

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
И.М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

На правах рукописи



Полуосьмак Галина Константиновна

**Оптимизация кинетики и мидриатического эффекта фенилэфрина
природными полимерами**

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор,

член-корреспондент РАН

Ших Евгения Валерьевна

Москва – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. МЕСТО СИНТЕТИЧЕСКИХ И ПРИРОДНЫХ ПОЛИМЕРОВ В СОЗДАНИИ ТОПИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ В ОФТАЛЬМОЛОГИИ: СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ, СВОЙСТВА, ПРИМЕНЕНИЕ В КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЕ (ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР).....	19
1.1. Синтетические полимерные материалы для глазных лекарственных форм.....	22
1.1.1. Полиэтиленоксиды и их применение в создании глазных лекарственных форм.....	22
1.1.2. Поливинилалкоголи для офтальмологических лекарственных форм.....	25
1.1.3. Полиэфирсодержащие глазные лекарственные формы.....	26
1.1.4. Применение полиметилакрилатов и полиолефинов в офтальмологической практике.....	29
1.1.5. Дендримеры как перспективные полимеры для глазных лекарственных форм.....	30
1.2. Место природных полимеров в офтальмологической фармакологии.....	31
1.2.1. Полисахаридные природные биополимеры и их использование в изготовлении лекарственных форм для офтальмологии.....	33
1.3. Лекарственные формы на основе синтетических и природных полимеров. Системы доставки лекарственных средств.....	38
1.4. Глазные капли с природными и синтетическими полимерами: достоинства и перспективы совершенствования.....	41
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	43
2.1. Общий план выполнения работы и ее соответствие современным принципам проведения исследований с участием лабораторных животных.....	44
2.2. Характеристика исследуемых лекарственных средств.....	48

2.2.1. Описание референтных лекарственных препаратов.....	50
2.3. Характеристика лабораторных животных, условий их содержания и состав экспериментальных групп.....	51
2.4. Метод оценки глубины, длительности и скорости наступления мидриатического эффекта фенилэфрина в зависимости от состава лекарственной формы.....	54
2.5. Метод оценки местного раздражающего действия фенилэфрина в зависимости от состава лекарственной формы и присутствия в ней полимеров.....	56
2.6. Метод определения концентрации фенилэфрина во влаге передней камеры глаза кролика. Описание аналитического метода.....	57
2.6.1. Описание аналитического метода определения фенилэфрина.....	59
2.7. Методы патоморфологического исследования тканей глаза.....	62
2.8. Методы статистического анализа результатов диссертационного исследования.....	62
ГЛАВА 3. СОБСТВЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ.....	63
3.1. Особенности мидриатического эффекта фенилэфрина в присутствии в составе лекарственной формы полимера.....	63
3.2. Особенности внутриглазной кинетики фенилэфрина при однократном закапывании в зависимости от состава лекарственной формы.....	67
3.3. Местнораздражающее действие различных лекарственных форм фенилэфрина и патоморфологическое состояние глаза при их однократном применении.....	72
3.3.1. Результаты определения наличия и глубины местного раздражающего действия на роговицу глаза кролика препаратов, содержащих фенилэфрин в виде 2,5% глазных капель.....	72
3.3.2. Патоморфологическая характеристика переднего отрезка глаза кролика на фоне топического воздействия готовой лекарственной формы фенилэфрина гидрохлорида в зависимости от присутствия полимерных соединений.....	78

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	83
Итоги выполнения диссертационной работы.....	91
Перспективы развития темы диссертационной работы.....	92
ВЫВОДЫ.....	93
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	95
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	96
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	97

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Реакция зрачка на свет проявляется его сужением при высокой освещенности (миоз) и расширением при затемнении (мидриаз) в физиологических условиях. В клинической медицине нередко возникает необходимость расширения зрачка. Так, в офтальмологии осмотр внутренних сред и анатомических структур глаза, в частности глазного дна, проведение хирургических вмешательств на органе зрения возможны только при расширенном зрачке [1–3].

Для формирования фармакологического мидриаза используются лекарственные препараты (ЛП) – мидриатики [4]. В зависимости от химической структуры, пути введения, механизма действия ЛП, скорости наступления эффекта глубина и продолжительность мидриаза широко варьируют [4]. Топическое применение блокаторов М-холинорецепторов круговой мышцы радужки глаза приводит к глубокому эффекту, продолжающемуся до 2 нед, что не всегда удобно и может негативно влиять на качество жизни пациентов [5]. Использование агонистов α -адренорецепторов, таких как фенилэфрина гидрохлорид, позволяет добиваться оптимального фармакологического мидриаза, характеризующегося ускорением времени достижения максимальной ширины зрачка и сокращением продолжительности мидриатического эффекта. Это достигается как в результате воздействия ЛП на адренергический компонент регуляции тонуса круговой мышцы радужки, так и за счет аффинности и времени связывания молекулы действующего вещества с рецептором [6–8].

Вместе с тем современная офтальмология предъявляет высокие требования к ЛП и их лекарственным формам для предотвращения развития местного раздражающего действия, повышения управляемости выделением активного действующего вещества и др. Эти задачи могут быть решены путем применения природных биополимеров в составе лекарственных форм для топического

применения. Одними из таких повсеместно распространенных в природе биополимеров являются гипромеллоза, или гидроксипропилметилцеллюлоза, и гиалуроновая кислота (ГК) [9]. Уникальность их заключается в том, что в зависимости от выбранной при производстве молекулярной массы можно получать соединения с заданными параметрами вязкости, эмульгирования, поверхностного натяжения, адгезии, связи с активными веществами ЛП и внутренних сред организма [10]. В этой связи полимеры на основе целлюлозы и продуктов животного происхождения нашли чрезвычайно широкое применение в фармацевтическом производстве при создании топических лекарственных форм.

Степень разработанности темы исследования

В исследованиях последних лет показано повышение эффективности лечения ринитов топическими ЛП, содержащими оксиметазолин и гипромеллозу [11, 12]. Также установлено, что введение гидроксипропилметилцеллюлозы в состав назальных лекарственных форм повышает устойчивость слизистого барьера полости носа к проникновению вируса SARS-CoV-2 [13]. Применение гипромеллозы в глазных каплях эффективно и безопасно: получен хороший клинический эффект содержащих ее лекарственных форм нафазолина [14]; показано, что закапывание водного раствора гипромеллозы приводит к ускорению закрытия пункционного отверстия глазного яблока [15].

Кроме того, в многочисленных экспериментальных и клинических исследованиях продемонстрирован значительный эффект ГК при лечении ССГ, заключающийся в том числе в стабилизации состава и объема слезной пленки глаза у пациентов [16–20].

В настоящее время коммерчески доступны несколько образцов глазных капель, содержащих в качестве действующего вещества фенилэфрина гидрохлорид. В то же время характеристика основных эффектов на фоне их применения, как и

частота развития нежелательных реакций, по мнению представителей профессионального сообщества, варьируют.

Преодоление анатомических и физиологических барьеров для проникновения ЛП во внутренние структуры глаза может быть достигнуто путем включения в лекарственную форму вспомогательных компонентов, способных изменить как качественный и/или количественный состав слезной пленки, так и свойства ряда анатомических барьеров (прежде всего роговицы). Одним из направлений повышения биодоступности может считаться увеличение вязкости ЛП за счет вспомогательных компонентов, приводящих к увеличению времени удержания действующих веществ в зоне роговицы и конъюнктивы, а также использование местных препаратов в меньшем объеме. Последнее в данном случае важно в связи с тем, что обычный объем конъюнктивального мешка составляет около 7–8 мкл, а максимальный – 30 мкл, в то время как стандартный объем инстиллируемых глазных капель – 40 мкл. Одним из вспомогательных компонентов может выступать гипромеллоза – производное целлюлозы, включение которой в состав ЛП может способствовать повышению вязкости местной лекарственной формы, улучшению состояния слизистого слоя поверхности глаза, увеличению времени экспозиции и локальной концентрации ЛП [21].

Описанные обстоятельства определяют значительный интерес исследователей и представителей фармацевтической индустрии к изучению и обоснованию фармакологических феноменов, возникающих вследствие использования биологических полимеров в составе топических лекарственных форм, и обуславливают необходимость проведения настоящего исследования.

Постановка научного вопроса, требующего решения при выполнении диссертационной работы, базировалась на предположении о том, что применение в составе топических лекарственных форм природных полимеров растительного (гипромеллозы) или животного (ГК) происхождения в сочетании с синтетическим полимером – полиэтиленгликолем (ПЭГ) – позволит оптимизировать мидриатический эффект α -адреномиметика фенилэфрина гидрохлорида за счет оптимизации внутриглазной кинетики действующего вещества, повышения его

биодоступности, снижения выраженности местных реакций со стороны органа зрения.

Цель и задачи исследования

Цель настоящей диссертационной работы – в сравнительном *in vivo* исследовании определить основные характеристики мидриатического эффекта готовых лекарственных форм (ГЛФ) глазных капель фенилэфрина гидрохлорида, содержащих полимерные компоненты или не включающих таковых, а также изучить локальную биодоступность и влияние на слизистую оболочку глаза указанных ГЛФ.

Необходимые для достижения поставленной цели задачи были сформулированы следующим образом:

1. Оценить влияние природного полимера растительного происхождения гидроксипропилметилцеллюлозы в составе ГЛФ – глазных капель на характеристики мидриатического эффекта 2,5% раствора фенилэфрина гидрохлорида у бодрствующего лабораторного кролика.

2. Изучить скорость развития максимального расширения зрачка глаза бодрствующего лабораторного кролика, глубину и продолжительность мидриаза под действием ГЛФ фенилэфрина гидрохлорида, содержащей природный полимер животного происхождения – ГК и синтетический полимер – ПЭГ в качестве вспомогательных веществ.

3. Определить концентрацию действующего вещества во влаге передней камеры глаза лабораторного кролика через 5 мин после однократной инстилляцией в конъюнктивальный мешок 1 капли ГЛФ – 2,5% глазных капель фенилэфрина гидрохлорида, содержащих в качестве вспомогательного вещества природные и синтетические полимерные соединения или не включающих таковых.

4. Оценить наличие и глубину местной раздражающей реакции глаза бодрствующего лабораторного кролика на однократную инстилляцию в конъюнктивальный мешок 1 капли ГЛФ – 2,5% глазных капель фенилэфрина гидрохлорида, содержащих в качестве вспомогательного вещества природные и синтетические полимерные соединения или не включающих таковых.

5. Изучить микроморфологические особенности наружной, средней и внутренней оболочек глаза лабораторного кролика после однократной инстилляцией в конъюнктивальный мешок 1 капли ГЛФ – 2,5% глазных капель фенилэфрина гидрохлорида, содержащих в качестве вспомогательного вещества гипромеллозу, ГК с ПЭГ или без вспомогательных полимерных веществ.

Научная новизна

Выполнено экспериментально-лабораторное фармакологическое исследование по определению зависимости кинетики действующего вещества и динамики мидриатического эффекта адренопозитивного мидриатика фенилэфрина гидрохлорида в зависимости от присутствия в составе готовых жидких глазных топических лекарственных форм полимерных вспомогательных веществ природного происхождения.

При сравнительном исследовании в эксперименте на бодрствующем лабораторном кролике установлено, что жидкие топические лекарственные формы, содержащие 2,5% раствор фенилэфрина гидрохлорида, содержащие в качестве вспомогательного вещества гипромеллозу, обладают оптимальными характеристиками мидриатического эффекта при сравнении с аналогом без полимерных соединений в своем составе: в 2 раза снижается время достижения максимального мидриаза и на 50% увеличивается длительность расширения зрачка, при этом глубина мидриаза не зависит от присутствия в составе полимера.

Также показано, что введение в состав глазных капель с 2,5% фенилэфрина гидрохлоридом природного полимера ГК в комбинации с синтетическим полимером ПЭГ в среднем на 25% увеличивает длительность мидриаза и на 45% снижает время его достижения, но по описываемым показателям уступает ГЛФ, содержащим гипромеллозу в своем составе. Подобно гипромеллозе ГК и ПЭГ не изменяют глубину мидриаза.

С использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с тандемным масс-спектрометрическим детектированием в точке 5 мин после закапывания 1 капли растворов исследуемых веществ во влаге передней камеры определены следующие концентрации фенилэфрина гидрохлорида в порядке убывания: ГЛФ, содержащая 2,5% раствор фенилэфрина в присутствии гипромеллозы и консерванта ($500,80 \pm 8,56$ мкг/мл), ГЛФ, содержащая 2,5% раствор фенилэфрина в присутствии гипромеллозы без консерванта ($445,19 \pm 12,13$ мкг/мл), ГЛФ, содержащая 2,5% раствор фенилэфрина в присутствии природного полимера ГК и синтетического полимера ПЭГ ($389,00 \pm 8,75$ мкг/мл), ГЛФ, содержащая 2,5% раствор фенилэфрина в отсутствии каких-либо полимерных конституентов ($345,78 \pm 13,95$ мкг/мл). Полученные результаты объясняют различие во времени развития полного мидриаза под действием исследуемых лекарственных форм фенилэфрина гидрохлорида.

Лекарственные формы фенилэфрина гидрохлорида, содержащие в качестве вспомогательного вещества гипромеллозу, не вызывают развития местного раздражающего действия при введении 1 капли ГЛФ в конъюнктивальный мешок глаза бодрствующего кролика, в то время как применение глазных капель с ГК и ПЭГ вызывает у животных слабую реакцию в виде смыкания век, а инстилляцией 2,5% раствора фенилэфрина без полимеров приводит к развитию умеренной реакции в виде слезотечения и инъекции сосудов склер.

При проведении микроморфологического исследования глаз лабораторных кроликов показано, что на фоне однократного закапывания 1 капли 2,5% раствора фенилэфрина гидрохлорида в конъюнктивальный мешок лабораторного кролика (вне зависимости от наличия и состава полимерных компонентов) все изученные

лекарственные формы не оказывают влияния на структуру средней и внутренней оболочек глаза, тогда как применение ГЛФ без полимеров сопровождается незначительными патоморфологическими изменениями в виде периваскулярного отека склеры, разрыхления стромы роговицы и явлениями умеренной дистрофии клеток роговичного эпителия.

Теоретическая и практическая значимость работы

В результате выполнения диссертационной работы уточнены особенности внутриглазной кинетики действующего вещества, а также фармакодинамики фенилэфрина гидрохлорида в составе глазных капель, содержащих природные и синтетические полимеры, что расширяет научно-практические знания о фармакологии адренопозитивных мидриатиков и полимеров для медицинского применения.

Несомненным практическим значением обладает заключение о том, что при разработке глазных капель, содержащих адренопозитивные мидриатики, для достижения оптимального фармакологического эффекта и снижения рисков формирования местных раздражающих реакций целесообразно использование в качестве вспомогательного вещества природных полимеров – гипромеллозы или ГК.

Измерение концентрации действующего вещества во влаге передней камеры глаза кролика в точке 5 мин может служить информативным индикатором, отражающим биодоступность вещества при его топическом применении в составе глазных капель, и может использоваться в виде надежного лабораторного метода при проведении доклинических исследований новых лекарственных средств.

Методология и методы исследования

Диссертационная работа представляет собой экспериментально-фармакологическое лабораторное доклиническое исследование, выполненное на лабораторных животных – кроликах-самцах породы «Советская шиншилла», находившихся в зависимости от особенностей постановки опыта либо в бодрствующем состоянии, либо под ингаляционным наркозом.

Влияние глазных топических жидких ГЛФ 2,5% раствора фенилэфрина гидрохлорида (промышленного производства и существующих на рынке), не содержащих полимерных компонентов в качестве вспомогательных веществ и содержащих в качестве вспомогательного вещества природный полимер растительного происхождения гипромеллозу, природный полимер животного происхождения ГК и синтетический полимер ПЭГ, на динамику развития мидриатического эффекта (время начала, время достижения максимальной выраженности, продолжительность максимальной выраженности), глубину и длительность мидриатического эффекта оценивали у бодрствующего фиксированного в специальном холдере половозрелого кролика самца породы «Советская шиншилла». ГЛФ исследуемого ЛП вводилась однократно в конъюнктивальный мешок в объеме 1 капли в выбранный случайным образом глаз животного, второй глаз животного служил в качестве контроля – в его конъюнктивальный мешок одновременно с ЛП вводился стерильный изотонический 0,9% раствор хлорида натрия комнатной температуры в объеме 1 капли. Видеорегистрация ширины зрачка каждого глаза с фиксацией времени велась в помещении, лишенном естественного освещения при создании искусственного непрямого освещения, видеокамерой, установленной на неподвижном штативе на расстоянии 20 см от глаза так, что прямая линия, соединяющая оптические центры камеры и глаза, располагается параллельно горизонтальной плоскости. Предметом регистрации являлись время начала мидриатического эффекта, скорость достижения максимальной ширины зрачка,

значение максимальной ширины зрачка, длительность максимального мидриатического эффекта.

Наличие у глазных топических жидких готовых лекарственных форм 2,5% раствора фенилэфрина гидрохлорида (промышленного производства и существующих на рынке), не содержащих полимерных компонентов в качестве вспомогательных веществ и содержащих в качестве вспомогательных веществ природный полимер растительного происхождения гипромеллозу, природный полимер животного происхождения ГК и синтетический полимер ПЭГ, и глубина местного раздражающего действия на ткани переднего отрезка глаза изучалась у бодрствующего фиксированного в специальном холдере половозрелого кролика мужского пола породы «Советская шиншилла». ГЛФ исследуемого лекарственного препарата вводилась однократно в конъюнктивальный мешок в объеме 1 капли в выбранный случайным образом глаз животного; второй глаз служил в качестве контроля – в его конъюнктивальный мешок одновременно с ЛП вводился стерильный изотонический 0,9% раствор хлорида натрия комнатной температуры (18 – 22 гр. Ц.) в объеме 1 капли. Оценивали реакцию в виде смыкания век на инстилляцию 1 капли жидкой лекарственной формы в баллах, лакримацию, наличие выделений, отек век, конъюнктивы, мигательной перепонки по методу I. Setnicar (1966).

Концентрацию действующего вещества глазных топических жидких готовых лекарственных форм 2,5% раствора фенилэфрина гидрохлорида (промышленного производства и существующих на рынке), не содержащих в качестве вспомогательных веществ полимерных компонентов и содержащих в качестве вспомогательных веществ природный полимер растительного происхождения гипромеллозу, природный полимер животного происхождения ГК и синтетический полимер ПЭГ, определяли в образце влаги передней камеры глаза в точке 5 мин после однократного введения 1 капли ГЛФ в конъюнктивальный мешок животного. Забор образца водянистой влаги проводили у наркотизированного изофлураном фиксированного в специальном холдере половозрелого кролика-самца породы «Советская шиншилла». В точке 5 мин производили пункцию передней камеры

глаза стерильной иглой 24G на 1 мм выше склероконъюнктивальной границы) и забирали 0,25 мл жидкости с помощью электронной программируемой инъекционной помпы Genie Touch (Kent Scientific Corp., США). Количественное определение действующего вещества проводили методом ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием.

Морфологическое исследование глаз лабораторных кроликов проводили после их фиксации, гистологической проводки сагиттальных срезов глаза и окрашивания гематоксилином и эозином. Определяли микроструктуру наружной, средней и внутренней оболочек глаза экспериментальных животных в зависимости от фармакологического воздействия.

Статистическую обработку данных проводили методами описательной и сравнительной статистики с помощью лицензионного пакета программ IBM SPSS (Statistical Package for the Social Science) (IBM Corp., США).

Связь диссертации с научными темами Сеченовского Университета, внедрение результатов исследования

Проведенное экспериментально-фармакологическое лабораторное доклиническое исследование выполнялось в рамках участия Сеченовского Университета в государственной программе стратегического академического лидерства «Приоритет 2030» при частичной финансовой поддержке хоздоговорной НИР от 18 октября 2022 г. № 513-Н.

Ключевые положения и выводы диссертационной работы внедрены в учебную работу (при чтении курса лекций и проведении практических занятий со студентами) кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского, кафедры фармации Института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационное исследование соответствует паспорту научной специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология, пункту 3 «Изыскание, дизайн *in silico*, конструирование базовых структур, воздействующих на фармакологические мишени. Выявление фармакологически активных веществ среди природных и впервые синтезированных соединений, продуктов биотехнологии, генной инженерии и других современных технологий на экспериментальных моделях *in vitro*, *ex vivo* и *in vivo*» и пункту 6 «Изучение фармакодинамики, фармакокинетики и метаболизма лекарственных средств. Установление связей между дозами, концентрациями и эффективностью лекарственных средств. Экстраполяция полученных данных с биологических моделей на человека».

Положения, выносимые на защиту

1. ГЛФ фенилэфрина гидрохлорида с включенными в их состав полимерами обладают оптимальными характеристиками мидриатического эффекта при сравнении с топической жидкой лекарственной формой, не содержащей в качестве вспомогательного вещества природные и синтетические полимеры. В основе оптимального мидриатического эффекта лежит создание стабильной действующей концентрации фенилэфрина гидрохлорида во влаге передней камеры.

2. Полученные результаты позволяют предполагать, что в основе оптимизации локальной биодоступности и фармакодинамики фенилэфрина гидрохлорида лежит способность гипромеллозы, гиалуроновой кислоты и полиэтиленгликоля облегчать прохождение действующего вещества через тканевой

барьер глаза и задерживать его элиминацию, повышая локальную экспозицию действующего вещества.

3. Формирование мидриатического эффекта фенилэфрина гидрохлорида в присутствии полимеров не сопровождается развитием имеющей клиническое значение местной раздражающей реакции на глаз экспериментального животного, что подтверждается сохранением микроструктурной организации наружной, средней и внутренней оболочек глаза.

Степень достоверности и апробация результатов

О достоверности полученных результатов и сформулированных положений и выводов по настоящей диссертации свидетельствуют: неукоснительное соблюдение протокола доклинического исследования, строгое ведение записей исследования в базе данных; применение сертифицированных здоровых лабораторных животных, содержащихся в условиях, отвечающих требованиям Good Laboratory Practice (GLP); применение в исследовании ГЛФ ЛП с неистекшим сроком годности и с соблюдением правил хранения и транспортировки; формирование экспериментальных групп случайным образом в объеме, необходимом и достаточном для получения репрезентативных результатов, осуществление статистических сводки, группировки и анализа с применением сертифицированных программных продуктов.

Апробация диссертационной работы проведена на расширенном заседании кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней Института клинической медицины им. Н. В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), протокол № 3 от 09.10.2025 г.

Результаты проведенного диссертационного исследования обсуждались и докладывались на заседания кафедры клинической фармакологии и пропедевтики

внутренних болезней Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Личный вклад автора

Полуосьмак Г.К. выступила инициатором проведения настоящего исследования, ею лично была сформулирована научная гипотеза и поставлен исследовательский вопрос о влиянии полимерных соединений природного происхождения на кинетику действующего вещества и динамику мидриатического эффекта фенилэфрина гидрохлорида. Диссертант лично провела литературный поиск и обосновала актуальность избранной темы, выбрала объект исследования, отобрала имеющиеся на российском рынке готовые лекарственные формы фенилэфрина гидрохлорида в зависимости от состава вспомогательных веществ и наличия природных полимеров. Соискатель самостоятельно выполнила все исследования на лабораторных животных (кроликах) по фиксации характеристик мидриатического действия исследуемых лекарственных форм, а также местного раздражающего действия препаратов. Соискатель включенно участвовала в проведении анализа влаги передней камеры на масс-спектрометрическое определение в ней действующего вещества. В рамках диссертационного исследования автором лично получены основные научные результаты, проведена статистическая обработка данных, выполнена интерпретация результатов патоморфологического анализа. Автор принимала непосредственное участие в подготовке публикаций по теме исследования, а также полностью самостоятельно написала текст диссертации и автореферата.

Публикации по теме диссертации

Основные результаты исследования изложены в 5 публикациях автора. Из них 1 научная статья опубликована в журнале, включенном в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета / Перечень ВАК при Министерстве науки и высшего образования России, 2 статьи в изданиях, индексируемых в международной базе Scopus, 1 иная публикация по результатам исследования, 1 публикация в сборнике материалов всероссийской конференции.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа выполнена по традиционному для медицинских диссертаций плану, имеет законченную и ясную структуру, включает раздел «Введение» и 4 главы: главу 1 с литературным обзором; главу 2 с подробным описанием материала и методов исследования; главу 3, описывающую особенности мидриатического действия изученных лекарственных форм, главу 3 с результатами аналитического определения концентрации действующего вещества во влаге передней камеры, описанием результатов исследования местнораздражающего действия и патоморфологии глаза; раздел «Заключение»; выводы; практические рекомендации; список сокращений и условных обозначений; список литературы [186].

Диссертация изложена на 118 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 28 рисунками и 6 таблицами. Список литературы содержит выходные данные 186 работ (из них 9 публикаций отечественных и 177 – зарубежных авторов).

**ГЛАВА 1. МЕСТО СИНТЕТИЧЕСКИХ И ПРИРОДНЫХ ПОЛИМЕРОВ
В СОЗДАНИИ ТОПИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ
В ОФТАЛЬМОЛОГИИ: СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ, СВОЙСТВА,
ПРИМЕНЕНИЕ В КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЕ
(ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР)**

В опубликованном в 2020 г. обзоре Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) сообщила о более чем 196 млн первичных случаев макулярной дистрофии сетчатки, 146 млн пациентов, страдающих диабетической ретинопатией, 76 млн случаев глаукомы и 65 млн случаев катаракты во всем мире [22–24]. Несмотря на то что каждое заболевание характеризуется уникальной природой и особенностями патогенетического процесса, подавляющее большинство из них сопровождаются снижением или потерей зрения, значительным нарушением качества жизни (КЖ) при отсутствии своевременного лечения. Терапевтические сложности в значительной степени связаны с проблемой эффективной доставки действующего вещества лекарственного препарата (ЛП) во внутренние среды глаза – к целевым мишеням, что обусловлено в том числе сложным строением органа зрения, его строгим анатомическим сегментированием и изолированным положением в теле человека.

С анатомической точки зрения глаз делится на два сегмента: передний и задний. Передний сегмент включает роговицу, склеру, радужную оболочку, хрусталик и содержащуюся в передней камере глаза водянистую влагу, являющуюся внутренней жидкой средой глаза [25]. Задний сегмент органа зрения состоит из сетчатки, стекловидного тела, макулярной части и зрительного нерва [25].

С клинической точки зрения наиболее распространенными патологическими процессами, затрагивающими передний отрезок глаза, являются катаракта (снижение прозрачности хрусталика) и глаукома (нарушение динамики внутриглазной жидкости). Хрусталик – одна из главных отвечающих за

аккомодацию преломляющих сред глаза, природная линза, обладающая уникальной способностью менять свою преломляющую силу. Входящие в его состав белковые комплексы (в первую очередь белок витреин) способны регулировать оптимальную активность свободнорадикальных процессов внутри хрусталика за счет поглощаемого ультрафиолетового (УФ) излучения. С возрастом эта способность снижается; начинают преобладать процессы перекисного окисления липидов, что приводит к повреждению клеточных элементов хрусталика, формированию белковых депозитов и агрегатов и в конечном счете – к снижению прозрачности линзы и потере зрения [26].

Происхождение глаукомы изучено не до конца, несмотря на весьма значительное количество работ, посвященных природе этого заболевания. Так или иначе, причиной повышения внутриглазного давления (ВГД) является нарушенный баланс динамики водянистой влаги между трабекулярными сосудами и радужно-роговичным дренажом [27]. Возрастающее ВГД передается на структуры как переднего, так и заднего отрезков глаза. Повышение ВГД в заднем отрезке приводит к конформационным перестройкам макулярной области, макулярной дегенерации, нарушению аксональной передачи нервного импульса по зрительному нерву и гибели ганглионарных нейронов сетчатки [27]. Помимо прочего, процесс повышения ВГД сопровождается повреждением роговичного эндотелия, особенно у пациентов с закрытоугольной глаукомой, у которых, по данным литературы, плотность эндотелиальных клеток снижается до 12–15% [28].

К другим клинически значимым состояниям, затрагивающим структуры переднего отрезка глаза, относятся ССГ, неоваскуляризация роговицы, увеиты и кератиты.

Патологические состояния заднего отрезка глаза включают такие опасные заболевания, как макулодистрофия, пролиферативная и непролиферативная диабетическая ретинопатия, диабетический макулярный отек, задний конъюнктивит. Терапия патологических состояний заднего отрезка дополнительно осложняется труднодоступностью областей интереса для ЛП, а также

мульти-modalностью патогенетических процессов, лежащих в основе возникновения описываемых заболеваний и их прогрессии [29–32].

В настоящее время для лечения заболеваний глаза в мире и в нашей стране разрешен к применению довольно широкий ряд лекарственных средств. Он включает глюкокортикостероиды (гидрокортизон, триамцинолон, дексаметазон и др.); противомикробные лекарственные вещества – антибиотики как природного происхождения (амфотерицин В), так и синтетические (тетрациклины, аминогликозиды и фторхинолоны), вегетотропные ЛП – миотики, мидриатики, средства, влияющие на аккомодацию (М-холиноблокаторы, α -адреномиметики и β -адреноблокаторы и др.); средства иммунобиологической терапии (ингибиторы факторы роста эндотелия сосудов, ингибиторы факторов системы комплемента). Помимо этого, могут использоваться антиоксиданты, поливитаминовые препараты, внеклеточные микровезикулы мезенхимальных стволовых клеток, вирусные векторы для генной терапии и др. [33–38].

Топическая доставка действующих лекарственных веществ – одно из наиболее частых требований к глазным лекарственным формам ввиду необходимости преодоления гематоокулярного барьера (ГОБ). Однако использование обычных глазных капель, субконъюнктивальное и интравитреальное инъекционное применение лекарств сопровождается кратковременным действием и требует частого введения, что отражается как на КЖ пациентов, так и на их приверженности к лечению [39].

Все перечисленное обусловило появление новых систем доставки действующих веществ лекарственных веществ к внутренним средам и мишеням глаза, при этом в основе таких лекарственных форм лежит применение полимерных биоматериалов и синтетических полимеров, способных преодолевать существующие трудности доставки. По данным проводимых в настоящее время в мире исследований, применение полимеров способствует как оптимизации локальной фармакокинетики действующего вещества, так и зачастую совершенствованию фармакодинамических свойств ЛП [40].

1.1. Синтетические полимерные материалы для глазных лекарственных форм

Синтетические полимеры – это вещества, полученные путем химического синтеза из органических или неорганических мономеров. Синтетические полимеры обладают широчайшим диапазоном как химических, так и физических и биомеханических свойств, что дает разработчикам лекарственных препаратов большие возможности для создания оптимальных решений для применения в офтальмологии.

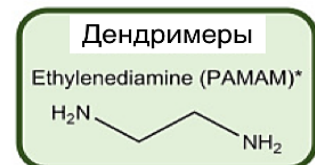
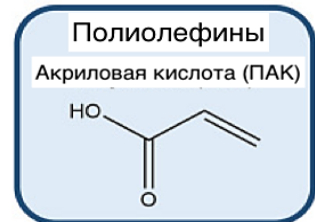
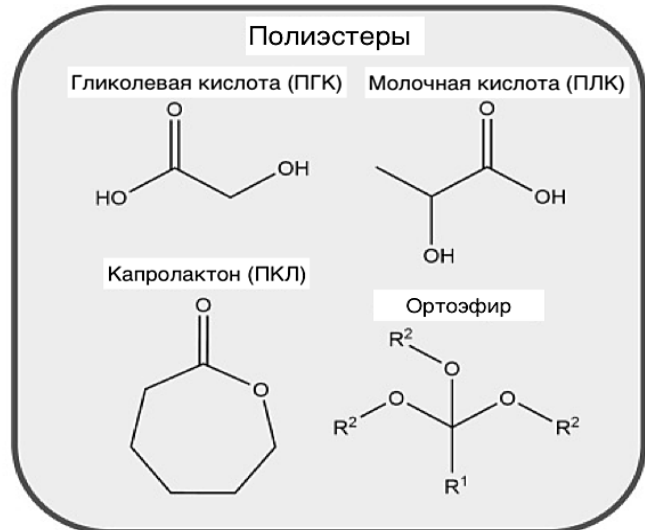
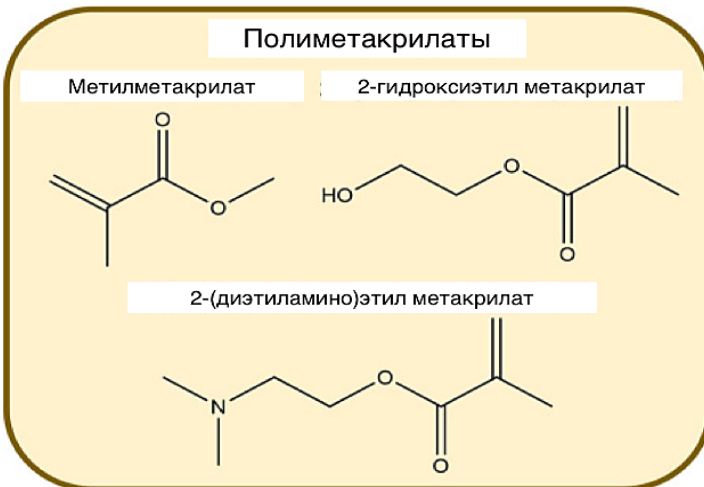
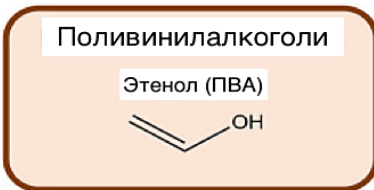
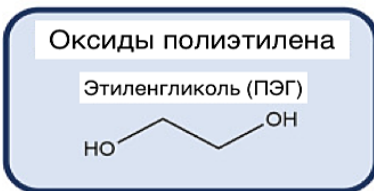
В настоящее время в мире и в нашей стране одобрены для клинического применения (в том числе в офтальмологии) следующие виды синтетических полимеров: полиэтиленгликоль (ПЭГ), поливинилалкоголь (ПВА), полигликолевая кислота (ПГК), поли-(2-диметиламино)-этилметакрилат (ДМАЭМ), полилактокогликолевая кислота (ПЛГК), поликапролактон (ПКЛ), полиакриловая кислота (ПАК), полиамидоамин (ПАА) (Рисунок 1). В то же время еще несколько синтетических полимеров находятся на различных стадиях изучения и могут в ближайшее время быть одобрены к клиническому применению.

1.1.1. Полиэтиленоксиды и их применение в создании глазных лекарственных форм

ПЭГ представляет собой прозрачное бесцветное гидрофильное вещество, синтезированное из мономеров этиленоксида. Включение его в состав лекарственных форм способно повышать биодоступность, растворимость и биосовместимость содержащихся в составе лекарственной формы действующих веществ. При этом этот синтетический полимер производится в различных агрегатных состояниях – жидком и твердом, в зависимости от количественного

состава мономеров может иметь различные молекулярную массу, пространственную конфигурацию (линейное либо разветвленное расположение мономеров этиленоксида), а также обладать инертностью или биологической активностью.

Синтетические мономеры, применяющиеся в производстве лекарственных форм в офтальмологии



Одобрены для применения в глазных лекарственных формах

Примечание: *РАМАМ – полиамидоамин

Рисунок 1 – Химическая структура мономеров, применяющихся для синтеза полимерных компонентов глазных лекарственных форм. Адаптировано по [20] в редакции автора

ПЭГ является безопасным синтетическим полимером, используемым для многих топических лекарственных форм в офтальмологии. В частности, на основе ПЭГ создана инъекционная лекарственная форма олигорибонуклеотида,

обладающая высоким сродством к фактору роста эндотелия сосудов и применяющаяся для лечения тяжелых стадий острой макулярной дегенерации [41, 42].

На основе ПЭГ были разработаны краткосрочные внутриглазные цилиндрические импланты, которые за счет пролонгированной гидролитической редукции объема импланта позволяют обеспечивать в течение месяца отсроченное и пролонгированное высвобождение дексаметазона для контроля послеоперационного воспалительного процесса в глазу, а также снижения эффективности связанного с воспалением болевого синдрома. Имплант вводится во внутреннюю среду глаза через интраканаликулярное отверстие. В настоящее время помимо уже обозначенного выше показания указанная лекарственная форма проходит 3 фазу клинических исследований у пациентов с аллергическим конъюнктивитом [43].

Помимо описанных имплантов тот же производитель разработал на основе ПЭГ еще 2 топические формы глазных препаратов. Это микроимплант, содержащий редуцированные дозы дексаметазона [44], проходящий в настоящее время II фазу клинических исследований для лечения ССГ; а также инъецируемый гидрогель с ингибитором тирозинкиназы акситинибом для лечения острой макулярной дегенерации, позволяющий обеспечивать пролонгированное высвобождение действующего вещества, что обеспечивает продолжающееся во времени терапевтическое действие [45]. Кроме того, известно применение ПЭГ в гидрогелевом клее, применяющемся пациентам с катарактой в послеоперационном периоде для профилактики избыточной потери внутриглазной жидкости [46].

В работах, проведенных в последние годы, показано, что введение фрагментов ПЭГ (пегилирование) повышает биодоступность и транскорнеальную проницаемость топических глюкокортикостероидов за счет их стереохимического маскирования для действия гидролитических ферментов, повышения сродства к субконъюнктивальным слоям глаза и снижения потерь действующего вещества вследствие внутриглазного дренажа слезной жидкости [47, 48].

Интравитреальное инъекционное введение пегилированных офтальмологических лекарственных форм позволяет увеличивать период полужизни действующих веществ, что сопровождается усилением эффекта указанных лекарственных средств на структуры заднего отрезка глаза [49]. Кроме того, было показано, что пегилирование повышает растворимость амфотерицина В в составе липидных наноструктур, применяемых для топической терапии грибковых инфекций глаза [50].

1.1.2. Поливинилалкоголи для офтальмологических лекарственных форм

Поливинилалкоголи представляют собой биodeградируемые растворимые в воде синтетические полимеры, обладающие свойствами растворения гидрофобных лекарственных веществ, что приводит к повышению химической устойчивости и улучшению биодоступности действующих веществ [51]. В настоящее время известны несколько способов органического синтеза поливинилалкоголей, что позволяет получать полимеры с различными состояниями гидратации и молекулярной массы [51]. Кроме того, следует отметить, что химическая структура данных полимеров обеспечивает ему регулирующую проницаемость, что чрезвычайно важно при разработке лекарственных форм с задержанным высвобождением действующего вещества.

Поливинилалкоголи широко применяются для создания внутриглазных имплантов – гидрогелей с задержанным высвобождением. Так, известна лекарственная форма на основе поливинилалкоголя и этиленвинилацетата для интравитреальных инъекций при цитомегаловирусном ретините. Эта форма позволяет в течение 6–8 мес эффективно контролировать течение инфекционного процесса после однократного введения, при этом действующее вещество высвобождается из гидрогеля путем пассивной диффузии [52].

Применение поливинилалкоголя для покрытия многослойного гидрогеля – импланта обеспечивает управление высвобождения глюкокортикостероида флутиказона ацетонида, обеспечивая лечение неинфекционных увеитов до 2,5 лет после однократной инъекции [53–57]. В последние 2–3 года эта лекарственная форма была оптимизирована, в частности, в сторону повышения срока высвобождения действующего вещества и улучшение способа введения гидрогеля [58, 59].

1.1.3. Полиэфирсодержащие глазные лекарственные формы

К полиэфирным синтетическим полимерам, как уже упоминалось выше, относятся полимеры гликолевой, молочной кислот и кополимеры этих природных кислот. Рассматриваемые полимеры обладают необходимыми свойствами для оптимизации биодоступности и управления высвобождения действующих веществ в офтальмологической практике.

Биоразлагаемость полиэфиров определяется, главным образом, числом мономеров, входящих в состав полимера, что делает эти синтетические полимеры весьма привлекательными конститuentами для молекул низкой молекулярной массы, белков и генов [60].

ПМК и ПГК синтезируются из природных мономеров – молочной и гликолевой кислот соответственно – с помощью реакции открытоцепочечной полимеризации [61]. При сравнении этих полимеров между собой было показано, что за счет большей подверженности гидролитическим процессам биоразложение ПГК происходит в 2 раза быстрее, чем ПМК, однако при этом продукты разложения обоих полимеров представляют собой нетоксичные вещества [62]. Полимер на основе молочной кислоты более термостабилен, в связи с чем может быть получен несколькими способами [62].

Поскольку ПГК – довольно хрупкий полимер, плохо или нерастворимый в стандартных органических растворителях, его редко используют в качестве монокомпонента инновационных офтальмологических лекарственных форм, но довольно часто в составе кополимеров.

Низкая скорость биodeградации синтетического полимера на основе мономеров молочной кислоты была использована разработчиками внутриглазной лекарственной формы замедленного высвобождения, в которой действующим веществом является бримонидин. Препарат показан для лечения атрофии сетчатки и в настоящее время находится на II фазе клинических исследований [63].

Молочную и гликолевую кислоты часто кополимеризуют для получения синтетического кополимера с заданными и изменяемыми соотношениями отдельных мономеров в химической структуре, что напрямую отражается на способности полимера к биоразложению и скорости этого процесса. Использование кополимера в глазных лекарственных формах обусловлено регулируемыми свойствами биосовместимости, биодоступности и высвобождения действующего вещества. Помимо прочего, соотношение отдельных мономеров в структуре кополимера влияет на его кристаллическую решетку и растворимость в воде [64].

Введение синтетического полимера с гидрофобными свойствами способствует селективной проницаемости действующего вещества через слизистую оболочку глаза при условии топического применения лекарственной формы, или управляемому высвобождению при интравитреальном поступлении гидрогеля. Описанные биологические свойства кополимера делают его наиболее часто используемым материалом для использования в глазной практике. Вместе с тем существуют и ограничения к использованию кополимера, связанные с продуктами биоразложения, проявляющими кислотные свойства [64, 65].

Создан и разрешен к клиническому применению лекарственный препарат дексаметазона для интравитреального введения для лечения окклюзии вен сетчатки, неинфекционных увеитов и некоторых других заболеваний заднего отрезка глаза. Введение кополимера в состав лекарственной формы позволяет

увеличить время высвобождения глюкокортикостероида до 4–6 мес при однократном введении, при этом в течение этого же срока сам кополимер подвергается полному биоразложению [66, 67].

Недавно в США был одобрен для лечения открытоугольной глаукомы внутриглазной имплант на основе кополимера, позволяющий осуществлять контролируемое высвобождение аналога простагландина биматопроста, снижающего внутриглазное давление у пациентов с глаукомой в течение от 4 до 6 мес [68]. Помимо биоразлагаемых внутриглазных имплантов рассматриваемый кополимер с успехом применяется или испытывается в офтальмологии в виде гидрогелей, микро- и наночастиц для направленной доставки лекарственных веществ [69–72]. Помимо описанных особенностей одним из ограничивающих факторов для применения кополимера на основе мономеров молочной и гликолевой кислот служит максимальная продолжительность биодеградации, которая не превышает 6 мес.

Поликапролактон – еще один синтетический полимер полиэфирного происхождения – получается из ϵ -капролактона путем открытоцепочечного синтеза. Гидрофобность и полукристаллическая структура полимера позволяет в зависимости от молекулярной массы и количества мономеров пролонгировать время биодеградации до нескольких лет, что определяет дополнительное преимущество данного синтетического полимера [73]. Этот полимер довольно широко используется в экспериментальной офтальмологии и фармакологии вследствие большой продолжительности деградации и низкой стоимости [74]. Этот полимер представляет исследователям широкую возможность создания микропленок, гидрогелей, микроимплантов для терапии глаукомы, воспалительных процессов глаза вследствие еще и уникальных свойств сохранять структурную целостность даже на поздних стадиях биоразложения [75-82].

Полиортоэфир также относится к семейству синтетических полимеров полиэфирной структуры. На сегодняшний день не существует содержащих его глазных лекарственных форм, разрешенных для клинического применения, однако

ведется целый ряд исследований потенциальных лекарственных средств на его основе для лечения заболеваний органа зрения [83].

1.1.4. Применение полиметилакрилатов и полиолефинов в офтальмологической практике

Полиметилакрилаты и другие основанные на метакрилатах синтетические полимеры представляют собой акриловые биосовместимые соединения, которые сочетают, с одной стороны, высокую прочность, термопластичность, с другой – высокую прозрачность и способность пропускать воду [84, 85]. Полиметилакрилаты были первыми в истории синтетическими полимерами, разрешенными в офтальмологии для производства контактных линз, в 1936 г. [86]. В настоящее время полиметилакрилаты применяются для создания различных глазных лекарственных форм: наноформ для адресной доставки препаратов, мицелл, глазных гидрогелей, интравитреальных инъекционных лекарственных форм, глазных капель, а также внутриглазных имплантов.

Внутриглазной титансодержащий имплант на основе полиметилметакрилата используется в составе пролонгированной лекарственной внутриглазной лекарственной формы триамцинолона ацетонида для лечения дистрофии сетчатки [52, 87].

Перспективным направлением в офтальмологии, особенно на фоне роста популярности контактной коррекции, является создание лекарственно-содержащих линз на основе полиметилметакрилатных полимеров. В современных исследованиях представлены данные об эффективности подобных терапевтических систем, включающих, в частности, комбинацию офлоксацина с витамином Е для лечения инфекционных процессов или аторвастатин для коррекции диабетических поражений глаз. [88, 89]. С целью оптимизации управляемого высвобождения лекарственных средств и повышения

инкорпорируемости липофильных веществ в полимерный матрикс контактных систем в их структуру вводятся молекулы 3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА. В настоящее время на этапах клинических исследований находятся линзы для лечения глаукомы, аллергических конъюнктивитов и др. [90–92].

К полиолефинам относится полимер на основе акриловой кислоты, более известный под торговым наименованием карбопол. Он представляет собой синтетический полимер с высокой водорастворимостью и способностью повышать вязкость [93]. Несмотря на биоразлагаемость, недостатком полимера является провоспалительная активность продуктов его разложения [94]. Вследствие хороших адгезивных свойств по отношению к слизистым оболочкам полимер в настоящее время проходит клинические исследования в форме гидрогеля для управляемого выделения эпинефрина у пациентов с глаукомой [95, 96].

Известно применение полиолефинового полимера для создания глазных капель, в частности содержащих циклоспорин, для лечения синдрома «сухого глаза» [97].

1.1.5. Дендримеры как перспективные полимеры для глазных лекарственных форм

К дендримерам в современном понимании относят сложные синтетические биополимеры с разветвленной структурой и длинными полимерными цепями. Они обладают как структурными, так и функциональными особенностями, зависящими от длины цепей. В глазной фармакологии эти полимеры нашли применение благодаря биосовместимости, водорастворимости, способности удерживать молекулы действующих веществ лекарственных средств, а также функциональной активности концевых фрагментов каждой цепи в структуре полимера, обладающей также способностью сохранения электрического заряда [98–100].

К группе дендримеров традиционно относят полиамидоамины. В научной периодике представлены результаты экспериментальных исследований эффективности и безопасности разработанных на основе полиамидоамина внутриглазных лекарственных форм с дексаметазоном и триамцинолона ацетонидом для лечения различных воспалительных и дистрофических состояний заднего отрезка глаза [101, 102]. Гормонсодержащий полимер вводился в глаз лабораторным животным (крысам) в виде интравитреальных инъекций. Также имеется работа, описывающая результат применения топической формы в виде гидрогеля для контролируемого высвобождения антиглаукомного препарата бримонидина тартрата [103].

1.2. Место природных полимеров в офтальмологической фармакологии

В последние годы технологический прогресс, позволивший разработать безопасные, эффективные и экономичные методы получения полимеров из природных мономеров (растительного, животного, микробного происхождения), стимулировал интерес к их применению в биомедицине. Их ключевыми преимуществами, определяющими привлекательность для фармакологии, являются биосовместимость, контролируемая биодеградация в водной среде и широкий спектр вязкостно-эластических свойств [104]. Эти характеристики делают природные биополимеры перспективной основой для создания инновационных офтальмологических лекарственных форм. Среди известных и применяющихся в современной фармацевтической индустрии полимеров наиболее распространены целлюлоза, хитозан, гиалуроновая кислота, коллаген, карбоксиметилцеллюлоза (гипромеллоза), желатин, декстран (крахмал), гуаровая камедь, полидофамин и некоторые другие. Рисунок 2 содержит химические структуры мономеров перечисленных выше природных полимерных веществ.

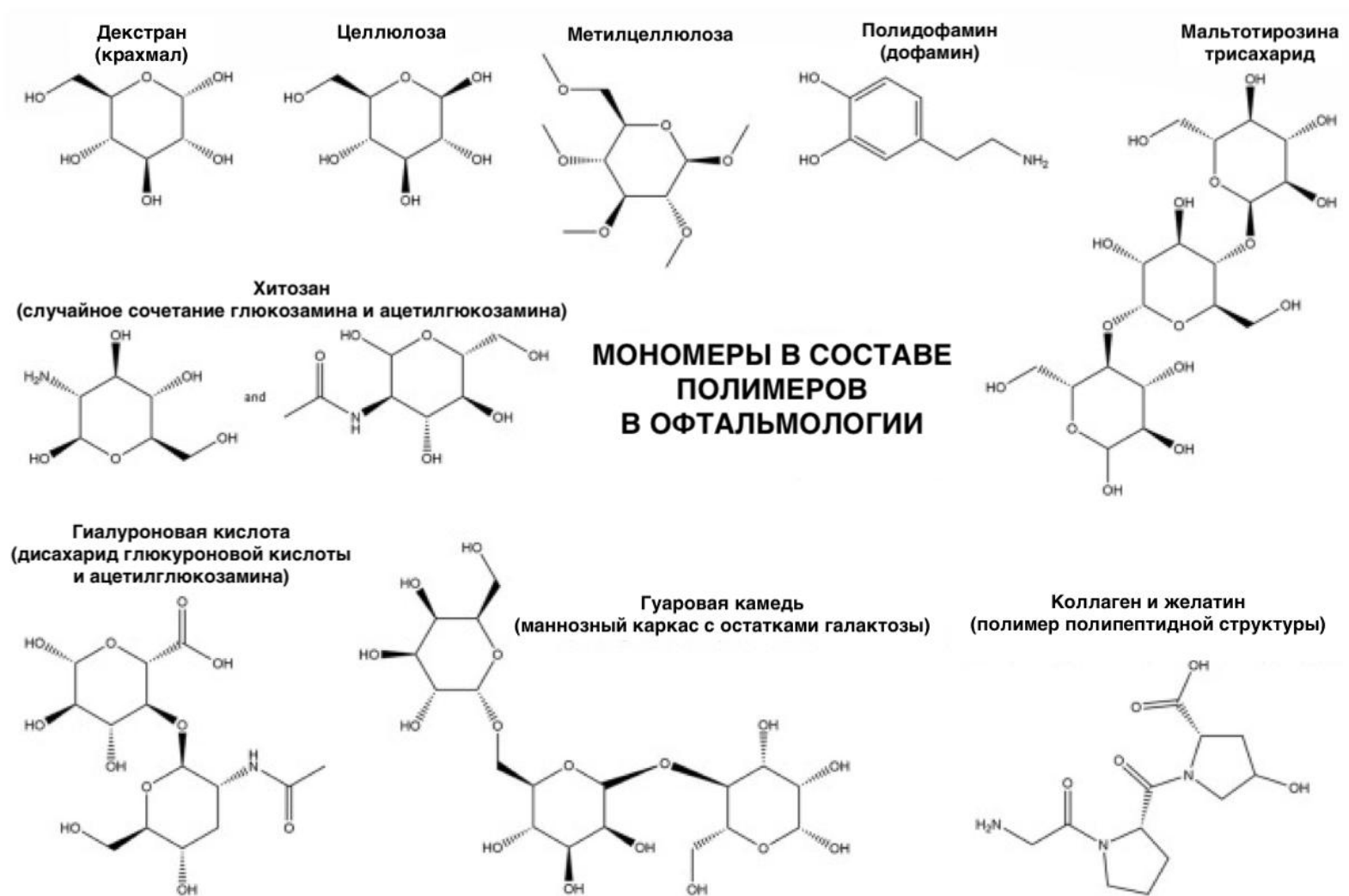


Рисунок 2 – Мономеры наиболее распространенных в офтальмологической фармакологии природных полимеров. Адаптировано по [20] в редакции автора

1.2.1. Полисахаридные природные биополимеры и их использование в изготовлении лекарственных форм для офтальмологии

Наиболее распространенным биополимером является целлюлоза, представляющая собой компонент клеточной стенки растительных клеток. Вследствие большого содержания гидрофильных групп в своем составе целлюлоза является высокогидрофильным веществом. Поскольку этот природный полимер обладает высокой биосовместимостью, способен к разложению путем гидролиза или вследствие ферментативных процессов, легко конъюгируется с другими веществами и относительно недорог в получении, в настоящее время в мире существует достаточно большое количество лекарственных форм на основе целлюлозы.

Модификация природной целлюлозы путем добавления дополнительных карбоксильных групп получила название карбоксиметилцеллюлозы (эфирное производное целлюлозы). Этот полимер за счет повышенной растворимости в воде более пригоден для приготовления жидких лекарственных форм – глазных капель [104], в частности применяемых для лечения ССГ [105]. Поскольку карбоксиметилцеллюлоза имеет в целом линейную структуру, создаются благоприятные условия для получения на ее основе микропленок, гидрогелей, и интравитреальных инъекционных форм, позволяющих контролировать выделение действующих веществ во времени.

В частности, разработана гидрогелевая лекарственная форма протеина бычьей сыворотки на основе кополимера карбоксиметилцеллюлозы и ГК, которая позволяла регулировать выделение действующего вещества в течение 30 сут [106]. На основе этого полимера предприняты попытки разработки наноформ ЛП. Так, в эксперименте для лечения патологии передней камеры глаза была изучена наноформа таргетного препарата акситиниба [107]. Разработанные нанопластинки позволяли формировать мельчайшие резервуары, содержащие молекулярно-направленный препарат, с замедленным высвобождением, что было несомненным

преимуществом перед обыкновенными глазными каплями. Аналогичная лекарственная форма, содержащая дексаметазон показала в эксперименте обнадеживающие результаты по эффективному лечению ССГ [108]. При этом каждый нанорезервуар содержал 500 нг действующего вещества, способный поддерживать суточное высвобождение дексаметазона.

К производным целлюлозы относится и другой биополимер – гидроксипропилметилцеллюлоза (гипромеллоза), нашедший самое широкое применение в офтальмологии вследствие своих уникальных вязкостных характеристик [109].

Хитозан – полисахаридный полимер, состоящий из глюкозамина и N-ацетилглюкозаминовых мономеров. Он является положительно заряженной макромолекулой вследствие наличия положительных аминогрупп на всем протяжении полимерных цепей [110]. Электропозитивность молекулы обеспечивает ее высокую биоадгезивность в первую очередь в отношении слизистых оболочек, вследствие чего хитозан часто применяется при разработке глазных капель и гелей для субконъюнктивальных введений с замедленным выделением лекарственных веществ [111, 112].

Амфифильная природа хитозана и его высокая биосовместимость при конъюгации с молекулами лекарственных веществ позволяют повышать проницаемость роговицы для гидрофобных молекул по сравнению с их использованием в чистом виде [113]. До настоящего времени в США не выдано ни одного разрешения на глазную лекарственную форму на основе хитозана, хотя в эксперименте как в культуре клеток, так и в опытах на животных хитозансодержащие лекарственные формы широко изучаются [114]. В частности, были созданы хитозановые липосомы и мицеллы, которые обеспечивают как хорошую емкость систем доставки для действующих веществ, так и удовлетворительный по времени период замедленного высвобождения при интравитреальном введении. Часто хитозан применяется в многослойных лекарственных системах для маскировки анионных полимеров и действующих лекарственных веществ, а также генетического материала [80, 81, 115]. Гидрогели

на основе хитозана в недавно проведенных исследованиях показали высокую эффективность в местной доставке противомикробных препаратов, таких как антибиотики и фторхинолоны [116]. Термочувствительный гидрогель на основе гексаноил-гликоль-хитозана показал меньшую местную раздражающую реакцию и большую биодоступность, чем было установлено при использовании классической суспензии антибиотика.

Подобно хитозану ГК также относится к природным полимерам, гидрофильным полисахаридам, и состоит из D-глюкуроновой кислоты и N-ацетилглюкозаминовых мономеров. Этот природный биополимер является составным компонентом многих внутриглазных сред, в том числе роговицы, водянистой влаги, стекловидного тела, сетчатки, и играет большую роль в поддержании внутреннего гомеостаза органа зрения. Структура полимера позволяет ему абсорбировать большие объемы воды, набухать в водных средах и подвергаться быстрой энзиматической деградации [117, 118].

В силу уникальных свойств, таких как высокая гидратация, изменяемое содержание влаги, оптимальные вязкостные и эластические свойства, ГК является привлекательным матриксом для создания глазных гелей, биосовместимых покрытий для систем адресной доставки лекарственных средств и систем клеточной терапии заболеваний сетчатки [119].

В недавнем исследовании показано, что использование гидрогеля на основе ГК для доставки стволовых клеток сетчатки к области воздействия существенно повышает точность пересадки клеток в субсетчаточное пространство. Более того, еще до полной деградации полимерного матрикса клетки экспрессируют фенотип фоточувствительных элементов, при этом на этапе доставки не нарушается структурно-функциональная организация области сетчатки [120].

Также появились публикации, описывающие результаты применения гиалуроновой кислоты для механического блокирования обратного вытекания действующего вещества ЛП из иглы при проведении интравитреальных инъекций [121].

Наиболее часто ГК применяется в качестве увлажняющего и смазывающего агента для изготовления глазных капель для лечения синдрома «сухого глаза» [105, 122, 185]. Этот природный полимер может также быть использован при создании внутриглазных депо нестероидных противовоспалительных средств (в частности, диклофенака) для лечения воспалительных заболеваний глаза [122, 123, 185]. При этом было показано, что формирование таких депо-резервуаров внутри глаза сопровождается дополнительным заживляющим свойством и способностью стимулировать интраокулярную регенерацию.

Декстран, еще один биополимер полисахаридной структуры, состоит из остатков глюкозы и продуцируется лактобактериями. Несомненными преимуществами этого природного полимера является его биосовместимость, способность к биологической деградации, высокие гидрофильные свойства и способность к образованию гидрогелей [124]. Его с успехом применяют при производстве глазных капель для лечения пациентов с синдромом «сухого глаза» [125].

Еще одним преимуществом этого биополимера является высокий потенциал к получению химических ассоциаций с другими природными и синтетическими полимерными молекулами, такими как хитозан, полиэтиленгликоль, полилактонацетат. Эти кополимеры в настоящее время проходят различные фазы доклинических и клинических исследований в качестве средств и основ топических глазных и интравитреальных лекарственных форм [126]. В частности, получены хорошие результаты по внутриглазной доставке антиоксиданта лютеина с помощью декстран-хитозановых кополимерных нанокапсул [126]. При этом следует подчеркнуть, что свойства декстрана легко конъюгировать с молекулами действующих веществ существенно облегчает их внутриглазную доставку. В частности, это свойство показано для катионной ДНК для таргетной генной терапии X-сцепленного ювенильного ретиносклероза. В последних работах представлены положительные результаты *in vivo* трансфекции и последующей экспрессии ДНК-декстран-протаминового комплекса, адсорбированного на поверхности липидных наночастиц после внутриглазных инъекций у крыс [127].

Другой природный полимер – гуаровая камедь, получаемая из семян бобового растения. Она представляет собой полисахарид сложной структуры, мономерной основой которого является β -D-манноза, а в области разветвлений – α -D-галактоза [128]. Так же как и представленные выше биополимеры, гуаровая камедь биосовместима, обладает хорошей водорастворимостью, повышает вязкость сред, способствует набуханию, имеет хорошие мукоадгезивные характеристики, не ионизируется при растворении и разрушается при гидролизе [129]. Поскольку рассматриваемый полисахарид легко формирует гели, он нашел широкое применение в глазной практике при производстве топических жидких лекарственных форм.

Однако гуаровая камедь обладает низкой стабильностью в водных растворах, а в спиртах и органических растворителях не растворяется вовсе. Именно поэтому были предприняты попытки синтеза растворимых полусинтетических полимеров на основе гуаровой камеди – гидроксиметиловой, гидроксипропиловой, *o*-карбоксиметиловой и *o*-карбоксипропиловой камедей [129]. Гидроксипропиловая камедь уже в настоящее время применяется в составе нескольких глазных лекарственных форм в виде капель [130]. В виде карбоксивинилполимерной боратной гуаровой камеди система геля изучена для адресной доставки антибиотика натамицина для лечения внутриглазной грибковой инфекции в составе полиэтиленгликолевых нанокапсул [130]. В форме мицелл этот биополимер используется для контролируемого высвобождения противомикробного средства из группы фторхинолонов – офлоксацина. Для этого в состав сложной лекарственной формы помимо биополимера добавляются ретинол, биотинированный глутатион и специфические молекулярно-направленные агенты. При этом период высвобождения офлоксацина увеличивается до 8 ч [131].

Пуллулан – это биополимер из мицелия гриба *ауреобазидиума* почкующегося, состоящий из мономеров мальтотриозы [132]. Это неионизирующийся биосовместимый, устойчивый при широком диапазоне температур и pH среды водорастворимый полимер, который не растворяется в органических растворителях, легко подвергается обработке, не пропускает

кислород, повышает вязкость и разлагается при введении в живые ткани [132, 133]. Этот природный полимер довольно широко применяется в глазных лекарственных формах, в том числе требующих управляемого выделения действующих веществ лекарственных средств [134–136].

1.3. Лекарственные формы на основе синтетических и природных полимеров. Системы доставки лекарственных средств

Высокая пластичность природных и синтетических полимеров делает их прекрасными основами для создания топических лекарственных форм в глазной практике. Существует большое количество форм, в которых биополимеры могут быть технологически применены: микро- и наночастицы, мицеллы, липосомы и др. Преимуществом этих систем является низкое раздражающее действие на глаз, высокая мукоадгезивность, меньшая инвазивность, лучшая способность проходить через внутриглазные иглы малых калибров, если речь идет об инъекционных формах лекарственных средств [137]. Кроме того, как уже говорилось, существует возможность введения биополимеров в состав контактных линз [138]. На Рисунке 3 представлены основные формы, в виде которых синтетические и природные полимеры могут быть использованы в глазной практике.

Микрочастицы представляют собой небольшие полимерные образования размером от 1 до 1000 мкм. Нужно заметить, что это пионеры применения биополимеров для глазных лекарственных форм; с них началась эра полимеров в глазной клинике. Они способны вмещать большие объемы лекарственных средств и обеспечивать существенное по времени замедление высвобождения вследствие относительно больших размеров (безусловно, при сравнении с наночастицами). Предложено несколько глазных форм на основе микрочастиц. В последние годы созданы имеющие большие перспективы клинического применения микрочастицы, содержащие наночастицы с лекарственным средством внутри [139, 140].



Рисунок 3 – Различные формы синтетических и природных полимеров, применяющихся при изготовлении топических лекарственных форм для офтальмологической практики (по [20] в модификации автора). Пояснение в тексте

Наночастицы имеют размер от 10 до 1000 нм и в отличие от микрочастиц имеют поверхностный заряд, обусловленный характером составляющих их мономеров. Это позволяет наночастицам обладать большей проникающей способностью и мукоадгезивностью [141]. Загрузка полимерных наночастиц необходимым лекарственным средством может осуществляться либо путем инкапсуляции, либо методом электростатической диффузии. В настоящее время подавляющее большинство описанных в данной работе био- и синтетических полимеров выпускаются в форме наночастиц для местного инъекционного применения [142, 143]. Вследствие своего размера наночастицы легко проникают внутрь клеток, легко доступны даже в самых отдаленных областях глаза и представляют большой потенциал для клинической медицины [144–151].

Мицеллоподобные формы представляют собой сложные частицы, состоящие из ядра и оболочки, получаемые методом кополимеризации амфифильных природных и синтетических полимеров. Для их получения необходимо введение в структуру как гидрофильных, так и гидрофобных полимерных цепей. Размер мицелл, как правило, не превышает 100 нм.

Мицеллы способны повышать растворимость нерастворимых действующих веществ лекарственных средств, и они используются в глазной практике для повышения проницаемости роговицы и склеры для соответствующих лекарственных средств [152].

К несомненным преимуществам мицеллярных лекарственных форм относятся следующие: улучшение местной доставки лекарственного вещества, в том числе его термодинамической стабильности сравнительная простота в изготовлении и производстве, высокая емкость для лекарственных веществ, отсутствие нарушений оптических свойств как преломляющих сред глаза, так и растворов, в состав которых вводятся мицеллы [153].

Мицеллы используются для топической аппликации в области глаза таких препаратов как циклоспорин, противовоспалительные и иммуносупрессирующие агенты, средства для лечения глаукомы, противогрибковые вещества, противовирусные средства и вещества с антиоксидантной активностью [154–163].

Липосомы не относятся к полимерам, но они широко применяются в качестве носителей природных полимеров при создании топических лекарственных форм в офтальмологической практике. Они обладают сходной по строению с клеточными мембранами липидной оболочкой (состоящей из одного или нескольких фосфолипидных слоев), что повышает сродство липосом к ним. Липосомальные структуры могут формировать комплексы с полимерами – как природными, так и синтетическими, – в том числе для повышения стабильности самих липосомальных систем. Наиболее часто в глазной практике используются конъюгаты липосом с такими полимерами, как хитозан, фиброин шелка и ПЭГ [154, 155].

Полимерные микро- и наносистемы, безусловно, являются многообещающими лекарственными формами, в том числе в офтальмологической практике. Наиболее сложными для решения сохраняющимися вопросами служат трудности с загрузкой лекарственными веществами и контроль замедленного высвобождения.

1.4. Глазные капли с природными и синтетическими полимерами: достоинства и перспективы совершенствования

Глазные капли, вероятно, наиболее древняя и широко распространенная в мире лекарственная форма для доставки лекарственных средств в глаз благодаря своей простоте использования, легкости изготовления, дешевизне и удовлетворительной приверженности пациентов к их использованию [156]. Однако в последние годы исследователи сосредоточены на совершенствовании этой лекарственной формы в связи с довольно большим спектром недостатков, ей присущих [157]. В частности, при том что глазные капли оптимальны при топическом воздействии на область склеры, роговицы, конъюнктивы, они совершенно не удовлетворяют потребностям современной офтальмологической практики, когда дело касается, например, заднего отрезка глаза. По данным разных авторов, лишь 1–5% действующего вещества, содержащегося в составе закапываемых капель, достигает целевых мишеней в переднем отрезке глаза [158]. Это связано, во-первых, с тем, что быстрая смена состава слезной пленки роговицы уносит с собой в дренажную систему глаза в том числе и содержимое лекарственной формы в течение нескольких секунд после инстилляций [159–161]. При этом, поскольку влажные среды глаза связаны с системной циркуляцией, до 80–90% состава топической формы оказывается в кровотоке, после чего либо метаболизируется, не достигнув глаза, либо вызывает нежелательные эффекты, связанные с системным действием [161].

Проникновение лекарственного вещества в передний отрезок глаза также проблематично. Роговица и склера плохо проницаемы как для гидрофильных, так и для липофильных веществ. Последние могут проникать посредством клеточного транспорта лишь при размере молекулы до 10 Å, в то время как единственным механизмом проницаемости для гидрофильных соединений является диффузия через межклеточные щели, которые довольно плотны и плохо проницаемы.

Тем не менее исследователи находятся на пути совершенствования таких лекарственных форм. Мировое врачебное и пациентское сообщество не готово отказываться от глазных капель, в том числе и для лечения патологических процессов, затрагивающих ткани заднего отрезка глаза [162–166]. Однако увеличение концентрации действующих веществ для преодоления сложностей с проницаемостью может вызывать как формирование нежелательных эффектов, так и появление местных реакций в виде раздражения структур глаза [166–169], повышение кратности закапывания сопряжено со снижением приверженности пациентов с офтальмологическими заболеваниями к специфической топической терапии [170].

В связи с этим в последнее время все большее число ученых сходятся во мнении о необходимости включения природных и синтетических полимеров в состав глазных капель для повышения как проницаемости действующих веществ внутрь глаза, так и увеличения времени присутствия лекарства в его средах. Одним из таких направлений является создание полимерных наноносителей с высокой мукоадгезивностью. Такие носители легко проникают внутрь слизистой оболочки глаза, из которой уже постепенно происходит высвобождение действующего вещества.

Так, известны лекарственные формы, содержащие хитозан и наночастицы из полиалконгликолевой кислоты, позволяющие доставлять лекарственные вещества в виде глазных капель как в передний, так и в задний отрезки глаза [170, 171]. Другим возможным решением является введение в состав лекарственной формы полимерного вещества, повышающего вязкость капель; при этом увеличивается время присутствия лекарства на поверхности роговицы и, следовательно, повышается его проницаемость [172].

Таким образом, совершенствование жидких топических офтальмологических лекарственных форм, содержащих действующие вещества, оказывающие влияние на функции переднего и заднего отрезка глаза, представляет собой значимую задачу, обуславливающую актуальность настоящего исследования.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Формирование фармакологического мидриаза является одной из базовых потребностей офтальмологической клиники. Расширение зрачка необходимо в диагностических целях – для проведения полноценного исследования глазного дна, для определения истинной рефракции, в предоперационном периоде на органе зрения, для лечения ряда заболеваний глаза. Для этой цели используются различные мидриатики – представители большого класса вегетотропных лекарственных средств – либо блокирующие М-холинорецепторы и нарушающие передачу парасимпатического импульса на мышцу, суживающую зрачок, либо возбуждающие α -адренорецепторы и повышающие адренергические влияния на упомянутую мышцу. Результатом того и другого воздействия является расширение зрачка. Однако помимо самого факта мидриаза для клиницистов чрезвычайно важны такие параметры расширения зрачка, как скорость наступления эффекта, полнота или выраженность мидриаза, длительность мидриатического действия лекарственной формы при однократном ее применении.

Традиционно для достижения мидриатического эффекта используются топические жидкие лекарственные формы – глазные капли. Вместе с тем в ряде клинических наблюдений показано, что использование капель простого состава сопровождается развитием таких нежелательных явлений, как раздражение глаза, его сухость, недостаточный по глубине и продолжительности действия эффект, который, как мы уже упоминали, связан с быстрой элиминацией действующих веществ из конъюнктивального мешка в дренажную систему глаза и системный кровоток. Все это потребовало оптимизации лекарственных форм путем введения в состав природных полимеров, в частности гипромеллозы – производного растительного природного полимера метилцеллюлозы.

Настоящая работа посвящена изучению роли этого полимера в составе жидкой топической лекарственной формы на кинетику и динамику

мидриатического эффекта, а также местное влияние на глаз адренопозитивного мидриатика – фенилэфрина.

Нами сформулирована научная гипотеза диссертационной работы: применение в составе глазных капель фенилэфрина природного полимера гипромеллозы повышает биодоступность действующего вещества, что приводит к повышению глубины и длительности мидриатического эффекта, при этом снижается раздражающее действие фенилэфрина на слизистую оболочку глаза.

Обозначенный научный вопрос потребовал применения особых методологических приемов для обоснования выдвинутой гипотезы. В частности, необходимо было выбрать адекватный вид лабораторных животных, современные доказательные методы фармакологического исследования. Кроме того, для оценки влияния на глаз лекарственной формы использовали помимо функциональных также морфологические методы исследования.

2.1. Общий план выполнения работы и ее соответствие современным принципам проведения исследований с участием лабораторных животных

Диссертационная работа выполнена по традиционному плану, включавшему следующие основные этапы (Рисунок 4):

- 1) разработка и формулирование научной гипотезы, постановка научного вопроса;
- 2) обзор современной научной периодики по теме диссертационной работы;
- 3) выбор адекватного вида лабораторных животных, современных и доказательных методов фармакологического исследования; для оценки влияния на глаз лекарственной формы определение подходящих морфологических методов исследования;
- 4) проведение эксперимента на лабораторных кроликах по исследованию динамики развития мидриатического эффекта при однократной инстилляцией

лекарственных форм, содержащих фенилэфрин, в зависимости от присутствия и отсутствия в их составе полимерных веществ;

5) определение пиковой концентрации фенилэфрина в жидкости передней камеры глаза через 5 мин после однократной инстилляцией 1 капли лекарственной формы, содержащей природный полимер либо не содержащей его, в конъюнктивальный мешок методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с тандемной масс-спектрометрией;

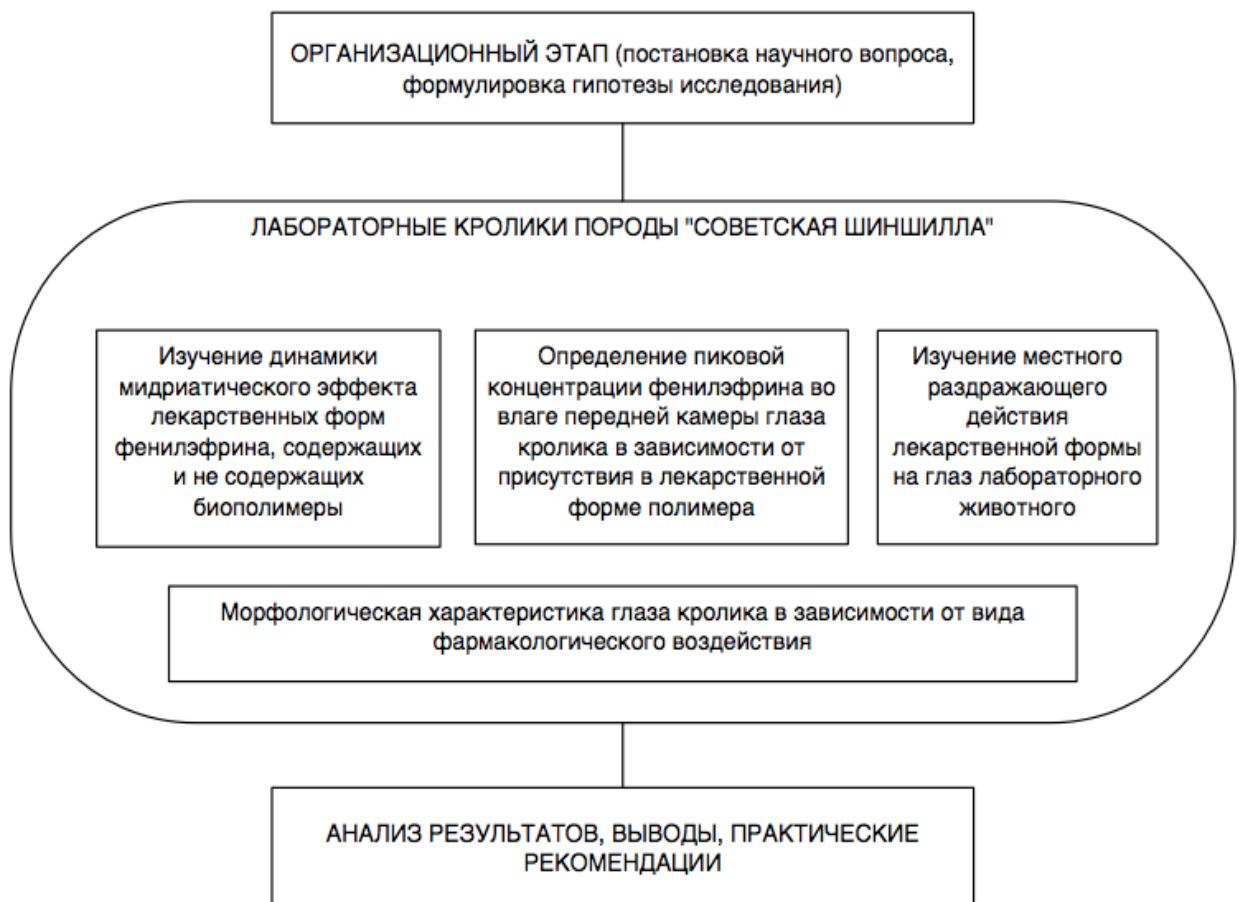


Рисунок 4 – Дизайн экспериментально-фармакологического исследования. Пояснения в тексте

б) изучение местнораздражающего действия фенилэфрина на глаз лабораторного животного в зависимости от присутствия или отсутствия в составе лекарственной формы полимерного соединения;

7) исследование морфологических изменений переднего отрезка глаза лабораторного животного (кролика) под действием однократной инстилляцией глазных капель фенилэфрина, содержащих природный полимер либо не содержащих его;

8) анализ результатов, выводы, положения, выносимые на защиту, практические рекомендации.

Протокол исследования был одобрен Локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), выписка из протокола №23-23 от 1.12.2023. Исследование выполнялось согласно утвержденным теме и аннотации, а также в соответствии с требованиями, отраженными в следующих документах:

Федеральный закон № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» (действующая редакция);

Федеральный закон № 52-ФЗ «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» (действующая редакция);

Приказ Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека № 224 от 19.07.2007 г. «О санитарно-эпидемиологических экспертизах, обследованиях, исследованиях, испытаниях и токсикологических, гигиенических и иных видах оценок»;

Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 01.04.2016 г. № 199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики»;

ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики» (Национальный стандарт Российской Федерации);

ГОСТ Р 56701-2015 «Лекарственные средства для медицинского применения. Руководство по планированию доклинических исследований безопасности с целью последующего проведения клинических исследований и регистрации лекарственных средств» (Национальный стандарт Российской Федерации);

ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и

кроликами» (Межгосударственный стандарт, соответствующий «Guidelines for accommodation and care of animals. Species-specific provisions for laboratory rodents and rabbits») от 01.07.2016 г.;

Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Под ред. А.Н. Миронова // Часть первая. М.: Изд-во «Гриф и К», 2012;

Директива Совета ЕС от 24 ноября 1986 г. о сближении Законов, постановлений и административных положений государств ЕС по вопросам защиты животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (86/609/ ЕЕС);

Протокол исследования, рассмотренный и утвержденный Локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) на предмет соответствия нормативным требованиям.

Оценку мидриатического эффекта, включая скорость наступления, глубину и длительность максимального расширения зрачка, проводили на модели половозрелых кроликов мужского пола породы «Советская шиншилла» с исходной массой тела 2,0-2,5 кг. Исследовали три лекарственных формы фенилэфрина: без полимерных компонентов, с биополимером гипромеллозой, а также с комбинацией биополимера гиалуроновой кислоты и синтетического полимера ПЭГ. В исследовании осуществляли непрерывную видеофиксацию реакции и размеров зрачка на инстилляцию 1 капли ГЛФ в конъюнктивальный мешок.

Определение местного раздражающего действия под действием исследуемых лекарственных форм фенилэфрина (не содержащей в своем составе биополимеров, содержащей биополимер гипромеллозу, содержащей биополимер ГК и синтетический полимер ПЭГ) выполнено на половозрелых кроликах-самцах породы «Советская шиншилла» с исходной массой тела 2,0–2,5 кг на основании оценки в баллах реакции в виде смыкания век, лакримации, наличия выделений, отека век, конъюнктивы, мигательной перепонки в ответ на инстилляцию 1 капли ГЛФ в конъюнктивальный мешок.

Определение концентрации действующего вещества под действием исследуемых лекарственных форм фенилэфрина (не содержащей в своем составе биополимеров, содержащей биополимер гипромеллозу, содержащей биополимер

ГК и синтетический полимер ПЭГ) также выполнено на половозрелых кроликах-самцах породы «Советская шиншилла» с исходной массой тела 2,0–2,5 кг методом ВЭЖХ с тандемным масс-спектрометрическим детектированием.

Выбор тест-систем осуществлен в соответствии с «Методическими рекомендациями по доклиническому изучению лекарственных средств» [173], с учетом функциональных возможностей для размещения и содержания лабораторных животных в экспериментально-биологической клинике (виварии) ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

В соответствии с протоколом исследования все болезненные процедуры выполнялись под общей анестезией [174]. Для этих целей применяли ингаляционный изофлурановый наркоз. Выведение из эксперимента также выполняли под общей анестезией.

2.2. Характеристика исследуемых лекарственных средств

Объектом исследования являлись готовые лекарственные формы (ГЛФ) двух лекарственных препаратов, содержащих в качестве действующего вещества фенилэфрин, и биополимер гипромеллозу – «Препарат 1» и «Препарат 2». Образцы ГЛФ для проведения исследования были любезно предоставлены компанией-изготовителем. Были получены следующие лекарственные формы: «Препарат 1», капли глазные 2,5% по 5 мл в пластиковом флаконе-капельнице с завинчивающимся колпачком – 1 экземпляр с фирменной упаковке, снабженной инструкцией по медицинскому применению; «Препарат 2», капли глазные 2,5% (без консерванта) по 0,4 мл в одноразовых тубиках-капельницах по 5 тубиков-капельниц в пакете из ламинированной бумаги – 1 пакет с фирменной картонной упаковке, снабженной инструкцией по медицинскому применению.

Характеристика ГЛФ «Препарат 1» в соответствии с инструкцией по медицинскому применению представлена в Таблице 1.

Таблица 1 – Характеристика ГЛФ фенилэфрина, содержащая в своем составе природный полимер гипромеллозу

Лекарственная форма: Состав:	Капли глазные 1 мл 2,5% раствора препарата содержит:
Активное вещество:	Фенилэфрин гидрохлорид – 25 мг
Вспомогательные вещества:	Бензалкония хлорид – 0,1 мг Динатрия эдетат – 1,0 мг Гипромеллоза – 3,0 мг Натрия метабисульфит – 2,0 мг Лимонная кислота – 1,16 мг Натрия цитрата дигидрат – 7,5 мг Вода для инъекций – quantum satis

Характеристика ГЛФ «Препарат 2» в соответствии с инструкцией по медицинскому применению представлена в Таблице 2.

Таблица 2 – Характеристика ГЛФ фенилэфрина, содержащая в своем составе природный полимер гипромеллозу без консерванта

Лекарственная форма: Состав:	Капли глазные (без консерванта) 1 мл 2,5% раствора препарата содержит:
Активное вещество:	Фенилэфрин гидрохлорид – 25 мг
Вспомогательные вещества:	Динатрия эдетат – 1,0 мг Натрия метабисульфит – 2,0 мг Лимонная кислота – 1,16 мг Натрия цитрата дигидрат – quantum satis Гипромеллоза – 3,0 мг Вода для инъекций – до 1,0 мл

2.2.1. Описание референтных лекарственных препаратов

В строгом соответствии с планом диссертационной работы для получения достоверных данных, доказывающих научную гипотезу, проведен отбор существующих на российском рынке аналогов – глазных ГЛФ фенилэфрина в той же действующей концентрации по критерию отсутствия в составе гипромеллозы (в качестве вспомогательного вещества), в частности: «Препарат сравнения 1» – не содержащий в качестве вспомогательного вещества гипромеллозу и «Препарат сравнения 2» – не содержащий в качестве вспомогательного вещества гипромеллозу, но содержащий в качестве вспомогательного вещества гиалуроновую кислоту (в виде натриевой соли).

В качестве таковых с учетом вышеуказанных требований выбраны: «Препарат сравнения 1» и «Препарат сравнения 2».

Характеристика ГЛФ «Препарат 3», содержащая фенилэфрин без добавления биополимеров, в соответствии с инструкцией по медицинскому применению представлена в Таблице 3.

Таблица 3 – Характеристика ГЛФ фенилэфрина, не содержащей в своем составе природные полимеры

Лекарственная форма:	Капли глазные
Состав:	1 мл лекарственного препарата содержит:
Активное вещество:	Фенилэфрин гидрохлорид – 25,0 мг
Вспомогательные вещества:	Бензалкония хлорид, в пересчете на безводное вещество – 0,1 мг Динатрия эдетат – 1,0 мг Натрия гидроксид – 0,24 мг Натрия дисульфит – 3,0 мг Лимонной кислоты моногидрат – 1,0 мг Натрия цитрата дигидрат – 5,0 мг Вода очищенная – до 1,0 мл

Характеристика ГЛФ «Препарат 4», содержащей фенилэфрин с добавлением биополимера в виде ГК и синтетического полимера ПЭГ в соответствии с инструкцией по медицинскому применению, представлена в Таблице 4.

Таблица 4 – Характеристика ГЛФ фенилэфрина, содержащая в своем составе природные полимеры в виде соли гиалуроновой кислоты

Лекарственная форма: Состав:	Капли глазные 1 мл лекарственного препарата содержит:
Активное вещество:	Фенилэфрин гидрохлорид – 25,0 мг
Вспомогательные вещества:	Полиэтиленгликоль 300 (макрогол 300) – 19,0 мг Натрия гиалуронат – 2,7 мг Вода для инъекций – до 1,0 мл

2.3. Характеристика лабораторных животных, условий их содержания и состав экспериментальных групп

Исследования проведены на 40 половозрелых кроликах-самцах породы «Советская шиншилла» с исходной массой тела 2,0–2,5 кг, приобретенных в питомнике филиала «Красногорский» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России» (Московская область) (Рисунок 5).

Перед поступлением в виварий Сеченовского Университета все животные прошли ветеринарный осмотр. проходили предварительное ветеринарное освидетельствование. На всех этапах проведения исследования осуществляли контроль здоровья лабораторных животных (наблюдение за общим состоянием, взвешивание). Поступившая партия животных изолировалась на все время проведения карантинных мероприятий (14 дней). Во время карантина больных и погибших животных обнаружено не было. На всех лабораторных кроликов, включенных в исследование, имелся ветеринарный сертификат [186].

Сведения о составе экспериментальных групп детализированы в Таблице 5. Для каждого типа исследования (фармакодинамика, оценка местного раздражающего действия, морфология переднего отрезка глаза, фармакокинетика) формировали отдельные группы кроликов одного пола численностью не менее 5 особей, что соответствует общепринятому репрезентативному минимуму для получения статистически достоверных результатов. Для минимизации количества подопытных животных использовали дизайн внутрииндивидуального контроля: исследуемый лекарственный препарат инстиллировали в один глаз, в то время как в контралатеральный глаз (контроль) вводили одну каплю 0,9% изотонического раствора хлорида натрия.



Рисунок 5 – Кролик-самец породы «Советская шиншилла»

Во время эксперимента половозрелые кролики-самцы содержали в контролируемых условиях: температура окружающего воздуха 20–24 °С, относительная влажность 50–60%. Для размещения лабораторных животных использовались индивидуальные клетки из нержавеющей стали, оборудованные стальными решетчатыми стенками и крышками, со специальными

приспособлениями для кормления и питья. В качестве подстилочного материала применялись древесные опилки из экологически чистой древесины лиственных пород, отвечающие требованиям ТУ 5313-001-1897839-92. Для кормления животных использовали комбикорм К-58 для лабораторных кроликов (поставщик – «ВетКормТорг» (Россия). Вода водопроводная подавалась в стандартных питьевых бутылочках (250 мл). Подстил менялся 2 раза в неделю, аксессуары и поилки для питья – еженедельно.

Таблица 5 – Краткая характеристика экспериментальных групп

№ группы	Вид животных	Количество животных в группе	Лекарственное средство	Доза	Регистрируемые показатели
<i>Опыты по определению глубины и длительности мидриатического эффекта</i>					
1	Кролики-самцы породы «Советская шиншилла»	20*	Изотонический 0,9% р-р хлорида натрия	1 капля	Время начала мидриатического эффекта, скорость достижения максимальной ширины зрачка, значение максимальной ширины зрачка, длительность максимального мидриатического эффекта
2		5	«Препарат 1»	1 капля	
3		5	«Препарат 2»	1 капля	
4		5	«Препарат 3»	1 капля	
5		5	«Препарат 4»	1 капля	
<i>Опыты по определению местного раздражающего действия</i>					
1	Кролики-самцы породы «Советская шиншилла»	20*	Изотонический 0,9% р-р хлорида натрия	1 капля	Реакция смыкания век в баллах, лакримация, наличие выделений, отек век, конъюнктивы, мигательной перепонки
2		5	«Препарат 1»	1 капля	
3		5	«Препарат 2»	1 капля	

Продолжение Таблицы 5

4		5	«Препарат 3»	1 капля	
5		5	«Препарат 4»	1 капля	
<i>Эксперименты по количественному определению действующего вещества во влаге передней камеры в точке 5 мин</i>					
1	Кролики-самцы породы «Советская шиншилла»	20*	Изотонический 0,9% р-р хлорида натрия	1 капля	Пиковая концентрация (мкг/мл) действующего вещества во влаге передней камеры в точке 5 мин
2		5	«Препарат 1»	1 капля	
3		5	«Препарат 2»	1 капля	
4		5	«Препарат 3»	1 капля	
5		5	«Препарат 4»	1 капля	
Примечание: * Указано количество глаз животных. Эксперимент проводился при закапывании изотонического 0,9% раствора хлорида натрия в противоположный глаз того же животного, которому инстиллируется изучаемый ЛП					

2.4. Метод оценки глубины, длительности и скорости наступления мидриатического эффекта фенилэфрина в зависимости от состава лекарственной формы

Влияние исследуемых лекарственных форм фенилэфрина (не содержащей в своем составе биополимеров, содержащей биополимер гипромеллозу, содержащей биополимер ГК и синтетический полимер ПЭГ) на динамику развития мидриатического эффекта (время начала, время достижения максимальной выраженности, продолжительность максимальной выраженности), глубину и длительность мидриатического эффекта оценивали у бодрствующего фиксированного в специальном холдере половозрелого кролика мужского пола породы «Советская шиншилла» в соответствии с методикой, описанной в [175, 176].

ПРОТОКОЛ ЭКСПЕРИМЕНТА. Бодрствующего половозрелого кролика-самца породы «Советская шиншилла» (масса 2,0–2,5 кг) фиксировали в специальном холдере, размещённом на термостатированной площадке. Однократную инстилляцию одной капли исследуемого препарата проводили в конъюнктивальный мешок случайно выбранного глаза (распределение по принципу случайных чисел). Другой глаз служил контролем: в него одномоментно вводили одну каплю стерильного 0,9% раствора хлорида натрия комнатной температуры. Видеорегистрацию реакции зрачка каждого глаза проводили в затемнённом помещении при искусственном непрямом освещении. Видеокамеру, закреплённую на штативе, устанавливали на расстоянии 20 см от глаза так, чтобы оптическая ось, соединяющая центр глаза и объектива была параллельна горизонтальной плоскости (Рисунок 6).

Предметом регистрации являлись показатели: 1) время начала мидриатического эффекта, 2) время достижения максимальной ширины зрачка, 3) значение максимальной ширины зрачка, 4) длительность максимального мидриатического эффекта.



Рисунок 6 – Способ оценки мидриатического эффекта у лабораторного кролика. Пояснение в тексте

Полученные числовые значения регистрируемых параметров заносили в специально разработанную базу данных исследования, созданную на основе Microsoft Excel.

2.5. Метод оценки местного раздражающего действия фенилэфрина в зависимости от состава лекарственной формы и присутствия в ней полимеров

Наличие у исследуемых лекарственных форм фенилэфрина (не содержащей в своем составе биополимеров, содержащей биополимер гипромеллозу, содержащей биополимер ГК и синтетический полимер ПЭГ) и глубина местного раздражающего действия на роговицу глаза изучили у того же бодрствующего фиксированного в специальном холдере половозрелого кролика мужского пола породы «Советская шиншилла», у которого проводили исследование мидриатического эффекта. Оценка осуществлялась по методу I. Setnikar (1966) [177].

ПРОТОКОЛ ЭКСПЕРИМЕНТА. Бодрствующего половозрелого кролика мужского пола породы «Советская шиншилла» массой 2,0–2,5 кг фиксировали в специальном холдере, который устанавливали на подогреваемую площадку операционного стола ветеринарного. ГЛФ исследуемого ЛП вводилась однократно в конъюнктивальный мешок в объеме 1 капли в выбранный случайным образом глаз животного; второй глаз служил в качестве контроля – в его конъюнктивальный мешок одновременно с ЛП вводится стерильный изотонический 0,9% раствор хлорида натрия комнатной температуры в объеме 1 капли.

Реакцию на инстилляцию оценивали визуально и с использованием операционного микроскопа Zeiss Pico (Carl Zeiss, Германия) (Рисунок 7) по следующим параметрам: смыкание век, слезотечение (лакримация), наличие

выделений, отек век, конъюнктивы, мигательной перепонки. Оценка проводилась по балльной шкале (критерии приведены в Таблице 6).

Таблица 6 – Интенсивность местной раздражающей реакции глаза кролика в баллах

Интенсивность реакции	Оценка в баллах	Раздражающий эффект
Нет реакции	0	Отсутствует
Слабая реакция (смыкание век)	2	Слабый
Выраженная реакция (лакримация)	4	Умеренный
Наличие выделений	6	Выраженный
Отек век, конъюнктивы, мигательной перепонки	8	Сильно выраженный

2.6. Метод определения концентрации фенилэфрина во влаге передней камеры глаза кролика. Описание аналитического метода

Концентрацию действующего вещества исследуемых лекарственных форм фенилэфрина (не содержащей в своем составе биополимеров, содержащей биополимер гипромеллозу, содержащей биополимер ГК и синтетический полимер ПЭГ), определяли в образце влаги передней камеры глаза в точке 5 мин после однократного введения 1 капли готовой лекарственной формы в конъюнктивальный мешок животного. Забор образца водянистой влаги проводили у наркотизированного изофлураном фиксированного в специальном холдере половозрелого кролика-самца породы «Советская шиншилла».

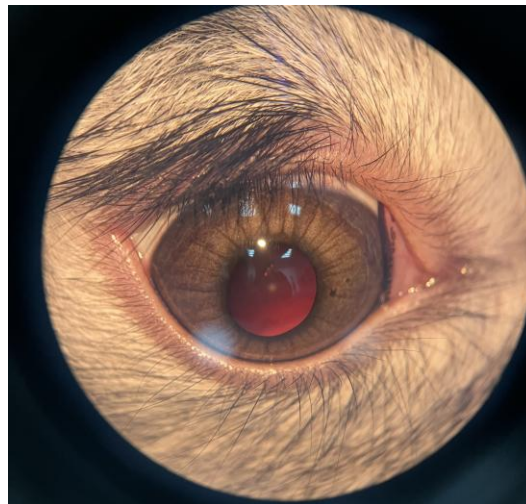
ПРОТОКОЛ ЭКСПЕРИМЕНТА. Половозрелого кролика-самца породы «Советская шиншилла» массой 2,0–2,5 кг анестезировали изофлураном с помощью наркотической приставки RWD (США) к аппарату искусственной вентиляции легких ИВЛ для кроликов производства Ugo Basile (Италия).



А



Б



В

Рисунок 7 – Метод определения местного раздражающего действия: А и Б – операционный микроскоп Zeiss Pico (Германия) (вид сбоку и снизу соответственно); В – снимок глаза кролика в операционном микроскопе

Животное фиксировали в положении на спине на подогреваемую площадку операционного стола ветеринарного с помощью специальных резиновых держателей за лапы. В случайно выбранный глаз однократно инстиллировали одну каплю исследуемой ГЛФ, а в контрольный глаз – одну каплю стерильного изотонического раствора хлорида натрия комнатной температуры. В точке 5 мин

производили пункцию передней камеры обоих глаз стерильной иглой G24 (на 1 мм выше склеро-конъюнктивальной границы) одновременно двумя экспериментаторами и забирали 0,25 мл жидкости с помощью электронной программируемой инъекционной помпы Genie Touch (Kent Scientific Corp., США). Через тот же микроинъектор в переднюю камеру вводили эквивалентный объем (0,25 мл) стерильного изотонического раствора хлорида натрия (температура 37 °С, рН 7,4, доводимого до нужного значения фосфатным буфером). До выхода из состояния наркоза у лабораторного животного проводили энуклеацию обоих глаз для проведения последующего патоморфологического исследования. Животное выводили из эксперимента под непрерывной ингаляционной анестезией.

2.6.1. Описание аналитического метода определения фенилэфрина

Количественное определение действующего вещества проводилось методом ВЭЖХ с тандемным масс-спектрометрическим детектированием по методу [178] в собственной модификации.

Подготовка калибровочных стандартов и внутренних контролей качества

Стоковые растворы фенилэфрина с концентрацией 400 мкг/мл готовили в ацетонитриле. Данные растворы готовили в двух независимых партиях и хранили при температуре $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$: одна из них использовалась для приготовления калибровочных стандартов, другая – для приготовления внутренних контролей качества анализа. Растворы с известным количеством веществ для калибровочных образцов и внутренних образцов контроля качества анализа готовили из двух наборов рабочих растворов, сделанных в смеси ацетонитрил – вода (50:50, объемные доли) с концентрациями 400 мкг/мл и 500 мкг/мл для фенилэфрина. Все стоковые растворы хранили при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ в отсутствие света.

В день проведения анализа калибровочные стандарты и внутренние контроли качества готовили путем разведения соответствующих рабочих растворов во влаге

передней камеры, забранной у контрольных животных, которым в конъюнктивальный мешок закапывали стерильный изотонический 0,9% раствор хлорида натрия. В результате полученные калибровочные стандарты имели финальные концентрации в 10, 20, 100, 200, 500, 1000, 2000 и 5000 пг/мл для фенилэфрина. Образцы для внутренних контролей качества анализа готовили в низкой, средней и высоких концентрациях: 25, 200 и 4000 пг/мл для фенилэфрина.

Пробоподготовка

К 250 мкл образцов влаги передней камеры, отобранной у животных контрольной группы (получавших стерильный изотонический раствор натрия хлорида), а также к калибровочным стандартам и контрольным образцам для оценки качества анализа, добавляли 50 мкл рабочего раствора внутреннего стандарта – фенилэфрина в концентрации 1 нг/мл. Смесь тщательно перемешивали на вортексе в течение 5 секунд. Для разделения белковой фазы и осаждения белков к пробе добавляли 600 мкл раствора, представляющего собой смесь ацетонитрила и 1% раствора муравьиной кислоты в соотношении (99:1 объёмные доли). После повторного перемешивания на вортексе образцы центрифугировали при 13 000 g в течение 10 минут для отделения белкового осадка. Полученный супернатант аккуратно переносили в чистые пробирки объёмом 1,5 мл, где его упаривали до сухого остатка в потоке азота при контролируемой температуре 45 °С. Далее проводили реконституцию высушенного экстракта, добавляя 1 мл реконституционного раствора – смеси воды и ацетонитрила (50:50, по объёму), подкисленной 1% объёмной муравьиной кислотой. После откручивания на вортексе и повторного центрифугирования (13 000 g, 10 минут) полные объёмы образцов переносили в вials для ВЭЖХ-МС/МС, 100 мкл образца переносили для инъекции в хроматографическую систему. Манипуляции по смешиванию внутреннего стандарта и биологических образцов проводили на льду.

Анализ

Анализ образцов проводили на хромато-масс-спектрометрической системе Shimadzu LCMS-8030, оснащённой автосэмплером SIL-20А, насосом LC20-AD и термостатом СТО-20А. Разделение фенилэфрина и внутреннего стандарта выполняли на колонке Phenomenex Luna C18(2) (150 × 4,6 мм, размер частиц 1,7 мкм, 100 Å) с предколонкой с аналогичными характеристиками. Колонку термостатировали при 35 °С. Для разделения используют двухфазный градиент: раствор А (0,1% раствор муравьиной кислоты в воде), раствор Б (0,1% раствор муравьиной кислоты в ацетонитриле). Для промывки автосэмплера после каждой инъекции используют раствор метанол–вода (1:1, объемные доли). Подвижную фазу подают в систему со скоростью 400 мкл/мин, объем закола образца составляет 7,5 мкл, общее время анализа одного образца – 2 мин.

Далее образцы подвергаются масс-спектрометрическому анализу со следующими параметрами:

- Метод ионизации: ESI, положительный заряд электроспрея
- Напряжение спрея: 4500 В
- Температура трубки переноса ионов: 550 °С
- Температура испарителя: 300 °С
- Плазмообразующий и вспомогательный газ: азот
- Пробоподающий газ: азот, давление 1 мторр
- Метод обнаружения событий: MRM

Калибровочные кривые, используемые в данном методе, позволяют определять концентрации исследуемого вещества в пределах свыше 1 пг/мл.

2.7. Методы патоморфологического исследования тканей глаза

Сразу же после энуклеации глаз лабораторного животного помещали в прохладный стерильный 0,9% физиологический раствор хлорида натрия, проводили его рассечение в сагиттальной плоскости, после чего иссекали роговицу, склеру, фиксировали их в забуференном 10% растворе формальдегида. Гистологическую проводку тканей и приготовление стеклопрепаратов осуществляли в автоматическом режиме. Срезы толщиной 4 мкм окрашивали гематоксилином и эозином и просматривали на световом микроскопе Olympus, снабженном фото- и видеокамерой (Япония).

2.8. Методы статистического анализа результатов диссертационного исследования

С целью проведения статистической сводки, группировки, обработки и математического анализа полученных в исследовании экспериментальных результатов использовали современные валидные методы статистического анализа [179], рекомендованные для описания и оценки результатов доклинических исследований лекарственных средств. При сравнении количественных признаков проводили дисперсионный анализ для оценки нормальности распределения с последующим использованием ANOVA и применением функциональные возможности критериев оценки множественных сравнений Ньюмена–Кейлса. При ненормальном распределении вариант в совокупности применяли *U*-критерий Манна–Уитни при 5% уровне значимости. В расчетно-аналитическом разделе работы применяли персональный компьютер iMac (Apple Co., США) с лицензионным интерфейсом и стандартным пакетом программ по статистике BioStat и SPSS (версия 16.0) [186].

ГЛАВА 3. СОБСТВЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

3.1. Особенности мидриатического эффекта фенилэфрина в присутствии в составе лекарственной формы полимера

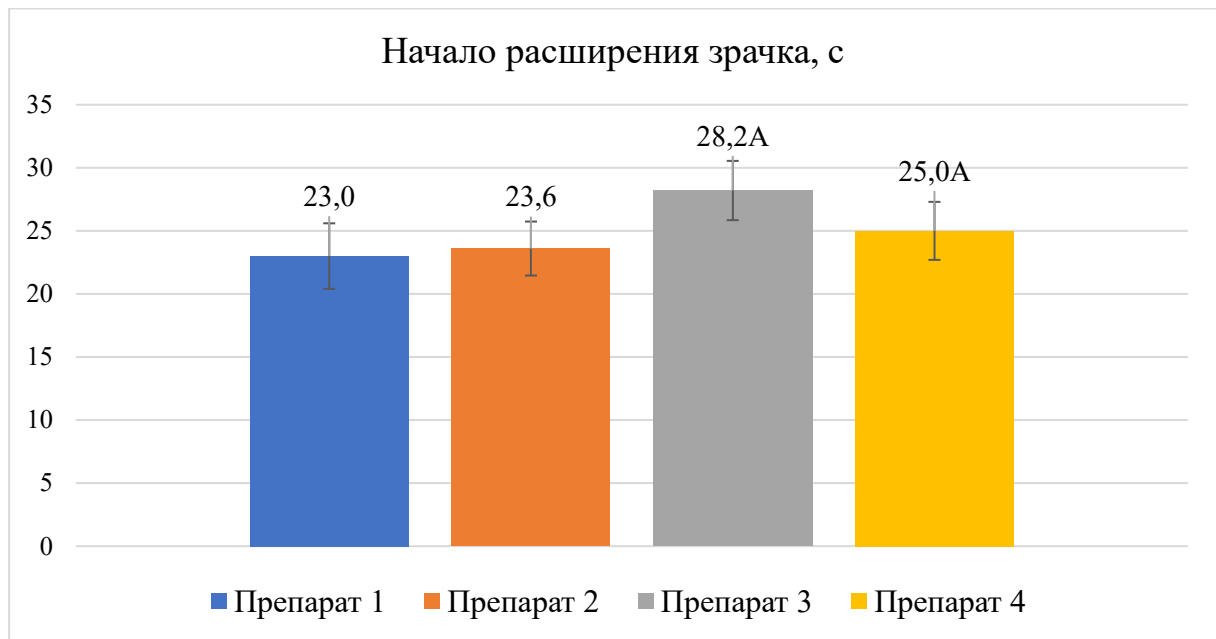
В последнее время все больше ученых сходятся во мнении о необходимости включения природных и синтетических полимеров в состав глазных капель как для повышения проницаемости действующих веществ внутрь глаза, так и для увеличения времени присутствия лекарства в средах глаза. Одним из таких направлений является создание полимерных наноносителей с высокой мукоадгезивностью. Такие носители легко проникают внутрь слизистой оболочки глаза, из которой впоследствии постепенно происходит высвобождение действующего вещества.

Нами изучены особенности мидриатического эффекта четырех исследуемых лекарственных форм фенилэфрина (не содержащей в своем составе биополимеров; двух форм, содержащих биополимер гипромеллозу, и одной формы, содержащей биополимер ГК и синтетический полимер ПЭГ) [180, 181].

Изучено также влияние однократной инстилляцией 1 капли ГЛФ ЛП «Препарат 1» и «Препарат 2» и отобранных аналогов «Препарат 3», и «Препарат 4» на динамику развития мидриатического эффекта (время начала, время достижения максимальной выраженности, продолжительность максимальной выраженности), глубину и длительность мидриатического эффекта у лабораторного животного (кролика). Результаты представлены на Рисунках 8–11.

На фоне инстилляцией 1 капли ГЛФ «Препарат 1», содержащей полимер гипромеллозу и консервант, время начала расширения зрачка составляло $23,0 \pm 2,6$ с; максимальная ширина зрачка достигала $252,00 \pm 13,56\%$ к контрольным значениям, время достижения максимальной ширины зрачка равнялось в среднем $12,8 \pm 1,6$

мин, в то время как длительность максимального мидриаза была равна $39,00 \pm 1,59$ мин.

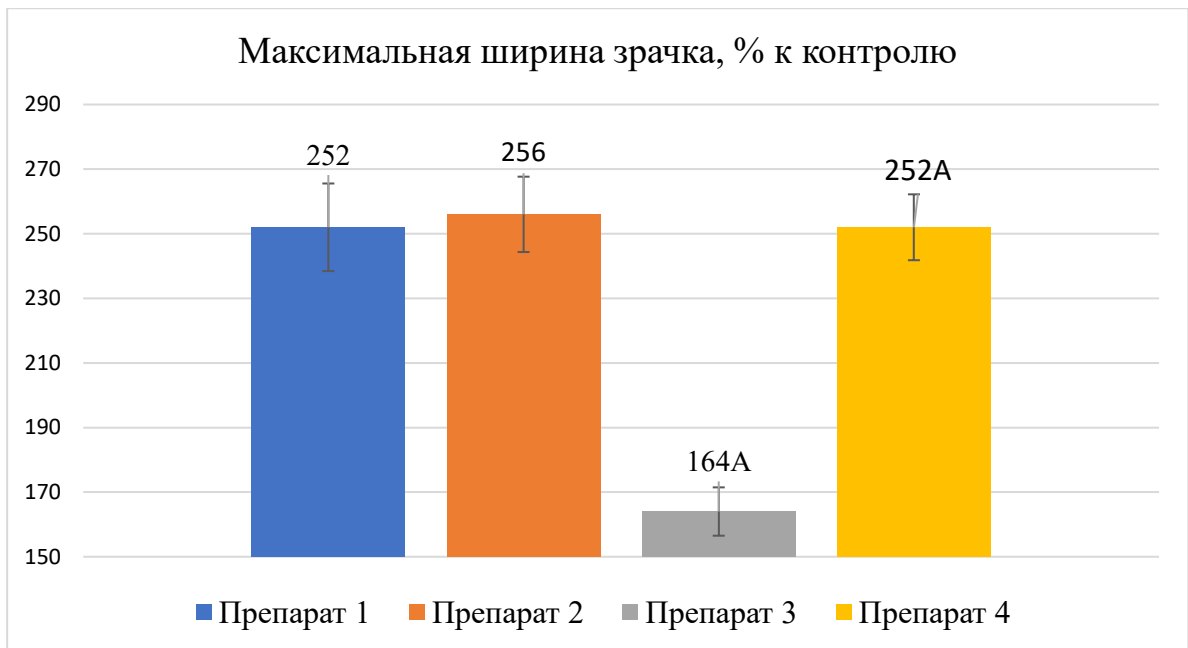


Примечание: ^A – различия при сравнении с «Препарат 1» и «Препарат 2» статистически значимы при $p < 0,05$ (ANOVA, критерий Ньюмена–Кейлса)

Рисунок 8 – Время начала расширения зрачка (в с) на фоне инстилляции 1 капли исследуемых ГЛФ (данные представлены в виде $M \pm SD$)

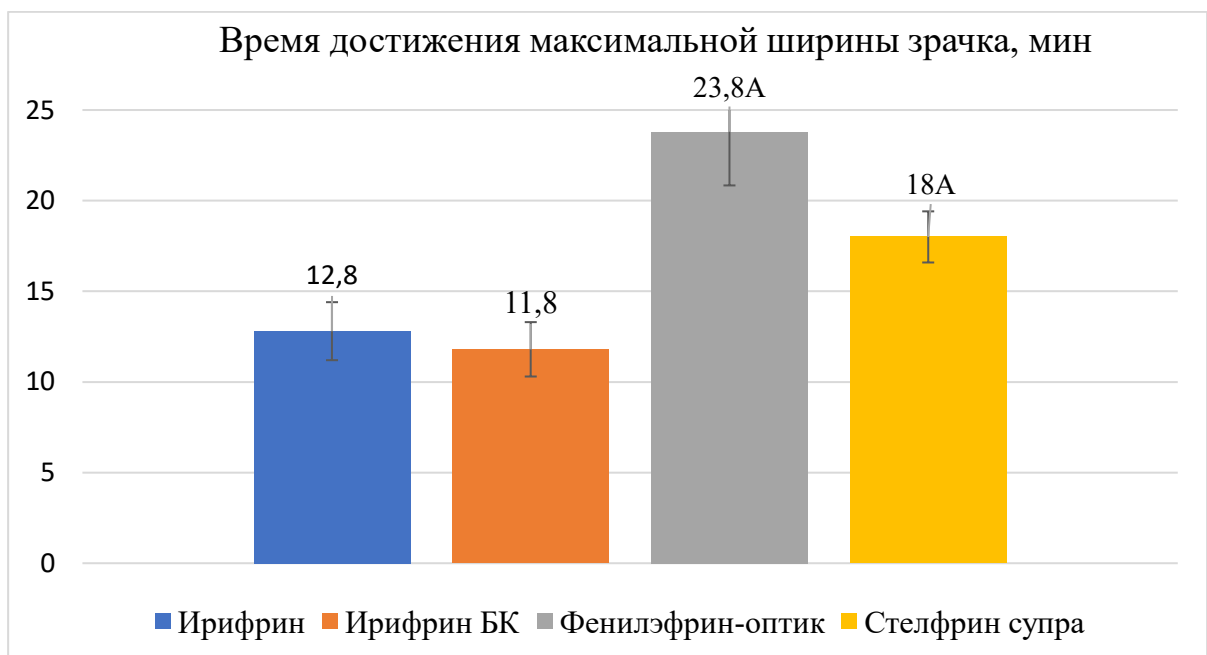
Введение в конъюнктивальный мешок глаза кролика 1 капли ГЛФ «Препарат 2», содержащей полимер гипромеллозу и не содержащей консервант, сопровождалось схожими по кинетике мидриаза эффектами: время начала расширения зрачка составляло $23,60 \pm 2,14$ с; максимальная ширина зрачка достигала $256,00 \pm 11,66\%$ по отношению к контрольным значениям; время достижения максимальной ширины зрачка равнялось в среднем $11,8 \pm 1,5$ мин, тогда как длительность максимального мидриаза была равна $38,00 \pm 1,58$ мин.

Фармакодинамика ГЛФ «Препарат 3» – ГЛФ фенилэфрина, не содержащая полимерных конституенсов, – значительно отличалась по своим параметрам от ГЛФ фенилэфрина, содержащих природный полимер гипромеллозу («Препарат 1» и «Препарат 2»).



Примечание: ^A – различия при сравнении с «Препарат 1» и «Препарат 2» статистически значимы при $p < 0,05$ (ANOVA, критерий Ньюмена–Кейлса)

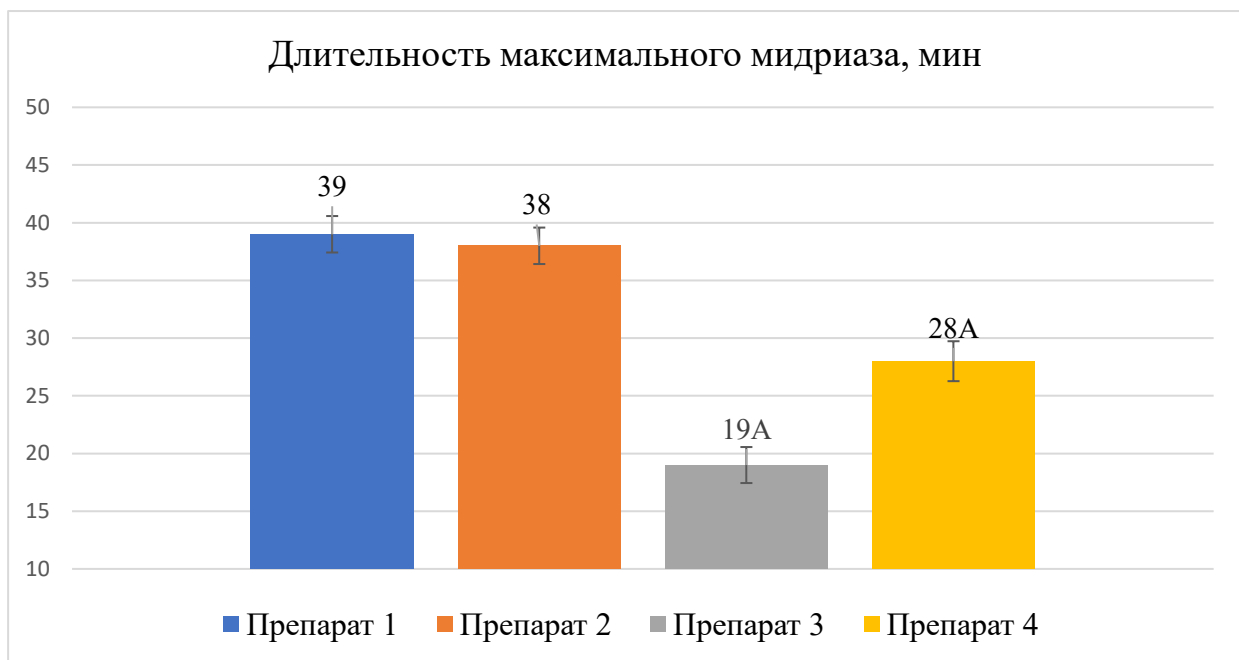
Рисунок 9 – Максимальная ширина зрачка (в % к контрольным значениям) на фоне инстилляций 1 капли исследуемых ГЛФ (данные представлены в виде $M \pm SD$)



Примечание: ^A – различия при сравнении с ГЛФ «Препарат 1» и «Препарат 2» статистически значимы при $p < 0,05$ (ANOVA, критерий Ньюмена–Кейлса)

Рисунок 10 – Время достижения максимальной ширины зрачка (в мин) на фоне инстилляций 1 капли исследуемых ГЛФ фенилэфрина, содержащих природный полимер гипромеллозу («Препарат 1» и «Препарат 2») (данные представлены в виде $M \pm SD$)

Так, время начала расширения зрачка составляло $28,6 \pm 2,25$ с; максимальная ширина зрачка достигала лишь $16,40 \pm 7,48\%$ к контрольным значениям ($p < 0,05$ при сравнении с ГЛФ «Препарат 1» и «Препарат 2»), время достижения максимальной ширины зрачка равнялось в среднем $23,80 \pm 2,96$ мин ($p < 0,05$ при сравнении с ГЛФ «Препарат 1» и «Препарат 2»), а длительность максимального мидриаза составляла только $19,20 \pm 1,56$ мин ($p < 0,05$ при сравнении с ГЛФ «Препарат 1» и «Препарат 2»).



Примечание: ^A – различия при сравнении с «Препарат 1» и «Препарат 2» статистически значимы при $p < 0,05$ (ANOVA, критерий Ньюмена–Кейлса)

Рисунок 11 – Длительность максимального расширения зрачка глаза кролика (в мин) на фоне инстилляций 1 капли исследуемых ГЛФ (данные представлены в виде $M \pm SD$)

ГЛФ «Препарат 4» – лекарственная форма фенилэфрина с ГК и ПЭГ – продемонстрировала следующие эффекты при инстилляциях 1 капли в конъюнктивальный мешок глаза кролика: время начала расширения зрачка составляло $25,0 \pm 2,3$ с; максимальная ширина зрачка достигала лишь $252,0 \pm 10,2\%$ по отношению к контрольным значениям, время достижения максимальной ширины зрачка равнялось в среднем $18,00 \pm 1,41$ мин ($p < 0,05$ при сравнении с ГЛФ

«Препарат 1» и «Препарат 2»), а длительность максимального мидриаза составляла только $28,00 \pm 1,73$ мин ($p < 0,05$ при сравнении с ГЛФ «Препарат 1» и «Препарат 2»).

Следовательно, однократная инстилляция 1 капли 2,5% раствора фенилэфрина гидрохлорида, содержащего гипромеллозу в качестве вспомогательного вещества (ГЛФ «Препарат 1» и «Препарат 2»), превосходит по глубине мидриатического эффекта ГЛФ «Препарат 3», не содержащую гипромеллозу в качестве вспомогательного вещества, а по скорости достижения максимального мидриатического действия и его длительности – ГЛФ «Препарат 3» и ГЛФ «Препарат 4», содержащую ГК и ПЭГ в качестве вспомогательных полимерных соединений.

3.2. Особенности внутриглазной кинетики фенилэфрина при однократном закапывании в зависимости от состава лекарственной формы

Изучено влияние однократной инстилляцией 1 капли ГЛФ лекарственных препаратов «Препарат 1» и «Препарат 2» и отобранных аналогов «Препарат 3» и «Препарат 4» на уровень пиковой концентрации фенилэфрина гидрохлорида во влаге передней камеры глаза кролика в точке 5 мин. Результаты представлены на Рисунках 12–17.

Количественное определение действующего вещества проводится методом ВЭЖХ с тандемным масс-спектрометрическим детектированием по методу, описанному S. Pandey и соавт. [178], в собственной модификации [182, 183].

Хроматографическое разделение анализируемого вещества (фенилэфрин гидрохлорид) и внутреннего стандарта осуществляли с использованием хроматографической колонки Phenomenex Luna C18 (100 А 150 × 4,6 мм; размер частиц 1,7 мкм) с предколонкой, имеющей те же параметры. Колонку термостатировали при 35 °С. Для разделения использовали двухфазный градиент: раствор А (0,1% раствор муравьиной кислоты в воде), раствор Б (0,1% раствор

муравьиной кислоты в ацетонитриле). Для промывки автосэмплера после каждой инъекции используют раствор метанол–вода (1:1, объемные доли). Подвижную фазу подавали в систему со скоростью 400 мкл/мин; объем закола образца составляет 7,5 мкл, общее время анализа одного образца – 2 мин.

На Рисунке 12 представлена калибровочная кривая, построенная при воспроизведении метода с использованием внутреннего стандарта (фенилэфрина). Как отмечается, сохраняется четкая линейная закономерность.

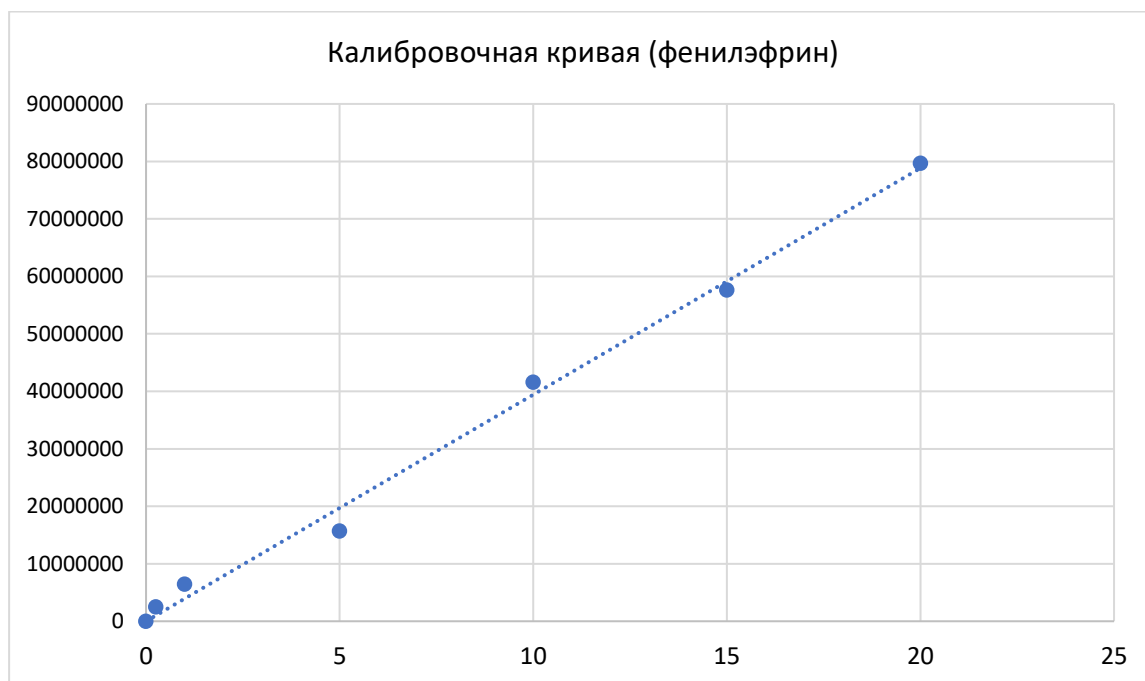


Рисунок 12 – Калибровочная кривая масс-спектрометрической детекции фенилэфрина гидрохлорида

В точке 5 мин после закапывания 1 капли растворов исследуемых веществ во влаге передней камеры установлены следующие концентрации действующего вещества: после инстилляций 1 капли ГЛФ «Препарат 1», содержащей 2,5% раствор фенилэфрина в присутствии гипромеллозы, – $445,19 \pm 12,13$ мкг/мл, ГЛФ «Препарат 2», содержащей 2,5% раствор фенилэфрина в присутствии гипромеллозы и консерванта, – $500,80 \pm 8,56$ мкг/мл, «Препарат 3», содержащей 2,5% раствор фенилэфрина в присутствии природного полимера ГК и синтетического полимера ПЭГ, – $389,00 \pm 8,75$ мкг/мл, ГЛФ «Препарат 4», содержащей 2,5% раствор

фенилэфрина в отсутствие каких-либо полимерных конституенсов, – $345,78 \pm 13,95$ мкг/мл.

На Рисунках 13–17 представлены пики концентрации хроматограммы фенилэфрина во влаге передней камеры глаза кролика через 5 мин после закапывания.

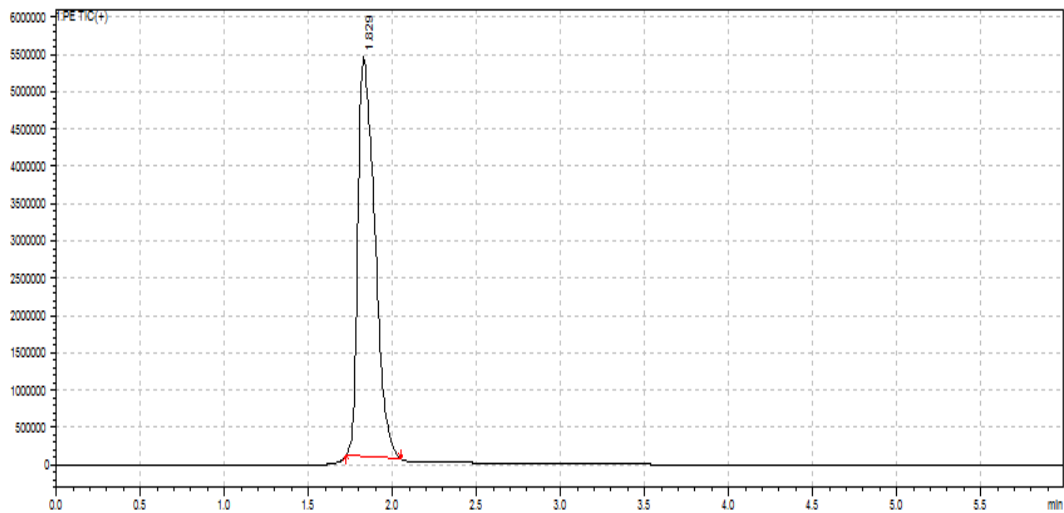


Рисунок 13 – Хроматограмма пиков фенилэфрина гидрохлорида во влаге передней камеры глаза кролика после однократной инстилляции 1 капли ГЛФ «Препарат 1», содержащей 2,5% раствор фенилэфрина в присутствии гипромеллозы

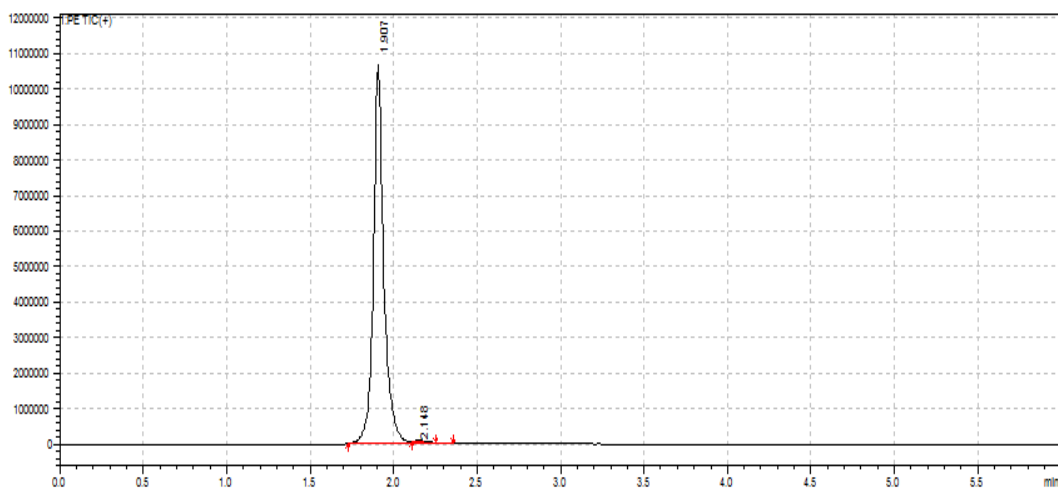


Рисунок 14 – Хроматограмма пиков фенилэфрина гидрохлорида во влаге передней камеры глаза кролика после однократной инстилляции 1 капли ГЛФ «Препарат 2», содержащей 2,5% раствор фенилэфрина в присутствии гипромеллозы и консерванта

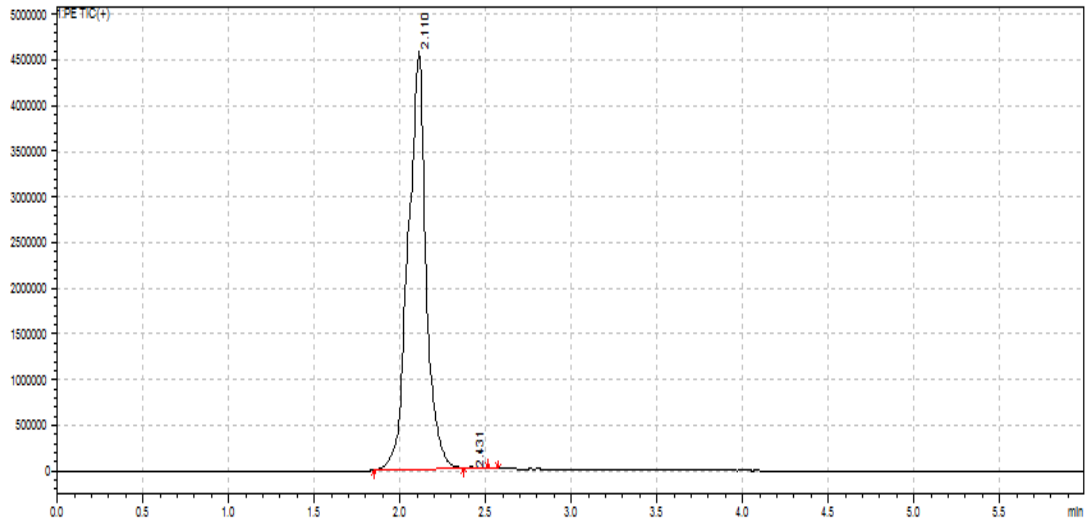


Рисунок 15 – Хроматограмма пиков фенилэфрина гидрохлорида во влаге передней камеры глаза кролика после однократной инстилляции 1 капли ГЛФ «Препарат 3», содержащей 2,5% раствор фенилэфрина в присутствии гиалуроновой кислоты и полиэтиленгликоля

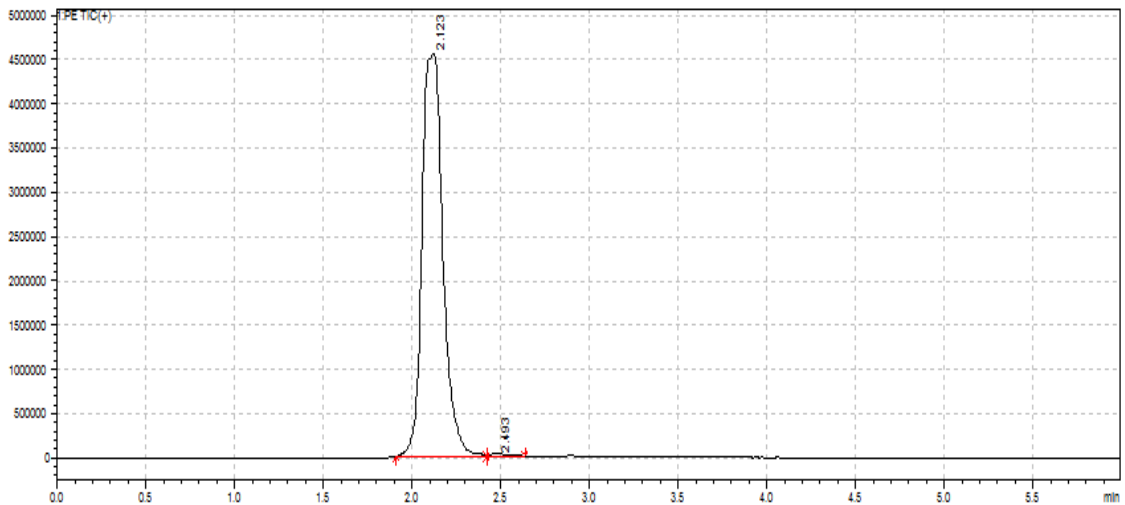
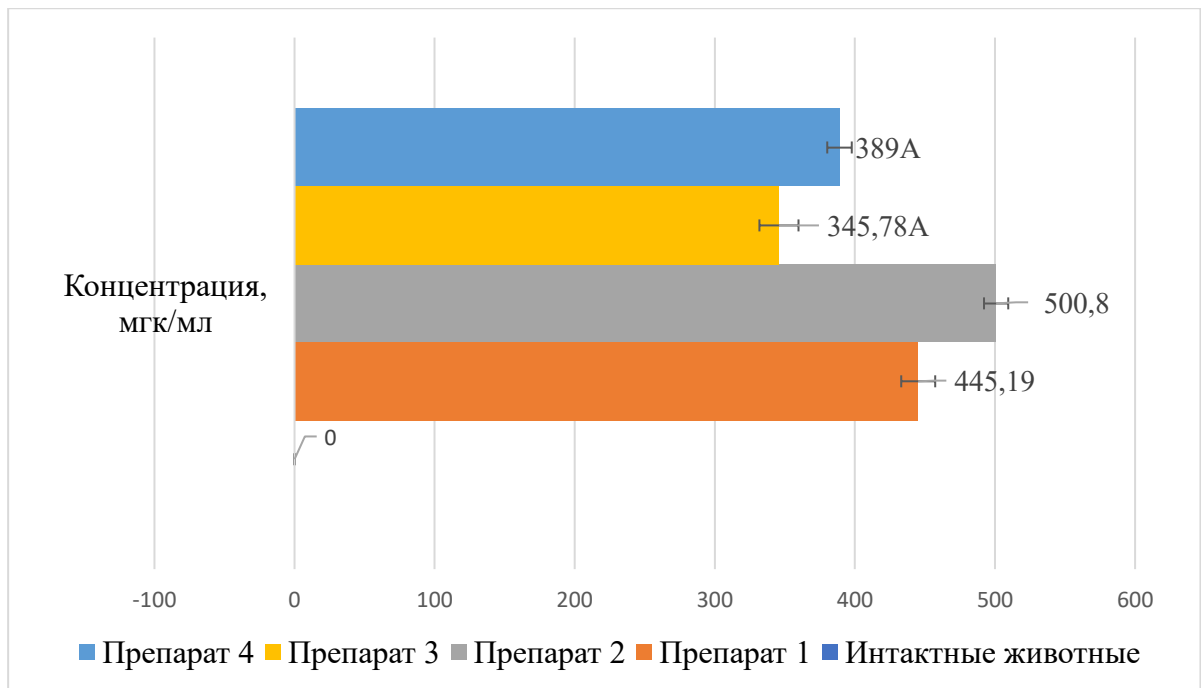


Рисунок 16 – Хроматограмма пиков концентрации фенилэфрина гидрохлорида во влаге передней камеры глаза кролика после однократной инстилляции 1 капли ГЛФ «Препарат 4», содержащей 2,5% раствор фенилэфрина в отсутствии полимерных конституентов



Примечание: ^A – различия при сравнении с животными, получающими ГЛФ «Препарат 1» и «Препарат 2» статистически значимы при $p < 0,05$ (ANOVA, критерий Ньюмена–Кейлса)

Рисунок 17 – Пиковая концентрация фенилэфрина гидрохлорида во влаге передней камеры глаза кролика в точке 5 мин (данные представлены в виде $M \pm SD$)

Таким образом, пики концентрации фенилэфрина в водянистой влаге передней камеры глаза через 5 мин после инстилляцией 1 капли ГЛФ «Препарат 1» и «Препарат 2» статистически значимо выше, чем после закапывания сопоставимого объема ГЛФ «Препарат 4» и ГЛФ «Препарат 3», что может свидетельствовать о том, что гипромеллоза повышает проницаемость роговицы для фенилэфрина гидрохлорида при однократной инстилляцией глазных капель.

3.3. Местнораздражающее действие различных лекарственных форм фенилэфрина и патоморфологическое состояние глаза при их однократном применении

Наличие и глубина местного раздражающего действия на роговицу глаза исследуемых лекарственных форм фенилэфрина (не содержащей в своем составе биополимеров, содержащей биополимер гипромеллозу, содержащей биополимер ГК и синтетический полимер ПЭГ) изучены у того же бодрствующего фиксированного в специальном холдере половозрелого кролика-самца породы «Советская шиншилла», в отношении которого проводили исследование мидриатического эффекта. Оценка осуществлялась по методу I. Setnikar (1966) [177].

3.3.1. Результаты определения наличия и глубины местного раздражающего действия на роговицу глаза кролика препаратов, содержащих фенилэфрин в виде 2,5% глазных капель

Изучено влияние однократной инстилляцией 1 капли ГЛФ лекарственных препаратов «Препарат 1» и «Препарат 2», содержащих помимо 2,5% действующего вещества природный полимер гипромеллозу, и отобранных аналогов «Препарат 3», 2,5% раствора фенилэфрина, не содержащего в своем составе полимерных веществ, и «Препарат 4», содержащего 2,5% раствор фенилэфрина с дообвлением природного полимера ГК и синтетического полимера ПЭГ на глубину местного раздражающего действия в баллах. При этом использовалась следующая градация: 0 баллов – отсутствие реакции, 2 балла – слабая реакция в виде смыкания век, 4 балла – умеренная реакция в виде лакримации, 6 баллов выраженная реакция в виде выделений, 8 баллов – сильновыраженная реакция в виде отека роговицы, век,

мигательной перепонки [180–182]. Результаты наших наблюдений представлены на Рисунках 18–24.

У животных контрольной серии инстилляцией 1 капли подогретого стерильного изотонического 0,9% раствора хлорида натрия не вызывала местного раздражающего действия (Рисунок 18) [180–182].

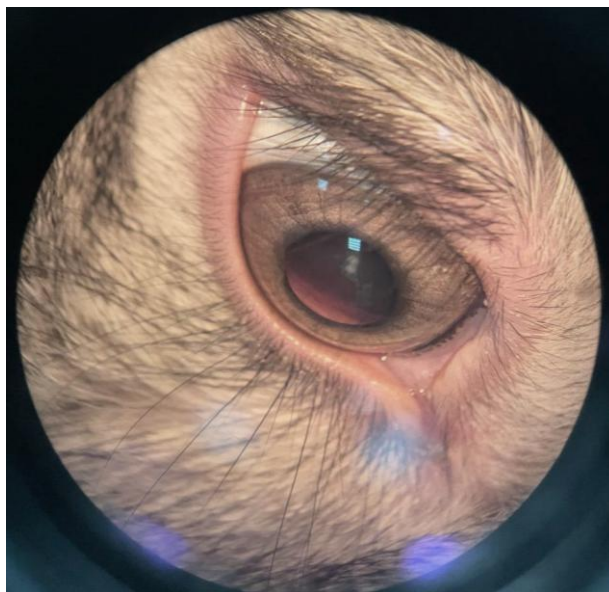


Рисунок 18 – Глаз кролика контрольной серии после инстилляцией 1 капли подогретого стерильного изотонического 0,9% раствора хлорида натрия (операционный микроскоп Zeiss pico (Германия))

На фоне инстилляцией 1 капли ГЛФ «Препарат 1», содержащей 2,5% раствор фенилэфрина гидрохлорида с добавлением биополимера растительного происхождения гипромеллозы, у одного животного наблюдали слабую реакцию в виде смыкания век не более 30 с, у остальных животных местная раздражающая реакция отсутствовала. Средняя сумма в баллах соответствовала $0,4 \pm 0,4$ (отсутствие реакции) (Рисунок 19).

Введение в конъюнктивальный мешок глаза кролика 1 капли ГЛФ «Препарат 2», содержащей 2,5% раствор фенилэфрина гидрохлорида с добавлением биополимера растительного происхождения гипромеллозы без консерванта,

приводило к развитию у двух животных слабой реакции в виде смыкания век длительностью до 30 с, у остальных животных местная раздражающая реакция отсутствовала. Средняя сумма в баллах соответствовала $0,80 \pm 0,49$ (отсутствие реакции) (Рисунок 20).



Рисунок 19 – Глаз кролика контрольной серии после инстилляцией 1 капли ГЛФ «Препарат 1» (операционный микроскоп Zeiss pico (Германия))

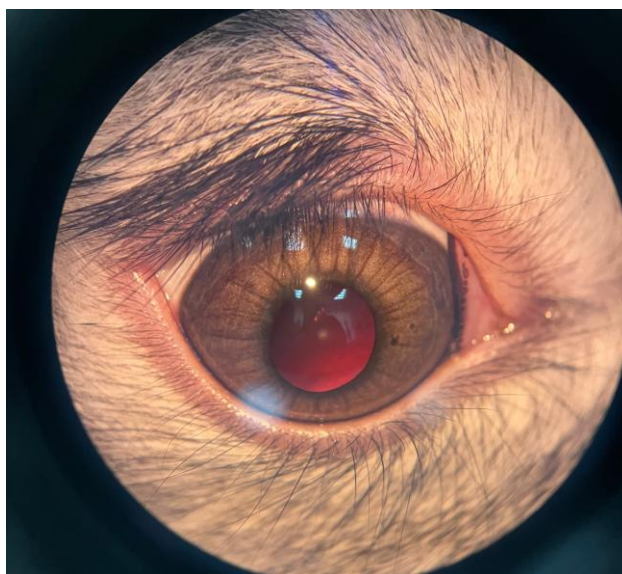


Рисунок 20 – Глаз кролика после инстилляцией 1 капли ГЛФ «Препарат 2» (операционный микроскоп Zeiss pico (Германия))

Введение ГЛФ «Препарат 3», содержащей 2,5% раствор фенилэфрина гидрохлорида и не содержащей природных и синтетических полимерных веществ в качестве конституенса, приводило к формированию заметной местной раздражающей реакции, проявлявшейся в виде смыкания век на время более 30 с, выраженному слезотечению, а у 1 животного – к появлению выделений конъюнктивы. Средняя сумма в баллах соответствовала $4,4 \pm 0,4$ (умеренная реакция) (Рисунок 21).

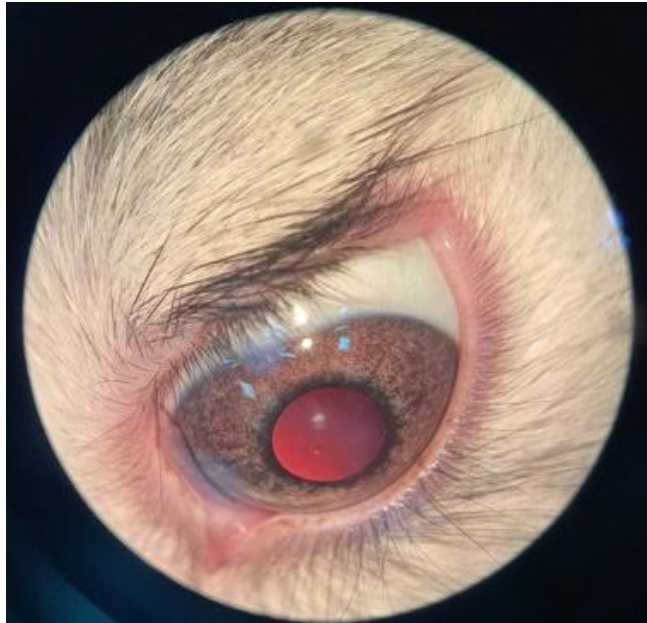


Рисунок 21 – Глаз кролика после инстилляцией 1 капли ГЛФ «Препарат 3» (операционный микроскоп Zeiss pico (Германия))

На фоне инстилляцией 1 капли ГЛФ «Препарат 4», содержащей 2,5% раствор фенилэфрина гидрохлорида с добавлением биополимера животного происхождения ГК и синтетического полимера ПЭГ, у одного животного наблюдали умеренную реакцию в виде слезотечения; у одного животного местная раздражающая реакция отсутствовала, у остальных трех особей в эксперименте наблюдали слабую реакцию в виде смыкания век длительностью не более 30 с и появление выделений конъюнктивы. Средняя сумма в баллах соответствовала $2,0 \pm 0,6$ (слабая реакция) (Рисунок 22).



Рисунок 22 – Глаз кролика после инстилляцией 1 капли ГЛФ «Препарат 4» (операционный микроскоп Zeiss pico (Германия))

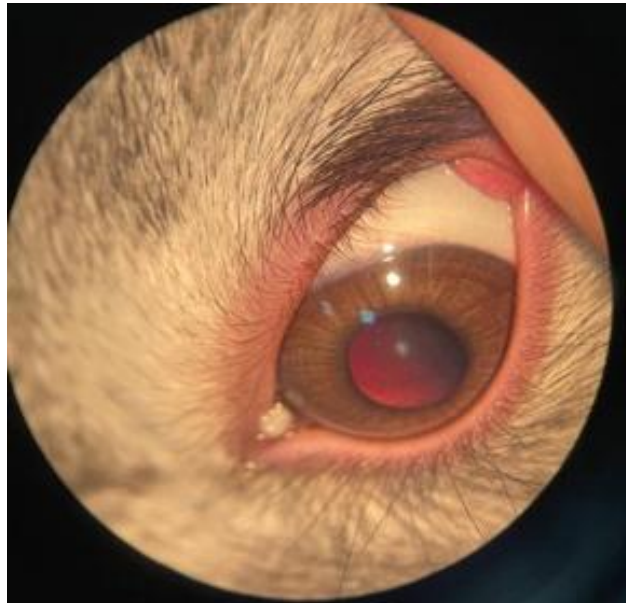
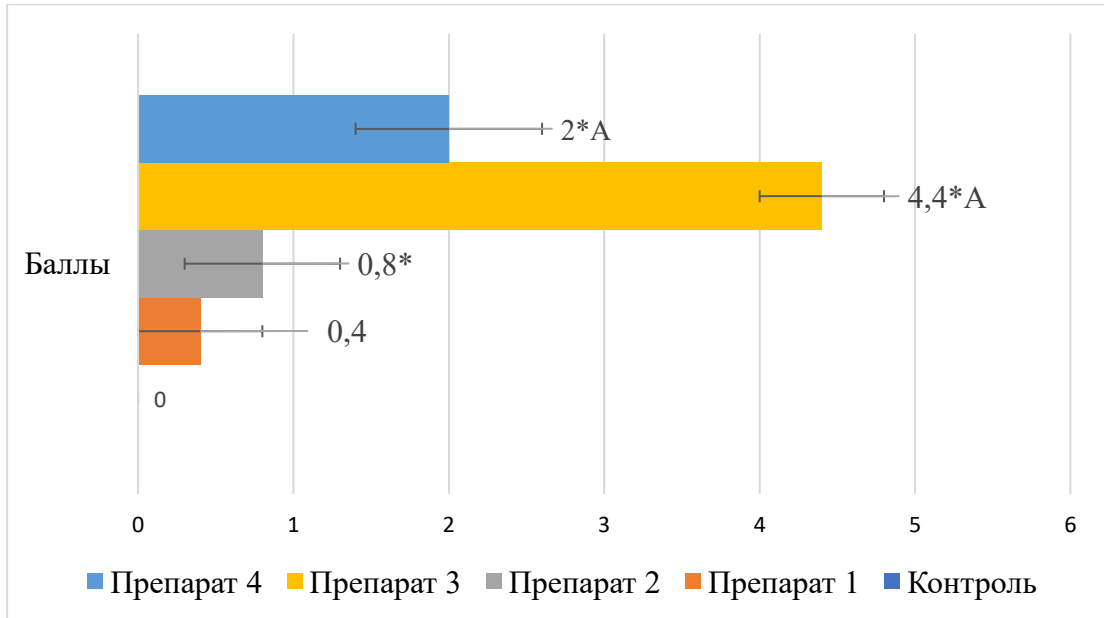


Рисунок 23 – Интактный глаз кролика (операционный микроскоп Zeiss pico (Германия))

Таким образом, однократная инстилляцией 1 капли 2,5% раствора фенилэфрина гидрохлорида, содержащего гипромеллозу в качестве вспомогательного вещества (ГЛФ «Препарат 1» и «Препарат 2»), не

сопровождается формированием местной раздражающей реакции на роговицу глаза кролика в отличие от умеренной реакции на фоне инстилляций ГЛФ «Препарат 3» и слабой реакции, вызванной введением ГЛФ «Препарат 1» и «Препарат 2» (содержащих ГК в качестве вспомогательного вещества).



Примечание: * – различия при сравнении с контрольными животными статистически значимы при $p < 0,05$; ^A – различия при сравнении с животными, получающими ГЛФ «Препарат 1» и «Препарат 2» статистически значимы при $p < 0,05$ (ANOVA, критерий Ньюмена–Кейлса)

Рисунок 24 – Характеристика местного раздражающего действия ГЛФ в баллах (данные представлены в виде $M \pm SD$)

3.3.2. Патоморфологическая характеристика переднего отрезка глаза кролика на фоне топического воздействия готовой лекарственной формы фенилэфрина гидрохлорида в зависимости от присутствия полимерных соединений

Проведено патоморфологическое исследование микропрепаратов переднего и заднего отрезков глаза лабораторных кроликов, которым в экспериментальных условиях выполняли однократную инстилляцию 1 капли ГЛФ лекарственных препаратов «Препарат 1» и «Препарат 2», содержащих помимо 2,5% действующего вещества природный полимер гипромеллозу, и отобранных аналогов «Препарат 3», 2,5% раствора фенилэфрина, не содержащего в своем составе полимерных веществ, и «Препарат 4», содержащего 2,5% раствор фенилэфрина с добавлением природного полимера ГК и синтетического полимера ПЭГ [182]. Результаты исследования представлены на Рисунках 25–28.

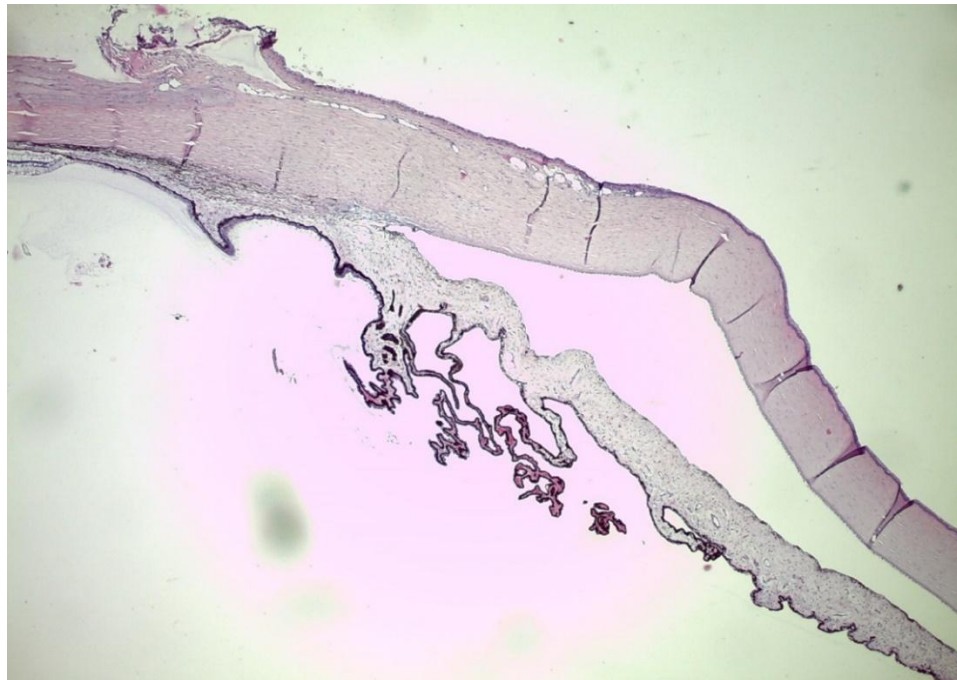


Рисунок 25 – Микропрепарат сагиттального разреза глаза кролика на фоне инстилляцией 1 капли подогретого 0,9% физиологического раствора хлорида натрия. Гематоксилин, эозин, $\times 600$

На препарате видны наружная, средняя и внутренняя оболочки. Наружная оболочка представлена неизмененными склерой и роговицей, средняя – радужной оболочкой глаза также без признаков патологических процессов в ней. Внутренняя оболочка – сетчатка, представленная клетками, принимающими участие в фоторецепции, не имеет визуальных признаков изменений.

При морфологическом исследовании роговиц кроликов после однократной инстилляцией 2,5% раствора фенилэфрина с гипромеллозой структура тканей сохраняла нормальное строение. Наблюдались базальный, шиповатый и поверхностный слои эпителия. Строма была представлена параллельно расположенными роговичными пластинами, основу которых составляли пучки коллагеновых волокон, а десцеметова мембрана визуализировалась как плотная однородная лента без признаков повреждения (Рисунок 26 А). Радужная оболочка и сетчатка имели нормальное строение, без патологических изменений (Рисунок 26 Б).

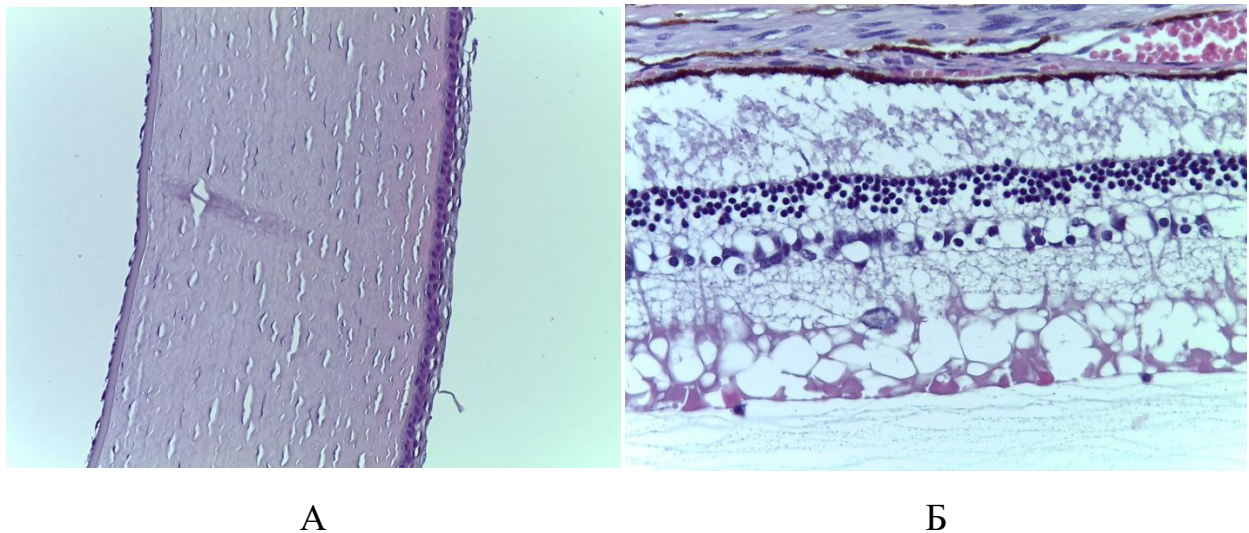
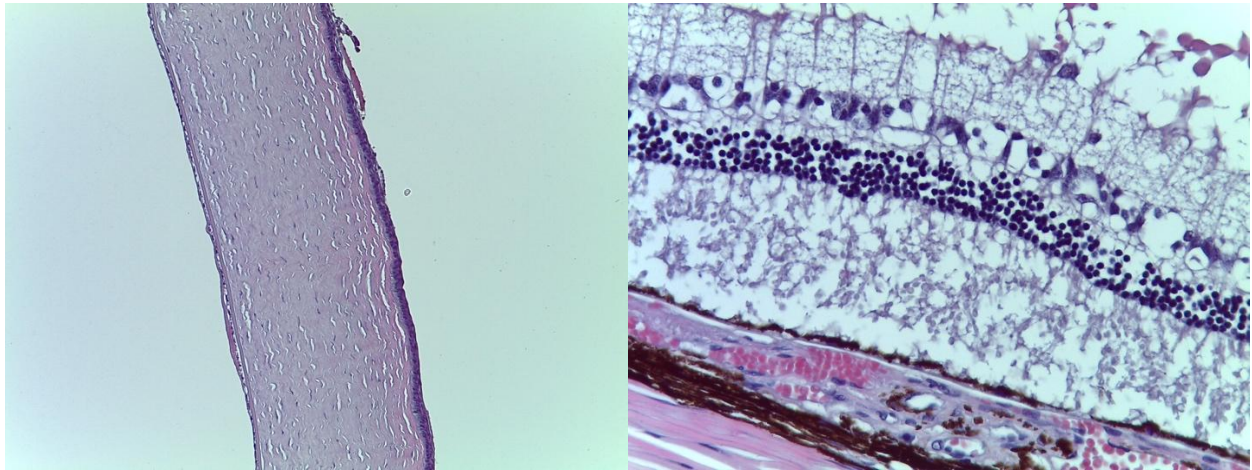


Рисунок 26 – Микропрепарат сагиттального разреза глаза кролика на фоне инстилляцией 1 капли 2,5% фенилэфрина гидрохлорида, содержащего гипромеллозу: А – роговица, Б – сетчатка. Гематоксилин, эозин, $\times 200$

При гистологическом исследовании переднего эпителия роговицы кроликов после инстилляцией фенилэфрина гидрохлорида с гипромеллозой в единичных

клетках наблюдались слабовыраженные дистрофические изменения, характеризовавшиеся просветлением цитоплазмы в околядерных зонах.

Сходная морфологическая картина была отмечена и после однократной инстилляцией 2,5% раствора фенилэфрина гидрохлорида, содержащего в качестве вспомогательных веществ гиалуроновую кислоту (ГК) и полиэтиленгликоль (ПЭГ). (ГЛФ «Препарат 4») (Рисунок 27 А, Б).



А

Б

Рисунок 27 – Микропрепарат сагиттального разреза глаза кролика на фоне инстилляцией 1 капли 2,5% фенилэфрина гидрохлорида, содержащего гиалуроновую кислоту и полиэтиленгликоль: А – роговица, Б – сетчатка. Гематоксилин, эозин, $\times 200$ (А), $\times 400$ (Б)

Строма роговицы глаза кролика состояла из параллельных пластин, образованных пучками коллагеновых волокон. Визуализация десцеметовой мембраны в виде плотной однородной ленты, не была нарушена на всем протяжении микропрепарата; в ее структуре изменений обнаружено не было (Рисунок 27 А). Средняя – радужная – оболочка глаза, а также внутренняя оболочка (сетчатка) имели нормальное строение, без патологических изменений (Рисунок 27 Б). При проведении морфологического анализа в переднем эпителии роговицы глаз кроликов, которым инстиллировали фенилэфрина гидрохлорид с природным полимером гиалуроновой кислотой и синтетическим полимером полиэтиленгликолем, в редких клетках выявились незначительные дистрофические

изменения, характеризующиеся зоной просветления цитоплазмы в перинуклеарной области.

Более глубокие изменения структур, составляющих передний отрезок глаза, были установлены при гистологическом исследовании глаз кроликов, получавших в качестве фармакологического воздействия 2,5% раствор фенилэфрина гидрохлорида без добавления природных и/или синтетических полимерных веществ (Рисунок 28 А, Б).

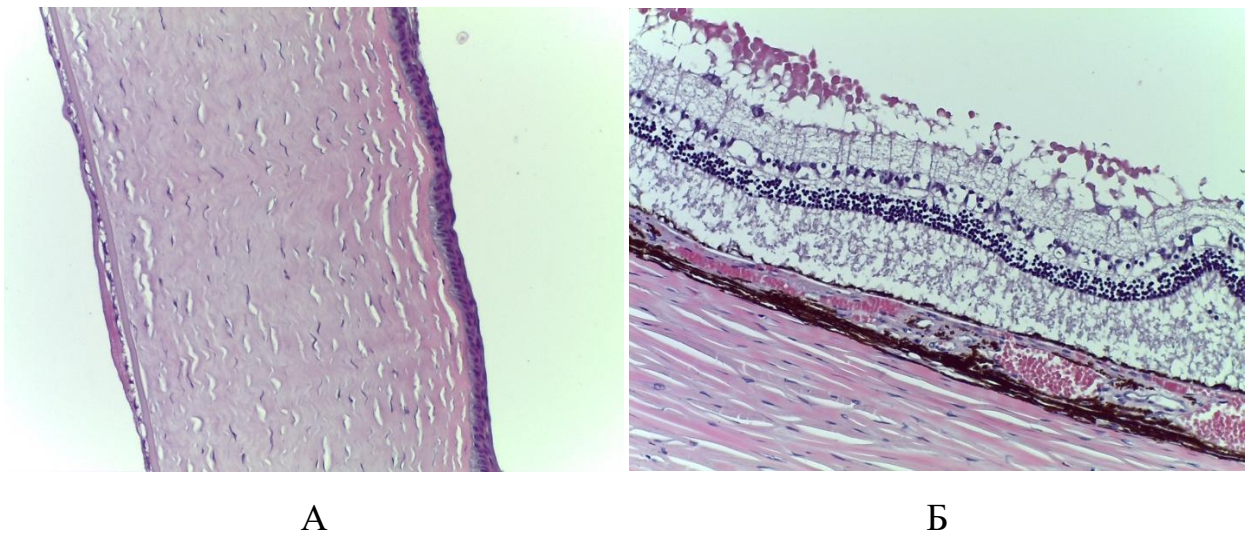


Рисунок 28 – Микропрепарат сагиттального разреза глаза кролика на фоне инстилляций 1 капли 2,5% раствора фенилэфрина гидрохлорида, не содержащего природных и синтетических полимерных веществ в своем составе: А – роговица, Б – сетчатка. Гематоксилин, эозин, $\times 200$ (А), $\times 400$ (Б)

Строма роговицы глаза кролика была неравномерно разрыхлена и утолщена, по своей структуре была представлена параллельно лежащими роговичными пластинами с участками нарушения структурной их организации, в основе которых были отчетливо видны пучки коллагеновых волокон. Визуализация десцеметовой мембраны в виде плотной однородной ленты на отдельных участках не представлялась возможной (Рисунок 28 А). Наблюдали полнокровие сосудов белочной оболочки глаза – склеры с явлениями периваскулярного отека. Средняя – радужная – оболочка глаза, а также внутренняя оболочка (сетчатка) имели нормальное строение, без патологических изменений (Рисунок 28 Б). Применение

фенилэфрина гидрохлорида без добавления полимера приводило к умеренно выраженным дистрофическим изменениям в скоплениях клеток переднего эпителия роговицы, которые проявлялись просветлением и разрежением цитоплазмы в околядерных зонах.

Следовательно, однократная инстилляционная 1 капли ГЛФ лекарственных препаратов «Препарат 1» и «Препарат 2», содержащих помимо 2,5% действующего вещества природный полимер гипромеллозу, и отобранного аналога «Препарата 3», содержащего 2,5% раствор фенилэфрина с добавлением природного полимера гиалуроновой кислоты и синтетического полимера полиэтиленгликоля не сопровождается или сопровождается минимальными местными раздражающими реакциями, макроскопически проявляющимися смыканием век и небольшой дистрофией эпителия роговицы. Топическое применение 2,5% раствора фенилэфрина, не содержащего в своем составе полимерных веществ, приводит к более глубокому местному раздражающему эффекту, выражающемуся в лакримации, инъекции сосудов склеры, умеренных дистрофических изменениях эпителия роговицы, местного разволокнения участков десцеметовой мембраны, периваскулярным отеком склеры.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время для лечения заболеваний глаза в мире и нашей стране разрешен довольно широкий ряд лекарственных средств. Он включает глюкокортикостероиды (гидрокортизон, триамценолон, дексаметазон и др.); противомикробные лекарственные вещества как природного происхождения – антибиотики, так и синтетические (тетрациклины, аминогликозиды и фторхинолоны), вегетотропные лекарственные препараты – миотики, мидриатики, средства, влияющие на аккомодацию (холиноблокаторы, адреномиметики и блокаторы и др.); средства иммунобиологической терапии (ингибиторы факторы роста эндотелия сосудов, ингибиторы факторов системы комплемента). Помимо этого, могут применяться антиоксиданты, поливитаминные препараты, внеклеточные микровезикулы мезенхимальных стволовых клеток, вирусные векторы для генной терапии и др. [33–38].

Топическая доставка действующих лекарственных веществ – одно из наиболее частых требований к глазным лекарственным формам вследствие необходимости преодоления ГОБ. Однако использование обыкновенных глазных капель, субконъюнктивальное и интравитреальное инъекционное введение лекарств сопровождается кратковременным действием и требует частого введения, что отражается как на качестве жизни пациентов, так и на их приверженности к лечению [39].

Все это обусловило появление новых систем доставки действующих веществ лекарственных веществ к внутренним средам и мишеням глаза, при этом в основе таких лекарственных форм лежит применение полимерных биоматериалов и синтетических полимеров, способных преодолевать существующие трудности доставки. По данным исследований, проводимых в настоящее время в мире, применение полимеров способствует как оптимизации локальной фармакокинетики действующего вещества, так и зачастую совершенствованию фармакодинамических свойств лекарственных препаратов [40].

Формирование фармакологического мидриаза является одной из базовых потребностей офтальмологической клиники. Расширение зрачка необходимо в диагностических целях – с целью проведения полноценного исследования глазного дна, для определения истинной рефракции, в предоперационном периоде на органе зрения, для лечения ряда заболеваний глаза. Для этой цели используются различные мидриатики – представители большого класса вегетотропных лекарственных средств – либо блокирующие М-холинорецепторы и нарушающие передачу парасимпатического импульса на мышцу, суживающую зрачок, либо возбуждающие α -адренорецепторы и повышающие адренергические влияния на упомянутую мышцу. Результатом того и другого воздействия является расширение зрачка. Однако помимо самого факта мидриаза для клиницистов чрезвычайно важны такие параметры расширения зрачка, как скорость наступления эффекта, полнота или выраженность расширения зрачка, длительность мидриатического действия лекарственной формы при однократном ее применении.

Традиционно для достижения мидриатического эффекта используются топические жидкие лекарственные формы – глазные капли. Вместе с тем, в ряде клинических наблюдений было показано, что использование капель простого состава сопровождается развитием таких нежелательных явлений как раздражение глаза, его сухость, недостаточный по глубине и продолжительности действия эффект, который, как уже упоминалось, связан с быстрой элиминацией действующих веществ из конъюнктивального мешка в дренажную систему глаза и системный кровоток. Все это потребовало оптимизации лекарственных форм путем введения в состав природных полимеров, в частности гипромеллозы – производного природного полимера растительного происхождения метилцеллюлозы.

Настоящая работа посвящена изучению роли этого полимера в составе жидкой топической лекарственной формы на кинетику и динамику мидриатического эффекта, а также местное влияние на глаз адренопозитивного мидриатика – фенилэфрина.

Нами была сформулирована научная гипотеза диссертационной работы: применение в составе глазных капель фенилэфрина природного полимера гипромеллозы повышает биодоступность действующего вещества, что приводит к повышению глубины и длительности мидриатического эффекта, при этом снижается раздражающее действие фенилэфрина на слизистую оболочку глаза.

Обозначенный научный вопрос потребовал применения особых методологических приемов для обоснования выдвинутой гипотезы. В частности, необходимо было выбрать адекватный вид лабораторных животных, современные и доказательные методы фармакологического исследования. Кроме того, для оценки влияния на глаз лекарственной формы использовали, помимо функциональных, также морфологические методы исследования.

Исследование выполнялось согласно утвержденным теме и аннотации, письменному протоколу, прошедшему рассмотрение и утверждение на заседании Локального этического комитета ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) [186]33, а также стандартным операционным процедурам (СОП) лаборатории кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Определение мидриатического эффекта (скорости наступления максимального расширения зрачка, глубины мидриаза, длительности сохранения максимального эффекта) под действием исследуемых лекарственных форм фенилэфрина гидрохлорида (не содержащей в своем составе биополимеров; содержащей природный полимер гипромеллозу; содержащей биополимеры ГК и ПЭГ) выполнено на половозрелых кроликах мужского пола породы «Советская шиншилла» с исходной массой тела 2,0-2,5 кг при непрерывной видеофиксации реакции и размеров зрачка на инстилляцию 1 капли ГЛФ в конъюнктивальный мешок.

Определение местного раздражающего действия под действием исследуемых лекарственных форм фенилэфрина гидрохлорида (не содержащей в своем составе

биополимеров, содержащей биополимер гипромеллозу, содержащей биополимер ГК и ПЭГ) выполнено на половозрелых кроликах-самцах породы «Советская шиншилла» с исходной массой тела 2,0-2,5 кг проводили методом балльной шкалы по следующим параметрам: смыкание век, слезотечение (лакримация), наличие выделений, отек век, конъюнктивы и реакции мигательной перепонки в ответ на инстилляцию одной капли ГЛФ в конъюнктивальный мешок. На модели половозрелых кроликов-самцов породы «Советская шиншилла» (масса тела 2,0–2,5 кг) с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии, сопряжённой с тандемной масс-спектрометрией, анализировали концентрацию действующего вещества. Сравнивали фармакокинетические профили трёх исследуемых форм фенилэфрина: не содержащую в своем составе биополимеров, содержащей биополимер гипромеллозу и содержащей комплекс ГК и ПЭГ.

Выбор тест-систем осуществлен в соответствии с «Руководством по доклиническому изучению лекарственных средств» [173], с учетом функциональных возможностей для размещения и содержания лабораторных животных в экспериментально-биологической клинике (виварии) ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

В соответствии с протоколом исследования все болезненные процедуры выполняли под общей анестезией [174]; для этих целей применяли ингаляционный изофлурановый наркоз. Выведение из эксперимента также выполняли под общей анестезией.

Объектом исследования являлись ГЛФ двух лекарственных препаратов, содержащих в качестве действующего вещества фенилэфрин, и биополимер гипромеллозу – «Препарат 1» и «Препарат 2». Образцы ГЛФ для проведения исследования были любезно предоставлены компанией-изготовителем. Были получены следующие лекарственные формы: «Препарат 1», капли глазные 2,5% по 5 мл в пластиковом флаконе-капельнице с завинчивающимся колпачком – 1 экземпляр с фирменной упаковке, снабженной инструкцией по медицинскому применению; «Препарат 2», капли глазные 2,5% (без консерванта) по 0,4 мл в одноразовых тубиках-капельницах по 5 тубиков-капельниц в пакете из

ламинированной бумаги – 1 пакет с фирменной картонной упаковке, снабженной инструкцией по медицинскому применению.

В строгом соответствии с планом диссертационной работы для получения достоверных данных, доказывающих научную гипотезу, проведен отбор существующих на российском рынке аналогов – готовых глазных лекарственных форм фенилэфрина в той же действующей концентрации по критерию отсутствия в составе гипромеллозы (в качестве вспомогательного вещества), в частности: «Препарат 3» – не содержащий в качестве вспомогательного вещества гипромеллозу и «Препарат 4» – не содержащий в качестве вспомогательного вещества гипромеллозу, но содержащий в качестве вспомогательного вещества гиалуронат натрия. К таковым с учетом вышеуказанных требований выбраны: Препарат сравнения 1 – «Препарат 3» и Препарат сравнения 2 – «Препарат 4».

Для каждой серии экспериментов (фармакодинамика, оценка местного раздражающего действия, морфологические исследования переднего отрезка глаза, фармакокинетика) формировали отдельные группы кроликов одного пола численностью не менее 5 животных в каждой. Объем выборки является репрезентативным и достаточным для получения статистически достоверных результатов, что подтверждается сложившейся практикой фармакологических исследований. Для минимизации количества подопытных животных эксперимент строился таким образом, что исследуемый лекарственный препарат инстиллировали в один глаз, в то время как в контралатеральный глаз (контроль) вводили одну каплю 0,9% раствора натрия хлорида[186].

Для повышения управляемости высвобождением и действием активных веществ в топических офтальмологических лекарственных формах широко применяются природные биополимеры. К числу таких широко распространённых полимеров относится гипромеллоза (гидроксипропилметилцеллюлоза). Её ключевое преимущество — возможность получения веществ с заданными технологическими свойствами (вязкость, эмульгирующая способность, поверхностное натяжение, адгезия) путём варьирования молекулярной массы в процессе синтеза. Эффективность и безопасность гипромеллозы в офтальмологии

подтверждена исследованиями: показан хороший клинический эффект её комбинации с нафазолином, а также способность её водного раствора ускорять закрытие пункционного отверстия глазного яблока [183].

В ходе исследования установлено, что состав лекарственной формы, а именно наличие в его составе полимерных веществ, существенно влияет на качественные и количественные показатели мидриаза, развивающегося после однократной инстилляцией капли 2,5% раствора фенилэфрина гидрохлорида. Так, если глубина мидриаза не различалась в исследуемых группах, что совершенно закономерно, поскольку концентрация действующего вещества в лекарственной форме была идентична, то такие показатели, как продолжительность мидриатического эффекта существенно варьировала в зависимости от состава глазной лекарственной формы (ГЛФ). Так, при использовании капель, содержащих в качестве вспомогательного вещества гипромеллозу (как с консервантом, так и без него), длительность максимального расширения зрачка составляла в среднем 38–39 минут. При замещении гипромеллозы смесью полимеров, состоящей из природного полимера животного происхождения ГК и синтетического полимера ПЭГ, длительность максимального эффекта снижалась на 25%, а при полном отсутствии полимерных конституентов – на 50%. При изучении скорости достижения мидриатического эффекта под действием изученных готовых лекарственных форм, то наименьшее время, понадобившееся для получения максимального мидриаза, составило 11,9 с и было установлено у ГЛФ фенилэфрина гидрохлорида, содержащего в качестве вспомогательного вещества гипромеллозу. Замена полимера на гиалуроновую кислоту и полиэтиленгликоль приводила к увеличению времени на 45%, тогда как полное отсутствие полимерных соединений требовало на 100% большего времени до формирования удовлетворительного эффекта.

На основании проведённого исследования установлено, что 2,5% растворы фенилэфрина гидрохлорида, содержащие гипромеллозу, обладают улучшенными мидриатическими характеристиками. Они превосходят форму без полимеров по глубине мидриаза, а форму с ГК и ПЭГ — по скорости достижения и длительности максимального эффекта. Это свидетельствует о более стабильных

фармакологических свойствах исследуемых ГЛФ «Препарат 1», «Препарат 2» и «Препарат 3» в сравнении с ЛП, не содержащим полимеров, и позволяет прогнозировать их предсказуемую эффективность при клиническом применении.

При исследовании экспериментальной пиковой концентрации различных ГЛФ 2,5% раствора фенилэфрина гидрохлорида в водянистой влаге передней камеры глаза через 5 мин после инстилляций 1 капли жидких лекарственных форм были получены статистически значимо более высокие концентрации у ГЛФ фенилэфрина гидрохлорида, содержащей в качестве дополнительного компонента полимеры – в большей степени гипромеллозу, в меньшей – ГК и ПЭГ, чем у лекарственной формы без полимеров, что также позволяет предполагать более полный и предсказуемый фармакологический эффект данных препаратов при клиническом применении по сравнению с отобранными воспроизведенными лекарственными препаратами.

Измерение пиковой концентрации различных ГЛФ 2,5% раствора фенилэфрина гидрохлорида в водянистой влаге передней камеры глаза через 5 минут после инстилляций выявило статистически значимые различия между ГЛФ. Наибольшую концентрацию фенилэфрина обеспечивала форма с гипромеллозой, затем — с комбинацией ГК и ПЭГ. Обе эти формы значимо превосходили по данному показателю лекарственную форму фенилэфрина гидрохлорида без полимера. Полученные данные свидетельствуют о потенциально более полном и предсказуемом фармакологическом эффекте полимер-содержащих ГЛФ по сравнению с воспроизведенными препаратами без полимеров.

При определении концентраций во влаге передней камеры глаза в точке 5 минут после закапывания одной капли исследуемых ГЛФ были получены следующие значения: для формы, содержащей 2,5% раствор фенилэфрина с гипромеллозой, — $445,19 \pm 12,13$ мкг/мл; с гипромеллозой и консервантом — $500,80 \pm 8,56$ мкг/мл; с природным полимером ГК и синтетическим полимером ПЭГ — $389,00 \pm 8,75$ мкг/мл; без полимерных компонентов — $345,78 \pm 13,95$ мкг/мл. Это позволяет предположить, что в основе оптимизации локальной биодоступности и фармакодинамики фенилэфрина гидрохлорида, являющегося действующим

веществом «Препарата 1», «Препарата 2» и «Препарата 3» лежит способность гипромеллозы облегчать его проникновение через тканевый барьер глаза и задерживать его элиминацию, тем самым повышая локальную экспозицию. Указанное предположение подтверждается литературными данными о свойствах гипромеллозы [183].

Также нами изучено местное раздражающее действие лекарственных форм фенилэфрина гидрохлорида в зависимости от присутствия в составе капель природных или синтетических полимерных компонентов. Оценка местнораздражающего действия показала, что однократная инстилляционная капля растворов фенилэфрина гидрохлорида с гипромеллозой (ГЛФ «Препарат 1» и «Препарат 2») не вызывала раздражающей реакции со стороны роговицы кролика. В отличие от них, ГЛФ «Препарат 3» вызывала умеренную, а ГЛФ «Препарат 4», содержащая гиалуроновую кислоту и ПЭГ в качестве вспомогательных веществ — слабую местную реакцию.

Гистологический анализ тканей глаза кроликов выявил патоморфологические признаки местного раздражения после однократного закапывания 1 капли раствора фенилэфрина гидрохлорида без природных полимеров. К ним относились нарушение целостности десцеметовой мембраны, неравномерное разволокнение стромы роговицы, дистрофические изменения эпителия и периваскулярный отек склеры. Важно отметить, что подобные изменения отсутствовали при использовании лекарственных форм, содержащих полимерные компоненты.

Итоги выполнения диссертационной работы

Установлены сравнительные особенности фармакодинамики, локальной безопасности и биодоступности 2,5% раствора фенилэфрина гидрохлорида, являющегося действующим веществом четырех изученных готовых лекарственных форм: «Препарат 1» и «Препарат 2», содержащих в качестве вспомогательного вещества гипромеллозу, «Препарат 4», содержащей ГК и ПЭГ, и «Препарат 3», не содержащей полимерных соединений.

ГЛФ с включенными в их состав полимерами обладают оптимальными характеристиками мидриатического эффекта при сравнении с существующими аналогами, не содержащими в качестве вспомогательного вещества природные и синтетические полимеры. В основе оптимального мидриатического эффекта лежит создание оптимальной действующей концентрации фенилэфрина во влаге передней камеры. Формирование эффекта не сопровождалось развитием местной раздражающей реакции вовсе, либо же она не имела клинического значения при использовании содержащих полимеры жидких глазных лекарственных форм.

Полученные результаты позволяют предполагать, что в основе оптимизации локальной биодоступности и фармакодинамики фенилэфрина гидрохлорида лежит способность гипромеллозы, ГК и ПЭГ облегчать прохождение действующего вещества через тканевой барьер глаза и задерживать его элиминацию, повышая локальную экспозицию действующего вещества. Также с присутствием в составе упомянутых ГЛФ может быть связано ослабление местного раздражающего действия фенилэфрина на глаз лабораторных кроликов, при этом по силе эффекта гипромеллоза превосходит входящую в состав ГЛФ «Препарат 4» ГК в комбинации с ПЭГ.

Перспективы развития темы диссертационной работы

Дальнейшее развитие фармакологии и клинической фармакологии в области создания оптимальных составов мидриатических глазных лекарственных форм связано с двумя основными направлениями: клиническим и доклиническим.

С клинической точки зрения актуальным представляется углубленное изучение особенностей фармакологического ответа на фенилэфрин при различной офтальмопатологии, требующей медикаментозного мидриаза, включая переносимость препаратов и динамику развития эффекта.

В доклинической плоскости ключевой задачей остается исследование внутриглазной кинетики фенилэфрина в зависимости от состава лекарственной формы. Решение этой задачи возможно как с помощью специальных *in vitro* моделей (например, полупроницаемых фосфолипидных мембран, имитирующих роговицу), так и в ходе экспериментов на животных с динамическим определением концентрации действующего вещества во влаге передней камеры глаза.

ВЫВОДЫ

1. Лекарственные формы 2,5% раствора фенилэфрина гидрохлорида с гипромеллозой, демонстрирует оптимальный профиль мидриатической активности. При инстилляции в конъюнктивальный мешок лабораторным кроликам время развития максимального мидриаза сокращается в 2 раза, а продолжительность расширения зрачка увеличивается на 50% по сравнению с раствором без полимеров.

2. Введение в состав глазных капель с 2,5% фенилэфрина гидрохлоридом природного полимера ГК в комбинации с синтетическим полимером полиэтиленгликолем также в среднем на 25% увеличивает длительность мидриаза и на 45% снижает время его достижения, но по описываемым показателям уступает ГЛФ, содержащим гипромеллозу в своем составе.

3. В точке 5 минут после закапывания 1 капли растворов исследуемых веществ во влаге передней камеры определяются следующие концентрации фенилэфрина гидрохлорида в порядке убывания: ГЛФ, содержащая 2,5% раствор фенилэфрина в присутствии гипромеллозы и консерванта ($500,80 \pm 8,56$ мкг/мл), ГЛФ, содержащая 2,5% раствор фенилэфрина в присутствии гипромеллозы без консерванта ($445,19 \pm 12,13$ мкг/мл), ГЛФ, содержащая 2,5% раствор фенилэфрина в присутствии природного полимера ГК и синтетического полимера полиэтиленгликоля ($389,00 \pm 8,75$ мкг/мл), ГЛФ, содержащая 2,5% раствор фенилэфрина в отсутствии каких бы то ни было полимерных конституентов ($345,78 \pm 13,95$ мкг/мл).

4. Лекарственные формы фенилэфрина гидрохлорида с гипромеллозой не вызывали раздражающего действия при инстилляции одной капли в конъюнктивальный мешок бодрствующих кроликов. В то же время применение капель, содержащих гиалуроновую кислоту и полиэтиленгликоль, приводило к слабой реакции, выразившейся в смыкании век, а инстилляция 2,5% раствора

фенилэфрина гидрохлорида без полимеров вызывала умеренную реакцию в виде слезотечения.

5. При микроморфологическом исследовании глаз лабораторных кроликов на фоне однократной инстилляцией 1 капли 2,5% раствора фенилэфрина гидрохлорида в зависимости от наличия и состава полимерных компонентов установлено, что все изученные лекарственные формы не оказывают влияния на структуру средней и внутренней оболочек глаза, тогда как при применении ГЛФ без полимеров наблюдались незначительные патоморфологические изменения, представленные периваскулярным отеком склеры, разрыхлением стромы роговицы и умеренной дистрофией клеток её эпителия.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При разработке глазных капель, содержащих адренопозитивные мидриатики, для достижения оптимального фармакологического эффекта и снижения рисков формирования местных раздражающих реакций целесообразно использование в качестве вспомогательного вещества природных полимеров – гипромеллозы или ГК.

2. Информативным индикатором измерения служит концентрация действующего вещества во влаге передней камеры глаза кролика, измеренная в точке 5 мин является информативным индикатором, отражающим биодоступность вещества при его топическом применении в составе глазных капель, и может использоваться в виде надежного лабораторного метода при проведении доклинических исследований новых лекарственных средств.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ВГД – внутриглазное давление

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ССГ – синдром «сухого глаза»

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

ГК – гиалуроновая кислота

ГЛФ – готовая лекарственная форма

ГОб – гематоокулярный барьер

КЖ – качество жизни

ЛП – лекарственный препарат

ПЭГ – полиэтиленгликоль

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Alfonso, E. Pharmacologic pupillary modulation in the perioperative period / E. Alfonso, M.B. Abelson, L.M. Smith // *J Cataract Refract. Surg.* – 1988. – Vol. 14. – № 1. – P. 78–80. doi: 10.1016/s0886-3350(88)80069-5.
2. Pharmacological mydriasis and optic disc examination / J.F. Kirwan, P. Gouws, A.E. Linnell [et al.] // *Br J Ophthalmol.* – 2000. – Vol. 84. – № 8. – P. 894–898. doi: 10.1136/bjo.84.8.894.
3. Pharmacologic interventions for mydriasis in cataract surgery / M. Iftikhar, S.A. Abariga, B.S. Hawkins [et al.] // *Cochrane Database Syst Rev.* – 2021. – Vol. 5. – № 5. – CD012830. doi: 10.1002/14651858.CD012830.pub2.
4. Mapstone, R. Safe mydriasis / R. Mapstone // *Br J Ophthalmol.* – 1970. – Vol. 54. – № 10. – P. 690–692. doi: 10.1136/bjo.54.10.690.
5. Korczyn, A.D. A second component of atropine mydriasis / A.D. Korczyn, N. Laor // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 1977. – Vol. 16. – № 3. – P. 231–232.
6. Burns, S.M. Phenylephrine / S.M. Burns, S.S. Stewart // *Crit Care Nurse.* – 1989. – Vol. 9. – № 8. – P. 12–13.
7. Craig, E.W. Effect on mydriasis of modifying the volume of phenylephrine drops / E.W. Craig, P.G. Griffiths // *Br J Ophthalmol.* – 1991. – Vol. 75. – № 4. – P. 222–223. doi: 10.1136/bjo.75.4.222.
8. The safety of intracameral phenylephrine – A systematic review / A. Gowda, W.W.J. Jie, R. Casson, W.O. Chan // *Surv Ophthalmol.* – 2022. – Vol. 67. – № 5. – P. 1540–1546. doi: 10.1016/j.survophthal.2022.06.002.
9. Guarve, K. HPMC – A Marvel Polymer for Pharmaceutical Industry-Patent Review / K. Guarve, P. Kriplani // *Recent Adv Drug Deliv Formul.* – 2021. – Vol. 15. – № 1. – P. 46–58. doi: 10.2174/1872211314666210604120619.
10. Ueda, K. Impact of Hypromellose Acetate Succinate Grade on Drug Amorphous Solubility and In Vitro Membrane Transport / K. Ueda, S.S. Hate,

L.S. Taylor // *J Pharm Sci.* – 2020. – Vol. 109. – № 8. – P. 2464–2473. doi: 10.1016/j.xphs.2020.04.014.

11. In vitro and in vivo Evaluation of the Efficacy and Safety of Powder Hydroxypropylmethylcellulose as Nasal Mucosal Barrier / T.A. Popov, J. Emberlin, P. Josling, A. Seifalian // *Med Devices (Auckl).* – 2020. – Vol. 13. – P. 107–113. doi: 10.2147/MDER.S236104.

12. Effect of micronized cellulose powder on the efficacy of topical oxymetazoline in allergic rhinitis / A. Valerieva, T.A. Popov, M. Staevska [et al.] // *Allergy Asthma Proc.* – 2015. – Vol. 36. – № 6. – P. e134–e139. doi: 10.2500/aap.2015.36.3879.

13. Low pH hypromellose (Taffix) nasal powder spray could reduce SARS-CoV-2 infection rate post mass-gathering event at a highly endemic community: an observational prospective open label user survey / K. Shmuel, M. Dalia, L. Tair, N. Yaakov // *Expert Rev Anti Infect Ther.* – 2021. – Vol. 19. – № 10. – P. 1325–1330. doi: 10.1080/14787210.2021.1908127.

14. Real-Life Active Surveillance of a Naphazoline/Hypromellose Fixed Combination's Safety Profile in Peruvian Population / H. Contreras-Salinas, M. Barajas-Hernández, L.M. Baiza-Durán [et al.] // *Integr Pharm Res Pract.* – 2021. – Vol. 10. – P. 127–133. doi: 10.2147/IPRP.S332421.

15. Capita, L. Prospective evaluation of hypromellose 2% for punctal occlusion in patients with dry eye / L. Capita, M.R. Chalita, L.L. dos Santos-Neto // *Cornea.* – 2015. – Vol. 34. – № 2. – P. 188–192. doi: 10.1097/ICO.0000000000000325.

16. A Meta-Analysis of the Efficacy of Hyaluronic Acid Eye Drops for the Treatment of Dry Eye Syndrome / Y.-J. Yang, W.-Y. Lee, Y.-J. Kim, Y.-P. Hong // *Int J Environ Res Public Health.* – 2021. – Vol. 18. – № 5. – P. 2383. doi: 10.3390/ijerph18052383.

17. Efficacy and Safety of 0.2% Hyaluronic Acid in the Management of Dry Eye Disease / J. Pinto-Fraga, A. López-de la Rosa, F. Blázquez Arauzo [et al.]. // *Eye Contact Lens.* – 2017. – Vol. 43. – № 1. – P. 57–63. doi: 10.1097/ICL.0000000000000236.

18. Efficacy of 0.18% hypotonic sodium hyaluronate ophthalmic solution in the treatment of signs and symptoms of dry eye disease / V. Baeyens, A. Bron, C. Baudouin, Vismed/Hylovis Study Group // *J Fr Ophthalmol.* – 2012. – Vol. 35. – № 6. – P. 412–419. doi: 10.1016/j.jfo.2011.07.017.
19. Demonstration of efficacy in the treatment of dry eye disease with 0.18% sodium hyaluronate ophthalmic solution (Vismed, Rejena) / R. Vogel, R.S. Crockett, N. Oden [et al.]. // *Am J Ophthalmol.* – 2010. – Vol. 149. – № 4. – P. 594–601. doi: 10.1016/j.ajo.2009.09.023.
20. Troiano, P. Effect of hypotonic 0.4% hyaluronic acid drops in dry eye patients: A cross-over study / P. Troiano, G. Monaco // *Cornea.* – 2008. – Vol. 27. – № 10. – P. 1126–1130. doi: 10.1097/ICO.0b013e318180e55c.
21. Роль вспомогательных компонентов глазных капель в реализации фармакологического эффекта фенилэфрина / Г.К. Полуосьмак, О.В. Сергеева, Е.В. Блинова [и др.] // *Фармакология & Фармакотерапия.* – 2025. – № 2. – С. 32–34. doi: 10.46393/27132129_2025_2_32-34.
22. Considerations for Polymers Used in Ocular Drug Delivery / M.M. Allyn, R.H. Luo, E.B. Hellwarth, K.E. Swindle-Reilly // *Front Med (Lausanne).* – 2022. – № 8. – P. 787644. doi: 10.3389/fmed.2021.787644.
23. World Report on Vision Executive Summary [электронный ресурс]. World Health Organization. 2019. P. 1–12. Available online at: <https://www.iapb.org/wp-content/uploads/2020/09/World-report-on-vision.pdf> (accessed Aug 11, 2024).
24. Eye Health Statistics – American Academy of Ophthalmology [электронный ресурс]. Available online at: <https://www.aaopt.org/newsroom/eye-health-statistics> (accessed May 22, 2024).
25. BrightFocus Foundation. Sources for Macular Degeneration. Facts & Figures [электронный ресурс]. Available online at: <https://www.brightfocus.org/sources-macular-degeneration-facts-figures> (accessed Sep 13, 2023).
26. Forecasting age-related macular degeneration through the year 2050: the potential impact of new treatments / D.B. Rein, J.S Wittenborn, X. Zhang [et al.]. // *Arch*

Ophthalmol. – 2009. – Vol. 127. – № 4. – P. 533–540. doi: 10.1001/archophthalmol.2009.58.

27. Shahiwala, A. Applications of polymers in ocular drug delivery / A. Shahiwala // In: A. Misra, A. Shahiwala, eds. Applications of Polymers in Drug Delivery. 2nd ed. Elsevier Inc.: 2021. P. 355–392. doi: 10.1016/B978-0-12-819659-5.00013-6.

28. Narthey, A. The pathophysiology of cataract and major interventions to retarding its progression: a mini review / A. Narthey // Adv Ophthalmol Vis Syst. – 2017. – Vol. 6. – № 3. – P. 76–78. doi: 10.15406/aovs.2017.06.00178.

29. Weinreb, R.N. The pathophysiology and treatment of glaucoma: a review / R.N. Weinreb, T. Aung, F.A. Medeiros // JAMA. – 2014. – Vol. 311. – № 18. – P. 1901–1911. doi: 10.1001/jama.2014.3192.

30. Glaucoma-associated corneal endothelial cell damage: a review / B.J. Janson, W.L. Alward, Y.H. Kwon [et al.] // Surv Ophthalmol. – 2018. – Vol. 63. – № 4. – P. 500–506. doi: 10.1016/j.survophthal.2017.11.002.

31. Porta, M. Diabetic retinopathy. A clinical update / M. Porta, F. Bandello // Diabetologia. – 2002. – Vol. 45. – № 12. – P. 1617–1634. doi: 10.1007/s00125-002-0990-7.

32. Jager, R.D. Age-related macular degeneration / R.D. Jager, W.F. Mieler, J.W. Miller // N Engl J Med. – 2008. – Vol. 358. – № 24. – P. 2606–2617. doi: 10.1056/NEJMra0801537.

33. Wang, W. Diabetic retinopathy: pathophysiology and treatments / W. Wang, A.C.Y. Lo // Int J Mol Sci. – 2018. – Vol. 19. – № 6. – P. 1816. doi: 10.3390/ijms19061816.

34. Pathophysiology and pharmacological targets of VEGF in diabetic macular edema / S. Fogli, S. Mogavero, C.G. Egan [et al.] // Pharmacol Res. – 2016. – № 103. – P. 149–157. doi: 10.1016/j.phrs.2015.11.003.

35. Tram, N.K. Glutathione improves the antioxidant activity of vitamin C in human lens and retinal epithelial cells: implications for vitreous substitutes / N.K. Tram,

R.M. McLean, K.E. Swindle-Reilly // *Curr Eye Res.* – 2021. – Vol. 46. – № 6. – P. 470–481. doi: 10.1080/02713683.2020.1809002.

36. Complement inhibition as a therapeutic strategy in retinal disorders / E. Kassa, T.A. Ciulla, R.M. Hussain, P.U. Dugel // *Expert Opin Biol Ther.* – 2019. – Vol. 19. – № 4. – P. 335–342. doi: 10.1080/14712598.2019.1575358.

37. Yu, B. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles as a new therapeutic strategy for ocular diseases / B. Yu, X.-R. Li, X.-M. Zhang // *World J Stem Cells.* – 2020. – Vol. 12. – № 3. – P. 178–187. doi: 10.4252/wjsc.v12.i3.178.

38. Karanfil, F.Ç. Update on presbyopia-correcting drops / F.Ç. Karanfil, B. Turgut // *Eur Ophthalmic Rev.* – 2017. – Vol. 11. – № 2. – P. 99–102. doi: 10.17925/EOR.2017.11.02.99.

39. Vandenberghe, L.H. Novel adeno-associated viral vectors for retinal gene therapy / L.H. Vandenberghe, A. Auricchio // *Gene Ther.* – 2012. – Vol. 19. – № 2. – P. 162–168. doi: 10.1038/gt.2011.151.

40. Adenosine receptors as promising targets for the management of ocular diseases / E. Spinozzi, C. Baldassarri, L. Acquaticci [et al.] // *Med Chem Res.* – 2021. – Vol. 30. – № 2. – P. 353–370. doi: 10.1007/s00044-021-02704-x.

41. Ocular drug delivery: present innovations and future challenges / V. Gote, S. Sikder, J. Sicotte, D. Pal // *J Pharmacol Exp Ther.* – 2019. – Vol. 370. – № 3. – P. 602–624. doi: 10.1124/jpet.119.256933.

42. Advances in ocular drug delivery systems / J.J. Kang-Mieler, K.M. Rudeen, W. Liu, W.F. Mieler // *Eye (Lond.)*. – 2020. – Vol. 34. – № 8. – P. 1371–1379. doi: 10.1038/s41433-020-0809-0.

43. Population pharmacokinetics of pegaptanib sodium (Macugen[®]) in patients with diabetic macular edema / A.S. Basile, M.M. Hutmacher, K.G. Kowalski [et al.] // *Clin Ophthalmol.* – 2015. – № 9. – P. 323–335. doi: 10.2147/OPHTH.S74050.

44. PEGylation of biopharmaceuticals: a review of chemistry and nonclinical safety information of approved drugs / P.L. Turecek, M.J. Bossard, F. Schoetens, I.A. Ivens // *J Pharm Sci.* – 2016. – Vol. 105. – № 2. – P. 460–475. doi: 10.1016/j.xphs.2015.11.015.

45. Polymeric long-acting drug delivery systems (LADDS) for treatment of chronic diseases: Inserts, patches, wafers, and implants / H. Abdelkader, Z. Fathalla, A. Seyfoddin [et al.] // *Adv Drug Deliv Rev.* – 2021. – № 177. – P. 113957. doi: 10.1016/j.addr.2021.113957.
46. Ocular pharmacokinetics of OTX-DED, a sustained-release intracanalicular insert delivering dexamethasone, in a canine model / C.D. Blizzard, A. Desai, A. Driscoll [et al.] // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 2021. – Vol. 62. – № 8. – P. 1323.
47. Vascular endothelial growth factor antagonists: promising players in the treatment of neovascular age-related macular degeneration / R.M. Hussain, B.A. Shaukat, L.M. Ciulla [et al.] // *Drug Des Devel Ther.* – 2021. – № 15. – P. 2653–2665. doi: 10.2147/DDDT.S295223.
48. Mah, F.S. On gel formation time of adding topical ophthalmic medications to ReSure Sealant, an in situ hydrogel / F.S. Mah // *J Ocul Pharmacol Ther.* – 2016. – Vol. 32. – № 6. – P. 396–399. doi: 10.1089/jop.2015.0112.
49. Foroutan, SM. The in vitro evaluation of polyethylene glycol esters of hydrocortisone 21-succinate as ocular prodrugs / S.M. Foroutan, D.G. Watson // *Int J Pharm.* – 1999. – Vol. 182. – № 1. – P. 79–92. doi: 10.1016/S0378-5173(99)00059-9.
50. Development, optimization, and in vitro/in vivo characterization of enhanced lipid nanoparticles for ocular delivery of ofloxacin: the influence of pegylation and chitosan coating / H.M. Eid, M.H. Elkomy, S.F. El Menshawe, H.F. Salem // *AAPS PharmSciTech.* – 2019. – Vol. 20. – № 5. – P. 183. doi: 10.1208/s12249-019-1371-6.
51. Identification and characterization of an octameric PEG-protein conjugate system for intravitreal long-acting delivery to the back of the eye / W. Shatz, P.E. Hass, N. Peer [et al.] // *PLoS One.* – 2019. – Vol. 14. – № 6. – P. e0218613. doi: 10.1371/journal.pone.0218613.
52. Optimization, stabilization, and characterization of amphotericin B loaded nanostructured lipid carriers for ocular drug delivery / P. Lakhani, A. Patil, K.-W. Wu [et al.] // *Int J Pharm.* – 2019. – № 572. – P. 118771. doi: 10.1016/j.ijpharm.2019.118771.
53. Teodorescu, M. Biomaterials of PVA and PVP in medical and pharmaceutical applications: Perspectives and challenges / M. Teodorescu, M. Bercea,

S. Morariu // *Biotechnol Adv.* – 2019. – Vol. 37. – № 1. – P. 109–131. doi: 10.1016/j.biotechadv.2018.11.008.

54. Kuno, N. Biodegradable intraocular therapies for retinal disorders / N. Kuno, S. Fujii // *Drugs Aging.* – 2010. – Vol. 27. – № 2. – P. 117–134. doi: 10.2165/11530970-000000000-00000.

55. Arcinue, C.A. A comparison between the fluocinolone acetonide (Retisert) and dexamethasone (Ozurdex) intravitreal implants in uveitis / C.A. Arcinue, O.M. Cerón, C.S. Foster // *J Ocul Pharmacol Ther.* – 2012. – Vol. 29. – № 5. – P. 501–507. doi: 10.1089/jop.2012.0180.

56. Habib, M.S. ILUVIEN[®] technology in the treatment of center-involving diabetic macular edema: a review of the literature / M.S. Habib // *Ther Deliv.* – 2018. – Vol. 9. – № 8. – P. 547–556. doi: 10.4155/tde-2018-0006.

57. Schmit-Eilenberger, V.K. A novel intravitreal fluocinolone acetonide implant (Iluvien[®]) in the treatment of patients with chronic diabetic macular edema that is insufficiently responsive to other medical treatment options: a case series / V.K. Schmit-Eilenberger // *Clin Ophthalmol.* – 2015. – № 9. – P. 801–811. doi: 10.2147/OPTH.S79785.

58. Polymers for extended-release administration / M.S. Paolini, O.S. Fenton, C. Bhattacharya [et al.] // *Biomed Microdevices.* – 2019. – Vol. 21. – № 2. – P. 45. doi: 10.1007/s10544-019-0386-9.

59. Haghjou, N. Sustained release intraocular drug delivery devices for treatment of uveitis / N. Haghjou, M. Soheilian, M.J. Abdekhodaie // *J Ophthalmic Vis Res.* – 2011. – Vol. 6. – № 4. – P. 317–329.

60. Polymeric implants for the treatment of intraocular eye diseases: trends in biodegradable and non-biodegradable materials / P. García-Estrada, M.A. García-Bon, E.J. López-Naranjo [et al.] // *Pharmaceutics.* – 2021. – Vol. 13. – № 5. – P. 701. doi: 10.3390/pharmaceutics13050701.

61. Application of hydrogel template strategy in ocular drug delivery / C.S. Shin, D.C. Marcano, K. Park, G. Acharya // *Methods Mol Biol.* – 2017. – № 1570. – P. 279–285. doi: 10.1007/978-1-4939-6840-4_19.

62. Makadia, H.K. Poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) as biodegradable controlled drug delivery carrier / H.K. Makadia, S.J. Siegel // *Polymers (Basel)*. – 2011. – Vol. 3. – № 3. – P. 1377–1397. doi: 10.3390/polym3031377.
63. Marin, E. Critical evaluation of biodegradable polymers used in nanodrugs / E. Marin, M.I. Briceño, C. Caballero-George // *Int J Nanomed.* – 2013. – № 8. – P. 3071–3091. doi: 10.2147/IJN.S47186.
64. Farah, S. Physical and mechanical properties of PLA, and their functions in widespread applications – a comprehensive review / S. Farah, D.G. Anderson, R. Langer // *Adv Drug Deliv Rev.* – 2016. – № 107. – P. 367–392. doi: 10.1016/j.addr.2016.06.012.
65. Phase 2 study of the safety and efficacy of brimonidine drug delivery system (Brimo DDS) generation 1 in patients with geographic atrophy secondary to age-related macular degeneration / B.D. Kuppermann, S.S. Patel, D.S. Boyer [et al.], Brimo DDS Gen 1 Study Group // *Retina.* – 2021. – Vol. 41. – № 4. – P. 144–155. doi: 10.1097/IAE.0000000000002789.
66. Baino, F. Regulation of the ocular cell/tissue response by implantable biomaterials and drug delivery systems / F. Baino, S. Kargozar // *Bioengineering (Basel)*. – 2020. – Vol. 7. – № 3. – P. 65. doi: 10.3390/bioengineering7030065.
67. An overview of poly(lactic-co-glycolic) acid (PLGA)-based biomaterials for bone tissue engineering / P. Gentile, V. Chiono, I. Carmagnola, P.V. Hatton // *Int J Mol Sci.* – 2014. – Vol. 15. – № 3. – P. 3640–3659. doi: 10.3390/ijms15033640.
68. Recent advances in intraocular sustained-release drug delivery devices / Cao Y., Samy K.E., Bernards D.A., Desai T.A. // *Drug Discov Today.* – 2019. – Vol. 24. – № 8. – P. 1694–1700. doi: 10.1016/j.drudis.2019.05.031.
69. Chan, A. Critical appraisal of the clinical utility of the dexamethasone intravitreal implant (Ozurdex®) for the treatment of macular edema related to branch retinal vein occlusion or central retinal vein occlusion / A. Chan, L.-S. Leung, M.S. Blumenkranz // *Clin Ophthalmol.* – 2011. – № 5. – P. 1043–1049. doi: 10.2147/OPHTH.S13775.

70. Shirley, M. Bimatoprost implant: first approval / M. Shirley // *Drugs Aging*. – 2020. – Vol. 37. – № 6. – P. 457–462. doi: 10.1007/s40266-020-00769-8.

71. Biodegradable microsphere-hydrogel ocular drug delivery system for controlled and extended release of bioactive aflibercept in vitro / W Liu., B.-S. Lee, W.F. Mieler, J.J. Kang-Mieler // *Curr Eye Res*. – 2019. – Vol. 44. – № 3. – P. 264–274. doi: 10.1080/02713683.2018.1533983.

72. Characterization of biodegradable microsphere-hydrogel ocular drug delivery system for controlled and extended release of ranibizumab / W. Liu, M.A. Borrell, D.C. Venerus [et al.] // *Transl Vis Sci Technol*. – 2019. – Vol. 8. – № 1. – P. 12. doi: 10.1167/tvst.8.1.12.

73. In vivo efficacy of an injectable microsphere-hydrogel ocular drug delivery system / C.R. Osswald, M.J. Guthrie, A. Avila [et al.] // *Curr Eye Res*. – 2017. – Vol. 42. – № 9. – P. 1293–1301. doi: 10.1080/02713683.2017.1302590.

74. Treatment efficacy and biocompatibility of a biodegradable aflibercept-loaded microsphere-hydrogel drug delivery system / W. Liu, A.P. Tawakol, K.M. Rudeen [et al.] // *Transl Vis Sci Technol*. – 2020. – Vol. 9. – № 11. – P. 13. doi: 10.1167/tvst.9.11.13.

75. Mondal, D. Polycaprolactone-based biomaterials for tissue engineering and drug delivery: current scenario and challenges / D. Mondal, M. Griffith, S.S. Venkatraman // *Int J Polym Mater Polym Biomater*. – 2016. – Vol. 65. – № 5. – P. 255–265. doi: 10.1080/00914037.2015.1103241.

76. PCL and PCL-based materials in biomedical applications / E. Malikmammadov, T.E. Tanir, A. Kiziltay [et al.] // *J Biomater Sci Polym Ed*. – 2018. – Vol. 29. – № 7-9. – P. 863–893. doi: 10.1080/09205063.2017.1394711.

77. Ocular biocompatibility and structural integrity of micro- and nanostructured poly(caprolactone) films / D.A. Bernards, R.B. Bhisitkul, P. Wynn [et al.] // *J Ocul Pharmacol Ther*. – 2013. – Vol. 29. – № 2. – P. 249–257. doi: 10.1089/jop.2012.0152.

78. Co-delivery of timolol and brimonidine with a polymer thin-film intraocular device / K.E. Samy, Y. Cao, J. Kim, S. Konichi // *J Ocul Pharmacol Ther*. – 2019. – Vol. 35. – № 2. – P. 124–131. doi: 10.1089/jop.2018.0096.

79. Preparation and evaluation of contact lenses embedded with polycaprolactone-based nanoparticles for ocular drug delivery / F. Hashemi Nasr, S. Khoee, M. Mehdi Dehghan [et al.] // *Biomolecules*. – 2015. – Vol. 17. – № 2. – P. 485–495. doi: 10.1021/acs.biomac.5b01387.

80. Fabrication of a micellar supramolecular hydrogel for ocular drug delivery / Z. Zhang, Z. He, R. Liang [et al.] // *Biomacromolecules*. – 2016. – Vol. 17. – № 3. – P. 798–807. doi: 10.1021/acs.biomac.5b01526.

81. Optimization to development of chitosan decorated polycaprolactone nanoparticles for improved ocular delivery of dorzolamide: In vitro, ex vivo and toxicity assessments / M.S. Shahab, M. Rizwanullah, S. Alshehri, S.S. Imam // *Int J Biol Macromol*. – 2020. – № 163. – P. 2392–2404. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.09.185.

82. Chitosan-polycaprolactone core-shell microparticles for sustained delivery of bevacizumab / P. Jiang, K.M. Jacobs, M.P. Ohr, K.E. Swindle-Reilly // *Mol Pharm*. – 2020. – Vol. 17. – № 7. – P. 2570–2584. doi: 10.1021/acs.molpharmaceut.0c00260.

83. Injectable biodegradable bi-layered capsule for sustained delivery of bevacizumab in treating wet age-related macular degeneration / P. Jiang, F.J. Chaparro, C.T. Cuddington [et al.] // *J Control Release*. – 2020. – № 320. – P. 442–456. doi: 10.1016/j.jconrel.2020.01.036.

84. Biocompatibility and pharmacokinetic analysis of an intracameral polycaprolactone drug delivery implant for glaucoma / J. Kim, M. Judisch, S. Mudumba [et al.] // *Invest Ophthalmol Vis Sci*. – 2016. – Vol. 57. – № 10. – P. 4341–4346. doi: 10.1167/iovs.16-19585.

85. Advanced formulation approaches for ocular drug delivery: state-of-the-art and recent patents / E.B. Souto, J. Dias-Ferreira, A. López-Machado [et al.] // *Pharmaceutics*. – 2019. – Vol. 11. – № 9. – P. 460. doi: 10.3390/pharmaceutics11090460.

86. Activity and mechanism of antimicrobial peptide-mimetic amphiphilic polymethacrylate derivatives / I. Sovadinova, E.F. Palmermo, M. Urban [et al.] // *Polymers*. – 2011. – Vol. 3. – № 3. – P. 1512–1532. doi: 10.3390/polym3031512.

87. Ali, U. A review of the properties and applications of poly (methyl methacrylate) (PMMA) / U. Ali, K.J.B.A. Karim, N.A. Buang // *Polym Rev.* – 2015. – Vol. 55. – № 4. – P. 678–705. doi: 10.1080/15583724.2015.1031377.
88. Evaluation of commercial soft contact lenses for ocular drug delivery: a review / X. Fan, C. Torres-Luna, M. Azadi [et al.] // *Acta Biomater.* – 2020. – № 115. – P. 60–74. doi: 10.1016/j.actbio.2020.08.025.
89. Intraocular pressure monitoring post intravitreal steroids: a systematic review / W. Kiddee, G.E. Trope, L. Sheng [et al.] // *Surv Ophthalmol.* – 2013. – Vol. 58. – № 4. – P. 291–310. doi: 10.1016/j.survophthal.2012.08.003.
90. Evaluating the potential of drug eluting contact lenses for treatment of bacterial keratitis using an ex vivo corneal model / U. Ubani-Ukoma, D. Gibson, G. Schultz [et al.] // *Int J Pharm.* 2019. – № 565. – P. 499–508. doi: 10.1016/j.ijpharm.2019.05.031.
91. Atorvastatin-eluting contact lenses: effects of molecular imprinting and sterilization on drug loading and release / A.F. Pereira-da-Mota, M. Vivero-Lopez, A. Topete [et al.] // *Pharmaceutics.* – 2021. – Vol. 13. – № 5. – P. 606. doi: 10.3390/pharmaceutics13050606.
92. Biomimetic contact lenses eluting olopatadine for allergic conjunctivitis / C. González-Chomón, M. Silva, A. Concheiro, C. Alvarez-Lorenzo // *Acta Biomater.* – 2016. – № 41. – P. 302–311. doi: 10.1016/j.actbio.2016.05.032.
93. Jung, H.J. Temperature sensitive contact lenses for triggered ophthalmic drug delivery / H.J. Jung, A. Chauhan // *Biomaterials.* – 2012. – Vol. 33. – № 7. – P. 2289–2300. doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.10.076.
94. Brannigan, R.P. Synthesis and evaluation of mucoadhesive acryloyl-quaternized PDMAEMA nanogels for ocular drug delivery / R.P. Brannigan, V.V. Khutoryanskiy // *Colloids Surf B Biointerfaces.* – 2017. – № 155. – P. 538–543. doi: 10.1016/j.colsurfb.2017.04.050.
95. Design and evaluation of ophthalmic delivery formulations / V. Soni, V. Pandey, R. Tiwari [et al.]. In: T.K. Tekade, ed. *Basic Fundamentals of Drug Delivery.*

Elsevier Inc.: Academic Press; 2019. P. 473–538. doi: 10.1016/B978-0-12-817909-3.00013-3.

96. Nguyen, D.D. Advancing the stimuli response of polymer-based drug delivery systems for ocular disease treatment / D.D. Nguyen, J.Y. Lai // *Polym Chem.* – 2020. – Vol. 11. – № 14. – P. 6988–7008. doi: 10.1039/D0PY00919A.

97. Prasannan, A. A thermally triggered in situ hydrogel from poly(acrylic acid-co-N-isopropylacrylamide) for controlled release of anti-glaucoma drugs / A. Prasannan, H.-C. Tsai, Y.-S. Chen // *J Mater Chem B.* – 2014. – № 2. – P. 1988–1997. doi: 10.1039/c3tb21360a.

98. Prasannan, A. Formulation and evaluation of epinephrine-loaded poly(acrylic acid-co-N-isopropylacrylamide) gel for sustained ophthalmic drug delivery / A. Prasannan, H.-C. Tsai, G.-H. Hsiue // *React Funct Polym.* – 2018. – № 124. – P. 40–47. doi: 10.1016/j.reactfunctpolym.2018.01.001.

99. PERSIST: Physician's Evaluation of Restasis[®] Satisfaction in Second Trial of topical cyclosporine ophthalmic emulsion 0.05% for dry eye: a retrospective review / F. Mah, M. Milner, S. Yiu [et al.] // *Clin Ophthalmol.* – 2012. – № 6. – P. 1971–1976. doi: 10.2147/OPHTH.S30261.

100. Lancina III, M.G. Dendrimers for ocular drug delivery / M.G. Lancina III, H. Yang // *Can J Chem.* – 2017. – Vol. 95. – № 9. – P. 897–902. doi: 10.1139/cjc-2017-0193.

101. Yavuz, B. Dendrimeric systems and their applications in ocular drug delivery / B. Yavuz, S.B. Pehlivan, N. Unlü // *Sci World J.* – 2013. – № 2013. – P. 732340. doi: 10.1155/2013/732340.

102. Dendrimers in drug delivery and targeting: drug-dendrimer interactions and toxicity issues / K. Madaan, S. Kumar, N. Poonia [et al.] // *J Pharm Bioallied Sci.* – 2014. – Vol. 6. – № 3. – P. 139–150. doi: 10.4103/0975-7406.130965.

103. Dexamethasone – PAMAM dendrimer conjugates for retinal delivery: preparation, characterization and in vivo evaluation / B. Yavuz, S. Bozdağ Pehlivan, B. Sümer Bolu [et al.] // *J Pharm Pharmacol.* – 2016. – Vol. 68. – № 8. – P. 1010–1020. doi: 10.1111/jphp.12587.

104. Dendrimer-based targeted intravitreal therapy for sustained attenuation of neuroinflammation in retinal degeneration / R. Iezzi, B.R. Guru, I.V. Glybina [et al.] // *Biomaterials*. – 2012. – Vol. 33. – № 3. – P. 979–988. doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.10.010.

105. Mildly cross-linked dendrimer hydrogel prepared via Aza-Michael addition reaction for topical brimonidine delivery / J. Wang, G.S. Williamson, M.G. Lancina III, H. Yang // *J Biomed Nanotechnol.* – 2017. – Vol. 13. – № 9. – P. 1089–1096. doi: 10.1166/jbn.2017.2436.

106. Aravamudhan, A. Natural polymers: polysaccharides and their derivatives for biomedical applications / A. Aravamudhan, D.M. Ramos, A.A. Nada // In: Kumbar S.G., Laurencin C.T., Deng M., eds. *Natural and Synthetic Biomedical Polymers*. Elsevier Inc.: 2014. P. 67–89. doi: 10.1016/B978-0-12-396983-5.00004-1.

107. Dutescu, R.M. Comparison of the effects of various lubricant eye drops on the in vitro rabbit corneal healing and toxicity / R.M. Dutescu, C. Panfil, N. Schrage // *Exp Toxicol Pathol.* – 2017. – Vol. 69. – № 3. – P. 123–129. doi: 10.1016/j.etp.2016.12.002.

108. Injectable in situ cross-linking hyaluronic acid/carboxymethyl cellulose based hydrogels for drug release / S. Deng, X. Li, W. Yang [et al.] // *J Biomater Sci Polym Ed.* – 2018. – Vol. 29. – № 13. – P. 1643–1655. doi: 10.1080/09205063.2018.1481005.

109. Ocular drug delivery nanowafer with enhanced therapeutic efficacy / X. Yuan, D.C. Marcano, C.S. Shin [et al.] // *ACS Nano.* – 2015. – Vol. 9. – № 2. – P. 1749–1758. doi: 10.1021/nm506599f.

110. Dexamethasone nanowafer as an effective therapy for dry eye disease / T.G. Coursey, J.T. Henriksson, D.C. Marcano [et al.] // *J Control Release.* – 2015. – № 213. – P. 168–174. doi: 10.1016/j.jconrel.2015.07.007.

111. Hydroxypropyl methylcellulose: Physicochemical properties and ocular drug delivery formulations / L.L. Tundisi, G.B. Mostaço, P.C. Carricondo, D.F.S. Petri // *Eur J Pharm Sci.* – 2021. – № 159. – P. 105736. doi: 10.1016/j.ejps.2021.105736.

112. Hu, L. Advances in chitosan-based drug delivery vehicles / L. Hu, Y. Sun, Y. Wu // *Nanoscale.* – 2013. – Vol. 5. – № 8. – P. 3103–3111. doi: 10.1039/c3nr00338h.

113. Thermosensitive chitosan-based hydrogel as a topical ocular drug delivery system of latanoprost for glaucoma treatment / Y.-H. Cheng, T.-H. Tsai, Y.-Y. Jhan [et al.] // *Carbohydr Polym.* – 2016. – № 144. – P. 390–399. doi: 10.1016/j.carbpol.2016.02.080.
114. Biocompatibility and safety of insulin-loaded chitosan nanoparticles/PLGA-PEG-PLGA hydrogel (ICNPH) delivered by subconjunctival injection in rats / X. Rong, J. Yang, Y. Ji [et al.] // *J Drug Deliv Sci Technol.* – 2019. – № 49. – P. 556–562. doi: 10.1016/j.jddst.2018.12.032.
115. Başaran, E. Ocular application of chitosan / E. Başaran, Y. Yazan // *Expert Opin Drug Deliv.* – 2012. – Vol. 9. – № 6. – P. 701–712. doi: 10.1517/17425247.2012.681775.
116. Arafa, M.G. Chitosan-coated PLGA nanoparticles for enhanced ocular anti-inflammatory efficacy of atorvastatin calcium / M.G. Arafa, G.N.S. Girgis, M.S. El-Dahan // *Int J Nanomed.* – 2020. – № 15. – P. 1335–1347. doi: 10.2147/IJN.S237314.
117. Trimethyl chitosan-hyaluronic acid nano-polyplexes for intravitreal VEGFR-2 siRNA delivery: formulation and in vivo efficacy evaluation / F. Chaharband, N. Daftarian, M.R. Kanavi [et al.] // *Nanomedicine.* – 2020. – № 26. – P. 102181. doi: 10.1016/j.nano.2020.102181.
118. Thermosensitive glycol chitosan-based hydrogel as a topical ocular drug delivery system for enhanced ocular bioavailability / H. Shi, Y. Wang, Z. Bao [et al.] // *Int J Pharm.* – 2019. – № 570. – P. 118688. doi: 10.1016/j.ijpharm.2019.118688.
119. Hyaluronic acid in ocular drug delivery / X. Zhang, D. Wei, Y. Xu, Q. Zhu // *Carbohydr Polym.* – 2021. – № 264. – P. 118006. doi: 10.1016/j.carbpol.2021.118006.
120. Saranraj, P. Hyaluronic acid production and its applications – a review / P. Saranraj, A. Ali Noorani, M.A. Naidu // *Int J Pharm Biol Arch.* – 2013. – Vol. 4. – № 5. – P. 853–859. doi: 10.22377/ijpba.v4i5.1126.
121. Emerging roles of hyaluronic acid bioscaffolds in tissue engineering and regenerative medicine / M. Hemshekhar, R.M. Thushara, S. Chandranayaka [et al.] // *Int J Biol Macromol.* – 2016. – № 86. – P. 917–928. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.02.032.

122. The application of hyaluronic acid hydrogels to retinal progenitor cell transplantation / Y. Liu, R. Wang, T.I. Zarembinski [et al.] // *Tissue Eng Part A*. – 2013. – Vol. 19. – № 1-2. – P. 135–142. doi: 10.1089/ten.tea.2012.0209.

123. Self-sealing hyaluronic acid-coated 30-gauge intravitreal injection needles for preventing vitreous and drug reflux through needle passage / Y. Eom, S. Kim, J. Huh [et al.] // *Sci Rep*. – 2021. – Vol. 11. – № 1. – P. 16996. doi: 10.1038/s41598-021-96561-8.

124. Vasvani, S. Hyaluronic acid: a review on its biology, aspects of drug delivery, route of administrations and a special emphasis on its approved marketed products and recent clinical studies / S. Vasvani, P. Kulkarni, D. Rawtani // *Int J Biol Macromol*. – 2020. – № 151. – P. 1012–1029. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.11.066.

125. Jarvis, B. Topical 3% diclofenac in 2.5% hyaluronic acid gel: a review of its use in patients with actinic keratoses / B. Jarvis, D.P. Figgitt // *Am J Clin Dermatol*. – 2003. – Vol. 4. – № 3. – P. 203–213. doi: 10.2165/00128071-200304030-00007.

126. Díaz-Montes, E. Dextran: sources, structures, and properties / E. Díaz-Montes // *Polysaccharides*. – 2021. – № 2. – P. 554–565. doi: 10.3390/polysaccharides2030033.

127. Categorization of marketed artificial tear formulations based on their ingredients: a rational approach for their use / A. Kathuria, K. Shamloo, V. Jhanji, A. Sharma // *J Clin Med*. – 2021. – Vol. 10. – № 6. – P. 1289. doi: 10.3390/jcm10061289.

128. Chaiyasan, W. Crosslinked chitosan-dextran sulfate nanoparticle for improved topical ocular drug delivery / W. Chaiyasan, S.P. Srinivas, W. Tiyaboonchai // *Mol Vis*. – 2015. – № 21. – P. 1224–1234.

129. Dextran and protamine-based solid lipid nanoparticles as potential vectors for the treatment of X-linked juvenile retinoschisis / D. Delgado, A. del Pozo-Rodríguez, M.Á. Solinís [et al.] // *Hum Gene Ther*. – 2021. – Vol. 23. – № 4. – P. 345–355. doi: 10.1089/hum.2011.115.

130. Mudgil, D. Guar gum: processing, properties and food application – a review / D. Mudgil, S. Barak, B.S. Khatkar // *J Food Sci Technol*. – 2014. – Vol. 51. – № 3. – P. 409–418. doi: 10.1007/s13197-011-0522-x.

131. Guar gum as a promising starting material for diverse applications: a review / N. Thombare, U. Jha, S. Mishra, M.Z. Siddiqui // *Int J Biol Macromol.* – 2016. – № 88. – P. 361–372. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.04.001.

132. Efficacy and safety of dual-polymer hydroxypropyl guar- and hyaluronic acid-containing lubricant eyedrops for the management of dry-eye disease: a randomized double-masked clinical study / M. Labetoulle, S. Schmickler, D. Galarreta [et al.] // *Clin Ophthalmol.* – 2018. – № 12. – P. 2499–2508. doi: 10.2147/OPTH.S177176.

133. Multifunctional guar gum armed drug delivery system for the delivery of ofloxacin drug to treat ophthalmic diseases / Q. Shi, E.R.A.C. Daisy, G. Yang [et al.] // *Arab J Chem.* – 2021. – Vol. 14. – № 11. – P. 103118. doi: 10.1016/j.arabjc.2021.103118.

134. Cheng, K.-C. Pullulan: biosynthesis, production, and applications / K.-C. Cheng, A. Demirci, J.M. Catchmark // *Appl Microbiol Biotechnol.* – 2011. – Vol. 92. – № 1. – P. 29–44. doi: 10.1007/s00253-011-3477-y.

135. Prajapati, V.D. Pullulan: an exopolysaccharide and its various applications / V.D. Prajapati, G.K. Jani, S.M. Khanda // *Carbohydr Polym.* – 2013. – Vol. 95. – № 1. – P. 540–549. doi: 10.1016/j.carbpol.2013.02.082.

136. Recent insights on applications of pullulan in tissue engineering / R.S. Singh, N. Kaur, V. Rana, J.F. Kennedy // *Carbohydr Polym.* – 2016. – № 153. – P. 455–462. doi: 10.1016/j.carbpol.2016.07.118.

137. *In situ* gelling amphotericin B nanofibers: a new option for the treatment of keratomycosis / B. Göttel, H. Lucas, F. Syrowatka [et al.] // *Front Bioeng Biotechnol.* – 2020. – № 8. – P. 600384. doi: 10.3389/fbioe.2020.600384.

138. Girish Pai, K. Formulation and evaluation of extended release ocular inserts prepared from synthetic and natural biodegradable-biocompatible polymers / K. Girish Pai, M. Sreenivasa Reddy // *Res J Pharm Tech.* – 2014. – Vol. 7. – № 1. – P. 48–51. doi: 10.5958/0974-360X.

139. Liu, S. Nanomaterials for ocular drug delivery / S. Liu, L. Jones, F.X. Gu // *Macromol Biosci.* – 2012. – Vol. 12. – № 5. – P. 608–620. doi: 10.1002/mabi.201100419.

140. Maulvi, F.A. A review on therapeutic contact lenses for ocular drug delivery / F.A. Maulvi, T.G. Soni, D.O. Shah // *Drug Deliv.* 2016. – Vol. 23. – № 8. – P. 3017–3026. doi: 10.3109/10717544.2016.1138342.

141. Micro/nanoparticle delivery systems for ocular diseases / K. Halasz, S.J. Kelly, M.T. Iqbal [et al.] // *Assay Drug Dev Technol.* – 2019. – Vol. 17. – № 4. – P. 152–166. doi: 10.1089/adt.2018.911.

142. Trojan microparticles potential for ophthalmic drug delivery / S. Esteban-Pérez, I. Bravo-Osuna, V. Andrés-Guerrero [et al.] // *Curr Med Chem.* – 2020. – Vol. 27. – № 4. – P. 570–582. doi: 10.2174/0929867326666190905150331.

143. Nanocarriers for ocular drug delivery: current status and translational opportunity / S. Gorantla, V.K. Rapalli, T. Waghule [et al.] // *RSC Adv.* – 2020. – Vol. 10. – № 46. – P. 27835–27855. doi: 10.1039/D0RA04971A.

144. Pharmaceutical microscale and nanoscale approaches for efficient treatment of ocular diseases / I. Bravo-Osuna, V. Andrés-Guerrero, P.P. Abal [et al.] // *Drug Deliv Transl Res.* – 2016. – Vol. 6. – № 6. – P. 686–707. doi: 10.1007/s13346-016-0336-5.

145. Nano-based drug delivery system: recent strategies for the treatment of ocular disease and future perspective / Z. Qamar, F.F. Qizilbash, M.K. Iqbal [et al.] // *Recent Pat Drug Deliv Formul.* – 2019. – Vol. 13. – № 4. – P. 246–254. doi: 10.2174/1872211314666191224115211.

146. Momin, M.M. Nanoformulations and highlights of clinical studies for ocular drug delivery systems: an overview / M.M. Momin, S.D. Afreen // *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst.* – 2021. – Vol. 38. – № 4. – P. 79–107. doi: 10.1615/CritRevTherDrugCarrierSyst.2021035767.

147. Li, H. Poly(ortho ester) nanoparticles targeted for chronic intraocular diseases: ocular safety and localization after intravitreal injection / H. Li, M. Palamoor, M.M. Jablonski // *Nanotoxicology.* – 2016. – Vol. 10. – № 8. – P. 1152–1159. doi: 10.1080/17435390.2016.1181808.

148. pH-sensitive poly(ortho ester urethanes) copolymers with controlled degradation kinetic: synthesis, characterization, and in vitro evaluation as drug carriers /

S. Fu, G. Yang, J. Wang [et al.] // *Eur Polym J.* – 2017. – № 95. – P. 275–288. doi: 10.1016/j.eurpolymj.2017.08.023.

149. Transscleral delivery of bevacizumab-loaded chitosan nanoparticles / N. Uğurlu, M.D. Aşık, H.B. Çakmak [et al.] // *J Biomed Nanotechnol.* – 2019. – Vol. 15. – № 4. – P. 830–838. doi: 10.1166/jbn.2019.2716.

150. Effect of intravitreal injection of bevacizumab-chitosan nanoparticles on retina of diabetic rats / Y. Lu, N. Zhou, X. Huang [et al.] // *Int J Ophthalmol.* – 2014. – Vol. 7. – № 1. – P. 1–7. doi: 10.3980/j.issn.2222-3959.2014.01.01.

151. Pullulan-based nanoparticles as carriers for transmucosal protein delivery / M. Dionísio, C. Cordeiro, C. Remuñán-López [et al.] // *Eur J Pharm Sci.* – 2013. – Vol. 50. – № 1. – P. 102–113. doi: 10.1016/j.ejps.2013.04.018.

152. Sustained ocular delivery of ciprofloxacin using nanospheres and conventional contact lens materials / R. Garhwal, S.F. Shady, E.J. Ellis [et al.] // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 2012. – Vol. 53. – № 3. – P. 1341–1352. doi: 10.1167/iovs.11-8215.

153. Moxifloxacin loaded gelatin nanoparticles for ocular delivery: formulation and in-vitro, in-vivo evaluation / A. Mahor, S.K. Prajapati, A. Verma [et al.] // *J Colloid Interface Sci.* – 2016. – № 483. – P. 132–138. doi: 10.1016/j.jcis.2016.08.018.

154. Topical application of polymeric nanomicelles in ophthalmology: a review on research efforts for the noninvasive delivery of ocular therapeutics / M.A. Grimaudo, S. Pescina, C. Padula [et al.] // *Expert Opin Drug Deliv.* – 2019. – Vol. 16. – № 4. – P. 397–413. doi: 10.1080/17425247.2019.1597848.

155. Polymeric micelles for ocular drug delivery: From structural frameworks to recent preclinical studies / A. Mandal, R. Bisht, I.D. Rupenthal, A.K. Mitra // *J Control Release.* – 2017. – № 248. – P. 96–116. doi: 10.1016/j.jconrel.2017.01.012.

156. New micelle myricetin formulation for ocular delivery: improved stability, solubility, and ocular anti-inflammatory treatment / F. Sun, Z. Zheng, J. Lan [et al.] // *Drug Deliv.* – 2019. – Vol. 26. – № 1. – P. 575–585. doi: 10.1080/10717544.2019.1622608.

157. A novel approach of drug localization through development of polymeric micellar system containing azelastine HCl for ocular delivery / S. Devi, V. Saini, M. Kumar [et al.]. // *Pharm Nanotechnol.* – 2019. – Vol. 7. – № 4. – P. 314–327. doi: 10.2174/2211738507666190726162000.

158. Rafiei, F. Sustained subconjunctival drug delivery systems: current trends and future perspectives / F. Rafiei, H. Tabesh, F. Farzad // *Int Ophthalmol.* – 2020. – Vol. 40. – № 9. – P. 2385–2401. doi: 10.1007/s10792-020-01391-8.

159. Advances and limitations of drug delivery systems formulated as eye drops / C. Jumelle, S. Gholizadeh, N. Annabi, R. Dana // *J Control Release.* – 2020. – № 321. – P. 1–22. doi: 10.1016/j.jconrel.2020.01.057.

160. Ocular drug delivery for glaucoma management / N. Gooch, S.A. Molokhia, R. Condie [et al.] // *Pharmaceutics.* – 2012. – Vol. 4. – № 1. – P. 197–211. doi: 10.3390/pharmaceutics4010197.

161. Principles of pharmacology in the eye / S. Awwad, A.H.A.M. Ahmed, G. Sharma [et al.] // *Br J Pharmacol.* – 2017. – № 174. – P. 4205–4223. doi: 10.1111/bph.14024.

162. Corticosteroids in ophthalmology: drug delivery innovations, pharmacology, clinical applications, and future perspectives / S.A. Gaballa, U.B. Kompella, O. Elgarhy [et al.] // *Drug Deliv Transl Res.* – 2021. – Vol. 11. – № 3. – P. 866–893. doi: 10.1007/s13346-020-00843-z.

163. Janagam, D.R. Nanoparticles for drug delivery to the anterior segment of the eye / D.R. Janagam, L. Wu, T.L. Lowe // *Adv Drug Deliv Rev.* – 2017. – № 122. – P. 31–64. doi: 10.1016/j.addr.2017.04.001.

164. Challenges and opportunities for drug delivery to the posterior of the eye / F.J. Cabrera, D.C. Wang, K. Reddy [et al.] // *Drug Discov Today.* – 2019. – Vol. 24. – № 8. – P. 1679–1684. doi: 10.1016/j.drudis.2019.05.035.

165. Topical drug delivery to the posterior segment of the eye: Dexamethasone concentrations in various eye tissues after topical administration for up to 15 days to rabbits / S. Johannsdottir, P. Jansook, E. Stefansson [et al.] // *J Drug Deliv Sci Technol.* – 2018. – № 45. – P. 449–454. doi: 10.1016/j.jddst.2018.04.007.

166. Mucoadhesive nanoparticles for drug delivery to the anterior eye / N. Mangiacotte, G. Prosperi-Porta, L. Liu, M. Dodd // *Nanomaterials* (Basel). – 2020. – Vol. 10. – № 7. – P. 1400. doi: 10.3390/nano10071400.

167. Ocular drug delivery to the anterior segment using nanocarriers: A mucoadhesive/mucopenetrative perspective / R.S. Dave, T.C. Goostrey, M. Ziolkowska [et al.] // *J Control Release*. – 2021. – № 336. – P. 71–88. doi: 10.1016/j.jconrel.2021.06.011.

168. Gelling hypotonic polymer solution for extended topical drug delivery to the eye / Y.C. Kim, M.D. Shin, S.F. Hackett [et al.] // *Nat Biomed Eng*. – 2020. – Vol. 4. – № 11. – P. 1053–1062. doi: 10.1038/s41551-020-00606-8.

169. Development of a novel injectable drug delivery system for subconjunctival glaucoma treatment / K. Voss, K. Falke, A. Bernsdorf [et al.] // *J Control Release*. – 2015. – № 214. – P. 1–11. doi: 10.1016/j.jconrel.2015.06.035.

170. Microporous drug delivery system for sustained anti-VEGF delivery to the eye / C. Zhou, A. Singh, G. Qian [et al.] // *Transl Vis Sci Technol*. – 2020 – Vol. 9. – № 8. – P. 5. doi: 10.1167/tvst.9.8.5.

171. Sustained delivery of latanoprost by thermosensitive chitosan-gelatin-based hydrogel for controlling ocular hypertension / Y.-H. Cheng, K.-H. Hung, T.-H. Tsai [et al.] // *Acta Biomater*. – 2014. – Vol. 10. – № 10. – P. 4360–4366. doi: 10.1016/j.actbio.2014.05.031.

172. Montmorillonite/chitosan nanoparticles as a novel controlled-release topical ophthalmic delivery system for the treatment of glaucoma / J. Li, S. Tian, Q. Tao [et al.] // *Int J Nanomedicine*. – 2018. – № 13. – P. 3975–3987. doi: 10.2147/IJN.S162306.

173. Tahara, K. Feasibility of drug delivery to the eye's posterior segment by topical instillation of PLGA nanoparticles // K. Tahara, K. Karasawa, R. Onodera // *Asian J Pharm Sci*. – 2017. – Vol. 12. – № 4. – P. 394–399. doi: 10.1016/j.ajps.2017.03.002.

174. Kompella, U.B. Recent advances in ophthalmic drug delivery / U.B. Kompella, R.S. Kadam, V.H. Lee // *Ther Deliv*. – 2010. – Vol. 1. – № 3. – P. 435–456. doi: 10.4155/TDE.10.40.

175. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Под ред. А.Н. Миронова // Часть первая. М.: Гриф и К; 2012. С. 640–654.
176. Гуськова, Т.А. Токсикология лекарственных средств / Т.А. Гуськова // М.: МДВ; 2008. 196 с.
177. Setnikar, I. Tolerance indices of some-beta-phenoxyethylamino derivatives with local anaesthetic properties / I. Setnikar // *Arzneimittelforschung*. – 1966. – Vol. 16. – № 5. – P. 623–628.
178. Pandey, S. Evaluation of Pharmacological and Clinical Prophylactic Efficacy of Scrofoloso-12 Group of Electrohomoeopathy Medicine in Eye Disorder / S.Pandey, H. Singh, A. Mogra // *J Med Healthcare*. – 2022. – Vol. 4. – № 2. – P. 1–6. doi: 10.47363/JMHC/2022(4)187.
179. Badyal, D. Practical Manual of Pharmacology / D. Badyal // Jaypee Brothers Medical Pub: 2008. 434 p. doi: 10.5005/jp/books/10657.
180. Determination of phenylephrine in human plasma using ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry / S. Feng, Q. Zhao, J. Jiang, P. Hu // *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. – 2013. – Vol. 915–916. – P. 28–32. doi: 10.1016/j.jchromb.2012.12.019.
181. Гланц, С. Медико-биологическая статистика / Пер. с англ. д-ра физ.-мат. наук Ю.А. Данилова // Под ред. Н.Е. Бузикашвили и Д.В. Самойлова. М.: Практика; 1999. 459 с.
182. Клиническое и экспериментальное обоснование применения фенилэфрина с гипромеллозой в лечении перенапряжения аккомодации у пациентов с миопией / М.В. Махова, Е.В. Ших, В.В. Страхов [и др.] // *Русский медицинский журнал. Клиническая офтальмология*. – 2023. – Т. 23. – № 1. – С. 33–38. doi: 10.32364/2311-7729-2023-23-1-33-38.
183. Влияние гипромеллозы на динамику мидриатического эффекта фенилэфрина в эксперименте / Е.В. Блинова, Г.К. Полуосьмак, Е.А. Литвин [и др.] // *Российский офтальмологический журнал*. – 2023. – Т. 16. – № 1. – С. 119–126. doi: 10.21516/2072-0076-2023-16-1-119-126.

184. Природные полимеры как вспомогательные вещества для оптимизации мидриатического эффекта фенилэфрина гидрохлорида / Г.К. Полуосьмак, Б.Н. Хацукова, М.В. Ших [и др.] // Вестник «Биомедицина и Социология». – 2023. – Т. 8. – № 4. – С. 10–15. doi: 10.26787/nydha-2618-8783-2023-8-4-10-15.

185. Противовоспалительное действие и внутриглазная кинетика бромфенака при переднем увеите в зависимости от состава топической лекарственной формы / Е.В. Блинова, П.А. Лябушев, Е.А. Литвин [и др.] // Российский офтальмологический журнал. – 2024. – Т. 17. – № 4. – С. 70–77. doi: 10.21516/2072-0076-2024-17-4-70-77.

186. Шматок, Д.О. Хирургическая коррекция ишемического повреждения органов с помощью клеточно- и тканеинженерных конструкций: экспериментальное исследование: диссертация на соискание учёной степени кандидата медицинских наук: 3.1.9. Хирургия / Шматок Данил Олегович/ ФГБОУ ВО «НИМГУ им. Н.П. Огарева» Министерство науки и высшего образования Российской Федерации, ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). – М.;2022. –144 с.