

Софийски университет “Св. Климент Охридски”  
Факултет по химия и фармация  
Катедра Фармацевтична и приложна органична химия



**Деница Валериева Николова**

***„Интелигентни полимерни материали за  
модифицирано освобождаване на тимолол малеат в  
очите“***

### **АВТОРЕФЕРАТ**

на дисертационен труд, представен за присъждане на образователна и  
научна степен „Доктор“

Професионално направление 4.2 Химически науки

Докторантска програма „Полимери“

***Научни ръководители:*** доц. д-р Елена Василева  
доц. д-р Лъчезар Христов

**София  
2023**



Дисертационният труд съдържа 118 страница, от които 11 страници използвана литература и 3 страници приложения. Трудът включва 20 схеми, 24 фигури и 24 таблици. Библиографската справка обхваща 163 литературни източника. **Номерацията на разделите, фигурите, таблиците и литературните източници в автореферата не съвпада с тези в дисертацията.**

Дисертационната работа е обсъдена и насочена за защита от Катедрен съвет на катедра Фармацевтична и приложна органична химия на Факултета по химия и фармация на Софийски университет „Св. Климент Охридски“, проведен на 30.01.2023 г.

Докторантът е зачислен на редовна докторантура към катедра Фармацевтична и приложна органична химия със заповед № РД 20 – 242 на Ректора на СУ „Св. Климент Охридски“ от 28.01.2019 г.

Изследванията по дисертационния труд са извършени в Лаборатория структура и свойства на полимерите при катедра Фармацевтична и приложна органична химия на Факултета по химия и фармация при СУ „Св. Климент Охридски“.

Публичната защитата на дисертационния труд ще се проведе на **08.06.2023 г. от 14:00 ч.** в Заседателната зала на Факултета по химия и фармация при СУ „Св. Климент Охридски“, бул. „Дж. Баучер“ № 1.

Материалите по защита са на разположение на интересуващите се в канцеларията на Факултета по химия и фармация при СУ „Св. Климент Охридски“, бул. „Дж. Баучер“ № 1, стая 107 и на интернет страницата на ФХФ.

## Съдържание:

Използвани съкращения: .....	5
I. Увод .....	6
II. Цел и задачи .....	8
III. Резултати и дискусия .....	9
III.1. Линейни и омрежени наночастици от поли(сулфобетайн метакрилат) (ПСБМ).....	9
III.1.1 Хидродинамичен диаметър на наночастици от линеен и омрежен ПСБМ.....	9
III.1.2 Дзета ( $\zeta$ ) потенциал на наночастици от линеен и омрежен ПСБМ.....	12
III.1.3 Морфология на омрежените частици от ПСБМ.....	13
III.1.4 Построяване на калибрационна права за тимолол малеат (ТМ) при 298 nm .....	15
III.1.5 Ефективност на лекарствено натоварване (ЕЕ) и капацитет на лекарствено натоварване (КЛН) на частици от ПСБМ с тимолол малеат.....	16
III.1.6 Профил на освобождаване на ТМ от ПСБМ частици .....	17
III.1.7 Кинетично изследване на профилите на лекарствено освобождаване на ТМ от частици от ПСБМ.....	18
III.2. Съполимерни хидрогелове .....	20
III.2.1 Равновесна степен на набъбване (РСН) на хидрогелове на поли(СБМ-съ-ВП) и на ПСБМ .....	20
III.2.2 Модул на еластичност (МЕ) на съполимерните хидрогелове поли(СБМ-съ-ВП) .....	21
III.2.3 Кинетика на набъбване на поли(СБМ-съ-ВП) хидрогелове.....	22
III.2.4 Построяване на калибрационна права за ТМ при 294 nm .....	24
III.2.5 Ефективност (ЕЕ) на лекарствено натоварване и капацитет на натоварване (КЛН) на ТМ в съполимерните поли(СБМ-съ-ВП) хидрогелове .....	24
III.2.6 Профил на освобождаване на ТМ от съполимерни хидрогелове на поли(СБМ-съ-ВП).....	26
III.2.7 Кинетични изследвания на профилите на освобождаване на ТМ от съполимерните хидрогелове.....	28
III.2.8 Прозрачност на натоварените с ТМ хидрогелове на поли(СБМ-съ-ВП) и ПСБМ.....	30
IV. Изводи.....	35
V. Приноси на дисертационния труд.....	37
VI. Използвана литература: .....	38
VII. Списък с научни публикации: .....	40
VII.1 Научни публикации по темата на дисертацията .....	40
VII.2 Научни публикации извън темата на дисертацията .....	40
VIII. Списък с изяви на научни форуми за периода 02.2019 – 01.2023 г.....	41
IX. Участие в научни проекти по темата на дисертацията .....	43

## **Използвани съкращения:**

$\zeta$  – потенциал – дзета потенциал

ДЛС – динамично лазерно светоразсейване

ВП – 2-винил пиролidon

ЕЕ – ефективност на лекарствено натоварване

КЛН – капацитет на лекарствено освобождаване

ЛВ – лекарствено вещество/лекарствени вещества

МЕ – модул на еластичност

поли(СБ-съ-ВП) – съполимерни хидрогелове на сулфобетаин метакрилат и винил пиролidon

ПСБМ – поли(сулфобетаин метакрилат)

ПСБМ лин – линейни наночастици поли(сулфобетаин метакрилат)

ПСБМ НП – omрежени наночастици поли(сулфобетаин метакрилат)

РСН – равновесна степен на набъбване

СБМ – сулфобетаин метакрилат

СЕМ – сканираща електронна микроскопия

ТМ – тимолол малеат

ФФБ – физиологичен фосфатен буфер

## I. Увод

Глаукомата е едно от най-често срещаните очни заболявания, свързано с повишено вътреочно налягане. Най-разпространеният медикамент, изписван на пациенти, страдащи от това заболяване е неселективният бета блокер тимолол малеат. Той действа като блокира бета рецепторите в цилиарното тяло, като по този начин редуцира секрецията на вътреочна течност, а от там се понижава и вътреочното налягане. Медикаментът се прилага най-често под формата на капки за очи, които обаче биват бързо отмити от сълзната течност. Така, лекарственото вещество няма достатъчно време за контакт с очната повърхност, неговата концентрацията в окото бързо намалява и в резултат, бионаличността на тимолол малеат, приеман под формата на капки за очи, е под 5%. Това изисква по-често приложение на капките за очи, което оскъпява лечението и причинява неудобство на пациента. Ето защо, разработването на подходящ лекарствен носител за лекарствени вещества, и в частност на тимолол малеат, прилаган в окото, представлява предизвикателство във фармацията.

Две от възможните решения на тези проблеми са: (i) разработването на нано/микро носители за тимолол малеат, които биха увеличили времето за контакт между лекарственото вещество и очната повърхност и (ii) разработването на лекарстводоставящи меки контактни лещи за очи, които да не позволят лесно отмиване на лекарственото вещество от сълзите и следователно бързо намаляване на концентрацията му.

Цвитерйонният полимер поли(сулфобетайн меакрилат) притежава предимства, които позволяват да бъде използван за разработването на такива носители за тимолол малеат, благодарение на следните свои качества:

- проявява интелигентно поведение, т.е. откликва промяна на характеристики на средата, като температура и солева концентрация;
- притежава биомиметични свойства, които обуславят тъй наречения „стелт“ ефект, благодарение на който минимизира имунния отговор на организма;

Именно тези качества на поли(сулфобетайн метакрилатът) определят използването му в настоящия дисертационен труд. Получените резултати демонстрират

потенциала на поли(сулфобетин метакрилата) да бъде използван като носител за тимолол малеат за очно приложение под две различни лекарствени форми.

## II. Цел и задачи

Настоящата дисертация има за цел да демонстрира потенциала на интелигентни полимерни материали, на базата на цвитерйонния полимер поли(сулфобетаин метакрилат) като лекарство-доставящи системи за тимолол малеат, под формата на омрежени и линейни наночастици, с потенциално очно приложение, или съполимерни хидрогелове на поли(сулфобетаин метакрилат-съ-винил пиролидон), с потенциално приложение като меки контактни лещи за очи. Изборът на конкретните полимери бе направен с цел те да придадат на получените материали подходящи свойства, които да спомогнат за удължаване на контакт между лекарственото вещество и очната повърхност, а оттам и да увеличат лекарствената бионаличност.

Задачите, които бяха поставени за постигане на зададената цел са следните:

- Синтез на линейни и омрежени наночастици на поли(сулфобетаин метакрилат)
- Охарактеризиране на получените частици
- Натоварване на полицвитерйонните частици с тимолол малеат и изследване на потенциала им като лекарство-доставящи системи за очно приложение
- Синтез на хидрогелове на съполимери поли(сулфобетаин метакрилат-съ-винил пиролидон) с различен състав
- Охарактеризиране на свойствата на така получените съполимери
- Натоварване на съполимерните хидрогелове с тимолол малеат
- Изследване на свойствата на получените хидрогелове като потенциални материали за лекарство-доставящи меки контактни лещи.

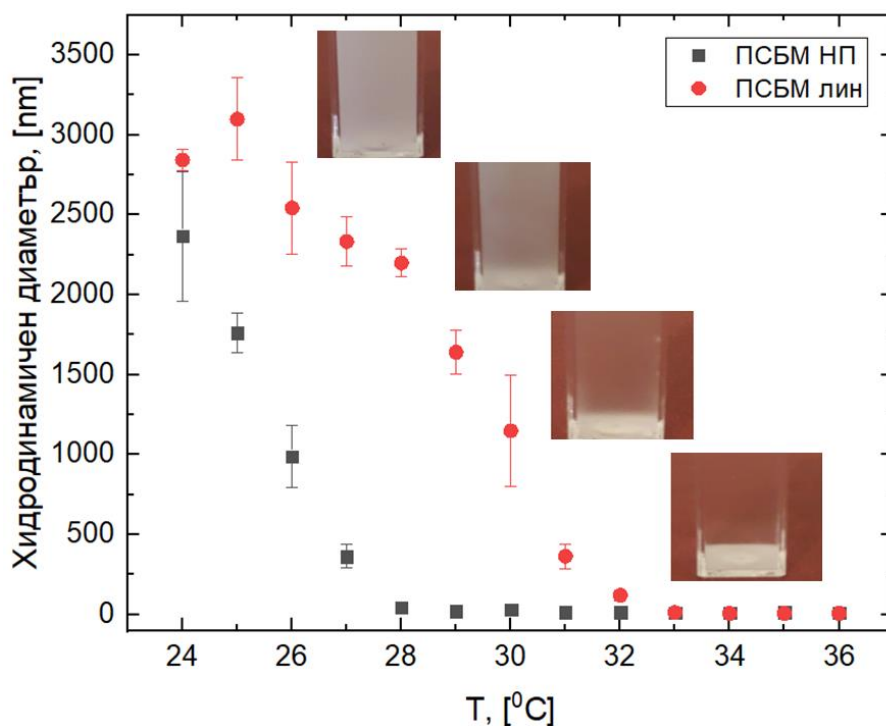


### III. Резултати и дискусия

#### III.1. Линейни и омержени наночастици от поли(сулфобетайн метакрилат) (ПСБМ)

##### III.1.1 Хидродинамичен диаметър на наночастици от линейни и омержени ПСБМ

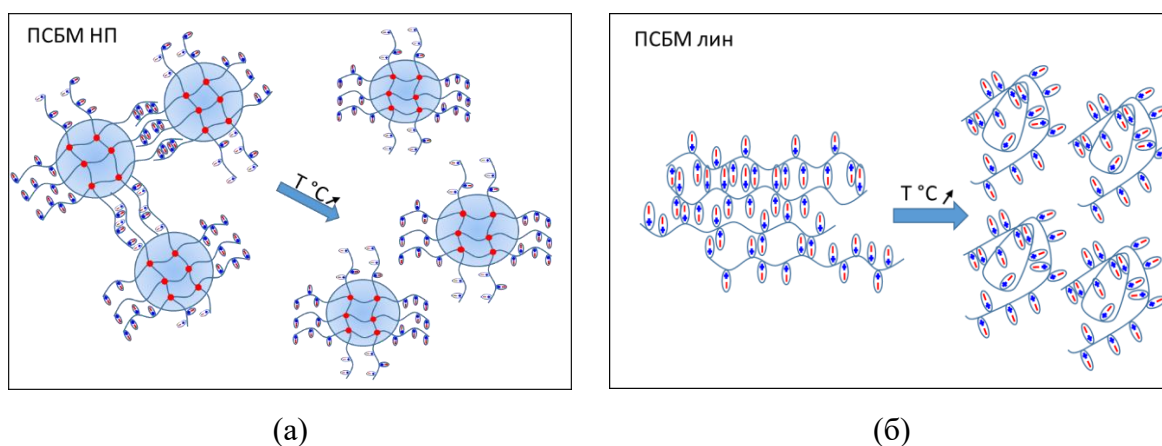
Размерът на частиците е критичен параметър при капки (суспензии) за очи, който осигурява оптимална биологична активност, физическа стабилност и бионаличност на приложените медикаменти и играе основна роля за комфорта на пациента. Динамично лазерно светоразсейване (ДЛС) бе използвано, за да се оцени размера на получените наночастици от линейни и омержени ПСБМ. Тъй като е известно, че ПСБМ е термочувствителен полимер, бе очаквано размерът на частиците да зависи от температурата. Температурната зависимост на хидродинамичния диаметър на ПСБМ лин и ПСБМ НП е представена на Фигура 1. При стайна температура и линейните поли(сулфобетайн метакрилатни) частици (ПСБМ лин), и омержените поли(сулфобетайн метакрилатни) частици (ПСБМ НП) имат хидродинамични диаметри, 2.5 – 3.5  $\mu\text{m}$ . С повишаване на температурата, техният хидродинамичен диаметър намалява и преминава в нанометричната скала.



Фигура 1. Температурна зависимост на хидродинамичния диаметър на ПСБМ лин и ПСБМ НП.

В температурния интервал от 33 до 36 °C, ПСБМ НП имат хидродинамичен диаметър  $\sim 11$  nm, докато хидродинамичният диаметър за ПСБМ лин е  $\sim 7$  nm. Наноразмерите на двата типа ПСБМ частици се постига в температурния диапазон, съответстващ на температурата на повърхността на човешкото око. Според някои автори, температурата на роговицата на човек в покой е 32.17 °C при отворен клепач и 34.43 °C, когато клепачът е затворен [1]. Други автори определят минимална температура на очната роговица от  $33.82 \pm 1.10$  °C и максимална  $35.41 \pm 0.73$  °C, т.е. средната температура на повърхността на окото  $34.51 \pm 0.82$  °C според това изследване [2]. Следователно и двата типа ПСБМ частици се очаква да имат наноразмери в рамките на температурния диапазон на планираното очно приложение. Известно е, че размерът на частиците в суспензии за очно приложение, трябва да бъде под 10  $\mu\text{m}$  за да не предизвикват дразнение в окото и да не създават дискомфорт на пациента [3]. Резултатите на Фигура 1 показват, че размерите и на двата типа ПСБМ частици, остават далеч под 10  $\mu\text{m}$ , дори при стайна температура. Така приложението на частиците не би предизвикало дразнене в очите при накапване на подобна суспензия.

Температурната зависимост на хидродинамичния диаметър на двата типа частици на ПСБМ показва намаляване на техния размер с повишаване на температурата (Фигура 1). Това поведение може да бъде обяснено със самоасоциирането, което се осъществява между съседни макромолекули/частици на ПСБМ. Получават се междумолекулни/междучастичкови асоциати поради образуването на физични връзки чрез дипол-диполни взаимодействия, характерни за цвитерйонните полимери (Схема 1). При повишаване на температурата тези физични връзки се разкъсват, асоциатите между частици/макромолекули ПСБМ се разрушават и хидродинамичният диаметър намалява (Схема 1).



**Схема 1.** Междумолекулни/междучастичкови асоциати, образувани чрез дипол-диполни взаимодействия при стайна температура между частици от (а) омрежен и (б) линеен ПСБМ и тяхното разпадане при повишаване на температурата.

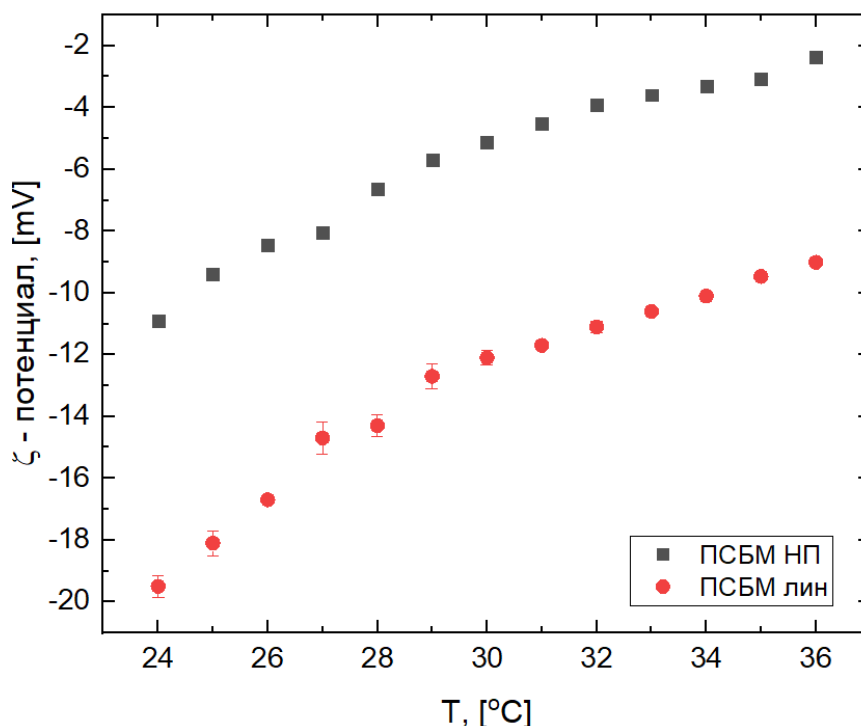
Още едно доказателство за разрушаването на тези асоциати е промяната в мътността на разтвора, с увеличаване на температурата (Фигура 1). При стайна температура разтворът е млечнобял, докато с увеличаване на температурата той постепенно се избистря, като при температура 36 °С, той е прозрачен. При сравняване на хидродинамичните диаметри на ПСБМ НП и ПСБМ лин в температурния диапазон от 33 до 36 °С се наблюдава разлика в техния размер, която може да се обясни с ефекта на омрежаване – за ПСБМ НП се получават по-големи частици поради тяхната мрежова структура, в която няколко ПСБМ макромолекули са химически свързани чрез омрежаващ агент. При стайна температура, обаче, по-голям размер имат частиците ПСБМ лин. Причината е, че линейният ПСБМ има по-разперена структура на своите макромолекули в сравнение с омрежения ПСБМ, поради ограничителното действие на омрежаващите напречни връзки при втория. Самоасоциирането между по-разперените линейни ПСБМ молекули води до образуването на по-големи асоциати, които се разрушават при по-високи температури, тъй като вероятно включват и по-голям брой макромолекули. По този начин измерванията с ДЛС предоставят косвено потвърждение за успешното омрежаване на ПСБМ НП.

Проверена бе възможността намаляването на хидродинамичния диаметър на частиците от ПСБМ да се дължи на утаяване. Резултатите от този експеримент потвърждават, че разрушаването на дипол-диполните междумолекулни/междучастичкови взаимодействия е причина за намаляване на хидродинамичния диаметър, а не утаяване. Резултатите са описани подробно в дисертационния труд: Раздел V.1.2 Фигура 8, от дисертационния труд.

### *III.1.2 Дзета ( $\zeta$ ) потенциал на наночастици от линеен и омрежен ПСБМ*

Описаните по-горе промени в конформацията на макромолекулите на ПСБМ, причинени от повишаване на температурата се очаква да повлияят дзета потенциала на частиците от ПСБМ. Дзета потенциалът на частиците, от своя страна, определя поведението на тези частици като носители на лекарствени вещества за очно приложение – известно е, че очната повърхност е отрицателно заредена, а сълзите имат рН~7.4. Така, лекарствени носители с положителен заряд или такива, които са неутрални, могат да осигурят по-дълго време на престой в окото, а оттам и по-голямо количество лекарствено вещество, освободено от тях, може да премине през роговицата.

Затова, температурната зависимост на  $\zeta$ - потенциал на двата вида частици от ПСБМ също беше изследвана. Резултатите, представени на Фигура 2, показват, че при стайна температура и двата вида частици са отрицателно заредени, но с повишаване на температурата техният  $\zeta$ - потенциал се увеличава и клони към нула. Тези резултати подкрепят хипотезата за самоасоцииране на ПСБМ при стайна температура и разрушаване на тези асоциати при повишаване на температурата. При стайна температура, поради образуваните асоциати между съседни макромолекули (в случая на ПСБМ лин) и части от вериги (за ПСБМ НП) (Схема 1), положително заредените групи от цвитерйонната структура се „скриват“ във вътрешността на асоциатите, оставяйки отрицателно заредените групи по повърхността. Ето защо, при температури близки до стайната ПСБМ НП и ПСБМ лин имат отрицателен  $\zeta$ - потенциал. Това обяснение е в съответствие с други подобни проучвания за материали, базирани на ПСБМ. Например, Dong et al. наблюдават отрицателен  $\zeta$ - потенциал, при стайна температура на полидисперсна колоидна система, състояща се от частици с полицвитерйонна обвивка и хидрофобно ядро. В тяхното проучване се наблюдава вариране на  $\zeta$ - потенциала от -43 mV до -19.8 mV, в зависимост от състава на изследваните частици [4]. Li et al. изследват ефекта на рН върху  $\zeta$ - потенциала на ПСБМ и установяват отрицателни стойности на  $\zeta$ - потенциала при стойности на рН ~ 6, която съответства на рН, използвано в настоящите изследвания [5]. В литературата, обаче, не бяха открити други изследвания, които да разкриват температурната зависимост на  $\zeta$ - потенциала на ПСБМ.



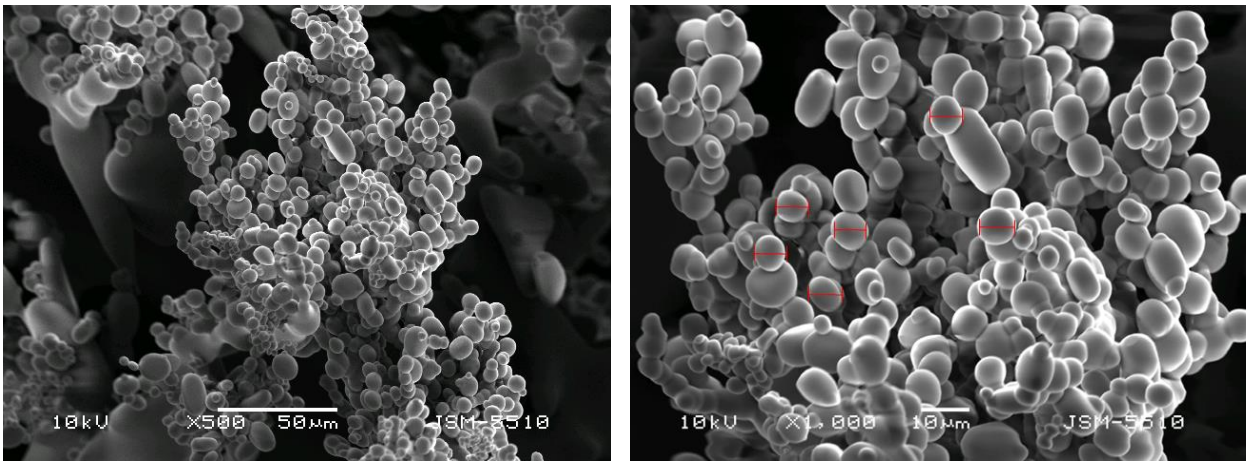
**Фигура 2.** Температурна зависимост на  $\zeta$ - потенциала на PSBM лин и PSBM НП.

При повишаване на температурата, асоциатите от PSBM се разрушават, междумолекулните дипол-диполни взаимодействия намаляват и това води до възстановяване на електронеутралността на частиците чрез формиране на вътрешномолекулни взаимодействия, по аналогия с вътрешните соли, които например аминокиселините образуват, когато са в цвистерйонната си форма.

Ако сравним  $\zeta$ - потенциалите на PSBM НП и PSBM лин, омрежените частици са по-слабо заредени, т.е. имат по-висок  $\zeta$ - потенциал. Това се дължи на по-компактната поради омрежването структура на PSBM НП, в сравнение с по-разперената структура на PSBM лин (Схема 1). По този начин, температурната зависимост на  $\zeta$ - потенциала е още едно доказателство за ефективното омрежване при PSBM НП.

### III.1.3 Морфология на омрежените частици от PSBM

Морфологията на PSBM НП, наблюдавана чрез сканираща електронна микроскопия (SEM) е представена на Фигура 3. Частиците омрежен PSBM са с овална форма, като на изображенията ясно се вижда слепване между отделните частици. Това наблюдение съответства на предположението за самоасоцииране на PSBM НП (Схема 1a).

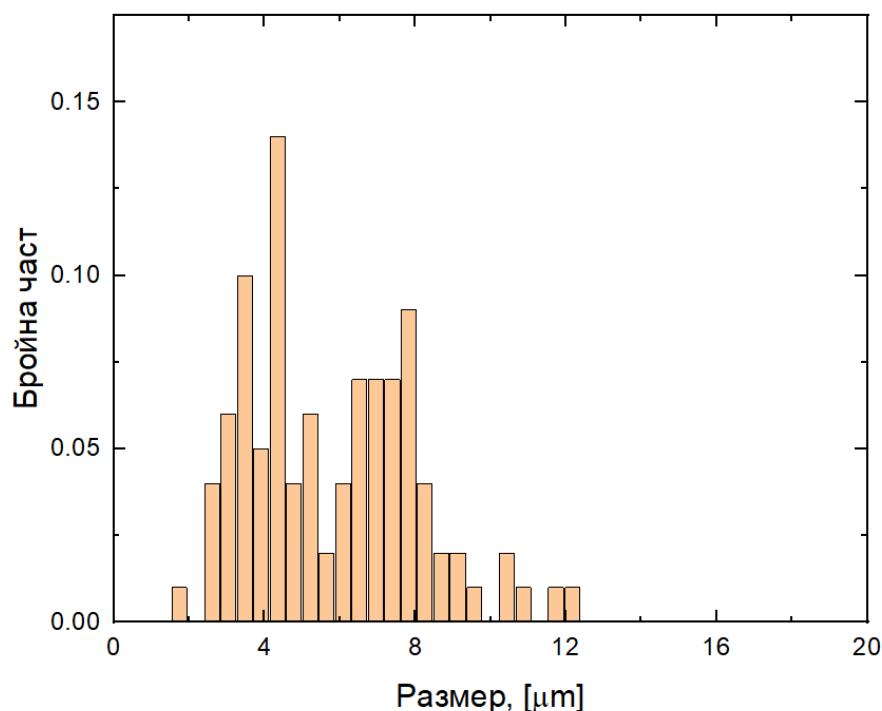


(a)

(б)

**Фигура 3.** СЕМ изображения на ПСБМ НП при увеличение: (а) x500 и (б) x1000

Средният размер на частиците ПСБМ НП бе определен като бе направено разпределение по размер на 100 частици, използвайки изображения от СЕМ. Полученото разпределение по размер е представено на Фигура 4. Наблюдава се сравнително широко разпределение, като средният диаметър бе определен, че е  $\sim 6 \mu\text{m}$ , което е сравнима стойност с резултата, за хидродинамичния диаметър получен с ДЛС при стайна температура ( $\sim 2.5 \mu\text{m}$ ). Двете стойности могат да бъдат сравнявани, тъй като СЕМ изображенията са направени на лиофилизирани ПСБМ НП частици, които преди замразяване са съхранявани при стайна температура.

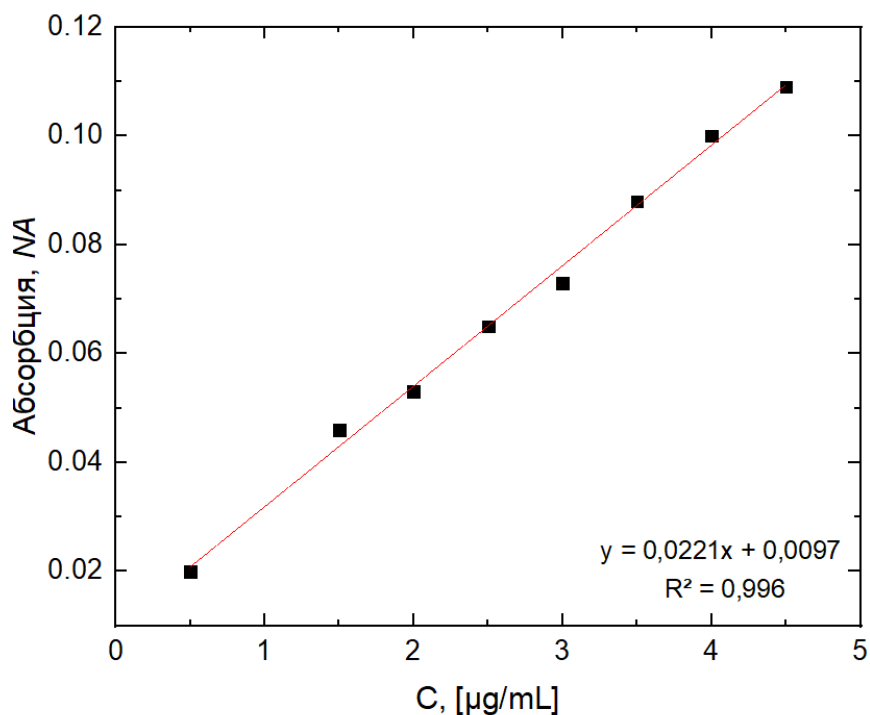


**Фигура 4.** Разпределение по размер на 100 частици ПСБМ НП, направено на база на СЕМ изображения

Трябва да се отбележи, че бе направен опит да се изследва морфологията на ПСБМ лин, но те бяха нестабилни под електронния лъч и опитът бе неуспешен.

#### *III.1.4 Построяване на калибрационна права за тимолол малеат (ТМ) при 298 nm*

Бе построена калибрационната права за ТМ с помощта на стандартни разтвори на лекарственото вещество с концентрации: 0.5 µg/ml, 1 µg/ml, 1.5 µg/ml, 2 µg/ml, 2.5 µg/ml, 3 µg/ml, 3.5 µg/ml, 4 µg/ml, 4.5 µg/ml и 5 µg/ml. Абсорбциите на стандартните разтвори, измерени с помощта на UV спектрофотометър, при дължина на вълната 298 nm бяха използвани за построяване на зависимостта им от концентрацията на ТМ (Фигура 5).



**Фигура 5.** Калибрационна права на ТМ, получена при 298 nm

По полученото уравнение на правата се изчисляват количествата на ненатовареното лекарствено вещество ТМ, останало в супернатантата след центрофугиране на разтвора, в който е извършено натоварването на наночастиците от ПСБМ, а оттам се определя и количеството ТМ, натоварено в съответната проба.

### *III.1.5 Ефективност на лекарствено натоварване (ЕЕ) и капацитет на лекарствено натоварване (КЛН) на частици от ПСБМ с тимолол малеат*

Ефективността на натоварване, както и капацитетът на натоварване на ТМ в частиците ПСБМ лин и ПСБМ НП, са представени в Таблица 1. Резултатите показват, че ПСБМ лин проявява както по-висока ЕЕ, така и по-голям капацитет на натоварване на ТМ.

**Таблица 1.** Ефективност и капацитет на натоварване на ТМ в ПСБМ частици

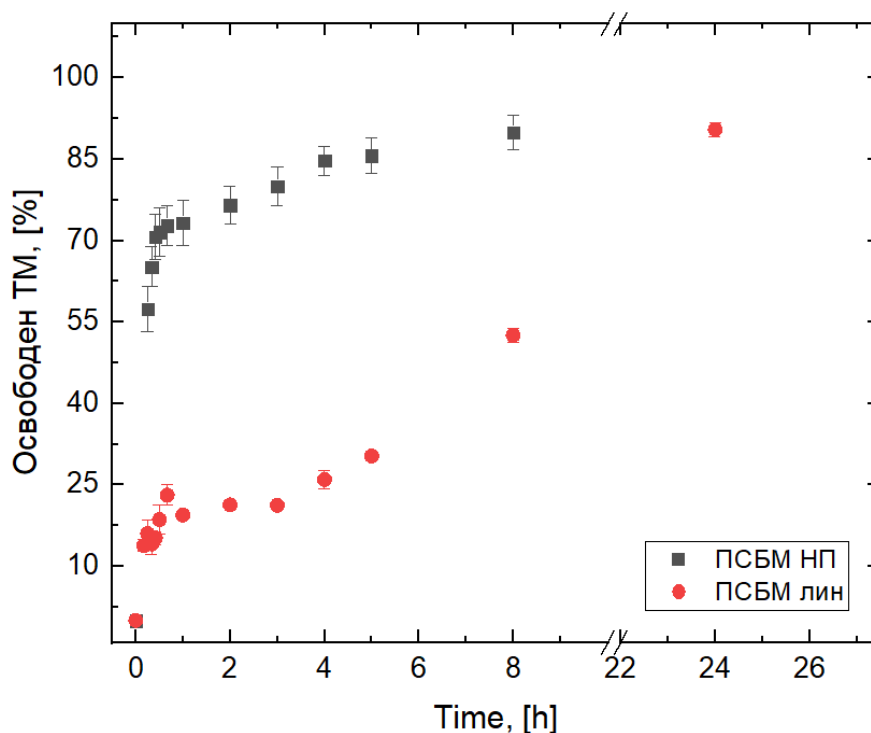
<b>Проба</b>	<b>ЕЕ [%]</b>	<b>КЛН [%]</b>
<b>ПСБМ НП</b>	23 ± 3.5	2.5 ± 0.33
<b>ПСБМ лин</b>	31 ± 1.9	3.2 ± 1.7



От една страна, това се дължи на омережената структура на ПСБМ НП, която определя по-трудно навлизане на ТМ в частиците при натоварване. От друга страна, пониският  $\zeta$ - потенциал, който притежава ПСБМ лин, обуславя повече отрицателни заряди по повърхността на частиците, които могат да взаимодействат с положително заредения ТМ. Тези два фактора водят до подобряване както на ефективността на натоварване на ТМ, така и до увеличаването на капацитета на частиците от линеен ПСБМ да натоварват ТМ.

### III.1.6 Профил на освобождаване на ТМ от ПСБМ частици

Профилите на освобождаване на ТМ от двата типа частици ПСБМ са представени на Фигура 6. Експериментът беше извършен в среда, която имитира условията на повърхността на човешкото око – физиологичен фосфатен буфер с  $pH = 7.4$  и температура  $36 \pm 0.5$  °C.



**Фигура 6.** Профили на освобождаване на ТМ от частици ПСБМ НП и ПСБ лин в условия, имитиращи очно приложение

При профила на освобождаване на ТМ от ПСБМ НП се наблюдава първоначален „бърст“ ефект на освобождаване, като през първите 10 минути около 50% от лекарственото вещество бива освободено. След това освобождаването се забавя и следва почти линеен профил. В рамките на 9 часа, около 90% от ТМ е освободен от носителя.

Наблюдаваният „бърст“ ефект при омрежените частици от ПСБМ вероятно е свързан с натрупването на повече ТМ върху повърхността на частиците, което лекарствено вещество (ЛВ) след това лесно и изведнъж се отделя при промяна в условията на средата, т.е. при имитиране на очното приложение. При частиците ПСБМ лин, през първите 10 минути едва 20% от ТМ бива освободен, последвани от още 30% в рамките на 9 часа. За 24 часа се освобождават около 90% от ТМ, натоварен в ПСБМ лин. Това забавяне отново е свързано със структурата на частиците от линеен ПСБМ – те имат по-разперена конформация и за да освободят включеното в тях лекарствено вещество вероятно трябва да започнат да се разпадат, което е процес, изискващ по-дълго време. Като се има предвид потенциалното очно приложение на заредените с ТМ ПСБМ частици, можем да заключим, че ПСБМ НП показват по-подходящ профил на освобождаване, тъй като ПСБМ лин не освобождават цялото количество тимолол малеат натоварен в тях, дори в рамките на 24 часа. Така, за да осъществят желания терапевтичен ефект и да освободят цялото количество натоварен в тях ТМ, частиците от линеен ПСБМ би трябвало да престоят в окото повече от 24 часа. Задържането на частици по повърхността на окото за дълго време би могло да навреди на епителната тъкан на роговицата. Ето защо, съществуват механизми за отмиване на закрепените по повърхността на окото частици. Сълзният филм отмива такива частици, които попадат в назолакрималния канал, а оттам биват изхвърляни от окото чрез мигане. Тези механизми правят малко вероятно задържането на ПСБМ лин на повърхността на окото достатъчно дълго време, за да успеят да освободят достатъчно ЛВ, за да се поддържа необходимата терапевтична доза. От друга страна, ПСБМ НП освобождава първоначална доза от 50% от включения тимолол малеат, благодарения на „бърст“ ефекта, а след това останалата част от лекарството се освобождава под формата на поддържаща доза до 9-тия час.

### *III.1.7 Кинетично изследване на профилите на лекарствено освобождаване на ТМ от частици от ПСБМ*

Четири основни кинетични модела бяха приложени за получените профили на освобождаване на ТМ от двата типа частици от ПСБМ (Фигура 6), като резултатите са представени в Таблица 2. Кинетичният модел от първи порядък описва най-добре профилите на освобождаване на ТМ, тъй като при този модел се наблюдава най-висок корелационен коефициент. Кинетика от първи порядък за профила на освобождаване означава, че скоростта на освобождаване на ТМ е пропорционална на концентрацията му, т.е. колкото по-голямо е количеството на натоварения ТМ, толкова по-бързо е

неговото освобождаване [6]. По-детайлна оценка на профилите на освобождаване на ТМ от двата вида частици от ПСБМ може да бъде направена, като се приложи моделът на Корсмайер-Пепас. Дифузионните показатели ( $n$ ) и за двата ПСБМ носителя са по-малки от 0.45, което показва квази-Фиков дифузионен механизъм на освобождаване на ТМ от ПСБМ частиците, т.е. механизъмът на освобождаване на ТМ се контролира главно от дифузията на лекарството, тъй като тя е много по-бърза от времето, необходимо за релаксацията на полимерните вериги.

**Таблица 2.** Кинетични модели, описващи профилите на освобождаване на ТМ от ПСБМ НП и ПСБМ лин

Модел/Проба		ПСБМ НП	ПСБМ лин
Нулев порядък	$K_0,$ [ $\mu\text{g}/(\text{ml}\cdot\text{h})$ ]	3.3446	3.2234
	$R_0^2$	0.775	0.963
Първи порядък	$K_1,$ [ $\text{h}^{-1}$ ]	-0.0706	-0.0394
	$R_1^2$	0.9201	0.974
Модел на Хигучи	$K_H$	11.27	16.122
	$R_H^2$	0.868	0.913
Модел на Корсмайер- Пепас	$K_{KP}$	73.0299	21.365
	$n$	0.1016	0.3271
	$R_{KP}^2$	0.891	0.827

Възможно обяснение на този факт е, че дифузията на ТМ се влияе главно от функционалността на полимерните носители, например от електростатичните взаимодействия между положително заредените молекули на лекарственото вещество и отрицателните заряди в ПСБМ веригите, които могат да забавят или ускорят освобождаването на ЛВ, в зависимост от условията на външната среда, които повлияват конформацията на цвитерйонните молекули, а оттам и наличните заряди. Така дифузията на ТМ е контролиращият параметър за освобождаването му от двата вида частици от ПСБМ [7].

## III.2. Съполимерни хидрогелове

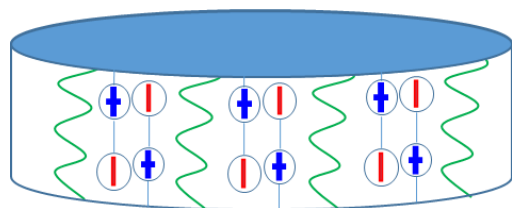
### III.2.1 Равновесна степен на набъбване (РСН) на хидрогелове на поли(СБМ-съ-ВП) и на ПСБМ

Равновесната степен на набъбване в дестилирана вода на трите съполимерни хидрогела, както и РСН на хидрогелове на ПСБМ са представени в Таблица 3. Данните показват, че с намаляване на молното съдържание на звената от винил пиролидон (ВП) в съполимерния хидрогел, РСН намалява.

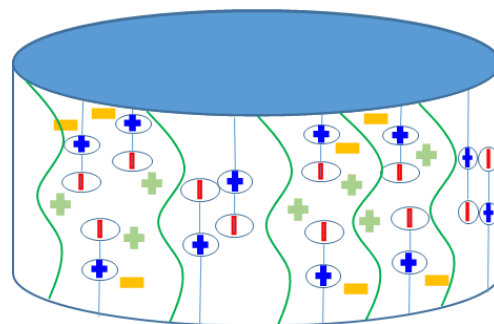
**Таблица 3.** Равновесна степен на набъбване на хидрогеловите, в дестилирана вода при стайна температура

Проба	РСН
СВ1-2	$2.55 \pm 0.02$
СВ1-1	$2.2 \pm 0.03$
СВ2-1	$1.98 \pm 0.02$
ПСБМ	$1.72 \pm 0.04$

Тази тенденция може да бъде обяснена с особеностите на двете мономерни звена, от които е изграден съполимерът: (i) ВП е по-хидрофилен в сравнение със СБМ, а (ii) СБМ може да образува физична мрежа, чрез формирането на дипол-дипол цвистерйонни клъстери (Схема 2). Образуването на тези физични възли допълнително увеличава гъстотата на хидрогелната мрежа, което ограничава навлизането на молекули вода в нея, а оттам се намалява и РСН. По този начин и двата фактора водят до наблюдаваното намаляване на РСН на хидрогеловите на поли(СБМ-съ-ВП) в дестилирана вода.



ПСБМ в H<sub>2</sub>O, 25 °C



ПСБМ във ФФБ\*, 37 °C

\*ФФБ – физиологичен фосфатен буфер

**Схема 2.** Дипол-диполни цвтерийонни клъстери, играещи ролята на физични възли в мрежата на ПСБМ, които ограничават набъбването

Може да бъде обобщено, че подходящият избор на компонентите на съполимерната мрежа, както и молното съотношение между тях позволява контрол върху способността за набъбване на новоразработените съполимерни хидрогелове.

### III.2.2 Модул на еластичност (ME) на съполимерните хидрогелове поли(СБМ-съ-ВП)

Модулът на еластичност на съполимерните хидрогелове СБМ-съ-ВП, намиращи се в тяхната РСН в дестилирана вода, бе определен следвайки контактната теория на Херц. Резултатите показват слабо увеличение на модула на еластичност, с увеличаване на молното количество на мономерните звена от СБМ в съполимерните хидрогелове, като мрежата от ПСБМ има най-висок ME (Таблица 4). Това може да се обясни с увеличаването на броя на дипол-диполни клъстери (Схема 2), което прави физичната мрежа в съполимерите по-гъста и така съдържанието на мономерните звена на СБМ повлиява върху свойствата на съполимерните мрежи.

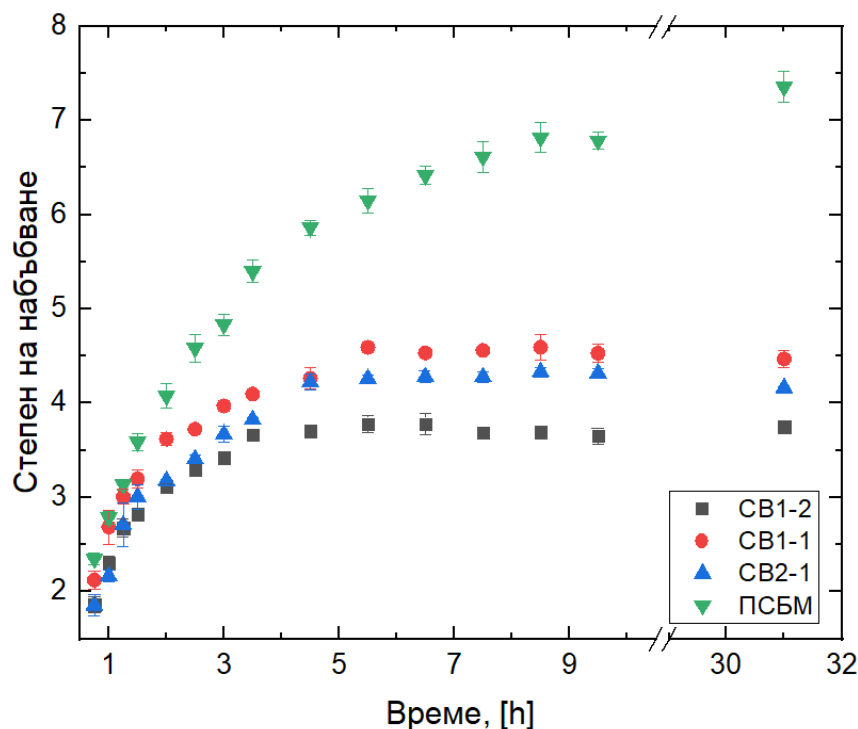
**Таблица 4.** Модул на еластичност на хидрогелове на поли(СБМ-съ-ВП) и ПСБМ, измерен при тяхната РСН в дестилирана вода при стайна температура

Проба	Модул на еластичност [MPa]
СВ1-2	8.82 ± 0.04
СВ1-1	8.78 ± 0.09
СВ2-1	9.07 ± 0.05
ПСБМ	9.22 ± 0.04

Този резултат е в съответствие със стойностите на РСН, представени в Таблица 3, където ясно се наблюдава увеличаване на гъстотата на физичната мрежа с увеличаване на съдържанието на СБМ мономерните звена, и поради това намаляване на способността за набъбване на съполимерите.

### *III.2.3 Кинетика на набъбване на поли(СБМ-съ-ВП) хидрогелове*

За да се изясни поведението на съполимерните хидрогелове в условия, еднакви с условията на *in vitro* освобождаване на ТМ, беше изследвана кинетиката на набъбване на поли(СБМ-съ-ВП) хидрогелове, в среда от физиологичен фосфатен буфер (ФФБ) и температура 37 °С (Фигура 7). За сравнение, кинетиката на набъбване на мрежа от ПСБМ също беше изследвана при тези условия. Хидрогелът на ПСБМ набъбва най-много при тези условия, в сравнение със съполимерните хидрогелове (Фигура 7), въпреки че има най-ниската равновесна степен на набъбване в дестилирана вода (Таблица 3). Това може да се обясни със съществуващата физична мрежа в ПСБМ, образувана чрез дипол-диполните клъстери (Схема 2). Тези клъстери са стабилни в дестилирана вода при стайна температура, но се разрушават (i) при повишаване на температурата, в случая 37 °С, като същият процес на разрушаване на дипол-диполните клъстери се крие и зад поведението на горната критична температура на разтваряне, наблюдавана за ПСБМ [8] и (ii) при добавяне на нискомолекулна сол, в случая, ФФБ, използван при експеримента е приготвен от смес от неорганични соли. За сравнение, данните за РСН представени в Таблица 3 са получени за набъбване в дестилирана вода. По този начин две от условията, използвани в експеримента, проследяващ кинетиката на набъбване, разрушават физичната мрежа, създадена между мономерните звена на СБМ и затова хидрогелът, съдържащ най-голямо количество СБМ, набъбва значително повече както в сравнение със съполимерните хидрогелове, така и в сравнение с набъбването си в дестилирана вода (Схема 2).



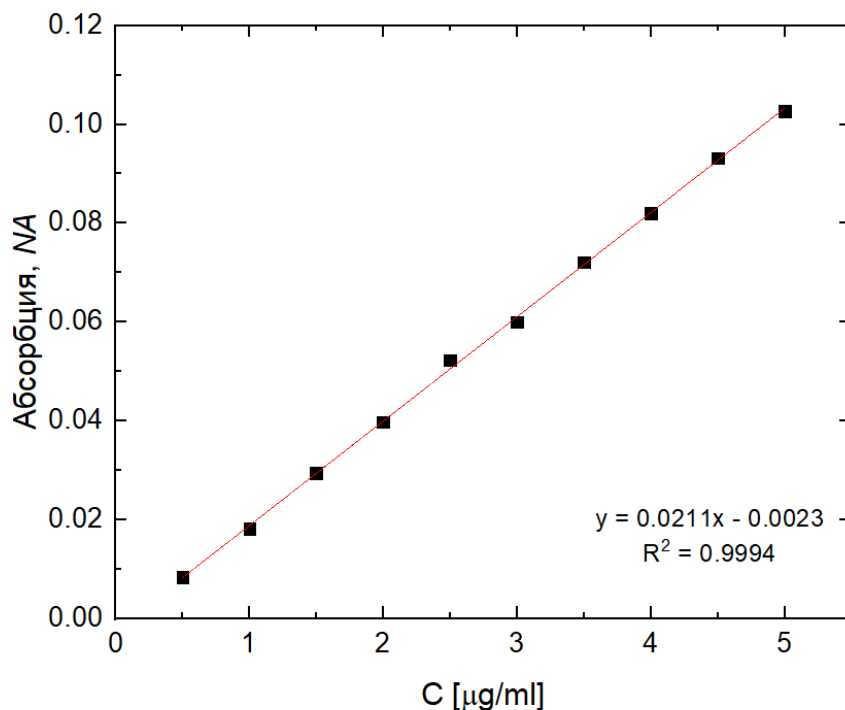
**Фигура 7.** Кинетика на набъбване на поли(СБМ-съ-ВП) и ПСБМ хидрогелове във ФФБ при 37°C

Съполимерните хидрогелове имат по-малък начален наклон на кривите, описващи кинетиката им на набъбване, както и по-ниски стойности на степента на набъбване, в сравнение с мрежата от ПСБМ. Подобно на чистите ПСБМ мрежи, степените на набъбване на съполимерните хидрогелове във ФФБ при 37 °C (Фигура 7) са по-високи, отколкото способността им да набъбват в дестилирана вода (Таблица 3). Причината отново е разрушаването на физичната мрежа, определена от наличието на сулфобетаинови мономерни звена, въпреки че в съполимерите броят на дипол-диполните клъстери е по-малък в сравнение с този в хидрогела на ПСБМ. Следователно, най-малко набъбване може да се очаква при съполимерния хидрогел с най-ниско съдържание на СБМ мономерни звена, а именно при СВ1-2. Тъй като в този хидрогел количеството на СБМ мономерни звена е най-малко, повишаването на температура и концентрацията на сол наистина влияят най-слабо върху неговото набъбване.

Интересно е да се отбележи, че двата други съполимерни хидрогела, а именно СВ1-1 и СВ2-1, имат много близки профили на времева зависимост на степените им на набъбване. Това означава, че двата фактора, описани по-горе, а именно различната хидрофилност на двете мономерни звена, както и физичната мрежа, образувана от СБМ, имат сравними ефекти. Тъй като обаче тези ефекти се „противопоставят“ един на друг, то нито един от тях не превъзхожда другия в тези образци.

### III.2.4 Построяване на калибрационна права за ТМ при 294 nm

По аналогичен начин, описан в точка III.1.4 бе построена калибрационна права за ТМ при дължина на вълната 294 nm (Фигура 8).

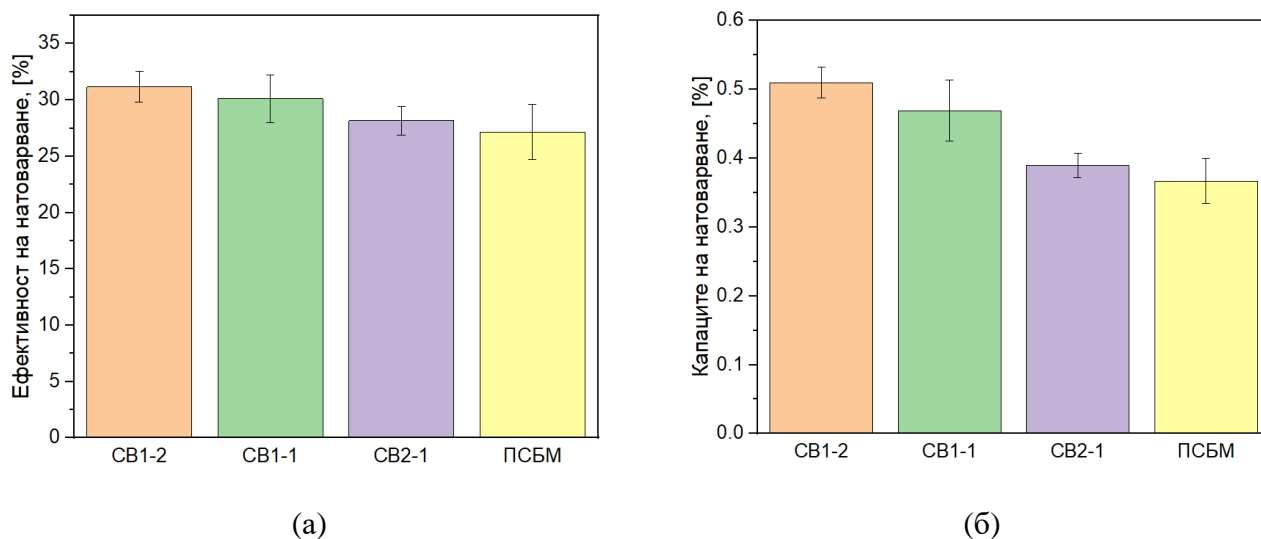


**Фигура 8.** Калибрационна права за тимолол малеат, при 294 nm

### III.2.5 Ефективност (ЕЕ) на лекарствено натоварване и капацитет на натоварване (КЛН) на ТМ в съполимерните поли(СБМ-съ-ВП) хидрогелове

На Фигура 9 (а) и (б) са представени резултатите, получени съответно за ефективността на натоварване и капацитетът на натоварване на ТМ в хидрогелите. Резултатите не показват ясна зависимост на ефективността на натоварване от състава на съполимера – и трите съполимерни хидрогела имат ЕЕ ~ 30%, като хидрогелът на ПСБМ има най-ниска ЕЕ.





**Фигура 9.** Ефективност на натоварване на ТМ (а) и капацитет на натоварване на ТМ (б) в съполимерните хидрогелове. За сравнение са представени и данните за ПСБМ

Зависимостта на КЛН от състава на хидрогеловите, Фигура 9б, може да се обясни или с (i) взаимодействия между мономерните звена на ВП и ТМ, например образуване на водородни връзки и/или (ii) с по-големия капацитет на набъбване на богатите на ВП съполимерни мрежи, което подобрява дифузията на ТМ в тях, т.е. извършва се чисто дифузионно натоварване на ТМ в полимерните хидрогелове. Последното предположение корелира добре с резултатите получени за РСН, представени в Таблица 3, които демонстрират по-високата способност на богатите на ВП мономерни звена съполимерни мрежи да набъбват повече в дестилирана вода (натоварването с ТМ се извършва в дестилирана вода). По този начин зависимостта на КЛН от състава на съполимера може да се обясни, от една страна, с повишената способност за набъбване на съполимерната мрежа, съдържаща повече мономерни звена ВП. Това позволява на повече молекули ТМ да навлязат в мрежите, като по този начин се увеличава КЛН. От друга страна, образуването на физична мрежа с участието на СБМ мономерни звена в съполимера определя по-висока степен на омрежване на богатите на СБМ съполимерни мрежи и по този начин предотвратява дифузията на ТМ в тях.

Бяха направени допълнителни експерименти, за да се провери до каква степен концентрацията на разтвора на ТМ, използван за натоварване на съполимерните мрежи, влияе върху съответните ЕЕ и КЛН. Резултатите показват, че е възможно да се постигне по-висока ефективност на натоварване на ТМ, чрез увеличаване на концентрацията на лекарственото вещество в изходния разтвор, в който се натоварват полимерните мрежи. В литературните източници, които бяха проучени преди планирането на

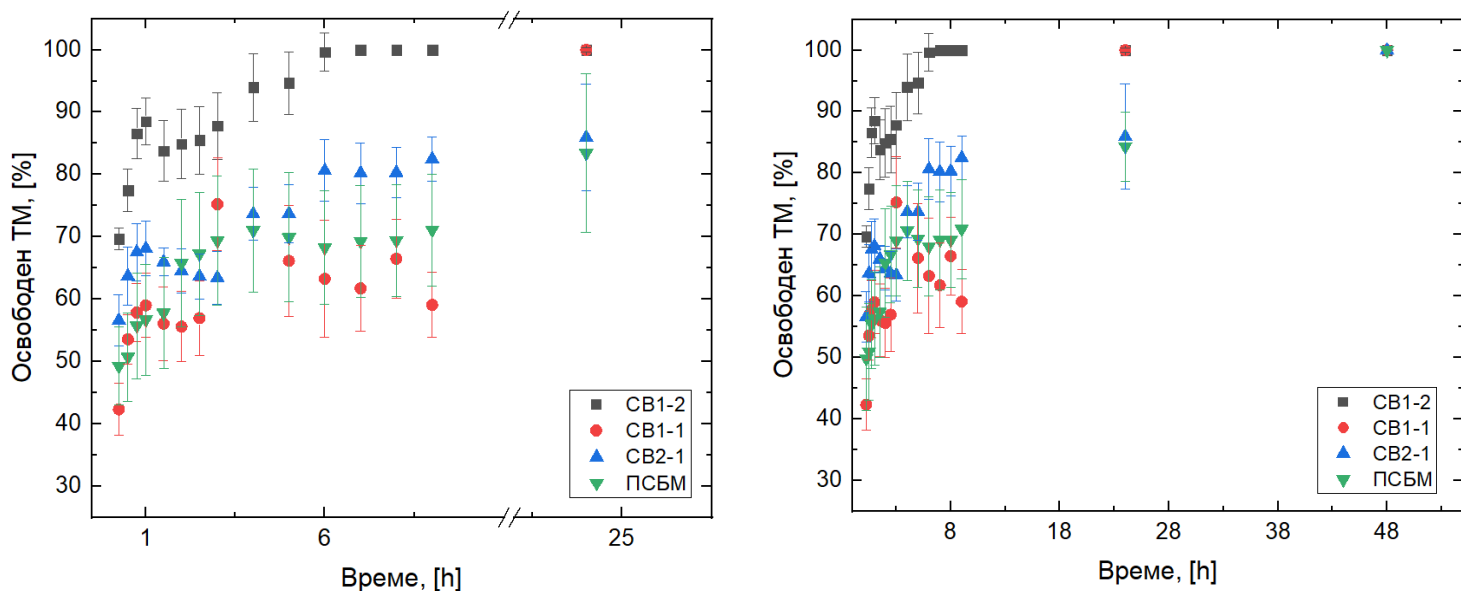
експериментите, използваните количества за натоварване на ТМ в различни носители са много малки, например 8 – 19  $\mu\text{g/ml}$  [9] или серия от концентрации: 100  $\mu\text{g/ml}$ , 200  $\mu\text{g/ml}$ , 500  $\mu\text{g/ml}$  и 1000  $\mu\text{g/ml}$  [10]. Последната статия показва, че въпреки че количеството на натовареното лекарствено вещество се увеличава, профилите му на освобождаване не се променят. Това означава, че самата доза на освобождавания ТМ може да се контролира и чрез началната концентрация на ТМ в разтвора, в който се извършва натоварването, но това не би променило профила му на освобождаване.

Най-често предписваният на пациентите с глаукома офталмологичен разтвор на тимолол малеат е с концентрация 0.125%, като той трябва да се прилага 2 пъти на ден. Това осигурява дневна доза на ТМ приблизително 125 $\mu\text{g}$ . Както вече бе споменато по-горе, бионаличността на ТМ, осигурена чрез капки за очи, е по-малко от 5%, обикновено около 1–2%, което означава, че дневният прием на ТМ е около 2.5  $\mu\text{g}$  [11]. От друга страна се счита, че около 50% от лекарственото вещество, доставено чрез меки контактни лещи за очи, достига до роговицата на окото [12]. Имайки предвид тези съображения, направихме прости математически изчисления за количеството ТМ, което биха доставили в окото съполимерните хидрогелове на поли(СБМ-съ-ВП), ако са приложени като ТМ-доставяща система за тимолол малеат под формата на меки контактни лещи за очи. Тези изчисления показаха, че лекарственото вещество ТМ, натоварено в съполимерните хидрогелове, е около 300  $\mu\text{g}$ , като за ефективност на натоварване бе приета средната стойност от 30%. Това прави доза от 210  $\mu\text{g}$  ТМ, от които 105  $\mu\text{g}$  биха достигнали роговия слой, при средно 70% кумулативно освобождаване на лекарственото вещество. Това убедително илюстрира потенциала на получените нови поли(СБМ-съ-ВП) хидрогелове като лекарстводоставящи системи за ТМ, прилагани под формата на контактни лещи за очи.

### *III.2.6 Профил на освобождаване на ТМ от съполимерни хидрогелове на поли(СБМ-съ-ВП)*

Профилите на освобождаване на ТМ от съполимерните хидрогелове са представени на Фигура 10. Всички проби проявяват „бърст“ ефект, тъй като в рамките на първите 30 минути повече от 40% от натоварения ТМ се освобождава. След първоначалното експлозивно освобождаване, обаче, то се забавя и проявява ясна зависимост от състава на съполимерите. Колкото по-високо е съдържанието на СБМ, толкова по-бавно е освобождаването на ТМ (Фигура 10 (a)). Времето, необходимо за

постигане на пълно освобождаване на лекарството, също зависи от съполимерния състав: двете проби с най-високо съдържание на СБМ, а именно СВ2-1 и ПСБМ, достигат пълно освобождаването на ТМ за 48 часа (Фигура 10 б).



(а)

(б)

**Фигура 10.** Профили на освобождаване на ТМ от съполимерните хидрогелове за период от (а) 24 часа и (б) 48 часа

От друга страна, пробата с най-високо съдържание на ВП, СВ1-2, освобождава най-бързо лекарственото вещество (за ~ 6 часа). Това не е напълно очаквано, тъй като кривата от кинетиката на набъбване на тази проба, в условия наподобяващи условията на освобождаване на ТМ, показва най-бавно набъбване, както и най-ниска степен на набъбване, от трите съполимерни хидрогела (Фигура 7). Ето защо, ако освобождаването на ТМ зависи само от неговата дифузия, дефинирана от способността за набъбване на полимерната мрежа при условията, използвани за експеримента за освобождаване на ТМ, СВ1-2 трябва да е най-бавно освобождаващият ТМ хидрогел. Този резултат може от една страна да се дължи на взаимодействие лекарствено вещество – полимер, но от друга – на разпадането на физичната мрежа, дължаща се на мономерните звена на СБМ. Това разпадане протича едновременно с процеса на набъбване и лекарствено освобождаване, като също оказва влияние върху профила на освобождаване на ТМ. В подкрепа на това обяснение е и фактът, че двете съполимерни мрежи, където мономерните звена на СБМ са 1:1 или преобладават спрямо тези на ВП забавят освобождаването на ТМ в сравнение с тази, в която преобладават мономерните звена на ВП. Съполимерният хидрогел СВ1-1, където съотношението между мономерните звена

СБМ и ВП е 1:1, освобождава ТМ много по-бавно след първоначалния „бърст“ ефект – около 60% от ТМ се освобождават през първите 9 часа и 100% от ТМ са освободени за 24 часа (Фигура 10а).

Съполимерният хидрогел с най-високо съдържание на СБМ, СВ2-1, освобождава ТМ по-бързо от СВ1-1, но по-бавно от СВ1-2 през първите 9 часа, вероятно точно поради факта, че е необходимо време, за да се разруши физичната мрежа на СБМ. След 9-ия час, обаче, СВ2-1 освобождава ТМ много по-бавно и 100% от ТМ се освобождават от този хидрогел след 48 часа (Фигура 10 (б)). Профилът на освобождаване на ТМ от съполимерния хидрогел СВ2-1 много прилича на освобождаването на лекарственото вещество от чистата ПСБМ мрежа (Фигура 9), като и двата хидрогела освобождават цялото натоварено количество ТМ за 48 часа (Фигура 10 (б)). Количеството ТМ, освободено от тях през първите 9 часа също е сравнимо (Фигура 10).

Получените профили на освобождаване на ТМ от съполимерните хидрогелове (Фигура 10) могат да бъдат свързани с количеството СБМ мономерни звена в тях, тъй като именно те могат да образуват физична мрежа, която допълнително би затруднила освобождаването на ТМ. Тази физична мрежа не е статична, тъй като тя постепенно се разрушава под действие на температурата и концентрацията на сол (част от експерименталните условия на експеримента за освобождаване на ТМ). Необходимо е известно време, за да може цвитерйонната физична мрежа да бъде разрушена и съполимерния хидрогел да освобождава все повече и повече ТМ, което удължава времето за освобождаване на лекарственото вещество до 48 часа, в случаите, където съдържанието на СБМ мономерни звена е най-високо. По този начин Фигура 9 добре илюстрира влиянието на сулфобетаиновите мономерни звена върху профилите на освобождаване на ТМ.

### *III.2.7 Кинетични изследвания на профилите на освобождаване на ТМ от съполимерните хидрогелове*

Профилите на освобождаване на ТМ от съполимерните хидрогелове бяха изследвани чрез прилагане на основните математически модели, описващи кинетиката на освобождаване на лекарствени вещества от носители (Таблица 5). Нито един от четирите използвани модела не описва идеално профилите на освобождаване на ТМ, представени на Фигура 10. При дифузионният модел на Хигучи са получени най-високи корелационни коефициенти за четирите изследвани проби, което е донякъде очаквано,

тъй като дифузионният модел на Хигучи е разработен именно за хидрогелни лекарстводоставящи систем.

Моделът на Корсмайер-Пепас също показва високи корелационни коефициенти, особено за пробите СВ2-1 и ПСБМ, но той не може да бъде приложен за пробата СВ1-2, където „бърст“ ефектът на освобождаване на ТМ е твърде голям (почти 70% от лекарството е освободено през първите 15 минути). Дифузионните показатели ( $n$ ) за изследваните хидрогелове са по-малки от 0.45, което показва квазификова дифузия на ТМ при освобождаването му от съполимерните гелове. Това означава, че времето за дифузия на ТМ извън хидрогелите е много по-бързо, отколкото времето, необходимо за релаксация на макромолекулните вериги в хидрогела [7].

**Таблица 5.** Кинетични модели, описващи профилите на освобождаване на ТМ от СБМ-съ-ВП хидрогелове

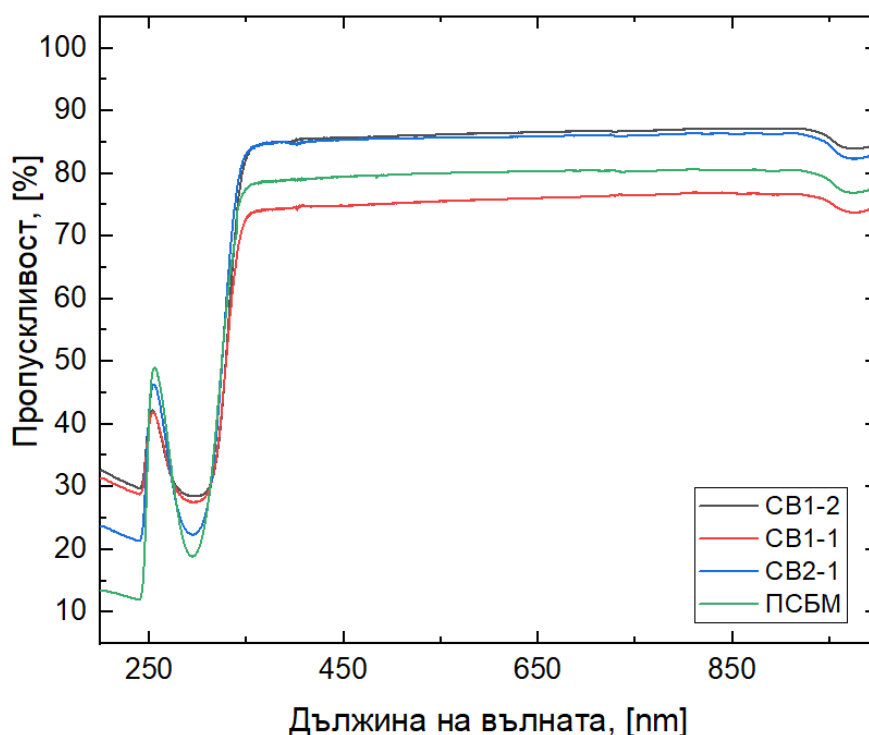
Модел/Проба		СВ1-2	СВ1-1	СВ2-1	ПСБМ
Нулев порядък	$K_0$ [ $\mu\text{g}/(\text{ml}\cdot\text{h})$ ]	1.023	1.826	1.163	1.227
	$R_0^2$	0.775	0.739	0.619	0.644
Първи порядък	$K_1$ [ $\text{h}^{-1}$ ]	0.005	0.011	0.0069	0.008
	$R_1^2$	0.408	0.662	0.584	0.574
Модел на Хигучи	$K_H$	6.721	9.268	8.974	7.321
	$R_H^2$	0.678	0.691	0.812	0.829
Модел на Корсмайер- Пепас	$K_{KP}$	-	54.475	70.958	56.079
	$n$	-	0.104	0.162	0.099
	$R_{KP}^2$	-	0.551	0.998	0.913

Това заключение е в съответствие с наблюдаваното влияние на съдържанието на мономерни звена от СБМ върху освобождаването на ТМ. Образуваната цвитерйонна физична мрежа, дължаща се на наличието на СБМ в носителите, „втвърдява“

съполимерната матрица, което води до задържане на лекарственото вещество вътре в хидрогела. Колкото по-"втвърдена" е полимерната мрежа, толкова по-голяма ще бъде разликата между скоростите на дифузия на ТМ и релаксацията на полимерните вериги. Тъй като *in vitro* условията на освобождаване (температура и ФФБ) започват да разрушават сулфобетайиновите клъстерите, лекарството се освобождава постепенно и започва да напуска хидрогела, като по този начин съдържанието на мономерни звена от СБМ силно повлиява профила на освобождаване на ТМ.

### III.2.8 Прозрачност на натоварените с ТМ хидрогелове на поли(СБМ-съ-ВП) и ПСБМ

Приложението на хидрогелове на поли(СБМ-съ-ВП) като лекарстводоставящи контактни лещи за очи изисква те да са прозрачни и да не замъгляват зрението на пациентите. Ето защо беше измерена пропускливостта на светлина през натоварените с ТМ съполимерни хидрогелове (Фигура 11).

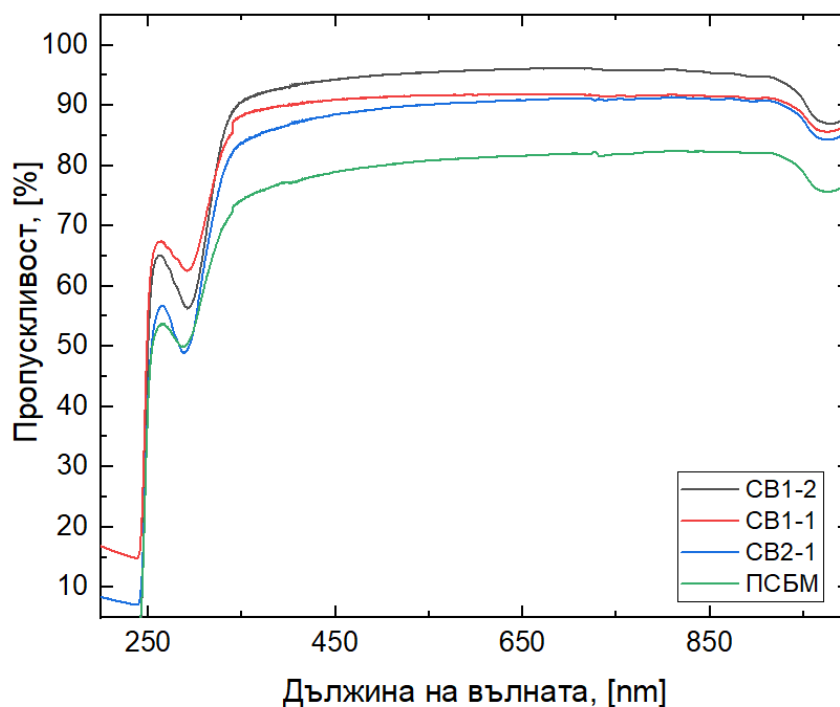


**Фигура 11.** Трансмисионни спектри на натоварените с ТМ хидрогелове на поли(СБМ-съ-ВП) и ПСБМ

Абсорбцията на ТМ, натоварен в съответните хидрогелове, се наблюдава ясно с абсорбционен максимум при 294 nm. Резултатите, представени на Фигура 11 показват, че във видимата област от спектъра, хидрогелът на СВ1-1 притежава най-ниска прозрачност, около 70%. Хидрогелът ПСБМ, натоварен с ТМ, има прозрачност около

75%, докато хидрогелове на СВ1-2 и СВ2-1 имат по-висока пропускливост на светлина, която е приблизително 85%. Прозрачност от 85% е достатъчна, за да осигури ясно виждане през материалите, когато те се използват като контактни лещи за очи. Gulsen et. al определят, че пропускливостта на конвенционалните меки контактни лещи, направени от ПХЕМА, е 87% [13]. Друго изследване на Zhu et al. [14] показва, че пропускливост, по-висока от 67%, не влияе на оптичните свойства на материалите, т.е. те могат да бъдат използвани за направата на контактни лещи. Съполимерните хидрогелове СВ1-2 и СВ2-1 са с най-висока прозрачност, въпреки че другите два хидрогела също биха били добри потенциални материали за меки контактни лещи за очи.

Пропускливостта на полимерните хидрогелове беше определена и след 5 часа освобождаване на ТМ, т.е. след като част от натоварения ТМ напуска хидрогела, за да се провери дали процесът на лекарствено освобождаване ще повлияе на прозрачността на съполимерните хидрогелове. Резултатите, представени на Фигура 12 показват, че пропускливостта на всички СБМ-съ-ВП съполимерни хидрогелове се увеличава след 5 часа освобождаване на ТМ, най-вероятно поради намаляването на съдържанието на лекарствено вещество, а не на процеси, случващи се в мрежите. Тук трябва да се напомни, че експериментът, проследяващ лекарственото освобождаване започва от набъбнало състояние на хидрогелове, така че те не променят значително обема и дебелината си, което би могло да създаде дискомфорт на пациента.



**Фигура 12.** Трансмисионни спектри на натоварени с ТМ хидрогелове след 5 часа лекарствено освобождаване във ФФБ и при температура 37 °С

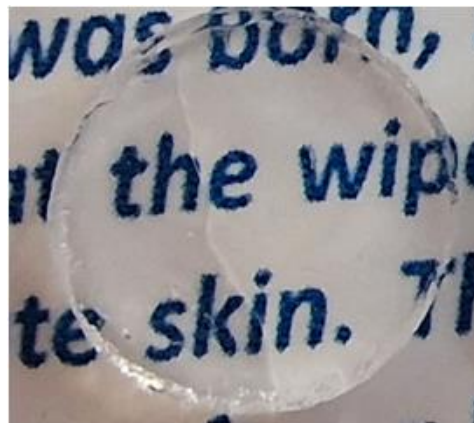
Пробата, която след 5 часа на освобождаване на ТМ има най-високо съдържание на лекарствено вещество (ПСБМ) (Фигура 10), показва най-ниска пропускливост (Фигура 12), въпреки че има най-висока степен на набъбване при определяне на кинетиките на набъбване (Фигура 7), т.е. тя би трябвало да има и най-висока степен на набъбване при този експеримент. От друга страна, хидрогелът, който след 5 часа е освободил ~ 95% от натовареното лекарствено вещество, има най-висока прозрачност, а именно СВ1-2 има 95% пропускливост (Фигура 12). Така, резултатите на Фигура 12 показват, че пропускливостта на съполимерните хидрогелове се увеличава след освобождаване на ТМ за всички съполимерни хидрогелове, но не се променя за хидрогела на ПСБМ. По този начин може да се очаква, че освобождаването на ТМ няма да влоши нито пропускливостта на светлина на хидрогеловите, нито комфорта при носене – след 5 часа време на освобождаване на ТМ не се наблюдава уловима промяна в дебелината на хидрогеловите.

Допълнително доказателство за прозрачността на съполимерните хидрогелове са фотографските снимки представени на Фигура 13. Тези снимки ясно показват, че хидрогеловите са напълно прозрачни, когато са натоварени с ТМ, т.е. преди да започне освобождаването му.

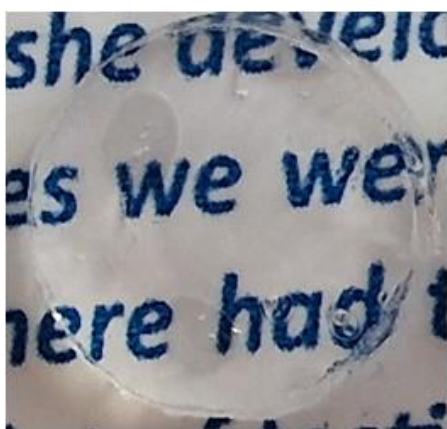




(a)



(б)



(в)



(г)

**Фигура 13.** Фотографски изображения на натоварените с ТМ хидрогелове на (а) СВ1-2, (б) СВ1-1, (в) СВ2-1 и (г) ПСБМ

Допълнителни анализи на получените данни (Фигура 13) показват, че всички хидрогелове не пропускат голяма част от вълните в UV-B областта. Пропускливостта им в тази област на UV спектъра е между 19% и 28%, в зависимост от техния състав, което означава, че блокират между 72% и 81% от UV-B радиацията (Таблица 6).

**Таблица 6.** Оптична пропускливост на хидрогелове на поли(СБМ-съ-ВП) и ПСБМ, натоварени с ТМ, определена за различните части на UV и видимия спектър

<b>Проба/ Пропускливост</b>	<b>UV-B (280–315nm)</b>	<b>UV-A (316–380nm)</b>	<b>КСО* (381–460nm)</b>	<b>ДСО** (461–500nm)</b>
СВ1-2	28.55%	81.43%	85.61%	85.84%
СВ1-1	27.53%	72.12%	74.78%	75.06%
СВ2-1	22.48%	82.58%	85.16%	85.5%
ПСБМ	19.16%	77.12%	79.22%	79.70%

\*КСО- късовълнова синя област

\*\*ДСО- дълговълнова синя област

Известно е, че съществува връзката между UV-B радиацията, присъстваща в слънчевата светлина, и образуването на естествени кортикални непрозрачни места по очните лещите, т.е. „перде“ на очите. Освен това, тъй като UV-B лъчите са късовълнови и имат по-висока енергия, в сравнение с например UV-A лъчите, те силно засягат роговицата, като ускоряват загубата на епителни клетки на роговицата, което води до фотокератит [15]. Ето защо меките контактни лещи трябва да имат и UV-B защита, която обикновено се осигурява чрез добавяне на специални добавки, които филтрират UV-B лъчите и не позволяват досега им с роговицата. Натоварените с ТМ поли(СБМ-съ-ВП) хидрогелове проявяват присъща UV-B блокираща способност, което е допълнително предимство за тяхното потенциално приложение като меки контактни лещи.

#### IV. Изводи

- За първи път частици на хомополимер ПСБМ бяха изследвани като лекарство-оставящи системи за ТМ за очно приложение. Успешно бяха синтезирани два типа ПСБМ частици – от линеен и от химически омрежен ПСБМ. За първи път бяха определени температурната зависимост на хидродинамичния размер на частиците ПСБМ, както и температурната зависимост на техния  $\zeta$ - потенциал. Тези зависимости са обяснени с асоциацията на частиците от ПСБМ, която зависи от температурата. Частиците от линеен ПСБМ (ПСБМ лин) притежават по-малък хидродинамичен диаметър и по-нисък  $\zeta$ - потенциал, в сравнение с частиците от омрежен ПСБМ (ПСБМ НП), в температурния диапазон, характерен за повърхността на човешкото око. Двата типа частици показват сравнима ефективност на натоварване с ТМ - около 30% за ПСБМ лин и 23% за ПСБМ НП. Показано бе, че структурата на частиците от ПСБМ влияе върху профила на освобождаване на ТМ: омрежените частици осигуряват линейно освобождаване на ТМ между първия и деветия час, както и освобождаване на 90% от натоварения в тях тимолол малеат в рамките на първите 9 часа, докато частиците от линеен полисулфобетин метакрилат, въпреки че имат по-висока ефективност на лекарствено натоварване, освобождават едва 50% от включеното лекарствено вещество в рамките на първите 9 часа. Така, профилът на освобождаване на ТМ от ПСБМ НП се счита, че е по-подходящ за очно приложение.
- Съполимерни хидрогелове на поли(сулфобетин метакрилат-съ-винил пиридон), омрежени с поли(етилен гликол) диакрилат, с различен състав бяха успешно синтезирани за пръв път. Показано бе, че съставът на съполимерния хидрогел оказва влияние върху капацитета на натоварване с ТМ - съполимерите, богати на ВП мономерни звена, показват по-висок капацитет на лекарствено натоварване. Беше установено, че съставът на съполимера влияе и върху профила на освобождаване на ТМ: по-високото съдържание на мономерни звена от СБМ определя по-бавно освобождаване на ТМ, което бе обяснено с наличието на допълнителна физична мрежа, дължаща се на дипол-диполни кълъстери, формирани

между цвтерйонните странични групи на СБМ. Така, резултатите от дисертацията показват, че съполимерни мрежи на поли(СБМ-съ-ВП) са с много добър потенциал като лекарство-доставящи системи за тимолол малеат под формата на меки контактни лещи за очи, като чрез състава на съполимерите може да се контролира капацитетът на натоварване с ТМ и профилът му на освобождаване. Новосинтезираните съполимерни хидрогелове имат добри оптични свойства: проявяват висока пропускливост на видима светлина, като в същото време блокират вредните UV-B лъчи.

В заключение, бе показано, че и двата типа ново разработени полимерни носители удължават освобождаването на ТМ, като едновременно с това осигуряват необходимата терапевтична доза.

## V. Приноси на дисертационния труд

- За първи път са синтезирани хомополимерни омержени с поли(етиленгликол диакрилат) наночастици от поли(сулфобетайн метакрилат)
- За първи път са определени температурната зависимост на хидродинамичният размер и  $\zeta$  – потенциалът на линейни и омержени наночастици от ПСБМ
- За първи път хомополимерни линейни и омержени наночастици от ПСБМ са използвани като носители на тимолол малеат в окото
- За първи път бяха синтезирани съполимерни хидрогелове на сулфобетайн метакрилат и винил пиролидон, омержени с поли(етиленгликол диакрилат)
- За първи път тези хидрогелове бяха разглеждани като потенциални лекарство-доставящи меки контактни лещи за очи за тимолол малеат

## VI. Използвана литература:

- [1] Gokul, K.; Gurung, D.; Adhikary, P. Thermal effects of eyelid in human eye temperature model. *Journal of applied mathematics & informatics*. **2014**, 32 (5, 6), 649–63
- [2] Tkáčová M, Živčák J, Foffová P. Reference for human eye surface: temperature measurements in diagnostic process of ophthalmologic diseases. Proceedings of the 8th International Conference, Smolenice, Slovakia. *Measurements* **2011**
- [3] Yellepeddi, V. K.; Palakurthi, S. Recent advances in topical ocular drug delivery. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics* **2016**, 32 (2), 67–82.
- [4] Dong, Y.; Busatto, N.; Roth, J.; Martin-Fabiani, I. Colloidal assembly of polydisperse particle blends during drying. *Soft Matter*. **2020**, 16 (36), 8453–61.
- [5] Lewoczko, E. M.; Wang, N.; Lundberg, C. E.; Kelly, M. T.; Kent, E. W.; Wu, T.; Chen, M.-L.; Wang, J.-H.; Zhao, B. Effects of *n*-substituents on the solution behavior of poly(sulfobetaine methacrylate)s in water: Upper and lower critical solution temperature transitions. *ACS Applied Polymer Materials* **2020**, 3 (2), 867–878.
- [6] Baishya H. Application of mathematical models in drug Release kinetics of carbidopa and Levodopa ER Tablets. *Journal of Developing Drugs* **2017**, 6 (02)
- [7] Permanadewi, I.; Kumoro, A.; Wardhani, D.; Aryanti, N. Modelling of controlled drug release in gastrointestinal tract simulation. *Journal of Physics: Conference Series* **2019**, 1295, 012063
- [8] Taka, E.; Karavasili, C.; Bouropoulos, N.; Moschakis, T.; Andreadis, D.D.; Zacharis, C.K.; Fatouros, D.G. Ocular co-delivery of Timolol and brimonidine from a self-assembling peptide hydrogel for the treatment of glaucoma: In vitro and ex vivo evaluation. *Pharmaceuticals* **2020**, 13, 126.
- [9] García-Millán, E.; Koprivnik, S.; Otero-Espinar, F. J. Drug loading optimization and extended drug delivery of corticoids from Phema based soft contact lenses hydrogels via chemical and microstructural modifications. *International Journal of Pharmaceutics* **2015**, 487 (1-2), 260–269.
- [10] Maulvi, Dr. Furqan. Effect of Timolol Maleate Concentration on Uptake and Release from Hydrogel Contact Lenses using Soaking Method. *Journal of Pharmacy and Applied Sciences*, **2014**, 1, 16-22
- [11] Coakes, R. L. The mechanism of timolol in lowering intraocular pressure. *Archives of Ophthalmology* **1978**, 96 (11), 2045–2053.
- [12] Li, C.-C.; Chauhan, A. Modeling ophthalmic drug delivery by soaked contact lenses. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2006**, 45, 3718–3734.
- [13] Gulsen, D.; Chauhan, A. Dispersion of microemulsion drops in Hema Hydrogel: A Potential Ophthalmic Drug Delivery Vehicle. *Int. J. Pharm.* **2005**, 292, 95–117.

- [14] Zhu, Q.; Liu, C.; Sun, Z.; Zhang, X.; Liang, N.; Mao, S. Inner layer-embedded contact lenses for PH-triggered controlled ocular drug delivery. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2018**, *128*, 220–229.
- [15] Giblin, F.J.; Lin, L.-R.; Leverenz, V.R.; Dang, L. A Class I (Senofilcon A) Soft Contact Lens Prevents UVB-Induced Ocular Effects, Including Cataract, in the Rabbit In Vivo. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2011**, *52*, 3667–3675. <https://doi.org/10.1167/iovs.10-6885>.

## VII. Списък с научни публикации:

### VII.1 Научни публикации по темата на дисертацията

1. Nikolova, D., Ruseva, K., Tzachev, C., Christov, L., & Vassileva, E. (2022). Novel Poly(Sulfobetaine methacrylate) based carriers as potential ocular drug delivery systems for timolol maleate. *Polymer International*. <https://doi.org/10.1002/pi.6368> (Q1, IF=3.213)
2. Nikolva, D., Tzachev, C., Christov, L., Vassileva, E., (2023) Poly(Sulfobetaine Methacrylate-co-Vinyl Pyrrolidone) Hydrogels as Potential Contact Lenses Delivery Systems for Timolol Maleate. *Gels*. <https://doi.org/10.3390/gels9020114> (Q1, IF=4.432)

### VII.2 Научни публикации извън темата на дисертацията

1. Simeonov, M., Gussiyska, A., Mironova, J., Nikolova, D., Apostolov, A., Sezanova, K., Dyulgerova, E., & Vassileva, E. (2019) Novel hybrid chitosan/calcium phosphates microgels for remineralization of demineralized enamel – A model study. *European Polymer Journal*. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2019.07.005> (Q1, IF=5.546)
2. Nikolova, D., Simeonov, M., Tzachev, C., Apostolov, A., Christov, L., & Vassileva, E. (2021). Polyelectrolyte complexes of chitosan and sodium alginate as a drug delivery system for diclofenac sodium. *Polymer International*. <https://doi.org/10.1002/pi.6273> (Q1, IF =3.213)



## VIII. Списък с изяви на научни форуми за периода 02.2019 – 01.2023 г.

1. Д. Николова, К. Русева, Е. Василева  
„Влияние на методите за модификация на субтилизин върху неговата протеолитична активност, с цел приложение в хидрогелни превръзки за рани“;  
*Устна презентация* на XVIII Национална конференция по химия за студенти и докторанти, 15-17.05.2019г., Факултет по химия и фармация, Софийски университет „Св. Климент Охридски“, София, България
2. Д. Николова, К. Русева, Е. Василева, Н. Косева  
„Поли(сулфобетаинметакрилатни) хидрогелове като протеолитични превръзки за рани“;  
*Устна презентация* на Научен семинар на катедра Фармацевтична и приложна органична химия кум Факултет по химия и фармация, СУ „Св. Климент Охридски“, 31.05-02.06.2019г., Гюлечица, България
3. Д. Николова, И. Цачева, Е. Стоянова, К. Русева, В. Митова, Е. Василева, Н. Косева  
„Хидрогелове на поли(сулфобетаин метакрилат) с потенциално приложение като превръзки за рани с протеолитично действие“;  
*Постерно съобщение*, представено на X Юбилейна научна сесия „Младите учени в света на полимерите“, 06.06.2019г., Институт по полимери, БАН, София, България
4. Д. Николова, М. Симеонов, Е. Василева  
„Нови интелигентни взаимнопроникващи полимерни мрежи като лекарство-доставящи системи за верапамил хидрохлорид“;  
*Постерно съобщение*, представено на Научната конференция на факултета по химия и фармация, Софийски университет, София, България, 28.11.2019г.
5. D. Nikolova, A. Lederer,  
“Alternative approaches for determination of lignin molecular weight”;  
*Постерно съобщение*, представено на Единадесета научна сесия „Младите учени в света на полимерите“, 10.09.2020г., Институт по полимери, БАН, София, България
6. Деница Николова, Й. Тупарова, Л. Христов, Х. Цачев, Е. Василева  
„Нови лекарствени носители за тимолол малеат на базата на поли(сулфобетаин метакрилат) и хитозан“;  
*Устна презентация*, представена на XIX Национална конференция по химия за студенти и докторанти, 02-04.06.2021 г., Факултет по химия и фармация, Софийски университет „Св. Климент Охридски“, София, България

7. Й. Тупарова, Д. Николова, К. Русева, М. Симеонов, Л. Христов, Х. Цачев, Е. Василева  
„Нови лекарствени носители за модифицирано лекарствено доставяне на тимолол малеат на базата на поли(сулфобетаин метакрилат) и хитозан“;  
*Постерно съобщение*, представено на Дванадесета научна сесия „Младите учени в света на полимерите“, 03.06.2021г., Институт по полимери“, БАН, София, България; Постерът беше отличен с награда за Най-добър постер
8. D. Nikolova, K. Ruseva, H. Tzachev, L. Hristov, E. Vasileva  
“Nanoparticulate drug delivery system for timolol maleate based on poly (sulfobetaine methacrylate)”;  
*Устна презентация*, представена на Workshop “Colloid and Interface research & Innovations”, 18-21.07.2021, St. St. Constantine and Helena, Bulgaria
9. S. Gaydarova, D. Nikolova, C. Tzachev, K. Ruseva, E. Vasileva  
“Solid lipid nanoparticles as vehicles for quinine delivery – synthesis and characterization”;  
*Постерно съобщение*, представено на Тринадесета научна сесия „Младите учени в света на полимерите“, 02.06.2022г., Институт по полимери, БАН, София, България
10. D. Nikolova, S. Gaydarova, Ch. Tzachev, K. Ruseva, A. Maestro, C. González, E. Vassileva  
“Biocompatible hydrogels for subcutaneous delivery of antimalarial drugs”;  
*Постерно съобщение*, представено на XX Симпозиум по полимери, 05-08.07.2022г., Велинград, България

## **IX. Участие в научни проекти по темата на дисертацията**

1. 80-10-72//25.03.2021- „Нови лекарствени носители за тимолол малеат на базата на поли(сулфобетаин метакрилат) и хитозан“ - *Проекти в подкрепа на млади учени и докторанти, финансирани от ФНИ към СУ*
2. „Хидрогелни съполимерни матрици на базата на поли(сулфобетаин метакрилат) и поли(винилпиролidon), като лекарство-доставящи системи за тимолол малеат, под формата на меки контактни лещи“ – *МОН, „Национална програма млади учени и постдокторанти 2“*