesis and characterization of hyaluronic acid hydrogels crosslinked using a solvent-free process for potential biomedical applications. *Carbohydr. Polym.* 181, 1194–1205. doi:10.1016/j.carbpol.2017.12.015

McLain, V.C., 2008. Safety assessment of poloxamers 101, 105, 108, 122, 123, 124, 181, 182, 183, 184, 185, 188, 212, 215, 217, 231, 234, 235, 237, 238, 282, 284, 288, 331, 333, 334, 335, 338, 401, 402, 403, and 407, poloxamer 105 benzoate, and poloxamer 182 dibenzoate as use [WWW Document]. *Int. J. Toxicol.* doi:10.1080/10915810802244595

MedicinesComplete © Royal Pharmaceutical Society, n.d. MedicinesComplete; Martindale: The Complete Drug Reference: Hyaluronic Acid [WWW Document]. Hyaluronic Acid. URL <https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/#/content/martindale/19888-x?hspl=acid&hspl=hyaluronic> (accessed 9.20.19a).

MedicinesComplete © Royal Pharmaceutical Society, n.d. MedicinesComplete; Pharmaceutical Excipients: Polyvinyl Alcohol [WWW Document]. URL [https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/#/content/excipients/1001944049?hspl=Polyvinyl alcohol](https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/#/content/excipients/1001944049?hspl=Polyvinyl%20alcohol) (accessed 9.20.19b).

MedicinesComplete © Royal Pharmaceutical Society, n.d. MedicinesComplete; Handbook on Injectable Drugs: Lidocaine Hydrochloride [WWW Document]. URL [https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/#/content/hid/a582111?hspl=Lidocaine hydrochloride](https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/#/content/hid/a582111?hspl=Lidocaine%20hydrochloride) (accessed 9.20.19a).

MedicinesComplete © Royal Pharmaceutical Society, n.d. MedicinesComplete; Pharmaceutical Excipients: Polyethylene Glycol [WWW Document]. URL <https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/#/content/excipients/1001943522?hspl=polyethylene&hspl=glycol> (accessed 9.20.19b).

MedicinesComplete © Royal Pharmaceutical Society, n.d. MedicinesComplete; Martindale: The Complete Drug Reference: Macrogols [WWW Document]. Macrogols. URL <https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/#/content/martindale/1922-a?hspl=macrogol> (accessed 9.20.19c).

MedicinesComplete © Royal Pharmaceutical Society, n.d. MedicinesComplete; Martindale: The Complete Drug Reference: Chondroitin Sulfate Sodium [WWW Document]. Chondroitin Sulfate Sodium. URL [https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/#/content/martindale/21845-q?hspl=Chondroitin sulfate sodium](https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/#/content/martindale/21845-q?hspl=Chondroitin%20sulfate%20sodium) (accessed 9.20.19d).

MedicinesComplete © Royal Pharmaceutical Society, n.d. MedicinesComplete; Martindale: The Complete Drug Reference: Polyvinyl Alcohol [WWW Document]. Polyvinyl Alcohol. URL [https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/#/content/martindale/468-b?hspl=Polyvinyl alcohol](https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/#/content/martindale/468-b?hspl=Polyvinyl%20alcohol) (accessed 9.20.19e).

Nagarkar, R., Patel, J., 2019. Polyvinyl Alcohol : A Comprehensive Study. *Acta Sci. Pharm. Sci.* 3, 34–44.

Packham, D.E., 2018. Theories of Fundamental Adhesion, in: *Handbook of Adhesion Technology*. Springer International Publishing, Cham, pp. 11–41. doi:10.1007/978-3-319-55411-2\_2

Palacio, M.L.B., Bhushan, B., 2012. Bioadhesion: a review of concepts and applications. *Philos. Trans. A. Math. Phys. Eng. Sci.* 370, 2321–47. doi:10.1098/rsta.2011.0483

Patel, R., Carvalho, J.C.A., Downey, K., Kanczuk, M., Bernstein, P., Siddiqui, N., 2017. Intraperitoneal Instillation of Lidocaine Improves Postoperative Analgesia at Cesarean Delivery: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Anesth. Analg.* 124, 554–559. doi:10.1213/ANE.0000000000001799

Pehora, C., Pearson, A.M., Kaushal, A., Crawford, M.W., Johnston, B., 2017. Dexamethasone as an adjuvant to peripheral nerve block. *Cochrane Database Syst. Rev.* doi:10.1002/14651858.CD011770.pub2

Polanco-García, M., García-Lopez, J., Fàbregas, N., Meissner, W., Puig, M.M., PAIN-OUT-Spain Consortium, 2017. Postoperative Pain Management in Spanish Hospitals: A Cohort Study Using the

PAIN-OUT Registry. *J. Pain* 18, 1237–1252. doi:10.1016/j.jpain.2017.05.006

Rapp, B.E., Rapp, B.E., 2017. Measuring Surface Tension and Free Surface Energy, *Microfluidics: Modelling, Mechanics and Mathematics*. Elsevier. doi:10.1016/B978-1-4557-3141-1.50022-8

Rudnik, E., 2019. Properties and applications, in: *Compostable Polymer Materials*. Elsevier, pp. 49–98. doi:10.1016/B978-0-08-099438-3.00003-3

Rüth, M., 2018. *Physical Basis of Cell-Cell Adhesion*, CRC Press. ed.

Santamaria, C.M., Woodruff, A., Yang, R., Kohane, D.S., 2017. Drug delivery systems for prolonged duration local anesthesia. *Mater. Today* 20, 22–31. doi:10.1016/J.MATTOD.2016.11.019

W, B.Es.Dl., 2017. Multimodal pain management: There is more to happiness than opioids. *Semin. Arthroplasty* 28, 162–165. doi:10.1053/J.SART.2017.11.003

Wang, C.-F., Djalali, A.G., Gandhi, A., Knaack, D., De Girolami, U., Strichartz, G., Gerner, P., 2009. An Absorbable Local Anesthetic Matrix Provides Several Days of Functional Sciatic Nerve Blockade. *Anesth. Analg.* 108, 1027–1033. doi:10.1213/ane.0b013e318193596a

Zhang, D., I.D., Zhou, C., Wei, D., Ge, L., Li, Q., 2019. Dexamethasone added to local anesthetics in ultrasound-guided transversus abdominis plain (TAP) block for analgesia after abdominal surgery: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *PLoS One*. doi:10.1371/journal.pone.0209646



#### 4.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN ADICIONAL

##### - Capacidad reguladora

El pH es una característica importante a tener en cuenta en el desarrollo, tanto por su implicación en la seguridad de la fórmula como en la estabilidad de los componentes. Con este fin se mide el pH de la formulación cuya temperatura de gelificación es lo más próxima al objetivo (34-36°C).

Tabla 12. pH Formulaciones

<b>P407/HPMC/PVP 12/3,3/1,2</b>	<b>P407/HPMC/PVP 12,5/3,3/1,2</b>
pH	pH
6,55	6,43

El pH de las dos diferentes formulaciones es ligeramente ácido con respecto al pH fisiológico, que es aproximadamente de 7,4 (228). El pH de las formulaciones está dentro de los márgenes aceptados y tolerables para la administración parenteral por la capacidad tampón de los propios fluidos biológicos y del organismo en sí (229).

Por razón de estabilidad y solubilidad, no siempre se puede ajustar el pH a un pH fisiológico. En este caso, el pH de la formulación permite la correcta disolución y estabilidad de ambos principios activos, siendo uno de ellos de carácter ácido y el otro de carácter básico.

Se decide comprobar la capacidad tampón de las formulaciones, es decir la resistencia a la variación del pH al añadir iones (H<sup>+</sup>) y (OH<sup>-</sup>). Para ello, se parte de un volumen de solución problema de 50 ml, a la cual, se le añade una solución de HCl 0,1 N de a 2,5 ml en 2,5 ml, hasta haber consumido aproximadamente 10 ó 25 ml.



Los resultados de las pruebas de la determinación de la capacidad reguladora se detallan a continuación:

*Tabla 13. Capacidad Reguladora sin solución tampón*

<b>Formulación</b>	<b>P407/HPMC/PVP 12/3,3/1,2</b>	
<b>Volumen HCl 0,1N</b>	pH	$\beta$
0	6,55	-
2,5	6,02	1,0E-02
5	2,97	2,8E-03
7,5	2,36	3,6E-03
10	2,12	4,5E-03
<b>Formulación</b>	<b>P407/HPMC/PVP 12,5 /3,3/1,2</b>	
<b>Volumen HCl 0,1N</b>	pH	$\beta$
0	6,43	-
2,5	5,98	1,1E-02
5,0	2,69	2,7E-03
7,5	2,26	3,6E-03
10,0	2,04	4,6E-03

Durante la determinación de la capacidad reguladora, se observó que cuando las formulaciones llegan a un pH inferior a 2,5 aproximadamente, se formaba un precipitado que corresponde probablemente a la Dexametasona, la cual es insoluble a pH ácidos.

Teniendo en cuenta que una solución tiene buena capacidad reguladora con un valor de  $\beta > 5E-02$ , mediana entre  $5E-02$  y  $5E-3$ , mala entre  $5E-03$  y  $5E-4$ ; y sin capacidad amortiguadora  $< 5E-04$ ; se observa que las formulaciones tienen una mala capacidad amortiguadora.

Con el fin de mejorar la resistencia a cambios en el pH, se decide usar un solución reguladora de fosfatos de Sorensen ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) en la formulación. Se escoge este tampón ya que el pH deseado está dentro del rango de su capacidad reguladora (5,8 – 8), imita ciertos componentes de fluidos extracelulares, no es tóxico para las células y el pH cambia poco con la temperatura.

Tabla 14. Capacidad Reguladora con solución tampón

Formulación	P407/HPMC/PVP 12/3,3/1,2	
Volumen HCl 0,1N	pH	$\beta$
0	7,00	
2,5	6,90	5,1E-02
5,0	6,81	5,2E-02
7,5	6,65	4,3E-02
10,0	6,46	3,7E-02
12,5	6,28	3,4E-02
15,0	6,05	3,2E-02
17,5	5,62	2,6E-02
20,0	4,40	1,7E-02
22,5	3,31	1,2E-02
25,0	2,92	1,2E-02

Formulación	P407/HPMC/PVP 12,5 /3,3/1,2	
Volumen HCl 0,1N	pH	$\beta$
0	6,91	
2,5	6,78	4,8E-02
5,0	6,63	4,2E-02
7,5	6,43	3,6E-02
10,0	6,23	3,3E-02
12,5	5,87	2,7E-02
15,0	4,97	1,7E-02
17,5	3,30	1,1E-02
20,0	2,88	1,1E-02
22,5	2,66	1,2E-02

El uso de solución reguladora en la fórmula permite la adición de un mayor volumen de solución de ácido clorhídrico 0,1 N. De este modo se puede llegar al punto deseado, que consiste en la mitad del volumen de la solución problema (25 ml), sin observar la formación de ningún precipitado. Al comparar la capacidad reguladora de la formulación sin tampón y con tampón, se observa una mejoría en dicho parámetro, siendo ahora de mediana capacidad.

Por otra parte, como se comentó en el artículo 1 (punto 4.1), la adición de solución tampón a la fórmula no es viable ya que provoca un aumento drástico de la

temperatura de gelificación, imposibilitando así su administración a temperatura ambiente mediante una jeringa.

- *Estudio de bioadhesión*

Para mejorar el perfil bioadhesivo de la formulación y debido a las características fisiológicas del peritoneo y otros tejidos no mucosos (12), se agregaron diferentes polímeros bioadhesivos a la fórmula base para estudiar cómo afectan los diferentes parámetros críticos.

*Tabla 15. Concentración de los polímeros estudiados*

	Polymer concentration (w/w %)								
Polyethyleneglycol 400	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5
Polyethyleneglycol 4000	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5
Sodium Hyaluronate	0,2		0,4		0,6		0,8		1,0
Chondroitin Sulphate	0,2		0,4		0,6		0,8		1,0
Polyvinyl alcohol	0,2		0,4		0,6		0,8		1,0

El Polietilenglicol 400 (PEG 400) y Polietilenglicol 4000 (PEG 4000) se agregaron a la fórmula base por separado, para estudiar el efecto en los diferentes parámetros.

Como se ve en la Figura 28, las temperaturas de gelificación fueron inferiores a la temperatura corporal impidiendo ser administradas y servir como sistema de liberación sostenida.

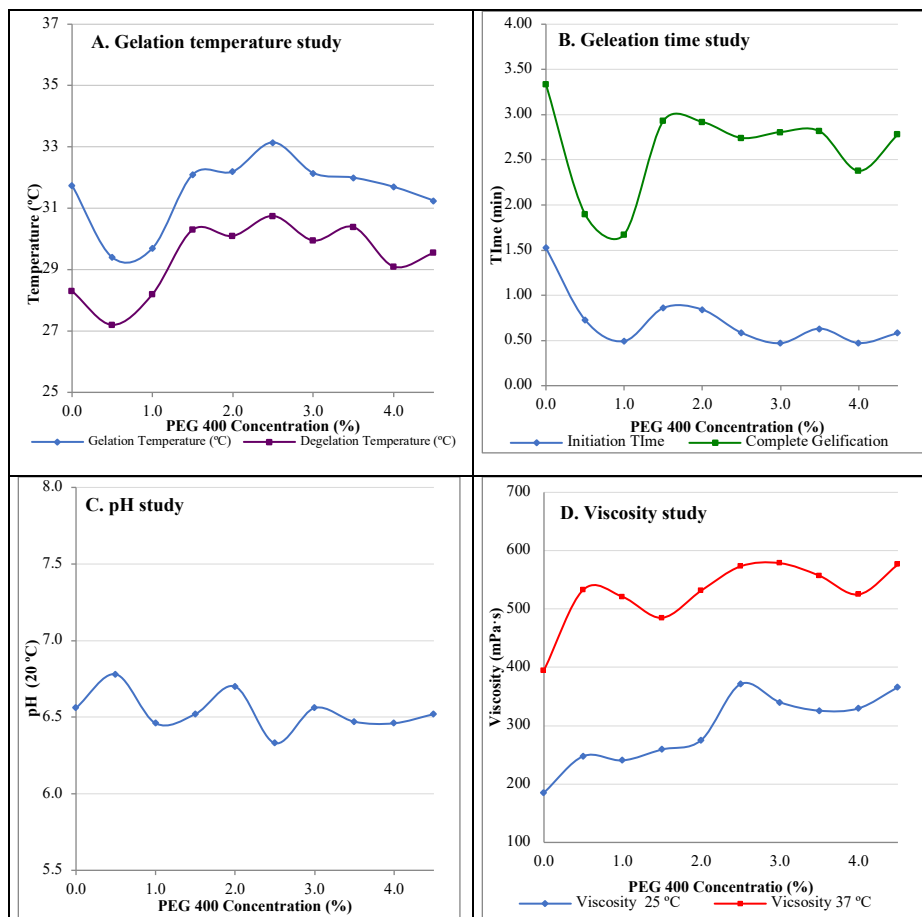


FIGURA 28 CARACTERIZACIÓN DEL GEL AL AÑADIR PEG 400

El efecto de la adición de PEG 400 en la temperatura de gelificación fue consistente con los resultados reportados por diferentes autores (230,231). La adición inicial de PEG 400 causó una disminución en la temperatura de gelificación, pero el aumento progresivo de la concentración de PEG 400 provocó un aumento en la temperatura de gelificación, a través de una interferencia de las moléculas de PEG 400 en el proceso de micelización del poloxámero. También se observa que al aumentar la concentración de PEG 400 se modificó el tiempo gelificación total (valor p 0,0715) pero no el tiempo de iniciación de este (valor p 0,903).

La temperatura de desgelificación, que es una medida de la reversibilidad de la gelificación y la cual no se ha reportado en estudios anteriores, se vio afectada por la concentración de PEG 400 (valor p 0,0068).

La viscosidad a temperatura ambiente (<25 °C) de las diferentes formulaciones debería ser lo suficientemente baja como para fluir fácilmente durante la administración con una jeringa y la viscosidad a temperatura corporal (37 °C), lo suficientemente alta como para formar un implante consistente. La adición de PEG 400 aumentó significativamente la viscosidad a 25 °C (p 0,0262) pero no a 37°C (valor p 0,3960), aunque se puede observar una tendencia a aumentarla.

El pH no se vio afectado por la adición de PEG 400 al formula, permaneció entre 6,33 y 6,78, valores que proporcionan la estabilidad del PA y evitan el daño tisular.

Se estudió adicionalmente la osmolalidad, como parámetro de seguridad de la formulación para prevenir la irritación local, el dolor o el daño endotelial. La adición de PEG 400 afectó considerablemente la osmolalidad (valor p 0,0000) con mediciones fuera de valores seguros (<400 mOsm / kg).

La mayoría de los parámetros estaban dentro de los límites aceptables para una formulación parenteral en el rango de las concentraciones de PEG 400 estudiadas, aunque los valores de osmolalidad estaban por encima de los recomendados.

La adición de Polietilenglicol 4000 (PEG 4000) a la fórmula base, causó cambios en las propiedades termosensibles del gel, provocando una disrupción de la gelificación al aumentar la temperatura, es decir, el gel perdió sus propiedades de gelificación termorreversible.

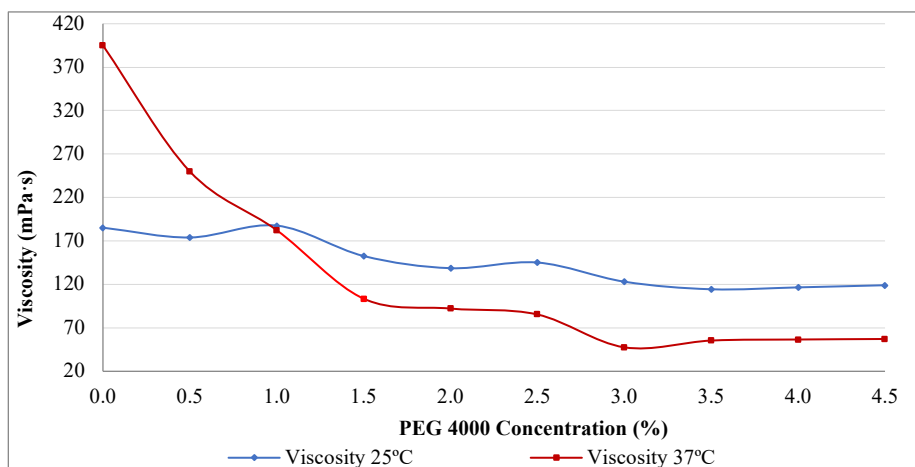


FIGURA 29 CARACTERIZACIÓN DE LA VISCOSIDAD DEL GEL AL AÑADIR PEG 4000

Al mismo tiempo, hubo una disminución de la viscosidad (Figura 29) al aumentar la temperatura y la concentración de PEG 4000. Según el análisis estadístico, un modelo Y recíproco explica la relación entre la concentración de PEG 4000 y la viscosidad a temperatura ambiente. Dado que el valor p de la prueba ANOVA es inferior a 0,01, hay una relación estadísticamente significativa entre la viscosidad a 25 °C y la concentración de PEG 4000 con un nivel de confianza del 99%. Además, también hubo una relación estadísticamente significativa entre la viscosidad a 37 °C y la concentración de PEG 4000, pero en este caso, un modelo de raíz cuadrada de X explica el 91% de la relación. Estos resultados confirmaron un cambio en las propiedades del gel.

En términos de seguridad de la formulación, se estudiaron el pH y la osmolalidad. La adición de PEG 4000 causó una disminución inicial del pH de la formulación base, pero el aumento de la concentración no afectó dicho valor base ( $p = 0,3902$ ) y se mantuvo alrededor 6,30.

La adición de PEG 4000 causó una disminución inicial en la osmolalidad, pero al aumentar su concentración, se observó un aumento lineal de la misma (el modelo lineal explica el 96% de los datos). Hubo una relación estadísticamente significativa entre la osmolalidad y la concentración de PEG 4000 con un nivel de confianza del

99%. Se observó una diferencia significativa entre la osmolalidad teórica y la osmolalidad experimental.

La adición de Hialuronato sódico como agente bioadhesivo causó un cambio en sus propiedades termorreversibles de una manera dependiente de la dosis. Esto es debido a que el HS se comporta como un gel (232). A una concentración inferior al 0,5% no se observaron propiedades termorreversibles y las viscosidades a temperatura ambiente fueron iguales a las viscosidades a 37 °C. Por encima de esta concentración, las propiedades termorreversibles no se pudieron demostrar como se muestra en la Figura 30.

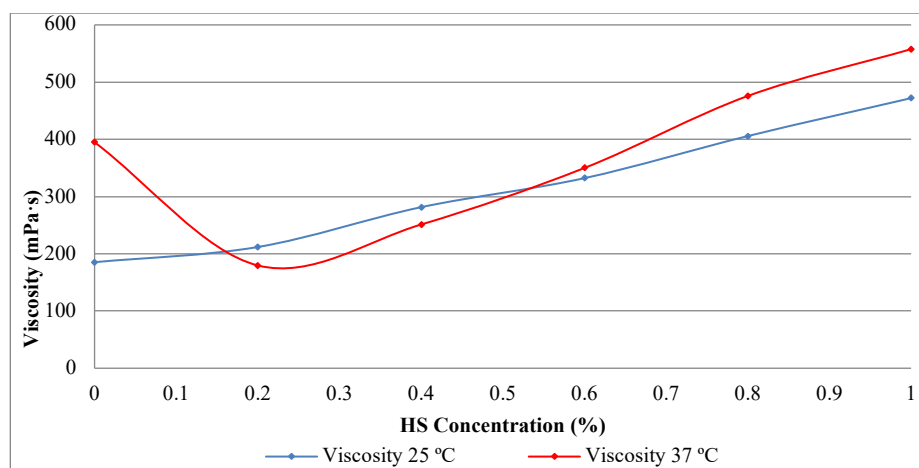


FIGURA 30 CARACTERIZACIÓN DE LA VISCOSIDAD DEL GEL AL AÑADIR HS

Este fenómeno puede explicarse por la disminución del agua libre disponible como resultado de la formación del gel de HS (233), cambiando la solvatación de los bloques Poloxamer POE y POP que dificulta el fenómeno de agregación y formación de la micela, primer paso de la gelificación (234).

Como las soluciones de HS son altamente viscosas con propiedades de flujo no newtonianas (235), su adición a la fórmula causó un aumento de la viscosidad a temperatura ambiente y a 37 °C ( $\tau_b = 0,802$  y  $0,607$ ;  $p < 0,001$ ), anulando las propiedades termorreversibles del gel.

También se observó un aumento en la osmolalidad dependiente de la concentración de HS ( $\tau_b = 0,795$   $p < 0,001$ ). A concentraciones superiores al 0,5%, cuando se igualaron las curvas de viscosidad a las dos temperaturas estudiadas, la osmolalidad de la formulación fue superior a 550 mOsm / kg. Por otro lado, su adición no afectó el pH ( $p = 1$ ).

Como el HS, la adición de la condroitín sulfato a la fórmula base causó una interrupción en la formación de gel, probablemente inducida tanto por cambios de solvatación en los bloques POX y POP del poloxámero como por impedimento estérico. Su adición, no afectó el pH ni la osmolalidad ( $p = 0,301$ ,  $p = 0,124$ ), pero sí la viscosidad (Figura 31), que disminuyó al aumentar la concentración (temperatura ambiente y a 37 °C -  $\tau_b = -0,820$  y  $-0,931$ ;  $p < 0,001$ ).

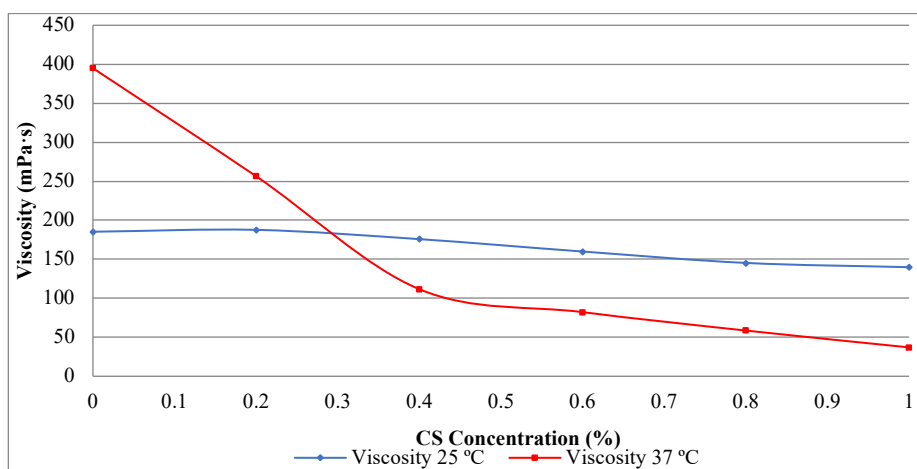


FIGURA 31 CARACTERIZACIÓN DE LA VISCOSIDAD DEL GEL AL AÑADIR CS

Existe una relación estadísticamente significativa entre la concentración de PVA y las características termorreversibles de la fórmula como se ve en la Figura 32.



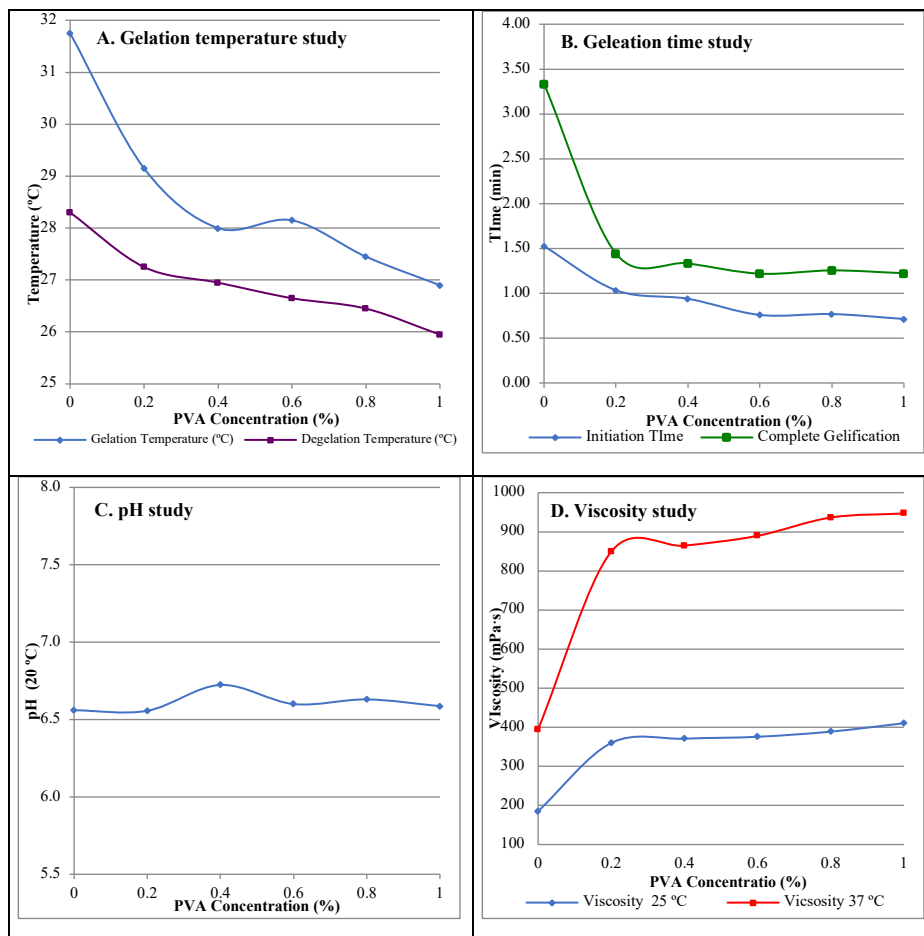


FIGURA 32 CARACTERIZACIÓN DEL GEL AL AÑADIR PVA

Se observa una tendencia decreciente significativa en las propiedades termorreversibles con el aumento de la concentración de PVA tanto para las temperaturas de gelificación ( $\tau_b = -0,877$ ;  $p < 0.001$ ) como para la temperatura de desgelificación ( $\tau_b = -0,857$ ;  $p < 0.001$ ); y en el tiempo de gelificación ( $\tau_b = -0.806$ ;  $p < 0.001$ ).

Estos resultados pueden ser consecuencia del mecanismo de gelificación de PVA. La alta concentración de grupos hidroxilo presentes en su molécula, favorece la creación de estructuras semicristalinas a través de enlaces de hidrógeno intramoleculares (236,237); los cuales impedirían el proceso de micelización y gelificación.

A pesar del aumento significativo en la viscosidad a temperatura ambiente ( $\tau_b = -0,873$ ;  $p < 0,001$ ), la formulación aún es lo suficientemente fluida como para ser fácilmente inyectable en todas las concentraciones estudiadas. Además, se observó un aumento significativo en la viscosidad a 37 °C ( $\tau_b = -0,838$ ;  $p < 0,001$ ).

El pH no se vio afectado por la adición de PVA a ninguna concentración estudiada ( $p = 0,519$ ), pero la osmolalidad aumentó significativamente ( $\tau_b = 0,865$ ;  $p < 0,001$ ) observándose que a concentraciones de PVA iguales o superiores a 0,5%, los valores de osmolalidad son superiores al valor límite de seguridad.

Después del análisis de la adición de los diferentes polímeros a la fórmula base en términos de características fisicoquímicas y térmicas, se realizó un estudio de bioadhesión. Para cada polímero, se eligió la concentración óptima dentro de la fórmula base y se midió la bioadhesión usando un dinamómetro. La fuerza de adhesión se definió como la fuerza máxima registrada en el gráfico, la cual corresponde a la fuerza necesaria para separar ambas superficies.

Las formulaciones estudiadas se describen a continuación en la tabla 15.

*Tabla 16. Composición de las formulas de los estudios de bioadhesión*

Ingrediente (%)	Número de Formulación							
	1	2	3	4	5	6	7	9
P407	12,5	12,5	12,5	12,5	12,5	12,5	12,5	12,5
HPMC	3,3	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
PVP	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
LC	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
DSP	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
PEG 400	-	-	1,5	2,0	-	-	-	-
PEG 4000	-	-	-	-	0,5	-	-	-
CS	-	-	-	-	-	-	-	0,2
PVA	-	-	-	-	-	0,1	0,2	-

La prueba estadística Shapiro-Wilk se uso para conocer la normalidad de los datos obtenidos, confirmando una distribución no normal.

Por lo tanto, para determinar si la adición del polímero bioadhesivo afecta la bioadhesión de la fórmula, se realizó la prueba estadística no paramétrica de Kruskal-Wallis de los siguientes datos (resultados obtenidos en cN (gf):

*Tabla 17. Resultados de los estudios de bioadhesión*

	Número de Formulación							
	1	2	3	4	5	6	7	9
	1,243	2,855	3,365	4,691	3,161	2,651	3,365	3,161
	3,365	3,773	5,200	4,181	3,773	5,200	2,855	3,263
	3,059	2,753	4,996	4,691	3,161	5,098	5,608	2,549
	2,957	2,243	4,181	2,345	2,855	2,855	4,894	3,977
	3,161	2,651	6,016	3,875	3,467	7,342	4,181	3,569
	3,263	2,549	5,506	6,016	4,181	3,467	2,447	3,263
	3,569	2,753	3,161	4,792	2,243	4,283	5,200	2,447
	3,773	3,059	3,365	2,651	2,141	7,342	3,161	3,467
	4,079	-	3,059	3,365	2,141	3,467	2,447	3,773
	3,467	-	-	-	2,039	-	4,792	-
<b>Me</b>	3,314	2,753	4,181	4,181	3,008	4,283	3,773	3,263
<b>IQR</b>	3,161	2,600	3,314	3,187	2,141	3,467	2,855	3,085

Se observa que las formulaciones 2 (fórmula base sin ninguna adición de polímero bioadhesivo) y 5 (fórmula base más PEG 4000) tuvieron el menor valor de adhesión. Estos resultados fueron esperables, dado que ambas formulaciones no presentaban características termorreversibles y tenían baja viscosidad a temperatura corporal.

La fórmula base con la adición de PVA a concentración de 0,1% (Formulación 6) fue la que produjo la mayor fuerza de adhesión, siendo diferente del resto de formulaciones.

También se observó que los resultados obtenidos para las formulaciones 9, 1, 7, 4 y 3 no fueron diferentes estadísticamente.

La fórmula inicial usada como fórmula base (Formulación 1) tiene parámetros fisicoquímicos y de bioadhesión adecuados. La adición a la fórmula de PVA en una concentración de hasta 0.1%, mejora su bioadhesión y puede usarse en estudios posteriores durante el desarrollo del producto final.

## 5. DISCUSIÓN GENERAL

---



La importancia de desarrollar un sistema de liberación para el control postquirúrgico del dolor en cirugía abdominal es fundamental ya que el mal control del dolor se asocia a una estancia hospitalaria y tiempo de recuperación prolongado; a un aumento de la morbilidad y a un aumento en los costes sanitarios.

La formulación del gel termosensible de lidocaína y dexametasona, contribuiría a mejorar estos indicadores ya que es de fácil aplicación, con la posibilidad de una administración localizada y sostenida en cualquier cirugía abdominal.

Este trabajo aporta un desarrollo novedoso que podría favorecer un nuevo tipo de anestesia regional, más segura y precisa que las técnicas actuales; podría disminuir los efectos adversos de los principios activos al evitar su absorción errática por todo el peritoneo.

Hay varios estudios donde se desarrollan geles termosensibles a base de poloxámero 407 en combinación con otros poloxámeros, como el 188; también se describen estudios con el uso de otros polímeros como la hidroxietilcelulosa e hidroxipropilmetilcelulosa; pero todos ellos, usan poloxámero 407 a concentraciones superiores al 18%, concentración potencialmente de riesgo para generar hiperlipidemias (174,238,239).

Al realizar una formulación a base de poloxámero 407 a una concentración inferior a 13%, fue necesaria la combinación de varios polímeros; no combinados con anterioridad.

La primera aproximación para la formulación de un gel termorreversible de aplicación intraperitoneal de Clorhidrato de lidocaína y Fosfato sódico de dexametasona, como agentes analgésicos; se realizó mediante el uso del Poloxamer 407 como polímero principal de la formulación. Basándose en la bibliografía, la concentración del poloxámero se fijó a un valor menor de 20% p/p, siendo esta la concentración habitual del polímero en diferentes formulaciones

descritas por varios autores. Se intentó bajar la concentración durante el desarrollo a una concentración por debajo de 15% p/p para poder evitar los efectos adversos tras la inyección intraperitoneal

Con el fin de poder bajar la concentración y tener las características térmicas deseadas, es necesario añadir otro polímero para poder ajustar la temperatura de gelificación. Con este fin se añade PVP, que a parte de ser un polímero bioadhesivo; se ha usado con anterioridad en formulaciones termosensibles disminuyendo la temperatura de gelificación. Su concentración se fija a concentraciones bajas por su acción irritante a altas concentraciones en mucosas y heridas.

Para mejorar el perfil térmico y sobretodo el perfil bioadhesivo, la HPMC es elegido, por su ya documentado uso en diferentes formulaciones termosensibles. Es una molécula de la cual es sencillo disponer, es biocompatible en el peritoneo y estable a condiciones normales de trabajo. La pre-formulación del gel se lleva a cabo mediante la variación sistemática de la concentración de los tres polímeros escogidos, hasta establecer una relación que permite obtener una temperatura de gelificación entre 29 a 33 °C.

Los geles se caracterizan en temperatura de gelificación, tiempo de gelificación, pH, viscosidad a 25 y 37 °C, densidad y osmolalidad.

La viscosidad a temperatura ambiente es determinada con el fin de conocer su estado durante el almacenamiento y la viabilidad de administración de la formulación. Por otro lado, la viscosidad a temperatura de 37 °C (temperatura corporal) es determinada para establecer si una vez inyectada la formulación, ésta es capaz de formar el gel y actuar como dispositivo de liberación continuada.

La determinación de la viscosidad a las dos diferentes temperaturas es un indicador de la característica térmica de un gel termosensible, ya que, en este tipo de formulaciones, la viscosidad a temperatura ambiente es significativamente menor

que la de 37 °C. Durante el desarrollo, las formulaciones que desde un principio no presentan dicha diferencia fueron descartadas.

El tiempo de gelificación es necesario conocerlo ya que indica si la formulación una vez inyectada es capaz de formar un “*depot*” antes de difundirse por todo el peritoneo. Un tiempo de iniciación de gelificación de un minuto es suficiente para evitar la su difusión.

Durante el estudio se observó una disminución de la temperatura de gelificación al añadir y al aumentar la concentración de hidroxipropilmetilcelulosa. Este proceso tiene diferentes mecanismos descritos, principalmente, el aumento de la viscosidad de la formulación por la disolución del polímero y su capacidad de unirse a las cadenas de polioxietileno de la molécula del poloxámero 407. Esto provoca la deshidratación, causando un aumento en el entrelazamiento de las moléculas adyacentes y aumentando los enlaces de hidrógeno intermolecular, lo que conlleva a la gelificación a temperatura más baja.

La concentración de polivinilpirrolidona no tiene un efecto estadísticamente significativo en la temperatura de gelificación (p-valor 0,6797), pero se observa una variación con a distintas concentraciones: a concentraciones < 1 % de PVP, hay un aumento de la temperatura de gelificación; entre el 1 al 2%, la temperatura de gelificación disminuyó y a concentraciones superiores al 2% no había proceso de gelificación.

Una vez determinada la concentración adecuada de polímeros para el desarrollo de la formulación, se determina la temperatura de gelificación con la Lidocaína y Dexametasona en la fórmula.

Al determinar la temperatura de gelificación con la formulación completa, se observó que la adición de los principios activos, los cuales son sales, provocan una disminución de la temperatura de gelificación. Esta tendencia coincide con la serie



de Hofmeister (240), la cual indica el efecto salting out de los iones, que provoca una disminución de la solubilidad de algunas cadenas de los polímeros, debido a la competencia que se genera entre los iones agregados y el polímero, por las moléculas de solvatación(241).

Para ajustar la temperatura de gelificación con los activos ya presentes, se parte de la formulación con mejores características térmicas y se realizan variaciones de la concentración de HPMC y/o PVP.

Se observa que, al aumentar la concentración de PVP, la temperatura de gelificación disminuye, pero la temperatura de desgelificación aumenta. Esto quiere decir que el gel se forma a temperaturas más bajas y que se mantiene en forma de gel hasta temperaturas más altas. A pesar de esto, no gelifica a temperatura corporal. Esto puede ser debido a que la PVP promueva las interacciones hidrófobas entre las cadenas de ambos polímeros, provocando la gelificación.

Por otra parte, a concentraciones menores de 2,5% de HPMC, no hay formación de gel a pesar de aumentar la temperatura. Esto puede ser debido a que a concentraciones tan bajas de HPMC, la viscosidad no es suficiente para formar un gel de alta consistencia. El efecto de la adición de HPMC se confirma, al observar una disminución de la temperatura de gelificación con el aumentar de su concentración.

Al estudiar el efecto de ambos polímeros juntos, se observa que aumentando la concentración de HPMC se disminuye la temperatura de gelificación y que al aumentar la concentración de PVP se aumenta la temperatura de gelificación.

La formulación cuya composición es: 12,5/3,3/0,4% (P407/ HPMC/PVP), presenta las mejores características térmicas y fisicoquímicas; y se considera como la fórmula de partida para estudios posteriores.

Debido a que la formulación tiene como vía de administración la vía parenteral, es necesario que ésta tenga un pH lo más cercano posible al pH fisiológico para prevenir daño en el tejido y dolor. Para poder controlar el pH y ajustarlo a un pH adecuado para la estabilidad de los principios activos y las necesidades fisiológicas, se decide usar una solución reguladora de fosfatos de Sorensen ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ). La adición de componentes de carácter iónico, como son las soluciones amortiguadoras, provocó una disminución estadísticamente significativa de la temperatura de gelificación ( $p$ -valor 0,0012). Se desarrollan diferentes formulaciones con solución amortiguadora, en las que se varía la concentración de los tres polímeros y se determina la temperatura de gelificación. Se observó que la temperatura de gelificación es baja para la mayoría de las formulaciones y la mayoría de ellas se vuelven líquidas nuevamente al superar los 35-36 °C. Esto implica que las formulaciones no formarían un gel al ser inyectadas en el cuerpo.

Debido a la dificultad de establecer las concentraciones de los polímeros para lograr las características térmicas deseadas en las formulaciones tamponadas, se estudio la capacidad reguladora de la formulación sin tamponar y se compara con la capacidad reguladora una vez tamponada. Se observo que las formulaciones no tamponadas tienen una mala capacidad amortiguadora ( $5\text{E}-03$  y  $5\text{E}-4$ ).

Al observarse la baja capacidad reguladora de la fórmula, se realiza el estudio de estabilidad monitoreando el pH durante un período de tiempo (1 mes a 40 °C) para determinar si es necesario mejorar la capacidad reguladora. En el estudio no hubo variación del pH en el tiempo en las formulaciones estudiadas. No se observa variación del pH y no hay una relación estadísticamente significativa (valor  $p < 0.05$ ) entre el pH y el tiempo en las formulaciones con y sin un sistema tampón.

Durante el desarrollo del gel de administración parenteral, la osmolalidad como parámetro fundamental fue estudiada cuidadosamente. Se observaron valores de osmolalidad experimental para las diferentes formulaciones más altas de lo esperadas según su cálculo teórico.

La necesidad de determinar experimentalmente la osmolalidad está establecida regulatoriamente y se hace midiendo la depresión del punto de congelación. Teóricamente, la osmolalidad puede calcularse a partir del valor de cualquier propiedad coligativa de la solución, pero no siempre se conocen y su determinación no es regularmente asequible en el campo del desarrollo farmacéutico.

A efectos prácticos, la osmolaridad (una cantidad teórica) expresada en osmoles por L de una solución se usa ampliamente y se calcula a partir de la concentración w / v utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Osmolaridad (mOsm / L)} = \text{Concentración (g / L)} \times 1 / (\text{Peso molecular (mol / g)} \times \text{número osmol / mol} \times 1000 \text{mOsm / Osm})$$

*Ecuación 3. Osmolaridad*

El número de osmol / mol es igual a 1 para los no electrolitos y es igual al número de iones por molécula para los electrolitos fuertes. Este cálculo supone una solución ideal y omite factores como la solvatación, las fuerzas inter-iónicas e interacciones entre partículas.

Para calcular la osmolalidad a partir de valores teóricos es necesario hacer la conversión mediante la densidad del producto. En nuestro caso se utilizó una densidad de 0,997 g / ml.

Las diferencias entre la osmolalidad teórica calculada con la ecuación 3 y la osmolalidad experimental son debidas, a que la osmolalidad teórica solo tiene cuenta el peso molecular y la concentración del soluto y la osmolalidad real está representada por la ecuación virial osmótica (OVE), representada por polinomios de segundo o mayor orden en concentración y tiene en cuenta las interacciones entre los solutos, donde cada soluto tiene un término independiente.

La osmolalidad de los polímeros depende más del grado de polimerización y la interacción entre las cadenas que el número de partículas activas en solución (moléculas o iones).

Con el objetivo de predecir la osmolalidad de forma rápida durante el desarrollo teórico de productos parenterales, se determinó experimentalmente la osmolalidad de diferentes polímeros a diferentes concentraciones y durante un período de almacenamiento a 40 °C. Posteriormente, se realizó el análisis estadístico de los valores obtenidos para cada polímero y se obtuvieron ecuaciones predictivas de la osmolalidad en solución acuosa dentro del margen de concentraciones estudiadas.

Para los polímeros estudiados, la osmolalidad teórica difiere de la osmolalidad experimental debido a su interacción con las moléculas de agua, factor que afecta las propiedades coligativas de una solución.

Con el fin de mejorar la bioadhesividad del gel desarrollado, se añaden diferentes polímeros con propiedades bioadhesivas y se analiza su efecto en las características fisicoquímicas y térmicas del gel y se estudia su bioadhesión. La adición de un polímero bioadhesivo a la formulación, tiende a disminuir la temperatura de gelificación, por lo que es necesario disminuir el HPMC de la fórmula de partida para poder añadir el bioadhesivo.

La adición de PEG 400 provoca inicialmente una disminución de la temperatura de gelificación; pero con el aumento progresivo de su concentración, la temperatura de gelificación finalmente se ve incrementada. Estos resultados concuerdan con los ya observados por diferentes autores. Como era de esperar, la adición de PEG 400 provoca un aumento de la viscosidad a 25 °C (p-valor 0,0262) pero a 37 °C, a pesar de no haber relación estadísticamente significativa (p-valor 0,3960), se observa una tendencia de aumento de la viscosidad. La osmolalidad se vio considerablemente afectada por la adición de PEG 400 (p-valor 0,0000) y fuera de los valores teóricos esperados a concentraciones tan bajas como 0,5%.

La adición de PEG 4000 a la formulación, provocó un cambio en las características térmicas del gel, revirtiendo la termogelificación. Se observó una disminución de la viscosidad al aumentar la temperatura y la concentración de PEG 4000, resultados que confirmaron un cambio en las propiedades del gel. Como parámetros de seguridad para prevenir la irritación local, dolor o daño endotelial, la osmolalidad y el pH fueron estudiados. La osmolalidad se vio afectada por la adición de PEG 4000, pero no excedió los valores esperados ( $\leq 400$  mOsm / kg), por otro lado, el pH no fue afectado por PEG 4000.

La adición de polivinilalcohol (PVA), tal como se esperaba, provocó una disminución de la temperatura de gelificación y el tiempo de gelificación, pero se observó un aumento de la viscosidad y de la osmolalidad. El pH no se vio afectado por la adición del polímero.

La adición de hialuronato sódico (HS), la sal soluble del ácido hialurónico y de condroitin sulfato (CS), cómo ya había pasado con el PEG 4000, provocó un cambio en las características térmicas del gel, observándose la no gelificación del mismo con el aumento de la temperatura.

Durante el estudio se observó que la adición de polímeros aumentó considerablemente la osmolalidad de la fórmula, desviándose de la osmolalidad teórica determinada. Con los estudios del efecto de la adición del polímero bioadhesivo a la formulación a nivel fisicoquímico y de las características térmicas, se establece un método de medida de la bioadhesión mediante un dinamómetro MT-LQ fabricado por la empresa Stable Micro Systems, equipado con celda de carga de tracción/compresión de 5daN calibrada al inicio de cada ensayo. Para el ensayo se ha utilizado el cilindro P/0.5R de 12.7 mm de diámetro y 40 mm de altura acoplado a la celda de carga y recubierto con tejido peritoneal de cerdo. Se presiona el cilindro a una velocidad de 0.1 mm/s hasta conseguir una fuerza de compresión de 0.15 N manteniendo el contacto durante 60 s. A continuación, se separa el

cilindro a la misma velocidad y se mide la fuerza (y el trabajo) de adhesión (separación).

Se realiza el análisis estadístico para determinar la normalidad de los datos, se confirma la no normalidad de su distribución, por lo cual, se analizan los datos con el un test no paramétrico.

Los resultados del estudio indican que la formulaciones fórmula base sin ninguna adición de polímero bioadhesivo y la fórmula base con PEG 4000 tuvieron el menor valor de adhesión. La formula inicial y la formula base con PVA tienen los mejores valores de adhesión. Por otra parte, no se observa diferencia significativa entre el resto de polimeros añadidos.



## 6. CONCLUSIONES

---





Lo expuesto anteriormente permite concluir que:

1.- Se ha desarrollado un gel inyectable termosensible estable y con bajo potencial de producir hiperlipidemias para la administración peritoneal de clorhidrato de lidocaína y fostato sódico de dexametasona con propiedades bioadhesivas que deben posibilitar la prolongación del efecto terapéutico.

Asimismo, de manera específica se puede inferir que:

2. El aumento de la concentración de Poloxamer 407 e Hidroxipropilmetilcelulosa disminuye la temperatura de gelificación.
3. La adición de activos de carácter iónico disminuye la temperatura de gelificación
4. La concentración de Polivinilpirrolidona no tiene un efecto estadísticamente significativo en la temperatura de gelificación, pero si genera una tendencia clara de aumento.
5. La formulación cuya composición es 12,5/3,3/0,4% (P407/ HPMC/PVP) presenta las mejores características térmicas y fisicoquímicas por lo cual, fue la fórmula de partida para realizar los estudios de bioadhesión.
6. La determinación teórica de la osmolalidad basada en el peso molecular como el único factor determinante no predice la osmolalidad en formulaciones complejas, por lo que se desarrollaron ecuaciones matemáticas predictivas.
7. La adición a la fórmula base de PVA a una concentración de hasta 0,1%, mejora su bioadhesión y puede usarse en estudios posteriores de caracterización biofarmacéutica.
8. Se ha puesto a punto un nuevo método para valorar la característica de bioadhesión de geles medicamentosos, que es capaz de procurar mediciones fiables y repetitivas que permiten la comparación entre distintas formulaciones.



## 7. BIBLIOGRAFÍA

---



1. Pouwels S, Stokmans R a, Willigendael EM, Nienhuijs SW, Rosman C, van Ramshorst B, et al. Preoperative exercise therapy for elective major abdominal surgery: a systematic review. *Int J Surg* [Internet]. 2014 Jan;12(2):134–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24325942>
2. Polanco-García M, García-Lopez J, Fàbregas N, Meissner W, Puig MM, PAIN-OUT-Spain Consortium. Postoperative Pain Management in Spanish Hospitals: A Cohort Study Using the PAIN-OUT Registry. *J Pain* [Internet]. 2017;18(10):1237–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28619696>
3. Prabhakar A, Mancuso KF, Owen CP, Lissauer J, Merritt CK, Urman RD, et al. Perioperative analgesia outcomes and strategies. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* [Internet]. 2014 Jun;28(2):105–15. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24993432>
4. Bouman E a, Theunissen M, Bons S a, van Mook WN, Gramke H-F, van Kleef M, et al. Reduced incidence of chronic postsurgical pain after epidural analgesia for abdominal surgery. *Pain Pract* [Internet]. 2014 Feb;14(2):E76-84. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23758753>
5. Tong K, Nolan W, O’Sullivan DM, Sheiner P, Kutzler HL. Implementation of a Multimodal Pain Management Order Set Reduces Perioperative Opioid Use after Liver Transplantation. *Pharmacother J Hum Pharmacol Drug Ther*. 2019 Oct 7;
6. Zhao J, Davis SP. An integrative review of multimodal pain management on patient recovery after total hip and knee arthroplasty. *Int J Nurs Stud*. 2019 Oct;98:94–106.
7. Zhao C, Liu A, Santamaria CM, Shomorony A, Ji T, Wei T, et al. Polymer-tetrodotoxin conjugates to induce prolonged duration local anesthesia with minimal toxicity. *Nat Commun*. 2019 Dec 1;10(1).
8. Tawfik MM, Mohamed YM, Elbadrawi RE, Abdelkhalek M, Mogahed MM, Ezz HM. Transversus abdominis plane block versus wound infiltration for analgesia after cesarean delivery: A randomized controlled trial. *Anesth Analg*. 2017;124(4):1291–7.
9. Bell R, Ward D, Jeffery J, Toogood GJ, Lodge JpA, Rao K, et al. A Randomized Controlled Trial Comparing Epidural Analgesia Versus Continuous Local Anesthetic Infiltration Via Abdominal Wound Catheter in Open Liver Resection. *Ann Surg*. 2019 Mar 1;269(3):413–9.
10. Dahl JB, Møiniche S. Relief of postoperative pain by local anaesthetic infiltration: Efficacy for major abdominal and orthopedic surgery. Vol. 143, *Pain*. 2009. p. 7–11.
11. Møiniche S, Jørgensen H, Wetterslev J, Dahl JB. Local anesthetic infiltration for postoperative pain relief after laparoscopy: A qualitative and quantitative systematic review of intraperitoneal, port-site infiltration and mesosalpinx block. *Anesth Analg*. 2000;90(4):899–912.
12. Blackburn SC, Stanton MP. Anatomy and physiology of the peritoneum. *Semin Pediatr Surg*. 2014 Dec 1;23(6):326–30.
13. Sammour T, Kahokehr A, Soop M, Hill AG. Peritoneal damage: the inflammatory response and clinical implications of the neuro-immuno-humoral axis. *World J Surg* [Internet]. 2010;34(4):704–20. Available from:

- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20049432>
14. Borley N. Peritoneum and peritoneal cavity. In: Susan Standing, editor. *Grays Anatomy: The Anatomical Basis of Clinical Practice*. 40th ed. Churchill Livingstone; 2008. p. 1099–111.
  15. Paidotribo. Peritoneo [Internet]. [cited 2019 Oct 10]. Available from: <http://www.paidotribo.com/pdfs/849/849.0.pdf>
  16. Ronan O’Rahilly MD, Fabiola Müller D rer. nat., Stanley Carpenter PD, Rand Swenson, D.C., M.D. P. The abdominal viscera and peritoneum. In: Rand Swenson, editor. *BASIC HUMAN ANATOMY A Regional Study of Human Structure* [Internet]. O’Rahilly; 2008. Available from: [http://www.dartmouth.edu/~humananatomy/part\\_5/chapter\\_26.html](http://www.dartmouth.edu/~humananatomy/part_5/chapter_26.html)
  17. Anatomia [Internet]. [cited 2019 Jun 18]. Available from: [http://www.fvet.uba.ar/areas/arch\\_anato/anatomia\\_2/anato\\_2\\_teorico\\_9.pdf](http://www.fvet.uba.ar/areas/arch_anato/anatomia_2/anato_2_teorico_9.pdf)
  18. Levison ME, Bush LM. Peritonitis and Intraperitoneal Abscesses. In: John E. Bennett RD and MJB, editor. *Mandell, Douglas, and Bennett’s Principles and Practice of Infectious Diseases*. 8th ed. Saunders; 2015. p. 935–59.
  19. Moore KL, Dalley AF, Agur AMR. *Anatomía con orientación clínica*. 5th ed. Ed. Médica Panamericana; 2007.
  20. Kumar A, Pearl M. Mini-laparotomy versus laparoscopy for gynecologic conditions. *J Minim Invasive Gynecol* [Internet]. 2014 Jan;21(1):109–14. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1553465013003865>
  21. LAPAROTOMIA [Internet]. [cited 2019 Jun 22]. Available from: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/anatomia/computo/webabdomen/laparotomio.html>
  22. Laparotomy and abdominal trauma [Internet]. [cited 2019 Jun 22]. Available from: <http://www.who.int/surgery/Chapter6.pdf>
  23. Salky B a. Laparoscopic Abdominal Surgery. *Gastrointest Endosc* [Internet]. 1994;40(2):267–8. Available from: <http://bjarev.oupjournals.org/cgi/doi/10.1093/bjaceaccp/mkh032>
  24. Medical Legal Demonstrative Evidence: Bile Duct Injury Complications of Laparoscopic Cholecystectomy [Internet]. 2009 [cited 2019 Jun 22]. Available from: <http://www.medicallegalblog.com/2009/05/bile-duct-injury-complications-of.html>
  25. laparoscopichysterectomy.jpg (400×320) [Internet]. [cited 2014 Jun 22]. Available from: <http://0.tqn.com/d/surgery/1/0/O/-/-/laparoscopichysterectomy.jpg>
  26. Cahill R a. Natural orifice transluminal endoscopic surgery – here and now. *Surg* [Internet]. 2010 Feb;8(1):44–50. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1479666X09000043>
  27. Noguera Aguilar JF, Moreno Sanz C, Cuadrado García A, Olea Martínez-Mediero JM, Morales Soriano R, Vicens Arbona JC, et al. [NOTES. History and current situation of natural orifice transluminal endoscopic surgery in Spain]. *Cirugía española* [Internet]. 2010 Oct;88(4):222–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20667526>
  28. VR Natural Orifice Transluminal Endoscopic Simulator (NOTES) [Internet]. [cited 2014 Jun 24]. Available from:

- [http://www1.imperial.ac.uk/simms/research/procedure\\_modelling\\_simulation/notes/](http://www1.imperial.ac.uk/simms/research/procedure_modelling_simulation/notes/)
29. Dr. Manuel Díaz Tie. Dolor abdominal agudo. Servicio de Cirugía General y Digestiva. Hospital de Monforte (España).
  30. Queralt J. Nocicepció 2. Màster en Recerca, Desenvolupament i Control de medicaments Aspectes cel·lulars i moleculars de la Inflamació i el Dolor. 2014.
  31. Abalo R, Martín-Fontelles MI. Cannabis, Cannabinoids, and Visceral Pain. In: Handbook of Cannabis and Related Pathologies: Biology, Pharmacology, Diagnosis, and Treatment. Elsevier Inc.; 2017. p. 439–49.
  32. Kaufman JA, Jones TB. Viscerosensory Pathways. In: Fundamental Neuroscience for Basic and Clinical Applications: Fifth Edition. Elsevier Inc.; 2017. p. 278-285.e1.
  33. Kaye AD, Ali SIQ, Urman R. Perioperative Analgesia: Ever Changing Technology and Pharmacology. Best Pract Res Clin Anaesthesiol [Internet]. 2014 Mar;28(1):3–14. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1521689614000056>
  34. Voglis G, Tavernarakis N. The role of synaptic ion channels in synaptic plasticity. EMBO Rep [Internet]. 2006 Nov;7(11):1104–10. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1679792&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  35. Todd AJ. Identifying functional populations among the interneurons in laminae I-III of the spinal dorsal horn. Vol. 13, Molecular Pain. SAGE Publications Inc.; 2017. p. 1–19.
  36. Seymour B. Pain: A Precision Signal for Reinforcement Learning and Control. Vol. 101, Neuron. Cell Press; 2019. p. 1029–41.
  37. Kirkpatrick DR, McEntire DM, Smith TA, Dueck NP, Kerfeld MJ, Hamsch ZJ, et al. Transmission pathways and mediators as the basis for clinical pharmacology of pain. Vol. 9, Expert Review of Clinical Pharmacology. Taylor and Francis Ltd; 2016. p. 1363–87.
  38. Vadivelu N, Mitra S, Schermer E, Kodumudi V, Kaye AD, Urman RD. Preventive analgesia for postoperative pain control: a broader concept. Local Reg Anesth [Internet]. 2014 Jan;7:17–22. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4012350&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  39. Berridge MJ. Cell Signalling Biology: Module 10 - Neuronal Signalling [Internet]. Vol. 10, Cell signalling biology. Portland Press Limited; 2012. Available from: <http://www.biochemj.org/csb/010/>
  40. Long-Term Potentiation, Neuroscience, Assignment Help [Internet]. [cited 2014 Jun 24]. Available from: <http://www.expertsmind.com/topic/neuroscience/long-term-potentiation-93811.aspx>
  41. Fafaj A, Tastaldi L, Alkhatib H, Zolin S, Alaedeen D, Petro C, et al. The American Journal of Surgery Surgical treatment for chronic postoperative inguinal pain e Short term outcomes of a specialized center. Am J Surg [Internet]. 2019;17(2):131–57. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.amjsurg.2019.10.020>
  42. Schechter WP, Bongard FS, Gainor BJ, Weltz DL, Horn JK. Pain control in



- outpatient surgery. *J Am Coll Surg* [Internet]. 2002 Jul;195(1):95–104. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12113549>
43. Chou R, Gordon DB, De Leon-Casasola OA, Rosenberg JM, Bickler S, Brennan T, et al. Management of postoperative pain: A clinical practice guideline from the American pain society, the American society of regional anesthesia and pain medicine, and the American society of anesthesiologists' committee on regional anesthesia, executive committee, and administrative council. *J Pain*. 2016 Feb 1;17(2):131–57.
  44. Sun E, Memtsoudis S, Mariano E. Regional Anesthesia: A Silver Bullet, Red Herring, or Neither? *Anesthesiology*. 2019;131(6):1205–1206.
  45. Ventham NT, Hughes M, O'Neill S, Johns N, Brady RR, Wigmore SJ. Systematic review and meta-analysis of continuous local anaesthetic wound infiltration versus epidural analgesia for postoperative pain following abdominal surgery. *Br J Surg* [Internet]. 2013;100(10):1280–9. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/bjs.9204>
  46. Pöpping DM, Elia N, Van Aken HK, Marret E, Schug SA, Kranke P, et al. Impact of epidural analgesia on mortality and morbidity after surgery: Systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Ann Surg*. 2014;259(6):1056–67.
  47. Bos EME, Hollmann MW, Lirk P. Safety and efficacy of epidural analgesia. Vol. 30, *Current Opinion in Anaesthesiology*. Lippincott Williams and Wilkins; 2017. p. 736–42.
  48. Sekerak RJ, Sharan AD, Morris M, Nessim AD, Vira A. P140. Cost effectiveness analysis of spinal anesthesia versus general anesthesia in lumbar fusion surgery. *Spine J*. 2019 Sep;19(9):S223.
  49. Büttner B, Mansur A, Bauer M, Hinz J, Bergmann I. Einseitige Spinalanästhesie: Literaturübersicht und Handlungsempfehlung. *Anaesthesist*. 2016 Nov 1;65(11):847–65.
  50. Shaparin N, Sim A, Pappagallo M, Gritsenko K, Carullo V, Tsukanov J, et al. Intrathecal analgesia: time to consider it for your patient? *J Fam Pract* [Internet]. 2015 Mar;64(3):166–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25789343>
  51. McDonnell JG, O'Donnell B, Curley G, Heffernan A, Power C, Laffey JG. The analgesic efficacy of transversus abdominis plane block after abdominal surgery: A prospective randomized controlled trial. *Anesth Analg*. 2007 Jan;104(1):193–7.
  52. O'Leary RA, McDonnell JG. Transverse abdominis plane block: Evolution and current understanding. In: *Perioperative Medicine - Current Controversies*. Springer International Publishing; 2016. p. 313–23.
  53. Soliz JM, Lipski I, Hancher-Hodges S, Speer BB, Popat K. Subcostal transverse abdominis plane block for acute pain management: A review. Vol. 7, *Anesthesiology and Pain Medicine*. Kowsar Medical Publishing Company; 2017.
  54. Esteve N. Papel del Bloqueo TAP en la Analgesia Postoperatoria | *AnestesiaR* [Internet]. Papel del Bloqueo TAP en la Analgesia Postoperatoria. 2010 [cited 2019 Jul 10]. Available from: <http://anestesiaR.org/2010/papel-del-bloqueo-tap-en-la-analgesia-postoperatoria/>

55. Hammi C, Ahn K. Transversus Abdominis Plane Block [Internet]. StatPearls. 2019. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31613510>
56. Mukhtar BK, Bch MB. T RANSVERSUS A BDOMINIS P LANE ( TAP ) B LOCK. *J New York Sch Reg Anesth*. 2009;12:28–33.
57. Merritt CK, Mariano ER, Kaye AD, Lissauer J, Mancuso K, Prabhakar A, et al. Peripheral Nerve Catheters and Local Infiltration Analgesia in Perioperative Analgesia [Internet]. Vol. 28, Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology. Elsevier Ltd; 2014. 41–57 p. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1521689614000081>
58. Ganapathy S, Brookes J, Bourne R. Local infiltration analgesia. Vol. 29, *Anesthesiology Clinics*. 2011. p. 329–42.
59. Hayden JM, Oras J, Karlsson OI, Olausson KG, Thörn SE, Gupta A. Post-operative pain relief using local infiltration analgesia during open abdominal hysterectomy: a randomized, double-blind study. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2017 May 1;61(5):539–48.
60. Kuchálik J, Magnuson A, Lundin A, Gupta A. Local infiltration analgesia: a 2-year follow-up of patients undergoing total hip arthroplasty. *J Anesth*. 2017 Dec 1;31(6):837–45.
61. Seangleulur A, Vanasbodeekul P, Prapaitrakool S, Worathongchai S, Anothaisintawee T, McEvoy M, et al. The efficacy of local infiltration analgesia in the early postoperative period after total knee arthroplasty: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Anaesthesiol*. 2016;33(11):816–31.
62. Buvanendran A. Regional anesthesia and analgesia: prevention of chronic pain. *Tech Reg Anesth Pain Manag* [Internet]. 2008 Oct;12(4):199–202. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1084208X08000499>
63. Alkhamesi N a, Peck DH, Lomax D, Darzi a W. Intraperitoneal aerosolization of bupivacaine reduces postoperative pain in laparoscopic surgery: a randomized prospective controlled double-blinded clinical trial. *Surg Endosc* [Internet]. 2007 Apr;21(4):602–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17180268>
64. Jyothi A, Gigi V, Tunny S, Ranjan JM. Is Local Surgical Site Infiltration as Efficacious as Epidural Analgesia in Laparoscopic Low Anterior Resection? *J Clin Diagnostic Res* [Internet]. 2017;11(10):6–9. Available from: <https://web.b.ebscohost.com/abstract?direct=true&profile=ehost&scope=site&authtype=crawler&jrnl=0973709X&AN=126149260&h=2WVlqMnFQCg8lBXbXEcU1iUPIbuoxlDPDEWmdvzhfZ3NYk5%2BfNJ4XnEf6k8PXxhAsbXkU9N%2BN1cxKJSfxWZCA%3D%3D&url=c&resultNs=AdminWebAuth&resultLoca>
65. Park YH, Kang H, Woo YC, Park SG, Baek CW, Jung YH, et al. The effect of intraperitoneal ropivacaine on pain after laparoscopic colectomy: a prospective randomized controlled trial. *J Surg Res* [Internet]. 2011 Nov;171(1):94–100. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20605604>
66. Cha SM, Kang H, Baek CW, Jung YH, Koo GH, Kim BG, et al. Peritrocal and intraperitoneal ropivacaine for laparoscopic cholecystectomy: a prospective, randomized, double-blind controlled trial. *J Surg Res* [Internet]. 2012 Jun

- 15;175(2):251–8. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21658722>
67. Boddy AP, Mehta S, Rhodes M. The effect of intraperitoneal local anesthesia in laparoscopic cholecystectomy: a systematic review and meta-analysis. *Anesth Analg* [Internet]. 2006 Sep;103(3):682–8. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16931681>
  68. Gupta A. Local anaesthesia for pain relief after laparoscopic cholecystectomy—a systematic review. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* [Internet]. 2005 Jun;19(2):275–92. Available from:  
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1521689604000928>
  69. Marks JL, Ata B, Tulandi T. Systematic review and metaanalysis of intraperitoneal instillation of local anesthetics for reduction of pain after gynecologic laparoscopy. *J Minim Invasive Gynecol* [Internet]. 2012;19(5):545–53. Available from:  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1553465012001872>
  70. Loizides S, Gurusamy KS, Nagendran M, Rossi M, Guerrini GP, Davidson BR. Wound infiltration with local anaesthetic agents for laparoscopic cholecystectomy. Vol. 2014, *Cochrane Database of Systematic Reviews*. John Wiley and Sons Ltd; 2014.
  71. Pedrazzani C, Menestrina N, Moro M, Brazzo G, Mantovani G, Polati E, et al. Local wound infiltration plus transversus abdominis plane (TAP) block versus local wound infiltration in laparoscopic colorectal surgery and ERAS program. *Surg Endosc*. 2016 Nov 1;30(11):5117–25.
  72. Omar a M. Postoperative continuous transversus abdominis plane block vs continuous wound infusion of levobupivacaine in females undergoing open gynecologic procedures. *Egypt J Anaesth* [Internet]. 2013;29(4):383–8. Available from:  
<http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=emed11&AN=2013684470>  
[http://oxfordsfx.hosted.exlibrisgroup.com/oxford?sid=OVID:embase&id=pmid:  
 :&id=doi:10.1016%2Fj.egja.2013.05.011&issn=1110-  
 1849&isbn=&volume=29&issue=4&spage=383&pages=](http://oxfordsfx.hosted.exlibrisgroup.com/oxford?sid=OVID:embase&id=pmid:&id=doi:10.1016%2Fj.egja.2013.05.011&issn=1110-1849&isbn=&volume=29&issue=4&spage=383&pages=)
  73. Bamigboye A a, Justus HG. Ropivacaine abdominal wound infiltration and peritoneal spraying at cesarean delivery for preemptive analgesia. *Int J Gynaecol Obstet* [Internet]. 2008 Aug;102(2):160–4. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18538773>
  74. Renghi a, Gramaglia L, Casella F, Moniaci D, Gaboli K, Brustia P. Local versus epidural anesthesia in fast-track abdominal aortic surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth* [Internet]. 2013;27(3):451–8. Available from:  
[http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&  
 id=L52371654%5Cnhttp://dx.doi.org/10.1053/j.jvca.2012.09.026%5Cnhttp://s  
 fxit.ugent.be/ugent?sid=EMBASE&issn=10530770&id=doi:10.1053/j.jvca.201  
 2.09.026&atitle=Local+versus+epidural+anest](http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L52371654%5Cnhttp://dx.doi.org/10.1053/j.jvca.2012.09.026%5Cnhttp://sfxit.ugent.be/ugent?sid=EMBASE&issn=10530770&id=doi:10.1053/j.jvca.2012.09.026&atitle=Local+versus+epidural+anest)
  75. Wu C-C, Bai C-H, Huang M-T, Wu C-H, Tam K-W. Local anesthetic infusion pump for pain management following open inguinal hernia repair: A meta-analysis. *Int J Surg* [Internet]. 2014;12(3):245–50. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24480240>

76. Frustran Guerrero N, Dalmau Llitjós a., Sabaté Pes a. Analgesia postoperatoria mediante infusión continua de anestésico local en la incisión quirúrgica tras cirugía abdominal. Revisión sistemática de la bibliografía. *Rev Esp Anesthesiol Reanim* [Internet]. 2011 Jan;58(6):337–44. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0034935611700822>
77. Alagol A. Anesthetic Management of Abdominal Surgery. In: Derbel F, editor. *Abdominal Surgery* [Internet]. InTech; 2012. p. 1–4. Available from: <http://dx.doi.org/10.5772/49940>
78. Prudhomme M, Legras A, Delorme C, Lansaman T, Lanteri-Minet M, Medioni J, et al. Management of neuropathic pain induced by surgery: Review of the literature by a group of experts specialized in pain management, anesthesia and surgery. *J Visc Surg* [Internet]. 2019 Oct [cited 2019 Nov 9]; Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1878788619301389>
79. Meissner W, Zaslansky R. A Survey of postoperative pain treatments and unmet needs. In: *Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology* [Internet]. 2019. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1521689619300825>
80. Goulooze SC, Krekels EHJ, van Dijk M, Tibboel D, van der Graaf PH, Hankemeier T, et al. Towards personalized treatment of pain using a quantitative systems pharmacology approach. Vol. 109, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. Elsevier B.V.; 2017. p. S32–8.
81. Attal N. Pharmacological treatments of neuropathic pain: The latest recommendations. Vol. 175, *Revue Neurologique*. Elsevier Masson SAS; 2019. p. 46–50.
82. Alexander JC, Patel B, Joshi GP. Perioperative use of opioids: Current controversies and concerns. In: *Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology*. Elsevier BV; 2019.
83. Oberbarnscheidt T, Miller NS. Mechanisms of pain and opioid pharmacology. *Psychiatr Ann*. 2015 Oct 1;45(10):511–5.
84. Serna AV. Dolor agudo , analgesia y sedación en el niño ( IIIa ): de los analgésicos opioides. *An Españoles Pediatría*. 1998;48:429–40.
85. Siuda ER, Carr R, Rominger DH, Violin JD. Biased mu-opioid receptor ligands: a promising new generation of pain therapeutics. Vol. 32, *Current Opinion in Pharmacology*. Elsevier Ltd; 2017. p. 77–84.
86. Jamison RN, Mao J. Opioid Analgesics. *Mayo Clin Proc* [Internet]. 2015 Jul;90(7):957–68. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26141334>
87. Schug SA, Palmer GM, Scott DA, Halliwell R, Trinca J. Patient-controlled analgesia. In: *Acute Pain Management: Scientific Evidence*. 4th ed. Australian and New Zealand College of Anaesthetists and Faculty of Pain Medicine; 2015. p. 231–53.
88. MedicinesComplete © Royal Pharmaceutical Society. MedicinesComplete; Martindale: The Complete Drug Reference: Drug: Paracetamol [Internet]. Paracetamol. [cited 2019 Nov 3]. Available from: <https://www.medicinescomplete-com.sire.ub.edu/#/content/martindale/2679-p?hspl=Acetaminophen>
89. Waller DG, Sampson AP. Nonsteroidal antiinflammatory drugs -

- ScienceDirect. In: Medical Pharmacology and Therapeutics [Internet]. 5th ed. Elsevier; 2018. p. 363–72. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780702071676000294>
90. Kulo A, Peeters MY, Allegaert K, Smits A, de Hoon J, Verbesselt R, et al. Pharmacokinetics of paracetamol and its metabolites in women at delivery and post-partum. *Br J Clin Pharmacol*. 2013 Mar;75(3):850–60.
  91. Im YJ, Jeon JY, Kim EY, Kim Y, Oh DJ, Yoo JS, et al. An assessment of the pharmacokinetics of a sustained-release formulation of a tramadol/acetaminophen combination in healthy subjects. *Clin Ther*. 2015 Feb 1;37(2):376–89.
  92. Vazzana M, Andreani T, Fangueiro J, Faggio C, Silva C, Santini A, et al. Tramadol hydrochloride: Pharmacokinetics, pharmacodynamics, adverse side effects, co-administration of drugs and new drug delivery systems. Vol. 70, *Biomedicine and Pharmacotherapy*. Elsevier Masson SAS; 2015. p. 234–8.
  93. Stokes W, Swanson RT, Schubart J, Carr MM. Postoperative Bleeding Associated with Ibuprofen Use after Tonsillectomy: A Meta-analysis. *Otolaryngol Neck Surg* [Internet]. 2019 Nov 4;161(5):734–41. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0194599819852328>
  94. Bushra R, Aslam N. An overview of clinical pharmacology of ibuprofen. *Oman Med J*. 2010 Jul 1;25(3):155–61.
  95. Moriarty C, Carroll W. Ibuprofen in paediatrics: Pharmacology, prescribing and controversies. *Arch Dis Child Educ Pract Ed*. 2016 Dec 1;101(6):327–30.
  96. Evans AM. Comparative pharmacology of S(+)-ibuprofen and (RS)-ibuprofen. *Clin Rheumatol*. 2001;20(SUPPL. 1).
  97. Patowary P, Pathak MP, Zaman K, Raju PS, Chattopadhyay P. Research progress of capsaicin responses to various pharmacological challenges. *Biomed Pharmacother*. 2017 Dec 1;96:1501–12.
  98. Fattori V, Hohmann MSN, Rossaneis AC, Pinho-Ribeiro FA, Verri WA. Capsaicin: Current understanding of its mechanisms and therapy of pain and other pre-clinical and clinical uses. *Molecules*. 2016 Jul 1;21(7).
  99. Frias B, Merighi A. Capsaicin, nociception and pain. *Molecules*. 2016 Jun 1;21(6).
  100. MedicinesComplete © Royal Pharmaceutical Society. MedicinesComplete; Martindale: The Complete Drug Reference: Gabapentin [Internet]. Gabapentin. 2019 [cited 2019 Aug 6]. Available from: [https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/martindale/current/ms-3797-f.htm?q=gabapentina&t=search&ss=text&p=1#\\_hit](https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/martindale/current/ms-3797-f.htm?q=gabapentina&t=search&ss=text&p=1#_hit)
  101. MacPherson RD. The pharmacological basis of contemporary pain management. *Pharmacol Ther* [Internet]. 2000 Nov;88(2):163–85. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11150596>
  102. Uemura Y, Fujita T, Ohtsubo S, Hirakawa N, Sakaguchi Y, Kumamoto E. Effects of various antiepileptics used to alleviate neuropathic pain on compound action potential in frog sciatic nerves: comparison with those of local anesthetics. *Biomed Res Int* [Internet]. 2014 Jan;2014:540238. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3953671&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

103. Bannister K, Qu C, Navratilova E, Oyarzo J, Xie JY, King T, et al. Multiple sites and actions of gabapentin-induced relief of ongoing experimental neuropathic pain. *Pain*. 2017;158(12):2386–95.
104. Fabritius ML, Geisler A, Petersen PL, Nikolajsen L, Hansen MS, Kontinen V, et al. Gabapentin for post-operative pain management – a systematic review with meta-analyses and trial sequential analyses. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2016;60(9):1188–208.
105. Felder L, Saccone G, Scuotto S, Monks DT, Carvalho JCA, Zullo F, et al. Perioperative gabapentin and post cesarean pain control: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2019 Feb 1;233:98–106.
106. MedicinesComplete © Royal Pharmaceutical Society. MedicinesComplete; Martindale: The Complete Drug Reference: Dexmedetomidine Hydrochloride [Internet]. Dexmedetomidine Hydrochloride. 2019 [cited 2019 Aug 7]. Available from: [https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/martindale/current/20689-m.htm?q=Dexmedetomidina&t=search&ss=text&p=1#\\_hit](https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/martindale/current/20689-m.htm?q=Dexmedetomidina&t=search&ss=text&p=1#_hit)
107. Weerink MAS, Struys MMRF, Hannivoort LN, Barends CRM, Absalom AR, Colin P. Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Dexmedetomidine. *Clin Pharmacokinet*. 2017 Aug 1;56(8):893–913.
108. Hall JE, Uhrich TD, Barney JA, Arain SR, Ebert TJ. Sedative, amnestic, and analgesic properties of small-dose dexmedetomidine infusions. *Anesth Analg*. 2000;90(3):699–705.
109. Scafuro M, Gargano F, Fiore M. New Insights into the Pharmacology of Dexmedetomidine and Open Issues for Neurosurgical Procedures. *Neuromethods*. 2020;150:187–206.
110. Gritsenko K, Khelemsky Y, Kaye AD, Vadivelu N, Urman R. Multimodal therapy in perioperative analgesia. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* [Internet]. 2014;28(1):59–79. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1521689614000044>
111. Martindale W. Ketamine Hydrochloride: Martindale: The Complete Drug Reference [Internet]. Martindale: The Complete Drug Reference. 2014 [cited 2014 Aug 11]. Available from: [https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/martindale/current/ms-3114-h.htm?q=ketamine&t=search&ss=text&p=1#\\_hit](https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/martindale/current/ms-3114-h.htm?q=ketamine&t=search&ss=text&p=1#_hit)
112. Zanos P, Moaddel R, Morris PJ, Riggs LM, Highland JN, Georgiou P, et al. Ketamine and ketamine metabolite pharmacology: Insights into therapeutic mechanisms. *Pharmacol Rev*. 2018 Jul 1;70(3):621–60.
113. Li Z, Chen Y. Ketamine reduces pain and opioid consumption after total knee arthroplasty: A meta-analysis of randomized controlled studies. *Int J Surg*. 2019 Oct;70:70–83.
114. Moyse DW, Kaye AD, Diaz JH, Qadri MY, Lindsay D, Pyati S. Perioperative ketamine administration for thoracotomy pain. *Pain Physician*. 2017 Mar 1;20(3):173–84.
115. MedicinesComplete © Royal Pharmaceutical Society. Handbook on Injectable Drugs: Ketamine Hydrochloride: [Internet]. Ketamine Hydrochloride. 2019 [cited 2019 Aug 11]. Available from: <https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/handbook-on-injectable-drugs/ketamine-hydrochloride>

- com.sire.ub.edu/mc/hid/current/a582107.htm?q=ketamine&t=search&ss=text  
&p=1#\_hit
116. Lee AR, Yi H, Chung IS, Ko JS, Ahn HJ, Gwak MS, et al. Magnesium added to bupivacaine prolongs the duration of analgesia after interscalene nerve block. *Can J Anaesth* [Internet]. 2012 Jan;59(1):21–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22012543>
  117. MedicinesComplete © Royal Pharmaceutical Society. MedicinesComplete; Martindale: The Complete Drug Reference: Dexamethasone [Internet]. Martindale: The Complete Drug Reference. 2019 [cited 2019 May 9]. Available from: <http://www.medicinescomplete.com/mc/martindale/2009/ms-1084-t.htm#m18485-c>
  118. Choi S, Rodseth R, McCartney CJL. Effects of dexamethasone as a local anaesthetic adjuvant for brachial plexus block: a systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Br J Anaesth* [Internet]. 2014 Mar;112(3):427–39. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0007091217318536>
  119. Bindal D, Narang N, Mahindra R, Gupta H, Kubre J, Saxena A. Effect of dexamethasone on characteristics of supraclavicular nerve block with bupivacaine and ropivacaine: A prospective, double-blind, randomized control trial. *Anesth Essays Res*. 2018;12(1):234.
  120. Allen K. Dexamethasone: an all purpose agent. *Australas Anaesth* [Internet]. 2007;(2007):65–70. Available from: <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Dexamethasone:+An+All+Purpose+Agent+?#6>
  121. Backes JR, Bentley JC, Politi JR, Chambers BT. Dexamethasone reduces length of hospitalization and improves postoperative pain and nausea after total joint arthroplasty: a prospective, randomized controlled trial. *J Arthroplasty* [Internet]. 2013 Sep;28(8 Suppl):11–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23937923>
  122. Shipton E a. New formulations of local anaesthetics-part I. *Anesthesiol Res Pract* [Internet]. 2012 Jan;2012:546409. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3235423&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  123. Clarke's Analysis of Drugs and Poisons. Dexamethasone [Internet]. [cited 2014 May 9]. Available from: <http://www.medicinescomplete.com/mc/clarke/2010/CLK0489.htm>
  124. Becker DE, Reed KL. Local anesthetics: review of pharmacological considerations. Vol. 59, *Anesthesia progress*. 2012. p. 90–102.
  125. Hermanns H, Hollmann MW, Stevens MF, Lirk P, Brandenburger T, Piegeler T, et al. Molecular mechanisms of action of systemic lidocaine in acute and chronic pain: a narrative review. *Br J Anaesth*. 2019 Sep 1;123(2):335–49.
  126. Lirk P, Hollmann MW, Strichartz G. The science of local anesthesia: Basic research, clinical application, and future directions. *Anesth Analg*. 2017 Nov 17;126(4):1381–92.
  127. Fisher DM. VI REVIEW ARTICLE Local Anesthetics and the Inflammatory Response A New Therapeutic Indication ? 2000;(3):858–75.

128. Hille B. Local anesthetics: hydrophilic and hydrophobic pathways for the drug-receptor reaction. *J Gen Physiol* [Internet]. 1977 Apr;69(4):497–515. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2215053&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
129. Bowdle TA, Knutsen LJS, Williams M. Local and adjunct anesthesia. In: *Comprehensive Medicinal Chemistry II*. Elsevier Ltd.; 2006. p. 351–67.
130. Schug SA, Palmer GM, Scott DA, Halliwell R, Trinca J. Analgesic Medicines. In: *Acute Pain Management: Scientific Evidence* [Internet]. College of Anaesthetists and Faculty of Pain Medicine; 2015. p. 105–9. Available from: [www.tga.gov.au](http://www.tga.gov.au)
131. MedicinesComplete © Royal Pharmaceutical Society. MedicinesComplete; Martindale: The Complete Drug Reference: Drug: Lidocaine [Internet]. Lidocaine. 2019 [cited 2019 Nov 3]. Available from: <https://www.medicinescomplete-com.sire.ub.edu/#/content/martindale/7602-b?hspl=lidocaine#7601-m>
132. Mille-Loera E, José D, Portela-Ortiz M, Aréchiga-Ornelas G. Revista Mexicana de Anestesiología Manejo de la toxicidad por anestésicos locales [Internet]. Vol. 34, Supl. 1 Abril-Junio. 2011 [cited 2019 Nov 3]. Available from: <http://www.medigraphic.com/rmawww.medigraphic.org.mx>
133. Lu L, Zhang W, Wu X, Wang X, Zhang M, Zhu Q, et al. A novel ropivacaine-loaded in situ forming implant prolongs the effect of local analgesia in rats. *Arch Med Sci* [Internet]. 2013 Aug 30;9(4):614–21. Available from: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84883311189&partnerID=tZOtx3y1>
134. Givens V a., Lipscomb GH, Meyer NL. A randomized trial of postoperative wound irrigation with local anesthetic for pain after cesarean delivery. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 2002;186(6):1188–91. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002937802000170>
135. McDermott AM, Chang KH, Mieske K, Abeidi A, Harte BH, Kerin MJ, et al. Total systemic ropivacaine concentrations following aerosolized intraperitoneal delivery using the AeroSurge. *J Clin Anesth* [Internet]. 2014 Feb;26(1):18–24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24444991>
136. Betton D, Greib N, Schlotterbeck H, Joshi GP, Ubeaud-Sequier G, Diemunsch P. The pharmacokinetics of ropivacaine after intraperitoneal administration: instillation versus nebulization. *Anesth Analg* [Internet]. 2010 Nov;111(5):1140–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20841409>
137. Hila Epstein-Barasha, b, Iris Shichora, b, Albert H. Kwonb, Sherwood Hallc, Michael W. Lawlord RL, and Daniel S. Kohanea. Prolonged duration local anesthesia with minimal toxicity. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 2011 Feb 16;108(10):4264–4264. Available from: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1101890108>
138. Foley PL, Ulery BD, Kan HM, Burks M V, Cui Z, Wu Q, et al. A chitosan thermogel for delivery of ropivacaine in regional musculoskeletal anesthesia. *Biomaterials* [Internet]. 2013 Mar;34(10):2539–46. Available from:



- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23321347>
139. Flory PJ. Thermodynamics of High Polymer Solutions. *J Chem Phys.* 1941 Aug;9(8):660–660.
  140. Stockmayer WH. Theory of molecular size distribution and gel formation in branched polymers: II. General cross linking. *J Chem Phys.* 1944;12(4):125–31.
  141. De Gennes PG. Some physical properties of polymer solutions and melts. *Die Makromol Chemie [Internet].* 1979 Nov 2;3(S19791):195–6. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/macp.1979.020031979110>
  142. Jones RAL. Gelation. In: OUP Oxford, editor. *Soft Condensed Matter (Oxford Master Series in Condensed Matter Physics).* 2002. p. 95–105.
  143. Osada Y, Kajiwara K, Fushimi T, Irasa O, Hirokawa Y, Matsunaga T, et al. *Gels Handbook.* Elsevier; 2001.
  144. Nijenhuis K. *Thermoreversible Networks [Internet].* Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2017. 267 p. (Advances in Polymer Science; vol. 130). Available from: <http://link.springer.com/10.1007/BFb0008699>
  145. Huang H, Qi X, Chen Y, Wu Z. Thermo-sensitive hydrogels for delivering biotherapeutic molecules: A review. 2019; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2019.08.001>
  146. Jeong B, Kim SW, Bae YH. Thermosensitive sol–gel reversible hydrogels. *Adv Drug Deliv Rev [Internet].* 2012 Dec [cited 2014 Apr 11];64:154–62. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169409X12002724>
  147. Taylor M, Tomlins P, Sahota T. Thermoresponsive Gels. *Gels.* 2017 Jan 10;3(1):4.
  148. Binodal [Internet]. [cited 2020 Jan 13]. Available from: <https://enacademic.com/dic.nsf/enwiki/11558812>
  149. Chatterjee S, Hui PCL, Kan C wai. Thermoresponsive hydrogels and their biomedical applications: Special insight into their applications in textile based transdermal therapy. Vol. 10, *Polymers.* MDPI AG; 2018.
  150. Klouda L, Mikos AG. Thermoresponsive hydrogels in biomedical applications. Vol. 68, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics.* 2008. p. 34–45.
  151. Chai Q, Jiao Y, Yu X. Hydrogels for Biomedical Applications: Their Characteristics and the Mechanisms behind Them. *Gels.* 2017 Jan 24;3(1):6.
  152. Lee JW, Hua F, Lee DS. Thermoreversible gelation of biodegradable poly(epsilon-caprolactone) and poly(ethylene glycol) multiblock copolymers in aqueous solutions. *J Control Release [Internet].* 2001 Jun 15;73(2–3):315–27. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11516508>
  153. Zhi K, Zhao H, Yang X, Zhang H, Wang J, Wang Z. Solvent-induced Gel Formation Hypothesis for Natural Product Gelators with Polycyclic Structures. *Chempluschem [Internet].* 2018 Aug;83(8):797–803. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/cplu.201800334>
  154. Hattori M, Saito M. Thermal Gelation of the Nylon 6,6-Calcium Chloride-Methanol System. Vol. 28, *Polymer Journal.* 1996.
  155. Nasir F, Iqbal Z, Khan J a, Khan A, Khuda F, Ahmad L, et al. Development and evaluation of diclofenac sodium thermoreversible subcutaneous drug delivery system. *Int J Pharm [Internet].* 2012 Dec 15;439(1–2):120–6.

- Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23084951>
156. Zhang Y, Gao C, Li X, Xu C, Zhang Y, Sun Z, et al. Thermosensitive methyl cellulose-based injectable hydrogels for post-operation anti-adhesion. *Carbohydr Polym* [Internet]. 2014 Jan 30;101:171–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24299762>
  157. Paul J Sheskey WGC and CGC. Methylcellulose [Internet]. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. 2015 [cited 2014 Jul 27]. Available from: [https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/excipients/current/1001941845.htm?q=metilcelulosa&t=search&ss=text&p=1#\\_hit](https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/excipients/current/1001941845.htm?q=metilcelulosa&t=search&ss=text&p=1#_hit)
  158. MedicinesComplete © Royal Pharmaceutical Society. *MedicinesComplete; Martindale: The Complete Drug Reference: Methylcellulose* [Internet]. Methylcellulose. 2019 [cited 2019 Jul 27]. Available from: [https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/martindale/current/5401-h.htm?q=metilcelulosa&t=search&ss=text&p=1#\\_hit](https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/martindale/current/5401-h.htm?q=metilcelulosa&t=search&ss=text&p=1#_hit)
  159. Paavola A, Yliruusi J, Kajimoto Y, Kalso E, Wahlström T, Rosenberg P. Controlled release of lidocaine from injectable gels and efficacy in rat sciatic nerve block. *Pharm Res* [Internet]. 1995;12(12):1997–2002. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8786979>
  160. Ruel-Gariépy E, Leroux J-C. In situ-forming hydrogels--review of temperature-sensitive systems. *Eur J Pharm Biopharm* [Internet]. 2004 Sep;58(2):409–26. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15296964>
  161. Ito T, Yeo Y, Highley CB, Bellas E, Benitez C a., Kohane DS. The prevention of peritoneal adhesions by in situ cross-linking hydrogels of hyaluronic acid and cellulose derivatives. *Biomaterials* [Internet]. 2007;28(6):975–83. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1859847&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  162. Paul J Sheskey WGC and CGC. Hypromellose [Internet]. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. 2015 [cited 2014 Jul 27]. Available from: [https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/excipients/current/1001939693.htm?q=hidroxipropilemetilcelulosa&t=search&ss=text&p=1#\\_hit](https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/excipients/current/1001939693.htm?q=hidroxipropilemetilcelulosa&t=search&ss=text&p=1#_hit)
  163. MedicinesComplete © Royal Pharmaceutical Society. *MedicinesComplete; Martindale: The Complete Drug Reference: Hypromellose* [Internet]. Hypromellose. 2019 [cited 2019 Jul 27]. Available from: [https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/martindale/current/ms-5432-s.htm?q=hidroxipropilemetilcelulosa&t=search&ss=text&p=1#\\_hit](https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/martindale/current/ms-5432-s.htm?q=hidroxipropilemetilcelulosa&t=search&ss=text&p=1#_hit)
  164. Remington, Joseph P. (Joseph Price) 1847-1918, Beringer, Paul E. *Remington The Science and Practice of Pharmacy*. 21st ed. Troy D, editor. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins, cop. 2006; 2006.
  165. MedicinesComplete © Royal Pharmaceutical Society. *MedicinesComplete; Martindale: The Complete Drug Reference: Tamarind Polyose* [Internet]. Tamarind Polyose. 2019 [cited 2019 Jul 31]. Available from: [https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/martindale/current/5462-z.htm?q=Xyloglucan&t=search&ss=text&p=1#\\_hit](https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/martindale/current/5462-z.htm?q=Xyloglucan&t=search&ss=text&p=1#_hit)
  166. Paul J Sheskey WGC and CGC. Chitosan [Internet]. *Handbook of*

- Pharmaceutical Excipients. 2015 [cited 2014 Aug 3]. Available from: [https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/excipients/current/1001936100.htm?q=chitosan&t=search&ss=text&p=1#\\_hit](https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/excipients/current/1001936100.htm?q=chitosan&t=search&ss=text&p=1#_hit)
167. Bhattarai N, Gunn J, Zhang M. Chitosan-based hydrogels for controlled, localized drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev* [Internet]. 2010;62(1):83–99. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19799949>
  168. Ruel-Gariépy E, Chenite a, Chaput C, Guirguis S, Leroux J. Characterization of thermosensitive chitosan gels for the sustained delivery of drugs. *Int J Pharm* [Internet]. 2000 Aug 10;203(1–2):89–98. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10967431>
  169. Paul J Sheskey WGC and CGC. Poloxamer [Internet]. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 2015 [cited 2014 May 11]. Available from: [http://www.medicinescomplete.com/mc/excipients/current/1001943346.htm?q=poloxamer&t=search&ss=text&p=1#\\_hit](http://www.medicinescomplete.com/mc/excipients/current/1001943346.htm?q=poloxamer&t=search&ss=text&p=1#_hit)
  170. MedicinesComplete © Royal Pharmaceutical Society. MedicinesComplete; Martindale: The Complete Drug Reference: Poloxamers [Internet]. Poloxamers. 2019 [cited 2019 May 11]. Available from: <http://www.medicinescomplete.com/mc/martindale/2009/ms-463-f.htm>
  171. Armando JF, Martínez S. COPOLÍMEROS TRIBLOQUE EN LA CIENCIA Y TECNOLOGÍA. COPOLÍMEROS TRIBLOQUE EN LA CIENCIA Y TECNOLOGÍA. 2013.
  172. Paul J Sheskey WGC and CGC. Poloxamer [Internet]. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 2015 [cited 2014 Aug 3]. Available from: [https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/excipients/current/1001943346.htm?q=poloxamer&t=search&ss=text&p=1#\\_hit](https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/mc/excipients/current/1001943346.htm?q=poloxamer&t=search&ss=text&p=1#_hit)
  173. Alexander A, Ajazuddin, Khan J, Saraf S, Saraf S. Poly(ethylene glycol)-poly(lactic-co-glycolic acid) based thermosensitive injectable hydrogels for biomedical applications. *J Control Release* [Internet]. 2013 Dec 28;172(3):715–29. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24144918>
  174. Dumortier G, Grossiord JL, Agnely F, Chaumeil JC. A review of poloxamer 407 pharmaceutical and pharmacological characteristics. Vol. 23, *Pharmaceutical Research*. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH; 2006. p. 2709–28.
  175. Veyries ML, Couarraze G, Geiger S, Agnely F, Massias L, Kunzli B, et al. Controlled release of vancomycin from poloxamer 407 gels. *Int J Pharm* [Internet]. 1999 Dec 10;192(2):183–93. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10567749>
  176. Makó Á, Csóka G, Pásztor E, Marton S, Horvai G, Klebovich I. Formulation of thermoresponsive and bioadhesive gel for treatment of oesophageal pain and inflammation. *Eur J Pharm Biopharm* [Internet]. 2009;72(1):260–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19038337>
  177. Kulkarni AP, Aslam Khan SK, Dehghan MH. Evaluation of poloxamer-based in situ gelling system of articaine as a drug delivery system for anesthetizing periodontal pockets – An in vitro study. *Indian J Dent* [Internet]. 2012

- Oct;3(4):201–8. Available from:  
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0975962X12000731>
178. ZHU Quan—gang。 。 , ZHANG Di , ZHOU Zhi—yun , PAN Yong. hua , YOU Ben—ming , LIU Ji. yong , GAO Shen. Preparation and determination of ropivacaine hydrochloride thermosensitive gel injection. *J Pharm Pract.* 2013;31(5):366–86.
  179. Cloud S. Saber /cloud ® <sup>TM</sup>.
  180. Hadj A, Hadj A, Hadj A, Rosenfeldt F, Nicholson D, Moodie J, et al. Safety and efficacy of extended-release bupivacaine local anaesthetic in open hernia repair: a randomized controlled trial. *ANZ J Surg* [Internet]. 2012 Apr;82(4):251–7. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22510183>
  181. Zhang Z, Ni J, Chen L, Yu L, Xu J, Ding J. Biodegradable and thermoreversible PCLA-PEG-PCLA hydrogel as a barrier for prevention of post-operative adhesion. *Biomaterials* [Internet]. 2011 Jul;32(21):4725–36. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21482434>
  182. Dumitriu S, Popa VI. *Polymeric Biomaterials: Medicinal and Pharmaceutical Applications, Volumen 2.* CRC Press; 2013. 311–332 p.
  183. Jadhav Khanderao R, Pawar Ashish Y, Talele Gokul S. Bioadhesive drug delivery system: An overview. *Asian J Pharm Clin Res.* 2013;6(SUPPL. 2):1–10.
  184. Al-Kawaz A. *Paints and Adhesives Theories of Adhesion* [Internet]. [cited 2019 Jan 3]. Available from:  
[http://www.uobabylon.edu.iq/eprints/publication\\_3\\_4711\\_164.pdf](http://www.uobabylon.edu.iq/eprints/publication_3_4711_164.pdf)
  185. Ebnesajjad S, editor. *Introduction and Adhesion Theories* [Internet]. *Adhesives Technology Handbook.* William Andrew Publishing; 2009 [cited 2018 Dec 15]. 1–19 p. Available from: <https://www-sciencedirect-com.sire.ub.edu/science/article/pii/B9780815515333500049>
  186. Palacio MLB, Bhushan B. Bioadhesion: a review of concepts and applications. *Philos Trans A Math Phys Eng Sci* [Internet]. 2012 May 28 [cited 2018 Dec 15];370(1967):2321–47. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22509061>
  187. Das Neves J, Sarmiento B. Mucosal delivery of biopharmaceuticals: Biology, challenges and strategies. *Mucosal Deliv Biopharm Biol Challenges Strateg.* 2014;9781461495:1–601.
  188. Brogly PM. Forces Involved in Adhesion. In: *Handbook of Adhesion Technology* [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2011 [cited 2019 Sep 29]. p. 39–63. Available from:  
[http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-01169-6\\_3](http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-01169-6_3)
  189. Achinas S, Charalampogiannis N, Euverink GJW. A Brief Recap of Microbial Adhesion and Biofilms. *Appl Sci* [Internet]. 2019 Jul 12 [cited 2019 Sep 29];9(14):2801. Available from: <https://www.mdpi.com/2076-3417/9/14/2801>
  190. Ghosh P. DLVO Theory and Non-DLVO Forces [Internet]. [cited 2018 Dec 15]. Available from: <https://nptel.ac.in/courses/103103033/module3/lecture5.pdf>
  191. R uth M. *Physical Basis of Cell-Cell Adhesion.* CRC Press. Pierre Bongrand, M.D. SD, editor. 2018. 28–33 p.

192. Adair JH, Suvaci E, Sindel J. Surface and Colloid Chemistry. *Encycl Mater Sci Technol* [Internet]. 2001 Jan 1 [cited 2019 Sep 29];1–10. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B0080431526016223>
193. Giuliano E, Paolino D, Fresta M, Cosco D. Mucosal applications of poloxamer 407-based hydrogels: An overview. *Pharmaceutics*. 2018;10(3):1–26.
194. Anil A, Sudheer P. Mucoadhesive Polymers - A Review Why. *J Pharm Res*. 2013;17(1):1–11.
195. Packham DE. Theories of Fundamental Adhesion. In: *Handbook of Adhesion Technology* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2018 [cited 2019 Sep 29]. p. 11–41. Available from: [http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-55411-2\\_2](http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-55411-2_2)
196. Bonn D, Eggers J, Indekeu J, Meunier J. Wetting and spreading. Vol. 81, *Reviews of Modern Physics*. 2009. 739–805 p.
197. Benedek I, Feldstein MM. Fundamentals of pressure sensitivity [Internet]. CRC Press; 2009 [cited 2019 Oct 5]. Available from: <https://books.google.es/books?id=ZsMcrmT5nxoC&pg=SA11-PA4&lpg=SA11-PA4&dq=PSA+Dahlquist+criteria&source=bl&ots=I-Jm8lQryK&sig=ACfU3U3VimyURotyKks04mLGTyhrAEHvHg&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwjNIZ-KIYXIAhUD3OAKHWObDHoQ6AEwEnoECACQAQ#v=onepage&q=PSA+Dahlquist+criteria&f=false>
198. Andrady AL. Introduction to Polymer Solutions. *Sci Technol Polym Nanofibers*. 2009;(August):27–53.
199. A.K.TeotiaH.SamiA.Kumar. Thermo-responsive polymers: structure and design of smart materials. In: *Switchable and Responsive Surfaces and Materials for Biomedical Applications* [Internet]. Woodhead Publishing; 2015 [cited 2019 Oct 12]. p. 3–43. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780857097132000018>
200. Bassi Da Silva J, Barbosa S, Ferreira S, De Freitas O, Bruschi ML. Drug Development and Industrial Pharmacy A critical review about methodologies for the analysis of mucoadhesive properties of drug delivery systems. *Drug Dev Ind Pharm* [Internet]. 2017;43(7):1053–1070. Available from: <https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=iddi20>
201. Prajapati Twinkle Kantibhai\* KSP and DSS. Test methods of bioadhesive system. *World J Pharm Res*. 2015;7(2):267–78.
202. Carvalho FC, Bruschi ML, Evangelista RC, Gremião MPD. Mucoadhesive drug delivery systems. Vol. 46, *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2010. p. 1–17.
203. Rapp BE, Rapp BE. Measuring Surface Tension and Free Surface Energy [Internet]. *Microfluidics: Modelling, Mechanics and Mathematics*. Elsevier; 2017. 453–465 p. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781455731411500228>
204. Ebnesajjad S, Ebnesajjad S. Surface Tension and Its Measurement. *Surf Treat Mater Adhes Bond* [Internet]. 2006 Jan 1;9–28. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780815515234500043>
205. Carrera MC, Romero AI, Villegas M, Parentis ML, Gonzo EE. VII CAIQ 2013 y 2das JASP OBTENCIÓN DE LA TENSIÓN SUPERFICIAL MEDIANTE EL

- MÉTODO DE DU NOUY Y EL MÉTODO DE LA GOTA PENDIENTE. 2013.
206. Kumar K, Dhawan N, Sharma H, Vaidya S, Vaidya B. Bioadhesive polymers: Novel tool for drug delivery. *Artif Cells, Nanomedicine, Biotechnol* [Internet]. 2014 Aug 16;42(4):274–83. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/21691401.2013.815194>
  207. Davidovich-Pinhas M, Bianco-Peled H. Mucoadhesion: a review of characterization techniques. *Expert Opin Drug Deliv* [Internet]. 2010 Feb 24;7(2):259–71. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1517/17425240903473134>
  208. Kumar L, Verma S, Vaidya B, Gupta V. Bioadhesive Polymers for Targeted Drug Delivery. In: *Nanotechnology-Based Approaches for Targeting and Delivery of Drugs and Genes*. Elsevier Inc.; 2017. p. 322–62.
  209. Kumar K, Dhawan N, Sharma H, Vaidya S, Vaidya B. Bioadhesive polymers: Novel tool for drug delivery. *Artif Cells, Nanomedicine, Biotechnol* [Internet]. 2014 Aug 16;42(4):274–83. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/21691401.2013.815194>
  210. MedicinesComplete © Royal Pharmaceutical Society. MedicinesComplete; Pharmaceutical Excipients: Polyethylene Glycol [Internet]. [cited 2019 Sep 20]. Available from: <https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/#/content/excipients/1001943522?hspl=polyethylene&hspl=glycol>
  211. MedicinesComplete © Royal Pharmaceutical Society. MedicinesComplete; Martindale: The Complete Drug Reference: Macrogols [Internet]. Macrogols. [cited 2019 Sep 20]. Available from: <https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/#/content/martindale/1922-a?hspl=macrogol>
  212. MedicinesComplete © Royal Pharmaceutical Societl. MedicinesComplete; Martindale: The Complete Drug Reference: Hyaluronic Acid [Internet]. Hyaluronic Acid. [cited 2019 Sep 20]. Available from: <https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/#/content/martindale/19888-x?hspl=acid&hspl=hyaluronic>
  213. Ivanova EP, Bazaka K, Crawford RJ. Natural polymer biomaterials: advanced applications. In: *New Functional Biomaterials for Medicine and Healthcare*. Elsevier; 2014. p. 32–70.
  214. Burdick JA, Stevens MM. Biomedical hydrogels. In: *Biomaterials, Artificial Organs and Tissue Engineering*. Elsevier Inc.; 2005. p. 107–15.
  215. MedicinesComplete © Royal Pharmaceutical Society. MedicinesComplete; Martindale: The Complete Drug Reference: Chondroitin Sulfate Sodium [Internet]. Chondroitin Sulfate Sodium. [cited 2019 Sep 20]. Available from: <https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/#/content/martindale/21845-q?hspl=Chondroitin sulfate sodium>
  216. Djerbal L, Lortat-Jacob H, Kwok J. Chondroitin sulfates and their binding molecules in the central nervous system. Vol. 34, *Glycoconjugate Journal*. Springer New York LLC; 2017. p. 363–76.
  217. Chicatun F, Griffanti G, McKee MD, Nazhat SN. Collagen/chitosan composite scaffolds for bone and cartilage tissue engineering. In: *Biomedical Composites*. Elsevier; 2017. p. 163–98.

218. MedicinesComplete © Royal Pharmaceutical Society. MedicinesComplete; Martindale: The Complete Drug Reference: Polyvinyl Alcohol [Internet]. Polyvinyl Alcohol. [cited 2019 Sep 20]. Available from: [https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/#/content/martindale/468-b?hspl=Polyvinyl alcohol](https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/#/content/martindale/468-b?hspl=Polyvinyl%20alcohol)
219. MedicinesComplete © Royal Pharmaceutical Societl. MedicinesComplete; Pharmaceutical Excipients: Polyvinyl Alcohol [Internet]. [cited 2019 Sep 20]. Available from: [https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/#/content/excipients/1001944049?hspl=Polyvinyl alcohol](https://www-medicinescomplete-com.sire.ub.edu/#/content/excipients/1001944049?hspl=Polyvinyl%20alcohol)
220. Bag MA, Valenzuela LM. Impact of the hydration states of polymers on their hemocompatibility for medical applications: A review. Vol. 18, International Journal of Molecular Sciences. MDPI AG; 2017.
221. Briscoe B, Luckham P. The effects of hydrogen bonding upon the viscosity of aqueous poly(vinyl alcohol) solutions. *Polymer (Guildf)*. 2000;41(10):3851–60.
222. Gonjari ID, Hosmani AH, Karmarkar AB, Godage AS, Kadam SB, Dhabale PN. Formulation and evaluation of in situ gelling thermoreversible mucoadhesive gel of fluconazole. *Drug Discov Ther* [Internet]. 2009;3(1):6–9. Available from: [www.ddtjournal.com](http://www.ddtjournal.com)
223. Xuan JJ, Balakrishnan P, Oh DH, Yeo WH, Park SM, Yong CS, et al. Rheological characterization and in vivo evaluation of thermosensitive poloxamer-based hydrogel for intramuscular injection of piroxicam. *Int J Pharm*. 2010;395:317–23.
224. Yuan Y, Cui Y, Zhang L, Zhu HP, Guo YS, Zhong B, et al. Thermosensitive and mucoadhesive in situ gel based on poloxamer as new carrier for rectal administration of nimesulide. *Int J Pharm* [Internet]. 2012;430(1–2):114–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.03.054>
225. Sorenson's Buffer [Internet]. [cited 2019 Dec 30]. Available from: [http://goodrich.med.harvard.edu/uploads/3/7/7/1/37718659/sorenson\\_buffer.pdf](http://goodrich.med.harvard.edu/uploads/3/7/7/1/37718659/sorenson_buffer.pdf)
226. Righetti PG. Chapter 8 Buffering capacity. In: *Journal of Chromatography Library*. Elsevier; 2001. p. 87–93.
227. Williams D, Kenyon A, Adamson D. Physiology. In: *Basic Science in Obstetrics and Gynaecology* [Internet]. Elsevier; 2010. p. 173–230. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780443102813000142>
228. Baicu SC, Taylor MJ. Acid-base buffering in organ preservation solutions as a function of temperature: New parameters for comparing buffer capacity and efficiency. *Cryobiology*. 2002;45:33–48.
229. 2.2 Buffering [Internet]. [cited 2015 Mar 9]. Available from: [http://www.anaesthesiamcq.com/AcidBaseBook/ab2\\_2.php](http://www.anaesthesiamcq.com/AcidBaseBook/ab2_2.php)
230. Bain MK, Bhowmik M, Maity D, Bera NK, Ghosh S, Chattopadhyay D. Control of thermo reversible gelation of methylcellulose using polyethylene glycol and sodium chloride for sustained delivery of ophthalmic drug. *J Appl Polym Sci* [Internet]. 2010;n/a-n/a. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/app.32350>
231. Bain MK, Maity D, Bhowmick B, Mondal D, Mollick MMR, Sarkar G, et al. Effect of PEG-salt mixture on the gelation temperature and morphology of MC gel for sustained delivery of drug. *Carbohydr Polym*. 2013 Jan 16;91(2):529–36.

232. Fujiwara J, Takahashi M, Hatakeyama T, Hatakeyama H. Gelation of hyaluronic acid through annealing. *Polym Int* [Internet]. 2000 [cited 2019 Jan 3];(49):1604–8. Available from: <https://onlinelibrary-wiley-com.sire.ub.edu/doi/pdf/10.1002/1097-0126%28200012%2949%3A12%3C1604%3A%3AAID-PI558%3E3.0.CO%3B2-4>
233. Larrañeta E, Henry M, Irwin NJ, Trotter J, Perminova AA, Donnelly RF. Synthesis and characterization of hyaluronic acid hydrogels crosslinked using a solvent-free process for potential biomedical applications. *Carbohydr Polym*. 2018 Feb 1;181:1194–205.
234. Bodratti AM, Alexandridis P. Formulation of poloxamers for drug delivery. *J Funct Biomater*. 2018;9(1).
235. Ahumada LAC, González MXR, Sandoval OLH, Olmedo JJS. Evaluation of hyaluronic acid dilutions at different concentrations using a quartz crystal resonator (QCR) for the potential diagnosis of arthritic diseases. *Sensors* (Switzerland). 2016;16(11).
236. Nagarkar R, Patel J. Polyvinyl Alcohol: A Comprehensive Study. *Acta Sci Pharm Sci*. 2019;3(4):34–44.
237. Rudnik E. Properties and applications. In: *Compostable Polymer Materials* [Internet]. Elsevier; 2019 [cited 2019 Oct 18]. p. 49–98. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780080994383000033>
238. Giuliano E, Paolino D, Fresta M, Cosco D. Mucosal applications of poloxamer 407-based hydrogels: An overview. Vol. 10, *Pharmaceutics*. MDPI AG; 2018.
239. Akkari ACS, Boava Papini JZ, Garcia GK, Dias Franco MKK, 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(1):299–307. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2016.05.088>
240. Perinelli DR, Cespi M, Pucciarelli S, Casettari L, Palmieri GF, Bonacucina G. Effect of phosphate buffer on the micellisation process of Poloxamer 407: Microcalorimetry, acoustic spectroscopy and dynamic light scattering (DLS) studies. *Colloids Surfaces A Physicochem Eng Asp* [Internet]. 2013;436:123–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2013.06.002>
241. Joshi SC. Sol-gel behavior of hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) in ionic media including drug release. *Materials* (Basel). 2011;4:1861–905.





## 8. ANEXOS

---



# Rheological and physicochemical characterization of a thermosensitive and bioadhesive gel for postoperative pain management and determination of the effect of Polyethylene glycol 400 in the formula

Diana Arbelaez-Camargo, Manel Roig-Carreras, Encarna García-Montoya, Pilar Pérez-Lozano, Montserrat Miñarro-Carmona, Josep Ramon Ticó-Grau, Josep Suñé-Negre.

Pharmacy and Pharmaceutical Technology Department, Faculty of Pharmacy, University of Barcelona, Barcelona, Joan XXIII 27-32, CP 08028 Barcelona - Spain.

## Introduction

The continuous administration of local anaesthetics (LA) in the optimal anatomical side during the first 24–48 hours after abdominal surgery minimizes systemic side effects and improves postoperative pain management. Lidocaine is wide used in clinics because of its good efficacy and low toxicity. It is frequently combined with dexamethasone to prolong the duration of analgesia. Thermosensitive hydrogels are pharmaceutical dosage forms, which are a fluid liquid at room temperature and gelify with increasing temperature, allowing its administration in several abdominal surgical procedures.

## Aim

In order to develop a pharmaceutical dosage form that allows an easy administration and at the same time acts as a local drug continuous delivery system, we had developed and characterized a bioadhesive and thermosensitive gel of Lidocaine Hydrochloride (LC) and Dexamethasone Sodium Phosphate (DSP); we also studied the effect of adding Polyethylen Glycol 400 (PEG 400) in the different rheological and physicochemical parameters.

## Experimental and methods

The gels were prepared by a variation of the "cold method", where the poloxamer 407 was dissolved into ¼ parts of pre-cooled water, and then, the other components were added under continuous agitation until complete dissolution.

### Gelation Temperature and de-gelation temperature

Two millilitres of the formula were put into a 5 ml vial and then placed in a water bath at 25 °C, where temperature was increased in 2-3 °C/min. Both parameters were determined visually, considering gelation when the formulation did not show movement when the vial was turned in a 90° angle and de-gelation when it shows it.

### Gelation time

Ten millilitres of the formulation were stirred at constant speed of 500 rpm. The formation of a small vortex in the center of the magnetic bar was considered the initiation time of gelation and the formation of a bead around the magnetic bar or when the bar stopped moving was considered the complete gelation time.

### Viscosity

A Brookfield 23CAP200+L (Brookfield Engineering Laboratories Inc., Stoughton, MA) viscometer was used to determine the viscosity at 25 °C (Spindle n° 04, RT 12 s, HT 12 s, SR 150 RPM) and 37 °C (Spindle n° 06, RT 12 s, HT 20 s, SR 150 RPM).

### pH

The pH was determined without dilution of the samples and at a temperature of 22–23 °C with a CRISON microPH 2001 microprocessor controlled pH-meter (Crison Instruments SA, Alella, Barcelona, Spain).

### Osmolality

The osmolality was determined by the freezing-point method with an Advanced® Model 3320 Micro-Osmometer (Advanced Instruments, Inc. Norwood, MA).

## Results and discussion

Poloxamer 407 (P407) was used as the main polymer, its concentration was set at 12.5%, in order to avoid hypertriglyceridemia and hypercholesterolemia. The Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) used as bioadhesive agent was set at 3% and Polyvinylpyrrolidone (PVP) was used to modify and adjust the gelation temperature, setting it at 0.4%. Lidocaine Hydrochloride (LC) and Dexamethasone Sodium Phosphate (DSP) were the active principles (PAI's) and were set at 2% and 0.4% respectively.

To improve the bioadhesive profile of the formulation and due to the physiological characteristics of the peritoneum and other non-mucosal tissues, Polyethylene glycol 400 (PEG 400) was added to the base formula to study the effect in the different parameters.

Formulation	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
PEG %	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5

Table 1. PEG concentration in the different formulations

The initial addition of PEG 400 caused a decrease in the gelation temperature, but the progressive increase of PEG 400 concentration causes a raise in the gelation temperature through an interference of PEG 400 molecules in the poloxamer micellization process (Figure 1).

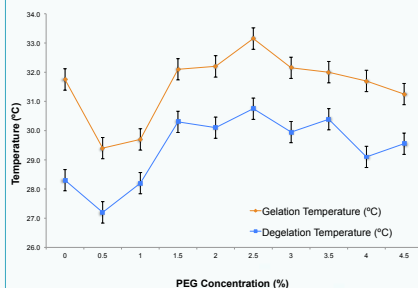


Figure 1. Effect of PEG concentration in the gelation and degelation temperature

The de-gelation temperature, although not reported in previous studies, is affected by the PEG concentration (p-value 0.0068) and it's a measure of the reversibility of gelation.

Viscosity at room temperature (<25 °C) of the different formulations was low enough to easily flow during the administration by syringe and a body temperature viscosity (37 °C) high enough to form a consistent implant (Figure 2). The addition of PEG 400 increased the viscosity at 25 °C (p-

value 0.0262). At 37°C, although a tendency was observed, there was not relation between the PEG 400 concentration and the viscosity (p-value 0.3960).

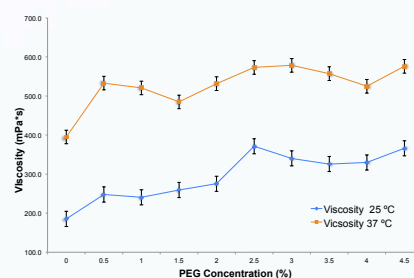


Figure 2. Effect of PEG concentration in viscosity

PEG 400 only affects the time to complete the gelification process (p-value 0.0715) but not the time to begin it (p-value 0.4903).

The pH was not affected by PEG 400, it remained between 6.33 and 6.78, values that provide API's stability and prevent tissue damage.

Osmolality of parenteral formulation should be < 400 mOsm/Kg to prevent local irritation, pain or endothelial damage. It considerable affected by the addition of PEG 400 (p-value 0.0000).

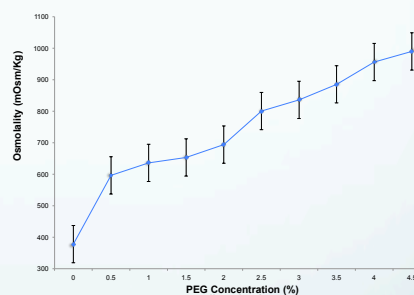


Figure 3. Effect of PEG concentration in osmolality

## Conclusions

Most parameters were within acceptable limits for a parenteral formulation in the range of the studied PEG 400 concentrations, although the values of osmolality were above the recommended. The addition of PEG 400 to the base formula decrease the gelation temperature and increase the viscosity.

## References

- Gonjari, I.D., Hosmani, A.H., Kamarkar, A.B., Godage, A.S., Kadam, S.B., Dhabale, P.N., 2009. Mucoadhesive Gel of Fluconazole. Drug Discov. Ther. 3, 6–9.
- Ricci, E.J., Bentley, M.V.L.B., Farah, M., Bretas, R.E.S., Marchetti, J.M., 2002. Rheological characterization of Poloxamer 407 lidocaine hydrochloride gels. Eur. J. Pharm. Sci. 17, 161–167. doi:10.1016/S0928-0987(02)00166-5
- Xuan, J.J., Balakrishnan, P., Oh, D.H., Yoo, W.H., Park, S.M., Yong, C.S., Choi, H.G., 2010. Rheological characterization and in vivo evaluation of thermosensitive poloxamer-based hydrogel for intramuscular injection of piroxicam. Int. J. Pharm. 395, 317–323. doi:10.1016/j.ijpharm.2010.05.042.
- Yuan, Y., Cui, Y., Zhang, L., Zhu, H.P., Guo, Y.S., Zhong, B., Hu, X., Zhang, L., Wang, X.H., Chen, L., 2012. Thermosensitive and mucoadhesive in situ gel based on poloxamer as new carrier for rectal administration of rimexolone. Int. J. Pharm. 430, 114–119. doi:10.1016/j.ijpharm.2012.03.054
- 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 thermoreversible and bioadhesive long-acting gel for intraperitoneal administration. Int J Pharm [Internet]. Elsevier B.V.; 2016;496(1-2):142–52. Available from: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378517315304130



# Effect of Polyethylene glycol 4000 in a thermosensitive and bioadhesive gel for postoperative pain treatment

Diana Arbelaez-Camargo; Isaac Nofrerias-Roig; Marc Suñé-Pou; Josep Suñé-Negre, Encarna Garcia-Montoya; Pilar Pérez-Lozano.

Pharmacy and Pharmaceutical Technology Department, Faculty of Pharmacy, University of Barcelona, Barcelona, Joan XXIII 27-32, CP 08028 Barcelona - Spain.

## Introduction

New drug delivery systems that allow a localized administration of anaesthetic agents and provide a prolonged effect is of great interest in the multimodal management of postoperative pain. Moreover, the continuous administration of local anaesthetics (LA) and concomitants in the optimal anatomical space after an abdominal surgery minimizes the systemic side effects. In the development of Poloxamer 407 based thermosensitive hydrogels, additional excipients must be carefully selected to keep the thermal properties that are characteristic of these formulations.

## Aim

The aim of this study was to study the effect of the addition of Polyethylene glycol 4000 (PEG 4000), as a bioadhesive reinforcement agent in a thermosensitive poloxamer 407 gel.

## Experimental and methods

Samples were prepared by a variation of the "cold method". Poloxamer 407 was dissolved into ¼ parts of pre-cooled water. Subsequently, the other components were added under continuous agitation until complete dissolution.

### Gelation Temperature and de-gelation temperature

Two millilitres of the formula were put into a 5 ml vial and then placed in a water bath at 25 °C, where temperature was increased in 2-3 °C/min. Both parameters were determined visually, considering gelation when the formulation did not show movement when the vial was turned in a 90° angle and de-gelation when it showed movement.

### Viscosity

A Brookfield 23CAP200+L (Brookfield Engineering Laboratories Inc., Stoughton, MA) viscometer was used to determine the viscosity at 25 °C (Spindle nº 04, RT 12 s, HT 12 s, SR 150 RPM) and 37 °C (Spindle nº 06, RT 12 s, HT 20 s, SR 150 RPM).

### pH

The pH was determined without dilution of the samples and at a temperature of 22 – 23 °C with a CRISON microph 2001 microprocessor controlled pH-meter (Crison Instruments SA, Alella, Barcelona, Spain).

### Osmolality

The osmolality was determined by the freezing-point method with an Advanced® Model 3320 Micro-Osmometer (Advanced Instruments, Inc. Norwood, MA).

## Results and discussion

Poloxamer 407 (P407) main side effects, when administered parenterally, are a hypertriglyceridemia and hypercholesterolemia. To prevent these undesirable concentration-dependent effects, its concentration was set at 12.5%. The concentration of Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) and Polyvinylpyrrolidone (PVP) were set to obtain a gelation temperature between 32-35 °C, after a systematic variation of their concentration. Sistematical Lidocaine Hydrochloride (LC) and Dexamethasone Sodium Phosphate (DSP) were the active principles (PAI's) and were set at 2% and 0.4% respectively.

Due to the physiological characteristics of the peritoneum and other non-mucosal tissues, Polyethylene glycol 400 (PEG 400) was added to the base formula to improve the bioadhesive profile.

Formulation	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
PEG 4000 conc.	0	0.1	1	1	2	2	3	3	4	4.5

The addition of PEG 4000 to the base formulation caused a change in the thermal characteristics of the gel, consequently and contrary to expectations, increasing temperature causes an decrease in viscosity.

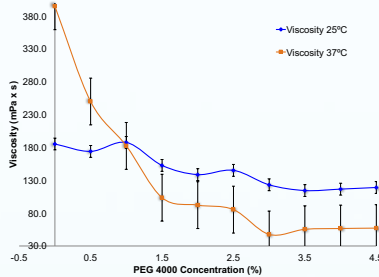


Figure 1. Effect of PEG concentration in the gelation and degelation temperature

As seen in Figure 1 and according to statistical analysis, reciprocal-Y model explains in a 89% the relationship between the concentration of PEG 4000 and the viscosity at room temperature.

Since the p-value from the ANOVA test is less than 0.01, there was a statistically significant relation between the viscosity at 25 °C and the PEG 4000 concentration for a confidence level of 99%.

Furthermore, there was also a statistically significant relation between the viscosity at 37 °C and the PEG 4000 concentration, but in this case, a X-square root model explains the 91% of relation.

In terms of security of the formulation, pH and osmolality were studied to avoid possible pain or tissue damage when administer into the peritoneum.

The addition of PEG 4000 caused a decrease in the pH of base formulation, on the other hand, when increasing it concentration, pH was not affected by (p-value 0.3902). it remained between 6.20 and 6.30, values that provide API's stability and prevent tissue damage.

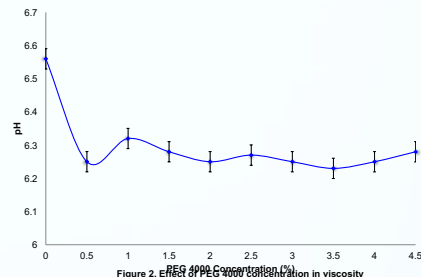


Figure 2. Effect of PEG 4000 concentration in viscosity

Initial addition of PEG 4000 caused a decrease in osmolality, but when increasing its concentration, a linear increase in osmolality was observed (linear model explains 96% of the data).

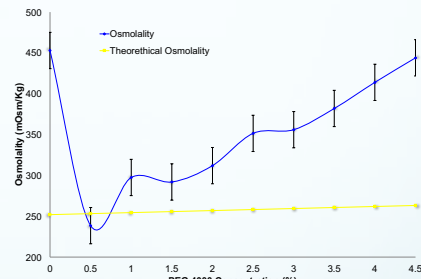


Figure 3. Effect of PEG 4000 concentration in osmolality

There was a statistically significant relation between the osmolality and the PEG 4000 concentration for a confidence level of 99%.

A significant difference is observed between the theoretical osmolality and osmolality experimental.

## Conclusions

- PEG 4000 addition broke thermoreversible characteristics of the gel.
- An initial decreased of pH was observed and maintained despite the increase in the concentration of PEG 4000
- There is an increase in osmolality when increasing the PRG 4000 concentration.

## References

- 1.Gonjari, I.D., Hosmani, A.H., Karmakar, A.B., Godage, A.S., Kadam, S.B., Dhabele, P.N., 2009. Mucoadhesive Gel of Fluconazole. Drug Discov. Ther. 3, 6-9.
- 2.Rico, E.J., Bentley, M.V.L.B., Farah, M., Bretas, R.E.S., Marchetti, J.M., 2002. Rheological characterization of Poloxamer 407 lidocaine hydrochloride gels. Eur. J. Pharm. Sci. 17, 161-167. doi:10.1016/S0928-0987(02)00166-5
- 3.Xuan, J.J., Balakrishnan, P., Oh, D.H., Yeo, W.H., Park, S.M., Yong, C.S., Choi, H.G., 2010. Rheological characterization and in vivo evaluation of thermosensitive poloxamer-based hydrogel for intramuscular injection of proxicam. Int. J. Pharm. 395, 317-323. doi:10.1016/j.ijpharm.2010.05.042
- 4.Yuan, Y., Cai, Y., Zhang, L., Zhu, H.P., Guo, Y.S., Zhong, B., Hu, X., Zhang, L., Wang, X.H., Chen, L., 2012. Thermosensitive and mucoadhesive in situ gel based on poloxamer as new carrier for rectal administration of nimesulide. Int. J. Pharm. 430, 114-119. doi:10.1016/j.ijpharm.2012.03.054
- 5.Arbelaez-Camargo D, Suñé-Negre JM, Roig-Carreras M, Garcia-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 [Internet]. Elsevier B.V.; 2016;498(1-2):142-52. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378517315304130>



## A qui va dirigida?

- A totes aquelles persones amb interès per la recerca i de forma molt especial als alumnes de doctorat i alumnes de Grau de Farmàcia, CTA i Nutrició Humana i Dietètica
- Al personal docent, investigador i de serveis de la nostra Facultat.

## LLOC

Aula Magna de la Facultat de Farmàcia i Ciències de l'Alimentació

## INSCRIPCIÓ

La inscripció dels doctorands es realitzarà a través dels alumnes col·laboradors i és imprescindible per poder lliurar amb posterioritat un certificat d'assistència.

Als alumnes de Farmàcia, CTA i Nutrició Humana i Dietètica que assisteixin tot el matí o tota la tarda, se'ls lliurarà també un certificat d'assistència.

L'assistència s'haurà de demostrar mitjançant la signatura d'uns fulls en diferents intervals del dia.

**La inscripció és gratuïta per a tothom.**

## COMITÈ ORGANITZADOR

- **Dra. Pepita Badia**, Vicedegana de Postgrau i Doctorat de la Facultat
- **Dr. Diego Muñoz-Torero**, Vicedegà de Recerca de la Facultat

## Amb la col·laboració dels següents alumnes de doctorat:

Diana Arbelaez  
Nicolas Baeza  
Gaia Botteri  
Juan Carlos Gaspar Condori  
Francisco Javier Madrid Gambín  
Blanca Grases Pintó  
Mireia Mallendrich  
Silvana de Souza Pinheiro  
Ferran Pérez Janer  
Francisco Javier Pérez Areales  
Hèctor Ruiz Loscertales  
Luciana Ruschel Tallini  
Carla Samanta Godinez



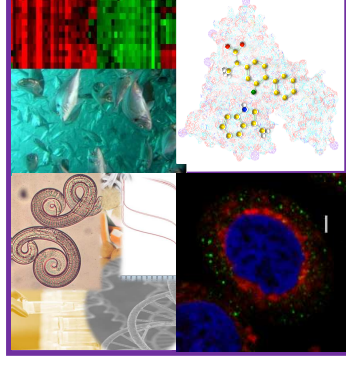
**Amb la col·laboració de  
Federació Farmacèutica**



UNIVERSITAT DE  
BARCELONA



# X JORNADA DE RECERCA A LA FACULTAT DE FARMÀCIA I CIÈNCIES DE L'ALIMENTACIÓ



**Barcelona,  
3 de Juliol de 2017**



## PRESENTACIÓ

La Facultat de Farmàcia i Ciències de l'Alimentació té com a objectiu contribuir a la salut i al benestar, en tots els àmbits de les ciències farmacèutiques i alimentàries mitjançant la formació de professionals competents, la promoció de la recerca, innovació i desenvolupament, i la creació, transferència i difusió del coneixement.

Per tal d'incidir en la promoció de la recerca, s'ha organitzat la X Jornada de Recerca amb els principals objectius:

- Donar a conèixer el col·lectiu d'estudiants implicats en recerca i afavorir la seva comunicació per fer més enriquidora la seva formació i promoure la seva interrelació a nivell de coneixements i a nivell metodològic.
- Transmetre la necessitat de potenciar la recerca, mostrant la recerca de qualitat que es desenvolupa en els diferents departaments.

S'adjudicarà un Premi de Recerca Federació Farmacèutica a les 3 millors presentacions, dotats amb 500, 300 i 200 euros i diploma acreditatiu.

## PROGRAMA

9:15 Acte inaugural a càrrec de la Dra. **Pepita Badia**, Vicedegana de Postgrau Facultat de Farmàcia i Ciències de l'Alimentació, el **Sra. Elisenda Casals** Presidenta de la secció científica de Fedefarma

**Moderador: Dr. Pelayo Camps**

9:30 *Desarrollo galénico de un gel termosenzible y bioadhesivo con actividad analgésica para administración intraperitoneal.* **Diana Arbelaez**, Unitat de Tecnologia Farmacèutica.

9:50 *Alcaloides de las Amaryllidaceae.* **Luciana Ruschel Tallini**, Secció Fisiologia Vegetal.

10:10 *Estrategias multidiana contra la enfermedad de Alzheimer.* **Francisco Javier Pérez-Areales**, Unitat de Química Farmacèutica.

10:30 *Determinación de modos de unión por simulación de la fluorescencia en complejos proteínaligando.* **Silvana Pinheiro**, Secció de Físicoquímica

10:50 *Liberación de ATP extracelular por Shevanelia vesiculosa M7 en vesículas de membrana.* **Nicolás Baeza**, Unitat de Microbiologia.

11:10 *Noves metodologies en síntesi Orgànica. Aplicació a la síntesi d'heterocicles nitrogenats.* **Ferran Pérez Janer**, Unitat Química Orgànica

11:30 PAUSA/CAFÈ

**Moderador: Dra Pilar Pérez**

11:50 *Regulación de la transcripción en el metabolismo nutricional de dorada (Sparus aurata).* **Josás Silva Marrero**, Secció Bioquímica i Biologia Molecular

12:10 *Efecte protector dels probiòtics en la diarrea associada a la infecció per rotavirus en primeres etapes de vida.* **Ignasi Azagra Boromat**, Secció de Fisiologia.

12:30 *VLDL and ApoCIII contribute to ER stress, inflammation and insulin resistance in skeletal muscle cells.* **Gaia Botteri**, Secció de Farmacologia

12:50 *Presencia de Anisakis en pescado y productos procesados derivados mediante técnicas de PCR en tiempo real.* **Carla Godínez González**, Secció de Parasitologia.

13:10 **CONFERÈNCIA: La viroteràpia oncolítica: una divinitat o protegia pel tractament del càncer.**

**Dra. Cristina Elibet**

Institut d'Innovació en Teràpies Avançades per la Salut i el Benestar (IBIAP) i un dels alumnes de doctorat i alumnes de Grau de Farmàcia, CIA i Nutrició Humana i Dietètica

14:10 **M. Personal docent, investigador i de serveis de la nostra Facultat**

**Moderador: Dr. Laura Baldomà**

15:40 **Metabolomic analysis of dietary pulses consumption by H-NMR.** **Francisco Javier Madrid Gamba**, Secció de Fisiologia i Bromatologia de l'Alimentació

16:00 **INSERPCIÓ Personalizados de Dosificación: Deshabitación ambulatoria a benzodiazepínicos de los pacientes con epilepsia.** **Unidad Farmacología Clínica y Farmacología** i és imprescindible per poder lluitar amb **patología que no se certifica en España.**

16:20 **Actualización de formulaciones de biofarmacéuticos.** **Unidad Farmacología Clínica y Farmacología**

16:40 **New strategies to estimate conformational penalty and design of new antimalarial drugs.** **Tom Vayna Gaza**, Secció Ciències bàsiques aplicades a l'alimentació

**Participació és gratuïta per a tothom.**

17:00 Lliurament de Diplomes. Lliurament de Premis Federació Farmacèutica.

## COMITÈ ORGANITZADOR

- **Dra. Pepita Badia**, Vicedegana de Postgrau i Doctorat de la Facultat  
- **Dr. Diego Muñoz-Torrero**, Vicedegà de Recerca de la Facultat

**Amb la col·laboració dels següents alumnes de doctorat:**

Diana Arbelaez  
Nicolás Baeza  
Gaia Botteri  
Juan Carlos Gaspar Condori  
Francisco Javier Madrid Gamba  
Blanca Grasses Pinto  
Mireia Mallendrich  
Silvana de Souza Pinheiro  
Ferran Pérez Janer  
Francisco Javier Pérez Areales  
Hèctor Ruiz Loscertales  
Luciana Ruschel Tallini  
Carla Samanta Godínez



**Amb la col·laboració de Fedefarma Farmacèutica**