

Mikro- i nanocząstki w terapii okulistycznej

Renata Jachowicz, Anna Czech, Witold Jamróż

Katedra Technologii Postaci Leku i Biofarmacji CM UJ w Krakowie

Adres do korespondencji: Anna Czech, Katedra Technologii Postaci Leku i Biofarmacji CM UJ, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków, tel. 012 620 56 00, e-mail: mfczech@cyf-kr.edu.pl

Skuteczność leczenia schorzeń narządu wzroku zależy od właściwej diagnozy i dokonania na tej podstawie wyboru odpowiedniego leku. Przywrócenie funkcji fizjologicznej oka oraz likwidacja lub zmniejszenie zmian patologicznych zależą od wielu czynników związanych z rodzajem schorzenia oraz rodzajem stosowanej postaci leku.

W terapii okulistycznej stosuje się przede wszystkim krople do oczu w postaci roztworów wodnych, olejowych, rzadziej zawiesin lub emulsji; także roztwory wodne do płukania lub przemywania oczu, preparaty do wstrzyknięć, maści i żele do oczu oraz inserty [1].

Preparaty do oczu mogą być podawane zewnętrznie lub bezpośrednio do gałki ocznej. Przykłady opracowywanych postaci leku do oczu przedstawiono na **rycynie 1**.

Zróżnicowanie w budowie i właściwościach postaci leku wymaga uwzględnienia przy ich opracowywaniu wszystkich czynników, które będą gwarantować odpowiednią jakość, trwałość i bezpieczeństwo stosowania. Uwzględniając nie tylko korzyści, ale i ewentualne ujemne cechy podczas stosowania, prowadzone są badania nad udoskonalaniem postaci leku, a także poszukiwaniem nowych rozwiązań. Badania te dotyczą przede wszystkim następujących zagadnień:

- wydłużenia czasu kontaktu postaci leku z powierzchnią gałki ocznej,
- wydłużenia czasu uwalniania substancji leczniczej z postaci leku przez zaplanowany czas,
- zmniejszenia częstotliwości aplikacji i łatwości stosowania.

Dąży się także do ograniczenia lub całkowitej eliminacji ewentualnych działań niepożądanych [1]. Osiągnięcie tego rodzaju założeń wiąże się z odpowiednią konstrukcją leku, z wykorzystaniem nowych rozwiązań technologicznych i odpowiednich substancji pomocniczych. W tej grupie przedmiotem badań są przede wszystkim związki polimerowe, które mogą

Micro- and nanoparticles in ocular use · Most of all ophthalmic dosage forms are applied as eye-drops, ointments and gels administrated topical to the eye. In common practical issues there are several problems such as: low bioavailability, destabilization of tear films, rapid elimination and noncompliance by patients. Therefore studies of the novel ocular drug delivery focus on inventing new dosage forms and improving the existing ones.

Much of the search are devoted to micro- and nanoparticles as microcompartments systems. They are prepared by natural and synthetic polymer, such as: hialuronic acid, chitosan, polymers and copolymers of lactic and glycolic acid, poly-ε-caprolactone and derivatives of acrylic acid.

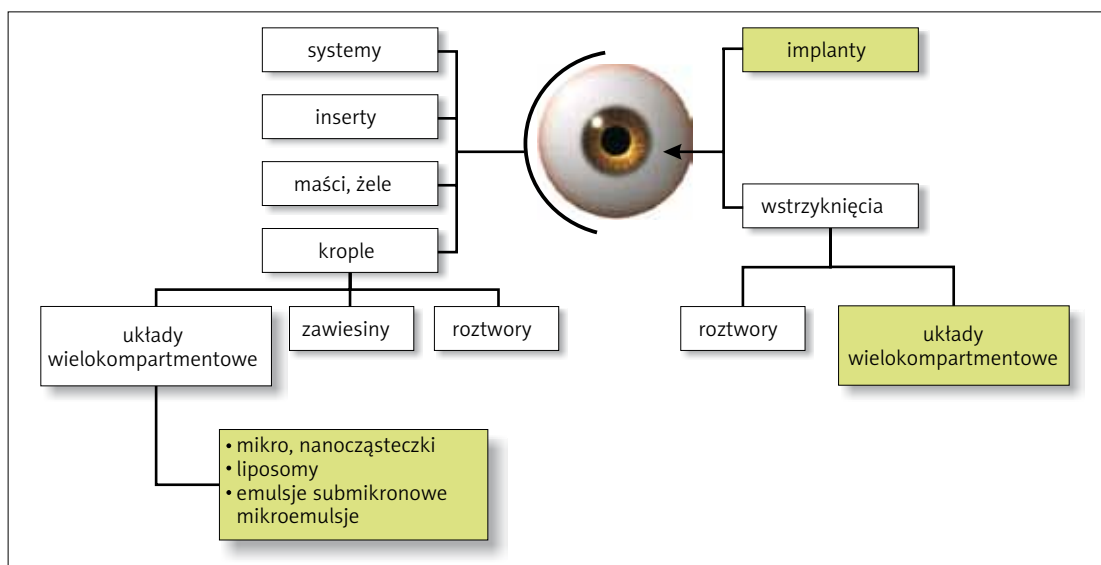
Keywords: microparticles, nanoparticles, polymers.

© Farm Pol, 2009, 65(4): 285-290

być stosowane we wszystkich rodzajach preparatów, tj. w postaciach płynnych, stałych i półstałych.

Wśród wspomnianych założeń prac badawczych przedmiotem szczególnego zainteresowania są rozwiązania, które mogą się przyczynić się do zmniejszenia częstotliwości aplikacji leku przez wydłużenie czasu jego kontaktu z powierzchnią gałki ocznej, zwiększenia przenikania substancji leczniczych do głębiej położonych struktur oka, czy zwiększenia efektu terapeutycznego poprzez wydłużenie działania leku.

Analiza projektów badawczych realizowanych w międzynarodowych laboratoriach naukowych wskazuje kilka zasadniczych kierunków badań, których założenia dotyczą modyfikacji postaci leku w celu zwiększenia dostępności biologicznej substancji leczniczych w poszczególnych strukturach oka. Problematyka wielu projektów dotyczy wprowadzenia do lecznictwa preparatów w formie układów rozproszonych będących przykładem nowszych rozwiązań technologicznych. Są to układy wielokompartimentowe, w których dawka substancji leczniczej



Rycina 1. Preparaty do oczu

jest rozdzielona między liczne mikrocząstki, będące ich nośnikami. Do układów tych zaliczane są mikro- [2, 3] i nanocząstki [4], emulsje submikronowe [5], mikroemulsje [6] i liposomy [7]. Pierwsze opracowania na początku lat 70. XX wieku koncentrowały się przede wszystkim nad opracowaniem liposomowych postaci leku. Wobec niezadawalających efektów spowodowanych brakiem stabilności układów i zbyt małą ilością zamkniętych substancji leczniczych, kierunki kolejnych badań dotyczyły układów mikro- i nanocząsteczkowych. Od tego czasu powstało wiele koncepcji rozwiązań technologicznych, które w zakresie preparatów do oczu dotyczyły zwiększenia dostępności biologicznej substancji leczniczej przez wydłużenie czasu przebywania w części przedrogowkowej oka.

Mikro- i nanocząstki są mikroorganizmami substancji leczniczej w formie monolitycznych mikrokułeczek o gładkiej lub porowatej powierzchni. Do ich wytwarzania stosowane są przede wszystkim związki wielkocząsteczkowe pochodzenia naturalnego i syntetycznego [8].

W preparatyce leków do oczu wiele uwagi poświęca się mikrosferom i nanosferom, układom o budowie matrycowej, w których substancja lecznicza jest inkorporowana do matrycy polimerowej. Sporządzane są z polimerów naturalnych lub syntetycznych, w których substancja lecznicza może być rozpuszczona, tworząc równocześnie stałe roztwory, lub zawieszona. Kształtem przypominają mikrokuleczki o powierzchni gładkiej lub porowatej. Te same polimery znajdują zastosowanie do wytwarzania mikro- i nanokapsulek, tworząc otoczkę zbiornika,

wewnątrz którego zamknięta jest substancja lecznicza w formie stałej, roztworu lub zawiesiny.

Spośród polimerów naturalnych na szczególną uwagę zasługują kwas hialuronowy, mukoadhezyjny polimer o dużej masie cząsteczkowej, występujący w pozakomórkowych strukturach oka, w ciele szklistym i w niewielkim stężeniu w cieczy wodnistej. Wykazuje korzystne właściwości, tj. zdolność wiązania wody i jako polimer biozgodny brak działania drażniącego. Jako składnik struktur pozakomórkowych odgrywa główną rolę w leczeniu stanów zapalnych i przyspiesza gojenie uszkodzonych tkanek [9].

Natomiast chitozan, polikationowy, naturalny polisacharyd otrzymywany jest przez alkaliczną deacetylację chityny. Ze względu na korzystne właściwości: biozgodność, biodegradowalność, brak działania toksycznego (LD_{50} dla myszy 16 g/kg m.c.) i właściwości mukoadhezyjne znajduje zastosowanie jako nośnik w celu uzyskania spowolnionego uwalniania substancji leczniczej, jak również poprawy przenikania m.in. peptydów przez nabłonek rogowki. Jego zaletą są również właściwości przeciwbakteryjne, co obserwowano w zakażeniach spowodowanych zmniejszonym wydzielaniem łez [9, 10].

Do sporządzania mikro- i nanocząstek stosowane są również syntetyczne polimery, takie jak pochodne kwasu akrylowego, polyalkylocyanoakrylany, polyalkylometakrylany, polimery i kopolimery kwasu mlekowego i glikolowego oraz poli- ϵ -kaprolakton.

Polialkilocyanoakrylany i polialkylometakrylany są stosowane jako nośniki substancji leczniczej. Po aplikacji do oka wykazują większe powinowactwo do tkanek zmienionych zapalnie. Polialkilocyanoakrylany ulegają powolnej biodegradacji w skutek erozji polimeru. W wyniku degradacji polimeru może dochodzić do wydzielania formaldehydu lub etanolu. Jednak obecność enzymów w płynie łzowym w warunkach

Problematyka wielu projektów dotyczy wprowadzenia do lecznictwa preparatów w formie układów rozproszonych będących przykładem nowszych rozwiązań technologicznych.

Są to układy wielokompartментowe, w których dawka substancji leczniczej jest rozdzielona między liczne mikrocząstki, będące ich nośnikami.

in vivo prowadzi do redukcji wytwarzania tych składników i związki te mogą być bezpiecznie stosowane [8, 11].

Jako składniki układów wielokompartментowych stosuje się także kopolimery poliakrylanów, zawierające IV-rzędowe grupy amoniowe, m.in. Eudragit RS i RL. Oba polimery wykazują zdolność pęcznienia w wodzie. Przedłużony czas przebywania na powierzchni rogówki wynika z reakcji dodatnio naładowanych grup amoniowych akrylanów z ujemnie naładowaną warstwą mucyny na powierzchni filmu łzowego. Jako nośniki mikro- i nanocząstek, Eudragity wykazują dobrą trwałość i są dobrze tolerowane po podaniu do oka. Stosowane są w celu uzyskania przedłużonego uwalniania substancji leczniczej i poprawy dostępności biologicznej [12, 13].

Poli-ε-kaprolakton jest również stosowany w celu uzyskania spowolnionego uwalniania substancji leczniczej i charakteryzuje się powolną degradacją w zależności od środowiska, co stanowi ograniczenie w jego szerszym stosowaniu [14].

Polimery kwasu mlekowego (PLA) i kopolimery kwasu mlekowego i glikolowego (PLGA) ulegają *in vivo* metabolizmowi do kwasu mlekowego i glikolowego. Są to polimery biodegradowalne. Szybkość ich degradacji zależy od masy cząsteczkowej. Polimer o mniejszej masie cząsteczkowej szybciej ulega temu procesowi [15].

Wszystkie wymienione powyżej substancje pomocnicze znalazły zastosowanie przy wytwarzaniu zarówno mikro-, jak i nanocząstek do oczu.

Przykłady polimerów stosowanych do sporządzania mikro- i nanocząstek zebrano w **tabeli 1**.

Opracowano kilka metod sporządzania mikro- i nanocząstek. Wśród nich m.in. metodę polimeryzacji wielofazowej [35], emulsyjną z usunięciem rozpuszczalnika [2, 10, 22, 27], topliwej dyspersji [36], suszenia rozpyłowego [18, 26, 37], mielenia filmu polimerowego i koacerwacji w środowisku wodnym [17].

Właściwości mikro- i nanocząstek zależą od rodzaju metody wytwarzania oraz właściwości polimeru. Przykłady ich zastosowania przedstawiono w **tabeli 2**.

Zawiesiny mikrosfer przygotowuje się w postaci kropli do oczu lub wstrzyknięć. Wielkość mikrocząstek jako preparatów do oczu nie powinna przekraczać 10 μm, niemniej jednak obecnie proponowane są rozwiązania o większych rozmiarach nawet do 100 μm [8]. Po aplikacji do worka spojówkowego w środowisku płynu łzowego uwalnianie substancji leczniczej następuje w wyniku dyfuzji z matrycy lub erozji matrycy na skutek stopniowej degradacji. Mechanizm ten zależy od struktury mikro- i nanocząstek. Dla mikro- i nanosfer zależy on przede wszystkim od rodzaju polimeru. Jeżeli polimer charakteryzuje się rozpuszczalnością w wodzie lub degradacją pod wpływem enzymów, wówczas substancja lecznicza

Tabela 1. Polimery stosowane do sporządzania mikro- i nanocząstek

Polimery	Substancja lecznicza		Piśmiennictwo
Polimery naturalne			
• albumina	Pilocarpina	mikrocząstki	[16]
		nanocząstki	[16]
	Gancyklowir		[17]
• chitozan	Acyklowir	mikrocząstki	[10]
• pektyna	Piroksydam		[18]
• żelatyna	Pilocarpina	nanocząstki	[19]
	Hydrokortyzon		[19]
Polimery półsyntetyczne			
• pochodne celulozy (octanobursztynian HPMC)	Piroksydam	mikrocząstki	[20]
Pochodne syntetyczne			
• pochodne kwasu akrylowego			
• kopolimery estrów kwasu akrylowego i kwasu metakrylowego (Eudragit)	Ciprofloksacyna	nanocząstki	[21]
	Gentamycyna		[22]
• polimery kwasu mlekowego (PLA)	Acyklowir		[23]
	Adriamycyna		[24]
	5-fluorouracyl		[25]
• kopolimery kwasu mlekowego i glikolowego (PLGA)	Acyklowir		[26]
	Celekoksyb		[2]
	5-fluorouracyl		[25]
	Gancyklowir		[27]
	Witamina A/acyklowir		[28]
	Wankomycyna		[29, 30]
	Ciprofloksacyna	nanocząstki	[31]
• poli-ε-kaprolakton	Indometacyna		[32]
	Karteolol		[33]
	Cyklosporyna A		[34]

jest uwalniana na skutek erozji matrycy. Jeżeli polimer jest nierozpuszczalny, to mechanizm uwalniania polega na dyfuzji substancji leczniczej przez pory matrycy. Ten sam proces ma miejsce w polimerach pęczniących w wodzie. Natomiast dla mikro- i nanokapsułek zasadniczym procesem jest dyfuzja substancji leczniczej przez błonę polimerową.

Szybkość procesu uwalniania substancji leczniczej zależy od:

- rodzaju polimeru użytego do sporządzania mikrocząstek i szybkości jego degradacji,
- ilości substancji leczniczej w układzie,
- rozpuszczalności substancji leczniczej i polimeru w wodzie,
- szybkości dyfuzji wody do matrycy polimeru,
- szybkości hydrolizy wiązań polimer-substancja lecznicza,
- szybkości dyfuzji substancji leczniczej z polimeru po hydrolizie,

Tabela 2. Metody otrzymywania mikro- i nanocząstek do oczu

Metoda	Polimer	Piśmiennictwo
Emulsyjna z odparowaniem rozpuszczalnika	Chitozan	[10]
	Eudragit RS,RL 100	[22]
	PLGA, PLA	[2, 27]
Suszenie rozpyłowe	Karagenian/żelatyna	[37]
	Pektyna	[18]
	PLGA	[26]
Topliwa dyspersja	PECL	[36]
Koacerwacja w środowisku wodnym	Albumina	[17]
Polimeryzacja międzyfazowa	PECL, poly- L-lizyna	[35]

PLA – kwas polimlekowy, PLGA – kopolimer kwasu mlekowego i glikolowego, PECL – poli-ε-kaprolakton

– metody sporządzania mikrocząstek.

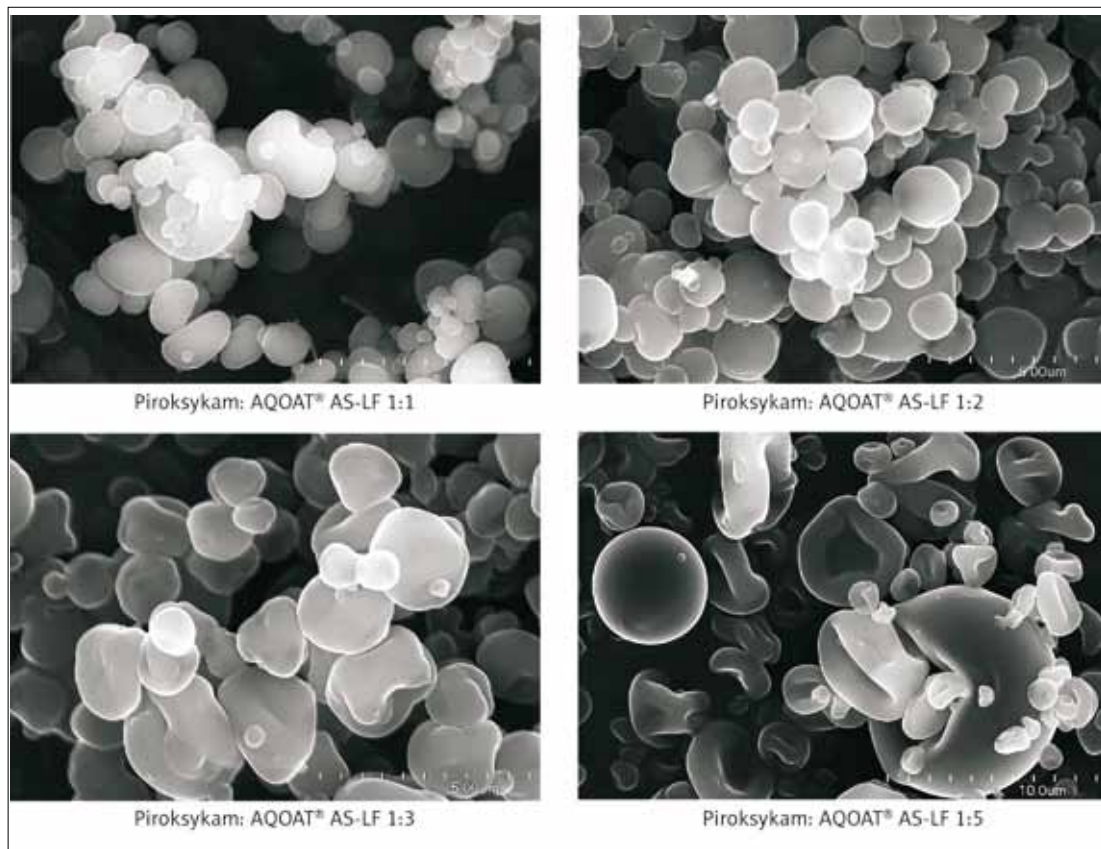
Różny profil uwalniania 5-fluorouracylu uzyskano z mikrocząstek zawierających jako nośnik PLA i PLGA o tej samej masie cząsteczkowej. Z mikrosfer z PLGA proces uwalniania substancji leczniczej przebiegał szybciej, po dwóch dniach uwolniło się ok. 98% fluorouracylu, natomiast z mikrosfer PLA dopiero po 7 dniach uwolniło się ok. 85% substancji leczniczej [25].

Przez wytworzenie mikrosfer wankomycyny, jako substancji leczniczej dobrze rozpuszczalnej w wodzie, uzyskano wydłużenie jej czasu działania. Mikrosfery

zawierające jako nośnik PLGA przygotowano w postaci zawiesiny wodnej lub zawiesiny o zwiększonej lepkości. Podawano ją jako krople na powierzchnię gałki ocznej [29] lub jako wstrzyknięcia do ciątka szklistego [30]. Stwierdzono wzrost stężenia wankomycyny i przedłużanie czasu przebywania substancji leczniczej w cieczy wodnistej. Pole powierzchni pod krzywą stężenie-czas [AUC] było dwukrotnie większe niż po podaniu roztworu wodnego. Wartości te nie uległy zmianie po podaniu zawiesiny o zwiększonej lepkości.

Znaczne spowolnienie uwalniania substancji leczniczej z mikrocząstek wykazano na przykładzie celekoksylu. W wyniku użycia kopolimeru kwasu mlekowego i glikolowego (PLGA 85: 15) po 7 tygodniach z układu mikrocząstek uwolniło się ok. 30% substancji leczniczej. W badaniach *in vivo* stwierdzono znacznie zwiększone w porównaniu z roztworem wodnym stężenie celekoksylu w siatkówce, ciele szklistym oraz rogówce utrzymujące się przez 14 dni [2].

Również w wyniku zastosowania polimerów bioadhezyjnych uzyskuje się wydłużenie czasu kontaktu z powierzchnią gałki ocznej. Przykładem takiego rozwiązania są mikrosfery z maleinianem tymololu, opracowane jako układy mukoadhezyjne [37]. W tym celu zastosowano dwie substancje pomocnicze – karagenian oraz żelatynę, które w wyniku interakcji tworzą sieć polimerową, zapewniającą uwalnianie



Rycina 2. Mikrosfery piroksykamu z AEOAT® AS-LF. Obraz z elektronowego mikroskopu skaningowego

substancji leczniczej w sposób kontrolowany. Karagenian jest anionowym polisacharydem wykazującym zdolność wiązania substancji leczniczych kationowych, żelatyna jest polielektrolitem, którego tładunek zależy od jej odmiany oraz pH. Mikrosfery tymololu z wyżej wymienionymi polimerami wytworzono metodą suszenia rozpyłowego, stosując dyszę o średnicy 0,7 mm. W wyniku optymalizacji procesu technologicznego oraz składu rozpylanego roztworu uzyskano mikrosfery o średnicy poniżej 10 µm.

Wykazano także możliwość modyfikacji szybkości uwalniania tymololu przez regulację składu preparatu. Spośród dwóch zastosowanych polimerów, karagenian jest składnikiem spowalniającym uwalnianie substancji leczniczej. W badaniach *in vivo* prowadzonych na królikach wykazano zwiększenie dostępności biologicznej po podaniu tymololu w formie zawiesiny mikrosfer. Wartość pola powierzchni pod krzywą stężenie-czas (AUC) była ok. 6-krotnie większa niż po podaniu konwencjonalnych kropli do oczu Droptimol® oraz ponad 2-krotnie większa niż przy zastosowaniu żelu Timoptic® XE powstającego *in situ* po aplikacji do worka spojówkowego.

W badaniach własnych dotyczących piroksykanu potwierdzono możliwość stosowania również octanobursztynianu hydroksypropylometylcelulozy (HPMC-AS) jako nośnika mikrosfer [20]. W zależności od wzajemnej ilości substancji leczniczej i nośnika oraz stosowanej metody suszenia rozpyłowego uzyskano mikrosfery o zróżnicowanej budowie morfologicznej. Analiza w mikroskopie skaningowym wykazała obecność kulistych form o gładkiej powierzchni dla układów 1:1 i 1:2. Wraz ze zwiększeniem ilości HPMC-AS kształt mikrosfer stał się nieregularny, a powierzchnia porowata. Zdjęcia z mikroskopu skaningowego przedstawiono na **rycinie 2**.

Ilość nośnika zawarta w mikrosferach wpływała na profil uwalniania substancji leczniczej. Analiza wskazała, że zastosowanie układu 1:1, 1:2 było optymalne, gdyż proces uwalniania przebiegał stopniowo, a równocześnie ilość rozpuszczonego piroksykanu była większa w porównaniu z samą substancją leczniczą. Z mikrosfer zawierających nośnik i substancję leczniczą w równych ilościach po 30 minutach uwolniono się 37,95% piroksykanu, a po 8 godzinach ilość uwolnionej substancji leczniczej zwiększyła się do 82,30%. Z układów zawierających 5-krotnie większą ilość nośnika niż substancji leczniczej (1:5) już po 30 min. uwolniono się ok. 80% substancji leczniczej, zaś po 8 godzinach tylko o 7,2% więcej.

Badania związane z optymalizacją składu preparatów do oczu dotyczą również nanosfer. W leczeniu stanów zapalnych oka po podaniu nanosfer stwierdzono znaczne wydłużenie czasu przebywania leku w części przedrogówkowej. Wynika to ze zwiększonej sekrecji m.in. albumin, przez co dochodzi do interakcji nanosfer z albuminami. Ponadto w takich stanach

zwiększa się przenikalność substancji leczniczej przez błonę komórkową. Ze względu na oddziaływanie nośników koloidalnych stosowanych do formułowania nanocząstek, przy projektowaniu tej postaci leku zwraca się uwagę na możliwość zwiększenia indeksu terapeutycznego niektórych substancji leczniczych, zwłaszcza z grupy leków przeciwbakteryjnych i przeciwzapalnych.

W badaniach porównawczych dotyczących wyboru polimeru do formułowania nanokapsulek stwierdzono, że poliester, pochodna kwasu poli-ε-kaprolaktonowego daje lepszy efekt niż wspomniany wcześniej policyjanoakrylan. Po aplikacji nanokapsulek betaksalolu z otoczką z polimeru poli-ε-kaprolaktonu uzyskano nie tylko wydłużenie czasu działania, lecz również obniżenie ciśnienia śródgałkowego w znacznie większym stopniu niż po podaniu preparatu Betoptic o 5-krotnie większej zawartości substancji leczniczej [38].

W celu przedłużenia czasu przebywania substancji leczniczej w przestrzeni przedrogówkowej, mikro- i nanocząstki mogą być powlekanie polimerami o właściwościach mukoadezyjnych lub zawieszane w hydrożelu.

Nanokapsułki indometacyny z poli-ε-kaprolaktonem powlekanie chitozanem lub poli-L-lizyną [35]. W badaniach *in vitro* po 2 godzinach uwalniało się ok. 85% substancji leczniczej natomiast w badaniach *in vivo* uzyskano znaczną poprawę dostępności biologicznej indometacyny ze wszystkich układów nanokapsulek w porównaniu z kroplami do oczu. Z nanokapsulek powlekanymi chitozanem wzrost stężenia maksymalnego w rogówce i cieczy wodnistej był ok. 2-krotnie większy w porównaniu z niepowlekanymi nanokapsułkami, a pole powierzchni pod krzywą stężenie-czas ok. 1,7-krotnie większe. Z nanokapsulek powlekanymi poli-L-lizyną i niepowlekanymi nie stwierdzono znacznych różnic.

Ze względu na miejsce aplikacji wymagana jest jałowość preparatów. Jałowienie mikrosfer suchym gorącym powietrzem lub nasyconą parą wodną pod ciśnieniem w autoklawie nie jest wskazane ze względu na brak trwałości mikrosfer i w tych warunkach możliwość powstania toksycznych produktów rozkładu [39]. W związku z tym mikrosfery acyklowiru sporządzone z żelatyną i PLGA jako nośnikami wyjaławiano stosując promieniowanie γ w dawce 25 kGy. Badania w mikroskopie skaningowym nie wykazały zmian w wyglądzie morfologicznym mikrosfer. W badaniach DSC, X-ray i IR nie stwierdzono również zmian właściwości mikrosfer w wyniku metody wyjaławiania. Jednak przy stosowaniu tej metody istnieje możliwość

Badania związane z optymalizacją składu preparatów do oczu dotyczą również nanosfer. W leczeniu stanów zapalnych oka po podaniu nanosfer stwierdzono znaczne wydłużenie czasu przebywania leku w części przedrogówkowej. Wynika to ze zwiększonej sekrecji m.in. albumin, przez co dochodzi do interakcji nanosfer z albuminami.

zmniejszenia masy cząsteczkowej polimeru i zmian w profilu uwalniania substancji leczniczej, a także uszkodzenia bioaktywnych składników mikrosfer [40]. Z tego względu zaleca się prowadzenie procesu wytwarzania w warunkach aseptycznych w taki sposób, aby zapewnić jałowość produktu [39].

Otrzymano: 2009.02.04 · Zaakceptowano: 2009.02.20

Piśmiennictwo

- Jachowicz R.: Leki stosowane w terapii okulistycznej. Wyd.1. Warszawa: Ośrodek Informacji Naukowej „Polfa” Sp. z o.o. Warszawa 2001.
- Ayalasomayajula S.P., Kompella U.B.: Subconjunctivally administered celecoxib-PLGA microparticles sustain retinal drug levels and alleviate diabetes-induced oxidative stress in a rat model. *Eur. J. Pharmacol.* 2005, 511, 191-198.
- Duvvuri S., Janoria K.G., Mitra A.K.: Development of a novel formulation containing poly(D,L-lactide-co-glycolide) microspheres dispersed in PLGA-PEG-PLGA gel for sustained delivery of ganciclovir. *J. Control. Release* 2005, 108, 282-293.
- Barbault-Foucher S., Gref R., Russo P., Guechot J., Bochot A.: Design of poly- ϵ -caprolactone nanospheres coated with bioadhesive hyaluronic acid for ocular delivery. *J. Control. Release* 2002, 83, 365-375.
- Tamilvanan S., Khoury K., Gilhar D. i wsp.: Ocular delivery of cyclosporin A. I. Design and characterization of cyclosporin A – loaded positively – charged submicron emulsion. *S.T.P. Pharm. Sci.* 2001, 11, 421-426.
- Chan J., El Maghraby G.M.M., Craig J.P. i wsp.: Phase transition water-in-oil microemulsions as ocular drug delivery systems: In vitro and in vivo evaluation. *Int. J. Pharm.* 2007, 328, 65-71.
- Cortesi R., Argnani R., Esposito E. i wsp.: Cationic liposomes as potential carriers for ocular administration of peptides with anti-herpetic activity. *Int. J. Pharm.* 2006, 317, 90-100.
- Zimmer A., Kreuter J.: Microspheres and nanoparticles used in ocular delivery systems. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 1995, 16, 61-73.
- Ludwig A.: The use of mucoadhesive polymers in ocular drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2005, 57, 1595-1639.
- Gentan I., Conti B., Perugini P. i wsp.: Bioadhesive microspheres for ophthalmic administration of acyclovir. *J. Pharm. Pharmacol.* 1997, 49, 737-742.
- Langer K., Zimmer A., Kreuter J.: Acrylic nanoparticles for ocular drug delivery. *S.T.P. Pharm. Sci.* 1997, 7, 445-451.
- Pignatello R., Bucolo C., Ferrara P. i wsp.: Eudragit RS 100® nanosuspensions for the ophthalmic controlled delivery of ibuprofen. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2002, 16, 53-61.
- Pignatello R., Bucolo C., Puglisi G.: Ocular tolerability of Eudragit RS 100® and RL 100® nanosuspensions as carrier for ophthalmic controlled drug delivery. *J. Pharm. Sci.* 2002, 91, 2636-2641.
- Sinha V.R., Bansal K., Kaushik R. i wsp.: Poly- ϵ -caprolactone microspheres and nanospheres: an overview. *Int. J. Pharm.* 2004, 278, 1-23.
- Gavini E., Chetoni P., Cossu M. i wsp.: PLGA microspheres for the ocular delivery of a peptide drug, vancomycin using emulsification/spray-drying as the preparation method: in vitro/in vivo studies. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2004, 57, 207-212.
- Zimmer A.K., Zerbe H., Kreuter J.: Evaluation of pilocarpine – loaded albumin particles as drug delivery systems for controlled delivery in the eye. I. *In vitro* and *in vivo* characterization. *J. Control. Release* 1994, 32, 57-70.
- Merido M., Irache J.M., Valamanesh F. i wsp.: Ocular disposition and tolerance of ganciclovir – loaded albumin nanoparticles after intravitreal injection in rats. *Biomaterials* 2002, 23, 1587-1594.
- Giunchedi P., Conte U., Chetoni P. i wsp.: Pectin microspheres as ophthalmic carriers for piroxicam: evaluation in vitro and in vivo in albino rabbits. *Eur. J. Pharm. Sci.* 1999, 9, 1-7.
- Vandervoort J., Ludwig A.: Preparation and evaluation of drug – loaded gelatin nanoparticles for topical ophthalmic use. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2004, 57, 251-261.[140]
- Jachowicz R., Czech A.: Preparation and evaluation of piroxicam –HPMCAS solid dispersions for ocular use. *Drug Dev. Techn.* 2008, 13, 2008.
- Dillen K., Vandervoort J., den Mooter G.V. i wsp.: Evaluation of ciprofloxacin-loaded Eudragit® RS 100 or RL 100/PLGA nanoparticles. *Int. J. Pharm.* 2006, 314, 72-82.
- Safwat S.M., Al-Kassas R.S.: Evaluation of gentamicin – Eudragit microspheres as ophthalmic delivery systems in inflamed rabbit's eyes. *S.T.P. Pharm. Sci.* 2002, 12, 357-361.
- Conti B., Bucolo C., Giannavola C. i wsp.: Biodegradable microspheres for the intravitreal administration of acyclovir: in vitro/ in vivo evaluation. *Eur. J. Pharm. Sci.* 1997, 5, 287-293.
- Kimura H., Ogura Y., Mortiera T. i wsp.: Injectable microspheres with controlled drug release for glaucoma filtering surgery. *Inv. Ophthalm. Vis. Sci.* 1992, 33, 3436-3441.
- Moritera T., Ogura Y., Honda Y. i wsp.: Microspheres of biodegradable polymers as a drug - delivery system in the vitreous. *Inv. Ophthalm. Vis. Sci.* 1991, 32, 1785-1790.
- Martínez-Sancho C., Herrero-Vanrell R., Negro S.: Study of gamma-irradiation effects on aciclovir poly(D,L-lactic-co-glycolic) acid microspheres for intravitreal administration. *J. Control. Release* 2004, 99, 41-52.
- Duvvuri S., Janoria K.G., Mitra A.K.: Development of a novel formulation containing poly(D,L-lactide-co-glycolide) microspheres dispersed in PLGA-PEG-PLGA gel for sustained delivery of ganciclovir. *J. Control. Release* 2005, 108, 282-293.
- Martínez-Sancho C., Herrero-Vanrell R., Negro S.: Vitamin A palmitate and aciclovir biodegradable microspheres for intraocular sustained release. *Int. J. Pharm.* 2006, 326, 100-106.
- Gavini E., Chetoni P., Cossu M. i wsp.: PLGA microspheres for the ocular delivery of a peptide drug, vancomycin using emulsification/spray-drying as the preparation method: in vitro/in vivo studies. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2004, 57, 207-212.
- Hachicha W., Kodjikian L., Fessi H.: Preparation of vancomycin microparticles: Importance of preparation parameters. *Int. J. Pharm.* 2006, 324, 176-184.
- Dillen K., Vandervoort J., den Mooter G.V. i wsp.: Factorial design, physicochemical characterization and activity of ciprofloxacin-PLGA nanoparticles. *Int. J. Pharm.* 2004, 275, 171-187.
- Calvo P., Alonso M.J., Vila-Jato J.L. i wsp.: Improvement ocular bioavailability of indomethacin by novel ocular drug carriers. *J. Pharm. Pharmacol.* 1996, 48, 1147-1152.
- Marchal-Heussler L., Sirbat D., Hoffman M. i wsp.: Poly(-caprolactone) nanocapsules in carteolol ophthalmic delivery. *Pharm. Res.* 1993, 10, 386-390.
- Calvo P., Sánchez A., Martínez J. i wsp.: Polyester nanocapsules as new topical ocular delivery systems for cyclosporine A. *Pharm. Res.* 1996, 13, 311-315.
- Calvo P., Vila-Jato J.L., Alonso M.J.: Evaluation of cationic polymer-coated nanocapsules as ocular drug carriers. *Int. J. Pharm.* 1997, 153, 41-50.
- Lin W.-J., Kang W.-W.: Comparison of chitosan and gelatin coated microparticles: prepared by hot-melt method. *J. Microencapsulation* 2003, 20, 169-177.
- Bonferoni M.C., Chetoni P., Giunchedi P. i wsp.: Carrageenan-gelatin mucoadhesive systems for ion-exchange based ophthalmic delivery: in vitro and preliminary in vivo studies. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2004, 57, 465-472.
- Marchal-Heussler L., Fessi H., Devissaguet J.P. i wsp.: Colloidal drug delivery systems for the eye. A comparison of the efficacy of three different polymers: polyisobutylcyanoacrylate, polylactic-co-glycolic acid, poly-epsilon-caprolactone. *S.T.P. Pharm. Sci.* 1992, 2, 98-104.
- Freitas S., Rudolf B., Merkle H.P. i wsp.: Flow-through ultrasonic emulsification combined with static micromixing for aseptic production of microspheres by solvent extraction. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2005, 61, 181-187.
- Martínez-Sancho C., Herrero-Vanrell R., Negro S.: Study of gamma-irradiation effects on aciclovir poly(D,L-lactic-co-glycolic) acid microspheres for intravitreal administration. *J. Control. Release* 2004, 99, 41-52.