

*На правах рукописи*



**Полуосьмак Галина Константиновна**

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

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология  
(фармацевтические науки)

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата фармацевтических наук

Москва – 2026

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

**Научный руководитель:**

член-корреспондент РАН

доктор медицинских наук, профессор

**Ших Евгения Валерьевна**

**Официальные оппоненты:**

**Пересыпкина Анна Александровна** – доктор биологических наук, доцент, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», кафедра фармакологии и клинической фармакологии, профессор кафедры

**Аксенова Светлана Владимировна** – доктор медицинских наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П.Огарёва», кафедра госпитальной хирургии с курсами травматологии и ортопедии, офтальмологии, профессор кафедры

**Ведущая организация:** федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы»

Защита состоится «24» февраля 2026 г. в 12:00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.20 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной учебной библиотеке ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (119034, г. Москва, Зубовский бульвар, д.37/1) и на сайте: <https://www.sechenov.ru>

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2026 г.

Ученый секретарь диссертационного совета  
доктор медицинских наук, профессор



**Дроздов Владимир Николаевич**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### 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 зачастую возникает необходимость расширения зрачка. Так, в офтальмологии осмотр внутренних сред и анатомических структур глаза, в частности, глазного дна, проведение хирургических вмешательств на органе зрения, возможен только при расширенном зрачке (M. Iftikhar, S.A. Abariga et al. 2021)

Для формирования фармакологического мидриаза используются лекарственные препараты – мидриатики (Mapstone, R.,1970). В зависимости от химической структуры, пути введения, механизма действия лекарственного препарата (ЛП), скорости наступления эффекта, глубина и продолжительность мидриаза широко варьируют (Mapstone, R.,1970). Топическое применение блокаторов М-холинорецепторов круговой мышцы радужки глаза приводит к глубокому эффекту, продолжающемуся до 24 часов, что не всегда удобно и может негативно влиять на качество жизни пациентов (Muneeb, F.,2019). Использование агонистов альфа-адренорецепторов, таких как фенилэфрина гидрохлорид, позволяет добиваться оптимального фармакологического мидриаза, характеризующегося ускорением времени достижения максимальной ширины зрачка и сокращением продолжительности эффекта, как за счет воздействия на адренергический компонент регуляции тонуса круговой мышцы радужки, так и за счет аффинности и времени связывания молекулы действующего вещества с рецептором (Burns, S.M. 1989, Craig, E.W.,1991).

Вместе с тем, современная офтальмология предъявляет высокие требования к лекарственным препаратам и их лекарственным формам для предотвращения развития местного раздражающего действия, повышения управляемости выделением активного действующего вещества и др. Эти задачи могут быть решены путем введения природных биополимеров в состав лекарственных форм для топического применения. Одними из таких повсеместно распространенных в природе биополимеров являются гипромеллоза или гидроксипропилметилцеллюлоза и гиалуроновая кислота (Guarve, K., 2021). Уникальность этих полимеров заключается в том, что в зависимости от выбранного при их производстве молекулярного веса можно получать вещества с заданными параметрами вязкости, эмульгирования, поверхностного натяжения, связи с активными веществами ЛП и внутренних сред организма, адгезии (Ueda, K., 2020). 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**

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

Также в многочисленных экспериментальных и клинических исследованиях показан значительный эффект гиалуроновой кислоты в лечении синдрома сухого глаза и стабилизации состава и объема слезной пленки глаза у пациентов.

В настоящее время на фармацевтическом рынке находятся несколько образцов глазных капель, содержащих в качестве действующего вещества фенилэфрина гидрохлорид. В то же время, характеристика основных эффектов, частота развития нежелательных реакций на фоне их применения по мнению представителей профессионального сообщества варьирует. Описанные обстоятельства определяют высокий интерес исследователей и представителей фармацевтической индустрии к изучению и обоснованию фармакологических феноменов, возникающих вследствие использования биологических полимеров в составе топических лекарственных форм и обуславливают потребность проведения настоящего исследования.

Постановка научного вопроса, требующего разрешения при выполнении настоящей диссертации базировалась на предположении о том, что применение в составе топических лекарственных форм природных полимеров, таких как гипромеллоза и гиалуроновая кислота, в сочетании с синтетическим полимером полиэтиленгликолем позволит за счет оптимизации внутриглазной кинетики действующего вещества, повышения его биодоступности, снижения выраженности местных реакций на глаз оптимизировать мидриатический эффект адреномиметика фенилэфрина гидрохлорида.

## **Цель и задачи исследования**

В сравнительном *in vivo* исследовании определить основные характеристики мидриатического эффекта готовых лекарственных форм глазных капель фенилэфрина гидрохлорида, содержащих и не содержащих полимерные компоненты, а также изучить их локальную биодоступность и влияние на слизистую оболочку глаза.

1. Оценить влияние природного полимера растительного происхождения гидроксипропилметилцеллюлозы в составе готовой лекарственной формы – глазных капель на

характеристики мидриатического эффекта 2,5% раствора фенилэфрина гидрохлорида у бодрствующего лабораторного кролика.

2. Изучить скорость достижения максимального расширения зрачка глаза бодрствующего лабораторного кролика, глубину и продолжительность мидриаза под действием готовой лекарственной формы фенилэфрина гидрохлорида, содержащей природный полимер животного происхождения гиалуроновую кислоту и синтетический полимер полиэтиленгликоль 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 готовой лекарственной формы – 2,5% глазных капель фенилэфрина гидрохлорида, содержащих в качестве вспомогательного вещества природные и синтетические полимерные вещества или без таковых.

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

5. Изучить микроморфологические особенности наружной, средней и внутренней оболочек глаза лабораторного кролика после однократной инстилляцией в конъюнктивальный мешок 1 капли готовой лекарственной формы – 2,5% глазных капель фенилэфрина гидрохлорида, содержащих в качестве вспомогательного вещества гипромеллозу, гиалуроновую кислоту с полиэтиленгликолем 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 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 два раза снижается время достижения максимального мидриаза и на 50% увеличивается длительность расширения зрачка, при этом глубина мидриаза не зависит от присутствия в составе капель полимера.

Также показано, что введение в состав глазных капель с 2,5% фенилэфрина гидрохлоридом природного полимера гиалуроновой кислоты в комбинации с синтетическим полимером полиэтиленгликолем 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 гиалуроновая кислота и полиэтиленгликоль не изменяют глубину мидриаза.

С использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием в точке 5 минут 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 гиалуроновой кислоты 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). 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 конъюнктивный мешок глаза бодрствующего кролика, в то время как применение глазных капель с гиалуроновой кислотой и полиэтиленгликолем 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 конъюнктивный мешок лабораторного кролика вне зависимости от наличия и состава полимерных компонентов все исследуемые 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 проанализированы 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 гиалуроновой кислоты.

Измерение концентрации действующего вещества во влаге передней камеры глаза кролика в точке 5 минут 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 готовых глазных топических жидких 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 вспомогательного вещества природный полимер растительного происхождения гипромеллозу, природный полимер животного происхождения гиалуроновую кислоту и синтетический полимер полиэтиленгликоль на динамику развития мидриатического эффекта (время начала, время достижения максимальной выраженности, продолжительность максимальной выраженности), глубину и длительность максимального мидриатического эффекта оценивали у бодрствующего фиксированного в специальном холдере половозрелого кролика мужского пола породы «Советская шиншилла». Готовая лекарственная форма (ГЛФ) исследуемого лекарственного препарата вводилась однократно в конъюнктивальный мешок в объеме 1 капли в выбранный случайным образом глаз животного, второй глаз животного

служил в качестве контроля – в конъюнктивальный мешок второго глаза одновременно с введением 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 центр камеры и глаза располагалась параллельно горизонтальной плоскости. Предметом регистрации являлись время начала мидриатического эффекта, скорость достижения максимальной ширины зрачка, значение максимальной ширины зрачка, длительность максимального мидриатического эффекта.

Наличие и глубина местного раздражающего действия на ткани переднего отрезка глаза при введении 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 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 готовых глазных топических жидких 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 вспомогательного вещества природный полимер растительного происхождения гипромеллозу, природный полимер животного происхождения гиалуроновую кислоту и синтетический полимер полиэтиленгликоль 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 мужского пола породы «Советская шиншилла». В

точке 5 минут производилась пункция передней камеры глаза стерильной иглой G24 на 1 мм выше склероконъюнктивальной границы) и забиралось 0,25 мл жидкости с помощью электронной программируемой инъекционной помпы Genie Touch (Kent Scientific Corp., США). Количественное определение действующего вещества проводилось методом высокоэффективной жидкостной хроматографии 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 BioStat (версия 5.8) и SPSS (версия 16.0).

### **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.

## **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 предположить, 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.

## **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Диссертационное исследование соответствует Паспорту специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология, а именно: п. 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 п. 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».

## **Степень достоверности и апробация результатов проведенных исследований**

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 GLP, применение в исследовании готовых лекарственных форм лекарственных препаратов 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.

Результаты диссертационного исследования были представлены в рамках конференций VI Съезда фармакологов России 20–24 ноября 2023 и XXV Международный конгресс "Здоровье и образование в XXI веке".

### **Публикации по теме диссертации**

По результатам исследования автором опубликовано 5 работ, в том числе 1 статья в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета / Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание учёной степени кандидата наук; 2 статьи в изданиях, индексируемых в международных базах Web of Science, Scopus; 1 иная публикация, 1 публикация в сборниках материалов конференций.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертационная работа выполнена по традиционному для медицинских диссертаций плану, имеет завершённую и четкую 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 двадцатью восемью рисунками и шестью таблицами. Библиографический список содержит выходные данные 186 работ, из которых 9 работ отечественных и 177 – зарубежных авторов.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Материалы и методы исследования**

Диссертационное исследование выполнено на кафедре клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

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), а также стандартным операционным процедурам (СОП) 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) (рисунок 1):

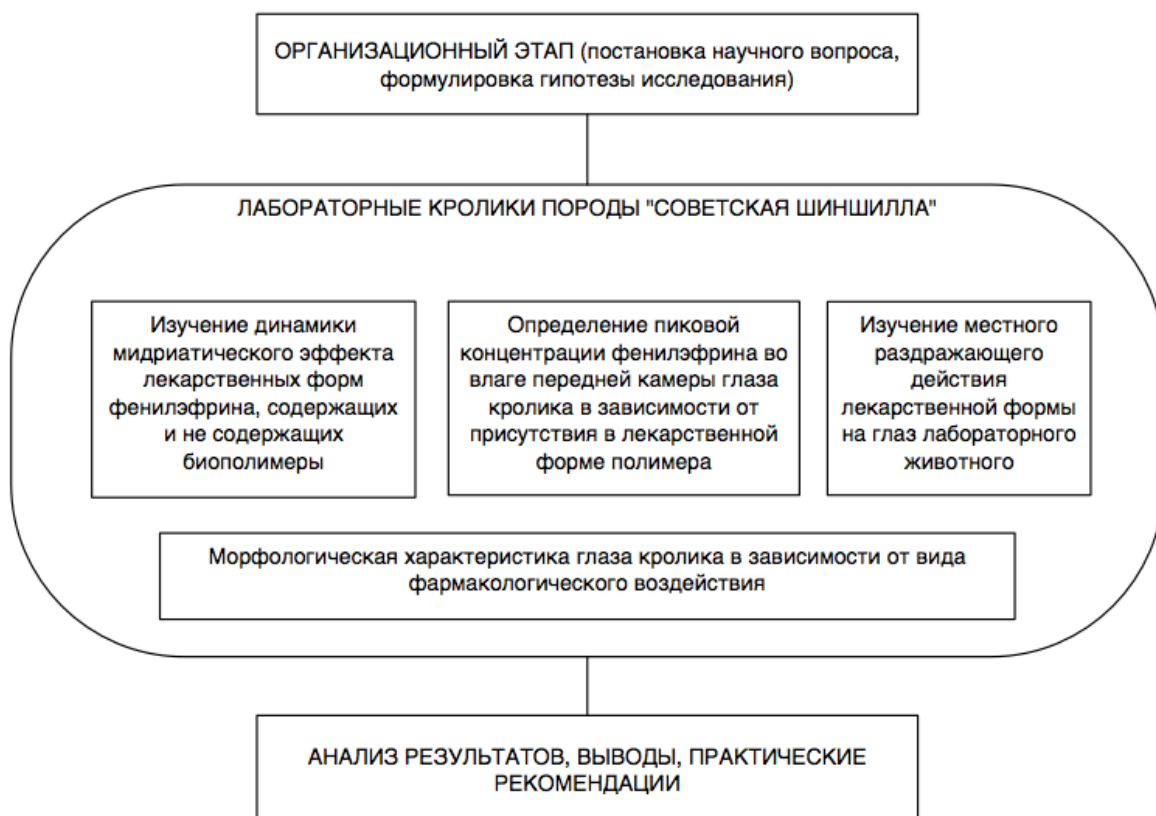


Рисунок 1 – Дизайн экспериментально-фармакологического исследования

Объектом исследования являлись готовые лекарственные формы (ГЛФ) двух лекарственных препаратов, содержащих в качестве действующего вещества фенилэфрин, и биополимер гипромеллозу – «Препарат 1» и «Препарат 2», а также «Препарат 3», не содержащий в качестве вспомогательного вещества гипромеллозу и «Препарат 4», содержащий в качестве вспомогательного вещества гиалуроновую кислоту (в виде натриевой соли) и полиэтиленгликоль (ПЭГ).

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).

Влияние исследуемых лекарственных форм фенилэфрина (не содержащей в своем составе биополимеров, содержащих 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» после однократной инстилляцией глазных капель в правый конъюнктивальный мешок. Другой глаз служил контролем: в него одновременно 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

Оценку наличия и глубину местного раздражающего действия на роговицу глаза проводили визуально с использованием операционного микроскопа Zeiss Pico по следующим параметрам: смыкание век, слезотечение (лакримация), наличие выделений, отек век, конъюнктивы, мигательной перепонки. Оценка проводилась по балльной шкале.

Концентрацию действующего вещества исследуемых лекарственных форм фенилэфрина (не содержащей в своем составе биополимеров, содержащей биополимер гипромеллозу, содержащей биополимер гиалуроновую кислоту и 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 мужского пола породы «Советская шиншилла» методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием по методу I.Setnicar в собственной модификации.

Для проведения статистической сводки, группировки, обработки и математического анализа полученных в исследовании экспериментальных результатов использовали современные и валидные методы статистического анализа, 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 функциональных возможностей критериев оценки множественных сравнений Ньюмена-Кейлса. При

ненормальном распределении данных для сравнения независимых выборок применяли 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 VoiStat и SPSS (версия 16.0).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На первом этапе исследования были изучены особенности мидриатического эффекта четырех исследуемых лекарственных форм фенилэфрина (двух форм, содержащих биополимер гипромеллозу – «Препарат 1» и «Препарат 2», не содержащий в своем составе биополимеров – «Препарат 3», и одной формы, содержащей биополимер ГК и синтетический полимер ПЭГ – «Препарат 4»).

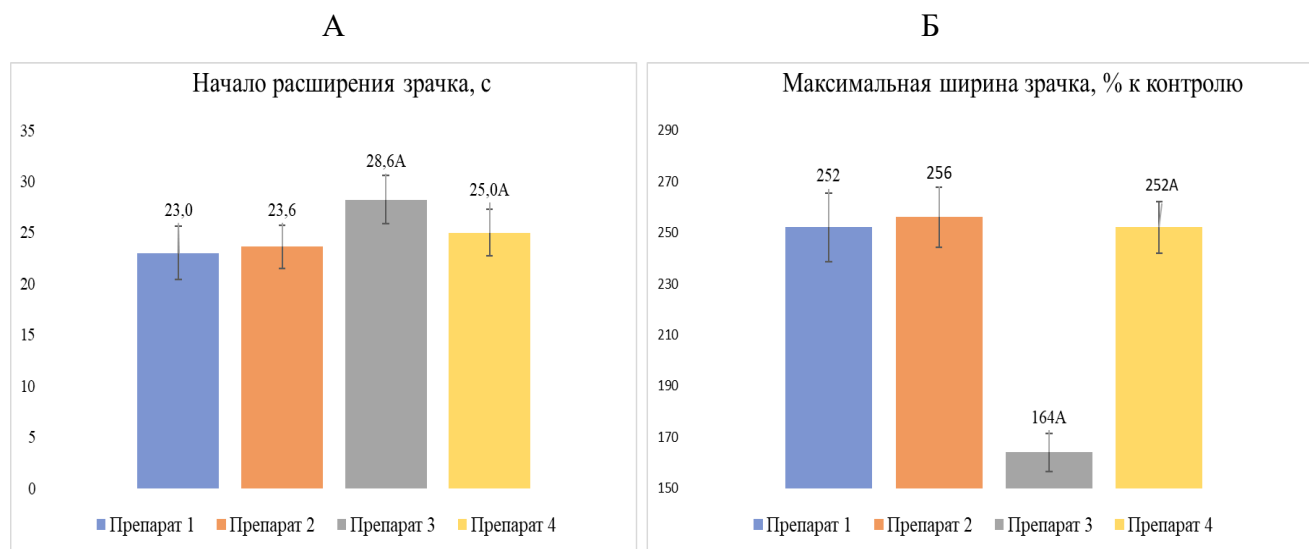
На фоне инстилляции 1 капли ГЛФ «Препарат 1», содержащей полимер гипромеллозу и консервант, время начала расширения зрачка составляло  $23,0 \pm 2,6$  с; максимальная ширина зрачка достигала  $252,00 \pm 13,56\%$  к контрольным значениям, время достижения максимальной ширины зрачка равнялось в среднем  $12,8 \pm 1,6$  мин, в то время как длительность максимального мидриаза была равна  $39,00 \pm 1,59$  мин (рисунок 2).

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 (рисунок 2).

Время начала расширения зрачка при введении «Препарата 3» составляло  $28,6 \pm 2,25$  с; максимальная ширина зрачка достигала лишь  $164,0 \pm 7,48\%$  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») (рисунок 2)..

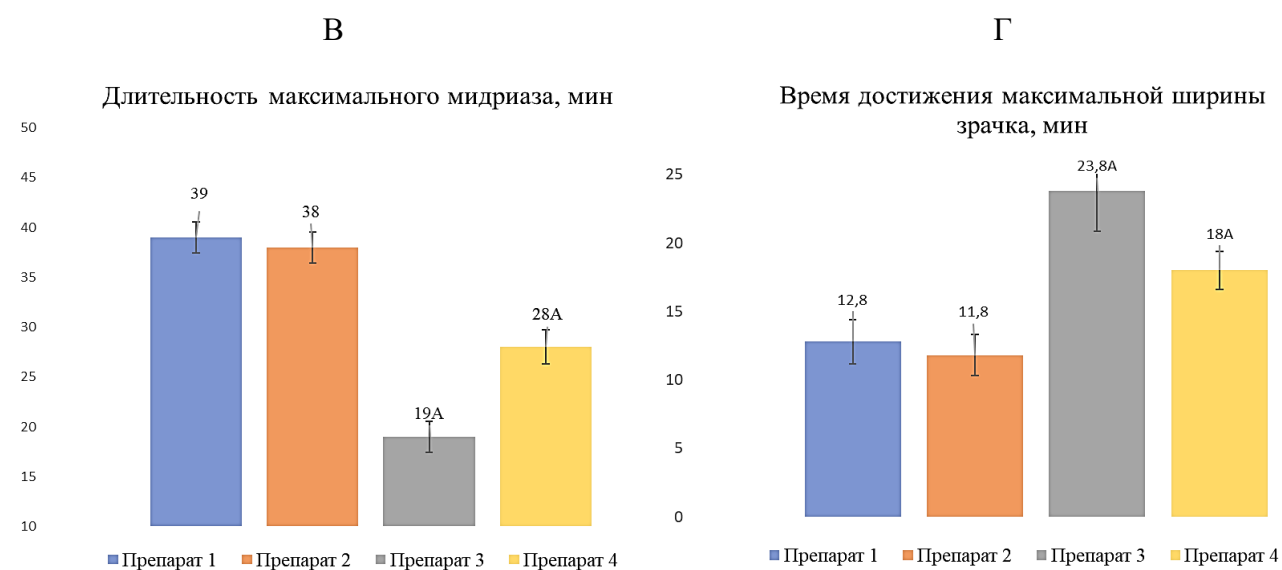
ГЛФ «Препарат 4» – лекарственная форма фенилэфрина с ГК и ПЭГ – продемонстрировала следующие эффекты при инстилляции 1 капли в конъюнктивальный мешок глаза кролика: время начала расширения зрачка составляло  $25,0 \pm 2,3$  с; максимальная ширина зрачка достигала  $252,0 \pm 10,2\%$  по отношению к контрольным 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») (рисунок 2).



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

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



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

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

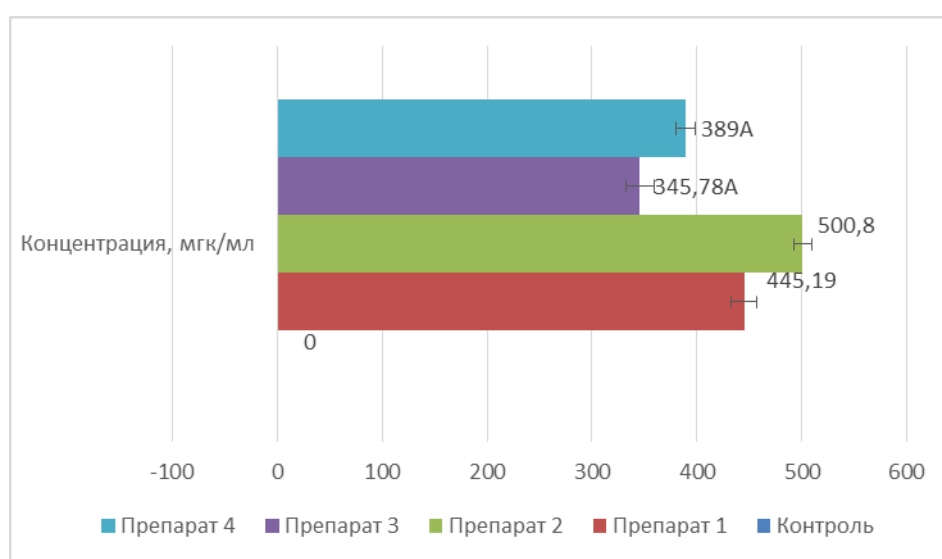
Рисунок 2 - Особенности мидриатического эффекта на фоне инстилляций 1 капли исследуемых ГЛФ: А - Время начала расширения зрачка (в с), Б - Максимальная ширина зрачка (в % к контрольным значениям), В - Длительность максимального расширения зрачка глаза кролика (в мин), Г - Время достижения максимальной ширины зрачка (в мин)

Следовательно, однократная инстилляцией 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.

На втором этапе проводилось количественное определение действующего вещества методом ВЭЖХ с тандемным масс-спектрометрическим детектированием по методу, описанному S. Pandey и соавт. в собственной модификации.

В точке 5 мин после закапывания 1 капли растворов исследуемых веществ во влаге передней камеры глаза 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 без консерванта, –  $500,80 \pm 8,56$  мкг/мл, «Препарат 3», содержащей 2,5% раствор фенилэфрина в отсутствии каких-либо полимерных конституентов, –  $345,78 \pm 13,95$  мкг/мл. ГЛФ «Препарат 4», содержащей 2,5% раствор фенилэфрина в присутствии природного полимера ГК и синтетического полимера ПЭГ, –  $389,00 \pm 8,75$  мкг/мл (рисунок 3).



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

Рисунок 3 – 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 инстилляций 1 капли ГЛФ «Препарат 1» и «Препарат 2» были

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.

На третьем этапе было изучено 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.

У животных контрольной серии инстилляцией 1 капли подогретого стерильного изотонического 0,9% раствора хлорида натрия не вызывала местного раздражающего действия. 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 4,5).

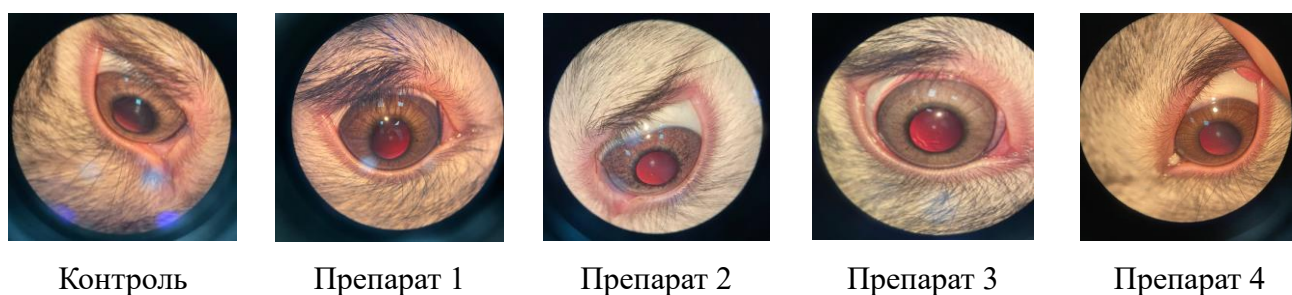
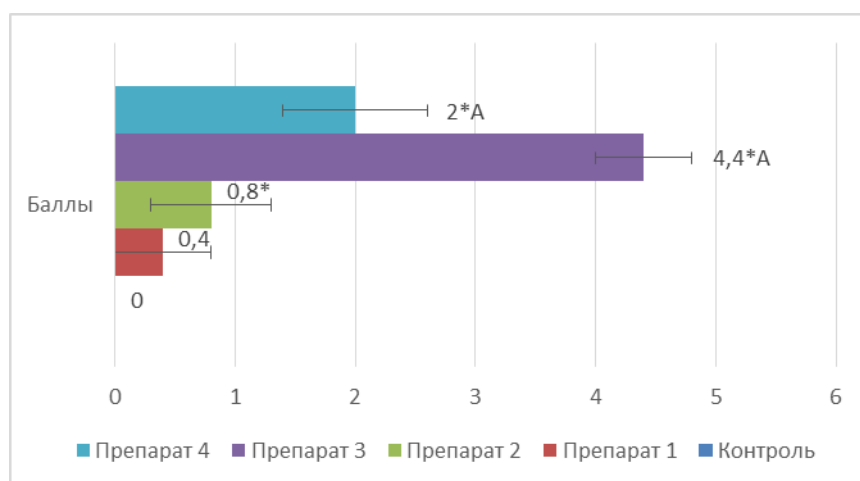


Рисунок 4 - Глаз кролика на фоне инстилляцией 1 капли исследуемых ГЛФ, содержащих 2,5% раствор фенилэфрина (операционный микроскоп Zeiss pico (Германия))

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 4,5).

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 4,5).

На фоне инстилляций 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  $2,0 \pm 0,6$  (рисунок 4,5).



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

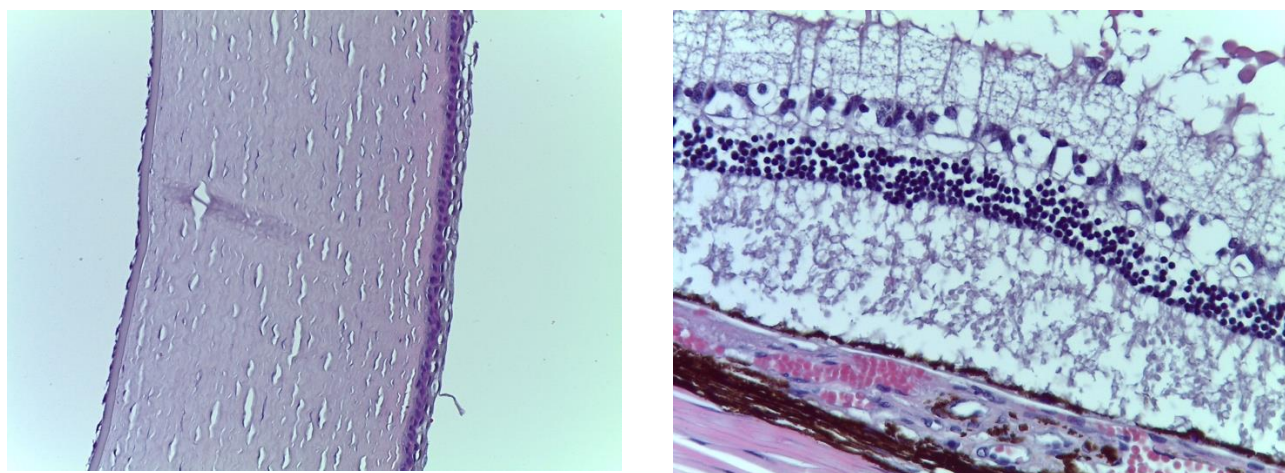
Рисунок 5 – Характеристика местного раздражающего действия ГЛФ в баллах (данные представлены в виде  $M \pm SD$ )

На завершающем этапе 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.

В интактном глазе кролика наружная оболочка была 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 имела визуальных изменений.

При морфологическом исследовании роговиц кроликов после однократной инстилляцией 2,5% раствора фенилэфрина с гипромеллозой «Препарат 1» 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 6А). Радужная оболочка и сетчатка имели нормальное строение, без патологических изменений (Рисунок 6Б).

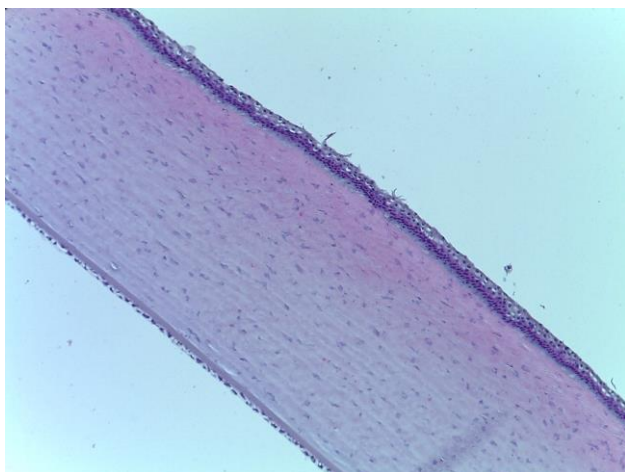


А

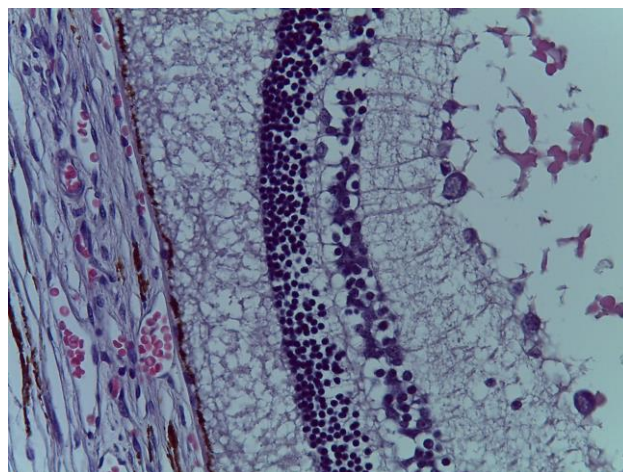
Б

Рисунок 6 – Микропрепарат сагиттального разреза глаза кролика на фоне инстилляцией 1 капли 2,5% фенилэфрина гидрохлорида, содержащего гипромеллозу «Препарат 1»: А – роговица, Б – сетчатка. Гематоксилин, эозин,  $\times 200$

При гистологическом исследовании переднего эпителия роговицы кроликов после инстилляцией фенилэфрина гидрохлорида с гипромеллозой «Препарат 2» в единичных клетках наблюдались слабовыраженные дистрофические изменения, характеризовавшиеся просветлением цитоплазмы в околядерных зонах (рисунок 7).



А



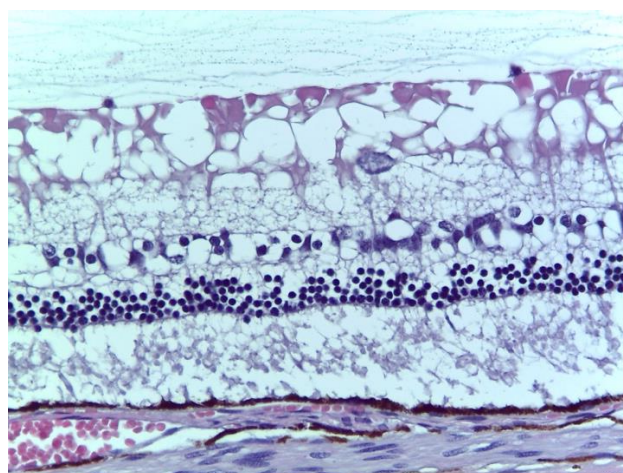
Б

Рисунок 7 – Микропрепарат сагиттального разреза глаза кролика на фоне инстилляций 1 капли 2,5% фенилэфрина гидрохлорида, содержащего гипромеллозу «Препарат 2»: А – роговица, Б – сетчатка. Гематоксилин, эозин,  $\times 200$

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) - «Препарат 4». Строма роговицы глаза кролика состояла из параллельных пластин, образованных пучками коллагеновых волокон. Десцеметова мембрана визуализировалась в виде плотной однородной ленты, не была нарушена на всем протяжении микропрепарата; в ее структуре изменений обнаружено не было). Средняя – радужная – оболочка глаза, а также внутренняя оболочка (сетчатка) имели нормальное строение, без патологических изменений (рисунок 8 А).



А



Б

Рисунок 8 – Микропрепарат сагиттального разреза глаза кролика на фоне инстилляций 1 капли 2,5% фенилэфрина гидрохлорида, содержащего гиалуроновую кислоту и полиэтиленгликоль «Препарат 4»: А – роговица, Б – сетчатка. Гематоксилин, эозин,  $\times 200$

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 (рисунок 8 Б).

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. 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 9 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 9 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.

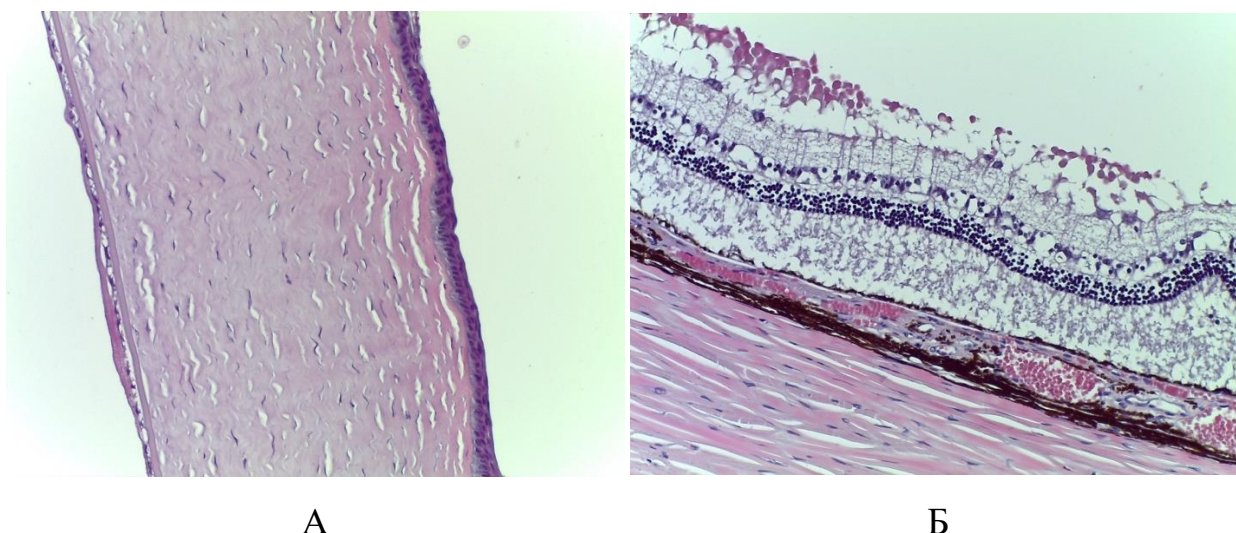


Рисунок 9 – Микропрепарат сагиттального разреза глаза кролика на фоне инстилляции 1 капли 2,5% раствора фенилэфрина гидрохлорида, не содержащего природных и синтетических полимерных веществ в своем составе «Препарат 3»: А – роговица, Б – сетчатка. Гематоксилин, эозин,  $\times 200$

Следовательно, однократная инстилляция 1 капли ГЛФ лекарственных препаратов «Препарат 1» и «Препарат 2», содержащих помимо 2,5% действующего вещества природный полимер гипромеллозу, и отобранного аналога «Препарата 4», 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.

## ВЫВОДЫ

1. 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 два раза снижается время достижения максимального мидриаза и на 50% увеличивается длительность расширения зрачка лабораторного кролика.

2. Введение в состав глазных капель, содержащего 2,5% фенилэфрин гидрохлорид природного полимера гиалуроновой кислоты в комбинации с синтетическим полимером полиэтиленгликолем 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 ГЛФ 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 гиалуроновой кислоты 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, 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 гиалуроновой кислотой и полиэтиленгликолем 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.

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 применение ГЛФ без полимеров сопровождается незначительными патоморфологическими изменениями в виде периваскулярного отека склеры, разрыхления стромы роговицы и явлениями умеренной дистрофии клеток роговичного 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 гиалуроновой кислоты.

2. Измерение концентрации действующего вещества во влаге передней камеры глаза кролика в точке 5 минут 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 ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Клиническое и экспериментальное обоснование применения фенилэфрина с гипромеллозой в лечении перенапряжения аккомодации у пациентов с миопией / Махова М.В., Ших Е.В., Страхов В.В., Блинов Д.С., **Полуосьмак Г.К.**, Семелева Е.В., Блинова Е.В. // **Клиническая офтальмология.** – 2023. Т. 23. № 1. – С. 33 -38. [Scopus]

2. Влияние гипромеллозы на динамику мидриатического эффекта фенилэфрина в эксперименте/ Блинова Е.В., **Полуосьмак Г.К.**, Литвин Е.А., Блинов Д.С., Ших М.В., Вавилова О.С., Василькина О.В., Ших Е.В. // **Российский офтальмологический журнал.** –2023. Т. 16. № 1. – С. 119-126. [Scopus]

3. Природные полимеры как вспомогательные вещества для оптимизации мидриатического эффекта фенилэфрина гидрохлорида / **Полуосьмак Г.К.**, Хацукова Б.Н., Ших М.В., Блинова Е.В., Степаненко И.С., Ших Е.В. // Вестник «Биомедицина и социология». – 2023. Т. 8. № 4. –С. 10-15.

4. Роль гипромеллозы в формировании мидриатического эффекта фенилэфрина (экспериментальное исследование) / Блинова Е.В., **Полуосьмак Г.К.**, Ших Е.В., Блинов Д.С., Вавилова О.С. // Экспериментальная и клиническая фармакология Материалы VI Съезда фармакологов России «Смена поколений и сохранение традиций. Новые идеи – новые лекарства». МО, Мытищинский р-н, Поведники 20-24 ноября 2023 г., Т. 86. № 11S. – С. 19.

5. Роль вспомогательных компонентов глазных капель в реализации фармакологического эффект фенилэфрина. / **Полуосьмак Г.К.**, Сергеева О.В., Блинова Е.В., Цветков С.В., Зотов С.Е., Ших Е.В.// **Фармакология & Фармакотерапия.** – 2025. № 2. – С. 32-34

### **СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

ГЛФ – готовая лекарственная форма

ЛП – лекарственный препарат

ПЭГ – полиэтиленгликоль