

▶ José M. Bermudez, Daniela Quinteros, María V. Virgili, Daniel Allemandi y Santiago Palma

Recientes avances sobre hidrogeles termosensibles utilizados como sistemas de liberación de fármacos

María V. Virgili, José M. Bermudez, Instituto de Investigaciones para la Industria Química (INIQUI-CONICET), Universidad Nacional de Salta, Buenos Aires 177 (A4402FDC) Salta, Argentina. Daniela Quinteros, Daniel Allemandi y Santiago Palma, UNITEFA – CONICET. Departamento de Farmacia. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Nacional de Córdoba (5000) Córdoba, Argentina. María V. Virgili, Sede Regional Metán, Universidad Nacional de Salta, Buenos Aires 177 (A4402FDC) Salta, Argentina

Este artículo revisa las aplicaciones de interés para los científicos farmacéuticos, biomédicos e ingenieros, de formulaciones líquidas de polímeros con capacidad de formar "implantes" *in situ* ante cambios de temperatura. Las ventajas recientemente corroboradas sobre los polímeros biodegradables y termosensibles son exploradas para dar una visión amplia de las estrategias disponibles para modificar estos materiales con el fin de hacerlos adecuados para potenciales aplicaciones en tecnologías sanitarias, especialmente medicamentos.

En los últimos años, los sistemas de administración de fármacos que emplean polímeros se han convertido en un área ampliamente estudiada en ciencia y tecnología farmacéutica. Ciertas propiedades de los polímeros pueden ser modificadas a fin de permitir cumplir con criterios específicos que permitan diseñar formas farmacéuticas adecuadas para diversas aplicaciones biomédicas.

El desafío por crear sistemas poliméricos funcionales que "imiten" los sistemas naturales es considerado la fuerza motriz hacia una nueva generación de polímeros, llamados "estímulo sensible" o "polímeros inteligentes", que cambian sus estructuras y funciones en respuesta a los estímulos ambientales. Estos tipos de polímeros, que presentan cambios en las respuestas físico-químicas a es-

tímulos externos tales como sustancias químicas, cambios en la temperatura, el pH y los campos eléctricos, han sido considerablemente explorados como potenciales sistemas de administración de fármacos.

Dentro de este grupo de materiales, aquellos que exhiben cambios dramáticos en su comportamiento en solución acuosa a temperaturas próximas a la temperatura del cuerpo, son de particular interés en la administración de fármacos y aplicaciones biomédicas. Esta tecnología hace posible la aplicación de formulaciones farmacéuticas en estado líquido con posterior gelificación *in situ*, proporcionando una liberación prolongada del fármaco o molécula bioactiva en el sitio de aplicación.

Los polímeros termosensibles tienen un amplio rango de aplicaciones, es-

pecialmente los copolímeros tribloque, debido a que presentan propiedades únicas en soluciones acuosas, biodegradabilidad y biocompatibilidad. Estos copolímeros pueden ser utilizados como potenciales sistemas portadores de fármacos, especialmente aquellos de naturaleza proteínica o poco solubles en agua. Este artículo revisa las aplicaciones de interés para los científicos farmacéuticos, biomédicos e ingenieros, de formulaciones líquidas de polímeros con capacidad de formar "implantes" *in situ* ante cambios de temperatura. Las ventajas recientemente corroboradas sobre los polímeros biodegradables y termosensibles son exploradas para dar una visión amplia de las estrategias disponibles para modificar estos materiales con el fin de hacerlos adecuados para potenciales aplicaciones en

tecnologías sanitarias, especialmente medicamentos.

Por este motivo, y sólo para mostrar un barómetro sobre el interés en esta clase de polímeros, la Figura 1 destaca las publicaciones científicas de los últimos 20 años mediante la invocación de las palabras claves "thermosensitive" y "polymer" en tres conocidas bases de datos. El número de registros que se muestran en el año de la publicación evidencia un creciente interés y actividad de investigación en la última década, es decir, una vez que la prueba de concepto y el desarrollo tecnológico fueron lo suficientemente convincentes para las comunidades académica e industrial.

Los hidrogeles termosensibles han sido objeto de una extensa investigación en las últimas décadas ya que sus propiedades, tales como alto contenido de agua y el control posible sobre la cinética de hinchamiento, los hacen muy atractivo para la I+D en tecnología farmacéutica. Estos sistemas se presentan como líquidos que pueden ser introducidos o depositados en la superficie del cuerpo con una técnica mínimamente invasiva antes de solidificarse o gelificarse en el tejido diana, órgano o cavidad corporal.

Las matrices poliméricas de formación *in situ* proporcionan ventajas con respecto a otros sistemas que requieren procedimientos quirúrgicos de implante

e incluso a veces deben ser retirados al final del tratamiento. Además, si es necesario, varios agentes terapéuticos pueden ser incorporados en estos polímeros por simple mezcla. Los hidrogeles están actualmente bajo investigación como matrices para la liberación controlada de moléculas bioactivas, en particular proteínas farmacéuticas, y para la encapsulación de células vivas. Sin embargo, para estas aplicaciones, se requiere a menudo que los geles se degraden bajo condiciones fisiológicas y posean buena resistencia mecánica. Los hidrogeles se pueden clasificar, sólo por conveniencia, en diferentes grupos en base a la fuente de origen, la estructura química, el método de preparación, la carga eléctrica, la estructura física, la reticulación o la función.

Los hidrogeles son probablemente los sistemas poliméricos sensibles a estímulos ambientales más frecuentemente estudiados en el área de investigación relacionada a la administración de fármacos. Estos hidrogeles son capaces de hincharse o deshincharse como resultado de un cambio en la temperatura del fluido circundante.

Las macromoléculas utilizadas con fines terapéuticos requieren el uso de sistemas poliméricos, ya que poseen vida media muy corta en plasma sanguíneo y son sensibles a la degradación física o química. Aunque muchas proteínas, péptidos terapéuticos y fármacos ba-

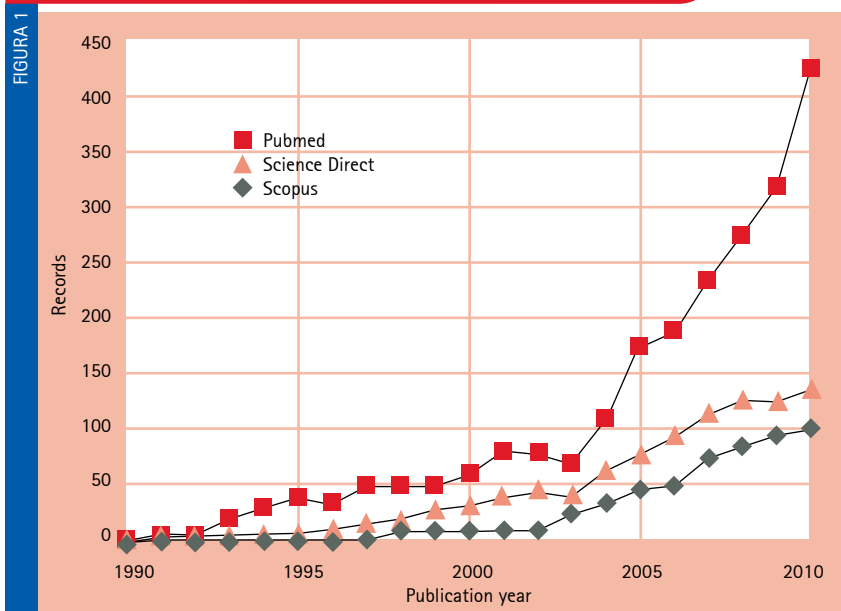
sados en ADN están disponibles debido a los avances en la biotecnología, las rutas convencionales de administración de estos productos requieren dosis frecuentes para lograr una concentración plasmática terapéuticamente aceptable, lo que puede conducir a un mal cumplimiento por parte del paciente, así como a efectos secundarios indeseables.

Por estas razones, se realizaron significativos esfuerzos para diseñar plataformas poliméricas de liberación sostenida y controlada de fármacos proteínicos con el fin de reducir la frecuencia de administración. Este interés ha sido impulsado por las ventajas que poseen estos sistemas, como la sencillez de aplicación, la distribución localizada para una acción sitio-específico (1), los períodos prolongados inter administración y una menor dosis del fármaco necesaria en el cuerpo, con la reducción simultánea de los efectos secundarios no deseados común a la mayoría de las formas de administración sistémica, mejorando así el cumplimiento del paciente. Además, ofrece la posibilidad de extender la validez de patentes de fármacos próximas a caducar.

Los geles viscoelásticos, con las propiedades micro y macroscópica convenientemente diseñadas para asegurar largos períodos de residencia y liberación del fármaco, aparecen como potenciales sistemas para iniciar el desarrollo tecnológico. De este modo, una solución de polímero capaz de formar *in situ* un gel adecuado a una temperatura cercana a la temperatura fisiológica, puede ser atractivo para el desarrollo de sistemas de liberación de fármacos. Un sistema ideal termosensible podría ser descrito como una solución con propiedades de flujo similares a las de un líquido a temperatura ambiente que sin embargo debe gelificar a la temperatura corporal con mínima sinéresis. Por otro lado, la carga de fármaco debe lograrse mediante simple mezcla. En caso de estar diseñados para administrarse por vía ocular o parenteral, estos sistemas deberían exhibir un pH cercano a la neutralidad y ser bioabsorbibles y esterilizables.

Tales formulaciones, con una liberación controlada de fármacos, evitarían la administración frecuente de dosis individuales, así como dolorosos proce-

► Número de artículos que contienen las palabras "thermosensitive" y "polymer" en los últimos 20 años.



dimientos quirúrgicos para insertar los implantes sólidos. Con el fin de obtener productos aprobados por las autoridades reguladoras, los excipientes deben cumplir con los requisitos de seguridad, tolerabilidad, biodegradabilidad y esterilización.

Este artículo revisa lo antes descrito y se centra principalmente en el uso de geles termosensibles a base de polímeros tales como copolímeros de *N*-isopropilacrilamida (pNiPAAm) y poli(óxido de etileno)_x-poli(óxido de propileno)_y-poli(óxido de etileno)_x (POE-POP-POE) y sus copolímeros respectivos, así como polímeros naturales y derivados, entre otros polímeros termosensibles, que también fueron estudiados.

► Polímeros naturales y derivados

► **Polisacáridos derivados de la celulosa:** La celulosa se forma por la unión de moléculas de β-glucopiranososa mediante enlaces β-1,4-O-glucosídico (Figura 2A). La celulosa es un polisacárido estructural en las plantas ya que forma parte de los tejidos de sostén. La mayoría de estos polímeros naturales en solución forman un gel a medida que la temperatura decrece. Un ejemplo clásico de estos polímeros naturales son la gelatina y la carragenina (2).

Algunos derivados de la celulosa son una excepción en lo relacionado a los mecanismos de gelación. A bajas concentraciones (1-10%p/v) dan soluciones estables a bajas temperaturas pero gelifican cuando se empieza a calentar. Metilcelulosa (MC) (Figura 2B) e Hidroximetilcelulosa (HPMC) (Figura 2C) son clásicos ejemplos de este comportamiento.

MC forma un gel entre 40 y 50°C mientras que para HPMC recién se observa la fase de transición entre 75 y 90°C. Esta temperatura de transición puede verse reducida realizando modificaciones físicas y químicas. Por ejemplo la incorporación de NaCl a la solución de MC reduce la temperatura de transición a 32-34°C. Igualmente si realizamos la sustitución de los grupos oxidrilos de HPMC la temperatura también decrece a 40°C (3,4).

A bajas temperaturas las macromoléculas son hidratadas y existe muy baja interacción polímero-polímero.

A medida que la temperatura se eleva, estos polímeros gradualmente pierden la hidratación, lo cual se ve reflejado en una disminución de la viscosidad relativa. A medida que se va produciendo la deshidratación completa de la macromolécula se producen fuertes interacciones polímero-polímero reflejada experimentalmente sobre un fuerte incremento de la viscosidad relativa (3,4). Este fenómeno de transición sol-gel se ha utilizado para el diseño de los sistemas de gelificación *in situ*.

MC forma hidrogeles cuyas propiedades mecánicas, como la rigidez, pueden ser modificadas variando la concentración de la solución, la fuerza iónica y/o peso molecular

► **Chitosan:** Chitosan (Figura 2D) es un polímero biocompatible, catiónico, pH dependiente y soluble en agua a un pH por debajo de 6,2. Se caracteriza por su muy baja toxicidad y por ser biodegradable. Estas características le confieren potencialidad para múltiples aplicaciones tanto en medicina como en farmacia (5). En los últimos años se han diseñado membranas termosensibles formadas por chitosan y poli(lactido-co-glicolido) (PLGA) y otros poli(α-hidroxi ácidos), tal como poli(láctido) (PLA) o poli(glicólido) (PGA). La combinación de estos polímeros ha sido utilizada como portador de fármacos, con la posibilidad de liberación prolongada del activo. Las moléculas tales como hormonas, esteroides,

antibióticos y agentes anticancerígenos han sido las más utilizadas (6-8).

► **Xiloglucan:** Mientras que el xiloglucan nativo no es un polímero termosensible, el polímero parcialmente desgalactosilado sí presenta este comportamiento (Figura 2E). El polisacárido nativo tiene una estructura que consiste en residuos de glucosa, con grupos laterales de xilosa unidos a través de enlaces glicosídico (Figura 2.E). Xiloglucan se puede transformar en un polímero termosensible mediante el uso de un hongo β-galactosidasa que permite eliminar más del 35% del residuo galactosa (9).

Estos geles termosensibles han sido utilizados para ser administrados por la vía oral o rectal permitiendo liberar al fármaco de manera prolongada. También existe la administración de estos sistemas por la vía intraperitoneal y para ello se desarrollaron geles de xiloglucan utilizando como fármaco modelo mitomicina.

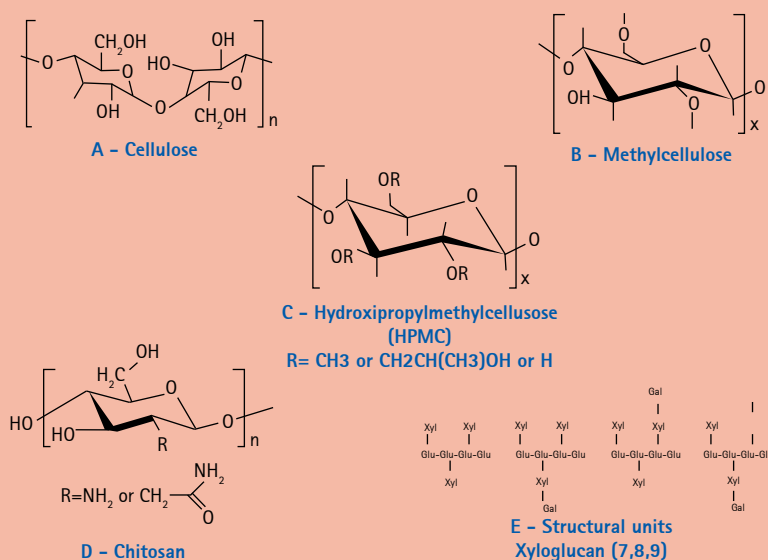
► Proteínas: Colágeno y Gelatina

Debido a su naturaleza programable, biodegradable y reabsorbible las proteínas son excelentes candidatas para el desarrollo de biomateriales (10). Un clásico formador de hidrogel de proteína es la gelatina, que proviene de colágeno animal mediante tratamiento a pH extremo seguido por un calentamiento.

Tanto la gelatina como el colágeno son materiales biocompatibles y biode-

► Algunas estructuras químicas de unidades de polímeros termosensibles naturales / semi-naturales.

FIGURA 2



gradables utilizados para aplicaciones farmacéuticas y médicas (11). Sin embargo, la variabilidad en la composición y estructura de gelatinas derivadas de animales, y la posibilidad de que el colágeno y gelatina puedan provocar respuestas inflamatorias en seres humanos, instó al desarrollo de técnicas para la producción recombinante de estos biomateriales (12,13). Una ventaja importante de la producción recombinante es la capacidad de controlar genéticamente la estructura de la proteína y, por lo tanto, sus propiedades físicas y químicas (14).

La gelatina es un término genérico para una mezcla de fracciones de proteína purificada obtenidas por hidrólisis ácida parcial (gelatina tipo A) o por hidrólisis alcalina parcial (gelatina tipo B) del colágeno animal.

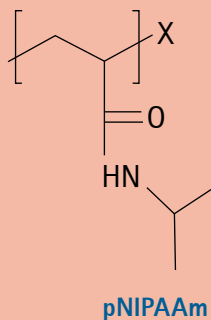
Por debajo de 25°C, una solución acuosa de gelatina se solidifica debido a la formación de triples hélices y una red tridimensional rígida. Cuando la temperatura se eleva por encima de aproximadamente 30°C, los cambios en la conformación de hélice a una estructura más flexible hacen que el gel se convierta en líquido de nuevo. Como el comportamiento térmico opuesto es necesario para aplicaciones biomédicas, los investigadores han combinado gelatina con otros polímeros que muestran gelificación térmica más cerca de la temperatura corporal.

► Sistemas basados en *N*-isopropilacrilamida (NIPAAm)

Un típico polímero termosensible es el pNIPAAm (Figura 3), que exhibe una transición reversible en solución acuosa alrededor de 32°C. La solución acuosa

► Estructuras químicas del polímero termosensible basado en *N*-isopropilacrilamida.

FIGURA 3



de pNIPAAm se convierte en opalescente por encima de 32-33°C debido al colapso de las cadenas de pNIPAAm y a un posterior reordenamiento de las cadenas poliméricas. En dicha transición, las interacciones de hidrógeno entre pNIPAAm y el agua se rompen y los grupos isopropilo quedan más expuestos. De esta manera, el comportamiento hidrófilico de pNIPAAm (por debajo de 32°C) cambiaría a un comportamiento hidrófobico (por encima de 33°C).

Durante la transición, los hidrogeles de pNIPAAm presentan un cambio significativo en el volumen. Esta transición de fase es reversible y se produce dentro de un estrecho rango de temperatura. La copolimerización de pNIPAAm con monómeros más hidrofílicos, como por ejemplo con ácido acrílico (AAC) o acrilamida (AAM), permite obtener un valor temperatura de gelificación (Tgel) cercano a la temperatura del cuerpo. La Tgel del polímero debe ser ligeramente inferior a la temperatura corporal para alcanzar las propiedades requeridas como sistema portador de fármacos. Esto puede lograrse monitoreando la copolimerización de pNIPAAm con monómeros hidrófilicos. Existen diversas aplicaciones de acuerdo a las combinaciones de pNIPAAm con diferentes monómeros hidrófilicos, tales como AAC, AAM, *N*-vinil-2,2-pirrolidona y *N*-metil acrilamida.

► Poli(*N*-isopropilacrilamida)/polisacáridos

Recientemente se ha desarrollado un nuevo gel termosensible preparado *in situ* consistente en la copolimerización de pNIPAAm con Chitosan (pNIPAAm/CH). El copolímero pNIPAAm /CH tiene una Tgel de 32°C, correspondiente a la temperatura de la superficie ocular. La C_{max} de maleato de timolol en el líquido acuoso para la solución pNIPAAm/CH fue de 11,2 µg/ml. Esta concentración es dos veces mayor que la formulación convencional, además de tener una

mayor biodisponibilidad. Además, el gel termosensible de pNIPAAm/CH con maleato de timolol tiene una mayor capacidad para reducir la presión intraocular (PIO) que el de la formulación comercial, durante un período de 12 hs.

► Sistemas basados en Poloxamer

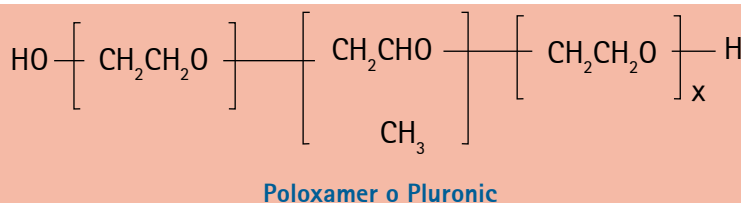
► **Poloxamer (Pluronic®)**: Los polímeros sintéticos también son materiales ampliamente utilizados en sistemas de administración de fármacos y otras moléculas bioactivas como fragmentos de ADN (15). Un ejemplo importante y prometedor de este tipo de materiales son los copolímeros tribloque también conocidos como Pluronic® o Poloxamer (Figura 4), que tienen un comportamiento termorreversible en soluciones acuosas. Estos polímeros consisten en bloques de óxido de etileno (OE) y óxido de propileno (OP) dispuestos en una estructura básica ABA: OEX-OPy-OEX. Esta disposición resulta en un copolímero anfifílico, donde el número de unidades hidrófilas OE (x) y las unidades hidrófobas OP (y) puede ser modificado. La serie de Poloxamers abarca una amplia gama de líquidos, pastas y sólidos, con pesos moleculares que varían de 1.100 a 14.000 y proporciones en peso OP-OE desde 1:9 hasta 8:2.

Mediante el ajuste de la composición, peso molecular y la concentración, la gelificación reversible puede ocurrir a temperatura y pH fisiológico (16). Una característica distintiva de Poloxamer es la capacidad de cada molécula de copolímero de autoensamblarse formando micelas en solución acuosa. Las micelas de Poloxamer son comúnmente representados como esferas compuestas de un núcleo de OP y una corona de OE.

El proceso de transferencia de compuestos insolubles en agua al núcleo de OP en la solución micelar es conocido como "solubilización". En los últimos años las micelas de Poloxamer,

► Estructura química del polímero termosensible Poloxamer

FIGURA 4



cargadas con fármacos solubilizados de bajo peso molecular y polipéptidos, han sido activamente investigadas como posibles sistemas de administración de fármacos (17). El núcleo formado por las cadenas de OP es un compartimento incompatible con el agua, que está separado desde el exterior por la corona acuosa hidrófila de las cadenas de OE, formando un "compartimento de carga" capaz de incorporar muchos agentes biológicos. Como resultado, las micelas poliméricas se pueden utilizar como portadores eficaces de compuestos con baja solubilidad, farmacocinética indeseable y baja estabilidad en un entorno fisiológico (18). Poloxamer 407 (Pluronic® F127) tiene la capacidad de formar geles a 25°C, al 20% p/v, que es un valor menor que las concentraciones informadas para otros miembros de la serie Poloxamer.

A temperatura ambiente (25°C), sus soluciones se comportan como un líquido viscoso móvil, mientras que se ven como un gel transparente semi-sólido a temperatura corporal (37°C). Las desventajas potenciales de los geles de Poloxamer son su baja resistencia mecánica y la rápida erosión (es decir, la disolución de la superficie).

A pesar de la naturaleza no degradable de estos materiales, las moléculas de pesos moleculares menores de 10-15 kDa pueden ser eliminadas a través de filtración renal.

Además de los inyectables, otras vías de administración han sido evaluadas para estos polímeros, como la rectal (19), vaginal (20), transdérmica (21) y oftálmica (22). Como regla general, las formulaciones de Poloxamer aumentan el tiempo de residencia de los fármacos en los lugares de aplicación, lo que resulta en una mejora de la biodisponibilidad y la eficacia.

► Conclusiones

La utilidad de los geles termosensibles en la administración de fármacos y aplicaciones biomédicas es importante y aumenta con el tiempo. La investigación en el área de polímeros termosensibles para la administración de fármacos y genes, así como en la prevención de adhesión de tejidos y el tratamiento de heridas, ha quedado bien establecida durante los últimos años.

Sin embargo, el desarrollo de estas plataformas basadas en polímeros debe de superar los desafíos relacionados con la mejora de la estabilidad del fármaco, la cinética de liberación y las condiciones óptimas de administración.

La elección de un polímero termosensible en particular depende de sus propiedades intrínsecas y el uso terapéutico deseado. Por ejemplo, la formación de un gel transparente es especialmente importante cuando se consideran aplicaciones oftálmicas. Los geles no-biodegradables podrían ser útiles para otras vías de administración que no sea la parenteral.

Un mayor progreso en el desarrollo de la biotecnología y los fármacos de síntesis producirá más agentes activos farmacéuticos que serán difíciles de administrar por las vías convencionales, por lo que se espera que aumente la demanda de sistemas de liberación controlada o sistemas sitio-específicos.

Estos sistemas pueden ser potencialmente útiles para formular una amplia variedad de agentes terapéuticos difíciles de vehicular en sistemas tradicionales, tales como ADN, proteínas y fármacos insolubles en agua o altamente tóxicos. Recientemente, los geles que exhiben un comportamiento sol-gel termosensible han sido informados como vehículos de células para la regeneración de tejidos ■

Agradecimientos: Los autores desean agradecer a CONICET por el apoyo financiero que hizo posible este trabajo.

► Referencias

- 1- Tipton, A.J.; Dunn, R.L. *In situ gelling systems, in: Sustained Release Injectable Products*, J.H. Senior, M. Radomsky (Eds.), Interpharm Press, Denver, CO, 2000, pp. 71-102.
- 2- Harrington, W.F.; Von Hippel, P.H. *The structure of collagen and gelatin*. *Adv. Protein. Chem.*, 1961, 16, 1-138.
- 3- Heymann, E. *Studies on sol-gel transformations. The inverse sol-gel transformation of methylcellulose in water*. *Trans. Faraday Soc.*, 1935, 31, 846-864.
- 4- Sarkar, N. *Thermal gelation properties of methyl and hydroxypropyl methylcellulose*. *J. Appl. Polym. Sci.*, 1979, 24, 1073-1087.
- 5- Muzzarelli, R.A.A. *Chitins and chitosans for the repair of wounded skin, nerve, cartilage and bone*. *Carbohydr. Polym.*, 2009, 76, 167-182.
- 6- Ganji, F.; Abdekhodaie, M. J.; Ramazani, S. A. A. *Gelation time and degradation rate of chitosan-based injectable hydrogel*. *J. Sol-Gel Sci. Techn.*, 2007, 42, 47-53.
- 7- Ruel-Gariepy, E.; Leclair, G.; Hildgen, P.; Gupta, A.; Leroux, J.C. *Thermosensitive chitosan based hydrogel containing liposomes for the delivery of hydrophilic molecules*. *J. Control Release*, 2002, 82, 373-383.

- 8- Mohamed, F.; Van Der Walle, Ch. F. *Engineering biodegradable polyester particles with specific drug targeting and drug release properties*. *J. Pharm. Sci.*, 2008, 97 (1), 71-87.
- 9- Shirakawa, M.; Yamatoya, K.; Nishinari, K. *Tailoring of xyloglucan properties using an enzyme*. *Food-Hydrocoll.*, 1998, 12, 25-28.
- 10- Ramachandran, S.; Yu, Y.B. *Peptide-based viscoelastic matrices for drug delivery and tissue repair*. *BioDrugs*, 2006, 20, 263-269.
- 11- Olsen, D.; Yang, C.; Bodo, M.; Chang, R.; Leigh, S.; Baez, J.; Carmichael, D.; Perala, M.; Hamalainen, E.R.; Jarvinen, M.; Polarek, J. *Recombinant collagen and gelatin for drug delivery*. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2003, 55, 1547-1567.
- 12- Yang, C.; Hillas, P.J.; Baez, J.A.; Nokelainen, M.; Balan, J.; Tang, J.; Spiro, R.; Polarek, J.W. *The application of recombinant human collagen in tissue engineering*. *BioDrugs*, 2004, 18, 103-119.
- 13- Djabourov, M. *Progress in Biotechnology-Industrial Proteins in Perspective*, Elsevier Science, Amsterdam, 2003, 133-218.
- 14- Dinerman, A.A.; Cappello, J.; Ghandehari, H.; Hoag, S.W. *Swelling behavior of a genetically engineered silk-elastinlike protein polymer hydrogel*. *Biomaterials*, 2002, 23, 4203-4210.
- 15- Langer, R. *Drug delivery and targeting*. *Nature*, 1998, 392, 5-10.
- 16- Alexandridis, P.; Hatton, T.A. *Poly(ethylene oxide)-poly(propylene oxide)-poly(ethylene oxide) block copolymer surfactants in aqueous solutions and interfaces: thermodynamics, structure, dynamics and modeling*. *Colloids Surf. A*, 1995, 96, 1-46.
- 17- Kabanov, A.V.; Alakhov, V.Y. *Pluronic block copolymers in drug delivery: from micellar nanocontainers to biological response modifiers*. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*, 2002, 19, 1-72.
- 18- Kwon, G.S.; Okano, T. *Soluble self-assembled block copolymers for drug delivery*. *Pharm Res*, 1999, 16 (5) 597-600.
- 19- Ryu, J.M.; Chung, S.J.; Lee, M.H.; Kim, C.K.; Shim, C.K. *Increased bioavailability of propranolol in rats by retaining thermally gelling liquid suppositories in the rectum*. *J Control Release*, 1999, 59, 163-172.
- 20- Chang, J.Y.; Oh, Y.K.; Kong, H.S.; Kim, E.J.; Jang, D.D.; Nam, K.T.; Kim, C.K. *Prolonged antifungal effects of clotrimazole-containing mucoadhesive thermosensitive gels on vaginitis*. *J Control Release*, 2002, 82, 39-50.
- 21- Shin, S.C.; Cho, C.W.; Oh, I.J. *Enhanced efficacy by percutaneous absorption of piroxicam from the poloxamer gel in rats*. *Int J Pharm*, 2000, 193, 213-218.
- 22- El-Kamel, A.H. *In vitro and in vivo evaluation of Pluronic F127- based ocular delivery system for timolol maleate*. *Int J Pharm*, 2002, 241, 47-55.