https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4-54-63
УДК 615.1

Check for updates

CC BY 4.0

Обзорная статья / Review article

Интраназальные системы доставки *in situ*: перспективы применения и основные фармацевтические аспекты разработки (обзор)

Е. О. Бахрушина, Н. Б. Демина*, М. М. Шумкова, П. С. Родюк, Д. С. Шуликина, И. И. Краснюк

ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

***Контактное лицо:** Демина Наталья Борисовна. **E-mail:** nbd217@mail.ru

ORCID: Е. О. Бахрушина – https://orcid.org/0000-0001-8695-0346; Н. Б. Демина – https://orcid.org/0000-0003-4307-8791; М. М. Шумкова – https://orcid.org/0000-0002-4448-2588; П. С. Родюк – https://orcid.org/0000-0001-8678-8051; Д. С. Шуликина – https://orcid.org/0000-0002-8418-6177; И. И. Краснюк – https://orcid.org/0000-0002-7242-2988.

Статья поступила: 13.04.2021 **Статья принята в печать:** 14.09.2021 **Статья опубликована:** 25.11.2021

Резюме

Введение. Интраназальная доставка *in situ* гелеобразующих систем является сложным, но перспективным направлением. Из-за высокой стоимости разработки нового химического объекта или генно-инженерной модификации биологических молекул фармацевтические компании сосредоточиваются на разработке технологий новых систем доставки для существующих активных фармацевтических ингредиентов с целью улучшения их эффективности и биодоступности. *In situ* системы для интраназальной доставки за счет повышенной вязкости и мукоадгезии к слизистой носа позволяют преодолевать мукоцилиарный клиренс и гарантировать полное всасывание и пролонгированное высвобождение активных фармацевтических ингредиентов.

Текст. В статье рассмотрены виды и основные преимущества интраназальных *in situ* систем доставки, показанные в доклинических исследованиях, а также подходы к технологии получения и стандартизации этих систем. Обобщены данные научных исследований в этой области за последние 15 лет, выделены наиболее перспективные полимеры для создания термообратимых и pH-чувствительных композиций, а также проанализированы современные методы оценки золь-гель перехода *in situ*.

Заключение. Применение *in situ* систем для интраназального введения позволяет обеспечивать высокую таргетность доставки синтетических и биологических молекул в мозг. В настоящее время имеются многочисленные фармакокинетические и фармакодинамические исследования на животных, подтверждающие эффективность таких систем, а также их безопасность. Наиболее востребованными для конструирования систем доставки *in situ* остаются термореверсивные коммерчески доступные и направленно синтезируемые полимеры (полоксамер 407, PLGA, NIPAAm и др.), а также хитозан. Для оценки параметров *in situ* гелеобразования широко используются *in vitro* и *ex vivo* методы со слизистой и искусственной назальной жидкостью, однако для увеличения воспроизводимости методик и улучшения корреляции *in vitro*/*in vivo* рекомендуется проводить моделирование носовой полости. Совершенствование технологии и методов скриннинга интраназальных реверсивных систем поможет приблизиться к проведению клинических исследований и выходу этих систем доставки на мировой фармацевтический рынок.

Ключевые слова: интраназальная доставка, системы доставки, *in situ* гелеобразование, полоксамеры, хитозан, мукоадгезия

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Е. О. Бахрушина разрабатывала дизайн обзорной статьи. Авторы Е. О. Бахрушина, П. С. Родюк, Д. С. Шуликина участвовали в проведении научного поиска, обработке данных и их компиляции. Е. О. Бахрушина, Н. Б. Демина, М. М. Шумкова, П. С. Родюк и Д. С. Шуликина участвовали в написании текста статьи. Н. Б. Демина и И. И. Краснюк проводили рецензирование обзора и одобрение на подачу в журнал статьи. Все авторы участвовали в обсуждении результатов.

Для цитирования: Бахрушина Е. О., Демина Н. Б., Шумкова М. М., Родюк П. С., Шуликина Д. С., Краснюк И. И. Интраназальные системы доставки *in situ*: перспективы применения и основные фармацевтические аспекты разработки. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(4):54–63. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4-54-63

In situ Intranasal Delivery Systems: Application Prospects and Main Pharmaceutical Aspects of Development (Review)

Elena O. Bakhrushina, Natalia B. Demina*, Marina M. Shumkova, Polina S. Rodyuk, Daria S. Shulikina, Ivan I. Krasnyuk

I. M. Sechenov First MSMU of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

***Corresponding author:** Natalia B. Demina. **E-mail:** nbd217@mail.ru

ORCID: Elena O. Bakhrushina – https://orcid.org/0000-0001-8695-0346; Natalia B. Demina – https://orcid.org/0000-0003-4307-8791; Marina M. Shumkova – https://orcid.org/0000-0002-4448-2588; Polina S. Rodyuk – https://orcid.org/0000-0001-8678-8051; Daria S. Shulikina – https://orcid.org/0000-0002-8418-6177; Ivan I. Krasnyuk – https://orcid.org/0000-0002-7242-2988.

Received: 13.04.2021 **Revised:** 14.09.2021 **Published:** 25.11.2021

Abstract

Introduction. Intranasal delivery of *in situ* gel-forming systems is a complex but promising direction. Due to the high cost of developing a new chemical object or genetically engineered modification of biological molecules, pharmaceutical companies are focusing on developing technologies for new delivery systems for existing active pharmaceutical ingredients to improve their effectiveness and bioavailability. *In situ*

© Бахрушина Е. О., Демина Н. Б., Шумкова М. М., Родюк П. С., Шуликина Д. С., Краснюк И. И., 2021
© Bakhrushina E. O., Demina N. B., Shumkova M. M., Rodyuk P. S., Shulikina D. S., Krasnyuk I. I., 2021

systems for intranasal delivery, due to increased viscosity and mucoadhesion to the nasal mucosa, allow overcoming mucociliary clearance and ensuring complete absorption and prolonged release of drugs.
Text. The article discusses the main advantages of intranasal *in situ* delivery systems shown in preclinical studies, as well as approaches to the technology of obtaining and standardization of these systems. The results of scientific research in this field over the past 15 years are summarized, the most promising polymers for creating thermoreversible and pH-sensitive compositions are identified, and modern methods for evaluating the sol-gel transition *in situ* are analyzed.
Conclusion. The use of *in situ* systems for intranasal administration allows providing a high targeting of the delivery of synthetic and biological molecules to the brain. Currently, numerous pharmacokinetic and pharmacodynamic preclinical studies confirm the effectiveness of such systems, as well as their safety. Thermoreversible commercially available and directionally synthesized polymers (poloxamer 407, PLGA, NIPAAm, etc.), as well as chitosan, remain the most popular for the design of *in situ* delivery systems. *In vitro* and *ex vivo* methods with mucosa and artificial nasal fluid are widely used to assess the parameters of *in situ* gelation, but to increase the reproducibility of the methods and improve the correlation in vitro/in vivo, it is recommended to conduct modeling of the nasal cavity. Developing the technology and methods of screening of intranasal reversible systems will help to get closer to clinical trials and the entry of these delivery systems into the global pharmaceutical market.

Keywords: intranasal delivery, delivery systems, *in situ* gelation, poloxamers, chitosan, mucoadhesion

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Elena O. Bakhrushina developed the design of the review. Authors Elena O. Bakhrushina, Polina S. Rodiuk, Daria S. Shulikina participated in the academic research, data processing, and compilation. Elena O. Bakhrushina, Natalia B. Demina, Marina M. Shumkova, Polina S. Rodiuk and Daria S. Shulikina participated in writing the text of the paper. The authors Natalia B. Demina and Ivan I. Krasniuk reviewed the paper and approved it for submission of the article to the journal. All authors participated in the discussion of the results.

For citation: Bakhrushina E. O., Demina N. B., Shumkova M. M., Rodyuk P. S., Shulikina D. S., Krasnyuk I. I. *In situ* intranasal delivery systems: application prospects and main pharmaceutical aspects of development. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2021;10(4):54–63. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4-54-63

ВВЕДЕНИЕ

Интраназальный способ введения – один из самых перспективных неинвазивных способов доставки лекарственных веществ в организм человека. Этот путь введения обеспечивает высокую приверженность пациентов терапии, поскольку не требует привлечения медицинского персонала, не травматичен, легко осуществляем и высокоэффективен [1]. Возможность интраназального введения препаратов для обеспечения экстренной помощи используется на протяжении десятилетий медицинскими службами и службами безопасности многих стран при передозировке наркотиками, экстренной остановке сердца – как альтернатива внутривенным инъекциям [2].

В настоящее время препараты интраназального введения коммерчески доступны для синтетических субстанций (налоксон, дексаметазон и др.), а также для некоторых биопрепаратов [3, 4]. Так, интраназальная доставка вакцин успешно осуществляется благодаря относительно большой абсорбирующей поверхности и низкой протеолитической активности слизистой носа, а также в результате снижения производственных затрат по сравнению с парентеральными формами [5].

В последние годы интраназальный путь введения все чаще стал использоваться для направленной доставки лекарственных средств в мозг, так как эффективно позволяет действующим вещества преодолевать гематоэнцефалический барьер, благодаря транспорту через обонятельные пути и тройничный нерв [6].

Однако, несмотря на высокую проницаемость назальной слизистой оболочки, как правило, только активные фармацевтические ингредиенты (АФИ) с небольшой молекулярной массой (< 1000 Да) способны абсорбироваться в полости носа. Также мукоцилиарный клиренс, создающий значительное препятствие для интраназальной абсорбции, так как доза препарата может быть быстро эвакуирована из носовой полости за счет движения ресничек, а также подвергнута ферментативной деградации [5, 6]. Классические технологические приемы увеличения всасывания АФИ за счет введения в состав лекарственной формы (ЛФ) пенетраторов и поверхностно-активных веществ находят ограниченное применение в интраназальных препаратах, так как это может приводить к угнетению физиологических функций обонятельного органа [2, 5]. Таким образом, проблему интраназального введения необходимо решать с помощью разработки систем доставки, обеспечивающих продолжительную экспозицию дозы препарата на слизистой и высокую биодоступность. К таким системам относятся интраназальные *in situ* системы доставки.

«*In situ*» в переводе с латинского языка означает «в исходном месте» или «в положении». Этот термин применяется в различных областях, таких как физика, геология, медицина, строительство. Так, в химии *in situ* означает «в реакционной смеси», а в биомедицинской инженерии белковые наногели, полученные методом полимеризации *in situ*, обеспечивают универсальную платформу для хранения и высвобождения терапевтически активных белков. В медицине термин ранее

применялся для описания способа моделирования строения внутренних органов по сделанным слепкам с их поверхности [7].

В аспекте фармацевтической разработки под «*in situ* системами» понимают системы доставки, совершающие фазовый переход в определенном дизайном исследования месте организма, способные таргетно высвобождать АФИ, поддерживая его относительно постоянные концентрации за счет образования депо, обеспечивающего пролонгированность действия системы. В узком смысле *in situ* системы рассматриваются как реверсивные системы, золь-гель переход которых осуществляется локально под действием термических, химических или физико-химических факторов, определяемых физиологическими условиями места применения [3, 5, 6].

В данной обзорной статье мы рассмотрим более подробно методики, направленные на доказательство наличия гелеобразования *in situ*, сферы применения систем направленной доставки, а также более детально рассмотрим полимеры, используемые при создании систем доставки *in situ*.

Ретроспектива систем доставки in situ

По данным базы медицинских публикаций PubMed, первое упоминание термина *in situ* в научной литературе в аспекте локального гелеобразования датируется 1984 годом и описывает образования геля желатина в желудке крыс линии Wistar при следовании гидратно-желатиновой диеты у животных [8].

Первые научные разработки систем *in situ* доставки относятся к началу 2000-х годов. В 2001 году L. E. Bromberg опубликовал работу о применении редкосшитых акриловых полимеров (карбомеров) и полимеров полиакриловой кислоты с поверхностно-активными веществами (плюроников, полоксамеров) в системах интраназальной доставки, обладающих улучшенными свойствами. За счет биоадгезивных свойств фармацевтическая композиция на основе полоксамеров демонстрировала лучшее удерживание в полости носа, продолжительную экспозицию на модели у крыс по сравнению с карбомерами [9].

С середины 2000-х годов интерес к разработке *in situ* систем стал расти. С расширением ассортимента вспомогательных веществ и химически модифицированных полимеров возможности для фармацевтической разработки систем доставки для различных путей введения расширялись.

В 2003 году была опубликована работа исследователей Корейского института науки и технологии (Сеул, Южная Корея), в которой описывается применение термочувствительных циклотрифосфазенов, содержащих этиленгликоль и сложные эфиры аминокислот в качестве боковых групп в технологии направленной доставки противоопухолевого препарата платины [10].

В исследованиях ученых университета Хаджеттепе (Анкара, Турция) впервые описывается создание вагинальной системы доставки *in situ* для клотримазола на основе термочувствительной матрицы. В качестве термореверсивного полимера в исследовании использовался плюроник 127 (полоксамер 407), чьи технологические свойства были улучшены путем добавления карбомера и производного целлюлозы. Исследование E. Bilensoy et al. [11] дало начало новому направлению в технологии термореверсивных *in situ* систем – получения и изучения поликомплексов полоксамеров с различными гелеобразователями [12].

Однако, несмотря на изучение различных возможных путей введения и способов применения реверсивных смарт-систем, интраназальная доставка *in situ* по-прежнему остается самым популярным направлением исследований, число публикаций относительно которого увеличивается с каждым годом (рисунок 1).

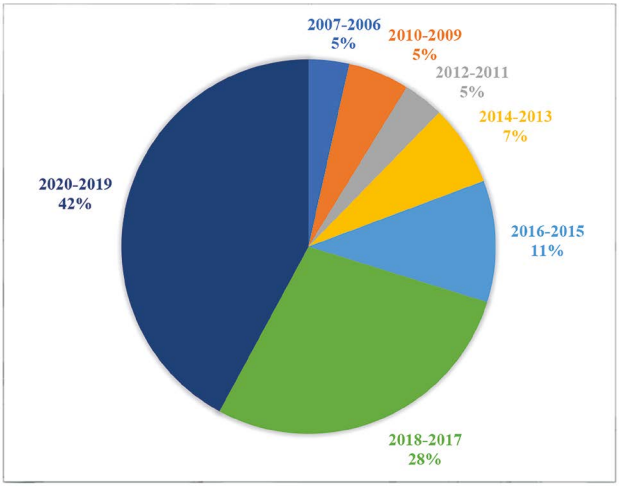

Рисунок 1. Диаграмма изменения исследовательского интереса к вопросу создания *in situ* систем интраназальной доставки (по данным PubMed; ключевые слова: «in-situ intranasal», «intranasal forms for system delivery»)

Figure 1. Diagram of changes in research interest for *in situ* intranasal delivery systems (according to PubMed; keywords: "in-situ intranasal", "intranasal forms for system delivery")

Рост исследовательского интереса к разработке интраназальных *in situ* систем связан с их преимуществами, неоднократно отмечаемыми в различных работах. Реверсивные системы обеспечивают устойчивое и пролонгированное действие препарата, улучшенную комплаентность пациента и снижение частоты введения препарата по сравнению с обычной системой доставки лекарственных средств [1, 3, 5, 6].

Интраназальные *in situ* системы могут демонстрировать большую биодоступность за счет высокой мукоадгезии и локального золь-гель перехода, которые способствуют длительной экспозиции даже в условиях мукоцилиарного клиренса. В исследованиях K.-L. Hu et al. [13] оценивалось влияние мукоцилиарного клиренса на биодоступность введения лидокаина гидрохлорида интраназально в составе систем,

представляющих собой спрей и гель. Абсолютная биодоступность назального геля лидокаина была примерно в 1,5 раза выше, чем у назального спрея, а таргентность АФИ на обонятельный канал/желудочек после введения назального геля в 1,2 раза превышала таковой показатель спрея. Был сделан вывод о том, что доставка в мозг лидокаина усиливается при использовании геля в качестве системы доставки.

Скрининг полимеров для in situ гелеобразования

В зависимости от рода стимула, потенцирующего фазовый переход, матрицы *in situ* систем можно разделить на термореверсивные, pH-зависимые, ионночувствительные, влагоактивизируемые и др. [1].

Выбор подходящего полимера с желаемыми потенцирующими стимулами, мукоадгезивностью, вязкостью и поведением при высвобождении лекарственного средства имеет важное значение для разработки эффективного геля *in situ*.

В современных исследованиях находят применение как природные (хитозан, гелановая камедь, пектин и др.), так и синтетические [полоксамер (P407 и P188), карбопол и др.] стимулочувствительные полимеры [14–31].

По результатам анализа научных публикаций базы PubMed по ключевым словам «intranasal forms for system delivery» и «in-situ intranasal» были отобраны десять самых используемых для создания *in situ* систем полимеров и проранжированы в порядке убывания частоты их применения (таблица 1).

Таблица 1. Ранжирование смарт-полимеров, использующихся для создания *in situ* интраназальных систем

Table 1. Ranking of smart polymers used for *in situ* intranasal systems

Ранг Rank	Полимер/группа полимеров Polymer/Polymer Group	Доля (%) Percentage (%)
1	Полоксамеры Poloxamers	23,00
2	Хитозан Chitosan	22,00
3	Гидроксипропилметилцеллюлоза Hydroxypropyl methylcellulose	7,70
4	Сополимер молочной и гликолевой кислот (PLGA) Polylactic-glycolic Acid (PLGA)	6,70
5	Камеди (гелановая и конжаковая) Gums (Gellan and konjac)	5,70
6	Карбомеры Carbomers	5,70
7	Пектин Pectin	2,80
8	Альгинаты Alginates	2,80
9	Желатин Gelatin	1,90
10	Натрия гиалуронат Sodium hyaluronate	0,96

Таким образом можно заключить, что в настоящее время большинство *in situ* систем функционируют по типу термореверсивного (полоксамеры) или pH-чувствительного (хитозан, карбомеры и др.) гелеобразования.

Для коррекции и улучшения свойств готовых фармацевтических композиций зачастую используют не монокомпонентные матрицы, а смеси полимеров, обладающих идентичными или же различными механизмами *in situ*, гелеобразования [12]. Широко известна технология получения поликомплексов на основе полоксамера 407, когда для улучшения свойств биоадгезии в матрицу геля полоксамера добавляют мукоадгезивные полимеры с молекулярным весом выше 100 кДа, такие как редкосшитые акриловые полимеры карбополы, хитозан, а также различные производные целлюлозы: натрий-карбоксиметилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу, гидроксипропилцеллюлозу и метилцеллюлозу [1].

Наряду с использованием коммерчески доступных полимеров для создания *in situ* систем также востребован направленный синтез полимеров, удовлетворяющих конкретным запросам исследователя.

Группой исследователей Аризонского университета (США) под руководством Bae Hoon Lee был поведен направленный синтез полимера для получения *in situ* интраназальной системы. Полученный полимер N-изопропилакриламида на основе 2-гидроксиэтилметакриллактата и акриловой кислоты (NIPAAm) был термореверсивен и мукоадгезивен, а также не обладал острой и хронической токсичностью [32–34]. Температура гелеобразования NIPAAm составляла 37 °C, что превышает таковую у самого известного термореверсивного полимера – полоксамера 407 (около 26 °C).

In vivo исследования интраназальных in situ систем

В последние годы с ростом количества фармацевтических разработок систем интраназальной *in situ* доставки появляются все больше опубликованных данных доклинических исследований, демонстрирующих эффективность и безопасность таких систем [16, 20, 21, 35–38].

Одно из первых исследований было проведено в 2014 году в двух крупнейших медицинских центрах Китая – Харбинском и Фуданьском университетах. Группе исследователей под руководством Ch. Li удалось создать стабильную термореверсивную композицию на основе полоксамера 407 и каррагинана для направленной доставки кеторолака трометамина [35]. Фармакокинетическое исследование интраназальной системы доставки на крысах продемонстрировало повышенную абсолютную биодоступность (68,8 ± 23,3 %) и увеличенное среднее время экспозиции (8,8 ± 3,5 часа) *in situ* геля по сравнению с интраназальным спреем (24,8 ± 13,8 %, 3,9 ± 0,6 часа).

В университете Квинсленда (Австралия) были проведены комплексные исследования по изучению безопасности *in situ* системы интраназальной доставки дексаметазона [36]. Путем проведения систематических исследований цитотоксичности с использованием обнаружения лактатдегидрогеназы (ЛДГ) не было выявлено повышения по сравнению с исходным уровнем ЛДГ, при этом сохранялась целостность ткани эксплантированной слизистой оболочки носа человека, что было дополнительно подтверждено гистопатологическим исследованием тканей. Полученные P. Pandey et al. результаты указывают на безопасность системы доставки и пролонгированный эффект за счет депонирования лекарственного средства в слизистой оболочке носа человека.

В работе N. Ahmad et al. [37] оценивались фармакокинетические параметры назального *in situ* геля, содержащего наноэмульсию нарингенина, созданного на основе термореверсивного поликомплекса полоксамера 407 и хитозана. В ходе исследования сравнивали интраназальное введение разработанной системы доставки с внутримышечным введением референтного препарата. *In situ* гель увеличивал биодоступность нарингенина в пределах ЦНС. У крыс с церебральной ишемией значительно улучшилась нейроповеденческая активность (двигательная активность и сила захвата), за которой последовала антиоксидантная активность. Проведенные исследования токсичности установили безопасный профиль системы интраназальной доставки.

Совместные международные исследования Института фармацевтических наук и исследований (Нью-Дели, Индия) и университета Короля Сауда (Саудовская Аравия) препарата ралоксифена гидрохлорида в форме интраназального *in situ* геля, предназначенного для лечения остеопороза, продемонстрировали 7,4-кратное улучшение биодоступности АФИ по сравнению с зарегистрированным препаратом ралоксифена гидрохлорида в таблетированной форме для перорального приема. Исследования фармакодинамики *in vivo* также показали, что плотность костной ткани после применения интраназальной системы доставки была увеличена на 162 % и значительно улучшены биохимические маркеры по сравнению с пероральным приемом таблеток ралоксифена гидрохлорида [38].

В работе S. S. Bachhav et al. [16] изучалась возможность создания таргетной медуллярной системы на основе *in situ* интраназальной формы диазепама, переходящей в мукоадгезивный гель при контакте с небольшими количествами воды. Препарат был разработан в качестве альтернативы инвазивному введению при эпилептических припадках. В фармакокинетических исследованиях на модели крыс, где в качестве референтного препарата использовался спрей диазепама, было показано, что высвобождение АФИ из системы доставки (pH 6,4) за 10 минут достигало 50 % и продолжалось в течение 1 часа. Абсолютная биодоступность составляла 50 % как при интраназальном введении референтного препарата, так и системы *in situ* доставки. Интраназальное введение диазепама показало немедленное всасывание с быстрой и высокой концентрацией АФИ во внеклеточной жидкости головного мозга по сравнению с внутривенным введением раствора диазепама. Потенциал направленной доставки системы *in situ* в 2 раза превышал таковой при интраназальном введении спрея диазепама, что исследователи объясняли мукоадгезивными и микроэмульсионными свойствами системы доставки.

В работе Y. Sun et al. [20] описан метод получения *in situ* системы медуллярной таргетной доставки паеонола – фенольного соединения, выделяемого из растений рода Пион, применяемого в китайской медицине. Механизм *in situ* – гелеобразования был основан на применении ионно-чувствительной гидроксипропилметилцеллюлозы. Для изучения движения и распределения АФИ на крысах были использованы флуоресцентные метки. Среднее геометрическое значение интенсивности флуоресценции клеток в течение 1, 4 и 6 ч составило 1841 ± 24, 2261 ± 27 и 2757 ± 22 соответственно. *In situ* гель, нагруженный твердыми липидными частицами с флуоресцентными метками, эффективно накапливался в области мозга после введения через обонятельную область, и флуоресцентный ответ наблюдали в обонятельной луковице, мозжечке и полосатом теле.

Интраназальные *in situ* формы не только с синтетическими АФИ, но и с иммунобиологическими, а также пептидными субстанциями демонстрируют превосходство в фармакокинетических исследованиях. В последнем исследовании M. J. Majcher et al. [21] гидрогелевые системы доставки *in situ* на основе модифицированного хитозана, нагруженные положительным аллостерическим модулятором дофаминового рецептора D_2, показывали пролонгированный эффект при интраназальном введении (до 72 часов) на индуцированной МК-801 доклинической модели шизофрении на крысах даже при низкой дозировке препарата (0,5 мг/кг). Для сравнения, обычное введение пептидного препарата внутрибрюшинным путем требует удвоенной дозы АФИ для достижения терапевтического эффекта, который сохраняется всего несколько часов.

К сожалению, несмотря на многочисленные исследования фармакокинетики на этапах доклиники, до настоящего момента не проводились полноценные клинические исследования систем интраназальной доставки *in situ* [5]. Одни из первых шагов в этом направлении осуществляются международной командой ученых из Индии и Саудовской Аравии [38].

Доказательство наличия гелеобразования in situ

Критическим параметром *in situ* систем, который необходимо оценивать в процессе разработки и использовать для скрининга экспериментальных составов, является доказательство протекания таргетного *in situ* гелеобразования.

Для оценки этого показателя наиболее часто применяют *in vitro* и *ex vivo* методы [13,18, 24, 39–45].

Ex vivo методы используются для определения мукоадгезивной составляющей *in situ* форм, так как было показано, что величина мукоадгезии имеет тенденцию к резкому возрастанию при фазовом переходе [13]. К основным показателям мукоадгезии относятся прочность и время мукоадгезии [39, 40].

В исследовании H. F. Salem et al. [18] в качестве *ex vivo* модели использовали интактную слизистую оболочку носовой ткани овец, полученную в течение 1 ч после забоя животного. Изолированную слизистую оболочку очищали в 0,9%-м растворе хлорида натрия. Для изучения прочности мукоадгезии участки слизистой оболочки носа, отобранные для исследования (размером 2,5 × 1 $см^2$), фиксировали на предметном стекле с помощью цианоакрилатного клея и гравиметрически определяли силу отрыва тканей с равномерно распределенным между ними образцом *in situ* геля (массой 1,0 г) друг от друга [18].

Время мукоадгезии также определяют на слизистой оболочке носа свежезабитого мелкого рогатого скота *ex vivo*, прошедшей предварительную обработку раствором, имитирующим назальную жидкость. Срезы слизистой оболочки фиксируют на стеклянном стакане со слизистой поверхностью, обращенной наружу. Небольшое количество назального *in situ* геля помещали на поверхность слизистой оболочки, после чего полученную модель помещали в ячейку, содержащую 100 мл раствора-имитации назальной жидкости, и подвергали медленному перемешиванию при 10 оборотах в минуту. Время, необходимое для эрозии геля *in situ*, было отмечено визуально и рассматривалось как время *in vitro* мукоадгезии [41].

Назальная жидкость, использовавшаяся в экспериментах P. Asha et al., широко применяется для изучения и других показателей *in situ* интраназальных систем. Ее состав подробно описывается в работе H. S. Mahajan и S. Gattani [42]. В качестве имитации назальной жидкости используется водный раствор, содержащий 8,77 мг/мл NaCl, 2,98 мг/мл KCl и 0,59 мг/мл $CaCl_2$ на литр, pH 6 ± 0,1.

In vitro методы, использующиеся для изучения *in situ* поведения интраназальных систем, применяются как для оценки терморевесивных матриц, так и для систем, обеспечивающих фазовый переход другим методом.

В среде искусственной назальной жидкости, термостатируемой при различных температурах (от 33 до 37 °C в различных исследованиях [18, 43–45]), золь-гель переход, необходимый для *in situ* гелеобразования, фиксируется визуально или инструментальными методами – с помощью цифровой вискозиметрии [43–45].

В работе S. Mohamed et al. [24] для оптимизации визуальной оценки гелеобразования предлагается ввести критерий для оценивания. Гель *in situ* оценивался как (–), если гелеобразование не происходило, и оценивался как (+), если гель образовался через несколько минут и быстро растворился. Степень (++) регистрировалась, если гель образовывался немедленно и оставался в течение нескольких часов, и (+++), когда гель образовывался немедленно и оставался в течение длительного периода времени.

Параметрами дополнительной оценки являются время гелеобразования и прочность образуемого геля.

За параметр *времени гелеобразования* в исследовании H. F. Salem et al. [18] принимали время, за которое в среде искусственной назальной жидкости *in situ* система достигала вязкости, останавливающей вращение магнитного стержня, помещенного в измерительный сосуд, при установке его на магнитную мешалку с подогревом (скорость перемешивания 30 об/мин, температура 34 °C).

В работе H. Gholizadeh et al. [44] время гелеобразования предлагалось оценивать визуально при инкубировании пробирок с гелем на водяной бане (температура 37 °C). Время образования геля регистрировали, когда в наклоненной пробирке не наблюдалось течения. Оптимальным временем гелеобразования в этом исследовании называется интервал длительностью до 15 минут.

Прочность гелеобразования является дополнительным скрининговым параметром, оценивающим способность *in situ* систем противостоять мукоцилиарному клиренсу. В исследовании [18] для оценки этого показателя 25 г мукоадгезивного геля помещали в мерный цилиндр объемом 50 мл и инкубировали при температуре 34 °C. Затем на поверхность геля помещали груз весом 17 г. Время, необходимое этому грузу для проникновения на 5 см в мукоадгезивный гель, определяли как прочность геля.

Температура гелеобразования является обязательным параметром при выборе составов терморевесивных систем. В различных работах эту характеристику предлагается оценивать любыми доступными методами (при нагревании на водяной бане, магнитной мешалке или термостатировании в климатической камере), используя термометр или термодатчик для фиксации температуры. Завершение фазового перехода, как и в случае с определением времени гелеобразования, фиксируют визуальными или инструментальными методами, а также по остановке мешальника в случае использования магнитной мешалки [18].

Несмотря на многообразие описанных в научной литературе методов исследования *in situ* гелеобразования, все они, тем не менее, являются низковоспроизводимыми и имитируют физиологические особенности носовой полости с разной степенью достоверности.

В качестве альтернативы или дополнения имеющимся *ex vivo*/*in vitro* методам ведутся работы по *in vitro* моделирования носовой полости. Такие модели помогут стандартизировать методики исследования, а также учитывать больше физиологических условий:

не только ионный состав, мукозу и температуру, но и геометрию, площадь поверхности и угол наклона слизистых оболочек носовой полости [46–55].

In vitro моделирование носовой полости

Современные *in vitro* модели носовой полости используются как для изучения распределения классических жидких интраназальных ЛФ, но особый потенциал имеют для моделирования процесса *in situ* гелеобразования рассматриваемых систем доставки [46–55].

Трехмерные модели создаются на основе данных компьютерной томографии, акустической ринометрии и магнитно-резонансной томографии здоровых пациентов [47–53]. Разработанные модели применяются как для иллюстрирования процессов распределения частиц вводимых интраназально АФИ [52] для измерения площади поверхности назальных спреев [54], так и для оценки влияния мукоцилиарного клиренса на интраназальные лекарственные препараты [48].

In vitro модели часто представляют собой 3D-макеты носовой полости, выполненные по технологии 3D-печати [55] или силиконовые формы, коррелирующие с физиологическим строением полости носа [54]. Для моделирования тех или иных процессов в состав модели может включаться искусственная назальная жидкость, муциновый слой или направленный воздухопоток, а также постоянная температура [49–55].

Для оценки измеряемых показателей может быть предложено использовать метод визуализации. Так, в исследовании V. Kundoor и R. N. Dalby [54] после использования силиконовой модели носовой полости человека (Koken Co., Ltd.) для определения распределения назального спрея проводилась обработка полученных данных в программе Adobe Photoshop, а интерпретация результатов выполнялась путем расчета площади поверхности распределения.

Таким образом, создание стандартизованной модели носовой полости для использования ее в качестве скринингового метода определения *in situ* гелеобразования является, на наш взгляд, очень перспективным.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение *in situ* систем для интраназального введения позволяет обеспечивать высокую таргетность доставки синтетических и биологических молекул в мозг. В настоящее время имеются многочисленные фармакокинетические и фармакодинамические исследования на животных, подтверждающие эффективность таких систем, а также их безопасность. Наиболее востребованными для конструирования систем доставки *in situ* остаются термореверсивные коммерчески доступные и направленно синтезируемые полимеры (полоксамер 407, PLGA, NIPAAm и др.), а также хитозан. Для оценки параметров *in situ* гелеобразования широко используются *in vitro* и *ex vivo* методы со слизистой и искусственной назальной жидкостью, однако для увеличения воспроизводимости методик и увеличения корреляции *in vitro*/*in vivo* рекомендуется проводить моделирование носовой полости. Совершенствование технологии и методов скрининга интраназальных реверсивных систем поможет приблизиться к проведению клинических исследований и выходу этих систем доставки на мировой фармацевтический рынок.

ЛИТЕРАТУРА

1. Демина Н. Б., Бахрушина Е. О., Бардаков А. И., Краснюк И. И. Биофармацевтические аспекты дизайна интраназальных лекарственных форм. *Фармация*. 2019;68(3):12–17.
2. Suman J. D., Laube B. L., Lin T.-Ch., Brouet G., Dalby R. Validity of in vitro tests on aqueous spray pumps as surrogates for nasal deposition. *Pharm Res*. 2002;19(1):1–6. DOI: 10.1023/a:1013643912335.
3. Rohrer J., Lupo N., Bernkop-Schnürch A. Advanced formulations for intranasal delivery of biologics. *International Journal of Pharmaceutics*. 2018;553(1–2):8–20. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2018.10.029.
4. Bariev E. A., Krasnyuk I. I., Anurova M. N., Bakhrushina E. O., Smirnov V. V., Bardakov A. I., Demina N. B., Krasnyuk (Jr.) I. I. Study of the acute toxicity of a new dosage form of naloxone hydrochloride for intranasal administration. *Drug Research*. 2020;70(1):23–25. DOI: 10.1055/a-0899-4948.
5. Singh R. M. P., Kumar A., Pathak K. Mucoadhesivein situnasal gelling drug delivery systems for modulated drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2013;10(1):115–130. DOI: 10.1517/17425247.2013.746659.
6. Agrawal M., Saraf Sh., Saraf S., Dubey S. K., Puri A., Gupta U., Kesharwani P., Ravichandiran V., Kumar P., Naidu V. G. M., Murty U. S., Ajazuddin, Alexander A. Stimuli-responsive in situ gelling system for nose-to-brain drug delivery. *Journal of Controlled Release*. 2020;327:235–265. DOI: 10.1016/j.jconrel.2020.07.044.
7. Birmingham A. The topographical anatomy of the spleen, pancreas, duodenum, kidneys, &c: illustrated by a cast of these viscera hardened *in situ*. *J Anat Physiol*. 1896;31(1):95–113.
8. De Bethizy J. D., Street J. C. Unique purified hydrated-gelatin diet for feeding dietary fiber to Wistar rats. *Lab Anim Sci*. 1984;34(1):44–48.
9. Bromberg L. E. Enhanced nasal retention of hydrophobically modified polyelectrolytes. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2010;53(1):109–114. DOI: 10.1211/0022357011775082.
10. Song S.-Ch., Lee S. B., Lee B. H., Ha H.-W., Lee K.-T., Sohn Y. S. Synthesis and antitumor activity of novel thermosensitive platinum(II)–cyclotriphosphazene conjugates. *Journal of Controlled Release*. 2003;90(3):303–311. DOI: 10.1016/s0168-3659(03)00199-8.
11. Bilensoy E., Rouf M. A., Vural I., Sen M., Hincal A. A. Mucoadhesive, thermosensitive, prolonged-release vaginal gel for clotrimazole: β-cyclodextrin complex. *AAPS PharmSciTech*. 2006;7(2):E54. DOI: 10.1208/pt070238.
12. Бахрушина Е. О., Никифорова Д. А., Демина Н. Б. Основные аспекты разработки термореверсивных поликомплексов полоксамеров. *Здоровье и образование в XXI веке*. 2018;20(5):103–106. DOI: 10.26787/nydha-2226-7425-2018-20-5-103-106.
13. Hu K.-L., Mei N., Feng L., Jiang X.-G. Hydrophilic nasal gel of lidocaine hydrochloride. 2nd communication: Improved bioavailability and brain delivery in rats with low ciliotoxicity. *Arzneimittelforschung*. 2009;59(12):635–640. DOI: 10.1055/s-0031-1296452.
14. Zhang L., Pang L., Zhu S., Ma J., Li R., Liu Y., Zhu L., Zhuang X., Zhi W., Yu X., Du L., Zuo H., Jin Y. Intranasal tetrandrine temperature-sensitive in situ hydrogels for the treatment of microwave-induced brain injury. *International Journal of Pharmaceutics*. 2020;583:119384. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2020.119384.
15. Wang Q.-S., Li K., Gao L.-N., Zhang Y., Lin K.-M., Cui Y.-L. Intranasal delivery of berberine via in situ thermoresponsive hydrogels with non-invasive therapy exhibits better antidepressant-like effects. *Biomaterials Science*. 2020;8(10):2853–2865. DOI: 10.1039/c9bm02006c.

16. Bachhav S. S., Dighe V., Mali N., Gogtay N. J., Thatte U. M., Devarajan D. V. Nose-to-brain delivery of diazepam from an intranasal aqua-triggered in-situ (ATIS) gelling microemulsion: monitoring brain uptake by microdialysis. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*. 2020;45(6):785–799. DOI: 10.1007/s13318-020-00641-5.
17. Yin P., Li H., Ke Ch., Cao G., Xin X., Hu J., Cai X., Li L., Liu H., Du B. Intranasal delivery of immunotherapeutic nanoformulations for treatment of glioma through in situ activation of immune response. *International Journal of Nanomedicine*. 2020;15:1499–1515. DOI: 10.2147/IJN.S240551.
18. Salem H. F., Kharshoum R. M., Abou-Taleb H. A., Naguib D. M. Nanosized transferosome-based intranasal in situ gel for brain targeting of resveratrol: formulation, optimization, in vitro evaluation, and in vivo pharmacokinetic study. *AAPS PharmSciTech*. 2019;20(5):181. DOI: 10.1208/s12249-019-1353-8.
19. Wang Q., Wong Ch.-H., Chan H.Y.E., Lee W.-Y., Zuo Zh. Statistical design of experiment (DoE) based development and optimization of DB213 in situ thermosensitive gel for intranasal delivery. *International Journal of Pharmaceutics*. 2018;539(1–2):50–57. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2018.01.032.
20. Sun Y., Li L., Xie H., Wang Y., Gao Sh., Zhang L., Bo F., Yang Sh., Feng A. Primary studies on construction and evaluation of ion-sensitive in situ gel loaded with paeonol-solid lipid nanoparticles for intranasal drug delivery. *International Journal of Nanomedicine*. 2020;15:3137–3160. DOI: 10.2147/IJN.S247935.
21. Majcher M. J., Babar A., Lofts A., Leung A., Li X., Abu-Hijleh F., Smeets N. M. B., Mishra R. K., Hoare T. In situ-gelling starch nanoparticle (SNP)/O-carboxymethyl chitosan (CMCh) nanoparticle network hydrogels for the intranasal delivery of an antipsychotic peptide. *Journal of Controlled Release*. 2021;330:738–752. DOI: 10.1016/j.jconrel.2020.12.050.
22. Rajput A., Bariya A., Allam A., Othman S., Butani S. B. In situ nanostructured hydrogel of resveratrol for brain targeting: in vitro-in vivo characterization. *Drug Delivery and Translational Research*. 2018;8(5):1460–1470. DOI: 10.1007/s13346-018-0540-6.
23. Ball J. P., Springer M. J., Ni Y., Finger-Baker I., Martinez J., Hahn J., Suber J. F., DiMarco A. V., Talton J. D., Cobb R. R. Intranasal delivery of a bivalent norovirus vaccine formulated in an in situ gelling dry powder. *PLoS One*. 2017;12(5):e0177310. DOI: 10.1371/journal.pone.0177310.
24. Mohamed S., Nasr M., Salama A., Refai H. Novel lipid–polymer hybrid nanoparticles incorporated in thermosensitive in situ gel for intranasal delivery of terbutaline sulphate. *Journal of Microencapsulation*. 2020;37(8):577–594. DOI: 10.1080/02652048.2020.1826590.
25. Mathure D., Madan J. R., Gujar K. N., Tupsamundre A., Ranpise H. A., Dua K. Formulation and evaluation of niosomal in situ nasal gel of a serotonin receptor agonist, buspirone hydrochloride for the brain delivery via intranasal route. *Pharmaceutical Nanotechnology*. 2018;6(1):69–78. DOI: 10.2174/2211738506666180130105919.
26. Sherje A. P., Londhe V. Development and evaluation of pH-responsive cyclodextrin-based in situ gel of paliperidone for intranasal delivery. *AAPS PharmSciTech*. 2018;19(1):384–394. DOI: 10.1208/s12249-017-0844-8.
27. Chen Y., Liu Y., Xie J., Zheng Q., Yue P., Chen L., Hu P., Yang M. Nose-to-brain delivery by nanosuspensions-based in situ gel for breviscapine. *International Journal of Nanomedicine*. 2020;15:10435–10451. DOI: 10.2147/IJN.S265659.
28. Akilo O. D., Kumar P., Choonara Y. E., du Toit L. C., Pradeep P., Modi G., Pillay V. In situ thermo-co-electroresponsive mucogel for controlled release of bioactive agent. *International Journal of Pharmaceutics*. 2019;559:255–270. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2019.01.044.
29. Qian Sh., Wong Y. Ch., Zuo Zh. Development, characterization and application of in situ gel systems for intranasal delivery of tacrine. *International Journal of Pharmaceutics*. 2014;468(1–2):272–282. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2014.04.015.
30. Salatin S., Barar J., Barzegar-Jalali M., Adibkia Kh., Jelvehgari M. Thermosensitive in situ nanocomposite of rivastigmine hydrogen tartrate as an intranasal delivery system: Development, characterization, ex vivo permeation and cellular studies. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2017;159:629–638. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2017.08.031.
31. Patil R. P., Pawara D. D., Gudewar Ch. S., Tekade A. R. Nanostructured cubosomes in an in situ nasal gel system: an alternative approach for the controlled delivery of donepezil HCl to brain. *Journal of Liposome Research*. 2019;29(3):264–273. DOI: 10.1080/08982104.2018.1552703.
32. Lee B. H., West B., McLemore R., Pauken Ch., Vernon B. L. In-situ injectable physically and chemically gelling NIPAAm-based copolymer system for embolization. *Biomacromolecules*. 2006;7(6):2059–2064. DOI: 10.1021/bm060211h.
33. Lee B. H., Vernon B. In situ-gelling, erodible N-isopropylacrylamide copolymers. *Macromolecular Bioscience*. 2005;5(7):629–635. DOI: 10.1002/mabi.200500029.
34. Lee B. H., Beart H. H., Cheng V., McLemore R., Robb S. A., Cui Zh., Dovigi A., Vernon B. L. In vitro and in vivo demonstration of physically and chemically in situ gelling NIPAAm-based copolymer system. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*. 2013;24(13):1575–1588. DOI: 10.1080/09205063.2013.781939.
35. Li Chen., Li Chun., Liu Zh., Li Q., Yan X., Liu Y., Lu W. Enhancement in bioavailability of ketorolac tromethamine via intranasal in situ hydrogel based on poloxamer 407 and carrageenan. *International Journal of Pharmaceutics*. 2014;474(1–2):123-133. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2014.08.023.
36. Pandey P., Pandey S., Cabot P. J., Wallwork B., Panizza B. J., Parekh H. S. Toxicity evaluation and nasal mucosal tissue deposition of dexamethasone-infused mucoadhesive in situ nasal gelling systems. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2019;27(7):914–919. DOI: 10.1016/j.jsps.2019.06.005.
37. Ahmad N., Ahmad R., Ahmad F. J., Ahmad W., Alam M. A., Amir M., Ali A. Poloxamer-chitosan-based Naringenin nanoformulation used in brain targeting for the treatment of cerebral ischemia. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2020;27(1):500–517. DOI: 10.1016/j.sjbs.2019.11.008.
38. Zakir F., Ahmad A., Farooq U., Mirza M. A., Tripathi A., Singh D., Shakeel F., Mohapatra S., Ahmad F. J., Kohli K. Design and development of a commercially viable in situ nanoemulgel for the treatment of postmenopausal osteoporosis. *Nanomedicine*. 2020;15(12):1167–1187. DOI: 10.2217/nnm-2020-0079.
39. Харенко Е. А., Ларионова Н. И., Демина Н. Б. Мукоадгезивные лекарственные формы. *Химико-фармацевтический журнал*. 2009;43(4):21–29.
40. Bakhrushina E., Anurova M., Demina N., Kashperko A., Rastopchina O., Bardakov A., Krasnyuk I. Comparative study of the mucoadhesive properties of polymers for pharmaceutical use. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*. 2020; 8(A):639–645. DOI: 10.3889/oamjms.2020.4930.
41. Paul A., Fathima K. M., Nair S. C. Intra nasal in situ gelling system of lamotrigine using ion activated mucoadhesive polymer. *The Open Medicinal Chemistry Journal*. 2017;11(1):222–244. DOI: 10.2174/1874104501711010222.
42. Mahajan, H. S. Gattani S. In situ gels of Metoclopramide Hydrochloride for intranasal delivery: In vitro evaluation and in vivo pharmacokinetic study in rabbits. *Drug Delivery*. 2010;17(1):19–27. DOI: 10.3109/10717540903447194.
43. Kulkarni J. A., Avachat A. M. Pharmacodynamic and pharmacokinetic investigation of cyclodextrin-mediated asenapine maleate in situ nasal gel for improved bioavailability. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2017;43(2):234–245. DOI: 10.1080/03639045.2016.1236808.
44. Gholizadeh H., Cheng Sh., Pozzoli M., Messerotti E., Traini D., Young P., Kourmatzis A., Ong H. X. Smart thermosensitive chitosan hydrogel for nasal delivery of ibuprofen to treat neurological disorders. *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2019;16(4):453–466. DOI: 10.1080/17425247.2019.1597051.
45. Uppuluri Ch. T., Ravi P. R., Dalvi A. V., Shaikh Sh. Sh., Kale S. R. Piribedil loaded thermo-responsive nasal in situ gelling system for enhanced delivery to the brain: formulation optimization, physical characterization, and in vitro and in vivo evaluation. *Drug Delivery and Translational Research*. 2021;11(3):909–926. DOI: 10.1007/s13346-020-00800-w.
46. Le Guellec S., Ehrmann S., Vecellio L. In vitro – in vivo correlation of intranasal drug deposition. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2021;170:340–352. DOI: 10.1016/j.addr.2020.09.002.

47. Keustermans W., Huysmans T., Danckaers F., Zarowski A., Schmelzer B., Sijbers J., Dirckx J. J. J. High quality statistical shape modelling of the human nasal cavity and applications. *Royal Society Open Science.* 2018;5(12):181558. DOI: 10.1098/rsos.181558.
48. Möller W., Celik G., Feng Sh., Bartenstein P., Meyer G., Eickelberg O., Schmid O., Tatkov S. Nasal high flow clears anatomical dead space in upper airway models. *Journal of Applied Physiology.* 2015;118(12):1525–1532. DOI: 10.1152/japplphysiol.00934.2014.
49. Liu Y., Johnson M. R., Matida E. A., Kherani S., Marsan J. Creation of a standardized geometry of the human nasal cavity. *Journal of Applied Physiology.* 2009;106(3):784–795. DOI: 10.1152/japplphysiol.90376.2008.
50. Corey J. P., Gungor A., Nelson R., Fredberg J., Lai V. A Comparison of the nasal cross-sectional areas and volumes obtained with acoustic rhinometry and magnetic resonance imaging. *Otolaryngology–Head and Neck Surgery.* 1997;117(4):349–354. DOI: 10.1016/S0194-5998(97)70125-6.
51. Cheng K.-H., Cheng Y.-S., Yeh H.-Ch., Guilmette R. A., Simpson S. Q., Yang Y.-H., Swift D. L. In vivo measurements of nasal airway dimensions and ultrafine aerosol deposition in the human nasal and oral airways. *Journal of Aerosol Science.* 1996;27(5):785–801. DOI: 10.1016/0021-8502(96)00029-8.
52. Calmet H., Inthavong K., Eguzkitza B., Lehmkuhl O., Houzeaux G., Vázquez M. Nasal sprayed particle deposition in a human nasal cavity under different inhalation conditions. *PLoS One.* 2019;14(9):e0221330. DOI: 10.1371/journal.pone.0221330.
53. Chen J. Z., Kiaee M., Martin A. R., Finlay W. H. In vitro assessment of an idealized nose for nasal spray testing: Comparison with regional deposition in realistic nasal replicas. *International Journal of Pharmaceutics.* 2020;582:119341. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2020.119341.
54. Kundoor V., Dalby R. N. Assessment of nasal spray deposition pattern in a silicone human nose model using a color-based method. *Pharmaceutical Research.* 2010;27(1):30–36. DOI: 10.1007/s11095-009-0002-4.
55. Warnken Z. N., Smyth H. D. C., Davis D. A., Weitman S., Kuhn J. G., Williams R. O. Personalized medicine in nasal delivery: The use of patient-specific administration parameters to improve nasal drug targeting using 3D-printed nasal replica casts. *Molecular Pharmaceutics.* 2018;15(4):1392–1402. DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.7b00702.

REFERENCES

1. Demina N. B., Bakhrushina E. O., Bardakov A. I., Krasnyuk I. I. Design of intranasal dosage forms: biopharmaceutical aspects. *Farmatsiya = Pharmacy.* 2019;68(3):12–17. (In Russ.)
2. Suman J. D., Laube B. L., Lin T.-Ch., Brouet G., Dalby R. Validity of in vitro tests on aqueous spray pumps as surrogates for nasal deposition. *Pharm Res.* 2002;19(1):1–6. DOI: 10.1023/a:1013643912335.
3. Rohrer J., Lupo N., Bernkop-Schnürch A. Advanced formulations for intranasal delivery of biologics. *International Journal of Pharmaceutics.* 2018;553(1–2):8–20. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2018.10.029.
4. Bariev E. A., Krasnyuk I. I., Anurova M. N., Bakhrushina E. O., Smirnov V. V., Bardakov A. I., Demina N. B., Krasnyuk (Jr.) I. I. Study of the acute toxicity of a new dosage form of naloxone hydrochloride for intranasal administration. *Drug Research.* 2020;70(1):23–25. DOI: 10.1055/a-0899-4948.
5. Singh R. M. P., Kumar A., Pathak K. Mucoadhesivein situnasal gelling drug delivery systems for modulated drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery.* 2013;10(1):115–130. DOI: 10.1517/17425247.2013.746659.
6. Agrawal M., Saraf Sh., Saraf S., Dubey S. K., Puri A., Gupta U., Kesharwani P., Ravichandiran V., Kumar P., Naidu V. G. M., Murty U. S., Ajazuddin, Alexander A. Stimuli-responsive in situ gelling system for nose-to-brain drug delivery. *Journal of Controlled Release.* 2020;327:235–265. DOI: 10.1016/j.jconrel.2020.07.044.
7. Birmingham A. The topographical anatomy of the spleen, pancreas, duodenum, kidneys, &c: illustrated by a cast of these viscera hardened *in situ*. *J Anat Physiol.* 1896;31(1):95–113.
8. De Bethizy J. D., Street J. C. Unique purified hydrated-gelatin diet for feeding dietary fiber to Wistar rats. *Lab Anim Sci.* 1984;34(1):44–48.
9. Bromberg L. E. Enhanced nasal retention of hydrophobically modified polyelectrolytes. *Journal of Pharmacy and Pharmacology.* 2010;53(1):109–114. DOI: 10.1211/0022357011775082.
10. Song S.-Ch., Lee S. B., Lee B. H., Ha H.-W., Lee K.-T., Sohn Y. S. Synthesis and antitumor activity of novel thermosensitive platinum(II)–cyclotriphosphazene conjugates. *Journal of Controlled Release.* 2003;90(3):303–311. DOI: 10.1016/s0168-3659(03)00199-8.
11. Bilensoy E., Rouf M. A., Vural I., Sen M., Hincal A. A. Mucoadhesive, thermosensitive, prolonged-release vaginal gel for clotrimazole: β-cyclodextrin complex. *AAPS PharmSciTech.* 2006;7(2):E54. DOI: 10.1208/pt070238.
12. Bakhrushina E. O., Nikiforova D. A., Demina N. B. The main aspects of the thermorreversible polycomplexes of poloxamers developing. *Zdorov'e i obrazovanie v XXI veke = Health and education in the XXI century.* 2018;20(5):103–106. DOI: 10.26787/nydha-2226-7425-2018-20-5-103-106. (In Russ.)
13. Hu K.-L., Mei N., Feng L., Jiang X.-G. Hydrophilic nasal gel of lidocaine hydrochloride. 2nd communication: Improved bioavailability and brain delivery in rats with low ciliotoxicity. *Arzneimittelforschung.* 2009;59(12):635–640. DOI: 10.1055/s-0031-1296452.
14. Zhang L., Pang L., Zhu S., Ma J., Li R., Liu Y., Zhu L., Zhuang X., Zhi W., Yu X., Du L., Zuo H., Jin Y. Intranasal tetrandrine temperature-sensitive in situ hydrogels for the treatment of microwave-induced brain injury. *International Journal of Pharmaceutics.* 2020;583:119384. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2020.119384.
15. Wang Q.-S., Li K., Gao L.-N., Zhang Y., Lin K.-M., Cui Y.-L. Intranasal delivery of berberine via in situ thermoresponsive hydrogels with non-invasive therapy exhibits better antidepressant-like effects. *Biomaterials Science.* 2020;8(10):2853–2865. DOI: 10.1039/c9bm02006c.
16. Bachhav S. S., Dighe V., Mali N., Gogtay N. J., Thatte U. M., Devarajan D. V. Nose-to-brain delivery of diazepam from an intranasal aqua-triggered in-situ (ATIS) gelling microemulsion: monitoring brain uptake by microdialysis. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics.* 2020;45(6):785–799. DOI: 10.1007/s13318-020-00641-5.
17. Yin P., Li H., Ke Ch., Cao G., Xin X., Hu J., Cai X., Li L., Liu H., Du B. Intranasal delivery of immunotherapeutic nanoformulations for treatment of glioma through in situ activation of immune response. *International Journal of Nanomedicine.* 2020;15:1499–1515. DOI: 10.2147/IJN.S240551.
18. Salem H. F., Kharshoum R. M., Abou-Taleb H. A., Naguib D. M. Nanosized transferosome-based intranasal in situ gel for brain targeting of resveratrol: formulation, optimization, in vitro evaluation, and in vivo pharmacokinetic study. *AAPS PharmSciTech.* 2019;20(5):181. DOI: 10.1208/s12249-019-1353-8.
19. Wang Q., Wong Ch.-H., Chan H.Y.E., Lee W.-Y., Zuo Zh. Statistical design of experiment (DoE) based development and optimization of DB213 in situ thermosensitive gel for intranasal delivery. *International Journal of Pharmaceutics.* 2018;539(1–2):50–57. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2018.01.032.
20. Sun Y., Li L., Xie H., Wang Y., Gao Sh., Zhang L., Bo F., Yang Sh., Feng A. Primary studies on construction and evaluation of ion-sensitive in situ gel loaded with paeonol-solid lipid nanoparticles for intranasal drug delivery. *International Journal of Nanomedicine.* 2020;15:3137–3160. DOI: 10.2147/IJN.S247935.
21. Majcher M. J., Babar A., Lofts A., Leung A., Li X., Abu-Hijleh F., Smeets N. M. B., Mishra R. K., Hoare T. In situ-gelling starch nanoparticle (SNP)/O-carboxymethyl chitosan (CMCh) nanoparticle network hydrogels for the intranasal delivery of an antipsychotic peptide. *Journal of Controlled Release.* 2021;330:738–752. DOI: 10.1016/j.jconrel.2020.12.050.
22. Rajput A., Bariya A., Allam A., Othman S., Butani S. B. In situ nanostructured hydrogel of resveratrol for brain targeting: in vitro-in vivo characterization. *Drug Delivery and Translational Research.* 2018;8(5):1460–1470. DOI: 10.1007/s13346-018-0540-6.
23. Ball J. P., Springer M. J., Ni Y., Finger-Baker I., Martinez J., Hahn J., Suber J. F., DiMarco A. V., Talton J. D., Cobb R. R. Intranasal delivery of a bivalent norovirus vaccine formulated in an in situ gelling dry powder. *PLoS One.* 2017;12(5):e0177310. DOI: 10.1371/journal.pone.0177310.

24. Mohamed S., Nasr M., Salama A., Refai H. Novel lipid–polymer hybrid nanoparticles incorporated in thermosensitive in situ gel for intranasal delivery of terbutaline sulphate. *Journal of Microencapsulation*. 2020;37(8):577–594. DOI: 10.1080/02652048.2020.1826590.
25. Mathure D., Madan J. R., Gujar K. N., Tupsamundre A., Ranpise H. A., Dua K. Formulation and evaluation of niosomal in situ nasal gel of a serotonin receptor agonist, buspirone hydrochloride for the brain delivery via intranasal route. *Pharmaceutical Nanotechnology*. 2018;6(1):69–78. DOI: 10.2174/2211738506666180130105919.
26. Sherje A. P., Londhe V. Development and evaluation of pH-responsive cyclodextrin-based in situ gel of paliperidone for intranasal delivery. *AAPS PharmSciTech*. 2018;19(1):384–394. DOI: 10.1208/s12249-017-0844-8.
27. Chen Y., Liu Y., Xie J., Zheng Q., Yue P., Chen L., Hu P., Yang M. Nose-to-brain delivery by nanosuspensions-based in situ gel for breviscapine. *International Journal of Nanomedicine*. 2020;15:10435–10451. DOI: 10.2147/IJN.S265659.
28. Akilo O. D., Kumar P., Choonara Y. E., du Toit L. C., Pradeep P., Modi G., Pillay V. In situ thermo-co-electroresponsive mucogel for controlled release of bioactive agent. *International Journal of Pharmaceutics*. 2019;559:255–270. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2019.01.044.
29. Qian Sh., Wong Y. Ch., Zuo Zh. Development, characterization and application of in situ gel systems for intranasal delivery of tacrine. *International Journal of Pharmaceutics*. 2014;468(1–2):272–282. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2014.04.015.
30. Salatin S., Barar J., Barzegar-Jalali M., Adibkia Kh., Jelvehgari M. Thermosensitive in situ nanocomposite of rivastigmine hydrogen tartrate as an intranasal delivery system: Development, characterization, ex vivo permeation and cellular studies. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2017;159:629–638. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2017.08.031.
31. Patil R. P., Pawara D. D., Gudewar Ch. S., Tekade A. R. Nanostructured cubosomes in an in situ nasal gel system: an alternative approach for the controlled delivery of donepezil HCl to brain. *Journal of Liposome Research*. 2019;29(3):264–273. DOI: 10.1080/08982104.2018.1552703.
32. Lee B. H., West B., McLemore R., Pauken Ch., Vernon B. L. In-situ injectable physically and chemically gelling NIPAAm-based copolymer system for embolization. *Biomacromolecules*. 2006;7(6):2059–2064. DOI: 10.1021/bm060211h.
33. Lee B. H., Vernon B. In situ-gelling, erodible N-isopropylacrylamide copolymers. *Macromolecular Bioscience*. 2005;5(7):629–635. DOI: 10.1002/mabi.200500029.
34. Lee B. H., Beart H. H., Cheng V., McLemore R., Robb S. A., Cui Zh., Dovigi A., Vernon B. L. In vitro and in vivo demonstration of physically and chemically in situ gelling NIPAAm-based copolymer system. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*. 2013;24(13):1575–1588. DOI: 10.1080/09205063.2013.781939.
35. Li Chen., Li Chun., Liu Zh., Li Q., Yan X., Liu Y., Lu W. Enhancement in bioavailability of ketorolac tromethamine via intranasal in situ hydrogel based on poloxamer 407 and carrageenan. *International Journal of Pharmaceutics*. 2014;474(1–2):123-133. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2014.08.023.
36. Pandey P., Pandey S., Cabot P. J., Wallwork B., Panizza B. J., Parekh H. S. Toxicity evaluation and nasal mucosal tissue deposition of dexamethasone-infused mucoadhesive in situ nasal gelling systems. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2019;27(7):914–919. DOI: 10.1016/j.jsps.2019.06.005.
37. Ahmad N., Ahmad R., Ahmad F. J., Ahmad W., Alam M. A., Amir M., Ali A. Poloxamer-chitosan-based Naringenin nanoformulation used in brain targeting for the treatment of cerebral ischemia. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2020;27(1):500–517. DOI: 10.1016/j.sjbs.2019.11.008.
38. Zakir F., Ahmad A., Farooq U., Mirza M. A., Tripathi A., Singh D., Shakeel F., Mohapatra S., Ahmad F. J., Kohli K. Design and development of a commercially viable in situ nanoemulgel for the treatment of postmenopausal osteoporosis. *Nanomedicine*. 2020;15(12):1167–1187. DOI: 10.2217/nnm-2020-0079.
39. Kharenko E. A., Larionova N. I., Demina N. B. Mucoadhesive drug delivery systems. *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal = Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2009;43(4):21–29. (In Russ.)
40. Bakhrushina E., Anurova M., Demina N., Kashperko A., Rastopchina O., Bardakov A., Krasnyuk I. Comparative study of the mucoadhesive properties of polymers for pharmaceutical use. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*. 2020; 8(A):639–645. DOI: 10.3889/oamjms.2020.4930.
41. Paul A., Fathima K. M., Nair S. C. Intra nasal in situ gelling system of lamotrigine using ion activated mucoadhesive polymer. *The Open Medicinal Chemistry Journal*. 2017;11(1):222–244. DOI: 10.2174/1874104501711010222.
42. Mahajan, H. S. Gattani S. In situ gels of Metoclopramide Hydrochloride for intranasal delivery: In vitro evaluation and in vivo pharmacokinetic study in rabbits. *Drug Delivery*. 2010;17(1):19–27. DOI: 10.3109/10717540903447194.
43. Kulkarni J. A., Avachat A. M. Pharmacodynamic and pharmacokinetic investigation of cyclodextrin-mediated asenapine maleate in situ nasal gel for improved bioavailability. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2017;43(2):234–245. DOI: 10.1080/03639045.2016.1236808.
44. Gholizadeh H., Cheng Sh., Pozzoli M., Messerotti E., Traini D., Young P., Kourmatzis A., Ong H. X. Smart thermosensitive chitosan hydrogel for nasal delivery of ibuprofen to treat neurological disorders. *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2019;16(4):453–466. DOI: 10.1080/17425247.2019.1597051.
45. Uppuluri Ch. T., Ravi P. R., Dalvi A. V., Shaikh Sh. Sh., Kale S. R. Piribedil loaded thermo-responsive nasal in situ gelling system for enhanced delivery to the brain: formulation optimization, physical characterization, and in vitro and in vivo evaluation. *Drug Delivery and Translational Research*. 2021;11(3):909–926. DOI: 10.1007/s13346-020-00800-w.
46. Le Guellec S., Ehrmann S., Vecellio L. In vitro – in vivo correlation of intranasal drug deposition. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2021;170:340–352. DOI: 10.1016/j.addr.2020.09.002.
47. Keustermans W., Huysmans T., Danckaers F., Zarowski A., Schmelzer B., Sijbers J., Dirckx J. J. J. High quality statistical shape modelling of the human nasal cavity and applications. *Royal Society Open Science*. 2018;5(12):181558. DOI: 10.1098/rsos.181558.
48. Möller W., Celik G., Feng Sh., Bartenstein P., Meyer G., Eickelberg O., Schmid O., Tatkov S. Nasal high flow clears anatomical dead space in upper airway models. *Journal of Applied Physiology*. 2015;118(12):1525–1532. DOI: 10.1152/japplphysiol.00934.2014.
49. Liu Y., Johnson M. R., Matida E. A., Kherani S., Marsan J. Creation of a standardized geometry of the human nasal cavity. *Journal of Applied Physiology*. 2009;106(3):784–795. DOI: 10.1152/japplphysiol.90376.2008.
50. Corey J. P., Gungor A., Nelson R., Fredberg J., Lai V. A Comparison of the nasal cross-sectional areas and volumes obtained with acoustic rhinometry and magnetic resonance imaging. *Otolaryngology–Head and Neck Surgery*. 1997;117(4):349–354. DOI: 10.1016/S0194-5998(97)70125-6.
51. Cheng K.-H., Cheng Y.-S., Yeh H.-Ch., Guilmette R. A., Simpson S. Q., Yang Y.-H., Swift D. L. In vivo measurements of nasal airway dimensions and ultrafine aerosol deposition in the human nasal and oral airways. *Journal of Aerosol Science*. 1996;27(5):785–801. DOI: 10.1016/0021-8502(96)00029-8.
52. Calmet H., Inthavong K., Eguzkitza B., Lehmkuhl O., Houzeaux G., Vázquez M. Nasal sprayed particle deposition in a human nasal cavity under different inhalation conditions. *PLoS One*. 2019;14(9):e0221330. DOI: 10.1371/journal.pone.0221330.
53. Chen J. Z., Kiaee M., Martin A. R., Finlay W. H. In vitro assessment of an idealized nose for nasal spray testing: Comparison with regional deposition in realistic nasal replicas. *International Journal of Pharmaceutics*. 2020;582:119341. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2020.119341.
54. Kundoor V., Dalby R. N. Assessment of nasal spray deposition pattern in a silicone human nose model using a color-based method. *Pharmaceutical Research*. 2010;27(1):30–36. DOI: 10.1007/s11095-009-0002-4.
55. Warnken Z. N., Smyth H. D. C., Davis D. A., Weitman S., Kuhn J. G., Williams R. O. Personalized medicine in nasal delivery: The use of patient-specific administration parameters to improve nasal drug targeting using 3D-printed nasal replica casts. *Molecular Pharmaceutics*. 2018;15(4):1392–1402. DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.7b00702.