УДК 617.713-002.256 DOI: 10.15372/SSMJ20180510

НОВЫЙ СПОСОБ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ К ГЛАЗНОЙ ПОВЕРХНОСТИ

Татьяна Николаевна САФОНОВА, Ольга Владимировна ГЛАДКОВА, Наталия Павловна КИНТЮХИНА

НИИ глазных болезней
119021, г. Москва, ул. Россолимо, 11, корп. А, Б

Эффективность местного применения различных лекарственных средств в офтальмологии составляет не более 3 % из-за наличия анатомических и физиологических барьеров. Достижение терапевтического эффекта возможно при увеличении концентрации или кратности использования препарата. В статье представлены результаты по разработке нового типа лечебной контактной линзы для депонирования лекарственных препаратов с целью сокращения сроков лечения и получения результата без повторных манипуляций. Дана количественная оценка содержания препарата в линзе. Методом спектрометрии определена динамика выхода лекарственного вещества из линзы. Практически полная элиминация препарата из депо мягкой контактной линзы (МКЛ) (как на наружной, так и на внутренней поверхности линзы) наблюдается на 13–14-е сутки. С помощью метода хроматографии доказано отсутствие диффузии лекарства из насыщенных МКЛ при хранении в буферных растворах. Конструктивные особенности линзы (депо с лекарственным препаратом на наружной и/или внутренней поверхности лечебной МКЛ) дают возможность дозированного и направленного воздействия на различные структуры, составляющие глазную поверхность. Наличие прозрачного оптического центра позволяет сохранить высокие зрительные функции. При необходимости пролонгации терапии возможно повторное насыщение той же МКЛ лекарственным веществом.

Ключевые слова: лечебная мягкая контактная линза, циклоспорин А, спектрометрия, хроматография.

Эффективность доставки лекарственных веществ пораженным тканям всегда была актуальной задачей медицины. Особенно это касается офтальмологии, поскольку при местном применении лекарственных препаратов в виде капель, гелей, мазей, суспензии, инъекций и глазных лекарственных пленок не всегда возможно добиться желаемого клинического эффекта в короткие сроки и/или сохранить полученный результат без повторных манипуляций. Это связано с наличием анатомических и физиологических барьеров глаза, к которым относятся эпителий и строма роговицы [16]. Частичная потеря лекарственных средств происходит вследствие всасывания в сосуды лимбальной области [1]. Слезная жидкость, секретируемая слезными железами, также относится к физиологическим барьерам глаза. Постоянный ток слезы на глазной поверхности, обусловленный актом моргания и функционированием системы слезоотведения, способствует «разведению» и эвакуации лекарственных препаратов с глазной поверхности. В результате роговица поглощает не более 5% от первоначальной концентрации действующего вещества [8].

Повышение биодоступности препаратов возможно за счет увеличения концентрации лекарственного вещества либо кратности применения. Однако это может привести к развитию нежелательных побочных эффектов и снижению комплаенса [10]. Решением данной проблемы могли стать лечебные мягкие контактные линзы (МКЛ), насыщенные лекарственными веществами, поскольку они способствуют уменьшению системной абсорбции препаратов и повышению точности их дозирования. Биодоступность лекарств при использовании таких линз достигает 50 %, тогда как при капельных инстилляциях – только 2–3 % [12]. Эта идея нашла свое воплощение в работах O. Wichterle и D. Lim, которые в 1965 г. разработали МКЛ из поли-2-гидроксиэтилметакрилата. Авторы проводили насыщение МКЛ путем замачивания дегидратированных линз в растворе борной кислоты, основываясь на механизме абсорбции гидрофильного лекарственного вещества гидрогелем [6]. Это исследование дало толчок к изучению возможности насыщения МКЛ методом замачивания в растворах разных лекарственных веществ [6].

Сафонова Т.Н. *– к.м.н., ведущий научный сотрудник, e-mail: safotat@mail.ru*
Гладкова О.В. *– аспирант, e-mail: lykicheva_olga@mail.ru*
Кинтюхина Н.П. *– младший научный сотрудник, e-mail: natakint@yandex.ru*

Появление новых материалов с повышенной кислородопроницаемостью стало дополнительным фактором в пользу предложенного способа. Для замедления выхода лекарственного вещества из МКЛ на глазную поверхность в линзы стали дополнительно загружать витамин Е. Как показали экспериментальные работы C. Peng с соавторами, концентрация витамина Е в линзах с течением времени не меняется [14]. Исследованиями других авторов доказано, что продолжительность высвобождения лекарственного вещества из МКЛ по сравнению с линзой без витамина Е увеличивается в 20–100 раз для гидрофильных препаратов, в 7–15 раз для гидрофобных лекарственных средств [11, 13]. M. Byrne и соавт. удалось синтезировать молекулярно-импринтированные МКЛ с возможностью последующего насыщения веществами с высокой молекулярной массой за счет образования нековалентных взаимодействий и водородных связей между полимером линзы и лекарственным препаратом, что позволяло удерживать препарат в МКЛ [3, 19]. A. Chauhan и соавт. загружали в МКЛ специально разработанные липосомы и микроэмульсии, содержащие крупные молекулы лекарственного вещества, последние выходили из МКЛ в течение 4–8 дней в зависимости от размера частиц [4]. Для пролонгирования выхода вещества из МКЛ Danion A. и соавт. предложили модифицировать поверхности МКЛ с помощью реакции полимеризации [5]. Еще одним решением вопроса было предложение использовать МКЛ, состоящие из нескольких слоев разных материалов и лекарственных веществ, что способствовало замедлению диффузии препарата на глазную поверхность [15]. A.L. Weiner запатентовал МКЛ, в которой лекарственное вещество содержалось в кольцевидной полости, проходящей по краю в толще линзы и разделенной на отсеки [18].

Вышеперечисленным линзам свойственен единый механизм выхода препарата из МКЛ на глазную поверхность, основанный на диффузии по градиенту концентрации без учета влияния давления век на поверхность МКЛ при моргании. Последнее обстоятельство, как доказали исследования R. Galante, является важным фактором воздействия на скорость выхода лекарства из МКЛ и суммарную концентрацию вещества на глазной поверхности [9]. В настоящее время нерешенной является проблема сохранения массы лекарственного вещества в МКЛ во время стерилизации и хранения (при замачивании в буферных растворах оно будет диффундировать из линзы в раствор). Попыткой решения проблемы стала МКЛ, предложенная S. Waite [17], которая содержит встроенный в толщу линзы модуль (объемом 3–12 мкл), сквозные и несквозные хаотично расположенные на внутренней поверхности МКЛ отверстия, заполненные оптически прозрачным лекарственным веществом. Отверстия имели диаметр от 100 до 500 нм, что позволяло ингибировать диффузию препарата из МКЛ за счет поверхностного натяжения раствора в отверстиях. Концентрация лекарственного средства снижалась на 5–15 % в день в зависимости от конструкции линзы и частоты моргания, что позволяло эффективно использовать МКЛ в течение 2–7 дней, периодически перенасыщая лекарственным веществом, и хранить в буферных растворах до востребования. Основной недостаток линзы – невозможность ее насыщения оптически непрозрачными веществами из-за локализации модуля в оптической зоне, а расположенные на задней поверхности линзы отверстия позволяют воздействовать только на подлежащие ткани.

Целью настоящей работы явилось усовершенствование лечебной МКЛ, позволяющей как целенаправленно и дозированно воздействовать на конкретные структуры глазной поверхности, так и расширить спектр насыщающих линзу препаратов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Линзу изготавливали из силикон-гидрогеля методом сферотокарного точения лазерным инструментом (НИИ глазных болезней им. Гельмгольца, Москва). Диаметр линзы от 14,3 до 15 мм, в зависимости от размеров глаза, с учетом перекрытия линзой лимбальной зоны. По краю линзы расположена фаска шириной 1 мм, радиусом на 1 мм больше внутреннего радиуса МКЛ, что способствует минимальному смещению при моргании и экскурсии глазного яблока, увеличению подлинзового пространства. Линза имеет прозрачный центр, а также различное количество несквозных депо для лекарственного вещества, которые расположены на наружной или на внутренней поверхности МКЛ в зависимости от локализации патологического процесса. При поражении век, тарзальной конъюнктивы и слезоотводящих путей депо располагают на наружной поверхности МКЛ в количестве от 50–750 шт., в зависимости от необходимой концентрации лекарственного препарата. Депо на наружной поверхности образует сетку за исключением оптического центра, позволяя максимально использовать поверхность МКЛ и увеличить объем депонированного вещества.

При поражении бульбарной конъюнктивы, роговицы, склеры и подлежащих тканей депо (от 50 до 300 шт.) размещают в кольцевидных

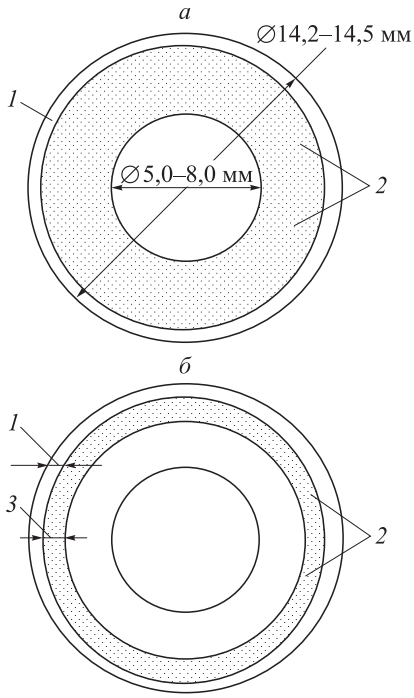

Рис. 1. *Схематическое изображение лечебной МКЛ с депо на наружной (а) и внутренней (б) поверхности линзы: 1 – фаска, 2 – депо, заполненные лекарственным веществом, 3 – кольцевидное углубление с депо на внутренней поверхности МКЛ*

углублениях шириной по 1,0 мм, проходящих на периферии с внутренней стороны МКЛ. Размещение депо в кольцевидных углублениях связано с возможным раздражением микронасечками поверхности эпителия конъюнктивы при расположении их на внутренней поверхности линзы. Количество кольцевидных углублений с встроенными депо может варьировать от 1 до 3 в зависимости от необходимой концентрации лекарственного вещества. Каждое депо представляет собой полусферу с микронасечками на ее поверхности и может иметь диаметр 100 мкм, глубину 30–40 мкм, микронасечки – длину от 5 до 10 мкм и ширину от 500 нм до 4 мкм. Микронасечки получают методом гравировки газовым CO_2-лазером с длиной волны 10,6 мкм, мощностью излучения 30 Вт. Для получения одного депо используют 45 импульсов в одной точке с мощностью излучения 3 Вт. Расположение депо в виде сетки не позволяют деформировать форму и поверхность МКЛ. Микронасечки за счет поверхностного натяжения раствора способствуют ингибированию диффузии лекарственного вещества из линзы. Данная конфигурация депо позволяет загрузить большее количество препарата в МКЛ. Лекарственное вещество под действием вакуума загружают в депо МКЛ, насыщенные МКЛ стерилизуют и помещают в буферный раствор до востребования. За счет особого дизайна депо лекарственный препарат не диффундирует из линзы в буферный раствор, что позволяет хранить насыщенные МКЛ длительно (рис. 1).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для изучения свойств предлагаемой оригинальной контактной линзы на первом этапе было произведено определение массы лекарственного вещества в линзе, в качестве которого использовали 0,05%-й раствор циклоспорина А (ЦиА) (Аллерган, США). На электронных весах взвешивали шесть ненасыщенных МКЛ с депо на наружной и внутренней стороне, после насыщения взвешивание повторяли. Масса линзы без лекарственного препарата (М1) составила 0,094 ± 0,003 г, масса насыщенной МКЛ (М2) – 0,123 ± 0,005 г. Массу лекарственного препарата (М3) рассчитывали по формуле: М3 = М2 − М1, она составила 0,029 ± 0,002 г.

На втором этапе определяли динамику выхода лекарственного препарата из насыщенной линзы. Для этого насыщенные смесью лекарственного вещества и флуорофора (GeP640, Thermo Fhisher Scientific, США) МКЛ помещали на глаз пациента. Измерения проводили перед лечением и на 1, 3, 5, 7, 14-е сутки ношения МКЛ. В связи с неравномерным распределением лекарственного вещества по объему МКЛ (только в депо) спектрометрию выполняли по разработанной оригинальной методике. Линзу помещали в кювету, заполненную оптически пассивным раствором для хранения и очистки МКЛ (ReNu, Bausch and Lomb, США). Для создания широкого пучка возбуждающего излучения использовали светодиод с матированным оптическим элементом, излучающий на длине волны 470 нм. Низкая направленность светодиода позволяла экспонировать всю поверхность пика, посредством спектрометра (Biospec-001, Bruker Corporation, Германия) оценивали падение интенсивности флуоресценции поверхности интегрирующей оптической полусферы с редкоземельным покрытием. Флуоресценция покрытия полусферы не возбуждалась при длине волны более 490 нм, что позволило регистрировать долю, переизлученную флуорофором, содержащимся в лекарственном веществе и обладающим максимумом интенсивности флуоресценции 520 нм при возбуждении светодиодом, примененным в системе. Таким образом, суммарная регистрируемая интенсивность флюоресценции интегрирующей полусферы в диапазоне 490–570 нм имела обратную зависимость от концентрации лекарственного вещества в объеме МКЛ.

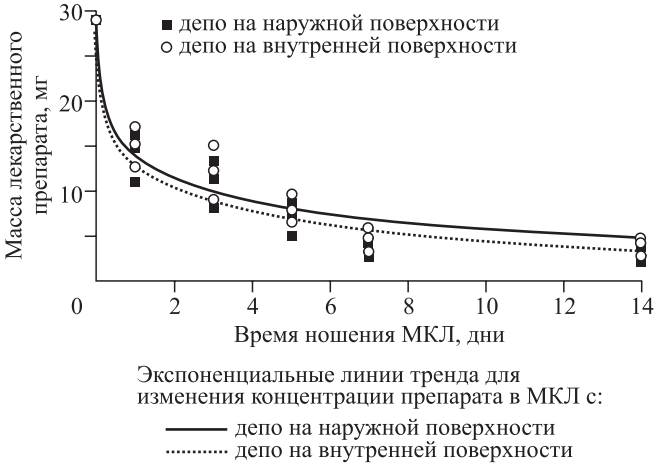

Рис. 2. *Динамика выхода лекарственного препарата из насыщенной линзы*

Предварительно система была градуирована по известным количествам флуорофора в полностью насыщенной экспериментальной контактной линзе с его концентрациями 100, 50, 20 и 10 % от концентрации в клиническом эксперименте, что приближенно имитировало кратный дефицит вещества. Результаты оценки остаточного количества вещества в МКЛ при проведении клинического эксперимента представлены на рис. 2. Обнаружено, что практически полная элиминация препарата из депо МКЛ (как на наружной, так и на внутренней поверхности линзы) наблюдается на 13–14-е сутки. По истечении этого времени в линзе остаются следовые концентрации (менее 5 мг) лекарственного вещества (0,05%-го раствора ЦиА), в которых он не обладает необходимой терапевтической активностью. Период полувыведения препарата из МКЛ составляет 3–4 суток и зависит от частоты моргания пациента.

На третьем этапе оценивали наличие лекарственного вещества в буферном растворе (ReNu, Bausch and Lomb, США). Для доказательства отсутствия диффузии лекарства из насыщенных МКЛ при хранении в буферных растворах определяли его содержание в образцах, полученных после замачивания насыщенной МКЛ в буферном растворе в течение одной недели. В качестве лекарственного препарата использовали 0,05%-й ЦиА. Для построения градуировочной зависимости готовили серию растворов в буфере с содержанием ЦиА 1, 2, 5, 10, 25 и 50 мг/л с помощью хроматографии (Agilent 1200, Agilent Technologies, США). Типичный вид хроматограммы раствора ЦиА представлен на рис. 3, пик с временем удерживания 2,57 мин соответствует ЦиА. Полученная градуировочная зависимость описывается уравнением: $A = (7{,}32 \pm 0{,}02) \times C + (3{,}19 \pm 0{,}06)$ ($n = 6$, $P = 0{,}95$), где A – площадь хроматографического пика; C – концентрация ЦиА (мг/л) в анализируемом растворе. Коэффициент корреляции $r = 0{,}9976$. Предел обнаружения (найденный как концентрация, соответствующая пику с S/N = 3, где S – чувствительность; N – предел обнаружения) составляет 1 мг/л, нижняя граница определяемых концентраций – 3 мг/л (см. рис. 3).

В качестве исследуемых образцов использовали: образец № 1 − буферный раствор, в котором замачивали МКЛ с 0,05%-м раствором ЦиА, депонированным на внутренней поверхности линзы; образец № 2 − буферный раствор, в котором замачивали МКЛ с 0,05%-м раствором ЦиА, депонированным на наружной поверхности линзы; образец № 3 − буферный раствор (контроль). Во всех образцах (№ 1, 2, 3) содержание ЦиА, определенное по предложенной методике, оказалось ниже предела обнаружения (менее 1 мг/л). Данный эксперимент доказывает, что лекарственный препарат выходит из насыщенной МКЛ только

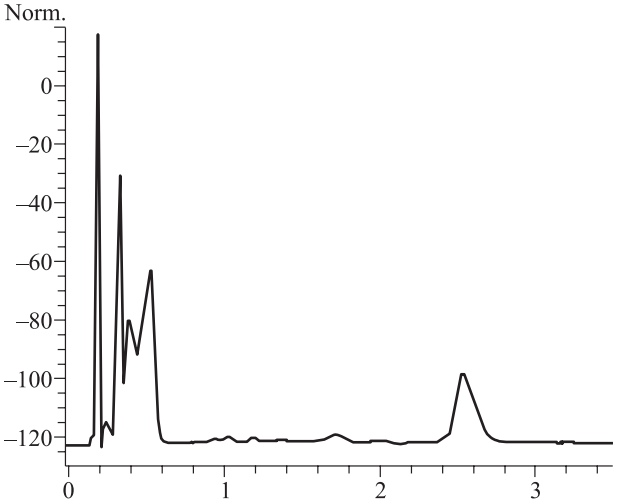

Рис. 3. *Хроматограмма раствора ЦиА в буфере*

при давлении век на поверхность линзы, поэтому насыщенные линзы можно стерилизовать и хранить в буферных растворах без снижения концентрации лекарства в МКЛ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработанная оригинальная модель лечебной МКЛ предназначена для депонирования различных лекарственных веществ [2]. Отличительной особенностью линзы является наличие прозрачного оптического центра, позволяющего сохранить зрительные функции. За счет этого возможно насыщение линзы лекарственными веществами любой оптической плотности, что расширяет арсенал применяемых лечебных средств. Расположение депо на наружной или на внутренней поверхности МКЛ в зависимости от локализации патологического процесса позволяет более целенаправленно доставить лекарственный препарат к пораженной ткани, что расширяет показания к ее использованию. Особый дизайн депо препятствует самопроизвольной диффузии лекарственного вещества из линзы в буферный раствор, что дает возможность хранить насыщенные МКЛ длительное время. Лекарство выходит из линзы только под действием давления век при моргании. Полное опорожнение депо происходит в течение 7–14 дней в зависимости от количества депо и лекарственного препарата. При необходимости пролонгации терапии возможно повторное насыщение той же МКЛ лекарственным веществом.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Егоров Е.А., Астахов Ю.С., Ставицкая Т.В.* Офтальмофармакология. Руководство для врачей. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2004. 464 с.

2. *Сафонова Т.Н., Гладкова О.В., Новиков И.А., Боев В.И., Кинтюхина Н.П.* Лечебная силикон-гидрогелевая мягкая контактная линза. Патент РФ RU2612121C1; опубл. 27.01.2016.

3. *Byrne M., Venkatesh S.* Applications of biomimetic systems in drug delivery // Expert Opin. Drug Deliv. 2005. 2. (6). 1085–1096.

4. *Chauhan A., Gulsen D.* Dispersion of DMPC liposomes in contact lenses for ophthalmic drug delivery // Curr. Eye Res. 2005. 30. (12). 1071–1080.

5. *Danion A., Brochu H., Martin Y., Vermette P.* Fabrication and characterization of contact lenses bearing surfaceimmobilized layers of intact liposomes // J. Biomed. Mater. 2007. 82. 41–51.

6. *Dixon P., Shafor C., Gause S., Hsu K.H., Powell K.C., Chauhan A.* Therapeutic contact lenses: a patent review // Expert Opin. Ther. Pat. 2015. 25. (10). 1117–1129.

7. *Dreifus M., Wichterle O., Lim D.* Intra-cameral lenses made of hydrocolloidal acrylates // Cesk. Oftalmol. 1960. 16. 154–159.

8. *Duvvuri S., Majumdar S., Mitra A.K.* Drug delivery to the retina: challenges and opportunities // Expert Opin. Biol. Ther. 2003. 3. (1). 45–56.

9. *Galante R., Paradiso P., Moutinho M.G., Fernandes A.I., Mata J.L., Matos A.P., Colaço R., Saramago B., Serro A.P.* About the effect of eye blinking on drug release from pHEMA-based hydrogels: an *in vitro* study // J. Biomater Sci. Polym. Ed. 2015. 26. (4). 235–251.

10. *Hegde R.R, Verma A., Ghosh A.* Microemulsion: New insights into the ocular drug delivery // ISRN Pharm. 2013. 2013. 826798.

11. *Hsu K., Fentzke R.C., Chauhan A.* Feasibility of corneal drug delivery of cysteamine using vitamin E modified silicone-hydrogel contact lenses // Eur. J. Pharm. Biopharm. 2013. 85. 531–540.

12. *Li C., Chauhan A.* Modeling ophthalmic drug delivery by soaked contact lenses // Ind. Eng. Chem. Res. 2006. 45. 3718–3734.

13. *Peng C., Chauhan A.* Extended cyclosporine delivery by silicone-hydrogel contact lenses // J. Controlled Release. 2011. 154. 267–274.

14. *Peng C., Kim J., Chauhan A.* Extended delivery of hydrophilic drugs from silicone-hydrogel contact lenses containing vitamin E diffusion barriers // Biomaterials. 2010. 31. 4032–4047.

15. *Su X., Kim B., Kim S.* Layer-layer-assembled multilayer films for transcutaneous drug and vaccine delivery // ACS Nano. 2008. 3. 3719–3729.

16. *Urtti A.* Challenges and obstacles of ocular pharmacokinetics and drug delivery // Adv. Drug Deliv. Rev. 2006. 58. (11). 1131–1135.

17. *Waite S., Gupta A., Schnell U.* Drug delivery from contact lenses with a fluidic module. Patent USA US20160018671A1; published 31.03.2014.

18. *Weiner A.L., Kabra B.P.* Pulsatile peri-corneal drug delivery device. Patent USA US20160018671A1; published 25.01.2011.

19. *White C.J., Byrne M.E.* Molecularly imprinted therapeutic contact lenses // Expert Opin. Drug Deliv. 2010. 7. 765–780.

NEW METHOD OF DRUGS DELIVERY TO THE OCULAR SURFACE

Tat'yana Nikolaevna SAFONOVA, Ol'ga Vladimirovna GLADKOVA,
Nataliya Pavlovna KINTYUKHINA

Scientific Research Institute of Eye Diseases
119021, Moscow, Rossolimo str., 11, bldg. A, B

The effectiveness of topical application of various drugs in ophthalmology is no more than 3 % due to the presence of anatomical and physiological barriers. The therapeutic effect accomplishment is possible with increasing concentration or multiplicity of drug use. The article presents the results of the development of a new type of therapeutic contact lens for the deposition of medications in order to shorten the periods of treatment and to obtain a result without repeated manipulation. The quantitative evaluation of the drug content in the lens is given. The dynamics of the release of the drug substance from the lens was determined by the method of spectrometry. Practically complete elimination of the drug from the soft contact lens (SCL) depot (both on the outer and inner surfaces of the lens) is observed on the 13–14 day. With the help of the chromatography method, the absence of drug diffusion from saturated SCL during storage in buffer solutions was proved. The design features of the lens: a depot with a drug on the external and / or internal surface of the therapeutic SCL allow for a dosed and directed effect on various structural components of the oculer surface. The presence of a transparent optical center allows maintaining high visual functions. If it is necessary to prolong therapy, it is possible to re-saturate the same SCL with a drug substance.

Key words: therapeutic soft contact lens, cyclosporin A, spectrometry, chromatography.

Safonova T.N. *– candidate of medical sciences, leading researcher, e-mail: safotat@mail.ru*
Gladkova O.V. *– postgraduate student, e-mail: lykicheva_olga@mail.ru*
Kintyukhina N.P. *– junior researcher. e-mail: natakint@yandex.ru*