

Lipossomas contendo vancomicina veiculados em gel de pluronic para aplicação intraocular.

Liposomes containing vancomycin in block copolymer pluronic hydrogel for intravitreal administration.

Odair José Gaspar

Mestre em Tecnologia Farmacêutica – UNESP e professor na FAI

Anselmo Gomes de Oliveira

Professor Adjunto Departamento de Fármacos e Medicamentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP/ Araraquara.

Cristiana Boldoni Gaspar

Cirurgiã-Dentista graduada pela FAI

Resumo

A evolução da tecnologia farmacêutica está associada às pesquisas de novas formas farmacêuticas para administração de fármacos já conhecidos. Isto tem propiciado melhoras significativas na qualidade terapêutica com o uso de novos medicamentos. Este trabalho estudou o comportamento da viscosidade de diversas preparações de pluronic F127, a associação deste com lipossomas contendo cloridrato de vancomicina e avaliação da influência do copolímero na eficiência de encapsulação e na liberação do fármaco. Os resultados mostraram geleificação termo-reversível nas concentrações de 20 a 30% do pluronic, apresentou-se em estado líquido em torno de 4 a 5°C e formou gel altamente viscoso à temperatura ambiente e corpórea. A eficiência de encapsulação dos lipossomas foi maior nas preparações com menor concentração de vancomicina 1mg/mL e obtiveram aumento significativo de até 8 vezes no percentual de encapsulação dos lipossomas contendo pluronic F127 a 15%. Os resultados in vitro mostraram o efeito do copolímero e dos lipossomas em retardar a liberação do cloridrato de vancomicina. Este comportamento pode ser explicado pelo aumento da viscosidade das preparações contendo pluronic, em temperatura corpórea (37°C), também através da encapsulação do fármaco no compartimento aquoso dos lipossomas e pela interação do copolímero associado ao fármaco e a membrana fosfolipídica. Assim sendo, o que diminui o coeficiente de difusão da vancomicina incorporado, obtendo lenta dissolução do sistema e consequente-

mente baixa velocidade de liberação do fármaco para o líquido receptor.

Palavras- chave

Vancomicina – lipossomas - pluronic

Abstract

The evolution of the pharmaceutical technology is already associated to the researches in new pharmaceutical ways for drugs administration known. This has been propitiating significant improvements in the therapeutic quality with the use of new medicines. This work studied the behavior of the viscosity of several pluronic F127 preparations, the association of them with liposomes containing vancomycin and evaluation of the influence of the copolymer in the encapsulation efficiency and in the liberation of the drug. The results showed term-reversible gelation in the concentrations from 20 to 30% of the pluronic, it came in liquid state around 4 to 5°C and it formed gel highly viscous in room and corporal temperatures. The efficiency of encapsulation of the liposomes was larger in the preparations with smaller concentration of vancomycin 1mg/mL and they obtained significant increase of at least 8 times in the percentile of encapsulation of the liposomes containing pluronic F127 15%. The results of the in vitro showed the effect of the copolymer and of the liposomes in delaying the release of the vancomycin. This behavior can

be explained by the increase of the viscosity of the preparations containing pluronic, in corporal temperature (37°C), also through the encapsulation of the vancomycin in the aqueous compartment of the liposomes and for the interaction of the copolymer associated to the drug and the phospholipidic membrane. Like this being what reduces the coefficient of diffusion of the incorporate vancomycin, obtaining slow dissolution of the system and consequently low speed of release of the drug for the receiving liquid.

Key-words

Vancomycin – liposomes - pluronic

Introdução

Vancomicina é produzido por *Streptococcus orientalis*, uma bactéria do grupo Actinomycetales (HOLT et al., 1994). É um antibiótico glicopeptídico que atua principalmente em bactérias gram-positivas e é utilizado principalmente no tratamento e profilaxia de infecções causadas por *Staphylococcus* resistentes a meticilina.

As cepas são consideradas sensíveis a este fármaco em CIM < 4µg/mL. *S. aureus* e *S. epidermidis*, incluindo cepas resistentes à meticilina, são inibidos por concentrações de 1,0 a 5,0µg/mL. Pouco absorvido por via oral e eliminado em maior quantidade através das fezes. Em terapias parenterais, em adultos uma única dose de 1g intravenosa produz concentrações plasmáticas de 15 a 30µg/mL após 1 a 2 horas de infusão e sua meia-vida de eliminação sérica é de aproximadamente 6 horas. Mais de 90% de uma dose injetada são eliminados através de filtração glomerular. Se a função renal estiver alterada, teores elevados são capazes de acumular-se causando nefrotoxicidade. As manifestações colaterais mais significativas são a ototoxicidade e a nefrotoxicidade.

Dos diversos locais passíveis de aplicação e administração, a via intra-ocular possui inconvenientes, como o desconforto e a baixa aceitabilidade do paciente. Estes inconvenientes são mais evidentes quando terapias que envolvam a via intra-ocular forem periódicas e prolongadas. Nestes casos, surgem medidas de redução do número de aplicações

necessárias para se obter a concentração terapêutica do medicamento.

As novas formas de administração têm enfatizado principalmente o estudo do direcionamento de fármacos a alvos específicos após a administração, melhorando a biodisponibilidade e diminuindo a toxicidade de alguns fármacos (OLIVEIRA & SCARPA, 1997).

Lipossomas têm sido estudados desde 1965, quando foram descritos pela primeira vez por Bingham, Standish e Watkins (1965). Desde então, lipossomas têm sido empregados extensivamente para o estudo de propriedades físico-químicas de anfílicos, como modelos de membranas e como sistemas para o transporte de uma grande variedade de substâncias, com efeito, farmacológico (BANGHAM, 1993).

Os lipossomas adquirem extrema importância na encapsulação de fármacos que exibem toxicidade, como a vancomicina, o qual se mostrou capaz de provocar ototoxicidade e a nefrotoxicidade após administração intravenosa (PRYOR; APT; LEOPOLD, 1962; HOMER et al., 1975).

Dentre as vantagens de utilização de lipossomas destacam-se suas propriedades em melhorar a solubilidade dos fármacos; produzirem uma liberação controlada do fármaco durante um período de tempo maior; alterar a farmacocinética e a distribuição dos fármacos encapsulados (ALLEN, 1998; LANGER, 1998).

A melhora do índice terapêutico de antimicrobianos após sua encapsulação em lipossomas é o resultado do direcionamento do fármaco para o tecido ou células infectadas e/ou a redução da toxicidade de antibióticos potencialmente tóxicos. Vários fármacos antimicrobianos têm sido encapsulados em lipossomas como: estreptomicina, gentamicina, rifampicina, ampicilina, amicacina, tobramicina, anfotericina B, etc. (SILER-MARINKOVIC et al., 1997).

No sistema geleificante, três métodos tem sido empregados para dar origem à transição de fase na superfície do olho: mudança de pH, mudança de temperatura e ativação iônica.

Pluronic F127® (SIGMA) é um copolímero ten

soativo não-iônico, com número de EHL entre 18-23, solúvel em água, não tóxico, biodegradável, polioxidoetileno/ polioxidopropileno/polioxidoetileno (POE/POP/POE), constituído de 70% de óxido de etileno e 30% de óxido de propileno e com peso molecular de 12500. Forma micelas em solução aquosa e exhibe geleificação termo-reversível à concentração de 20 a 30% p/V. Apresenta-se em estado líquido em torno de 4 a 5°C, mas forma géis altamente viscosos à temperatura ambiente e corporal. A liberação de fármacos está baseada em sua característica de transição gel-sol, termoreversível em água (ALEXANDRIDIS & HATTON, 1995; HATEFI & AMSDEN, 2002; KABANOV; BATRAKOVA; ALAKHOV, 2002).

A oftalmologia tem sido alvo para o desenvolvimento de novas preparações farmacêuticas e aplicações do pluronic F127, viabilizando a aplicação e buscando a eficácia do tratamento. Estudos realizados mostram o efeito da concentração do copolímero na temperatura de transição de fase solução-gel nas concentrações de 16-24% em temperaturas entre 10-45°C. Observaram que quanto maior a quantidade menor é a temperatura de transição e ocorre em soluções acima de 15% de pluronic F127 (WEI et al., 2002).

O coeficiente de difusão está relacionado com a concentração do copolímero, ou seja, o aumento da concentração de pluronic F127 na preparação, diminui a velocidade do movimento interfacial de gel para solução. A taxa de dissolução do gel de pluronic é um fator controlador da liberação do fármaco, e altas velocidades de agitação também podem influenciar na dissolução do gel (ANDERSON; PANDIT; MALLAPRAGADA, 2001).

Estudos de liberação de fármacos in vitro de géis de pluronic F127 tem recebido considerável atenção (PAAVOLA et al., 1995; 2000; BARICHELLO et al., 1999; VEYRIES et al., 1999; SHIN; CHO; HO., 2000; CHANG et al., 2002).

O estudo da vancomicina incorporada em gel de pluronic F127 nas diversas combinações demonstrou que as propriedades reológicas dos sistemas não alteraram a atividade antibacteriana do cloridrato de vancomicina. Liberação in vitro das dispersões exibiu liberação prolongada com baixo coeficiente de difusão comparado com a forma solubilizada. Em ratos, uma única dose administrada foi obtida tolerância e elevada concentração do fármaco por

24 horas, seguido de níveis terapêuticos por 8 dias. O perfil da liberação controlada do fármaco obteve boa preservação da atividade da vancomicina, boa tolerabilidade em ratos e tranquilidade em sugerir a administração do pluronic como veículo para liberar a vancomicina no local de ação, como profilaxia e tratamento das infecções, especialmente em cirurgia prostética (VEYRIES et al., 1999).

Portanto, o presente trabalho estudou a viscosidade e o comportamento das dispersões de pluronic F127 em diferentes temperaturas (5-40°C). Os parâmetros relacionados à eficiência da encapsulação de cloridrato de vancomicina em lipossomas unilamelares pequenos de fosfatidilcolina de soja e lipossomas contendo pluronic F127. Verificou a influência do cloridrato de vancomicina e de pluronic F127 sobre as características dos sistemas. Analisou o perfil de liberação in vitro de cloridrato de vancomicina das preparações de pluronic F127 e dos lipossomas, de modo que alcance o controle da liberação do fármaco para aplicação intra-ocular no tratamento ou na profilaxia de endoftalmite.

Material e Métodos

Reagentes

Cloridrato de vancomicina estéril (Abbott). Álcool etílico absoluto p.a. (Synth). Álcool Metílico absoluto p.a. (Synth). Clorofórmio p.a. (Synth). Fosfatidilcolina de soja, Epikuron 200® (Lucas Meyer). Pluronic F127® (Sigma Chemical Company). Sephadex G-50 (Merck S.A.). Tris (hidroximetil)aminometano p.a. (Merck S.A.) Água purificada em sistema Milli-Q (Millipore).

Métodos

Lipossomas contendo vancomicina em pluronic: Os filmes de fosfatidilcolina (PC) foram hidratados com 4mL de solução de vancomicina 10mg/mL em Pluronic nas concentrações 5, 10 e 15% em tampão Tris-HCl 10mM pH 7,2. As dispersões de lipossomas obtidas foram centrifugadas a 2050 x g por 15 minutos para separação dos resíduos de titânio liberados pelo tip do sonicator.

A1: Lipossomas vazios contendo 40 mM de PC.

A2: Lipossomas contendo 40mM de PC e pluronic a 5%.

A3: Lipossomas contendo 40mM de PC e pluronic a 10%.

A4: Lipossomas contendo 40mM de PC e pluronic a 15%.

A5: Lipossomas contendo 40mM de PC e vancomicina 10mg/mL.

A6: Lipossomas contendo 40mM de PC e vancomicina 10mg/mL em pluronic 5%.

A7: Lipossomas contendo 40mM de PC e vancomicina 10mg/mL em pluronic 10%.

A8: Lipossomas contendo 40mM de PC e vancomicina 10mg/mL em pluronic 15%.

Separação do fármaco não encapsulado: O fármaco não encapsulado nos lipossomas foi separado através de cromatografia de exclusão utilizando sephadex G-50 e tampão Tris-HCl 10mM, pH 7,2 como fase móvel. A eluição das frações foi monitorada por espectrofotometria em 277 e 410nm.

Determinação da eficiência de encapsulação: A concentração de vancomicina encapsulada foi determinada por espectrofotometria em 277nm. As frações eluídas que apresentaram lipossomas foram reunidas e 2mL do volume total foi liofilizado. O resíduo foi pesado e dissolvido adequadamente com metanol, sendo a concentração de vancomicina determinada espectrofotometricamente.

Diâmetro médio dos lipossomas por espalhamento dinâmico de luz (Light Scattering): O tamanho médio da população de lipossomas foi monitorado por espalhamento dinâmico de luz a 90°. A fonte de luz do aparelho é um laser de He-Ne de 10mW, comprimento de onda de 632nm (Hughes - USA).

Ensaio de liberação in vitro: Para o teste de liberação in vitro, foi adotado o modelo de célula de difusão em sistema estático descrito na United States Pharmacopea XXIII, mantida em banho termostatizado a 37 + 2°C.

Resultado e Discussão

Eficiência de encapsulação do fármaco nos lipossomas: A variação da concentração de vancomicina encapsulada nos lipossomas esta relacionada com a adição de pluronic. Lipossomas de fosfatidilcolina de soja contendo copolímero (A6, A7 e A8) apresentaram maiores quantidades de fármaco encapsulado quando comparadas com os lipossomas sem o tensoativo (A5). Esse aumento da concentração de fármaco encapsulado pode ser atribuído à adição e aumento da concentração de pluronic na hidratação do filme (gráfico 1).

As preparações de lipossomas demonstram (gráfico 2) que as amostras de menor concentração de

fármaco 1mg/mL contendo pluronic, adicionado na hidratação do filme fosfolipídico, obtiveram maior percentual de vancomicina encapsulada nas preparações de maior quantidade do copolímero (A8). Com isso mostra um aumento significativo de até 8 vezes no teor de encapsulação entre as preparações analisadas e certifica-se a provável interação e agregação do pluronic com moléculas do fármaco e da bicamada lipídica.

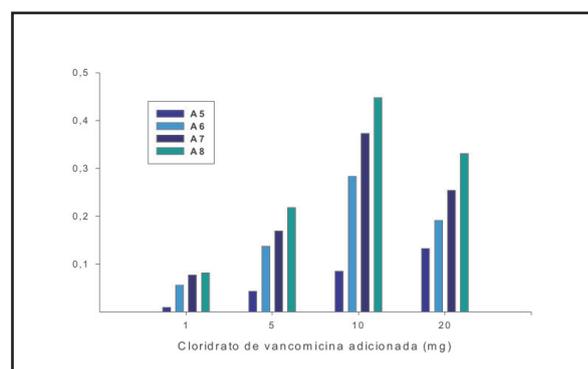


Gráfico 1 - Relação entre a quantidade de vancomicina adicionada e a quantidade encapsulada nas preparações de lipossomas, A5: Lipossomas sem pluronic, A6: Lipossomas com Pluronic a 5%, A7: Lipossomas com pluronic a 10% e A8: Lipossomas com pluronic a 15%.

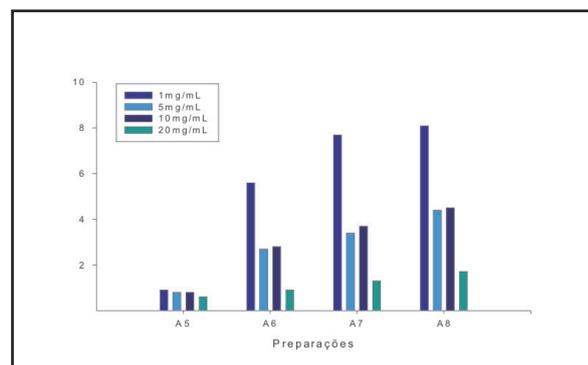


Gráfico 2 - Efeito da concentração do copolímero na eficiência de encapsulação. A5: Lipossomas sem pluronic, A6: Lipossomas com Pluronic a 5%, A7: Lipossomas com pluronic a 10% e A8: Lipossomas com pluronic a 15%.

Diâmetro médio dos lipossomas por espalhamento dinâmico de luz (Light Scattering): Os resultados do gráfico 3 mostram a influência da adição do fármaco na hidratação do filme dos lipossomas sem Pluronic (A5), quando comparado à amostra sem fármaco A1 (72,5nm), o que pode ter provocado redução do diâmetro das vesículas (46,0nm). Mostram também o aumento do tamanho nas preparações A6 (64,7nm), A7 (72,6nm) e A8 (64,9nm), comparados à amostra A5 (46,0nm), em função da interação do tensoativo, podendo se

ligar, agregar ou penetrar junto à bicamada lipídica dos lipossomas.

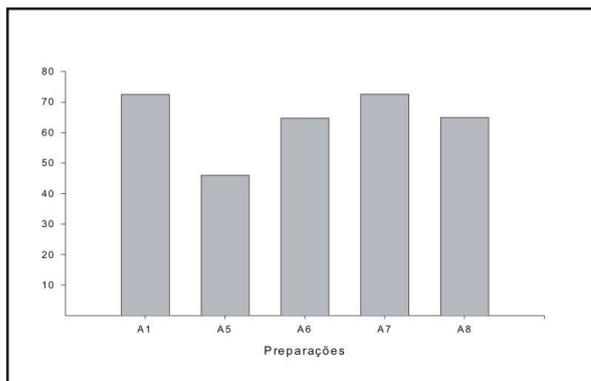


Gráfico 3 - Representação do diâmetro médio das preparações de vesículas unilamelares contendo 40mM de PC, A1: Lipossomas vazios, A5: Lipossomas com fármaco 10mg/mL, A6: Lipossomas com fármaco 10mg/mL e Pluronic a 5%, A7: Lipossomas com fármaco 10mg/mL e pluronic a 10% e A8: Lipossomas com fármaco 10mg/mL e pluronic a 15%.

Estudos relatam que dispersões de pluronic a 20°C ocorrem formação de micelas em meio aquoso, e com a aplicação de diversas concentrações do copolímero na preparação de lipossomas (0,9; 9; 13,5; 18 e 27%), é possível afirmar que o aumento da quantidade do tensoativo nas preparações, pode provocar o aumento de diâmetro dos lipossomas, confirmando a possível interação do pluronic com a bicamada lipídica (BOCHOT et al., 1998).

Ensaio de liberação in vitro: As preparações foram submetidas ao teste de liberação para acompanhar a porcentagem de fármaco liberado das diferentes preparações e determinar qual destas fornece o melhor controle de liberação.

Os gráficos 4 e 5 mostram a liberação de vancomicina em termos de percentual liberado em função de tempo.

O experimento foi realizado medindo-se a quantidade de fármaco que atravessou a membrana de acetato de celulose e passou para o líquido receptor do outro lado da membrana. Observou-se que para a solução de vancomicina em tris-HCl a passagem através da membrana foi muito rápida, sendo que cerca de 95% do fármaco foram liberados em 60 minutos. Por outro lado, a análise dos resultados da preparação A8 mostrou que o fármaco começou a ser liberado dos lipossomas a partir de 30 minutos do ensaio. Este fenômeno indica que o processo de liberação provavelmente esteja ocorrendo em duas

etapas. A primeira envolvendo a saída do fármaco do sistema coloidal e a segunda envolvendo a passagem da vancomicina livre para o meio receptor.

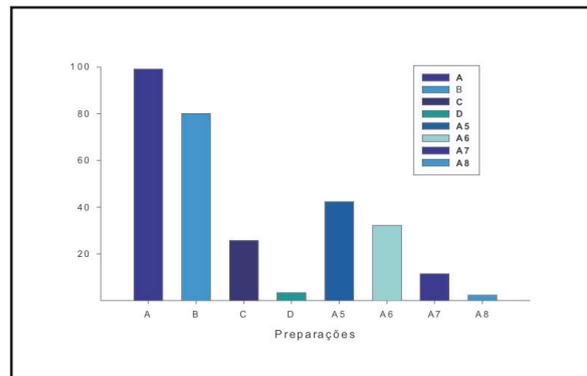


Gráfico 4 - Liberação in vitro de vancomicina 10mg/mL das preparações A: fármaco em solução tampão tris, B: pluronic a 5%, C: pluronic a 10%, D: pluronic a 15%, A5: Lipossomas sem pluronic, A6: Lipossomas com Pluronic a 5%, A7: Lipossomas com pluronic a 10% e A8: Lipossomas com pluronic a 15%, analisadas por 8 horas, através de membrana de acetato de celulose a 37°C.

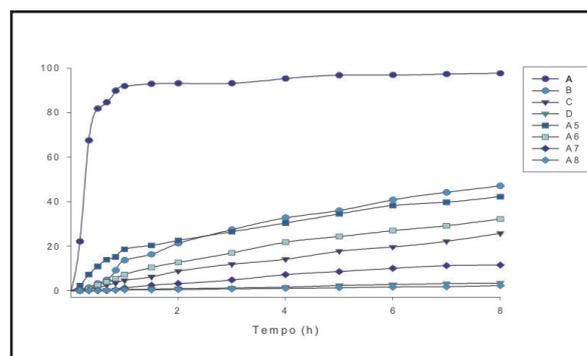


Gráfico 5 - Influência do copolímero e das dispersões de lipossomas na liberação in vitro de vancomicina 10mg/mL. B: pluronic a 5%, C: pluronic a 10%, D: pluronic a 15%, A5: Lipossomas sem pluronic, A6: Lipossomas com Pluronic a 5%, A7: Lipossomas com pluronic a 10% e A8: Lipossomas com pluronic a 15%, em paralelo os resultados da preparação A: fármaco em solução tampão tris, através de membrana de acetato de celulose a 37°C.

Estudos físico-químicos e de liberação foram realizados com naproxeno veiculado em gel de pluronic F127, mostrou que a solubilidade do fármaco foi aumentada e envolvida por micelas, indicando aumento do coeficiente de partição, e por outro lado, o coeficiente de difusão do naproxeno foi inversamente proporcional à quantidade de fármaco e a concentração do copolímero, proporcionando assim maior quantidade de naproxeno dissolvido e menor velocidade de liberação do fármaco Suh & Jun (1996).

A velocidade de liberação do propranolol em gel de pluronic F127 a 21%, foi diminuída significativamente, em função do baixo coeficiente de

difusão do gel para solução. A dissolução do gel de pluronic e a liberação do fármaco em sistema sob agitação estão relacionadas entre o gel dissolvido e o fármaco liberado simultaneamente. Este método foi avaliado com vários fármacos e diferentes condições no teste de dissolução (composição do gel, área de superfície do gel e velocidade de agitação), observando que com o aumento da concentração do copolímero diminui a velocidade de liberação do fármaco (PANDIT & WANG, 1998; MOORE et al., 2000). Lin & Sung (2000) também mostrou a redução da taxa de pilocarpina liberada de 65% da solução de pluronic a 14%, analisado por 6 horas de liberação.

Outros sistemas hidrogéis com base quitosan contendo lipossomas são estudados e mostram que a dispersão geleificada diminui a velocidade de dissolução de fármacos hidrofílicos, conseqüentemente diminui a liberação e o coeficiente de difusão (GARIÉPY et al., 2002).

As associações de baixas concentrações do copolímero com a bicamada lipídica resultam em aumento da estabilidade na produção de lipossomas preparados por extrusão, inibindo contato estérico entre as vesículas, evitando assim agregação e fusão dos lipossomas (CASTILE & TAYLOR, 1999). Chandaroy et al. (2002) também trabalharam com baixas concentrações de pluronic F127 e revelaram que esta interação na bicamada contribui para verificação e controle da aderência dos lipossomas em células alvo.

Resultados obtidos com ibuprofeno demonstram significativamente a liberação prolongada dos lipossomas gel, constituído por dispersão das vesículas em pluronic a 25% no estado líquido até 10°C e gel nas temperaturas ambiente e fisiológica, com liberação de 42% do fármaco em 24 horas contra 75% da preparação de lipossomas sem pluronic, devido menor coeficiente de difusão da preparação geleificada (PAAVOLA et al., 2000).

Por estas curvas demonstradas na figura 5, fica evidente o efeito do copolímero e dos lipossomas em retardar a liberação do cloridrato de vancomicina.

Este comportamento pode ser explicado pelo aumento da viscosidade das preparações contendo pluronic, em temperatura corpórea (37°C), também através da encapsulação do fármaco no compartimento aquoso dos lipossomas e pela interação do copolímero associado ao fármaco e a membrana fosfolipídica.

Assim sendo o que diminui o coeficiente de difusão do fármaco incorporado, obtendo lenta dissolução do sistema e conseqüentemente baixa velocidade de liberação do

cloridrato de vancomicina para o líquido receptor. Teoricamente in vivo após aplicação intraocular permanecerá por mais tempo no compartimento vítreo do olho.

Conclusão

A presença do pluronic na hidratação do filme lipídico provocou redução significativa da turbidez, devido à interação do copolímero com a bicamada lipídica. A eficiência de encapsulação do cloridrato de vancomicina em lipossomas foi maior nas preparações com menor quantidade de fármaco adicionado e ainda observa-se o aumento da eficiência através da associação do copolímero, que se mostrou dependente da concentração. Os ensaios de liberação in vitro mostraram que as preparações de pluronic e dos lipossomas promoveram controle da liberação do fármaco.

Agradecimentos

FAPESP e CNPq.

Referências

ALEXANDRIDIS, P.; HATTON, T.A. Poly(ethylene oxide)-poly(propylene oxide)-poly(ethylene oxide) block copolymer surfactants in aqueous solutions and at interfaces: thermodynamics, structure, dynamics, and modeling. **Review. J. Colloid Interface Sci.**, 96:1-46, 1995.

ALLEN, T.M. Liposomal drugs formulation. **Drugs.**, 56:747-56, 1998.

ANDERSON, B.C.; PANDIT, N.K.; MALLAPRAGADA, S.K. Understanding drug release from poly(ethylene oxide)-b-poly(propylene oxide)-b-poly(ethylene oxide) gels. **J. Control. Rel.**, 70:157-67, 2001.

BANGHAM, A.D.; STANDISH, M.M.; WATKINS, J.C. Diffusion of univalent ion across the lamella of swollen phospholipids. **J. Mol. Biol.**, 13:238-52, 1965.

BANGHAM, A.D. Liposomes: The Babraham connection. **Chem. Phys. Lipids, Shannon**, 64:375-85, 1993.

BARICHELLO, J.M.; MORISHITA, M.; TAKAYAMA, K.; CHIBA, Y.; TOKIWA, S., NAGAI, T. Enhanced rectal absorption of insulin loaded Pluronic F127 gels containing unsaturated fatty acids. **Int. J. Pharm., Amsterdam**, 183:125-32, 1999.

BOCHOT, A.; FATTAL, E.; GROSSIORD, J.L.; PUI

- SIEUX, F.; COUVREUR, P. Characterization of a new ocular delivery system based on a dispersion of liposomes in a thermosensitive gel. **Int. J. Pharm.**, 162:119-27, 1998.
- CASTILE, J.D.; TAYLOR, K.M.G. Factors affecting the size distribution of liposomes produced by freeze-thaw extrusion. **Int. J. Pharm.**, 188: 87-95, 1999.
- CHANDAROY, P.; SEN, A.; ALEXANDRIDIS, P.; HUI, S.W. Utilizing temperature-sensitive association of Pluronic F127 with lipid bilayers to control liposomes-cell adhesion. **Biochim. Biophys. Acta**, 1559:32-42, 2002.
- CHANG, J.Y.; OH, Y.K.; CHOI, H.; KIM, Y.B.; KIM, C.K. Rheological evaluation of thermosensitive and mucoadhesive vaginal gels in physiological conditions. **Int. J. Pharm.**, 241:155-63, 2002.
- GARIÉPY, E.R.; LECLAIR, G.; HILDGEN, P.; GUPTA, A.; LEROUX, J.C. Thermosensitive chitosan-based hydrogel containing liposomes for the delivery of hydrophilic molecules. **J. Control. Rel.**, 82: 373-83, 2002.
- HATEFI, A.; AMSDEN, B. Biodegradable injectable in situ forming drug delivery systems. Review. **J. Control. Rel.**, 80: 9-28, 2002.
- HOLT, J.G.; KRIEG, N.R.; SNEATH, P.H.A.; STALEY, J.T.; WILLIAMS, S.T. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**, 9 ed. Baltimore: Williams & Wilkins, p. 787, 1994.
- HOMER, P.; PEYMAN, G.A.; KOZIOL, J.; SANDERS, D. Intravitreal injection of vancomycin in experimental staphylococcal endophthalmitis. **Acta Ophthalmol.**, 53:311-20, 1975.
- KABANOV, A.V.; BATRAKOVA, E.; ALAKHOV, V.Y. Pluronic® block copolymers as novel polymer therapeutics for drug and gene delivery. Review. **J. Control. Rel.**, 82: 189-212, 2002.
- LANGER, R. Drug delivery and targeting. **Nature**, suppl, 392: 5-10, 1998.
- LIN, H.R.; SUNG, K.C. Carbopol/pluronic phase change solutions for ophthalmic drug delivery. **J. Control. Rel.**, 69: 379-88, 2000.
- MOORE, T.; CORY, S.; MALLAPRAGADA, S.; PANDIT, N. Experimental investigation and mathematical modeling of Pluronic® F127 gel dissolution: drug release in stirred systems. **J. Control. Rel.**, v. 67: 191-202, 2000.
- OLIVEIRA, A.G.; SCARPA, M.V. e LEITE, C.Q.F. Lipossomas: Estratégia biotecnológica para liberação controlada e direcionamento intracelular de fármacos com efeito antimicrobacteriano. **Rev. Ciênc. Farm.**, 18(1): 109-21, 1997.
- OLIVEIRA, A.G.; SCARPA, M.V. Vetorização intracelular de fármacos em infecções bacterianas através de lipossomas. **Infarma**, Brasília, 6(1/2): 12-9, 1997.
- PAAVOLA, A.; KILPELAINEN, I.; YLIRUUSI, J.; ROSENBERG P. Controlled release injectable liposomal gel of ibuprofen for epidural analgesia. **Int. J. Pharm.**, 199: 85-93, 2000.
- PAAVOLA, A.; YLIRUUSI, J.; KAJIMOTO, Y.; KALSO, K.; WAHLSTRÖM, T.; ROSEMBLY, P. Controlled release of lidocaine from injectables gels and efficacy in rat sciatic nerve block. **Pharm. Res.**, New York, 12: 1997-2002, 1995.
- PANDIT, N.K.; WANG, D. Salt effects on the diffusion and release rate of propranolol. **Int. J. Pharm.**, 167: 183-89, 1998.
- PRYOR, J.G.; APT, L.; LEOPOLD, I.H. Intraocular penetration of vancomycin. **Arch. Ophthalmol.**, 67: 608-11, 1962.
- SHIN, S.; CHO, C.; OH, I. Enhanced efficacy by percutaneous absorption of piroxicam from the poloxamer gel in rats. **Int. J. Pharm.**, Amsterdam, 193: 213-18, 2000.
- SILER-MARINKOVIC, S.; MOJOVIC, L.; DAVINIC, V.; BUGARSKI, B. Liposomes as carriers of antimicrobial drugs. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, New York, 23(5):483-88, 1997.
- SUH, H.; JUN, H.W. Physicochemical and release studies of naproxen in poloxamer gels. **Int. J. Pharm.**, 129: 13-20, 1996.
- UNITED STATES PHARMACOPEIA**. 23^a ed. Rockville: Mack Publ. p.1620- 1622, 1995.
- VEYRIES, M.L.; COUARRAZE, G.; GEIGER, S.; AGNELY, F.; MASSIAS, L.; KUNZLI, B.; FAURISSON, F.; ROUVEIX, B. Controlled release of vancomycin from Poloxamer 407 gels. **Int. J. Pharm.**, Amsterdam, 192: 183-93, 1999.
- WEI, G.; XU, H.; DING, P.T.; LI, S.M.; ZHENG, J.M. Thermosetting gels with modulated gelation temperature for ophthalmic use: the rheological and gamma scintigraphic studies. **J. Control. Rel.**, 83: 65-74, 2002.