View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE

Вестник МИТХТ, 2011, т. 6, № 2

25 ЛЕТ КАФЕДРЕ БИОТЕХНОЛОГИИ И БИОНАНОТЕХНОЛОГИИ

УДК 617.7-022-031.74

ЛИПОСОМЫ, СОДЕРЖАЩИЕ ДЕКСАМЕТАЗОН: ПОЛУЧЕНИЕ, ХАРАКТЕРИСТИКА И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В ОФТАЛЬМОЛОГИИ

***Н.Л. Лепарская**, научный сотрудник, **Г.М. Сорокоумова**, доцент, **Ю.В. Сычева**, студент, ***И.П. Хорошилова-Маслова**, профессор, **А.П. Каплун**, профессор, ****И.И. Кереев**, старший научный сотрудник, ***Р.А. Гундорова**, профессор, ***В.В. Нероев**, профессор, **В.И. Швец**, заведующий кафедрой

кафедра Биотехнологии и бионанотехнологии МИТХТ им. М.В. Ломоносова
** Московский научно-исследовательский институт глазных болезней им. Гельмгольца Росмедтехнологий*
*** Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ им. М.В. Ломоносова*
e-mail:galinams@yandex.ru

Получены липосомы различного липидного состава, содержащие глюкокортикоид дексаметазон (ДМ) и динатриевую соль дексаметазона фосфата (ДМФ). Изучена зависимость эффективности включения препарата от его растворимости в воде и от состава липосом. Показано, что липиды позволяют солюбилизировать ДМ в концентрации, в 9.3 раза превышающей его растворимость в воде. Для всех образцов липосом, содержащих как ДМФ, так и ДМ, определена степень высвобождения лекарственных субстанций из липосом путем проведения повторной гель-хроматографии. При этом показано, что в липосомах сохраняется до 87% включенной субстанции. Изучена биосовместимость «пустых» липосом и липосом, содержащих глюкокортикоид, с тканями глазного яблока кролика при их эндовитреальном введении. Установлено, что липосомы из дипальмитоилфосфатидилхолина не вызывают воспалительной реакции при таком способе введения. Изучено распределение липосом в тканях заднего отдела глаза кролика. При этом показано, что липосомы при эндовитреальном введении распределяются в различные слои сетчатки.

Glucocorticoid dexamethasone (DM) liposomes of various lipid compositions were obtained. DM was used in insoluble form and in water-soluble form as disodium salt of dexamethasone phosphate (DMP). Correspondence between the drug inclusion percent and the structure of liposomes, and its solubility in water was studied. Lipids were shown to allow DM solubilization at concentration exceeding its solubility in water 9.3 times. Using repeated gel-chromatography, release of medicinal substances from liposomes was determined for all the samples of liposomes containing both DMP and DM. It was thus shown that up to 87% of the included substance remained in the liposomes. Biocompatibility of «empty» liposomes and liposomes containing a glucocorticoid with rabbit eyeball tissues was studied after their endovitreal incorporation. Dipalmitoylphosphatidylcholine liposomes were demonstrated not to cause inflammatory reaction after introduction in this way. Distribution of the liposomes in tissues of the rabbit eye posterior chamber was determined. It was shown that the liposomes after endovitreal introduction were distributed in various layers of retina.

Ключевые слова: *липосомы, офтальмология, фосфолипиды, глюкокортикостероиды, дексаметазон, эндовитреальное введение, биосовместимось, конфокальная микроскопия*

Key words: *liposomes, ophthalmology, phosphalipids, glucocorticoids, dexamethasone, endovitreal introduction, biocompatibility, confocal microscopy*

Введение

Большинство глазных лекарств применяется в форме глазных капель, которыми в клинической практике лечат заболевания переднего отрезка глаза (роговица, конъюнктива и склера). К сожалению, глазные капли быстро удаляются из глаза, поэтому время поглощения лекарства составляет только несколько минут, при этом биодоступность лекарства очень низка, обычно менее 5% [1].

Воспаление, локализованное в области глаза, особенно в его заднем отрезке, требует точечной (местной) доставки лекарственного препарата. Известно, что лекарства могут быть доставлены к заднему отрезку глаза через системную циркуляцию крови [1]. Однако глаз изолирован от общей системы кровообращения гематоофтальмическим и гематоретинальными барьерами, которые ограничивают системное распространение внутриглазного препарата. Таким образом, необходима разработка специфических систем доставки лекарственного препарата и адаптация ее к целевому типу ткани или клеток глаза [2]. Кроме того, должны быть учтены физико-химические свойства используемого активного вещества и определена кинетика его внутриглазного высвобождения.

В настоящее время широко обсуждается использование липосом как средств доставки лекарственных препаратов для лечения различных заболеваний, в том числе и заболеваний глаз [2]. Известны такие липосомальные препараты как липосомальный Баларпан [3] и липосомальная форма циклоспорина – Циклолип [4]. Данные препараты разрабатывали и исследовали в офтальмологии для лечения заболеваний переднего отрезка глазного яблока. Вместе с этим для фотодинамической терапии в офтальмологии применяют липосомальную лекарственную форму вертепорфина – Визудин [5]. Использование этого средства позволяет достичь селективной локализации препарата в рай-

оне неоваскулярного поражения глаза и, кроме того, способно значительно улучшить его эффективность за счет уменьшения агрегации фотосенсибилизатора путем удаления его молекул друг от друга при включении в липосомы.

Известные преимущества липосомальной формы (низкая токсичность, защита лекарственной субстанции от деградации, пролонгированность действия, возможность направленной доставки) позволяют использовать меньшие терапевтические дозы лекарств, что очень важно при применении препаратов, обладающих токсичностью. Простота изготовления и универсальность физических характеристик делает липосомы уникальными для использования в качестве системы доставки глазных препаратов.

В офтальмологии при лечении воспалительных процессов, аллергических поражений глаза, реакциях отторжения роговичного трансплантата, аутоиммунных заболеваний широко применяются глюкокортикостероиды (дексаметазон, бетаметазон и т.п.). Однако их использование может привести к таким серьезным осложнениям, как повышение внутриглазного давления, катаракта, тяжелым кератитам [6].

Целью данной работы является получение липосом, содержащих дексаметазон, и определение их биосовместимости с клетками сетчатки глаза кролика при эндовитреальном введении.

Известно, что в офтальмологии используют различные лекарственные формы субстанции дексаметазона: глазные капли, где действующим веществом является динатриевая соль дексаметазона фосфата (ДМФ) – водорастворимая субстанция, и глазная мазь, в которой используется жирорастворимая субстанция дексаметазона (ДМ) (рис. 1) [7].

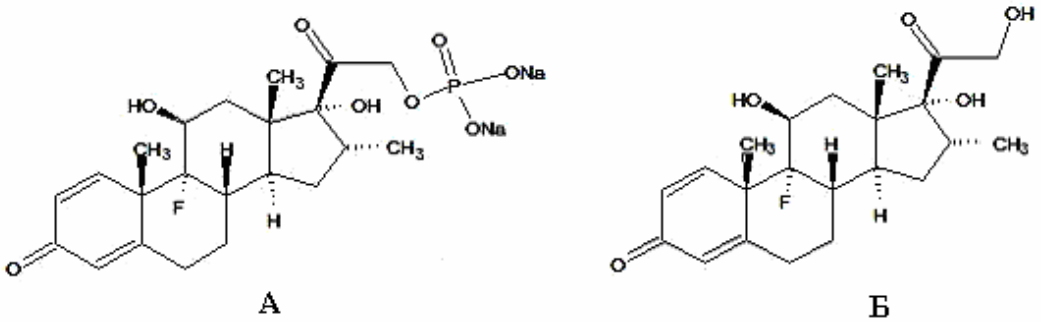

Рис. 1. Структурные формулы глюкокортикостероидов: А – динатриевая соль дексаметазона фосфата; Б – дексаметазон.

Липосомы, состоящие из фосфолипидов – веществ амфифильной природы – позволяют получить липосомальную лекарственную форму как гидрофильного (ДМФ), так и гидрофобного (ДМ) вещества, а также препарат, содержащий обе субстанции одновременно. Важно, чтобы липосомальная форма дексаметазона содержала максимально возможное количество действующего вещества и высвобождение его было бы постепенным. Для решения этих задач необходимо определить оптимальный липидный состав липосом, подобрать подходящую концентрацию липидов и субстанций.

Результаты и их обсуждение

Определение эффективности включения водорастворимой субстанции ДМФ в липосомы различного липидного состава

При получении липосом, содержащих водорастворимую субстанцию ДМФ, мы использовали различные липиды: фосфатидилхолин, выделенный из сои (с-ФХ), холестерин (Хол) (в смеси с с-ФХ), выделенный из яичного желтка, полусинтетический дипальмитоилфосфатидилхолин (ДПФХ).

Липосомы – одноламеллярные везикулы (ОЛВ) различного липидного состава получали методом экструзии мультиламеллярных везикул (МЛВ) через поликарбонатный ядерный фильтр диаметром пор 200 и 100 нм. В данных экспериментах при получении липосом использовали одинаковые концентрации липидов (20 мг/мл) и различные (от 1 до 10 мг/мл) концентрации ДМФ. Размер липосом определяли методом турбидиметрии [8] и с помощью лазерного анализатора субмикронных частиц. Отделение липосом с включенным в них ДМФ от свободного ДМФ проводили гель-хроматографией с использованием микроколонки с сорбентом Sephadex G-25. Количество ДМФ, включенного в липосомы, определяли спектрофотометрически. Результаты экспериментов представлены в табл. 1.

Проведенные исследования показали, что эффективность включения ДМФ в липосомы не зависит от липидного состава липосом, исследованного нами. При этом содержание ДМФ в липосомах увеличивается при использовании для получения липосом более концентрированного исходного водного раствора ДМФ. Так, весовое соотношение ДМФ/липид в липосомах возрастает практически в 3 раза (от 1.25 до 3.62%), если его исходная концентрация в водном растворе увеличивается в 10 раз (от 1 до 10 мг/мл). Эффективность включения ДМФ в липосомы мала и не превышает 25% (при его исходной концентрации 1 мг/мл).

Однако важным достоинством данного препарата является то, что липосомы с ДМФ харак-

теризуются значительной степенью удерживания субстанции в них. После повторной гель-хроматографии липосомной фракции содержание ДМФ уменьшается всего на 13%.

Таблица 1. Эффективность включения ДМФ в липосомы различного липидного состава (концентрация липидов 20 мг/мл) в зависимости от исходной концентрации ДМФ.

Липиды	Исходная концентрация ДМФ, мг/мл	Эффективность включения ДМФ, %	Весовое соотношение ДМФ/липиды, %	Размер частиц, нм
с-ФХ	4	8.0±0,2	1.60±0.2	202±3
с-ФХ:Хол (7:3 моль/моль)	1	25±0.5	1.25±0.2	269±2
	4	8.6±0.2	1.71±0.2	185±4
	10	7.3±0.2	3.62±0.2	235±1
ДПФХ	4	8.1±0.2	1.63±0.2	168±3

Очевидно, что включение субстанции в липосомы зависит от свойств вещества, в основном от его гидрофобности. Поэтому на следующем этапе работы мы исследовали включение в липосомы гидрофобной субстанции дексаметазона (ДМ).

Определение эффективности включения гидрофобной субстанции дексаметазона в липосомы из фосфатидилхолина

При получении липосом использовали с-ФХ в концентрациях 20 или 40 мг/мл и ДМ в концентрациях 1, 2, 3 мг/мл. Так как ДМ плохо растворяется в воде, то МЛВ получали следующим образом: растворяли навески с-ФХ и ДМ в хлороформе, упаривали до получения липидной пленки, диспергировали встряхиванием в 0.9% растворе NaCl с 5-ти-кратным замораживанием–оттаиванием. ОЛВ из МЛВ получали методом экструзии, определение включенного в липосомы ДМ проводили так же, как описано выше для липосом с ДМФ. Результаты экспериментов представлены в табл. 2.

Проведенные исследования показали, что в данном случае увеличение исходной концентрации ДМ приводит к сильному укрупнению агрегатов и образованию микрочастиц. Так, попытка получить липосомы из с-ФХ (20 мг/мл) с ДМ в концентрации 4 мг/мл не удалась, потому что образовались микрочастицы размером 2317±45 нм, которые задерживались на поликарбонатных фильтрах с размером пор 200–400 нм. Эти частицы обладают, по-видимому, жестким ядром и представляют собой смешанные мицеллы.

Таблица 2. Эффективность включения ДМ в липосомы из с-ФХ в зависимости от исходной концентрации ДМ.

Концентрация с-ФХ, мг/мл	Исходная концентрация ДМ, мг/мл	Эффективность включения ДМ, %	Весовое соотношение ДМ/липиды, %	Размер частиц, нм
20	1	50.0±2	2.5±0.2	202±5
	2	33.8±1	2.75±0.1	168±4
	3	30.8±1	2.5±0.2	202±5
40	1	80.0±3	2.0±0.2	168±4

Наибольшая эффективность включения ДМ (80%) в липосомы была достигнута при весовом соотношении с-ФХ/ДМ 40:1.

Важно отметить, что растворимость ДМ в воде и коэффициент распределения его в системе липосомы/вода, определенные нами, составляют, соответственно, 0.086 мг/мл и 1.6. Эти значения показывают, что ДМ распределяется между липидным бислоем и водной фазой, имея большее сродство к липидам. В случае использования соотношения с-ФХ/ДМ 40:1 (по весу) происходит увеличение солюбилизации ДМ в 9.3 раза.

Таким образом, очевидно, что при формировании липосом в присутствии одновременно гидрофильного ДМФ и гидрофобного ДМ возможно получение препарата с большей эффективностью включения лекарственных субстанций, т.к. они распределяются по разным областям липосомы.

Определение эффективности совместного включения в липосомы из с-ФХ гидрофобной и водорастворимой субстанций – ДМ и ДМФ

Для создания липосом из с-ФХ, содержащих одновременно гидрофобный ДМ и водорастворимый ДМФ, поступали следующим образом: упаривали с-ФХ и ДМ до получения пленки, пленку диспергировали в растворе ДМФ. Далее ОЛВ получали методом экструзии подобно описанному выше, удаляли не связанный и не включенный дексаметазон гель-хроматографией. Результаты эксперимента представлены в табл. 3.

Таблица 3. Эффективность совместного включения ДМ (1.5 мг/мл) и ДМФ (4 мг/мл) в липосомы из с-ФХ.

Концентрация с-ФХ, мг/мл	Эффективность включения субстанций, %	Весовое соотношение субстанция/ липиды, %	Концентрация субстанций в липосомах, мг/мл
20	15.9±2	4.38±0.3	0.88±0.2
40	25.0±3	6.88±0.2	1.37±0.1

Результаты экспериментов показывают, что при совместном введении субстанций дексаметазона, обладающих различной гидрофобностью, в липосомы при концентрации липидов 20 мг/мл включилось около 16% субстанций. Это значение в 2 раза больше, чем при введении в липосомы одного ДМФ. Кроме того, применение более концентрированного раствора липидов (40 мг/мл) позволяет включить в липосомы еще большее количество лекарственных препаратов. Как и ожидалось, образуется большее количество липосом, и дексаметазон, как водорастворимый, так и гидрофобный, распределяются во внутреннем водном объеме и липидном бислое, включаясь в липосомы в большем количестве (25%), чем при использовании липидов в концентрации 20 мг/мл.

Таким образом, использование липосом, содержащих одновременно ДМФ и ДМ, позволит ввести в область воспаления лекарственное вещество в количестве, превышающем действующую концентрацию препарата, которая составляет по данным авторов [9] 0.67 мг/мл, и поддерживать ее определенное время.

Ответ на вопросы об эффективности липосомальной формы исследуемых препаратов можно дать только после проведения биологических испытаний. В настоящее время нами была определена биосовместимость «пустых» липосом с фоторецепторными клетками глаза кролика, исследованы распределение флуоресцентно меченых липосом в тканях заднего отдела глаза кролика и биосовместимость липосом из ДПФХ, загруженных глюкокортикоидами: ДМФ и ДМ.

Биологические исследования липосом

На первом этапе проводили клинико-морфологические исследования и исследования биосовместимости «пустых» липосом разного липидного состава при их эндовитреальном введении. Кроликам породы Шиншилла в переднюю камеру глаза и в полость стекловидного тела (эндовитреально) вводили: «пустые» липосомы, состоящие из смеси с-ФХ:Хол (7:3), в изотоническом растворе и «пустые» липосомы из дипальмитоилфосфатидилхолина (ДПФХ); контролем было введение в переднюю камеру и эндовитреально физиологического раствора. Длительность экспериментов составляла 30-45 сут.

Проведенные клинико-морфологические исследования показали, что воспалительная реакция при эндовитреальном введении была менее выражена при введении липосом, полученных из ДПФХ, поэтому в дальнейших направлениях экспериментальной работы мы использовали липосомы такого состава.

Офтальмоскопические исследования не выявили ни воспалительных явлений, ни патологических изменений в оптических средах и оболочках глазного яблока подопытных животных.

Морфологическое исследование показало, что состояние тканевых структур – сетчатки, сосудистой оболочки глазного яблока – оставалось без изменений. В полости стекловидного тела в зоне воронки зрительного нерва было выявлено скопление крупных клеток макрофагального типа, заполненных липидами. Ядро в данных клетках, липофагоцитах, было смещено к периферии. Липофагоциты оседали на коллагеновых фибриллах стекловидного тела. Полученные данные свидетельствуют о том, что в липофагоцитах содержались фагоцитированные липосомы (рис. 2). В контроле изменений в тканях глаза выявлено не было.

Таким образом, результаты морфологических исследований свидетельствуют о малой токсичности изучаемых липосом. Введение липосом в витреальную полость приводит к активному фагоцитозу липосом с накоплением липофагоцитов в воронке зрительного нерва, что является закономерной тканевой реакцией на введение липосомальной дисперсии.

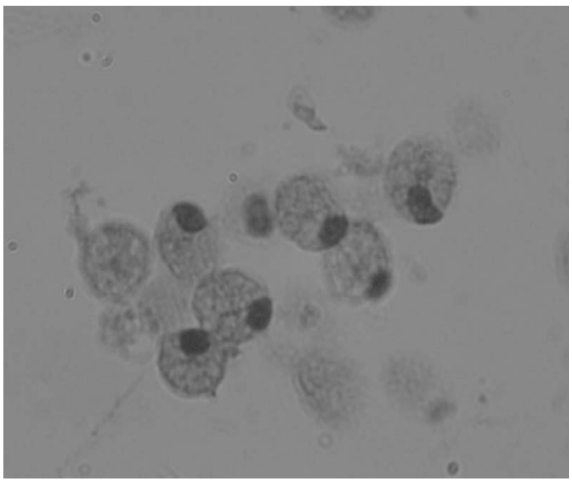

Рис. 2. Срез стекловидного тела: осевшие на фибриллах стекловидного тела липофагоциты содержат липосомы (ядро в клетках смещено к периферии) (х 400).

На втором этапе экспериментального исследования изучали распределение липосом при их эндовитреальном введении в тканях

глазного яблока с помощью сканирующего флуоресцентного микроскопа. Животным вводили в витреальную полость липосомы из ДПФХ, содержащих флуоресцентную метку 0.1% нитробензодиазол-фосфатидилэтаноламин (НБД-ФЭ), через 4 дня их выводили из эксперимента. Исследовали замороженные срезы сетчатки глаз кролика. При флуоресцентно-микроскопическом исследовании обнаружили, что липосомы визуализируются не только на внутренней поверхности сетчатки, но и во внутренних ее слоях, что говорит о том, что они проникают во внутренний ядерный слой. Кроме того, липосомы скапливаются в межклеточных щелях и присутствуют в цитоплазме клеток сетчатки (данные не приводятся).

На третьем этапе изучали биосовместимость липосом из ДПФХ, содержащих различные субстанции дексаметазона: ДМФ и ДМ. Эксперимент проводили на 12 кроликах: в один глаз вводили липосомы, нагруженные ДМФ или ДМ, в парный глаз вводили «пустые» липосомы. Длительность эксперимента составляла 40 сут. При офтальмоскопическом исследовании в глазах с введенным липосомальным ДМФ была выявлена выраженная воспалительная реакция стекловидного тела и претинальный флер в кортикальных отделах стекловидного тела. Морфологические исследования глаз с введенными липосомами, нагруженными ДМФ, выявили деструкцию–денатурацию белковых структур – коллагена стекловидного тела (рис. 3), повреждение фоторецепторов (рис. 4). В глазах с введенным липосомальным ДМ патология не была выявлена. Стекловидное тело имело сохранную структуру, не было отмечено повреждений в фоторецепторном слое, отсутствовала воспалительная реакция (рис. 5).

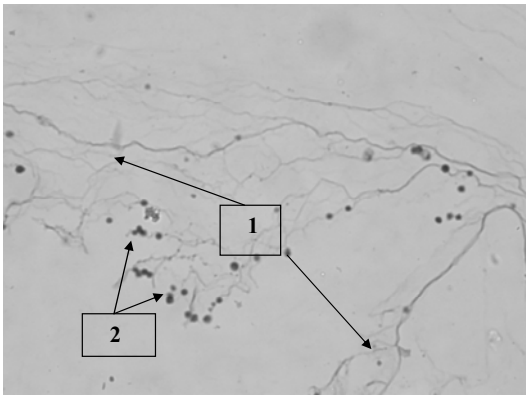

Рис. 3. Срез стекловидного тела после эндовитреального введения липосом, полученных из ДПФХ, нагруженных ДМФ: видны деструкция фибрилл стекловидного тела (1) и осевшие на фибриллах липофагоциты (2) (х100).

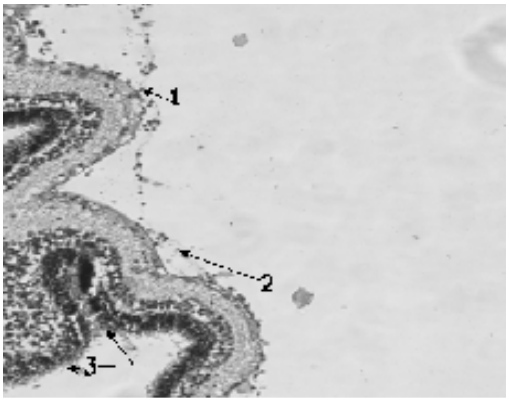

Рис. 4. Срез сетчатки и стекловидного тела после эндовитреального введения липосом, полученных из ДПФХ, нагруженных ДМФ: видны осевшие на внутренней поверхности сетчатки липофагоциты (1), деструкция кортикальных отделов стекловидного тела (2), повреждение фоторецепторного слоя (3) (х100).

Мы предположили, что, возможно, такая воспалительная реакция в стекловидном теле и в сетчатке связана с тем, что липосомы, содержащие ДМФ, имеют отрицательный заряд. Измерение и сравнение электрофоретического светорассеяния для определения дзета-потенциала липосом ДПФХ/ДМФ и ДПФХ/ДМ с использованием прибора DelsaNano показало, что величина дзета-потенциала препарата ДПФХ/ДМФ составляет –4.0 мВ, а для препарата ДПФХ/ДМ она равна –0.38 мВ. Таким образом, на основании биологического эксперимента с последующим подтверждением отрицательного заряда липосом ДПФХ, нагруженных ДМФ, была установлена причина токсического, повреждающего эффекта на стекловидное тело и сетчатку липосом ДПФХ с включенным ДМФ. Препарат ДПФХ/ДМ был практически нейтрален и не вызывал воспалительной реакции ни в сетчатке, ни в стекловидном теле глаза.

Таким образом, наиболее приемлемым для дальнейших экспериментов является липосомальный препарат, содержащий ДМ.

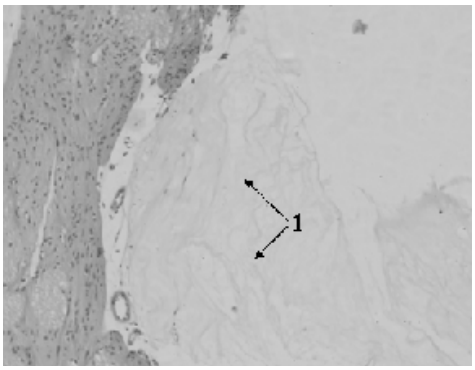

Рис. 5. Срез сетчатки в области воронки зрительного нерва и стекловидного тела после эндовитреального введения липосом, полученных из ДПФХ, нагруженных ДМ: фибриллы стекловидного тела сохранны (1), воспалительной реакции в сетчатке и в стекловидном теле нет (х100).

Дальнейшее исследование липосом в качестве носителей для лекарственных препаратов при эндовитреальном введении, а также во время и после витреоретинальной хирургии для профилактики и лечения воспалительных, проли-

ферративных и дегенеративных процессов представляется нам актуальным и перспективным направлением научно-исследовательской работы.

Экспериментальная часть

В работе использовали липиды: фосфатидилхолин Lipoid S-100 фирмы «Lipoid GmbH» (Германия), дипальмитоилфосфатидилхолин (Sigma-Aldrich), нитробензодиазол-фосфатидилэтаноламин (НБД-ФЭ) (Avanti Polar Lipids, США), холестерин (Sigma-Aldrich), глюкокортикоиды: динатриевую соль дексаметазона фосфата (Aventis Pharma), дексаметазон (Sigma-Aldrich). Растворители: хлороформ, изопропанол, этанол «х. ч.» фирмы «Химмед» (Россия).

МЛВ получали с использованием роторного испарителя «Heidolph» (Германия), экструдера LiposoFast Basic «Avestin» (США), микрошприцев «Hamilton» (Швейцария) и поликарбонатных ядерных фильтров 200 и 100 нм «Тензор» (Россия). Спектры мутности частиц липосом получали на спектрофотометре DU-7 «Beckman Instruments» (США). Размер частиц и величину поверхностного заряда измеряли на приборе DelsaNano (Beckman Coulter, Германия). Микроскопические исследования проводили с использование микроскопа LEICA (Япония). Сканирующую флуоресцентную микроскопию проводили на моторизованном инвертированном флуоресцентном микроскопе Axiovert 200M (Carl Zeiss, Германия), с объективами x10/NA 0.25 и x63/NA 1.3 и камерой Orca ERG (Hamamatsu, Япония).

МЛВ из фосфолипидов получали диспергированием липидной пленки в водном растворе 0.9% хлорида натрия, содержащем лекарственную субстанцию в заданной концентрации. Дисперсию подвергали пятикратному замораживанию в жидком азоте с последующим оттаиванием и встряхиванием. Липосомы (ОЛВ) из МЛВ получали экструзией через поликарбонатный ядерный фильтр с диаметром пор 100, 200 или 400 нм. Для ДПФХ экструзию через ядерный фильтр проводили при 50°С. Размер частиц определяли методом турбидиметрии и методом лазерного корреляционного светорассеивания. Все липосомы, используемые в работе, имели размер 175-235 нм.

Отделение ОЛВ с включенным в липосомы препаратом от свободного препарата проводили методом гель-фильтрации на сорбенте Sephadex G-25 Fine. Содержание препарата в липосомах определяли по поглощению ДМФ или ДМ на длине волны 242 нм.

Экспериментальные биологические исследования проводили в виварии ФГУ «МНИИ ГБ им. Гельмгольца» Росмедтехнологий на кроликах породы Шиншилла под местной анестезией инстилляцией препарата Алкаин 0.1% (ALCON). Все эндовитреальные введения препаратов в объеме 0.1 мл выполняли инсулиновой иглой 30 G через плоскую часть цилиарного тела. Клинические исследования глазного дна проводили методом прямой монокулярной офтальмоскопии. После завершения эксперимента животных выводили из него путем воздушной эмболии. Энуклеированные глаза фиксировали в 10% растворе формалина. Гистоморфологические исследования глазных яблок проводились в отделе морфологии и патогистологии ФГУ «МНИИ ГБ им. Гельмгольца» Росмедтехнологий.

Для проведения флуресцентно-микроскопического исследования сетчатки глаз кроликов после введения в витреальную полость липосом, меченных флуоресцентной меткой модифицированного липида НБД-ФЭ, исследовали замороженные срезы энуклеированных глаз без фиксации с выделением сетчатки. На криокате (Leika) получали замороженные срезы 100 мкм, окрашивали срезы красителем Movial, а затем изучали препараты на сканирующем флуоресцентном микроскопе на базе НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского МГУ им. М.В. Ломоносова.

Работа проведена в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» Министерства образования и науки (госконтракт № 14.740.11.0120).

ЛИТЕРАТУРА:

1. Maurice D.M., Mishima S. Ocular pharmacokinetics // In: Handbook of Experimental Pharmacology / Ed. M.L. Sears. – Berlin–Heidelberg: Springer Verlag, 1984. V. 69. P. 16–119.
2. Meisner D., Mezei M. Liposome ocular delivery systems // Adv. Drug Deliv. Rev. 1995. V. 16. P. 75–93.
3. Швец В.И., Каплун А.П., Краснопольский Ю.М., Степанов А.Е., Чехонин В.П. От липосом семидесятых к нанобиотехнологии XXI века // Рос. нанотехнологии. 2008. Т. 3. Вып. 11-12. С. 52–66.
4. Майчук Ю.Ф. Иммунокорригирующая терапия при воспалительных заболеваниях глаз // Офтальмолог. 2008. № 1 (июль–август). С. 20.
5. Christie J.G., Kompella U.B. Ophtalmic light sensitive nanocarrier systems // Drug Discov. Today. 2008. V. 13. P. 124–134.
6. McGhee C.N.J., Dean S., Danesh-Meyer H. Locally administered ocular corticosteroids // Drug Safety. 2002. V. 25. № 1. P. 33–55.
7. Справочник ВИДАЛЬ. – М.: АстраФармСервис, 1999. 1520 с.
8. Кленин В.И., Щеголев С.Ю., Лаврушин В.И. Характеристические функции светорассеяния дисперсных систем. – Саратов: Изд-во Саратовского университета, 1977. 176 с.
9. Ghee C.N., Watson D.G., Midgley J.M. Penetration of synthetic corticosteroids into human aqueous humor // Eye. 1990. V. 4. № 3. P. 526–530.