

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-83-87>
УДК 615.453.4.014.6



Оригинальная статья / Research article

Моделирование образования липосом с винпоцетином из фосфолипидов соевого лецитина методом молекулярной динамики

Ю. А. Полковникова*

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет» (ВГУ), 394006, Россия, г. Воронеж, Университетская пл., д. 1

*Контактное лицо: Полковникова Юлия Александровна. E-mail: juli-polk@mail.ru

ORCID: Ю. А. Полковникова – <https://orcid.org/0000-0003-0123-9526>.

Статья поступила: 19.02.2021

Статья принята в печать: 11.06.2021

Статья опубликована: 25.08.2021

Резюме

Введение. Липосомальные препараты обладают следующими преимуществами: защищают клетки организма от токсического действия лекарственных средств; пролонгируют действие введенного в организм лекарственного средства; защищают лекарственные вещества от деградации; способствуют проявлению нацеленной специфичности за счет селективного проникновения из крови в ткани; изменяют фармакокинетику лекарственных препаратов, повышая их фармакологическую эффективность; позволяют создать водорастворимую форму ряда лекарственных субстанций, повышая тем самым их биодоступность. Весьма актуальным является разработка липосомальных форм винпоцетина. В настоящее время при разработке состава липосомальных форм находят широкое применение методов молекулярного моделирования, которые являются удобным методом прогнозирования как свойств самих мембран, так и аспектов взаимодействия мембран с небольшими молекулами или белками.

Цель. Целью данного исследования является моделирование процесса сборки липосомы из фосфолипидов соевого лецитина в присутствии винпоцетина методом молекулярной динамики; а также прогнозирование распределения винпоцетина между внутренней полостью липосомы, фосфолипидной мембраной и дисперсионной средой по результатам моделирования.

Материалы и методы. Для моделирования процесса образования липосом был использован метод крупнозернистой молекулярной динамики в силовом поле Martini 2.2 с использованием программы Gromacs 2016.4. Сборка моделируемой системы – раствора фосфолипидов соевого лецитина в воде производилась с помощью интернет-сервиса Charmm-GUI->Inputgenerator->Martinimaker->Randombuilder.

Результаты и обсуждение. Результаты молекулярного моделирования показали, что молекулы винпоцетина не проникли внутрь липосомы, а адсорбировались на ее поверхности. Это связано с низкой растворимостью винпоцетина в гидрофобной среде мембраны липосомы соевого лецитина.

Заключение. Показано, что минимальный диаметр липосомы, образующейся из очищенного соевого лецитина, составляет 15,3 нм. Винпоцетин не проникает внутрь липосом из очищенного соевого лецитина, а адсорбируется на внешней поверхности их мембраны. Поверхностный избыток при этом по результатам моделирования крупнозернистой молекулярной динамики при температуре 298 К в спиртовой среде составляет $1,2 \cdot 10^{-7}$ моль/м².

Ключевые слова: моделирование, липосомы, соевый лецитин, винпоцетин, поверхностный избыток винпоцетина

Конфликт интересов. Автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Автор осуществила дизайн исследования, обзор публикаций, получение и анализ данных, написание текста рукописи, проверку конечной версии рукописи и перевод.

Для цитирования: Полковникова Ю. А. Моделирование образования липосом с винпоцетином из фосфолипидов соевого лецитина методом молекулярной динамики. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2021;10(3):83–87. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-83-87>

Modeling the Formation of Liposomes with Vinpocetine from Soy Lecithin Phospholipids by Molecular Dynamics

Yulia A. Polkovnikova*

Voronezh State University, 1, Universitetskaya sq., Voronezh, 394006, Russia

*Corresponding author: Yulia A. Polkovnikova. E-mail: juli-polk@mail.ru

ORCID: Yulia A. Polkovnikova – <https://orcid.org/0000-0003-0123-9526>.

Received: 19.02.2021

Revised: 11.06.2021

Published: 25.08.2021

Abstract

Introduction. Liposomal preparations have the following advantages: they protect body cells from the toxic effects of drugs; prolong the action of the drug introduced into the body; protect medicinal substances from degradation; promote the manifestation of targeted specificity due to selective penetration from blood into tissues; change the pharmacokinetics of drugs, increasing their pharmacological effectiveness; allow you to create a water-soluble form of a number of medicinal substances, thereby increasing their bioavailability. The development of liposomal forms of vinpocetine is highly relevant. Currently, when developing the composition of liposomal forms, molecular modeling methods are widely used, which are a convenient method for predicting both the properties of the membranes themselves and aspects of the interaction of membranes with small molecules or proteins.

© Полковникова Ю. А., 2021

© Polkovnikova Yu. A., 2021

Aim. The aim of this study is to model the process of liposome assembly from soy lecithin phospholipids in the presence of vinpocetine by the molecular dynamics method; as well as predicting the distribution of vinpocetine between the internal cavity of the liposome, the phospholipid membrane, and the dispersion medium based on the simulation results.

Materials and methods. To simulate the process of liposome formation, the method of coarse-grained molecular dynamics in a Martini 2.2 force field was used using the Gromacs 2016.4 program. The assembly of the simulated system – a solution of soy lecithin phospholipids in water was performed using the Internet service Charmm-GUI-> Inputgenerator-> Martinimaker-> Randombuilder.

Results and discussion. The results of molecular modeling showed that the vinpocetine molecules did not penetrate into the liposome, but were adsorbed on its surface. This is due to the low solubility of vinpocetine in the hydrophobic medium of the soy lecithin liposome membrane.

Conclusion. It was shown that the minimum diameter of a liposome formed from purified soy lecithin is 15.3 nm. Vinpocetine does not penetrate into liposomes from purified soy lecithin, but is adsorbed on the outer surface of their membrane. The surface excess in this case, according to the results of modeling coarse-grained molecular dynamics at a temperature of 298 K in an alcohol-water medium, is $1.2 \cdot 10^{-7}$ mol/m².

Keywords: modeling, liposomes, soy lecithin, vinpocetine, surface excess of vinpocetine

Conflict of interest. The author declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Author carried out the design of the study, the review of publications, the acquisition and analysis of data, and the writing of the manuscript, proofreading of the final version of the manuscript and translation.

For citation: Polkovnikova Yu. A. Modeling the formation of liposomes with vinpocetine from soy lecithin phospholipids by molecular dynamics. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2021;10(3):83–87. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-83-87>

ВВЕДЕНИЕ

Винпоцетин – вазоактивный алкалоид барвинка и синтетическое производное аповинкамина, обычно используется в клинической практике для лечения цереброваскулярных заболеваний [1, 2].

Однако из-за его плохой растворимости в воде [3], короткого периода полувыведения (1–2 часа) и интенсивного метаболизма в печени (~ 75 %) [4, 5], он имеет низкую биодоступность при пероральном приеме (6,7 %) и, следовательно, низкую концентрацию лекарственного препарата в головном мозге, ограничивающую его применение в клинической практике. Поэтому весьма актуальной является разработка соответствующей системы доставки для винпоцетина с улучшенной растворимостью и целевым эффектом на мозг.

В то же время разработка новых лекарственных форм нейропсихофармакологических лекарственных препаратов ограничена двумя существенными проблемами: преодолением гематоэнцефалического барьера и проблемой селективности действующего агента по отношению к клеткам-мишеням в центральной нервной системе. Для решения этих проблем на сегодняшнем этапе развития нейропсихофармакологии особенно перспективным представляется применение нанотехнологических подходов, позволяющих создавать многофункциональные высокоселективные наносистемы, способные доставлять транспортируемый агент сначала в церебральные микрососуды, а затем в интерстициальную жидкость и непосредственно к клеткам-мишеням в головном мозге [6].

В настоящее время в качестве контейнеров для инкапсулирования и контролируемого высвобождения биологически активных веществ находят широкое

применение липосомы [7]. Уникальность устройства липосом позволяет инкапсулировать в них гидрофильные и гидрофобные соединения, встраивая первые в гидрофобную часть липосомальной мембраны и растворяя вторые во внутренней водной полости липосом [8–10].

Разработка нового поколения лекарственных препаратов на основе липосом является стратегически важной, поскольку позволит решить многие задачи, связанные с направленной доставкой лекарственных веществ [11–13].

Несмотря на значительный прогресс в области создания липосомальных контейнеров, лишь немногие лекарственные препараты были реализованы на практике. Основные причины неудач – ограниченная емкость липосомального контейнера, низкая эффективность захвата липосом целевыми клетками и медленное высвобождение лекарственного вещества в зоне терапевтического действия [14].

В связи с этим особое значение в разработке состава липосомальных форм приобретает применение методов молекулярного моделирования [15]. В настоящее время для моделирования биомембран широко применяется метод молекулярной динамики. Метод молекулярной динамики является удобным методом определения как свойств самих мембран, так и взаимодействия мембран с молекулами или белками. При этом результаты моделирования согласуются с экспериментальными данными и позволяют делать выводы о взаимодействии веществ различных классов с фосфолипидным бислоем [16, 17]. Так, сконструированы с использованием моделирования молекулярной динамики липосомы 5-фторурацила, лигустразина, остола [18].

Таким образом, особенно актуальным является решение данных задач для такого лекарственного препарата, как винпоцетин.

Цель исследования: моделирование процесса сборки липосомы из фосфолипидов соевого лецитина в присутствии винпоцетина методом молекулярной динамики; а также прогнозирование распределения винпоцетина между внутренней полостью липосомы, фосфолипидной мембраной и дисперсионной средой по результатам моделирования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Учитывая большой размер исследуемой системы (сотни тысяч атомов), необходимый для моделирования процесса образования липосом [19], для моделирования был использован метод крупнозернистой молекулярной динамики в силовом поле Martini 2.2 с использованием программы Gromacs 2016.4 [20].

Моделирование процесса сборки липосомы из соевого лецитина в водной среде

Сборка моделируемой системы – раствора фосфолипидов соевого лецитина в воде производилась с помощью интернет-сервиса Charmm-GUI->Inputgenerator->MartiniMaker->Randombuilder (<http://charmm-gui.org/?doc=input/mrandom>) [21–23]. В состав моделируемой системы были включены фосфолипиды соевого лецитина (5 % по массе) и вода. В состав соевого лецитина были включены фосфолипиды пальмитоил-олеил-фосфатидилхолин (30 % от общего содержания фосфолипидов) и дилинолеил-фосфатидилхолин (70 % от общего содержания фосфолипидов) [24] (таблица 1). Для моделирования была собрана система кубической формы с длиной ребра куба 38 нм.

Таблица 1. Состав моделируемой системы «соевый лецитин – вода»

Table 1. Composition of the simulated system "soy lecithin – water"

Вещество Substance	Число молекул Number of molecules
Пальмитоил-олеил-фосфатидилхолин Palmitoyl Oleyl Phosphatidylcholine	652
Дилинолеил-фосфатидилхолин Dilinoleoyl Phosphatidylcholine	1478
Вода Water	1602592

В процессе моделирования были использованы периодические граничные условия по всем осям координат. Предварительно проводилась оптимизация геометрии системы градиентным методом. Далее производилось термодинамическое уравнивание с использованием термостатирования (298 К) и баростатирования (баростат Берендсена [25], 1 атм). Шаг моделирования в процессе термодинамическо-

го уравнивания менялся от меньшего [2 фемто-секунды (фс)] к большему (5 фс). Далее проводилось моделирование молекулярной динамики в течение 3000 нс с шагом 5 фс.

Моделирование диффузии винпоцетина из спиртового раствора в водную среду с липосомой (система «липосома – вода – спирт – винпоцетин»)

Для моделирования диффузии винпоцетина методом крупнозернистой молекулярной динамики была построена модель молекулы винпоцетина в программе HyperChem и произведена оптимизация геометрии молекулы методом MM+ [26].

В соответствии с планируемой методикой получения липосом с винпоцетином была собрана модель системы, состоящая из двух фаз. Первая фаза, состоящая из 5 % винпоцетина и 95 % спирто-водной смеси по массе. Спирто-водная смесь содержала 95 % этанола и 5 % воды по массе. Вторая фаза представлена водной средой с одной липосомой, образованной в предыдущем вычислительном эксперименте. Массовая доля первой фазы (спирто-водная смесь с винпоцетином) составляла 33,33 %. Массовая доля воды с липосомой соответственно 66,67 % (таблица 2).

Таблица 2. Состав моделируемой системы «липосома – вода – спирт – винпоцетин»

Table 2. Composition of the simulated system "liposome – water – alcohol – vinpocetine"

Вещество Substance	Число молекул Number of molecules
Пальмитоил-олеил-фосфатидилхолин Palmitoyl Oleyl Phosphatidylcholine	231
Дилинолеил-фосфатидилхолин Dilinoleoyl Phosphatidylcholine	514
Винпоцетин Vinpocetine	355
Этанол Ethanol	48805
Вода Water	251308

Система собрана в виде параллелепипеда со сторонами 18, 19, 45,38 нм с плоской межфазной поверхностью (рисунок 1).

Далее проводилось моделирование молекулярной динамики в течение 122 нс с шагом 5 фс (таблица 3).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В процессе моделирования молекулярной динамики раствора соевого лецитина наблюдалось образование различных надмолекулярных структур.

Исходное состояние моделируемой системы представлено хаотичным расположением молекул фосфолипидов в растворе. После 400 нс различаются сферические мицеллы Гартли, образованные фосфо-

Таблица 3. Этапы моделирования системы «липосома – вода – спирт – винпоцетин»

Table 3. Stages of modeling the system "liposome – water – alcohol – vinpocetine"

Этап Stage	Тип запуска Trigger type	Количество шагов Number of steps	Шаг, фс Step, fs	Длительность, нс Duration, ns	Баростат Barostat	Термостат Thermostat
1	Оптимизация геометрии Optimizing geometry	10 000				
2	Молекулярная динамика Molecular dynamics	500 000	2	1	Берендсена, 1 атм, константа времени 5 пс Berendsen, 1 atm, time constant 5 ps	Масштабирование скоростей, константа времени 1 пс Velocity scaling, 1 ps time constant
3	Молекулярная динамика Molecular dynamics	5 650 000	5	28,25	Берендсена, 1 атм, константа времени 5 пс Berendsen, 1 atm, time constant 5 ps	Масштабирование скоростей, константа времени 1 пс Velocity scaling, 1 ps time constant
4	Молекулярная динамика Molecular dynamics	24 400 000	5	122	Берендсена, 1 атм, константа времени 12 пс Berendsen, 1 atm, time constant 12 ps	Масштабирование скоростей, константа времени 1 пс Velocity scaling, 1 ps time constant

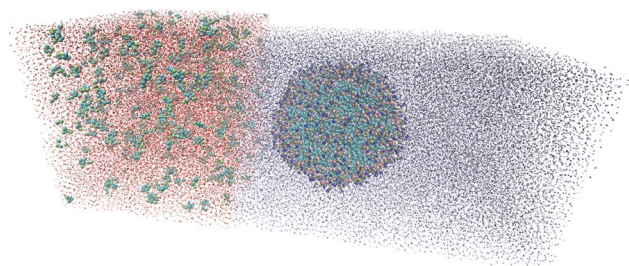


Рисунок 1. Начальное состояние моделируемой системы «липосома – вода – спирт – винпоцетин»

Figure 1. The initial state of the simulated system "liposome – water – alcohol – vinpocetine"

липидами. После 800 нс наблюдается формирование несферических мицелл Мак-Бена и их объединение с образованием дискообразных мицелл (1000–2000 нс). После 2000 нс дискообразные мицеллы начинают принимать изогнутую форму. После 2800 нс образуется первая липосома сферической формы диаметром 15,273 нм. Полученные результаты позволяют сделать вывод о минимальном возможном диаметре липосом, полученных из соевого лецитина в водном растворе, составляющем не менее 15 нм.

Далее в соответствии с планируемой методикой получения липосом с винпоцетином была собрана модель системы, состоящая из двух фаз. Первая фаза, состоящая из 5 % винпоцетина и 95 % спирто-водной смеси по массе. Спирто-водная смесь содержала 95 % этанола и 5 % воды по массе. Вторая фаза представлена водной средой с одной липосомой, образованной в предыдущем вычислительном эксперименте. Массовая доля первой фазы (спирто-водная смесь с винпоцетином) составляла 33,34 %. Массовая доля воды с липосомой соответственно 66,66 %.

В ходе моделирования наблюдался ряд ключевых этапов в изменении состояния исследуемой системы. В течение первых 50 нс моделирования межфазная поверхность перестала быть различимой, а молекулы спирта частично диффундировали в воду. В течение последующих 50 нс в окрестности липосомы создавалась концентрация этанола достаточная для диффузии винпоцетина к ее поверхности и адсорбции на ней. После 100 нс моделирования этанол, винпоцетин и вода распределились по всему объему исследуемой системы, за исключением объема, занимаемого липосомой.

Молекулы винпоцетина не проникли внутрь липосомы, а адсорбировались на ее поверхности. Предположительно, это связано с низкой растворимостью винпоцетина в гидрофобной среде мембраны липосомы соевого лецитина.

По результатам проведенного моделирования был рассчитан поверхностный избыток винпоцетина на поверхности липосомы [27] (таблица 4).

Данная характеристика может быть использована в процессе разработки липосомальных лекарственных форм винпоцетина, т. к. позволяет оценить количество препарата, транспортируемого липосомами в пересчете на единицу площади мембраны.

Исходя из результатов проведенного моделирования, можно сделать вывод, что образование липосом сферической формы из очищенного соевого лецитина в водной среде происходит самопроизвольно при концентрации лецитина 5 % по массе при температуре 298 К в течение 3 микросекунд. Моделирование сборки липосом позволяет оценить минимальный диаметр липосомы, образующейся из очищенного соевого лецитина, который составляет 15 нм. Анализ результатов моделирования так же показывает, что винпоцетин не проникает внутрь липосом.

из очищенного соевого лецитина, а адсорбируется на внешней поверхности их мембраны. Поверхностный избыток при этом по результатам моделирования крупнозернистой молекулярной динамики при температуре 298 К в спирто-водной среде составляет $1,2 \cdot 10^{-7}$ моль/м².

Таблица 4. Результаты расчета физико-химических параметров адсорбции винпоцетина на поверхности липосомы

Table 4. The results of calculating the physicochemical parameters of the adsorption of vinpocetine on the liposome surface

Параметр Parameter	Диаметр липосомы, нм Liposome diameter, nm	Площадь внешней поверхности липосомы, м ² Area of the outer surface of the liposome, m ²	Число молекул винпоцетина на поверхности липосомы Number of vinpocetine molecules on the liposome surface	Количество винпоцетина на поверхности липосомы, моль Amount of vinpocetine on the liposome surface, mol	Поверхностный избыток винпоцетина, моль/м ² Surface excess of vinpocetine, mol/m ²
Значение	15,273	$7,3282 \cdot 10^{-16}$	52	$8,6348 \cdot 10^{-23}$	$1,178 \cdot 10^{-7}$

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования позволяют сделать выводы о возможности и механизме самопроизвольного образования липосом из соевого лецитина, а также о характере их взаимодействия с винпоцетином. Полученные результаты могут быть использованы при разработке липосомальных лекарственных форм винпоцетина.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCE

- Szoka F. (Jr.), Papahadjopoulos D. Comparative properties and methods of preparation of lipid vesicles (liposomes). *Annual Review of Biophysics and Bioengineering*. 1980;9:467–508. DOI: 10.1146/annurev.bb.09.060180.002343.
- Neuwelt E., Abbott N. J., Abrey L., Banks W. A., Blakley B., Davis T., Engelhardt B., Grammas P., Nedergaard M., Nutt J., Pardridge W., Rosenberg G. A., Smith Q., Drewes L. R. Strategies to advance translational research into brain barriers. *The Lancet Neurology*. 2008;7(1):84–96. DOI: 10.1016/S1474-4422(07)70326-5.
- Lopalco A., Cutrignelli A., Denora N., Lopodota A., Franco M., Laquintana V. Transferrin Functionalized Liposomes Loading Dopamine HCl: Development and Permeability Studies across an In Vitro Model of Human Blood–Brain Barrier. *Nanomaterials*. 2018;8(3):178. DOI: 10.3390/nano8030178.
- Li X., Ren X., Liang J., Ma W., Wang Z., Yang Z. Delivery of sodium morphuete to hemangioma endothelial cells using immunoliposomes conjugated with anti-VEGFR2/KDR antibody. *International Journal of Nanomedicine*. 2017;12: 6963–6972. DOI: 10.2147/IJN.S144056.
- Spuch C., Navarro C. Liposomes for targeted delivery of active agents against neurodegenerative diseases (Alzheimer's disease and Parkinson's Disease). *Journal of Drug Delivery*. 2011:1–12. DOI: 10.1155/2011/469679.
- Kučerka N., Nieh M.-P., Katsaras J. Fluid phase lipid areas and bilayer thicknesses of commonly used phosphatidylcholines as a function of temperature. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*. 2011;1808(11):2761–2771. DOI: 10.1016/j.bbmem.2011.07.022.
- Xie J. Y., Ding G. H., Karttunen M. Molecular dynamics simulations of lipid membranes with lateral force: Rupture and dynamic properties. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*. 2014;1838(3): 994–1002. DOI: 10.1016/j.bbmem.2013.12.011.
- Wang X., Liu W., Du K. Palaeontological evidence of membrane relationship in step-by-step membrane fusion. *Molecular Membrane Biology*. 2011;28(1-2):115–122. DOI: 10.3109/09687688.2010.536169.
- Hashemzadeh H., Javadi H., Darvishi M. H. Study of Structural stability and formation mechanisms in DSPC and DPSM liposomes: A coarse-grained molecular dynamics simulation. *Scientific Reports*. 2020;10:1837.
- Wu X., Dai X., Liao Y., Sheng M., Shi X. Investigation on drug entrapment location in liposomes and transfersomes based on molecular dynamics simulation. *Journal of Molecular Modeling*. 2021;27(4):111. DOI: 10.1007/s00894-021-04722-3.
- Dwiastuti R., Radifar M., Hadimartono M., Noegrohati S. Molecular Dynamics Simulations and Empirical Observations on Soy Lecithin Liposome Preparation. *Indonesian Journal of Chemistry*. 2016;16(2):222. DOI: 10.22146/ijc.21167.
- Marrink S. J., Risselada H. J., Yefimov S., Tieleman D. P., de Vries A. H. The MARTINI force field: Coarse grained model for biomolecular simulations. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2007;111(27):7812–7824. DOI: 10.1021/jp071097f.
- Jo S., Kim T., Iyer V. G., Im W. CHARMM-GUI: A Web-based Graphical User Interface for CHARMM. *Journal of Computational Chemistry*. 2008;29(11):1859–1865. DOI: 10.1002/jcc.20945.
- Qi Y., Ingólfsson H. I., Cheng X., Lee J., Marrink S. J., Im W. CHARMM-GUI Martini Maker for Coarse-Grained Simulations with the Martini Force Field. *Journal of Chemical Theory and Computation*. 2015;11(9):4486–4494. DOI: 10.1021/acs.jctc.5b00513.
- Hsu P.-C., Bruininks B. M. H., Jefferies D., de Souza P. C. T., Lee J., Patel D. S., Marrink S. J., Qi Y., Khalid S., Im W. CHARMM-GUI Martini Maker for Modeling and Simulation of Complex Bacterial Membranes with Lipopolysaccharides. *J. Comput. Chem*. 2017;38(27):2354–2363. DOI: 10.1002/jcc.24895.
- van Hoogevest P., Wendel A. The use of natural and synthetic phospholipids as pharmaceutical excipients. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2014;116(9):1088–1107. DOI: 10.1002/ejlt.201400219.
- Berendsen H. J. C., Postma J. P. M., van Gunsteren W. F., DiNola A., Haak J. R. Molecular dynamics with coupling to an external bath. *The Journal of Chemical Physics*. 1984;81(8):3684–3690. DOI: 10.1063/1.448118.
- Teppen J. B. HyperChem, release 2: molecular modeling for the personal computer. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*. 1992;32:757–759.
- Fodi B., Hentschke R. Simulation of Surface Excess Concentrations for a Binary Hydrocarbon Mixture on Graphite. *Journal of Molecular Modeling*. 1997;3(8):315–320.
- Singh A., Sharma V., Pandey B. L. Comparative effectiveness study of vinpocetine vs. nimodipine on functional recovery in patients of head injury. *International Journal of Basic & Clinical Pharmacology*. 2013;2(1):18–25.
- Patyar S., Prakash A., Modi M., Medhi B. Role of vinpocetine in cerebrovascular diseases. *Pharmacol Rep*. 2011;63(3):618–628. DOI: 10.1016/s1734-1140(11)70574-6.
- Ribeiro L., Loftsson T., Ferreira D., Veiga F. Investigation and physicochemical characterization of vinpocetine-sulfobutyl ether β -cyclodextrin binary and ternary complexes. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 2003;51(8):914–922. DOI: 10.1248/cpb.51.914.
- Grassi G., Hasa D., Voinovich D., Perissutti B., Dapas B., Farra R., Franceschini E., Grassi M. Simultaneous release and ADME processes of poorly water-soluble drugs: mathematical modeling. *Mol Pharmacol*. 2010;7(5):1488–1497. DOI: 10.1021/mp1001334.
- Szakács T., Veres Z., Vereczkey L. In vitro-in vivo correlation of the pharmacokinetics of vinpocetine. *Pol J Pharmacol*. 2001;53(6):623–628.
- Gregoriadis G. Liposome research in drug delivery: the early days. *Journal of Drug Targeting*. 2008;16(7):520–524. DOI: 10.1080/10611860802228350.
- Elbayoumi T. A., Torchilin V. P. Current trends in liposome research. *Methods in Molecular Biology*. 2010;605:1–27. DOI: 10.1007/978-1-60327-360-2_1.
- Yalçın A. S., Turkoglu M. Preparation of liposomes containing whey proteins. *Marmara Medical Journal*. 2010;23(1):22–29.