



ЕВРОПЕЙСКИ СЪЮЗ
ЕВРОПЕЙСКИ СТРУКТУРНИ И
ИНВЕСТИЦИОННИ ФОНДОВЕ

"Тенденции на научното развитие във ФХФ"



ОПЕРАТИВНА ПРОГРАМА
НАУКА И ОБРАЗОВАНИЕ ЗА
ИНТЕЛИГЕНТЕН РАСТЕЖ

Поведение на наноразмерни структури с фармакологично приложение, нанесени върху моделни повърхности

Цветанка Иванова, Иван Панайотов

Факултет по химия и фармация

----- www.eufunds.bg -----

Проект BG05M2OP001-2.009-0028 "Постигане на оптимална среда за обучение, научни изследвания, иновации и устойчиво развитие на човешкия капитал в сферата на химическите науки: Адаптиране на образованието днес за утрешния ден", финансиран от Оперативна програма „Наука и образование за интелигентен растеж“, съфинансирана от Европейския съюз чрез Европейските структурни и инвестиционни фондове.



ЕВРОПЕЙСКИ СЪЮЗ
ЕВРОПЕЙСКИ СТРУКТУРНИ И
ИНВЕСТИЦИОННИ ФОНДОВЕ

"Тенденции на научното развитие във ФХФ"



ОПЕРАТИВНА ПРОГРАМА
НАУКА И ОБРАЗОВАНИЕ ЗА
ИНТЕЛИГЕНТЕН РАСТЕЖ

През последните десетилетия традиционните форми на внасяне в организма на лекарствените вещества се заменят постоянно от различни наноструктурирани биосъвместими и биоразграждащи се системи, позволяващи целево и контролирано доставяне на лекарственото вещество. Интересни идеи относно дизайна и поведението им, както и разбирането на механизмите на стабилизация, дестабилизация и разграждане на моделни гранични повърхности и мембрани дават и намират все по-голямо място в модерната наногалениката.

----- www.eufunds.bg -----



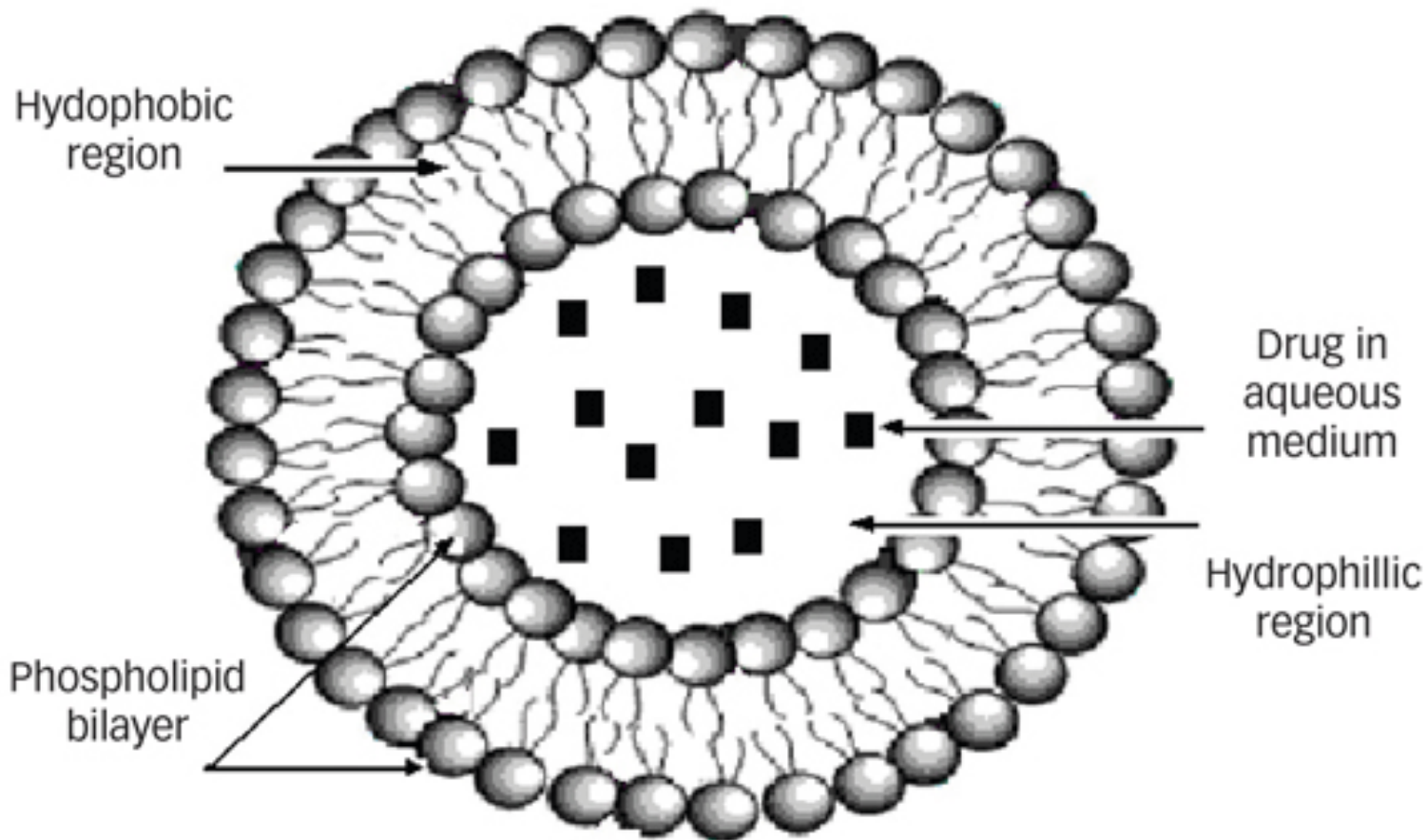
ЕВРОПЕЙСКИ СЪЮЗ
ЕВРОПЕЙСКИ СТРУКТУРНИ И
ИНВЕСТИЦИОННИ ФОНДОВЕ

"Тенденции на научното развитие във ФХФ"



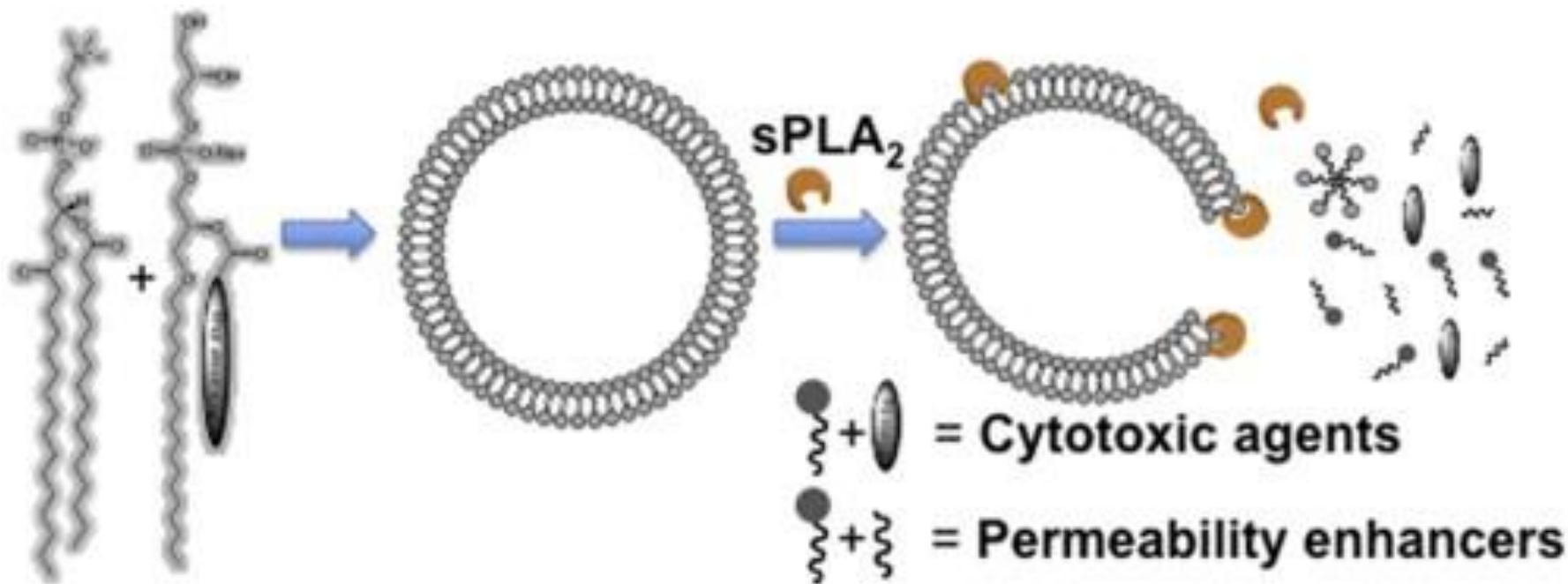
ОПЕРАТИВНА ПРОГРАМА
НАУКА И ОБРАЗОВАНИЕ ЗА
ИНТЕЛИГЕНТЕН РАСТЕЖ

Липозомна структура



www.eufunds.bg

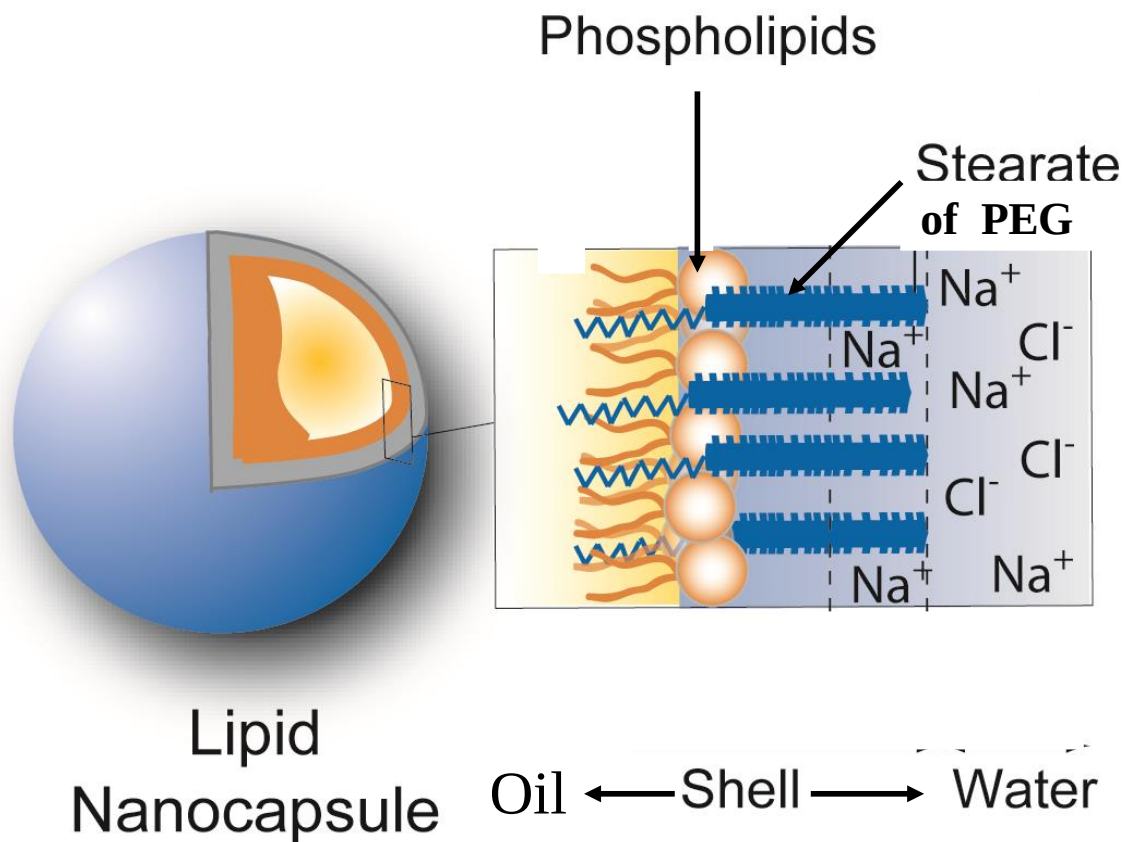
Проект BG05M2OP001-2.009-0028 "Постигане на оптимална среда за обучение, научни изследвания, иновации и устойчиво развитие на човешкия капитал в сферата на химическите науки: Адаптиране на образованието днес за утрешния ден", финансиран от Оперативна програма „Наука и образование за интелигентен растеж“, съфинансирана от Европейския съюз чрез Европейските структурни и инвестиционни фондове.



A.Arouri and O.G.Mouritsen – *Eur. J. Pharm. Sci.*, 45 (2012) 408



Структура на липидни нанокапсули



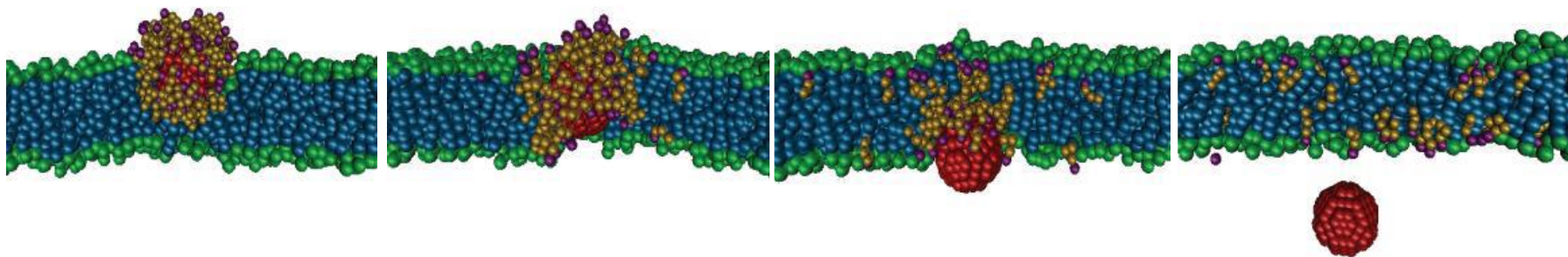


ЕВРОПЕЙСКИ СЪЮЗ
ЕВРОПЕЙСКИ СТРУКТУРНИ И
ИНВЕСТИЦИОННИ ФОНДОВЕ

"Тенденции на научното развитие във ФХФ"



ОПЕРАТИВНА ПРОГРАМА
НАУКА И ОБРАЗОВАНИЕ ЗА
ИНТЕЛИГЕНТЕН РАСТЕЖ



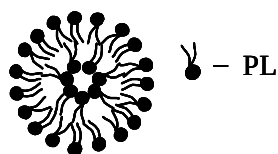
Преминаване на наночастица с диаметър 3 nm обвита от лиганди с
повърхностна плътност 3 nm^{-2} през липиден бислой.

H. Ding, W. Tian, Y. Ma, ACS Nano, 6 (2010) 1230.

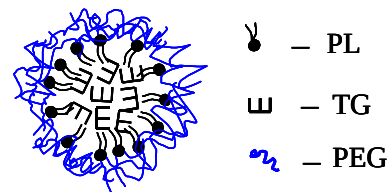
----- www.eufunds.bg -----



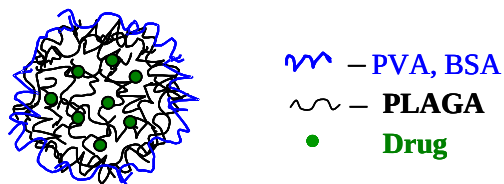
Схематично представяне на различни наноразмерни системи



SUV



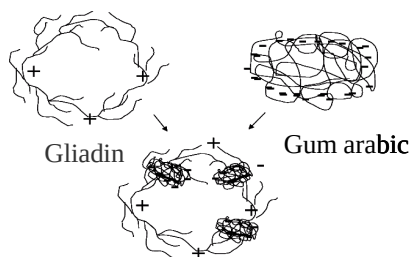
LNC



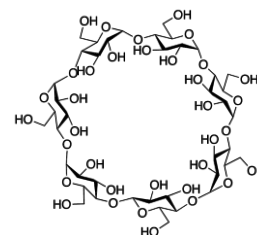
Polymer matrix



LS



Coacervates



β -cyclodextrin



ЕВРОПЕЙСКИ СЪЮЗ
ЕВРОПЕЙСКИ СТРУКТУРНИ И
ИНВЕСТИЦИОННИ ФОНДОВЕ

"Тенденции на научното развитие във ФХФ"



ОПЕРАТИВНА ПРОГРАМА
НАУКА И ОБРАЗОВАНИЕ ЗА
ИНТЕЛИГЕНТЕН РАСТЕЖ

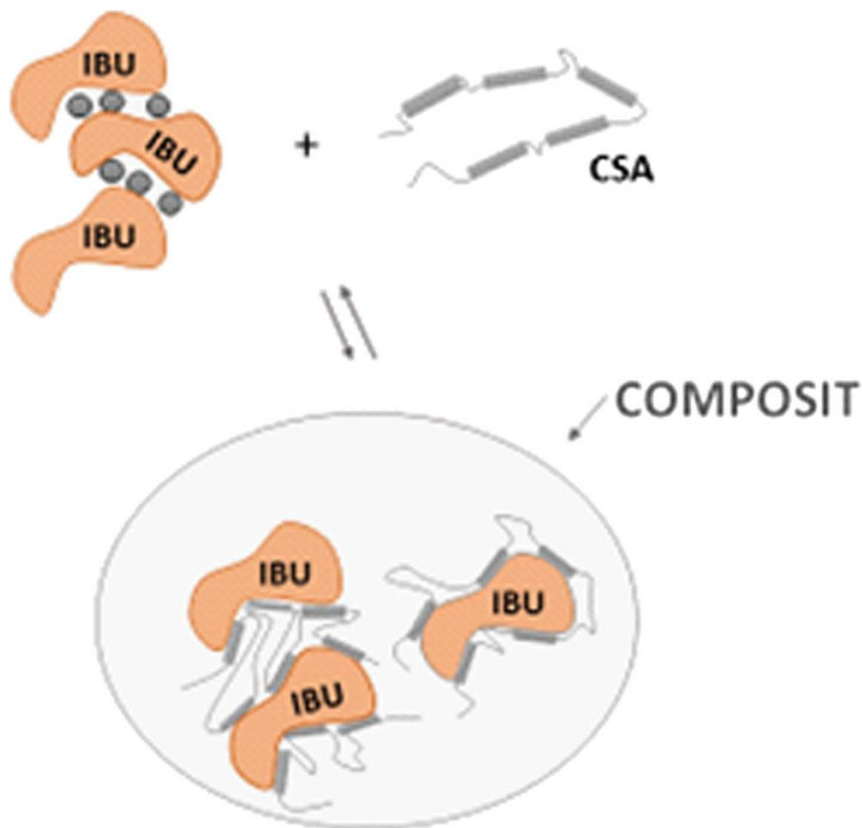


Схема на образуване на разтворима обвивка от амфифилен кополимер като солватиращ агент (CSA) сред Ibu молекули;

плътните линии - хидрофобни фрагменти от CSA; кривите - хидрофилни части на CSA

B.Kostova et al – AAPS Pharm. Sci.Tech (2016)

www.eufunds.bg



От физикохимична гледна точка едно по-добро разбиране на поведението *in vivo* на различни молекулни ансамбли е необходимо. Въпреки сложното устройство на живите системи, информация за взаимодействието им с мембранни повърхности може да бъде получена чрез подходящи моделни системи.

С помощта на най-простият монослоен модел са изучени механизмите на дестабилизация и реорганизация на различни класически или модифицирани наноразмерни ансамбли, нанесени или адсорбирани на чиста вода/въздух гранична повърхност или на предварително образувани моделни мембрани.

----- www.eufunds.bg -----



ЕВРОПЕЙСКИ СЪЮЗ
ЕВРОПЕЙСКИ СТРУКТУРНИ И
ИНВЕСТИЦИОННИ ФОНДОВЕ

"Тенденции на научното развитие във ФХФ"



ОПЕРАТИВНА ПРОГРАМА
НАУКА И ОБРАЗОВАНИЕ ЗА
ИНТЕЛИГЕНТЕН РАСТЕЖ

Изследванията са проведени в лабораторията по Биофизикохимия при Факултета по Химия и Фармация в сътрудничество с три френски лаборатории

Biophysical Chemistry Laboratory, Faculty of Chemistry and Pharmacy

Prof. I. Panaiotov, Prof. Tz. Ivanova, Prof. K. Balashev

Dr K. Mircheva, Dr N. Grozev, Dr I. Minkov, Dr V. Raneva

Physico-Chimie des Surfaces, Université Paris-Sud

Prof. F. Puisieux, Dr M.A. Launois-Surpas

Ingénierie de la Vectorisation Particulaires, Université d'Angers

Prof. J.E. Proust, Prof. F. Boury, Prof. P. Saulnier,

Dr A. Malzert, Dr A.C. Groo

Enzymologie Interfaciale et Physiologie de la Lipolyse - CNRS, Marseille

Prof. R. Verger

----- www.eufunds.bg -----

Проект BG05M2OP001-2.009-0028 "Постигане на оптимална среда за обучение, научни изследвания, иновации и устойчиво развитие на човешкия капитал в сферата на химическите науки: Адаптиране на образованието днес за утрешния ден", финансиран от Оперативна програма „Наука и образование за интелигентен растеж“, съфинансирана от Европейския съюз чрез Европейските структурни и инвестиционни фондове.



Използвани и развити методи за изследване на:

А) повърхностни свойства на молекулните ансамбли (МА)

- повърхностно напрежение (σ)
- повърхностно налягане (π)
- повърхностен потенциал (ΔV)
- кинетика на образуване на повърхностни слоеве
- реологични и дилатационни свойства (повърхностна еластичност E_d , характеристични времена на релаксация θ и τ)
- визуализация на морфологията им чрез атомно силова микроскопия (AFM)
- молекулни модели

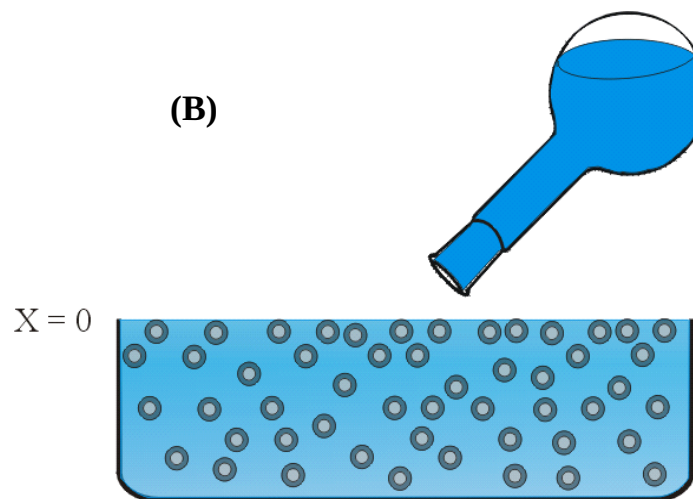
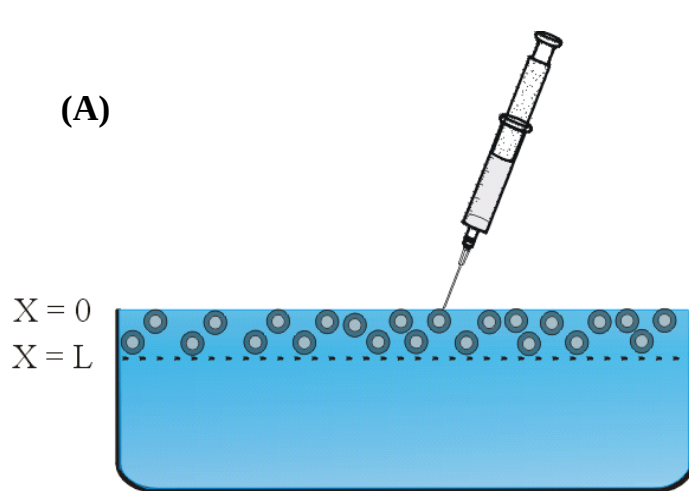
Б) Свойства на МА в обема на дисперсии

- размер на частиците и полидисперсен индекс
- електрокинетична подвижност и ζ - потенциал
- дозиране на лекарственото вещество в липидни нанокapsули LNC с HPLC
- трансфер на LNC, съдържащи лекарствено вещество през мукусна мембрана чрез Transwell система

----- www.eufunds.bg -----

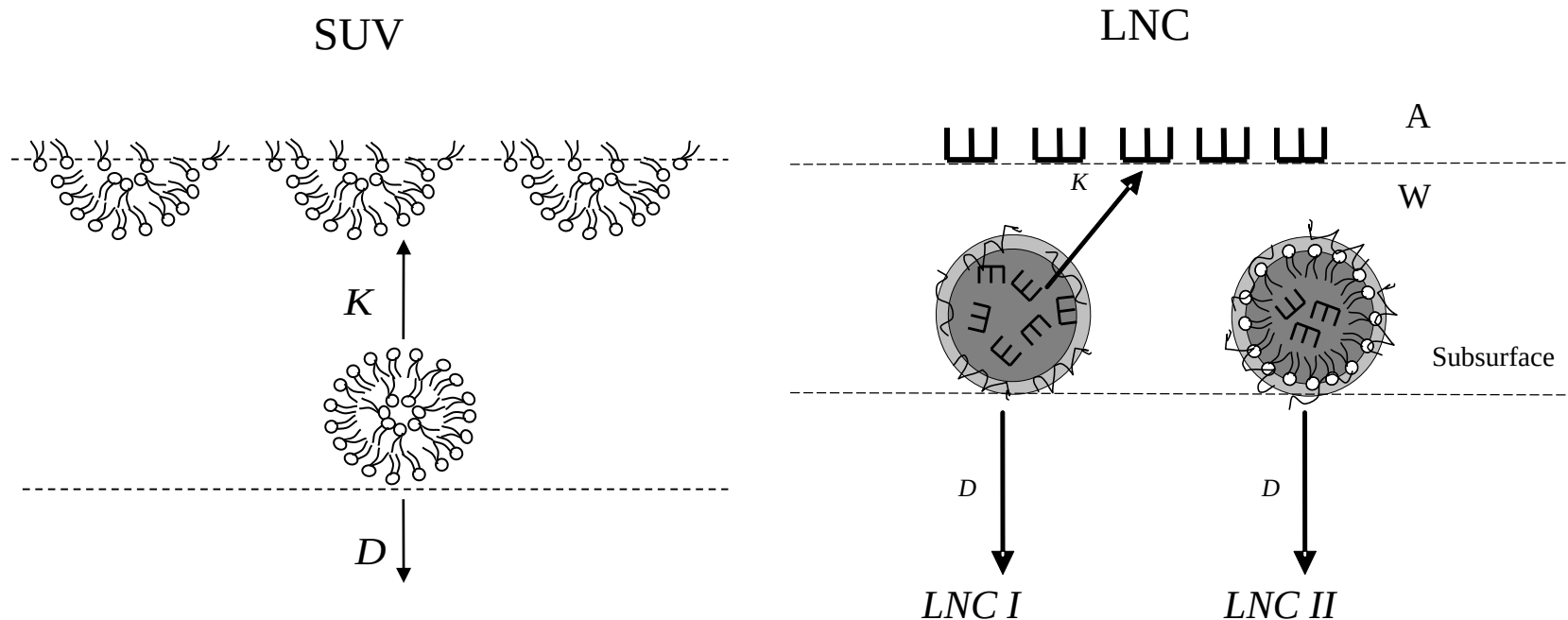


Две процедури на образуване на повърхностен филм от малки униламеларни липозоми SUV, липидни нанокapsули LNC и водни дисперсии от белодробен сърфактант LS. (A) - повърхностният слой е образуван от нанесен малък обем от дисперсията от наноразмерни структури на граничната повърхност вода/въздух (B) - повърхностният слой е образуван от обема на водна дисперсия на наноразмерните структури, налята в тефлонова вана.



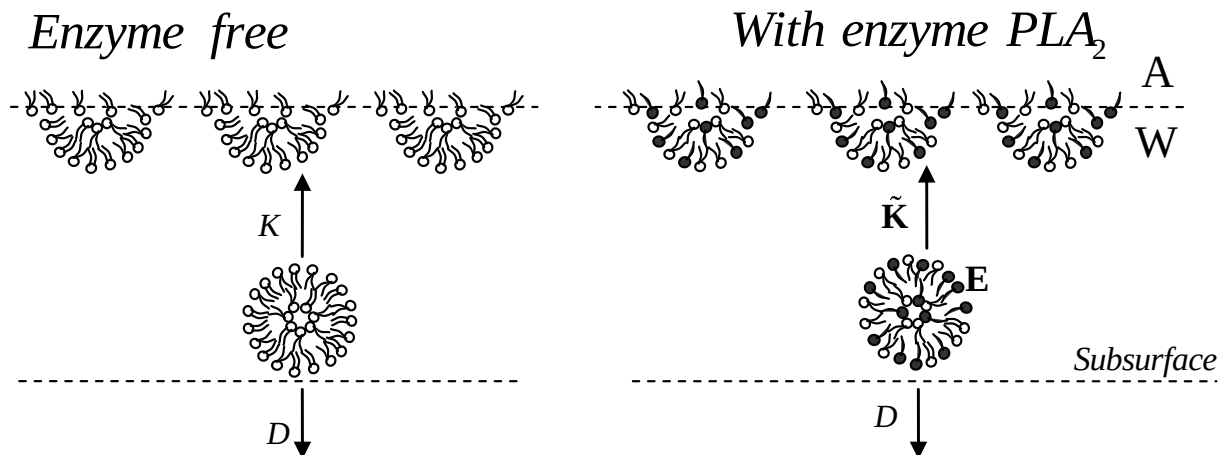


Дестабилизация на малки униламеларни липозоми (SUV) и липидни нанокapsули (LNC) на граничната повърхност вода/въздух





Схематично представяне на дифузия и повърхностна дестабилизация на SUV без ензим и SUV инкубирани с ензим след нанасянето им на граничната повърхност въздух/вода;
 $\text{---}\text{---}\text{---}$ - липидна молекула, $\bullet$ - хидролизен продукт, E - ензим

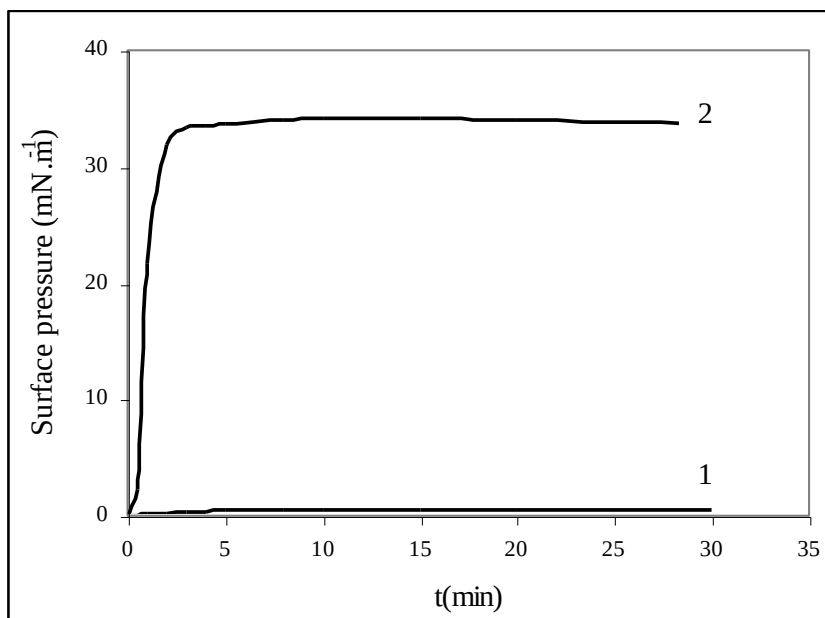


$$\frac{dn^*}{dt} = KC(0,t)\delta \operatorname{erf} \frac{L}{2\sqrt{D\pi}} \left(1 - \frac{n^*}{n_\infty^*} \right)$$

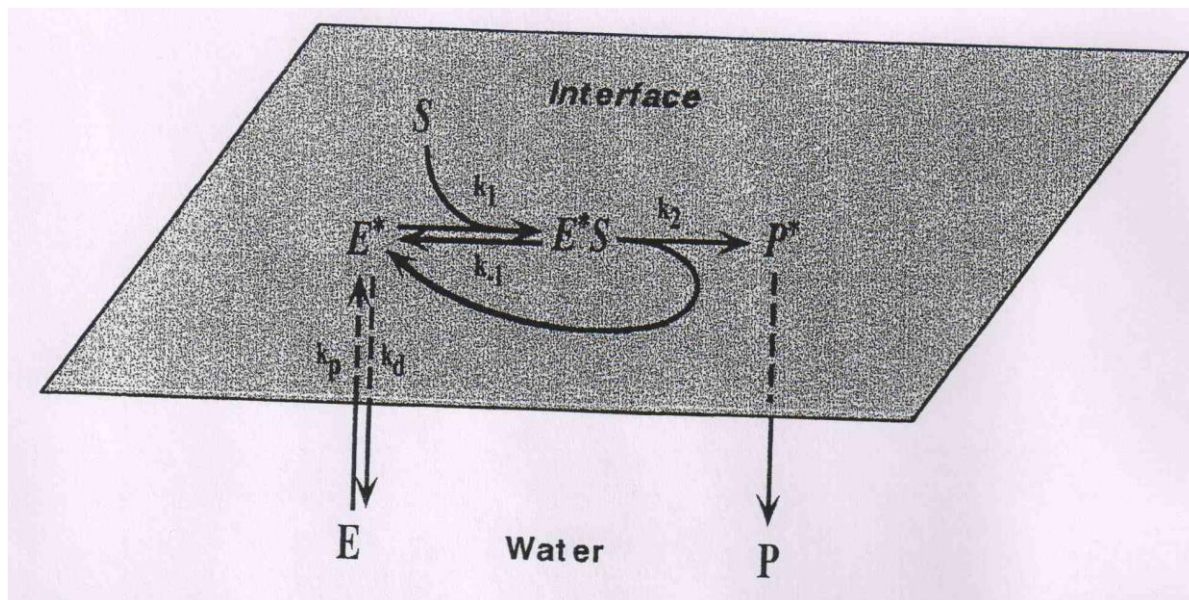
където n^* е броят на разрушените везикули, адсорбирани на 1cm^2 площ при време t ; n_∞^* е максималния брой от тези структури на 1cm^2 площ при плътна опаковка на слоя; $1 - (n^*/n_\infty^*)$ е наличната повърхностна площ при време t ; δ – диаметър на везикула; $C(0,t)$ – концентрация на интактни везикули в първия подповърхностен слой, които могат да бъдат разрушени; $C(0,t)\delta$ – концентрацията отнесена за 1cm^2 ; K е скоростната константа на повърхностна реорганизация на везикулите; L е дебелината на слоя, формиран след нанасяне на дисперсията с концентрация C_0 [SUV/cm^3]; D е дифузионния коефициент.



Зависимост на повърхностното налягане π от времето t след нанасяне на дисперсия от DOPC везикули: крива 1 – дисперсия от везикули без ензим; крива 2 - дисперсия от везикули, инкубирани за 1 min с ензим в съотношение $C_E/C_{SUV} = 20:1$.



$$\begin{array}{l} \pi(t) \longrightarrow K \\ \pi(t) \longrightarrow \tilde{K} \longrightarrow Q \end{array}$$



Адаптация на Михаелис-Ментеновия (М-М) кинетичен модел, описващ повърхностната хидролиза на късо- и средноверижни липиди, генериращи разтворими продукти; k_1 , k_{-1} , $k_2 \equiv k_{cat}$, k_p и k_d са съответните кинетични константи; Q - глобална кинетична константа

$$v \equiv \frac{d \Gamma_{P^*}}{dt} = \frac{k_2}{K_m^* \frac{k_d}{k_p} + (K_m^* + \Gamma_S) \frac{A}{V}} \Gamma_S C_{E_0} = Q \Gamma_S C_{E_0}$$

Γ_S , Γ_{P^*} - повърхностни концентрации на субстрата и съотв. на продукта; C_{E_0} - концентрация на ензима; K_m^* - константа на М-М; A/V – специфична повърхност;

----- www.eufunds.bg -----

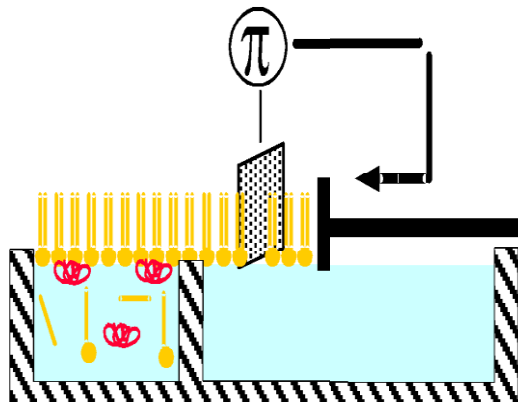


ЕВРОПЕЙСКИ СЪЮЗ
ЕВРОПЕЙСКИ СТРУКТУРНИ
ИНИ

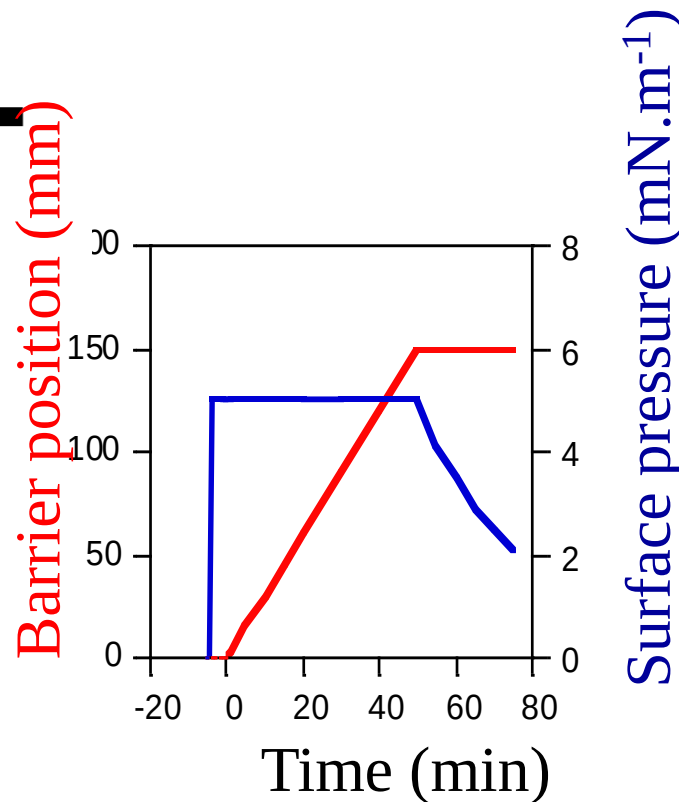
"Тенденции на научното развитие във ФХФ"



ОПЕРАТИВНА ПРОГРАМА
НАУКА И ОБРАЗОВАНИЕ ЗА
ИНТЕЛИГЕНТЕН РАСТЕЖ



**Monomolecular
film technique for
measuring lipase
activity at a
constant surface
pressure**



www.eufunds.bg



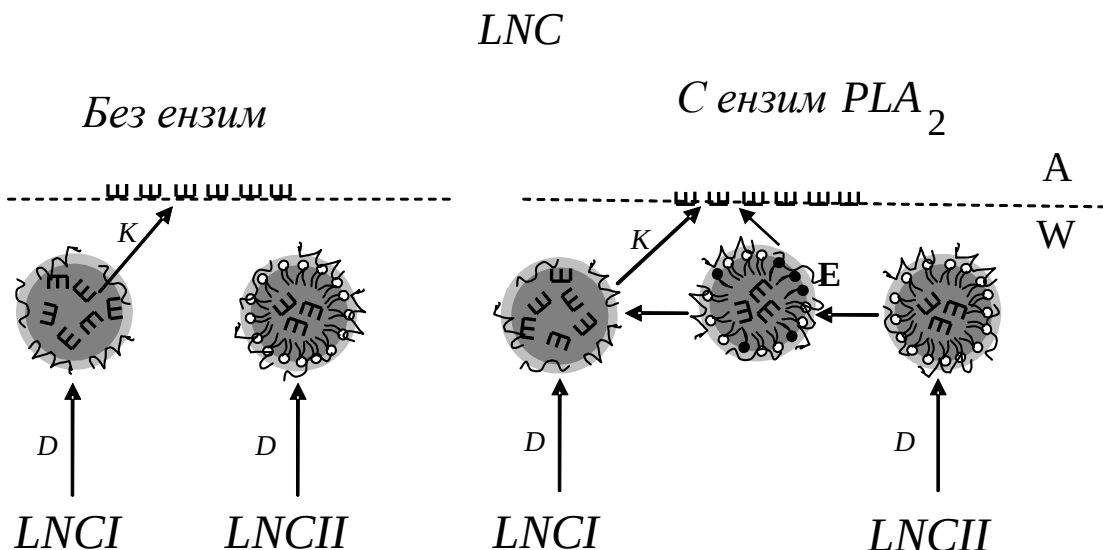
В общия случай двумерната Михаелис-Ментенова каталитична стъпка ($E^* + S \rightleftharpoons E^*S \rightarrow P^*$) е свързана с разпределение на ензима между обема и повърхността и може да протича спрегнато със следните процеси:

- компетитивно инхибиране на повърхностната ензимна реакция;
- генериране на продукти, разтварящи се с крайна скорост;
- натрупване и повърхностна реорганизация на неразтворими продукти;
- солубилизацията им в присъствие на акцептори;
- по-сложна каталитична реакция на липолиза с последователни стъпки на липолитични трансформации, генериращи различни разтворими и неразтворими продукти;
- съвместно действие на един или повече ензими върху сложни смеси от различно организирани субстрати;
- възможен обмен на молекули ензим, субстрат и продукти между диспергираните частици, водещи до дестабилизацията им в дисперсната система;

----- www.eufunds.bg -----



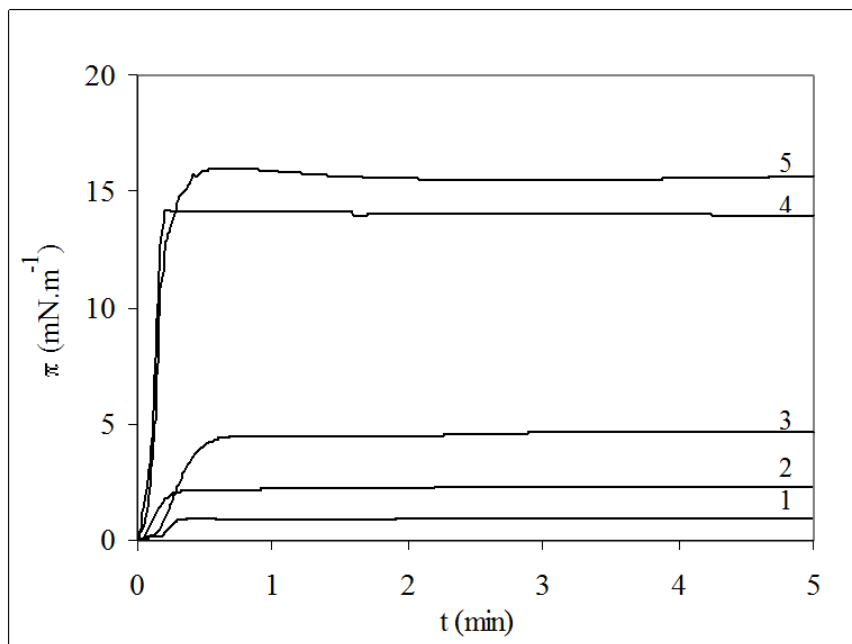
Схематично представяне на дифузията и повърхностната дестабилизация на дисперсия от LNC в отсъствие и в излишък на ензим на граничната повърхност вода (W)/въздух (A)



k_1 - скоростна константа на разрушаване; $\theta = \frac{\Gamma_{TG}(t)}{\Gamma_{TG}^0}$ - степен на запълване на повърхността по време на формиране на монослой; Γ_{TG}^0 - максимална концентрация на свободна повърхност; N_1 - брой на нестабилни LNC за единица площ; m_{TG}^0 - брой на молекулите, съдържащи се в една нестабилна LNC I; m_{TG} - брой на молекулите, съдържащи се във всички LNC нанесени на повърхността



Изменение на повърхностното налягане (π) с времето (t) при постоянна площ (A) след нанасяне на различни количества LNCs N_I ($\text{LNC} \cdot \text{cm}^{-2}$) върху чиста A/W повърхност: крива 1 - $N_I = 0.3 \times 10^{10}$; крива 2 - $N_I = 0.5 \times 10^{10}$; крива 3 - $N_I = 0.8 \times 10^{10}$; крива 4 - $N_I = 1.6 \times 10^{10}$; крива 5 - $N_I = 3.2 \times 10^{10}$.



$$\pi(t) \longrightarrow \Gamma_{TG}(t) \begin{cases} K_I \\ \varepsilon_T \\ Q \end{cases}$$

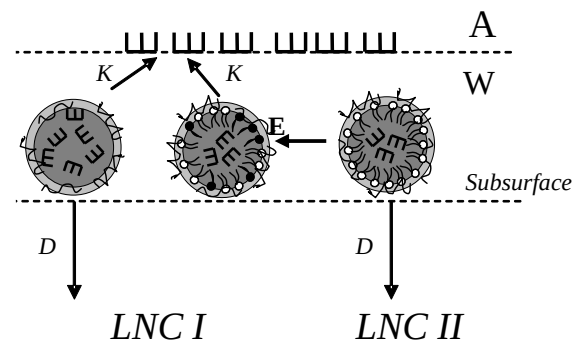
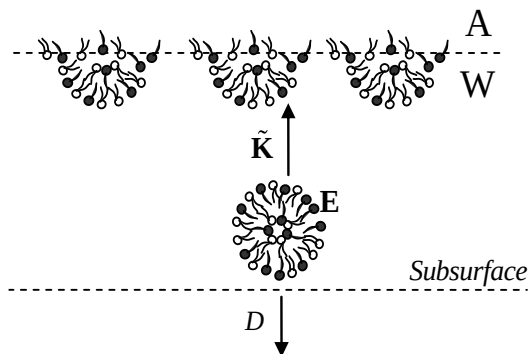
$$\varepsilon = \frac{\Gamma_{TG}^{sat}}{m_1^0 N_I}$$

Ефективността (ε) на разрушаване на LNCs I се дефинира като отношението между броя на нанесените TG молекули на A/W повърхност като резултат от LNC I дезинтеграцията и броя им, съдържащ се във всички нанесени LNC:

----- www.eufunds.bg -----



Сравнение на повърхностните свойства на SUV и LNC



Кинетични константи на дезинтеграция (K) и на фосфолипилиза (Q) за DOPC под действие на ензим PLA_2 .

Изследвани системи	K	Q
	[min ⁻¹]	[cm ³ .molec ⁻¹ .min ⁻¹]
SUV	10	$1.9 \cdot 10^{-17}$
LNC	200	$3.4 \cdot 10^{-18}$

Заклучение

- бавната повърхностна реорганизация на SUV води до формирането на повърхностен слой от частично разрушени везикули, докато липидните нанокapsули освобождават бързо TG молекули и те образуват истински монослой на повърхността.
- сравнението на стойностите за Q показва, че ензимният каталитичен акт при везикулите е по-ефикасен, отколкото при нанокapsулите.

www.eufunds.bg



ЕВРОПЕЙСКИ СЪЮЗ
ЕВРОПЕЙСКИ СТРУКТУРНИ И
ИНВЕСТИЦИОННИ ФОНДОВЕ

"Тенденции на научното развитие във ФХФ"



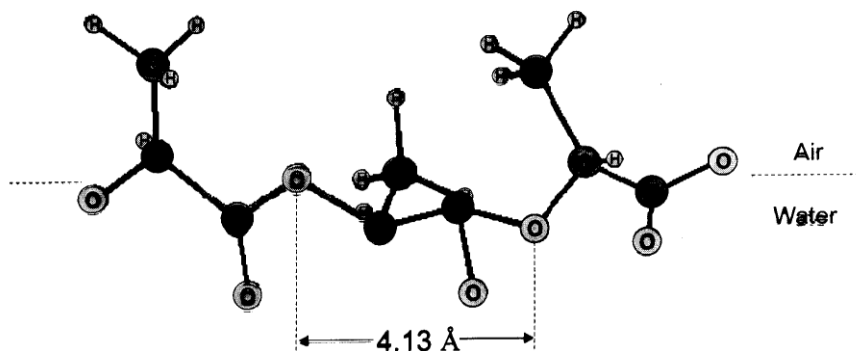
ОПЕРАТИВНА ПРОГРАМА
НАУКА И ОБРАЗОВАНИЕ ЗА
ИНТЕЛИГЕНТЕН РАСТЕЖ

PLA matrix



— PVA, BSA
— PLGA
• Drug

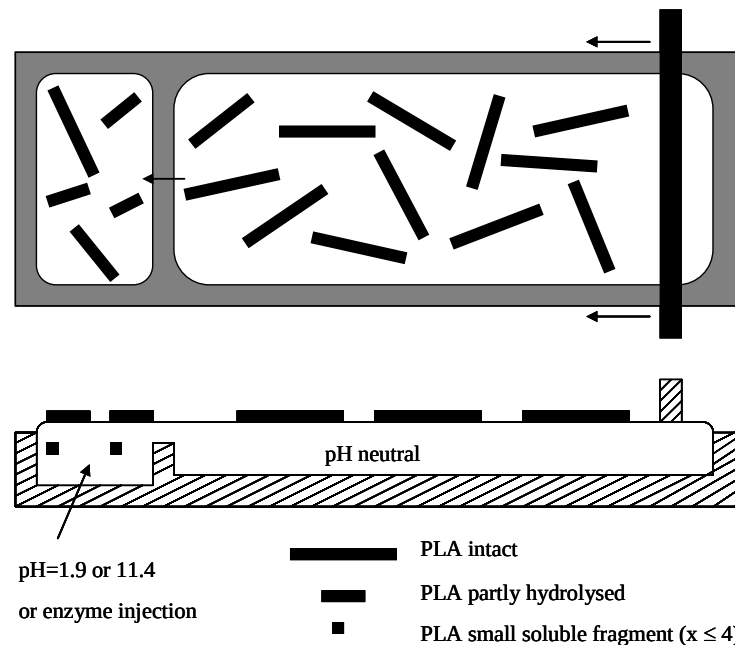
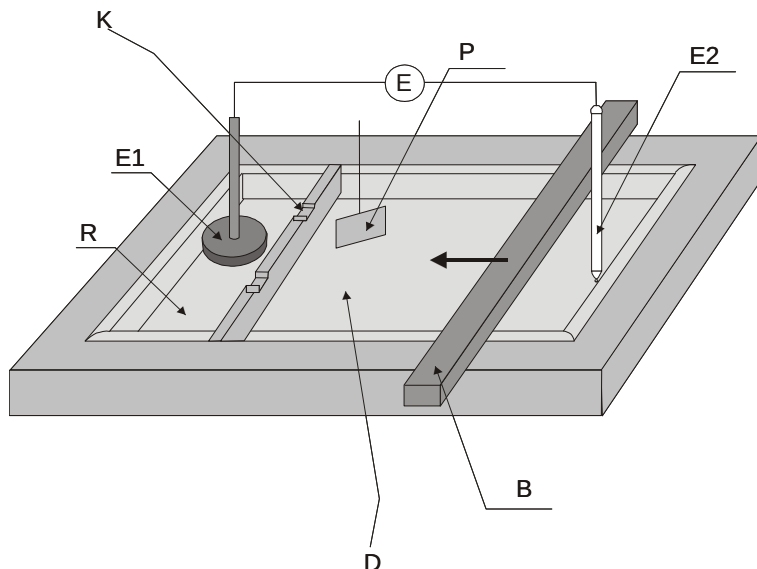
Молекулен модел на полилактат (PLA 50) на A/W повърхност



www.eufunds.bg



Схематично представяне на фрагментацията и разтварянето на малки фрагменти в реакционното отделение R, съдържащо алкален или кисел разтвор или ензим. Резервоарното отделение D е с неутрално рН. Двете отделения са свързани помежду си с тесни канали K; P - пластинка на Wilhelmy; B – тефлонов бариер; E1 and E2, радиоактивен и сравнителен електроди, свързани с електрометър.





Фрагментация по случаен механизъм

$$\omega_x(\alpha) = \alpha(1-\alpha)^{x-1} [2 + (S_0 - x)\alpha] \quad \alpha = 1 - \frac{S(t)}{S_0}$$

$\omega_x(\alpha)$ - броят на фрагментите съставени от x мономера, получени по случаен механизъм на фрагментация на една полимерна молекула по време на хидролизата със полимеризационен брой $S_0 + 1$

$\alpha(t)$ – степен на напредване на хидролизата

Разтваряне на малки фрагменти

$$\beta(t) = \frac{\sum_{x=1}^4 \omega_x(\alpha) x}{S_0 + 1}$$

$\beta(t)$ - частта от разтворени малки фрагменти, състоящи се от 4 или по-малко мономери

Уравнение за съхранение на веществото на повърхността

$$\Delta A(t) = A_r \beta(t) + \sum_{i=0}^i \Delta A(t_i) \beta(t - t_i)$$

----- www.eufunds.bg -----



Изменение на повърхностната площ (ΔA) с времето (t) при $\pi = 10 \text{ mN.m}^{-1}$

(•) експериментални данни; (-) теоретично предсказание

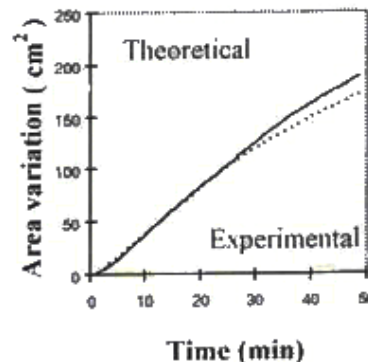
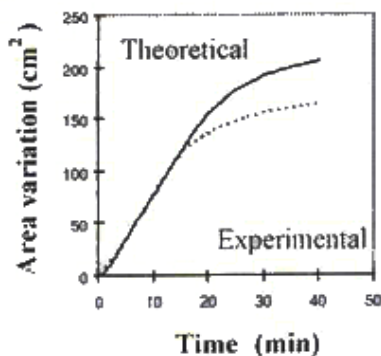
(a) по време на хидролиза при pH 1.9;

(b) по време на хидролиза при pH 11.4

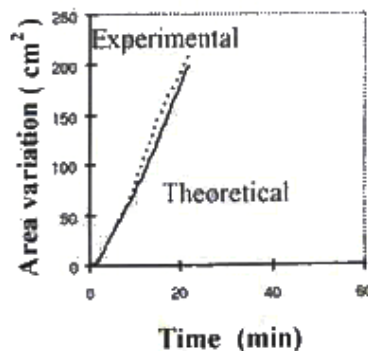
(c) по време на ензимна хидролиза

a

b



c





Скоростна константа на хидролиза (k) като функция на повърхностното налягане (π) за монослой от полилактат (PLA 50)

$\pi \text{ mN.m}^{-1}$	$k \text{ (min}^{-1}\text{)}$	
	pH 11.4	pH 1.9
2	0.024	0.009
3	0.020	0.020
5	0.037	0.057
10	0.045	0.085
12	0.030	0.085
14.5	0.034	0.078

----- www.eufunds.bg -----



ЕВРОПЕЙСКИ СЪЮЗ
ЕВРОПЕЙСКИ СТРУКТУРНИ И
ИНВЕСТИЦИОННИ ФОНДОВЕ

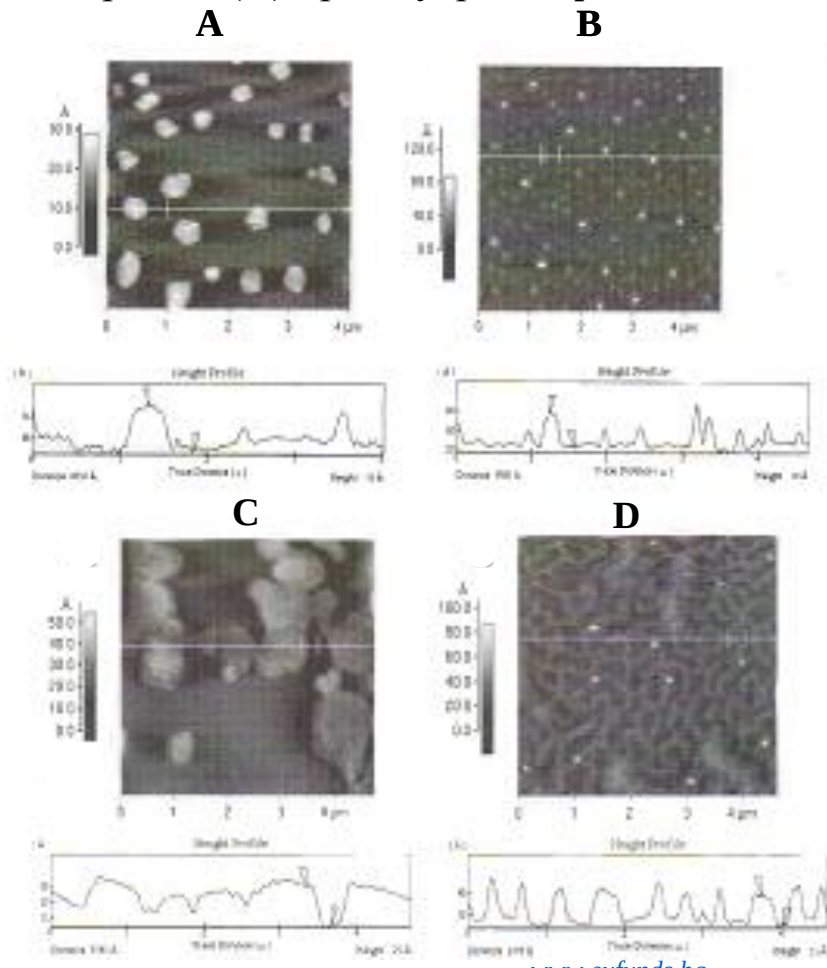
"Тенденции на научното развитие във ФХФ"



ОПЕРАТИВНА ПРОГРАМА
НАУКА И ОБРАЗОВАНИЕ ЗА
ИНТЕЛИГЕНТЕН РАСТЕЖ

PLA 50: Проба в началото на фазовия преход: (A) при неутрално pH и $\pi = 14.5 \text{ mN.m}^{-1}$; (B) след хидролизата при pH=11.9.

Проба в края на фазовия преход: (C) при неутрално pH и $\pi = 16 \text{ mN.m}^{-1}$; (D) след хидролизата при pH=11.9.



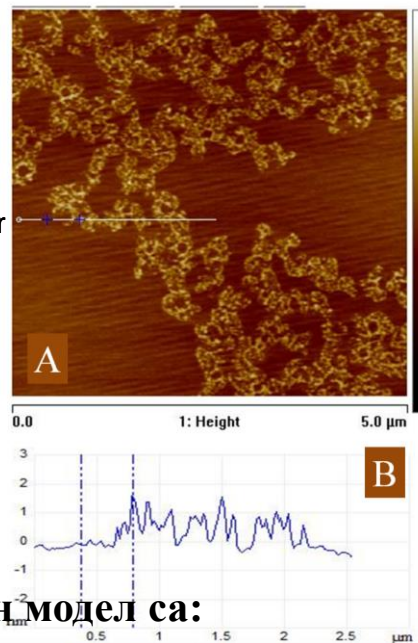
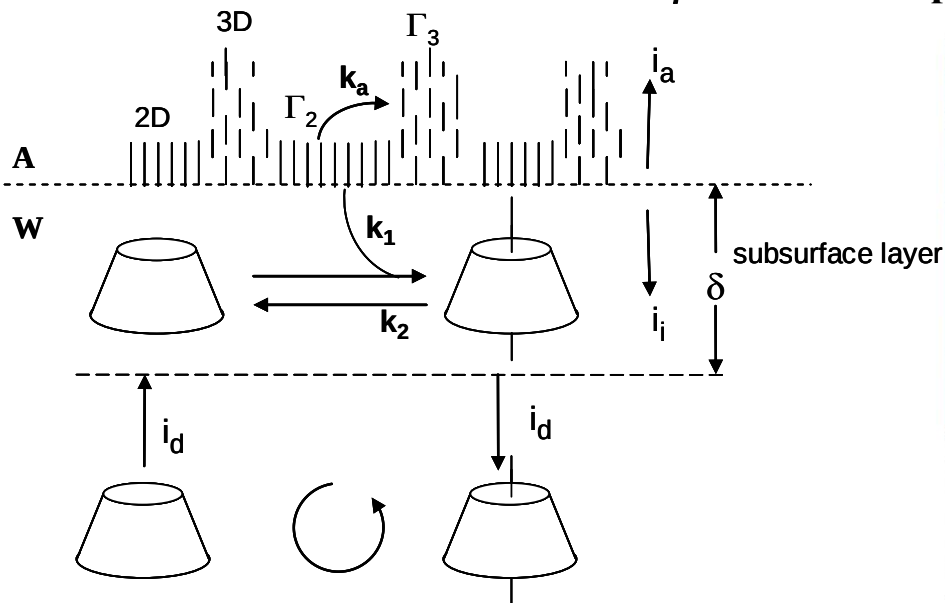
www.eufunds.bg



В заключение, прогресивната деградация *in vivo* на микрочастиците формирани от PLA50 се дължи на хидролизата и разкъсването на естерните връзки на полиестерните молекули и появата на водоразтворими олигомери. Изследванията на алкалната и кисела хидролиза и на хидролизата под действие на ензим върху моделната система монослой от PLA50 демонстрира ролята на различни съвместно протичащи физикохимични процеси, като повърхностна организация на участващите компоненти, електрични взаимодействия между тях, разтваряне на продуктите и т.н., върху скоростта и механизмите на реакцията. Развитието на подобни прости модели е важна стъпка към по-добро разбиране на механизмите на прогресивното разграждане на полимерни матрици и освобождаването на лекарствени вещества *in vivo*.



Монослоен модел на повърхностни взаимодействия между β -каротин (β C) и β -циклодекстрин (CD)



Основните елементи на предложения монослоен модел са:

- взаимодействието между β C и CD се реализира в подповърхностния слой с дебелина (δ) определена от размерите на двата взаимодействащи си компонента;
- процесът на включване (потока i_i) е съпроводен с образуването на 3D агрегати (поток i_a) и дифузия от (към) обема и към (от) подповърхностния слой (поток i_d);
- предполага се, че способността за включване на β C молекули в 2D монослоя е по-голяма от тази на β C молекулите, намиращи се в 3D агрегати;
- дифузията във всеки един момент осигурява доставката на CD молекули от подповърхностния слой;

----- www.eufunds.bg -----



От кинетичния модел модел е получен теоретичен израз за потока $i(t)$ за двата процеса

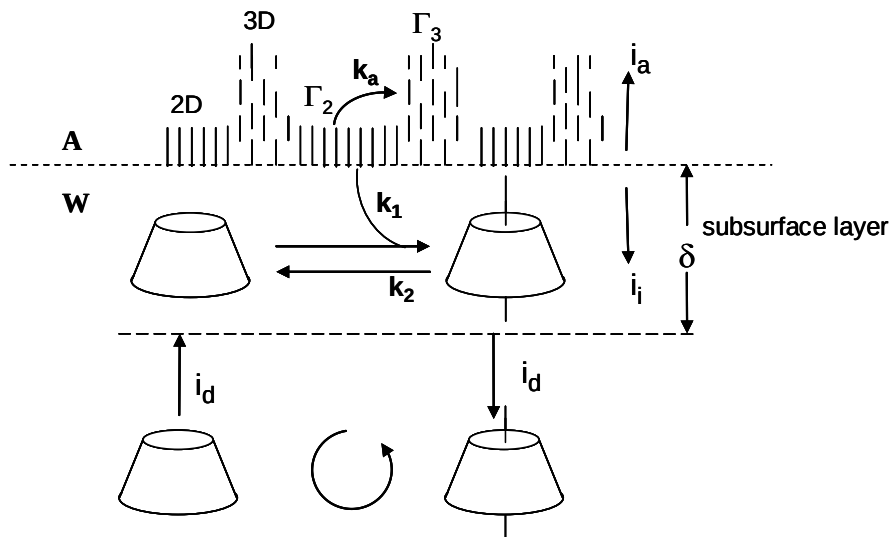
$$i(t) = i_a + i_i = \left(k_a + k_1 \delta C_{CD}^0 e^{-k_2 t} \right) \Gamma_2^0$$

Степен на
асоциация

$$d = \frac{\Gamma_{CD-C}(t)}{\Gamma_{CD}^0}$$

Константа на
асоциация

$$K_a^{mono} = \frac{C_{CD-C}}{\Gamma_{2CD}^0 C_{CD}^0} \left[m^2 \cdot mol^{-1} \right]$$

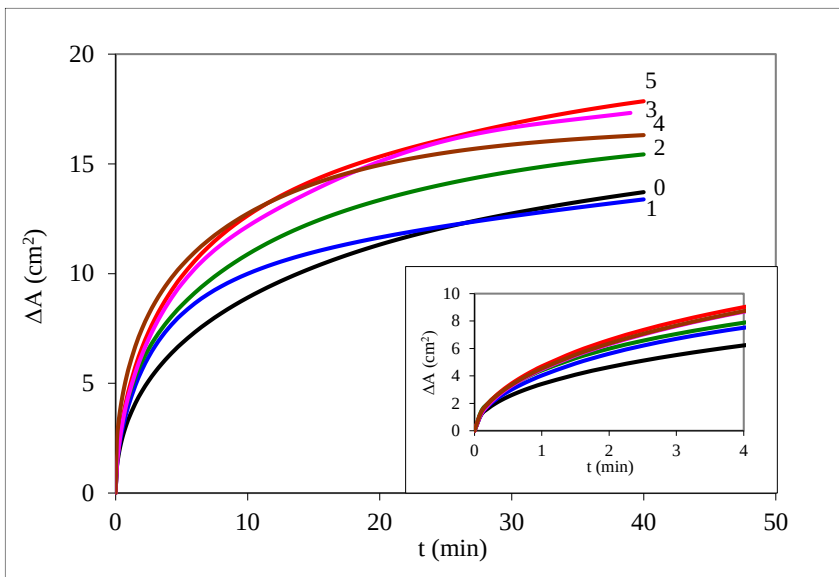


Потокът на двата процеса (i) и кинетичните константи k_1 , k_2 and k_a , d и K_a^{mono} могат да бъдат експериментално определени от данни $\Delta A(t)_\pi$ в отсъствие или в присъствие на CD.

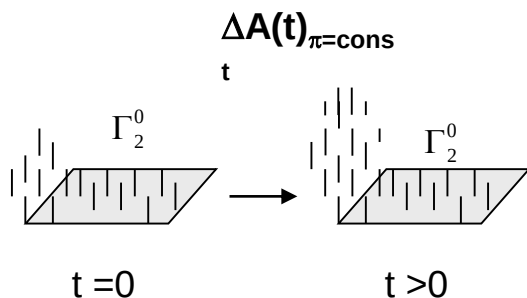


Интерпретация на експерименталните резултати

$$\Delta A(t)_{\pi}$$



Изменение на повърхностната площ ΔA с времето (t) при постоянно повърхностно налягане (π) по време на образуването на комплекса CD - βC и формиране на 3D агрегати в присъствието на CD (крива 0 - 0 mg.ml^{-1} , крива 1 - 1 mg.ml^{-1} , крива 2 - 2 mg.ml^{-1} , крива 3 - 3 mg.ml^{-1} , крива 4 - 4 mg.ml^{-1} и крива 5 - 5 mg.ml^{-1}). Постоянно повърхностно налягане - $\pi = 9 \text{ mN.m}^{-1}$. Вмъкнатата фигура: начало на кинетиката.



Като първа стъпка приемаме, че по време на експериментите $\Delta A(t)_{\pi}$ повърхностната концентрация Γ_2^0 на βC молекули, формиращи истински 2D монослой се поддържа постоянна. В такъв случай и двата процеса, образуването на CD- βC комплекса и образуването на 3D агрегатите, протичат независимо и могат да се разглеждат поотделно.

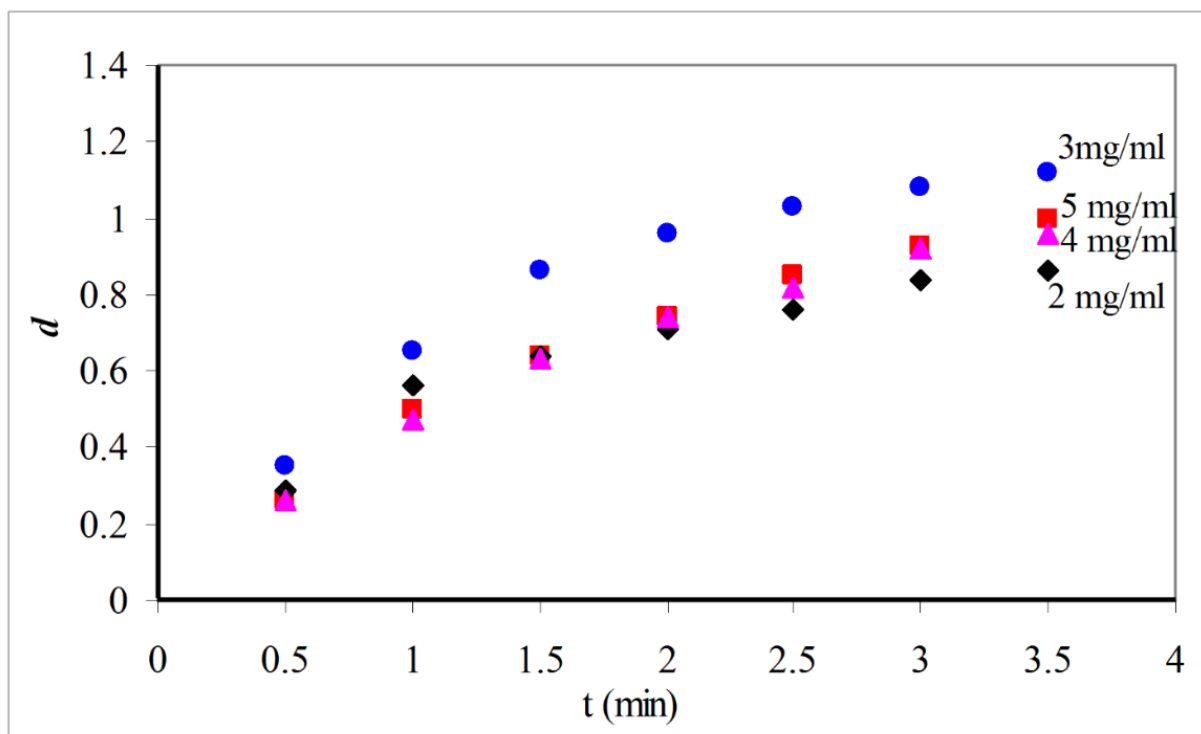


Кинетични константи при формирането на β C-CD комплекса

C_{CD}^0 (mg/ml)	k_a (min ⁻¹)	$k_1 \delta C_{CD}^0$ (min ⁻¹)	k_2 (min ⁻¹)	i_i (molec/cm ² .min)	i_a (molec/cm ² .min)	i_d (molec/cm ² .min)	K_a^{mono} (cm ² /mol)
5	0.013	0.019	0.52	$0.90 \cdot 10^{11}$	$3.8 \cdot 10^{11}$	$8.9 \cdot 10^{15}$	$0.52 \cdot 10^4$
4	0.013	0.016	0.45	$0.96 \cdot 10^{11}$	$3.8 \cdot 10^{11}$	$7.1 \cdot 10^{15}$	$0.55 \cdot 10^4$
3	0.013	0.016	0.54	$0.70 \cdot 10^{11}$	$3.8 \cdot 10^{11}$	$5.3 \cdot 10^{15}$	$0.60 \cdot 10^4$
2	0.013	0.010	0.55	$0.42 \cdot 10^{11}$	$3.8 \cdot 10^{11}$	$3.6 \cdot 10^{15}$	$0.48 \cdot 10^4$
1	0.013	0.009	0.45	$0.41 \cdot 10^{11}$	$3.8 \cdot 10^{11}$	$1.8 \cdot 10^{15}$	$1.18 \cdot 10^4$
0	0.013	-	-	-	-	-	-



Степен на асоциация (d) като функция от времето (t) за различни концентрации на CD





ЕВРОПЕЙСКИ СЪЮЗ
ЕВРОПЕЙСКИ СТРУКТУРНИ И
ИНВЕСТИЦИОННИ ФОНДОВЕ

"Тенденции на научното развитие във ФХФ"



ОПЕРАТИВНА ПРОГРАМА
НАУКА И ОБРАЗОВАНИЕ ЗА
ИНТЕЛИГЕНТЕН РАСТЕЖ

В заключение, монослойното изследване на кинетиката на образуване на включен комплекс между βC и CD потвърждава ролята на повърхността при взаимодействието им. Развият кинетичен модел анализира някои особености, често подценявани в предишни изследвания в дисперсни системи, като влиянието на процеси протичащи съвместно с процеса на включване, важността на молекулната структура и организация на взаимодействащите си вещества на повърхността, както и ролята на специфичните площи.

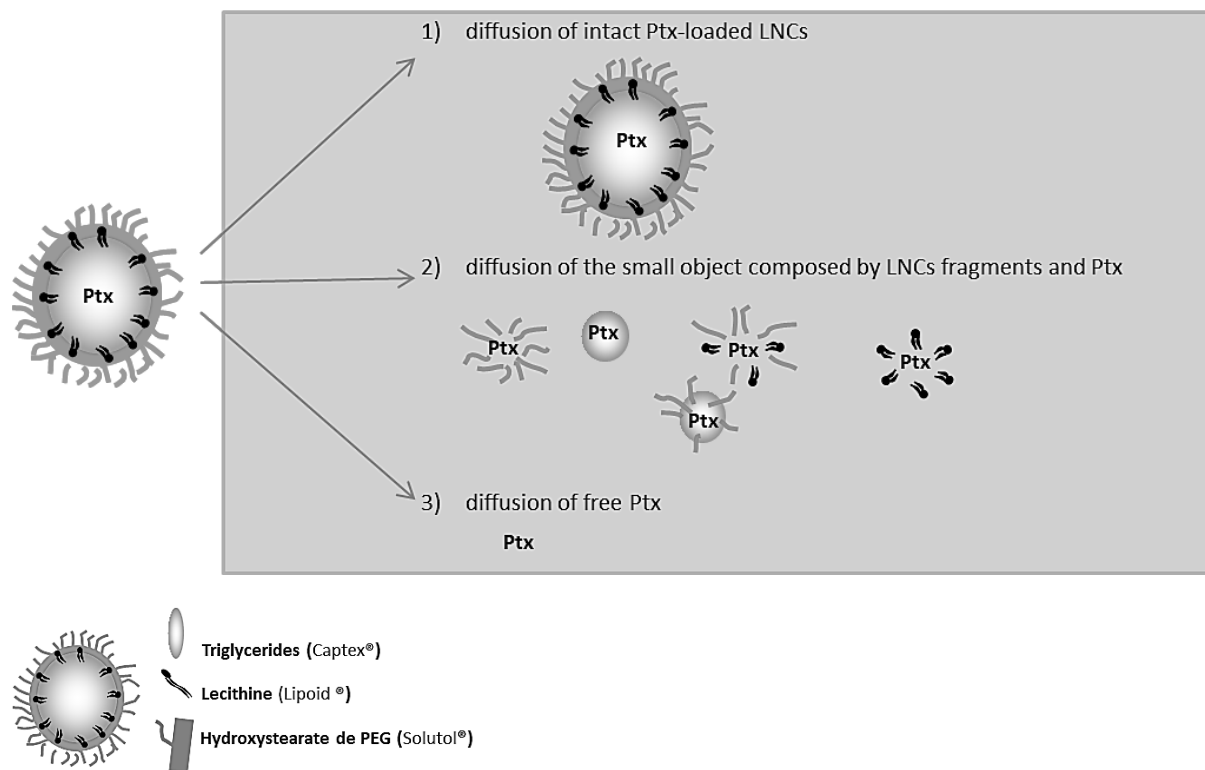
----- www.eufunds.bg -----



Проникване на Paclitaxel през мукуса на храносмилателния тракт

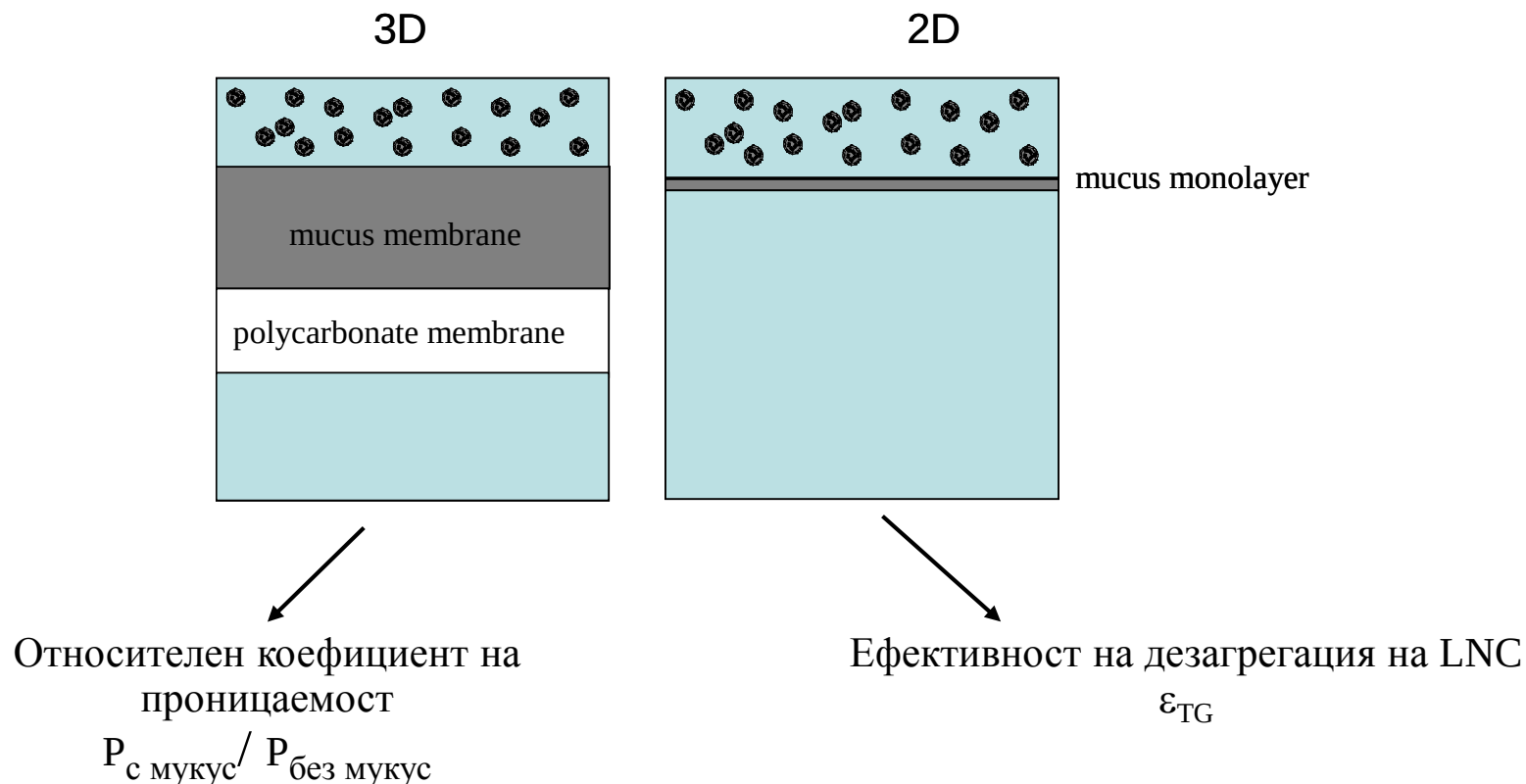
Антитуморният агент Paclitaxel (Ptx) е капсулиран в липидни нанокapsули LNC с различни модифицирани повърхности с цел подобряване на проникването му през мукусната мембрана.

Възможни механизми на преминаване на Ptx през мукусната мембрана





Взаимодействие на LNC, съдържащи Paclitaxel с 3D and 2D моделни мукусни мембрани





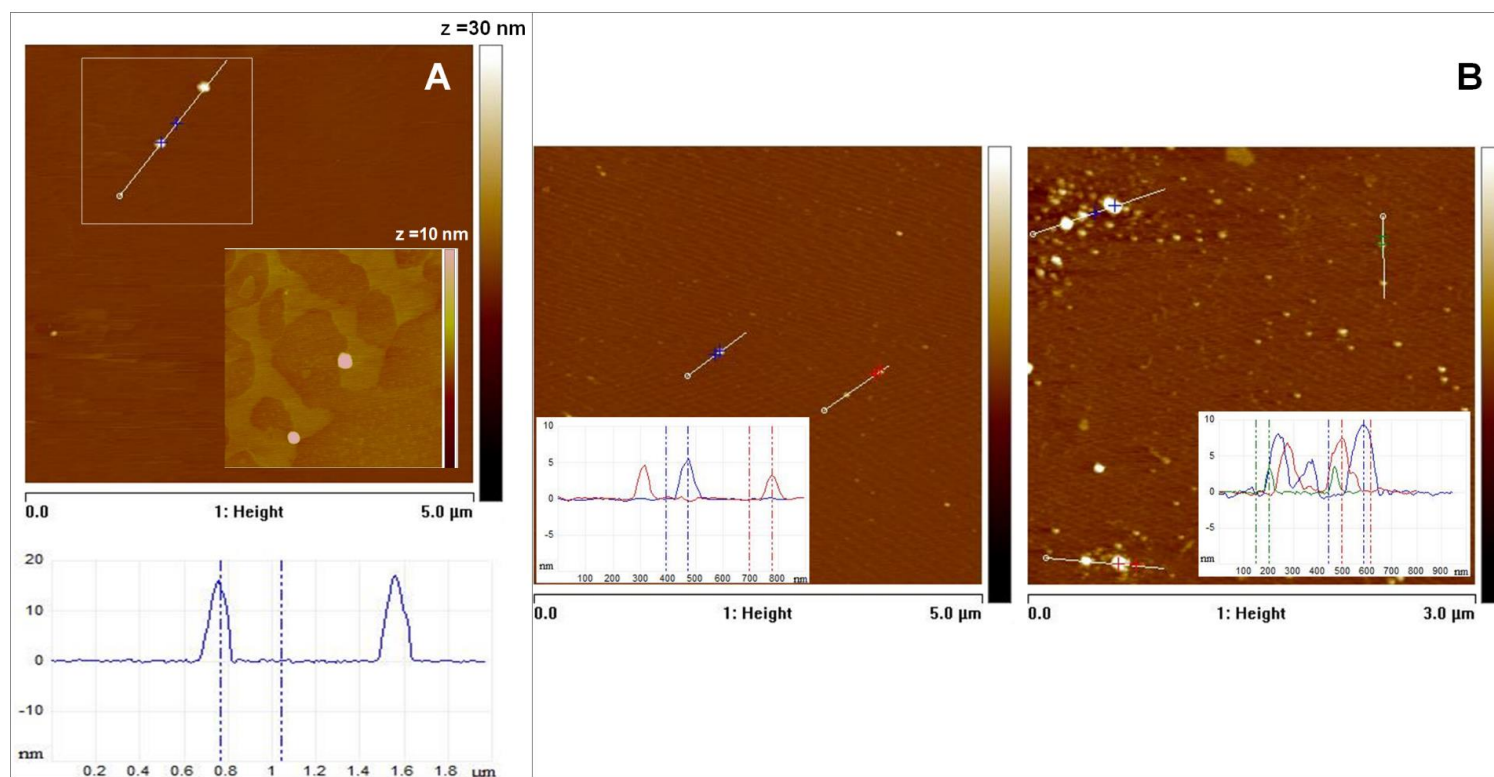
Ефективност на дезагрегация на LNC (ε) при взаимодействие с моделни
монослойни мембрани от мукус, DPPC или Curosurf

π (mN.m ⁻¹)	$\varepsilon = \frac{\Gamma_{TG}^{sat}}{m_1^0 N_I}$		
	Mucus	DPPC	Curosurf
5	0.19	0.40	0.49
10	0.14	0.26	0.33
15	0.07	0.18	0.21
20	0.04	0.11	0.15
25	0.01	0.05	0.07

----- www.eufunds.bg -----



AFM топографски образи, получени чрез LB трансфер на монослой при $\pi = 5 \text{ mN.m}^{-1}$ от: (A) DPPC с последващо нанесена дисперсия от LNC. (B) от мукус (в ляво) и на дисперсия от LNC нанесена върху предварително формирания мукусен монослой (в дясно).





Характеристики на различни LNC с капсулиран в тях Ptx - зета потенциал (ζ), размер (δ), полидисперсен индекс (PI), относителен коефициент на проницаемост $P_{с\text{ мукус}}/P_{\text{без мукус}}$, повърхностно налягане (π) и ефективност на разрушаване на LNC I (ϵ_{TG})

Type LNC	Characterization LNC				3D-model	2D-model	
	ζ - potential (mV)	δ (nm)	PI	Concentration Ptx (mg.g ⁻¹)		π (mN.m ⁻¹)	ϵ_{TG}
LNC-chitosan	25.3	67.1	0.182	1.90	0.53	5 10 15	
LNC-DSPE-PEG2000-amino	4.3	67.1	0.064	1.89	0.45	5 10 15	0.92 0.86 0.90
LNC	-7.6	56.2	0.038	1.98	0.45	5 10 15	0.49 0.29 0.14
LNC-DSPE-PEG5000-amino	-16.5	75.1	0.102	1.83	0.29	5 10 15	0.07 0.03 0.01
LNC-DSPE-PEG3000-methoxy	-20.4	65.3	0.070	1.87	0.37	5 10 15	
LNC-DSPE-PEG2000-methoxy	-27.2	62.6	0.077	1.88	0.41	5 10 15	0.21 0.10 0.03
LNC-DSPE-PEG2000-methoxy	-35.7	64.1	0.006	1.89	0.31	5 10 15	0.17 0.12 0.05
Taxol®					0.23		

----- www.eufunds.bg -----



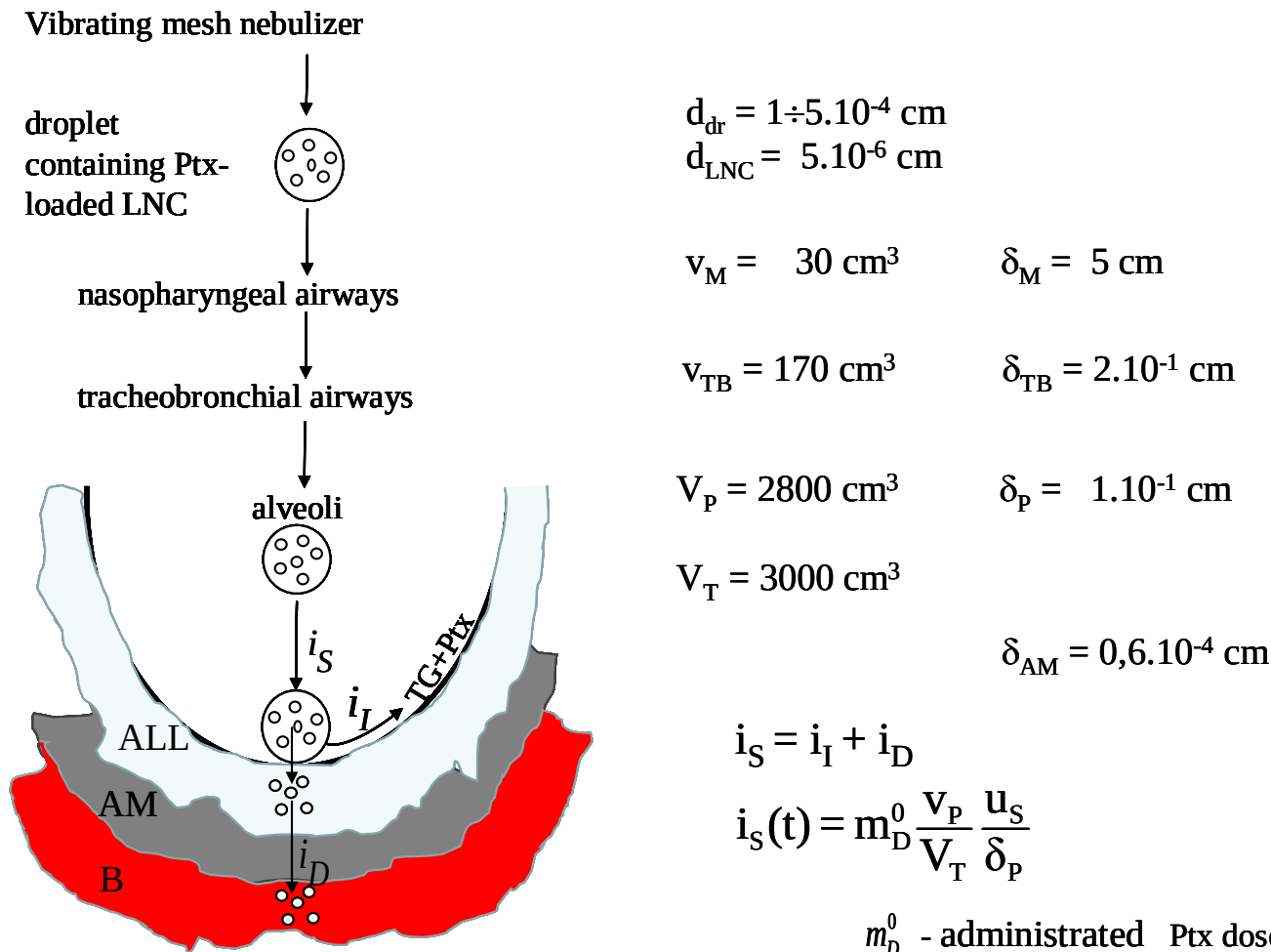
Моделното изследване на всички модифицирани системи на LNC показва, че проникването на положително заредените нанокapsули, тези с неутрално рН и с по-къси вериги на PEG е по-добро спрямо другите модифицирани капсули.

В заключение, с цел да се подобри проникването на антитуморния агент Paclitaxel (Ptx) през мукуса на гастроинтестиналните мембрани, лекарството е капсулирано в LNC с различно модифицирани повърхности. Свойствата на тези нанокapsули, като зета потенциал, размери, съдържание на лекарство и т.н., са сравнени с резултати от 3D и 2D моделни мукусни мембранни системи. От 3D моделната система са получени стойности за относителните коефициенти на мембранната проницаемост за всички изследвани LNC. От 2D моделната система е получена допълнителна информация, относно взаимодействието между LNC и мукусен слой. Развитиеят подход представлява един ефикасен скрининг метод за избор на най-подходящи Ptx-съдържащи LNC за проникване през мукусния слой.

----- www.eufunds.bg -----



Доставка на LNC, съдържащи Ptx в белия дроб чрез инхалация на аерозолни частици





Заклучение

Развитите в тези изследвания прости моделни системи представляват важна първа стъпка за оценяване на свойствата *in vivo* на различни видове микро- и наноразмерни молекулни ансамбли, като SUV, LNC, полимерни матрици и т.н. Те носят допълнителна нова информация за механизмите на повърхностната им реорганизация и доставката на лекарствени вещества в сложните живи системи.

Заедно с анализа на свойствата на лекарство-доставящи структури в по-сложно устроени моделни системи, както и от *in vivo* експерименти, развитите прости модели допринасят за по-добро разбиране на поведението им *in vivo* и за избор на най-ефикасни форми на лекарство-доставящи системи.

----- www.eufunds.bg -----



Публикации на екипа , свързани с разгледаните системи

Small Unilamellar Vesicles (SUV)

1. M.A.Launois-Surpas, Tz.Ivanova, I.Panaiotov, J.E.Proust, F.Puisieux, G.Georgiev -Behavior of pure and mixed DPPC liposomes spread or adsorbed at the air-water interface. Coll. Polym. Sci., 270 (1992) 901-911.
2. Tz. Ivanova, V. Raneva, I. Panaiotov and R. Verger - Kinetics of spreading of DOPC liposomes at the air-water interface subjected to phospholipase A₂ hydrolysis, Coll. Polym. Sci., 271 (1993) 290-297.
3. V. Raneva, Tz. Ivanova, R.Verger, I.Panaiotov - Comparative kinetics of phospholipase A₂ action on liposomes and monolayers of phosphatidylcholine spread at the air-water interface, Coll. Surf. B: Biointerfaces, 3 (1995) 357-369.

----- www.eufunds.bg -----



Lipid nanocapsules (LNC)

1. A.C. Groo, K. Mircheva, J.Bejaud, C. Ailhas, I.Panaiotov, P. Saulnier, Tz. Ivanova, F. Lagarce, - Development of 2D and 3D Mucus Models and Their Interactions with Mucus Penetrating Paclitaxel- loaded Lipid Nanocapsules, *Pharmaceutical Research*, 31 (7) (2014) 1753-1765.
2. Tz. Ivanova, K. Mircheva, K. Balashev, I. Minkov, P. Saulnier and I. Panaiotov - Interfacial behavior of lipid nanocapsules spread on model membrane monolayers, *Coll. Polym. Sci*, 292 (6) (2014) 1307-1318
3. M. Gonnet, G. Bastiat, Tz. Ivanova, F. Boury – Interfacial Organization of β -Carotene loaded Lipid Nanocapsules Modelized by 2D Rheological Measurements and Electrophoretic Mobility, *J. of Coll. Sci. and Biotechnology*, 1 (2012) 137-146.
4. K. Mircheva, I. Minkov, Tz. Ivanova, I. Panaiotov, J.E.Proust, R. Verger - Comparative study of lipolysis by PLA₂ of DOPC substrates organized as monolayers, bilayer vesicles and nanocapsules, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 67 (2008) 107-114.
5. I. Minkov, Tz. Ivanova, I. Panaiotov, J. Proust, P. Saulnier - Reorganisation of lipid nanocapsules at air-water interface: 1. Kinetics of surface film formation, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 45 (2005) 14-23.
6. I. Minkov, Tz. Ivanova, I. Panaiotov, J. Proust, P. Saulnier - Reorganisation of lipid nanocapsules at air-water interface: 2. Properties of the formed surface film, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 44 (2005) 197-203.
7. I. Minkov, Tz. Ivanova, I. Panaiotov, J. Proust, R. Verger - Reorganisation of lipid nanocapsules at air-water interface: 3. Action of hydrolytic enzymes HLL and pancreatic PLA₂, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 45 (2005) 24-34.

----- www.eufunds.bg -----



Polymer matrix

1. Tz. Ivanova, P. Saulnier, A. Malzert, F. Boury, J. E. Proust, I. Panaiotov - Basic and enzymatic hydrolysis in mixed polyethylene glycol/poly(D,L-lactide-co-glycolide) films spread at the air-water interface, *Coll. and Surf. B: Biointerfaces*, **23** (2002) 7-21.
2. Tz. Ivanova, I. Panaiotov, F. Boury, J.E. Proust, R. Verger - Enzymatic hydrolysis of poly (D,L-lactide) spread monolayers by cutinase, *Coll. Polym. Sci.*, 275 (1997) 449-457.
3. Tz. Ivanova, I. Panaiotov, F. Boury, J.E. Proust, J.P. Benoit, R. Verger - Hydrolysis kinetics of poly(D,L-lactide) monolayers spread on basic or acidic aqueous subphases, *Coll. and Surfaces B: Biointerfaces*, **8** (1997) 217-225.

Lung surfactant

1. Tz. Ivanova, I. Minkov, I. Panaiotov, P. Saulnier, J. E. Proust – Dilatational properties and morphology of surface films spread from clinically used lung surfactants, *Coll. Polym. Sci.*, **282** (2004) 1258-1267.
2. I. Minkov, K. Mircheva, N.Grozev, Tz. Ivanova, I. Panaiotov – Properties of mixed monolayers of clinical lung surfactant, serum albumin and hydrophilic polymers, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **101** (2013) 135-142.

----- www.eufunds.bg -----



Coacervates containing plant proteins like α -gliadin

1. K. Mircheva, Tz. Ivanova, I. Panaiotov, V. Dusel, F. Boury - Enzymatic proteolysis of α gliadin monolayer spread at the air water interface, *J. Coll. Int. Sci.*, 347 (2010) 69-73.

Inclusion of β -carotene in model membrane and in cage molecules like as β -cyclodextrin

1.K. Mircheva, M. Gonnet, K. Balashev, Tz. Ivanova, F. Boury, I. Panaiotov - Properties of β -carotene and retinoic acid in mixed monolayers with dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC) and Solutol, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 460 (2014) 209–218.

2. Tz. Ivanova, K. Mircheva, K. Balashev, I. Panaiotov, F. Boury -Monolayer kinetic model of formation of β -cyclodextrin - β -carotene inclusion complex, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 135 (2015) 542–548.

----- www.eufunds.bg -----



ЕВРОПЕЙСКИ СЪЮЗ
ЕВРОПЕЙСКИ СТРУКТУРНИ И
ИНВЕСТИЦИОННИ ФОНДОВЕ

"Тенденции на научното развитие във ФХФ"



ОПЕРАТИВНА ПРОГРАМА
НАУКА И ОБРАЗОВАНИЕ ЗА
ИНТЕЛИГЕНТЕН РАСТЕЖ

Благодаря за вниманието



----- www.eufunds.bg -----

Проект BG05M2OP001-2.009-0028 "Постигане на оптимална среда за обучение, научни изследвания, иновации и устойчиво развитие на човешкия капитал в сферата на химическите науки: Адаптиране на образованието днес за утрешния ден", финансиран от Оперативна програма „Наука и образование за интелигентен растеж“, съфинансирана от Европейския съюз чрез Европейските структурни и инвестиционни фондове.