

Kalorimetriás módszerek a liposzómák vizsgálatában

- DSC : differential scanning calorimetry
- ITC : isothermal titration calorimetry

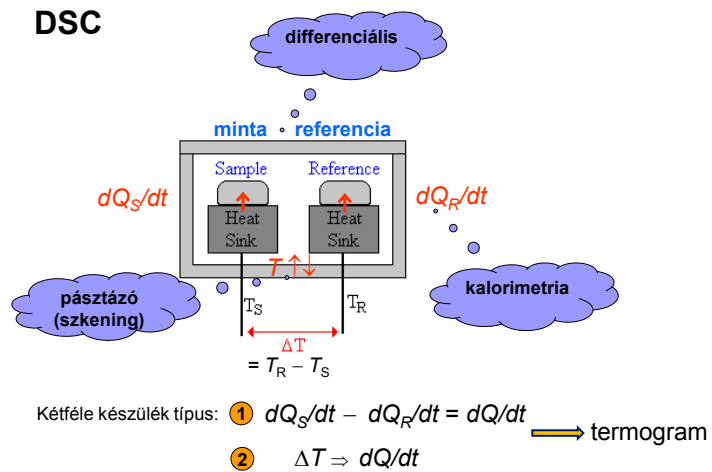
1

DSC : differential scanning calorimetry

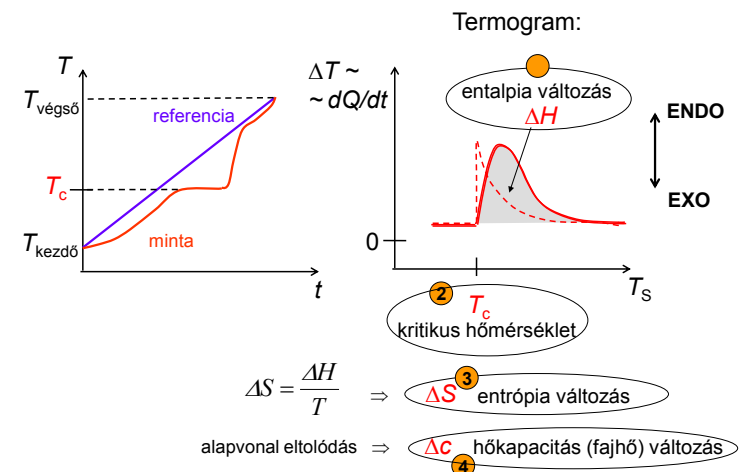


2

DSC

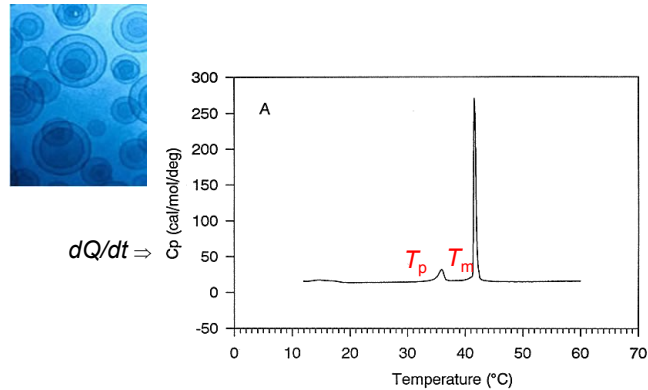


3

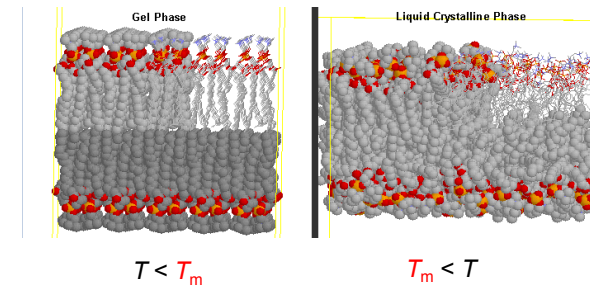


4

Példa: DPPC multilamelláris liposzóma



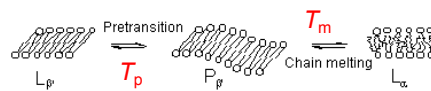
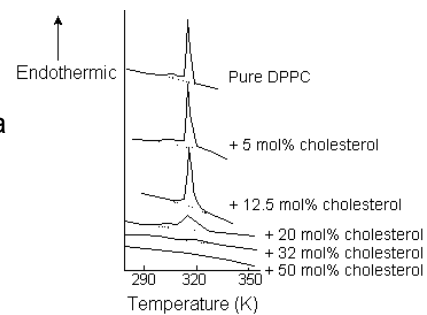
5



6

Példa:

koleszterin hatása
DPPC liposzóma
termogramjára

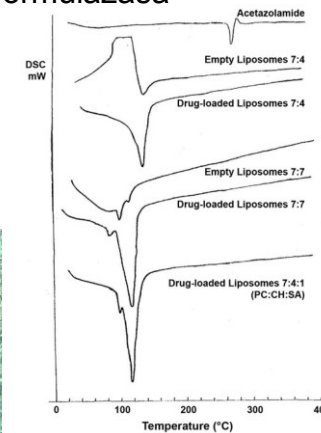
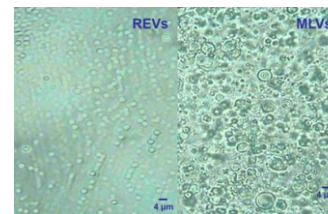


7

Példa: Acetazolamid formulázása

Glaukómában szem belnyomásának csökkentésére.
Mellékhatások: depresszió, veseelégtelenség, hányás, anorexia, ...
Lokális alkalmazás problémái: rossz vízzoldékonyság, kicsi permeabilitási együttható

➔ liposzóma
AAPS PharmSciTech 2007; 8 (1)



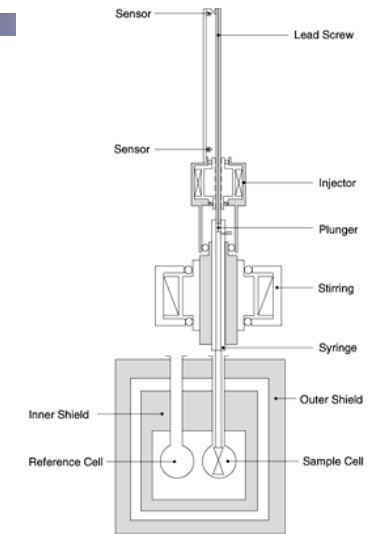
8

ITC: isotherm titration calorimetry



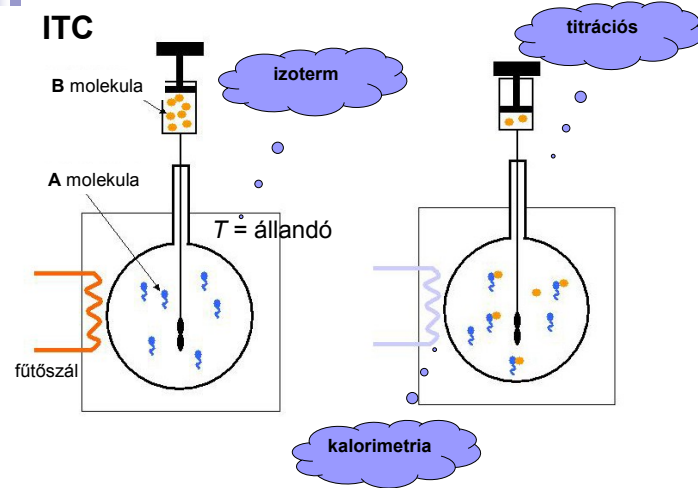
9

Felépítés:

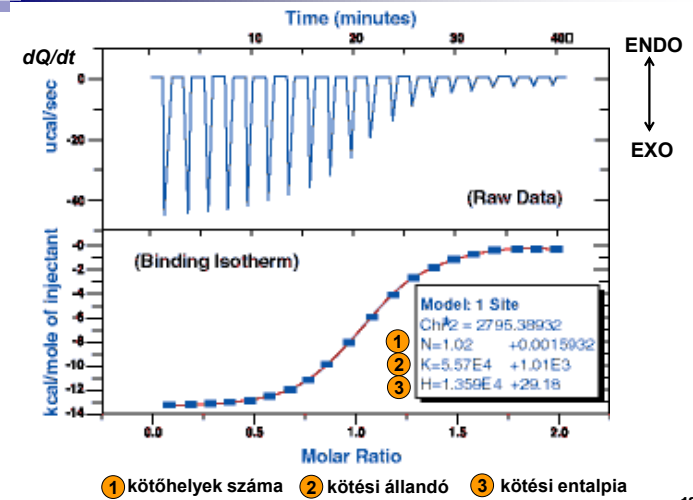


10

ITC



11



12

Kötési állandó (K):



Meghatározható mennyiségek:

$N, K, \Delta H +$

$$\Delta G = -RT \ln K$$

$$\Delta G = \Delta H - T \cdot \Delta S$$

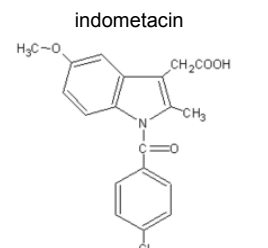
4 ΔS kötési entrópia

Modellek:

- ◆ egyféle kötőhely
- ◆ kétféle kötőhely
- ◆ szekvenciális kötőhely sorozat
- ◆ enzim/subsztrát/inhibitor
- ◆ dimer disszociáció
- ◆ versengő ligandok

13

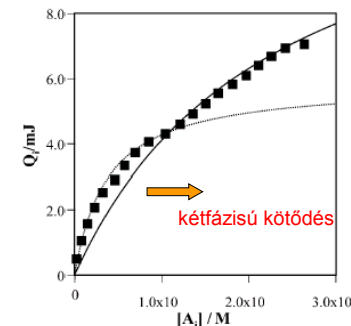
Példa: fájdalomcsillapító és liposzóma kölcsönhatása



nem-szteroid antireumatikum

Mellékhatások: gyomor-bél problémák (hányás, gyomorvérzés, ...)

liposzóma



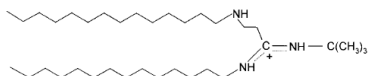
Biophysical Journal Volume 86 February 2004 946-954
Interaction of Antiinflammatory Drugs with EPC Liposomes:
Calorimetric Study in a Broad Concentration Range

14

Példa: DNS és liposzóma kölcsönhatása

DNS transzfer → kationos liposzóma előnyök: gyengébb immun válasz, nagy „méretválaszték”, sejt specifikus liposzómák, ...

Liposzóma: diC14-amidin



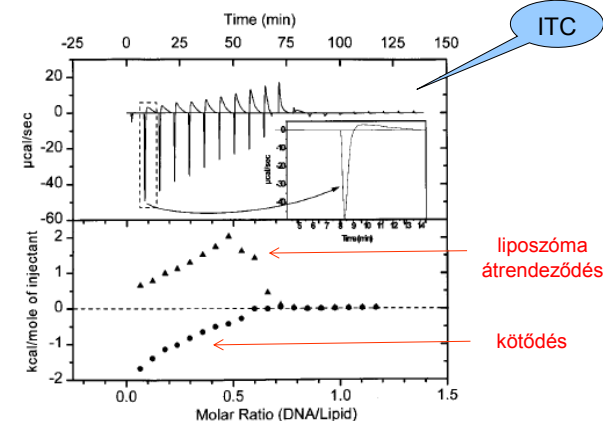
+ plazmid DNS

THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY
© 2000 by The American Society for Biochemistry and Molecular Biology, Inc.

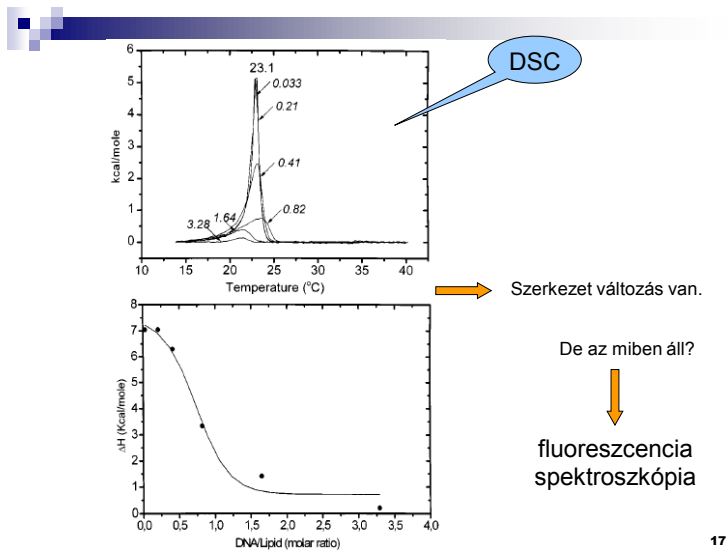
Vol. 275, No. 38, Issue of September 22, pp. 29533-29538, 2000
Printed in U.S.A.

**Biophysical and Structural Properties of
DNA-diC₁₄-amidine Complexes**

15



16



17

Fluoreszcenciás módszerek a liposzómák vizsgálatában

18

Fluoreszcencia

fluoreszcencia → lumineszcencia

Lumineszcencia: hőmérsékleti sugárzáson felüli többlet sugárzás.

Megfigyelések:

- „gyenge” kapcsolat a test hőmérsékletével → „hideg fény”
- vonalas, ill. sávos spektrum → elektrongerjesztés

19

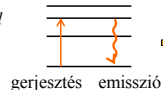
Gerjesztés szerint:

gerjesztés módja	elnevezés	példa
fény	fotolumineszcencia (fluoreszcencia)	kinin-szulfát, foszfor, ...
röntgensugárzás.	röntgenlumin.	NaI (TI)
radioaktív sugárzás.	radiolumin.	NaI (TI)
elektromos tér	elektrolumin.	higanygőzlámpa
mechanikai hatás	tribolumin.	kockacukor
kémiai reakció	kemolumin. (biolumin.)	szentjánosbogár
hő	termolumin.	CaSO ₄ (Dy)

20

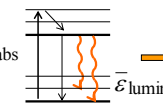
Lumineszcencia mechanizmusa

atom: $E = E_{el}$



vonalas spektrum
pl. Na

molekula: $E = E_{el} + E_v (+ E_r)$



vonalas/sávos spektrum
pl. fluoreszcein

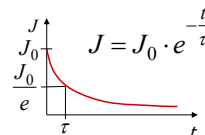
$\bar{\epsilon}_{abs}$
 $\bar{\epsilon}_{lumin}$
 $\bar{\epsilon}_{lumin} \leq \bar{\epsilon}_{abs}$

↓ sugárzás nélküli átmenet
 ↓ sugárzásos átmenet

21

Lumineszcenciafény jellemzése

- vonalak, sávok helyzete, alakja, intenzitása
- Stokes-féle eltolódás $[\bar{\epsilon}_{lumin} \leq \bar{\epsilon}_{abs}]$
- kvantumhatásfok: $Q = \text{emittált fotonok száma} / \text{abszorbeált fotonok száma} (< 1)$
- élettartam:

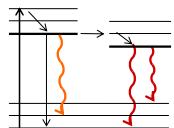


$J = J_0 \cdot e^{-\frac{t}{\tau}}$ τ : élettartam

- anizotrópia: r

22

Fluoreszcencia és foszforeszcencia



gerjesztés

metastabil állapot

kis valószínűségű átmenet

fluoreszcencia foszforeszcencia

$$\bar{\epsilon}_{phos} \leq \bar{\epsilon}_{fluo} \leq \bar{\epsilon}_{abs}$$

$$\bar{\lambda}_{abs} \leq \bar{\lambda}_{fluo} \leq \bar{\lambda}_{phos}$$

$$\tau_{fluo} \ll \tau_{phos}$$

pl. triptofán:

$$\bar{\lambda}_{fluo} = 340 \text{ nm}$$

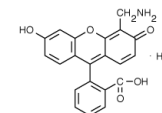
$$\bar{\lambda}_{phos} = 440 \text{ nm}$$

$$\tau_{fluo} = 0,1 - 5 \text{ ns}$$

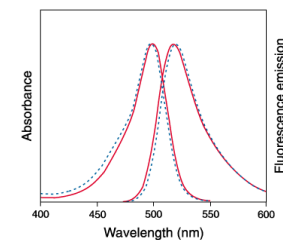
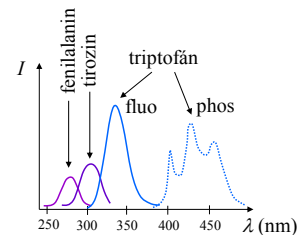
$$\tau_{phos} = 0,001 - 5 \text{ s}$$

23

Példák:

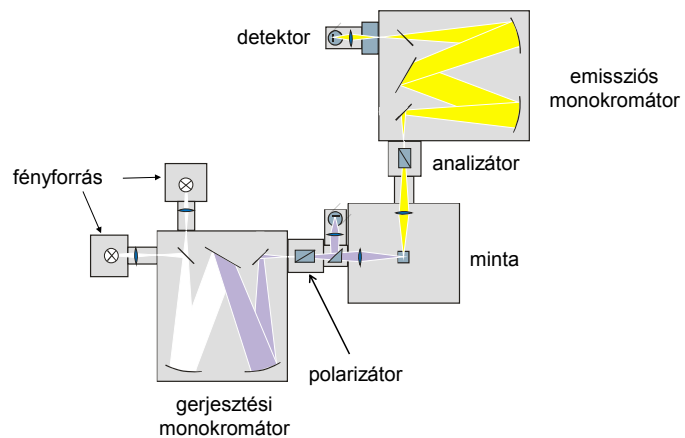


fluoreszcein



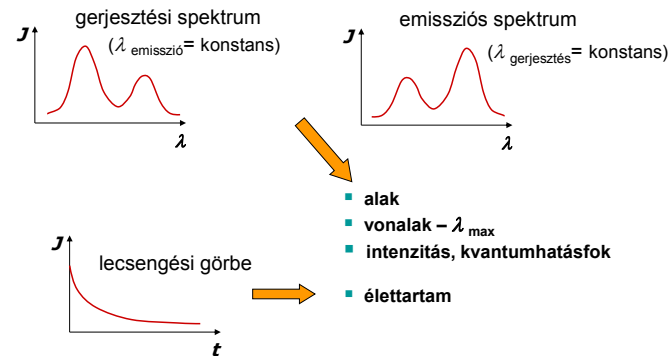
24

Mérés – luminométer felépítése



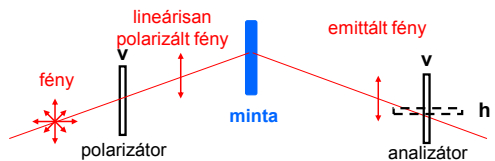
25

Mérési eredmények:



26

anizotrópia (r)



$$r = \frac{J_{vv} - J_{vh}}{J_{vv} + 2 \cdot J_{vh}} = \frac{J_{vv} - J_{vh}}{J} \quad 0 \leq r \leq 1$$

$1 \rightarrow r_0$

27

Perrin-egyenlet: $r = \frac{r_0}{1 + \tau / \phi}$ ϕ : rotációs diffúzió korrelációs ideje

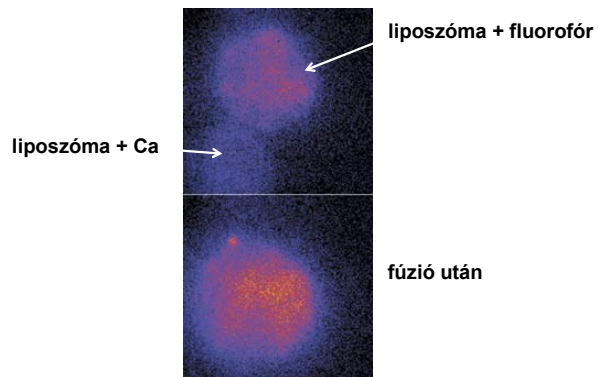
$$\phi = \frac{\eta \cdot V}{kT}$$

η : viszkozitás
 V : molekula(rész) térfogata
 k : Boltzmann-állandó
 T : hőmérséklet

η : mikroviszkozitás
 $1/\eta$: mikrofluiditás

28

Példák:



29

DNS és liposzóma kölcsönhatása (folyt.):

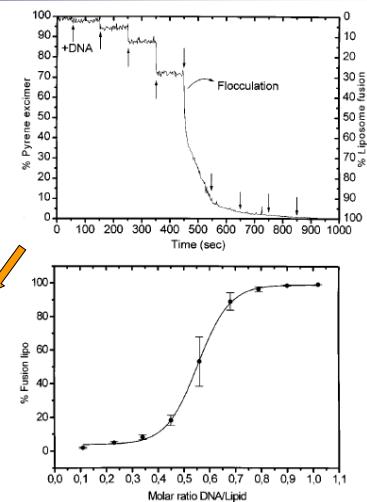
Fluorofór: pirén

Pirén excimer (~ koncentráció):

$\lambda_{\text{ger}} = 330 \text{ nm}$ $\lambda_{\text{em}} = 477 \text{ nm}$



pirén fluoreszcenciája csökken \Rightarrow fúzió

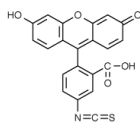


30

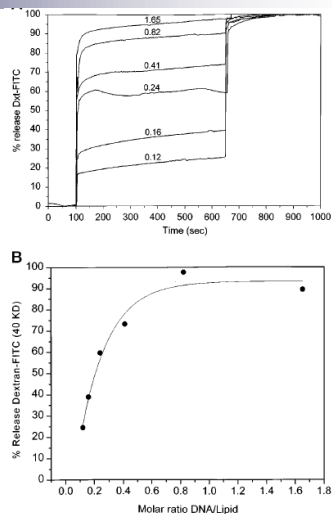
Fluorofór:

FITC-vel jelzett dextrán

(FITC: fluoreszcein-izotiocianát)



DNS destabilizálja a liposzómákat \Rightarrow dextrán kiáramlás, fúzió



31

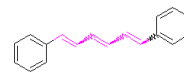
Liposzóma mikroviszkozitása a hőmérséklet függvényében:

Liposzóma: DPPC

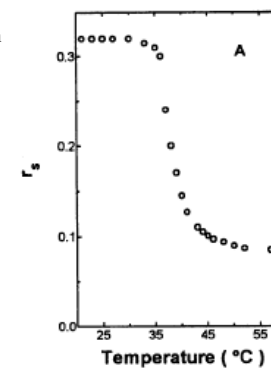
DPPC: dipalmitoil foszfatidilkolin

Fluorofór: DPH

DPH: difenil hexatrién



A fázisátalakulási hőmérséklet fölött jelentősen lecsökken a lipidréteg mikroviszkozitása.



32

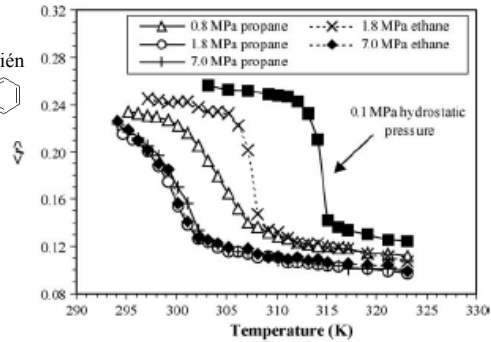
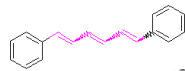
Alkánok és nyomás hatása a liposzóma mikroviszkozitására:

Liposzóma: DPPC

DPPC: dipalmitoil foszfatidilkolin

Fluorofór: DPH

DPH: difenil hexatrién

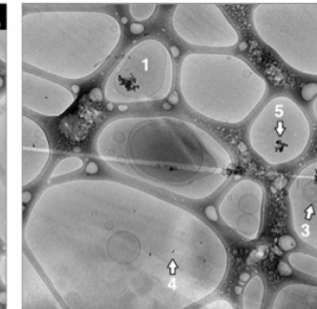
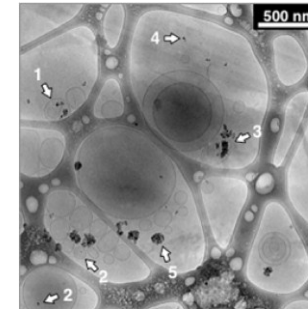


33

Magnetoliposzómák

Liposzóma: DPPC+koleszterin

Mágnes: Fe_3O_4 nanorészecskék



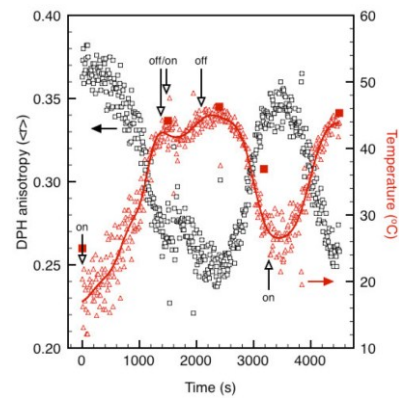
(TEM felvételek)

34

Melegítés rádióhullámokkal

$f = 281 \text{ kHz}$

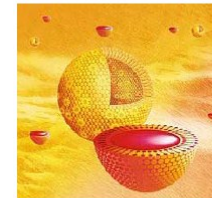
Fluorofór: DPH



35

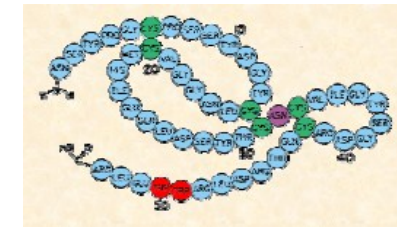
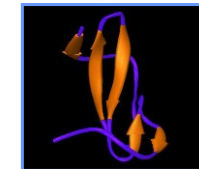
REKTORI PÁLYÁZAT

**Liposzómák orvosi és
gyógyszerészeti felhasználása**



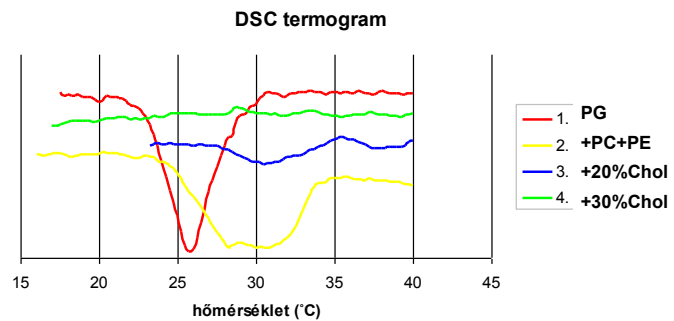
Íffó András (FOK III évf.)
Koranyi Frigyes Szakkollégium
Témavezető: Tolgyesi Ferenc
Egyetemi adjunktus
Semmelweis Egyetem
Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

epidermális növekedési faktor (EGF)



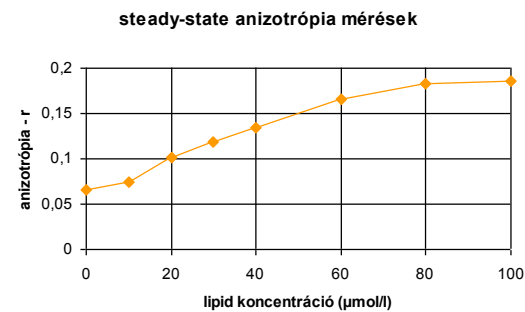
36

Epithelsejteket modellező liposzóma:



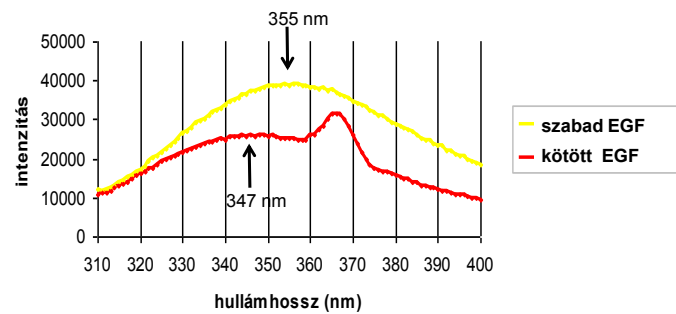
37

EGF kötődése



38

EGF emissziós spektruma



39