

EX VIVO ИЗСЛЕДВАНЕ НА МУКОЗНАТА ПРОНИЦАЕМОСТ НА ЛЕВОДОПА В СЪСТАВА НА IN SITU ЖЕЛИРАЩИ СИСТЕМИ ЗА НАЗАЛНО ПРИЛОЖЕНИЕ

Мария Дангова¹, Надежда Иванова², Камелия Братоева³, Георги Стоянов⁴,
Величка Андонова²

¹УС „Помощник-фармацевт“, Медицински колеж, Медицински университет – Варна

²Катедра „Фармацевтични технологии“, Факултет по фармация,
Медицински университет – Варна

³Катедра „Физиология и патофизиология“, Факултет по медицина,
Медицински университет – Варна

⁴Клинична патология, Комплексен онкологичен център – Шумен

EX VIVO PERMEATION STUDY OF LEVODOPA USING IN SITU GELLING SYSTEMS FOR NASAL DRUG DELIVERY

Mariya Dangova¹, Nadezhda Ivanova², Kameliya Bratоеva³, Georgi Stoyanov⁴,
Velichka Andonova²

¹TS Assistant Pharmacist, Medical College, Medical University of Varna

²Department of Pharmaceutical Technologies, Faculty of Pharmacy,
Medical University of Varna

³Department of Physiology and Pathophysiology, Faculty of Medicine,
Medical University of Varna

⁴Clinical Pathology, Complex Oncology Center, Shumen

РЕЗЮМЕ

Интраназалното приложение на лекарства предлага намалена периферна токсичност, насочено доставяне до желаното място и подобрена бионаличност, особено за терапевтици, предназначени за неврологични заболявания. Едно от широко разпространените лекарства за болестта на Паркинсон е ароматната аминокиселина леводопа (ЛД), чието хронично перорално приложение предхожда възникването на on/off феномен, дискинезия и други нежелани лекарствени реакции. Освен това ЛД има ниска орална бионаличност, а проблемите в терапията остават нерешени дори след комбинирането с ензимни инхибитори. Целта на настоящото проучване е фокусирана върху ex vivo поведението на in situ желиращи системи с ЛД и сесквитерпена алфа-бизаболол, включен поради известните му свойства на пенетрант. Изследваните назални формулировки бяха създадени, за да доставят активната съставка директно до мозъка, заобикаляйки first-pass метаболизма и кръвно-мозъчна-

ABSTRACT

The intranasal drug administration route offers reduced peripheral toxicity, targeted drug delivery, and improved bioavailability, especially for therapeutics intended for the treatment of neurological disorders. The most common therapy for Parkinson's disease includes the use of the aromatic amino acid levodopa, whose chronic oral application precedes the onset of on/off phenomena, dyskinesia, and other adverse drug reactions. Additionally, levodopa has low oral bioavailability, and therapeutic challenges remain unresolved even after combining it with enzyme inhibitors. The aim of the present study is to investigate the ex vivo effects of in situ gelling systems with levodopa and the sesquiterpene alpha-bisabolol, included due to its known permeation-enhancing properties. The studied nasal formulations were designed to deliver the active pharmaceutical ingredient directly to the brain through the olfactory region of the nasal cavity, bypassing first-pass metabolism and the blood-brain barrier. Two in situ thermogelling systems were prepared, each loaded with 0.1% levodopa in Poloxam-

та бариера, достигайки дотам чрез обонятелната зона на носната кухина. Бяха приготвени две *in situ* терможелиращи системи, заредени с ЛД 0,1% и носител Полоксамер 407 15%, като към втората система беше солубилизиран бизаболол 1%. Тестваните формулировки бяха подложени на *ex vivo* изследване на мукозната проницаемост, като за тази цел беше използвана като мембрана назална лигавица върху дифузионна клетка на Франц. Резултатите от проведения анализ показаха, че *in situ* желиращата система, съдържаща алфа-бизаболол, осигурява по-висока степен на проникване на ЛД през лигавицата, с дифузионен поток (J_{ss}) от $2,00 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{min}^{-1}$, в сравнение с референтната формулировка без бизаболол ($J_{ss} 1,35 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{min}^{-1}$). Известният механизъм на подобряване на лекарствената пенетрация от страна на бизаболол чрез втечняване на мембранните липиди и получените резултати са причина да смятаме, че основният транспортен механизъм за преминаване на ЛД е трансцелуларен - през липидните мембрани на епителните клетки.

Ключови думи: терможелиращи системи, Полоксамер 407, алфа-бизаболол, интраназално приложение на леводоп, лекарстводоставяне от носа до мозъка, дифузионна клетка на Франц

ВЪВЕДЕНИЕ

Допаминовият прекурсор леводоп (ЛД) се прилага за контрол на двигателните нарушения, асоциирани с болестта на Паркинсон, но клиничното му приложение е с ограничена терапевтичната ефективност поради ниската орална бионаличност (варираща между 10 и 30%) и още по-ниската бионаличност в мозъка (около 1%) (1,9,13). Това налага употребата на високи терапевтични дози за продължителен период от време, което е свързано с риск от развитие на толерантност и развитие на ЛД-индуцирани нежелани лекарствени реакции (НЛР) (6,10,11,20). Недостатъчно ефективни се оказват лекарствени форми с модифицирано освобождаване, както и комбинирането на активната съставка с ензимни инхибитори (17). Всички тези проблеми са предизвикателство и предпоставка за търсенето на алтернативни пътища за приложение (подкожен, назален, трансдермален, ректален), които да повишават ефикасността на терапията с ЛД и качеството на живот на пациентите (7,8,22,27).

Това проучване има за цел да изследва мукозната проницаемост на ЛД и влиянието на ал-

фа-бизаболол в ролята на пенетрант в състава на *in situ* желиращи системи за назално приложение като първи етап от разработката на ефективна система за доставка на активното вещество по оста нос-мозък.

Keywords: thermogelling systems, Poloxamer 407, alpha-bisabolol, intranasal application of levodopa, nose-to-brain drug delivery, Franz diffusion cell

фа-бизаболол в ролята на пенетрант в състава на *in situ* желиращи системи за назално приложение като първи етап от разработката на ефективна система за доставка на активното вещество по оста нос-мозък.

In situ желиращите системи са широко използвани при мукозното лекарствено доставяне, тъй като осигуряват продължително контактно време на лекарството с лигавицата и продължителен ефект. По тази причина те имат потенциала да оптимизират доставянето на терапевтични средства до централната нервна система при лечението на неврологични заболявания посредством назалния път на въвеждане (18,26). Физикохимичните свойства на полимерите, използвани като носители в тези системи, позволяват трансформирането от зол в гел на мястото, където се прилагат, под въздействието на стимули, свойствени за биологичната среда - температура, рН, йонен състав, магнитно поле. Това позволява задържане на лекарството в гъсто-вискозен слой, прилепване към целевата област и устойчив ефект (3,25). Назалните *in situ* желиращи формулировки са подходящи за включва-

не на голям брой разтворими и неразтворими лекарствени вещества с различна молекулна маса. За разлика от конвенционалните лекарствени форми с ЛД, този тип проектирани системи осигуряват по-ниска периферна токсичност, заобикалят first-pass метаболизма и кръвно-мозъчната бариера и могат да контролират кинетиката на лекарственото освобождаване (24). Всичко това може да сведе до минимум недостатъците на ЛД и да предложи обещаващ подход за удължаване на времето за задържане върху носната лигавица, подобряване на проникването през мукозата, повишаване на интрацеребралната концентрация, с перспектива за намаляване на необходимите дози ЛД и следователно за редуциране на риска от НЛР (23).

Като лекарствен носител в изследването е избран термочувствителният полимер Полоксамер 407 (П407) - поли(етилен оксид)-поли(пропилен оксид)-поли(етилен оксид) триблок съполимер. Температурата на желиране при Полоксамер зависи от дизайна на системата, концентрацията на полимера, наличието на активни фармацевтични съставки и ексципиенти (4). Желирането на водни разтвори на П407 ≥ 15 w/w% настъпва в температурен диапазон, подходящ за биомедицински цели (5,21). За постигането на оптимална мукозна проникваемост решихме да комбинираме П407 с алфа-бизаболол. Този моноциклически сесквитерпен е с природен произход и влиза в състава на етерични масла от семейства *Asteraceae* и *Lamiaceae*, които се прилагат във фармацевтичната практика поради изразен противовъзпалителен, антимикробен и антиоксидантен ефект (19). От технологична гледна точка бизаболол притежава свойства на пенетрант и улеснява трансдермалното и трансмукозното преминаване на някои активни вещества (14).

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Материали

Активната субстанция леводопа (ЛД) ($>98,5\%$, Mm 197,19 g/mol) е закупена от Thermo Fisher Scientific; Полоксамер 407 (Kolliphor® P407) е получен от Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA; солна киселина 37% е получена от Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA; алфа-бизаболол 85% 10 ml е доставен от www.ekomama.net.

Методи

Аналитична процедура

UV/Vis спектрофотометричен метод бе избран за анализ на ЛД. Изходен разтвор бе приготвен в 0,1 M солна киселина в концентрация 3000 $\mu\text{g/ml}$ и сканиран в диапазона 200–400 nm

с цел установяване на абсорбционния максимум на съединението в разтвора. Алфа-бизаболол също бе сканиран в този диапазон на дължина на вълната с цел да се изключи възможна интерференция в анализа на ЛД. От изходния разтвор на ЛД, чрез подходящи разреждания, бяха получени разтвори с концентрации, пригодни за построяването на стандартна калибрационна права - 10, 20, 25, 30, 50, 100 $\mu\text{g/ml}$; това бе направено при дължина на вълната, отговаряща на установения абсорбционен максимум на съединението - $\lambda=280$ nm. Измерванията бяха проведени на UV/Vis спектрофотометър PG Instruments, Lutterworth, UK.

Приготвяне на *in situ* желиращи тестови състави

Тестовите състави бяха приготвени както следва: 30%-ен концентрат на Полоксамер 407 бе приготвен чрез разтваряне на студено в хладилник за най-малко 24 часа преди употреба. 0,2%-ен разтвор на ЛД бе приготвен в пречистена вода на електромагнитна бъркалка. Тестови състав 1 (ЛД-П407) бе приготвен, като гореописаните изходни разтвори бяха смесени на електромагнитна бъркалка в съотношение 1:1. Тестови състав 2 (ЛД-П407-БИЗ) бе приготвен, като в дефинираното количество концентрат на Полоксамер 407 (50% от крайната маса на състава) бе солубилизиран бизаболол - 0,9%, а след това бе проведено разреждане с разтвор на ЛД до 100%. Подробно тестовите състави са описани в табл. 1.

Табл. 1. Описание на съдържанието на тестовите състави

Състав	ЛД-П407	ЛД-П407-БИЗ
ЛД, %	0,1	0,1
Полоксамер 407, %	15	15
Бизаболол, %	-	0,9

Ex vivo проучване на мукозна проникваемост

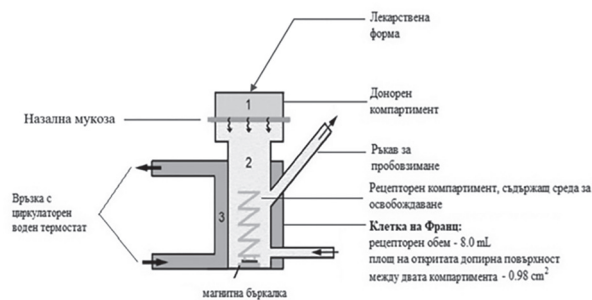
Подготовка на лигавичната тъкан

Методът за отпрепарирание на носната лигавица е избран по методологията на Wadell et al. (28). Тъканите са получени от свинска муцуна на прасе с тегло 80–90 kg и възраст 7–8 месеца в сертифицирана клиника (Варна, България). Муцуната беше отворена от патолозите с помощта на форцепс и скалпел, а парченцата носна лигавица бяха изолирани от лигавицата на кухината и поставени върху лед по време на транспортирането до лабораторията. В рамките на 60 минути след отстраняване парчета от носната лигави-

ца бяха внимателно изрязани със скалпел с подходящ размер за провеждане на теста за *ex vivo* проницаемост.

Процедура

Ex vivo изследване на мукозното проникване на ЛД беше проведено с помощта на дифузионна клетка на Франц с рецепторен обем от 8,0 ml и площ на отвора от 0,98 cm² (PermeGear, Hellertown, PA, USA), представена схематично на фиг. 1.



Фиг. 1. Схематично устройство на дифузионната клетка на Франц

Рецепторният обем беше запълнен почти до върха с дестилирана вода, а клетката - темперирана при 34±0,5°C с помощта на циркулатoren термостат. Използваният от нас като мембрана експлант от носната лигавица беше внимателно поставен и фиксиран с помощта на фабричен пръстен и Parafilm*. Мукозната цялост на експланта бе проверена преди започване на експеримента посредством тест за наличие на мехурчета (bubble test). Проба от тестовия състав с обем 1 ml беше внимателно нанесена върху повърхността на назалната мембрана през отвора на донорния компартимент. Рецепторният обем бе допълнен до върха с помощта на спринцовка и игла през ръкава за пробовземане. Беше зададена скорост на разбъркване от 1000 rpm. Пробите за определяне на концентрацията на проникналата през мукозата ЛД бяха изтеглени на 15-, 30-, 60- и 120-ата минута, анализирани спектрофотометрично при λ=280 nm и възвърнати обратно в рецепторната среда. Данните за кумулативно проникналото лекарство в средата (CDP) бяха използвани за последващи изчисления и построяване на графичната зависимост CDP%/време.

Анализ на резултатите

С цел улесняване на анализа при провеждането на експеримента върху мукозата бе приложено количество от всяка лекарствена форма в значително по-голямо от обичайното за тази повърхностна площ количество, така че концентрационният градиент да не се променя съществено (повече от 10%) за времето на изследването.

Това ни позволи да приложим опростената версия на първия закон на Фик за дифузия в стационарно състояние:

$$J_{ss} = K_p \cdot \Delta C,$$

където J_{ss} е потокът в стационарно състояние, K_p е коефициентът на проницаемост, а ΔC е концентрационният градиент, който представлява разликата между концентрацията на лекарството в донорния компартимент - C_d , и рецепторния компартимент - C_r .

Необходимите данни за изчисления бяха извлечени от графиките CDP (μg)/време. Потокът в стационарно състояние (J_{ss}) беше изчислен от наклона на линейната регресия и представен като μg.cm⁻².min⁻¹. Линейният регресионен коефициент също бе приложен към резултатите. Коефициентът на проницаемост (K_p) беше изчислен като $K_p = J_{ss} / \Delta C$, с допускането, че концентрационният градиент ($\Delta C = C_d - C_r$) е постоянен и следователно ΔC може да бъде заменено с началната концентрация на лекарството в лекарствената форма (C_d) [μg.cm⁻³] ($\Delta C \approx C_d$, и $K_p \approx J_{ss} / C_d$). В това изследване заложената изходна концентрация бе 1 μg/ml (0.1%), а изходното количество на ЛД, съдържащо се в приложения 1 ml лекарство форма, съответно - 1 μg. Знаейки приблизителната дебелина на използваната мукозна тъкан (0,09 cm), следващите изчисления бяха направени с помощта на познатата зависимост:

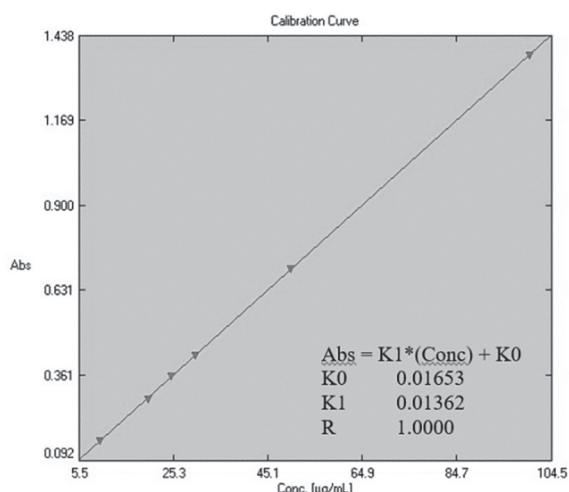
$$K_p = P \cdot D / h,$$

където P е коефициентът на разпределение на лекарството в бариерата, D е дифузионният коефициент, а h е дебелината на мембраната. Произведението $P \cdot D = K_p \cdot h$ бе представено в резултатите като cm².min⁻¹ (2,12,15,16).

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЯ

Стандартна калибрационна права за UV/Vis спектрофотометричен анализ

Абсорбционният максимум на поглъщане на ЛД в UV областта бе открит при λ=280 nm. Алфа-бизаболол не показва абсорбируемост в интервала от 200 до 400 nm дължина на вълната. Стандартната калибрационна права на ЛД бе получена с регресионен коефициент R²=1 и съответстваща на уравнението: A=0,01362.c+0,01653 (фиг. 2).



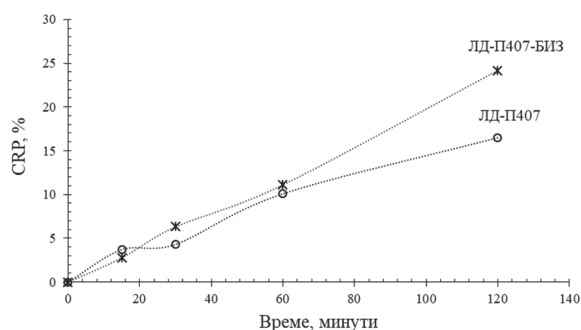
Фиг. 2. Стандартна калибрационна права на ЛД в 0,1 М НСl

Табл. 2. Параметри, характеризиращи мукозната проницаемост на ЛД

Състав	Jss, $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{min}^{-1}$	R ²	Kp.10 ² , $\text{cm}\cdot\text{min}^{-1}$	P.D.10 ² , $\text{cm}^2\cdot\text{min}^{-1}$
ЛД-П407	1,35	0,979	0,135	0,012
ЛД-П407-БИЗ	2,00	0,997	0,200	0,018

Ex vivo проучване на мукозна проницаемост

Параметрите, характеризиращи мукозната проницаемост на ЛД от двата тестови състава, са обобщени в табл. 2. Графичната зависимост CDR%/време е представена на фиг. 3.



Фиг. 3. Мукозно преминаване на ЛД от тестовите състави

In situ желиращата формулировка, съдържаща бизаболол (ЛД-П407-БИЗ), показва значително подобряване в пропускливостта на назалната мукоза спрямо ЛД и засилен дифузионен поток на лекарственото вещество. Познати са два основни механизма за лекарствен транспорт през мукозни мембрани, а именно парацелуларен (между епителните клетки) и трансцелуларен (през мембраните на клетките, които са изградени от двоен фосфолипиден слой). Фактът, че бизаболол подобрява проницаемостта на ЛД през

мукозата, ни насочва, че преобладаващ в случая е трансцелуларният транспорт. Този извод съответства на факта, че ЛД се характеризира с ограничената водоразтворимост въпреки хидрофилната си природа; именно това се явява вероятна причина за затрудненото дифундиране на активното вещество през хидрофилния екстрацелуларен матрикс.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Бяха разработени и сравнени две *in situ* желиращи системи, предназначени за лекарствено доставяне на леводопа през назалната лигавица до мозъчните структури, с носител П407 15% и допълнително включен алфа-бизаболол (0,9%) към единия състав. Резултатите от *ex vivo* ана-

лиза на мукозната проницаемост ни позволиха да направим следните изводи: 1. Алфа-бизаболол в състава на *in situ* терможелиращата система с носител П407 15% подобрява назалната мукозна проницаемост на ЛД и има ролята на пенетрант; 2. Преобладаващият транспортен механизъм на лекарственото вещество следва да бъде прието, че е трансцелуларен, предвид липофилната природа на сесквитерпеновия алкохол. Следователно алфа-бизаболол осигурява трансцелуларното транспортиране на ЛД в назалната мукоза като доминиращ механизъм - през липидните клетъчни мембрани.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bogetofte H, Alamyar A, Blaabjerg M, Meyer M. Levodopa Therapy for Parkinson's Disease: History, Current Status and Perspectives. CNS Neurol Disord Drug Targets. 2020;19(8):572-583. doi:10.2174/1871527319666200722153156
2. Brodin B, Steffansen B, Nielsen C. Passive diffusion of drug substances: the concepts of flux and permeability, Molecular biopharmaceuticals. Pharmaceutical Press. 2009. Chapter 3.2, p. 135-52.
3. Chassenieux C, Tsitsilianis C. Recent trends in pH/thermo-responsive self-assembling hydrogels: from polyions to peptide-based polymeric gelators. Soft Matter. 2016;12(5):1344-1359. doi:10.1039/C5SM02710A

4. Cook MT, Haddow P, Kirton SB, et al. Polymers Exhibiting Lower Critical Solution Temperatures as a Route to Thermoreversible Gelators for Healthcare. *Adv Funct Mater.* 2021;31(8):2008123. doi:10.1002/ADFM.202008123
5. da Silva JB, Cook MT, Bruschi ML. Thermoresponsive systems composed of poloxamer 407 and HPMC or NaCMC: mechanical, rheological and sol-gel transition analysis. *Carbohydr Polym.* 2020;240:116268. doi:10.1016/J.CARBPOL.2020.116268
6. Espay AJ, Morgante F, Merola A, et al. Levodopa-induced dyskinesia in Parkinson disease: Current and evolving concepts. *Ann Neurol.* 2018;84(6):797-811. doi:10.1002/ANA.25364
7. Espay AJ, Stocchi F, Pahwa R, et al. Safety and efficacy of continuous subcutaneous levodopa-carbidopa infusion (ND0612) for Parkinson's disease with motor fluctuations (BouNDless): a phase 3, randomised, double-blind, double-dummy, multicentre trial. *Lancet Neurol.* 2024;23(5):465-476. doi:10.1016/S1474-4422(24)00052-8
8. Frampton JE. Rotigotine Transdermal Patch: A Review in Parkinson's Disease. *CNS Drugs.* 2019;33(7):707-718. doi:10.1007/S40263-019-00646-Y/METRICS
9. Gandhi KR, Saadabadi A. Levodopa (L-Dopa). PNDP: Psychologists' Neuropsychotropic Drug Reference. Published online April 17, 2023:185-189. doi:10.4324/9781315825748-35
10. García Esteban E, Cózar-Bernal MJ, Rabasco Álvarez AM, González-Rodríguez ML. A comparative study of stabilising effect and antioxidant activity of different antioxidants on levodopa-loaded liposomes. *J Microencapsul.* 2018;35(4):357-371. doi:10.1080/02652048.2018.1487473
11. Haddad F, Sawalha M, Khawaja Y, Najjar A, Karaman R. Dopamine and Levodopa Prodrugs for the Treatment of Parkinson's Disease. *Molecules* 2018, Vol 23, Page 40. 2017;23(1):40. doi:10.3390/MOLECULES23010040
12. Herkenne C, Naik A, Kalia YN, Hadgraft J, Guy RH. Ibuprofen Transport into and through Skin from Topical Formulations: In Vitro-In Vivo Comparison. *Journal of Investigative Dermatology.* 2007;127(1):135-142. doi:10.1038/SJ.JID.5700491
13. Hoon M, Petzer JP, Viljoen F, Petzer A. The Design and Evaluation of an L-Dopa-Lazabemide Prodrug for the Treatment of Parkinson's Disease. *Molecules* 2017, Vol 22, Page 2076. 2017;22(12):2076. doi:10.3390/MOLECULES22122076
14. Kamatou GPP, Viljoen AM. A Review of the Application and Pharmacological Properties of α -Bisabolol and α -Bisabolol-Rich Oils. *J Am Oil Chem Soc.* 2010;87(1):1-7. doi:10.1007/S11746-009-1483-3
15. Khan S, Gajbhiye C, Singhavi DJ, Yeole P. In situ Gel of Metoprolol Tartrate: Physicochemical Characterization, In vitro Diffusion and Histological Studies. *Indian J Pharm Sci.* 2012;74(6):564. doi:10.4103/0250-474X.110608
16. Lee KE, Choi YJ, Oh BR, Chun IK, Gwak HS. Formulation and in vitro/in vivo evaluation of levodopa transdermal delivery systems. *Int J Pharm.* 2013;456(2):432-436. doi:10.1016/J.IJP.2013.08.044
17. Lewitt PA. Levodopa therapy for Parkinson's disease: Pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Mov Disord.* 2015;30(1):64-72. doi:10.1002/MDS.26082
18. Perkušić M, Nižić Nodilo L, Ugrina I, et al. Chitosan-Based Thermogelling System for Nose-to-Brain Donepezil Delivery: Optimising Formulation Properties and Nasal Deposition Profile. *Pharmaceutics.* 2023;15(6). doi:10.3390/PHARMACEUTICS15061660
19. Ramazani E, Akaberi M, Emami SA, Tayarani-Najaran Z. Pharmacological and biological effects of alpha-bisabolol: An updated review of the molecular mechanisms. *Life Sci.* 2022;304. doi:10.1016/J.LFS.2022.120728
20. Raja K, Ramrakhia S, Dev K, et al. The Risk Factors for the Wearing-Off Phenomenon in Parkinson's Disease. *Cureus.* 2020;12(9). doi:10.7759/CUREUS.10729
21. Russo E, Villa C. Poloxamer Hydrogels for Biomedical Applications. *Pharmaceutics.* 2019;11(12). doi:10.3390/PHARMACEUTICS11120671
22. Saha P, Kathuria H, Pandey MM. Intranasal nanotherapeutics for brain targeting and clinical studies in Parkinson's disease. *Journal of Controlled Release.* 2023;358:293-318. doi:10.1016/J.JCONREL.2023.04.021
23. Sharma S, Lohan S, Murthy RSR. Formulation and characterization of intranasal mucoadhesive nanoparticulates and thermo-reversible gel of levodopa for brain delivery. *Drug Dev Ind Pharm.* 2014;40(7):869-878. doi:10.3109/03639045.2013.789051
24. Singh K, HariKumar SL. Injectable In-Situ Gelling Controlled Release Drug Delivery System. *International Journal of Drug Development and Research.* 4(2):0-0. Accessed August 28, 2024. <https://www.itmedicalteam.pl/articles/injectable-insitu-gelling-controlled-release-drug-delivery-system-100760.html>
25. Sosnik A, Seremeta KP. Polymeric Hydrogels as Technology Platform for Drug Delivery Applications. *Gels* 2017, Vol 3, Page 25. 2017;3(3):25. doi:10.3390/GELS3030025
26. Vigani B, Rossi S, Sandri G, Bonferoni MC, Caramella CM, Ferrari F. Recent Advances in the Development of In Situ Gelling Drug Delivery Systems for Non-Parenteral Administration

Routes. *Pharmaceutics*. 2020;12(9):1-29.
doi:10.3390/PHARMACEUTICS12090859

27. Vogelzang MJ, Luinstra M, Rutgers AWF. Effect of Rectal Levodopa Administration: A Case Report. *Case Rep Neurol*. 2015;7(3):209-212.
doi:10.1159/000441489
28. Wadell C, Björk E, Camber O. Nasal drug delivery – evaluation of an in vitro model using porcine nasal mucosa. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1999; (3):197-206.
doi:10.1016/S0928-0987(98)00023-2

Мария Дангова
Медицински колеж
бул. „Цар Освободител“ 84
Варна, 9000
e-mail: Mariya.Dangova@mu-varna.bg