

РАЗРАБОТКА И АПРОБАЦИЯ *IN VITRO* МОДЕЛИ НОСОВОЙ ПОЛОСТИ ДЛЯ СТАНДАРТИЗАЦИИ СИСТЕМ ДОСТАВКИ *IN SITU*

Е.О. Бахрушина, Д.С. Шуликина, И.Б. Михел, Н.Б. Демина, И.И. Краснюк

ФГАОУ ВО "Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова"

Поступила в редакцию 10.04.2023 г.

Аннотация. Идея создания новых лекарственных препаратов в виде интраназальных лекарственных форм (аэрозолей и спреев) является очень актуальной темой. Разрабатываются и тестируются множество новых комбинаций лекарственных веществ и систем доставки для интраназального введения. Для этого исследователи проводят эксперименты *in vivo* и на моделях *in vitro*. *In situ* системы обладают специфичностью, которая требует разработки новых методов анализа *in vitro* перед проведением доклинических исследований. Проведение экспериментов *in vitro* является перспективным направлением, так как данный метод является менее затратным, более удобным в использовании, безопасным и эффективным. Целью данного исследования было разработать *in vitro* модель для имитации условий носовой полости при интраназальном введении *in situ* систем. Основываясь на известных данных о строении носовой полости, была разработана модель *in vitro*, анатомически полностью повторяющая носовую полость. Для оценки качества *in situ* систем проводилось измерение объема истечения и площади распределения препарата на поверхности разработанной *in vitro* модели. В качестве испытуемых использовались следующие объекты исследования: назальные спреи (Naphthyzin® 0.1%, ЛЕККО ЗАО (Россия); Afrin®, Contract Pharmaceuticals Ltd (Канада), а также четыре экспериментальных образца с различными составами полимеров (раствор к-каррагинана 0.2% (Marine®70, ООО "ИНГРЕДИКО", Россия), раствор карбомера 0.125% (Carbopol® 971 NF, Lubrizol, USA), раствор натрия карбоксиметилцеллюлозы 0.25% (Natrosol® 250 NHX, ASHLAND, USA), терморевверсивный образец состава полоксамер 407 18% (Kolliphor® P 407 micro Geismar, BASF, Germany) + К-каррагинан 0.2% (Marine®70, ООО "ИНГРЕДИКО", Россия)). В качестве сравнения использовали воду очищенную, соответствующую требованиям ФС.2.2.0020.15. С целью проведения валидации методики осуществляли определение линейности, правильности и прецизионности испытаний. На основе полученных результатов была доказана пригодность разработанной *in vitro* модели для решения различных типов задач в ходе фармацевтической разработки интраназальных систем – как классических жидких лекарственных форм для назального введения, так и современных таргетных *in situ* систем доставки.

Ключевые слова: назальные спреи, *in situ* системы, *in situ* gelling, модель носовой полости, *in vitro* моделирование, муцин.

В последние десятилетия интраназальный путь введения стал одним из самых перспективных неинвазивных способов доставки лекарств. Этот путь введения обеспечивает высокую приверженность пациентов терапии, поскольку не требует привлечения медицинского персонала, не травматичен, легко осуществляем и высокоэффективен. Однако, классические лекарственные формы для интраназального применения – капли и спреи – не всегда могут рассматриваться в качестве современных систем доставки лекарств из-за

проблем с точностью дозирования, недостаточно продолжительным периодом экспозиции на слизистой, отсутствием возможности модифицирования высвобождения, феномена потери дозы при стекании жидкости в глотку и др.

Наиболее современным решением является разработка *in situ* систем для интраназального применения – систем доставки, обеспечивающих за счет входящих в состав вспомогательных веществ фазовый переход из жидкого состояния в вязко-пластичное при попадании на слизистую оболочку носовой полости. Такие системы объединяют достоинства жидких и мягких лекарственных форм – простоту и гигиеничность введения с

помощью спрей-систем, большую площадь контакта лекарственной формы со слизистой оболочкой, высокую мукоадгезию, длительную экспозицию за счет противодействия вязкой системы мукоцилиарному клиренсу, возможность модифицированного высвобождения.

Однако, препятствием на пути разработки интраназальных *in situ* систем является отсутствие доступных, воспроизводимых *in vitro* моделей, фиксирующей фазовый переход экспериментальных составов в процессе скрининга.

Сложность моделирования носовой полости заключается в том, что у каждого человека строение органа индивидуально. На протяжении последних лет перед мировым научным сообществом стоит задача – сконструировать и воспроизвести усредненную 3D модель носовой полости, с которой было бы просто и удобно работать (рис. 1).

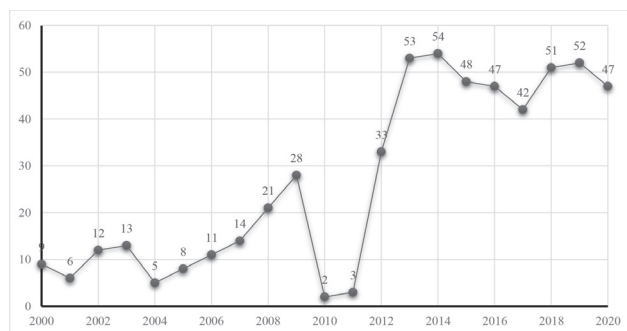


Рис. 1. Количество научно-исследовательских статей по поисковому запросу "models of nasal cavity" (Источник - <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>)

На сегодняшний день существует множество научно-исследовательских работ по моделированию носовой полости, основывающихся на обработке данных пациентов, полученных различными методами [1, 2]. Часто с этой целью используется метод компьютерной томографии [1-4], но имеются также работы, в которых для конструирования усредненных моделей применяли методы акустической ринометрии и магнитно-резонансной томографии [5, 6].

В одном из наиболее масштабных исследований Johnson M.R. et al. была разработана стандартизированная трехмерная модель носовой полости на основе обработки 30 снимков компьютерной томографии 30 испытуемых людей [7]. Испытуемые люди были здоровы и не имели хронических заболеваний носовой полости. Возраст испытуемых находился от 17 до 78 лет. Всего в эксперименте принимали участие 13 мужчин и 17 женщин. Информация об этнической принадлежности пациентов отсутствовала.

Полученные усредненные модели носовой полости могут быть использованы для изучения различных параметров лекарственных форм. В настоящее время модели носовой полости находят наиболее широкое применение в определении площади осаждения частиц при интраназальном введении, а также для изучения влияния угла введения, лекарственной формы, физиологических параметров пациента на этот параметр [8-10, 3, 4, 11, 12].

С развитием уровня техники конструирование моделей все чаще происходит путем 3D-печати [13]. Однако, в зависимости от исследуемого параметра конструкция и материал модели могут отличаться.

В исследовании [2] для изучения носового высокого потока (nasal high flow – NHF) были использованы две модели: первая представляла собой простую трубчатую модель, состоящую из сопла для имитации области носового клапана, соединенного с цилиндрической трубкой для имитации носовой полости, вторая – сложная анатомически репрезентативная модель верхних дыхательных путей, построенная на основе сегментированных КТ-изображений здорового добровольца. Исследователи в своей работе проверяли гипотезу о том, что носовой высокий поток (NHF) с дополнительным кислородом или без него может помочь при вентиляции легких пациентов с хроническими респираторными расстройствами и нарушениями сна.

В работе Vipra Kundoor and Richard N.D. использовалась силиконовая модель носовой полости человека (Koken Co., Ltd.), а полученные результаты обрабатывались в Adobe Photoshop [14].

Как уже было отмечено, *in vitro* модель должна быть воспроизводимой, простой, удобной и соответствовать изучаемым параметрам лекарственной формы. Для скрининга образцов *in situ* систем недостаточно простого соответствия модели анатомическим условиям – при конструировании также необходимо воспроизводить температуру, состав назальной жидкости и другие параметры, соответствующие условиям *in vivo*. Необходимо отметить, что в настоящее время для изучения разрабатываемых интраназальных *in situ* систем по параметру фазового перехода используются общие *in vitro* методики, не учитывающие особенностей носовой полости, или проводятся эксперименты *in vivo* – что значительно затрудняет разработку [15].

Целью данной работы является разработка и апробация модели, подходящей для скрининга и

изучения интраназальных *in situ* систем. Так, в основе управления гелеобразованием *in situ* лежат параметры, которые исследователи должны учитывать при их экспериментах на моделях носовой полости *in vitro*.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

В эксперименте предлагается использовать *in vitro* модель для определения **объема истечения** анализируемого состава. Модель была выполнена из белого твердого скульптурного пластилина "СТУДИЯ" ГАММА (Россия), покрыта художественной акриловой краской ACRYL-ART Titanium White и глянцевым акриловым лаком DECOLA. В модель были внесены технические изменения для удобства использования в испытаниях (рис. 2). Моделирование осуществлялось на основе опубликованных данных Johnson M.R. et al. [7] и Vipra Kundoor and Richard N.D. [14]. Поверхность модели была сделана шероховатой для лучшего сцепления раствора, имитирующего состав слизистой носа, с моделью.

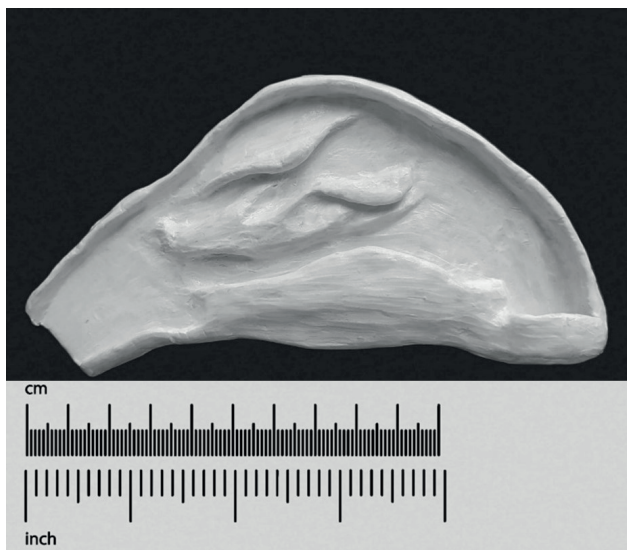


Рис. 2. Модель носовой полости, использованная в исследовании

Разработанную модель перед каждым экспериментом орошали раствором, воспроизводящем физиологический состав носовой жидкости: 8.77 мг/мл NaCl, 2.98 мг/мл KCl и 0.59 CaCl₂ мг/мл (pH=6±0.1) [16]. Раствор для орошения модели содержал 4% (m/V) муцина свиного желудка типа II (Sigma Aldrich, кат. номер M 2378), представляющего собой смесь гликопротеидов, выделяемых пищеварительными железами свиньи с содержанием N-ацетил-нейраминовой кислоты – 0.5%.

В процессе проведения эксперимента модель носовой полости располагали под физиологическим наклоном в 25°. После нанесения раствора для орошения (примерный объем раствора для проведения эксперимента 0.15 мл) модель закрывали пленкой, также предварительно обработанной раствором для орошения (0.05 мл). На выходе в носоглотку был прикреплен полимерный сборник для улавливания образца, покинувшего модель. Исследуемые образцы вводились в модель под углом 45° через распылительную систему V04.2480 (Coster Pharma, Italy). Производили 10 впрыскиваний (~1.00 мл). Затем модель помещали в климатическую камеру Binder FD 115 (Binder, Германия) и выдерживали в течение 5 минут при температуре 37±0.5°C.

После пребывания в термостате, удаляли приемник с эвакуировавшимся в ходе эксперимента образцом, фиксировали **объем истечения**. Модель промывали и готовили к следующему опыту. Для каждого образца проводили пять последовательных испытаний.

Валидацию аналитической методики проводили согласно требованиям нормативной документации по параметрам: линейность, правильность и прецизионность (сходимость и внутрिलाбораторная прецизионность).

Альтернативной методикой для определения правильности был метод определения мукоадгезии методом потока [17]. Стеклообразную пластину покрывали мембраной из боросиликатного стекловолокна (AND, Япония), наносили муциновый гель (4.0%), распределяли до однородной толщины (0.1 мм). Наносили линию старта и финиша, располагающиеся друг от друга на расстоянии 50 мм. Испытания проводились для 1 мл окрашенного образца, отмеренного шприцем. За скорость потока (мм/мин) принимали время, необходимое для прохождения экспериментального образца от линии старта до линии финиша. Скорость потока и величина мукоадгезии имеют обратную зависимость.

Для апробации модели проводили тестирование воды очищенной, в качестве контроля; двух коммерчески доступных препаратов в форме назальных спреев (Naphthyzin® 0.1%, ЛЕККО ЗАО (Россия); Afrin®, Contract Pharmaceuticals Ltd (Канада); четырех экспериментальных образцов различных составов (таблица 1).

Кроме **объема истечения** разработанная модель апробировалась на предмет возможности определения **площади распределения** спрея или *in situ* системы по носовой полости.

Характеристика образцов, использующихся для апробации модели

№ образца	Характеристика
1	Вода очищенная
2	Naphthyzin® 0.1%, ЛЕККО ЗАО (Россия)
3	Afrin®, Contract Pharmaceuticals Ltd (Канада)
4	Раствор к-каррагинана 0.2% (Marine®70, ООО "ИНГРЕДИКО", Россия)
5	Раствор карбомера 0.125% (Carbopol® 971 NF, Lubrizol, USA)
6	Раствор натрий карбоксиметилцеллюлозы 0.25% (Natrosol® 250 ННХ, ASHLAND, USA)
7	Термореверсивный образец состава полоксамер 407 18% (Kolliphor® P 407 micro Geismar, BASF, Germany) + К-каррагинан 0.2% (Marine®70, ООО "ИНГРЕДИКО", Россия)

Для анализа показателя модель выстилалась и закрывалась нетканым материалом спанбонд (SPANBOND, Russia), а затем была зафиксирована на подставке. Далее производилась эвакуация 10 доз из флакона с распылительной системой V04.2480 (Coster Pharma, Italy). Испытуемым раствором была вода, окрашенная пищевым красителем малинового цвета. Для лучшего и однородного распределения красителя модель термостатировали в течение 5 минут в климатической камере при температуре $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$. После завершения термостатирования нетканый материал извлекался из модели с помощью пинцета и раскладывался на ровной горизонтальной поверхности для фиксирования на фотокамеру (разрешение изображения $3000 \times 4000 \text{px}$). Для фиксирования результатов измерений одного образца проводили съемку и обрабатывали два изображения – выстилающей и покрывающей модель частей материала. Результаты обрабатывались при помощи графического редактора Adobe Photoshop (Adobe, USA) путем послойного вычисления окрашенных пикселей. Для каждого образца проводили пять последовательных испытаний.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для валидации аналитической методики по параметру линейности использовалась дисперсия карбомера 0.125%. Было сделано 5 разведений. Полученные результаты свидетельствуют, что данная методика обладает линейностью, т.к. с уменьшением концентрации дисперсии карбомера уменьшается и его адгезивность в модели (рис.3).

Для определения *правильности* методики в качестве испытуемых объектов были использованы вода очищенная, дисперсия карбомера 0.125% и коммерчески доступный препарат Afrin®.

В предварительном испытании мукоадгезия объектов была изучена на классической модели определения показателя по величине скорости потока [17].

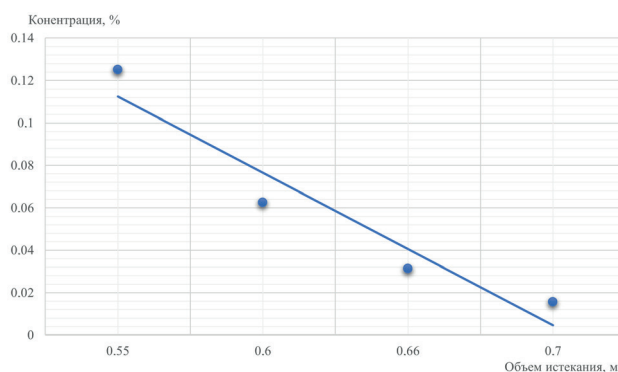


Рис. 3. Линейность аналитической методики изучения адгезии на *in vitro* модели

Проведенный опыт показал, что данная методика является правильной – результаты измерения адгезии по классической и валидируемой модели оказались коррелируемыми (таблица 2). Образец Afrin® с наименьшим значением скорости потока в эксперименте на валидируемой модели показал наименьший объем истекания.

Таблица 2

Сравнительные результаты измерения относительной мукоадгезии методами определения скорости потока и разработанной методикой определения объема истекания

Название	Скорость потока, мм/мин	Объем истекания, мл
Вода	0.81	0.75
Карбомер 0.125%	0.46	0.43
Afrin®	0.38	0.35

Внутрилабораторная (промежуточная) прецизионность валидируемой методики оценивалась в условиях работы одной лаборатории – в три разных дня, двумя разными исполнителями. В качестве испытуемых растворов были взяты вода очищенная, дисперсия карбомера 0.125% и коммерчески-доступный препарат Naphthyzin® (табл.3).

Погрешность в результатах составляет менее 5.0%, что допустимо для аналитических методик не связанных с количественным определением

Таблица 3

Результаты определения внутрилабораторной прецизионности методики определения объема истекания на разработанной *in vitro* модели

Образец	Результат, мл	Среднее значение, мл	Среднее квадратичное отклонение
Вода	0.80	0.76	0.0405
	0.70		
	0.73		
	0.75		
	0.78		
	0.80		
Naphthyzin®	0.65	0.68	0.0566
	0.60		
	0.75		
	0.65		
	0.73		
	0.70		
Карбомер 0.125%	0.40	0.43	0.0279
	0.43		
	0.45		
	0.47		
	0.42		
	0.40		

активных фармацевтических субстанций в лекарственных формах. Таким образом, можно сделать вывод о воспроизводимости предлагаемой методики.

После проведения валидации, разработанная модель, методики определения **объема истекания** и **площади распределения** были апробированы на различных экспериментальных составах. Результаты, полученные в процессе проведения опытов по отработанной методике определения объема истекания, представлены в таблице 4.

Таблица 4

Результаты измерений объема истекания экспериментальных и коммерчески доступных образцов

Состав	Объем истекания, мл (n=5)
1	0.62 ± 0.07
2	0.59 ± 0.07
3	0.33 ± 0.07
4	0.63 ± 0.07
5	0.55 ± 0.07
6	0.92 ± 0.07

Для изучения **площади распределения** на разработанной модели была рассчитана погрешность измерений 1 см². В эксперименте были обработаны 4 изображения, следовательно, имелись 4 значения 1 см²: 32041 рх; 33124 рх; 31684 рх; 31328 рх. Среднее значение 1 см² было определено как

32045 рх. Таким образом, погрешность была рассчитана как: $1795/32045=0.05$ (см²).

Для отработки методики определения поверхности распределения образцов на разработанной модели были выбраны вода очищенная и коммерческий препарат Afrin®, как составы с низкой и высокой заявленной мукоадгезивной способностью соответственно. Результаты измерений приведены в таблице 5.

Использование полимеров, переходы которых из золя в гель инициируются повышением температуры, является одним из механизмов гелеобразования *in situ*. Идеальным критическим температурным диапазоном для такой системы является температура окружающей среды и физиологическая температура. Примерами таких гидрогелей являются поли-(N-изопропилакриламид) (poly-(N-isopropylacrylamide) (PNIPAAm)) и плюроники – это поли-(этиленоксид)-поли-(пропиленоксид)-поли-(этиленоксид) (ПЭО-ППО-ПЭО) триблочные сополимеры, которые текучи при низкой температуре, но образуют термореверсивный гель при нагревании.

Еще одним важным параметром в технологии гелеобразования *in situ* является значение pH. Все чувствительные к pH полимеры содержат кислотные или основные группы, которые либо при-

Таблица 5

Результаты определения поверхности распределения экспериментальных образцов на модели (n=5)

Экспериментальный образец	Средняя площадь поверхности распределения, рх	Площадь поверхности распределения, см ²
Вода очищенная	424333 ± 1795	13.24 ± 0.05
Afrin®	628856 ± 1795	19.62 ± 0.05

нимают, либо высвобождают протоны в ответ на изменение pH окружающей среды. Набухание гидрогеля увеличивается по мере увеличения внешнего pH в случае слабокислых (анионных) групп, но уменьшается, если полимер содержит слабоосновные (катионные) группы.

Образование гелей *in situ* может потенцироваться также компонентами слизистой оболочки носа. Такие химические реакции, которые приводят к гелеобразованию *in situ*, могут включать осаждение неорганических твердых веществ из пересыщенных ионных растворов и ферментативные процессы. Например, желатиновая камедь, представляющая собой анионный полисахарид, который подвергается гелеобразованию *in situ* в присутствии моно- и двухвалентных катионов, включая Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ и Na^+ [18].

Таким образом, говоря о создании модели носовой полости *in vitro* не стоит забывать о важных физиологических параметрах, такие как температура, pH среды и др., которые могут повлиять на результаты исследования.

Для того, чтобы протестировать безопасность и эффективность лекарственного препарата в интраназальной лекарственной форме, необходимо провести эксперимент *in vivo* или *in vitro*. Сегодня тестируются множество моделей *in vitro*, эксперименты на которых могли бы давать результаты, близкие к результатам экспериментов, проведенных *in vivo* [8]. Предлагаемая модель будет доступной, бюджетной и удобной в использовании в исследованиях - на проведение одного опыта требовалось приблизительно 10 минут с учетом пребывания модели в термостате и последующим фиксированием результатов. Кроме анатомических параметров, она учитывает также параметр pH и ионного состава назальной жидкости, содержание в ней муцина и температуру, определяемую *in situ*.

Пригодность тестируемой системы для скрининга интраназальных *in situ* систем была продемонстрирована в эксперименте, где участвовали как обычные спреи (образцы 1, 2), составы с повышенной мукоадгезией (образцы 3-6), так и термочувствительная *in situ* система (образец 7) (таблица 4). Наименьший **объем истечения** был продемонстрирован образцом 7, представлявшим собой поликомплекс терморевверсивного полоксамера 407 и мукоадгезивного каррагинана – 0.25 ± 0.07 мл. Коммерческий спрей с заявленной производителем повышенной мукоадгезией Afrin® также показал наилучший результат – его объем

истечения по пяти измерениям был определен как 0.33 ± 0.07 мл. Растворы карбомера, гидроксипропилцеллюлозы и каррагинана (образцы 4, 5 и 6), по данным предварительных исследований обладающие высокими показателями мукоадгезии [19], в эксперименте на разработанной модели показали результаты, сопоставимые с водой и спреем Naphthyzin®, не обладающими мукоадгезивными свойствами. Это может свидетельствовать о недостаточном влиянии параметра мукоадгезии на время экспозиции, удерживания композиции на слизистой носовой полости.

При этом, в эксперименте с водой и препаратом Afrin® было продемонстрировано влияние мукоадгезии на **площадь распределения** (рис.3).

Обработка двух изображений, полученных в результате опыта с водой, в качестве экспериментального образца, дала следующие результаты: первое изображение – 330653 px ($330653/32045=10.32 \text{ см}^2$), второе изображение – 93680 px ($93680/32045=2.92 \text{ см}^2$). Суммировав данные значения, получили общую площадь распределения воды в носовой полости – $13.24 \text{ см}^2 \pm 0.05 \text{ см}^2$ (рис. 4-А, 4-В).

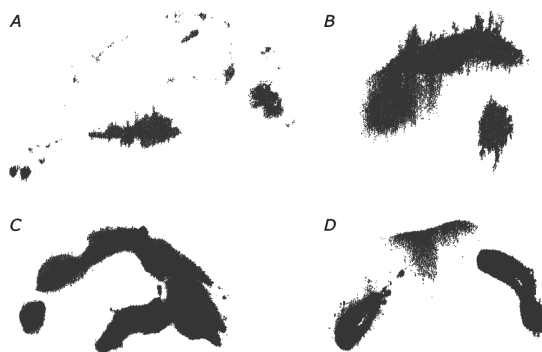


Рис. 4. Средние площади распределения экспериментальных образцов на модели носовой полости: А – вода, выстилающая часть модели; В – вода, покрывающая часть модели; С - Afrin®, выстилающая часть модели; D - Afrin®, покрывающая часть модели.

Обработка двух изображений, полученных в результате опыта с испытуемым раствором лекарственного препарата Afrin®, дала следующие результаты: первое изображение – 220480 px ($220480/32045=6.88 \text{ см}^2$), второе изображение – 408376 px ($408376/32045=12.74 \text{ см}^2$). Суммировав данные значения, получили общую площадь распределения лекарственного препарата Afrin® в носовой полости – $19.62 \text{ см}^2 \pm 0.05 \text{ см}^2$ (рис. 4-С, 4-Д).

Таким образом, была экспериментально установлена пригодность апробируемой *in vitro* модели для решения различных типов задач в ходе фармацевтической разработке интраназальных систем – как классических жидких лекарственных форм, так и современных таргетных *in situ* систем доставки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, создав модель на основе имеющихся данных исследований строения носовой полости, после валидации мы смогли использовать ее в экспериментах для тестирования различных составов интраназальных жидкостей (спреев) благодаря разработанным стандартизированным методикам проведения эксперимента.

С помощью разработанной *in vitro* модели можно решать как задачи, связанные с определением времени и полноты экспозиции вводимых интраназально лекарственных препаратов, так и проводить изучение площади и характера распределения препарата на слизистой после инстилляций.

По полученным результатам можно сделать вывод о том, что созданная модель, а также разработанные и валидированные методики показывают положительные результаты и могут быть использованы в дальнейшем для проведения опытов *in vitro* для решения различных задач drug design – от разработки систем направленной доставки *in situ* до изучения интраназальных спреев.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ormiskangas J, Valtonen O, Kivekäs I, Dean M, Poe D, Järnstedt J, Lekkala J, Harju T, Saarenrinne P, Rautiainen M. // *Respir Physiol Neurobiol.* 2020. 282. 103508.
2. Möller W, Celik G, Feng S, Bartenstein P, Meyer G, Oliver E, Schmid O, Tatkov S. // *J Appl Physiol* (1985). 2015. 118(12). 1525-32.
3. Calmet H, Inthavong K, Eguzkitza B, Lehmkuhl O, Houzeaux G, Vázquez M. // *PLoS One.* 2019. 14(9). e0221330.
4. Chen JZ, Kiaee M, Martin AR, Finlay WH. // *Int J Pharm.* 30.582.119341.

ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Институт фармации имени А. П. Нелюбина

Бахрушина Е. О., кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической технологии

E-mail: bakhrushina_e_o@staff.sechenov.ru.

5. Wu S, Wang P, Xie D, Zhang J. // *Journal of Clinical Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery.* 2020. 34(10). 952-954. Chinese.

6. Byun S, Chung SK, Na Y. // *J Therm Biol.* 2019. 83:60-68.

7. Liu Y, Johnson MR, Matida EA, Kherani S, Marsan J. // *J Appl Physiol* (1985). 2009. 106(3). 784-95.

8. Le Guellec S, Ehrmann S, Vecellio L. // *Adv Drug Deliv Rev.* 2021. 170. 340-352.

9. Warnken ZN, Smyth HDC, Davis DA, Weitman S, Kuhn JG, Williams RO 3rd. // *Mol Pharm.* 2018. 15(4). 1392-1402.

10. Shamohammadi H, Mehrabi S, Sadrizadeh S, Yaghoubi M, Abouali O. // *Comput Biol Med.* 2022. 147. 105702.

11. Brüning J, Hildebrandt T, Heppt W, Schmidt N, Lamecker H, Szengel A, Amiridze N, Ramm H, Bindernagel M, Zachow S, Goubergrits L. // *Sci Rep.* 2020. 10(1). 3755.

12. Бахрушина Е.О., Демина Н.Б., Шумкова М.М., Родюк П.С., Шуликина Д.С., Краснюк И.И. // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2021;10(4):54–63.

13. Bastir M, Sanz-Prieto D, Burgos M. // *Anat Rec (Hoboken).* 2022. 305(8). 1962-1973.

14. Kundoor V, Dalby RN. // *Pharm Res.* 2010. 27(1). 30-6.

15. Zhuo C, Lei L, Yulin Z, Wentao L, Shuangxia W, Chao W, Yaqian Z, Shuman H, Dong D. // *Int Forum Allergy Rhinol.* 2019. 9(6). 695-701.

16. Демина Н.Б., Бахрушина Е.О., Бардаков А.И., Краснюк И.И. // Фармация. 2019. Т. 68. № 3. С. 12-17.

17. Анурова М.Н., Кашперко А.С., Бахрушина Е.О. // Медико-фармацевтический журнал «Пульс». 2018. 20 (5), 99-102.

18. Zare F, Aalaei E, Zare F, Faramarzi M, Kamali R. // *Comput Methods Programs Biomed.* 2022. 221. 106864.

19. Bakhrushina E., Anurova M., Demina N., Kashperko A., Rastopchina O., Bardakov A., Krasnyuk I. // *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences.* 2020. 8(A), 639-645.

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), A.P.Nelyubin Institute of Pharmacy

Bakhrushina E. O., PhD., associate professor, department of Pharmaceutical Technology

E-mail: bakhrushina_e_o@staff.sechenov.ru.

Бахрушина Е.О., Шуликина Д.С., Михел И.Б., Демина Н.Б., Краснюк И.И.

Шуликина Д. С., Аспирант кафедры фармацевтической технологии
E-mail: daria.s.shulikina@gmail.com

Shulikina D.S., postgraduate student? department of Pharmaceutical Technology
Email: daria.s.shulikina@gmail.com

*Михел И.Б., студент пятого курса
E-mail: mikheliosif@gmail.com

*Mikhel I.B., 5year student
Email: mikheliosif@gmail.com

Демина Н.Б., доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармацевтической технологии
E-mail: demina_n_b@staff.sechenov.ru

Demina N.B., PhD., DSci., Full Professor; Department of Pharmaceutical Technology
E-mail: demina_n_b@staff.sechenov.ru

Краснюк И.И., доктор фармацевтических наук, зав.кафедрой фармацевтической технологии
E-mail: krasnyuk_i_i_1@staff.sechenov.ru

Krasnyuk I.I., PhD., DSci., Full Professor; Head of the Department of Pharmaceutical Technology
E-mail: krasnyuk_i_i_1@staff.sechenov.ru

DEVELOPMENT AND APROBATION OF *IN VITRO* MODEL OF NASAL CAVITY FOR STANADARTISATION OF *IN SITU* DRUG DELIVERY SYSTEMS

E.O. Bakhrushina, D.S. Shulikina, I.B. Mikhel, N.B. Demina, I.I. Krasnyuk

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University)

Abstract. The idea of creating new drugs in the form of intranasal dosage forms (aerosols and sprays) is a very relevant topic today. Many new combinations of drugs and delivery systems for intranasal administration are being developed and tested. For this purpose, the researchers conduct experiments *in vivo* and *in vitro* models. *In situ* systems have a specificity that requires the development of new methods of *in vitro* analysis before conducting preclinical studies. Conducting experiments *in vitro* is a promising direction, since this method is cheaper, more convenient to use, safe and effective. The aim of this study was to develop an *in vitro* model to simulate the conditions of the nasal cavity during intranasal administration of *in situ* systems. Based on the known data on the structure of the nasal cavity, an *in vitro* model was made that anatomically completely repeats the nasal cavity. To assess the quality of *in situ* systems, the flow rate and distribution area of the drug on the surface of the developed *in vitro* model were measured. The following substances were used as test subjects: nasal sprays (Naphthyzin® 0.1% (Russia); Afrin®, Contract Pharmaceuticals Ltd (Canada), as well as four experimental samples with different polymer compositions (k-carrageenan solution 0.2% (Marine®70, INGREDICO LLC, Russia), carbomer solution 0.125% (Carbopol® 971 NF, Lubrizol, USA), sodium carboxymethylcellulose solution 0.25% (Natrosol® 250 HHX, ASHLAND, USA), thermoreversible sample of poloxamer 407 18% (Kolliphor® P 407 micro Geismar, BASF, Germany) + k-carrageenan 0.2% (Marine®70, INGREDICO LLC, Russia)). Purified water was used for comparison. In order to validate the methodology, the linearity, correctness and precision of the tests were determined. Based on the results obtained, the suitability of the developed *in vitro* model for solving various types of tasks during the pharmaceutical development of intranasal systems – both classical liquid dosage forms for nasal administration and modern targeted *in situ* delivery systems was proved.

Keywords: nasal sprays, *in situ* systems, *in situ* gelling, model of nasal cavity, *in vitro* modeling, mucin.

REFERENCES

1. Ormiskangas J., Valtonen O., Kivekäs I., Dean M., Poe D., Järnstedt J., Lekkala J., Harju T., Saarenrinne P., Rautiainen M., *Respir. Physiol. Neurobiol.*, 2020, Vol. 282. DOI: 10.1016/j.resp.2020.103508.

2. Möller W., Celik G., Feng S., Bartenstein P., Meyer G., Oliver E., Schmid O., Tatkov S., *J. Appl. Physiol.* (1985)., 2015, Vol. 118(12), pp. 1525-1532. DOI: 10.1152/jappphysiol.00934.2014.

3. Calmet H., Inthavong K., Eguzkitza B., Lehmkühl O., Houzeaux G., Vázquez M., *PLoS*

- One., 2019., Vol. 14(9). DOI: 10.1371/journal.pone.0221330.
4. Chen J.Z., Kiaee M., Martin A.R., Finlay W.H., *Int. J. Pharm.*, 2020, Vol. 582. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2020.119341.
 5. Wu S., Wang P., Xie D., Zhang J., *Journal of Clinical Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery*, 2020, Vol. 34(10), pp. 952-954. DOI: 10.13201/j.issn.2096-7993.2020.10.021.
 6. Byun S., Chung S.K., Na Y., *J. Therm. Biol.*, 2019, Vol. 83, pp. 60-68. DOI: 10.1016/j.jtherbio.2019.05.004.
 7. Liu Y., Johnson M.R., Matida E.A., Kherani S., Marsan J., *J. Appl. Physiol.* (1985), 2009, Vol. 106(3), pp. 784-795. DOI: 10.1152/jappphysiol.90376.2008.
 8. Le Guellec S., Ehrmann S., Vecellio L., *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2021, Vol. 170, pp. 340-352. DOI: 10.1016/j.addr.2020.09.002.
 9. Warnken Z.N., Smyth H.D.C., Davis D.A., Weitman S., Kuhn J.G., Williams R.O. 3rd., *Mol. Pharm.*, 2018, Vol. 15(4), Vol. 1392-1402. DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.7b00702.
 10. Shamohammadi H., Mehrabi S., Sadrizadeh S., Yaghoubi M., Abouali O., *Comput. Biol. Med.*, 2022, Vol. 147. DOI: 10.1016/j.combiomed.2022.105702.
 11. Brüning J., Hildebrandt T., Heptt W., Schmidt N., Lamecker H., Szengel A., Amiridze N., Ramm H., Bindernagel M., Zachow S., Goubergrits L., *Sci. Rep.*, 2020, Vol. 10(1). DOI: 10.1038/s41598-020-60755-3.
 12. Bakhrushina E.O., Demina N.B., Shumkova M.M., Rodyuk P.S., Shulikina D.S., Krasnyuk I.I., *Drug development & registration*, 2021, Vol. 10(4), pp. 54-63. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-4-54-63.
 13. Bastir M., Sanz-Prieto D., Burgos M., *Anat. Rec. (Hoboken)*, 2022, Vol. 305(8), pp. 1962-1973. DOI: 10.1002/ar.24790.
 14. Kundoor V., Dalby R.N., *Pharm. Res.*, 2010, Vol. 27(1), pp. 30-36. DOI: 10.1007/s11095-009-0002-4.
 15. Zhuo C., Lei L., Yulin Z., Wentao L., Shuangxia W., Chao W., Yaqian Z., Shuman H., Dong D., *Int. Forum Allergy Rhinol.*, 2019, Vol. 9(6), pp. 695-701. DOI: 10.1002/alr.22306.
 16. Demina N.B., Bakhrushina E.O., Bardakov A.I., Krasnyuk I.I., *Farmacy*, 2019, Vol. 68, pp. 12-17. DOI: 10.29296/25419218-2019-03-02.
 17. Anurova M.N., Kashperko A.S., Bakhrushina E.O., *Medical & pharmaceutical journal "Pulse"*, 2018, Vol. 20 (5), pp. 99-102. DOI: 10.26787/nydha-2686-6838-2022-24-6-137-142
 18. Zare F., Aalaei E., Zare F., Faramarzi M., Kamali R., *Comput. Methods Programs Biomed.*, 2022, Vol. 221. DOI: 10.1016/j.cmpb.2022.106864.
 19. Bakhrushina E., Anurova M., Demina N., Kashperko A., Rastopchina O., Bardakov A., Krasnyuk I., *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 2020, Vol. 8(A), pp. 639-645. DOI: 10.3889/oamjms.2020.4930.