

Lipozómy v kozmetike

Paulína Rentková

Bakalářská práce
2012



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky
akademický rok: 2011/2012

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE (PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Paulína RENTKOVÁ**
Osobní číslo: **T090059**
Studijní program: **B 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie výroby tuků, kosmetiky a detergentů**

Téma práce: **Lipozomy v kosmetice**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Zpracujte literární rešerši na zadané téma. Charakterizujte lipozomy, jejich složení, rozdělení a fyzikální vlastnosti. Vánujte se rovněž jejich stabilita a metodám přípravy. V další části práce se zaměřte na využití lipozomů ve farmacii a kosmetice.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

- [1] KARLSON, P. *Základy biochemie*. Praha, Academia, 1981. 263 p. ISBN 104-21-852.
- [2] LAWRENCE, M. J. *Controlled Particle, Droplet and Bubble Formation*. Butterworth-Heinemann, 1994. ISBN 10: 0750614943.
- [3] D. D. *LASIC Applications of Liposomes*. *Handbook of Biological Physics*. 1995, vol. 1, p. 491-519.
- [4] BANGHAM, A. D., ET AL. Diffusion of univalent ions across the lamellae of swollen phospholipids. *J. Mol. Biol.* 1965, vol. 13, p. 238-252.

Vedoucí bakalářské práce:

doc. Ing. Věra Kašpárková, CSc.

Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání bakalářské práce:

24. února 2012

Termín odevzdání bakalářské práce:

21. května 2012

Ve Zlíně dne 24. února 2012


doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan




doc. Ing. Rahula Janiš, CSc.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: RENTKOVÁ PAULIŇA

Obor: TECHNOLIE
VÝROBY PUKA,
DETERGENTŮ
A KOSMETIKY

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60⁴⁾ odst. 2 a 3 mohu užit své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považuji se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 28.4.2012


.....

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací

(1) Vysoká škola nevyhledně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých má právo obhajoby, včetně posudků oponentů a výsledků obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Autorka, autorky, diplomová, bakalářská a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být vždy nejmeně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k prohlídce veřejnosti v místě určeném ústředním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě určeném ústředně vysoké školou, kde se má konat obhajoba práce. Kdož si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Autor, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

⁴ Zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezahrnuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije v nížai za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo nonhospodářského prospěchu k výuce nebo k výuce podobě díla vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo školních povinností vzdělávajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školské dílo).

⁵ Zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 školské dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají na obvyklých podmínkách právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Oprávněni autor takového díla udělit svolení bez udělení povolení, pokud se tyto osoby domáhají namizení chybněho projevu jeho díla u soudu. Ústavoumí § 35 odst. 3 zůstává nedotčena.

(2) Nemí-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užit či poskytnout jinému licencet, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny noémntovat, aby jim autor školního díla z výsledku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložil, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přiměřeně k užití výsledku domluveného školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Bakalárska práca sa venuje lipozómom, ktoré sú dôležitou súčasťou kozmetických výrobkov. Popisuje sa v nej ich všeobecná štruktúra, ako aj ich chemicko-fyzikálne vlastnosti. Charakterizovaná je stabilita lipozómov z hľadiska fyzikálneho aj chemického. Uvedené sú taktiež možnosti ich prípravy a zároveň sú popísané ich najčastejšie typy. Pozornosť je sústredená najmä na vybrané lipozomálne produkty, ich zloženie a účinky enkapsulovaných aktívnych látok na pokožku. V práci sú rozobrané taktiež dôležité otázky týkajúce sa vzťahu dodávateľ lipozómov – kozmetický výrobca a tiež je v nej zhrnutý budúci možný vývoj kozmetických prípravkov obsahujúcich tieto štruktúry.

Kľúčové slová: fosfolipidy, lipozómy, enkapsulácia, kozmetické prípravky

ABSTRACT

In bachelor thesis, liposomes as a part of cosmetic products, are discussed. The thesis describes the general structure and properties of the liposomes. It is also focused on the stability of liposomes in terms of their physical and chemical characteristics. Procedures for the liposome preparation and description of the most common liposome types are also mentioned. Attention is focused mainly on selected liposomal products, – their composition and effects of encapsulated active ingredients on the skin. Important issues relating to liposome suppliers and manufacturers of cosmetics are discussed and possible future development of cosmetic formulations containing the liposomal structures is presented.

Keywords: phospholipids, liposomes, encapsulation, cosmetics

Moje veľké poďakovanie patrí doc. Ing. Věře Kašpárkové. CSc. za pomoc a venovaný čas pri spracovávaní bakalárskej práce, za vecné pripomienky a podnety.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČASŤ	11
1 HLAVNÁ CHARAKTERISTIKA	12
1.1 HISTÓRIA	12
1.2 VŠEOBECNÉ VLASTNOSTI	12
1.3 CHEMICKÉ ZLOŽENIE LIPOZÓMOV	14
1.3.1 Fosfatidylserín.....	14
1.3.2 Fosfatidylcholín.....	15
1.3.3 Fosfatidylethanolamín.....	15
1.3.4 Fosfatidylinozitol	16
1.4 ROZDELENIE LIPOZÓMOV	16
1.4.1 Multilamelárne vezikuly	17
1.4.2 Veľké oligolamelárne vezikuly	17
1.4.3 Malé unilamelárne vezikuly	17
1.4.4 Veľké unilamelárne vezikuly	18
1.4.5 Obrie unilamelárne vezikuly	18
1.4.6 Multivezikulárne vezikuly	18
2 CHEMICKÉ A FYZIKÁLNE VLASTNOSTI LIPOZÓMOV	19
2.1 TERMODYNAMICKÉ VLASTNOSTI LIPOZÓMOV ZLOŽENÝCH Z JEDNODUCHÝCH FOSFOLIPIDOV	19
2.2 TERMODYNAMICKÉ VLASTNOSTI LIPOZÓMOV OBSAHUJÚCICH ZMESI VIACERÝCH FOSFOLIPIDOV	20
2.3 STABILITA LIPOZÓMOV	20
2.3.1 Opatrenia zaisťujúce väčšiu stabilitu lipozómov	21
3 PRÍPRAVA LIPOZÓMOV	23
3.1 HYDRATÁCIA SUCHÉHO FOSFOLIPIDOVÉHO FILMU	23
3.2 EXTRÚZIA.....	23
3.3 INJEKČNÁ METÓDA.....	24
3.4 EVAPORÁCIA NA REVERZNEJ FÁZI	25
3.5 DETERGENTOVÁ METÓDA	25
3.6 PROCES ZMRAZOVANIA A ROZMRAZOVANIA	25
3.7 FRENCH PRESS	25
4 POUŽITIE LIPOZÓMOV	28
4.1 POUŽITIE LIPOZÓMOV V MEDICÍNE	28
4.2 VYUŽITIE LIPOZÓMOV V KOZMETIKE.....	29
4.2.1 Lipozómy vo vybraných druhoch kozmetických výrobkov.....	30
4.2.2 Kritériá pre výber lipozómov do kozmetických výrobkov	34
4.2.3 Budúcnosť lipozomálnych výrobkov	35
ZÁVER	37
ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY	38
ZOZNAM POUŽITÝCH SYMBOLOV A SKRATIEK	42
ZOZNAM OBRÁZKOV	43

ZOZNAM TABULIEK	44
------------------------------	-----------

ÚVOD

Už pred viac ako päťdesiatimi rokmi sa lipozómami začal zaoberať A. D. Bangham z univerzity v Cambridgi. Od sedemdesiatych rokov začali byť lipozómy využívané ako modely biologických membrán.

Najvýznamnejšou vlastnosťou lipozómov je možnosť enkapsulácie látok rôzneho fyzikálno-chemického charakteru, a to ako do ich vodného prostredia, tak do ich lipidovej dvojvrstvy. Viac ako dvadsať rokov sa táto vlastnosť využíva v medicíne, a lipozómy tak slúžia ako nosiče imunomodulátorov, antivirotík, genetického materiálu, hemoglobínu a mnohých ďalších látok. Lipozomálne štruktúry však za tie roky prešli veľkým vývojom zameraným na ich použitie v kombinácii s látkami lipidového charakteru. Súčasne došlo takiež k rozvoju množstva metód, ktorými sa dajú lipozómy pripraviť s ohľadom na vyžadovanú veľkosť či morfológiu. [1]

Poznatky z prírodovedných a lekárskeho vedných disciplín sa dnes využívajú v kozmetike ako odbore dnes už definovanom ako veda. V osemdesiatych rokoch boli skúmané účinky uvoľňovaných látok z lipozómov do pokožky a ich schopnosť robiť pokožku hebkajúcou a elastickejšou. V roku 1987 už bol na trh uvedený prvý prostriedok s lipozómami vyrobenej firmou Christian Dior s názvom Capture. [2]

Dnes sa lipozómy nachádzajú takmer vo všetkých druhoch kozmetických výrobkov, napríklad v opaľovacích krémoch, jednoduchých pastách, parfémoch, vlasových kondicionéroch, vodách po holení, sérach, očných sprejoch, a v ďalších. Prípravky, v ktorých sa lipozómy najviac využívajú nazývame anti-aging krémy a sú určené pre spomaľovanie starnutia pokožky.

Hoci sú lipozómy nepochybne zaujímavými a široko využívanými štruktúrami, aj v tejto oblasti medzi odborníkmi nevládne jednotný názor týkajúci sa predovšetkým ich vplyvu na ľudskú kožu.

Bakalárska práca sa zaoberá lipozómami ako súčasťou rôznych druhov kozmetických výrobkov. Samostatná kapitola je venovaná vybraným komerčným výrobkom, pri ktorých je uvedené ich zloženie s funkciou jednotlivých ingrediencií, ako aj použité aktívne látky.

I. TEORETICKÁ ČASŤ

1 Hlavná charakteristika

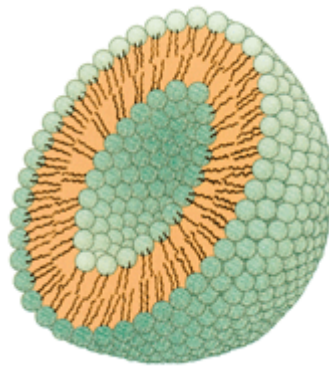
1.1 História

Aj keď sú fosfolipidy dlhý čas známe ako súčasť dvojvrstvy biologických membrán, bolo to len pred päťdesiatimi rokmi, keď Bangham a jeho spolupracovníci zistili, že za určitých podmienok by sa mohli prirodzene sa vyskytujúce fosfolipidy vo vode spojiť do vezikúl. [1]

Od Banghamových počiatkových záznamov sa počet výskumov zaoberajúcich sa vezikulami rozšíril zo stoviek na tisíce. Mnohé z prvých štúdií skúmali potenciál lipozómov ako modelu pre štúdium štruktúry a funkcie biologických membrán. Vezikuly tvorené ako prírodnými, tak syntetickými povrchovo aktívnymi látkami, boli skúmané pre ich možné využitie v podávaní liekov a ich cielenému riadeniu, v očkovaní, lekárskom zobrazovaní, diagnostike, ako nosič pre hemoglobín, v chemickej katalýze alebo zachovaní energie. [2] Niekoľko praktických aplikácií, predovšetkým v podávaní liekov, sa objavilo v roku 1970. Po niekoľkoročnom výskume je komerčne dostupný celý rad produktov, ktoré využívajú koloidalitu lipozómov, mikroenkapsuláciu a ich výhodné povrchové vlastnosti. Výrobky siahajú od formy liekového podávania látok (antimykotiká, protinádorové látky a očkovacie látky) a kozmetických prípravkov (v starostlivosti o pleť, šampóny) až po diagnostiku a potravinárske výrobky. V súčasnosti sa zdá, že podávanie liekov v tejto forme je najskúmanejšou oblasťou ich praktického využitia. [3]

1.2 Všeobecné vlastnosti

Vezikuly sú druh uzavretých membránových puzdier, ktoré sa skladajú z jednej alebo viacerých dvojvrstiev zostrojených do amfifilických molekúl. [1] Sú to koloidné častice, ktoré sa vyskytujú buď v prírode, alebo môžu byť pripravené aj umelo. [3]



Obr. 1. Štruktúra lipozómu [12]

Vo vezikule je každá dvojvrstva oddelená od druhej dvojvrstvy vodným priestorom. Keď sú vezikuly zložené z fosfolipidov, nazývajú sa lipozómy. Vezikuly sú totiž dnes vyrábané z celej škály povrchovo aktívnych látok. Vezikuly tvorené úplne zo syntetických povrchovo aktívnych látok sú označované ako surfaktantné vezikuly. [4]

V závislosti na metóde prípravy môžu byť vyrobené jednolamelárne alebo viaclamelárne vezikuly, ktoré majú veľkosť od 25 nm do 50 μm . Výber typu vezikuly, ktorý sa má použiť pre danú aplikáciu, závisí čiastočne na tom, aká látka sa nachádza vo vnútri vezikuly (pokiaľ vezikula vôbec nejakú látku obsahuje) a čiastočne na tom, k akému účelu bude slúžiť, keď je jej výroba dokončená. Obrovské prázdne vezikuly, ktorých veľkosť je niekoľko desiatok mikrometrov sú napríklad používané pri štúdiu mechanických a priľnavých vlastností membrán, aby bolo možné vloženie potrebných látok, zatiaľčo viaclamelárne vezikuly sú vhodné pre stanovenie štruktúry dvojvrstvy. [5] V dôsledku toho je vyvíjané značné úsilie zamerané na prípravu metód, ktoré dodávajú vezikulám také vlastnosti, aby boli uspokojené pre konkrétne použitie. Ideálna metóda prípravy by umožnila výskumníkovi vyrábať vezikuly s vopred danými vlastnosťami. Veľkosť vezikuly by bola pod experimentálnou kontrolou a veľkosť distribúcie by bola relatívne rovnomerná. Doposiaľ ani jedna metóda prípravy však nezahŕňa všetky tieto ciele, ale existuje niekoľko dostupných metód, z ktorých jedna bude často poskytovať uspokojivé priblíženie k požadovanej vlastnosti. [6]

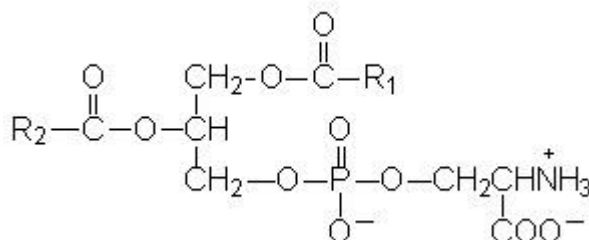
1.3 Chemické zloženie lipozómov

Hlavnú stavebnú zložku lipozómov tvoria fosfolipidy. Odvodzujú sa buď od kyseliny acetalfosfatidovej, od kyseliny glycerofosfatidovej alebo od kyseliny L-glycerolfosforečnej, pokiaľ boli izolované z prírodných surovín. [7] Na túto kyselinu sa esterovo viaže ďalší komponent, ktorá je väčšinou dusíkatá a obsahuje –OH skupinu. Túto skupinu fosfolipidov označujeme ako glycerofosfolipidy. Pokiaľ je namiesto glycerolu použitý alkohol sfingosín, hovoríme o sfingofosfolipidoch. [8]

Ako je už uvedené vyššie, glycerofosfolipidy obsahujú ako alkohol glycerol, ktorý je na prvých dvoch uhlíkoch esterifikovaný masnými kyselinami, pričom na druhom uhlíku sa prednostne viaže nenasýtená masná kyselina. Na tretí uhlík je esterovo viazaná kyselina fosforečná. Esterovou väzbou sa na ňu viaže aj ďalšia zložka (napríklad cholín, serín, ethanolamín, (myo)inozitol), podľa ktorej sa glycerolfosfolipidy triedia do skupín na fosfatidylseríny, fosfatidylethanolamíny, fosfatidylcholíny a fosfatidylinozitoly. [8] Polarita kyseliny fosforečnej a ďalších skupín na ňu sa viažucich spôsobuje amfipatický charakter fosfolipidov. Tento charakter spôsobuje, že sú schopné vytvárať fosfolipidové dvojvrstvy, ktoré tvoria základ štruktúry biologických membrán. [8]

Fosfolipidy však plnia aj metabolickú funkciu. Masné kyseliny, ktoré sa syntetizujú v pečeni, sa tam využívajú k syntéze fosfolipidov. Sú to predovšetkým fosfatidylcholíny nachádzajúce sa na povrchu lipoproteínov, ktoré v tejto forme prechádzajú do krvi. Triacylglyceroly zabudované vo vnútri týchto lipoproteínov sú potom krvou transportované do periférnych tkanív. [9] Fosfolipidy patria rovnako k dôležitým prirodzeným tenzidom. [8]

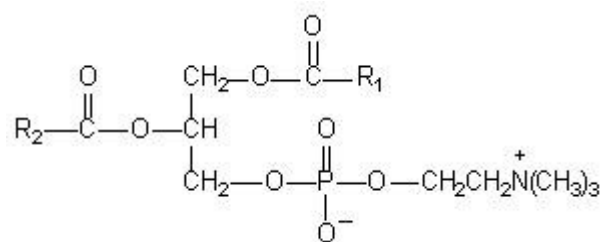
1.3.1 Fosfatidylserín



Obr. 2. Vzorec fosfatidylserínu [10]

Fosfatidylserín obsahuje aminokyselinu serín a je obsiahnutý vo väčšine tkanív. [11] Takmer všeobecne platí, že na prvom uhlíku sa viaže nasýtená mastná kyselina (väčšinou kyselina palmitová) a na druhom uhlíku sa viaže nenasýtená mastná kyselina (kyselina olejová, kyselina linolová). Spolu s fosfatidylethanolamínom sa kedysi nazývali kefalíny a ako lyzolecithíny a lyzokefalíny sa označovali degradačné produkty, ktoré z nich vznikajú účinkom fosfolipázy. [9]

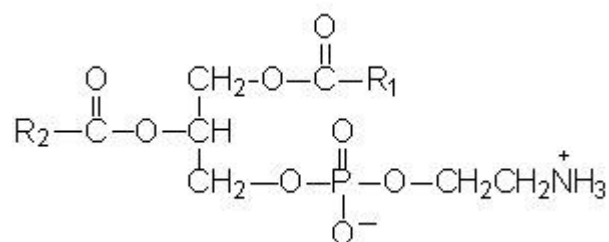
1.3.2 Fosfatidylcholín



Obr. 3. Vzorec fosfatidylcholínu [10]

Sú to najviac zastúpené fosfolipidy bunečnej membrány a predstavujú veľkú časť telových zásob cholínu. Cholín je dôležitý pri prenose nervového vzruchu a tiež ako zásoba labilných metylových skupín. [9]

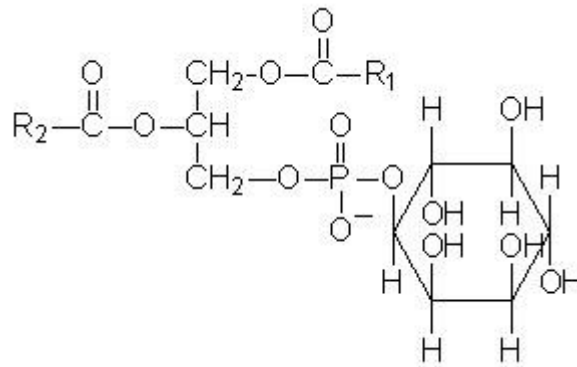
1.3.3 Fosfatidylethanolamín



Obr. 4. Vzorec fosfatidylethanolamínu [10]

Líši sa od fosfatidylcholínu len tým, že cholín je tu nahradený ethanolamínom. [11]

1.3.4 Fosfatidylozitol



Obr. 5. Vzorec fosfatidylozitolu [10]

Ako druhú alkoholickú zložku obsahuje myoinozitol – cyklický šesťsýtny alkohol. [9] Je dôležitou zložkou bunecnej membrány. Po stimulácii vhodným hormónom je štiepený na diacylglyceroly a inozitolfosfát, ktoré pôsobia ako vnútorný signál alebo „druhý posol“. [11]

1.4 Rozdelenie lipozómov

Lipozómy sa môžu od seba značne líšiť svojou štruktúrou. Odlišujú sa nielen počtom vrstiev lipidov, ale aj svojou veľkosťou. [42]

Podľa štruktúry ich delíme na:

- Lipozómy s viacerými vrstvami lipidov – multilamelárne vezikuly (MLV - multilamellar large vesicles, 0.1 – 1 μm)
- Veľké oligolamelárne vezikuly (OLV – oligolamellar large vesicles, 0.1 – 1 μm)
- Lipozómy s jednou vrstvou lipidov – unilamelárne vezikuly (UV – unilamellar vesicles)
 - Malé vezikuly - (SUV – small unilamellar vesicles, 20 – 100 nm)
 - Veľké vezikuly - (LUV – large unilamellar vesicles, > 100 nm)
 - Obrie vezikuly - (GUV – giant unilamellar vesicles, > 1 μm)
- Multivezikulárne vezikuly - (MLV – multivesicular vesicles, > 1 μm)

1.4.1 Multilamelárne vezikuly

Multilamelárne vezikuly, ktoré sa skladajú zvyčajne z veľkého počtu lipidových dvojvrstiev, pokrývajú širokú škálu veľkostí (0.1 – 1 μm). Tieto vezikuly sú najjednoduchším typom vezikúl na prípravu a pri ich výrobe sa dajú ľahko zväčšiť. Ostávajú tiež mechanicky stabilné po dlhú dobu. [1] Lipidové dvojvrstvy zaisťujú výrazný depotný účinok tým, že spôsobujú spomalenie uvoľňovania enkapsulovaného obsahu, napríklad hydrofilnej látky. Vzhľadom na vysoký obsah membránových lipidov je pomerne nevýhodný aj pomer enkapsulovanej látky k lipidu. [12]

1.4.2 Veľké oligolamelárne vezikuly

Pri tomto type vezikúl (s veľkosťou 0.1 – 1 μm) je uvoľňovanie enkapsulovaného obsahu spomalené, čo je spôsobené zvýšeným obsahom lipidov v membráne. Toto pomalšie uvoľňovanie však umožňuje predĺženie terapeutického efektu a podanie vyšších dávok účinnej látky. Predstavujú zvyčajne vedľajší produkt pri príprave veľkých unilamelárných vezikúl. [12]

1.4.3 Malé unilamelárne vezikuly

Tieto vezikuly vo veľkosti 20 – 100 nm sa nachádzajú na spodnej hranici veľkostí tohto typu častíc a ich lipidová dvojvrstva má obmedzenú veľkosť. Lipidová dvojvrstva tu dosahuje limitnú veľkosť, pod ktorú je polomer zakrivenia vo vnútornej monovrstve taký malý, že stérické zábrany v usporiadaní lipidovej dvojvrstvy bránia ďalšiemu zmenšovaniu častíc. Pre vaječný fosfatidylcholín je tento priemer okolo 25 nm. Vezikuly tohto priemeru vykazujú prebytok lipidu 2:1 vo vonkajšej vrstve v porovnaní s vnútornou vrstvou. Od iných lipozómov sa odlišujú vysokým membránovým napätím, ktoré sú spôsobené zakrivením membrány.

Tieto malé vezikuly sú z hľadiska veľkosti relatívne homogénnou populáciou. Avšak, vzhľadom na značne napätý charakter štruktúry molekúl lipidov, sú väčšinou termodynamicky nestabilné s výraznou tendenciou sa časom zväčšovať. [13] Do tohto typu vezikúl je inkorporácia hydrofílnych molekúl obmedzená v dôsledku ich malého objemu. Na druhej strane však môžu byť výhodné ako nosiče liečiv vďaka dobrej orgánovej distribúcii. Sú totiž schopné extravaskulárne unikať z cievneho riečišťa do okolitého tkaniva cez endotel kapilár. [12]

1.4.4 Velké unilamelárne vezikuly

Tento typ vezikul má vzhľadom na svoj väčší priemer (> 100 nm) nízke membránové napätie a väčšiu stabilitu. Sú vhodné ako nosiče hydrofilných látok, pretože obsahujú pomerne vysoký podiel vody. Pri použití vhodnej technológie výroby môžu slúžiť tiež ako modely pre prirodzené biologické membrány. [12]

1.4.5 Obrie unilamelárne vezikuly

Obrie vezikuly majú priemer v oblasti 1000 nm. Existuje len niekoľko spôsobov ich výroby. V dôsledku ich veľkých rozmerov a prítomnosti jednej lipidovej membrány ich mechanická stabilita a udržanie rozpustených látok nemusia byť vysoké. [1]

1.4.6 Multivezikulárne vezikuly

Pri tomto type lipozómov (o veľkosti obvykle viac než $1 \mu\text{m}$) je enkapsulované väčšie množstvo malých vezikul do jednej veľkej vezikuly. Pri výrobe zväčša veľkých multilamelárných vezikul vznikajú tieto typy ako vedľajší produkt. [12]

2 CHEMICKÉ A FYZIKÁLNE VLASTNOSTI LIPOZÓMOV

2.1 Termodynamické vlastnosti lipozómov zložených z jednoduchých fosfolipidov

Vlastnosti lipozómov sú dané ich povrchovými a membránovými charakteristikami, vrátane povrchového náboja a pevnosti membrány. Najčastejšie lipidy používané na prípravu lipozómov pre podávanie liečiv sú neutrálne alebo iónové lipidy, ako fosfatidylcholín (PC) a fosfatidyletanolamíny (PE). Preto sú charakteristiky lipozómov určené predovšetkým termodynamickými vlastnosťami týchto fosfolipidov. Jedným z najdôležitejších termodynamických parametrov chemicky čistých lipidov je fázový prechod teploty (T_m) a entalpia (ΔH). Najnižšia teplotná fáza fosfolipidov je bežne označovaná ako „gélková“ fáza, kde sa acylové reťazce zhrutnia a bočný pohyb molekúl lipidov je obmedzený. Z tohoto dôvodu je transport rozpustných látok cez lipidovú dvojvrstvu v gélovej fáze limitovaný. Najvyššia teplotná fáza je nazývaná tekutá-kryštalická alebo fluidná fáza, kde sa acylové reťazce stávajú pohyblivými a neusporiadanými, aj keď sa lipidy stále nachádzajú v nezmenenej dvojvrstvovej štruktúre. Tento fázový prechod medzi gélovou fázou a tekutou fázou je najčastejšie uvádzaný ako hlavný fázový prechod (T_m). K týmto fázovým prechodom môže dôjsť vo veľmi úzkom teplotnom rozsahu (menej než jeden stupeň). [14], [15], [16]

Faktory, ktoré ovplyvňujú vlastnosti fázového prechodu, sú typy hlavných polárnych skupín, dĺžka acylového reťazca a stupeň jeho nasýtenia. Pri rovnakých polárnych skupinách rastie T_m s rastúcou dĺžkou acylového reťazca. [14], [15], [17] Lipidy s nenasýteným acylovým reťazcom majú oveľa nižšie hodnoty T_m z dôvodu prítomnej dvojitej väzby. Vzhľadom na silnejšie interakcie medzi hlavnými skupinami majú PE zvyčajne vyššie hodnoty T_m , než je zodpovedajúca T_m PC s identickým acylovým reťazcom. Prítomnosť náboja v polárnych skupinách (katiónové a aniónové lipidy) vedie k zníženiu hodnoty T_m v dôsledku odpudivých interakcií medzi molekulami. Je potrebné poznamenať, že o niektorých aniónových lipidoch, napríklad kyselina fosfatidová a fosfatidylserín (PS), je známe, že vykazujú silné intermolekulárne vodíkové väzby, a preto môžu mať vyššie hodnoty T_m . [18], [19]

2.2 Termodynamické vlastnosti lipozómov obsahujúcich zmesi viacerých fosfolipidov

Lipozomálne preparáty určené na podávanie účinných látok obsahujú vo väčšine prípadov viac ako jeden druh fosfolipidu. Základný parameter, ktorý je treba brať na zreteľ pre vytvorenie stability, je miešateľnosť lipidovej matrix. Lipidové zmesi, ktoré sú ťažko miešateľné, často zlyhávajú v teste stability v dôsledku oddelenia lipidovej fáze. Pre lipidy s rovnakými hlavnými skupinami je miera miešateľnosti určená predovšetkým vhodným spojením acylového reťazca, rovnako ako stupňom jeho nasýtenia. PC, napríklad s dĺžkou reťazca líšiacou sa o dva uhľíky, má vysokú miešateľnosť, zatiaľčo u rozdielu štyroch uhľíkov sú výsledky v miešateľnosti negatívne. Správanie PC vo fáze s inými typmi fosfolipidov je pomerne komplikované. [15], [20] PC a PE vykazujú strednú alebo nízku miešateľnosť, ak majú obidva rovnakú dĺžku acylového reťazca. Je zaujímavé poznamenať, že PC a fosfatidylglyceroly (PG) môžu byť v ideálnom prípade miešateľné, ak majú rovnakú dĺžku reťazca, pretože termodynamické vlastnosti PG sú veľmi podobné vlastnostiam PC.

Cholesterol, ako jedna z možných lipozómových zložiek, môže byť ľahko začlenený do lipidovej dvojvrstvy a jeho najvyšší obsah v nej môže byť 50 mol %. Cholesterol sám osebe nie je vystavený fázovému prechodu, ale významne ovplyvňuje hlavný fázový prechod lipidovej dvojvrstvy, do ktorej je zabudovaný. Primárnym účelom použitia cholesterolu je zvýšiť pevnosť membrány, a preto zlepšuje mechanické vlastnosti lipozómov, čo vedie k lepšiemu a dlhšiemu uchovaniu enkapsulovanej látky v lipozóme.

2.3 Stabilita lipozómov

Napriek termodynamickej nestabilite vezikúl sú už raz vytvorené vezikuly kineticky stabilné po dobu niekoľkých týždňov až mesiacov. Ich kinetická stabilita súvisí s pomalou rýchlosťou odchodu fosfolipidov z vezikúl. Avšak, po dlhšej dobe vezikuly často prechádzajú buď do zoskupení, alebo sa spoja do väčších a viac polydisperzných systémov, až sa nakoniec vytvorí lamelárna fáza, z ktorej boli pôvodne sformované.

Stabilita lipozómov je funkciou množstva rôznych parametrov, najmä ich zloženia a spôsobu prípravy. [21], [22] Je všeobecne známe, že stabilita MLV je väčšia, než je stabilita SUV, hoci niektorí pracovníci pripisovali týmto druhom vezikúl rôzne zníženie stability, zapríčinené zmenami pH alebo prítomnosťou cudzorodých látok. [23] S ohľadom

na zloženie vonkajšieho prostredia je potrebné podotknúť, že veľké vezikuly, narozdiel od SUV, vykazujú značnú osmotickú citlivosť. U vezikúl bez výsledného náboja alebo bez polymérnych hydrofilných skupín možno očakávať, že u nich dôjde k rýchlemu zhukovaniu vďaka prítiažlivým van der Waalsovým silám. Na druhej strane, vezikuly s dostatočne vysokým povrchovým nábojom budú mať malé sklony k zoskupeniu.

Ak majú byť vezikuly široko používané, je dôležité, aby bol v priebehu skladovania zachovaný obsah ich zapuzdreného materiálu. Udržanie rozpustenej látky počas skladovania vo vnútri vezikuly je závislé od jej charakteru, typu i zloženia lipidovej dvojvrstvy a vonkajšieho prostredia. Dôkladnou manipuláciou so zložkami vezikuly, ako je napríklad prítomnosť cholesterolu alebo nasýtených fosfolipidov s dlhým reťazcom, je možné znížiť únik enkapsulovanej látky, a to najmä vo vode rozpustených látok. [24] Napríklad vezikuly stabilizované triethoxycholesterolom dali počiatočnú stratu vo výške 15 % z enkapsulovaného materiálu, ale potom zostali stabilné. [25]

Ak majú byť vezikuly použité na účely podávania liekov, majú navyše obmedzenie, že musia byť stabilné *in vivo* a rovnako aj *in vitro*. Táto stabilita je do značnej miery určená aj typom vezikuly. Napríklad MLV sú z krvného obehu odstránené oveľa rýchlejšim tempom ako SUV. Vezikuly zložené z fosfolipidov, ktoré obsahujú dlhé, nasýtené reťazce, sú v plazme stabilnejšie než tie pripravené z kratších, nenasýtených lipidov. [26], [27]

Okrem problémov so stabilitou z fyzikálneho hľadiska dochádza k nestabilite lipozómov spôsobenej ich chemickou štruktúrou. Ide predovšetkým o hydrolýzu a oxidáciu lipidov. Pri hydrolýze dôjde k štiepeniu esterovej väzby a uvoľneniu glycerolu a karboxylovej kyseliny. V prítomnosti nenasýtených reťazcov je ale viac pravdepodobný vznik oxidácie. Pred týmto dejom lipozómy obvykle chránia pridávané antioxidanty, ako sú napríklad tokoferoly. [28]

S cieľom prekonať problémy spojené s nestabilitou lipozómov, bolo vynaložené značné úsilie na výrobu buď preorganizovaného tvaru vezikuly, napríklad pomocou lyofilizácie [29] alebo stabilnej vezikuly použitím polymerizovateľných zlúčenín amfifilného charakteru. [38], [31]

2.3.1 Opatrenia zaisťujúce väčšiu stabilitu lipozómov

Jednou z možností, ako zmenšiť nestabilitu lipozómov, je vyhnúť sa používaniu fosfolipidov s obsahom nenasýtených mastných kyselín. Tie sú viac náchylné na oxidáciu v porov-

nání s tými, ktoré obsahujú nasýtené mastné kyseliny. Takýto krok však nemusí byť vždy uskutočniteľný, pretože použitie nenasýtených lipidov môže byť pre niektoré lipozomálne preparáty nevyhnutné. Ak sú využité tieto lipidy, potom je dôležité vykonať nasledujúce kroky:

- udržiavať prostredie bez kyslíka počas výrobného procesu a skladovania
- pridať tokoferoly či iné aktívne antioxidanty
- behom skladovania a výrobného procesu obmedziť lipozómy vystaveniu svetlu

Ďalšie významné opatrenia sú:

- nikdy lipozómy nezmrazovať
- tmiť a udržiavať pH lipozómov na 6 - 6,5 pri výrobe a skladovaní, aby sa zabránilo ako kyselinami, tak zásadami katalyzovanej hydrolýze
- zaistiť minimálnu koncentráciu pufru postačujúcu k udržaniu pH, keďže väčšina pufov zvyšuje hydrolýzu
- pridať ethylendiamintetraoctovú kyselinu (EDTA), aby bola zaručená neprítomnosť viacmocných katiónov; prítomnosť takýchto katiónov môže spôsobiť agregácie a destabilitu lipidovej dvojvrstvy
- sledovať stav agregácie lipozómov a podľa toho upraviť vodnú fázu alebo lipidové zloženie
- vyhnúť sa používaniu lipidových zložiek, ktoré samovoľne agregujú
- včleniť do lipozómov cholesterol, ktorý môže obmedziť destabilizujúci vplyv produktov hydrolýzy
- regulovať teplotu pri výrobe aj skladovaní. [28]

3 PRÍPRAVA LIPOZÓMOV

Existuje veľa možností, ako možno lipozómy pripravovať. Výber vhodného výrobného procesu závisí predovšetkým na type lipozómov.

K najčastejšie používaným metódam patria:

- hydratácia fosfolipidového filmu
- lyofilizácia
- metóda prolipozóm – lipozóm
- injekčná metóda
- detergentová metóda
- dehydratácia – rehydratácia
- proces zmrazovania a rozmrazovania
- extrúzia cez membránové filtre
- evaporácia na reverznú fázu [32]

V nasledujúcej časti práce budú najpoužívanejšie metódy prípravy lipozómov popísané podrobnejšie.

3.1 Hydratácia suchého fosfolipidového filmu

Ide o najstaršiu a najpoužívanejšiu metódu. Banka s roztokom fosfolipidu v organickom rozpúšťadle, ktorým môže byť napríklad chloroform, je vložená do rotačnej vákuovej odparky. Dochádza k odpareniu a odstráneniu zvyškov rozpúšťadla a k vytvoreniu tenkého filmu na stene banky. Po pridaní vodnej fázy a pretrepaní vznikajú pri bobtnaní filmu rôzne typy lipozómov s celkom širokou distribúciou veľkostí. Znížiť polydisperzitu je možné ultrafiltráciou týchto zmesí lipozómov. [32]

3.2 Extrúzia

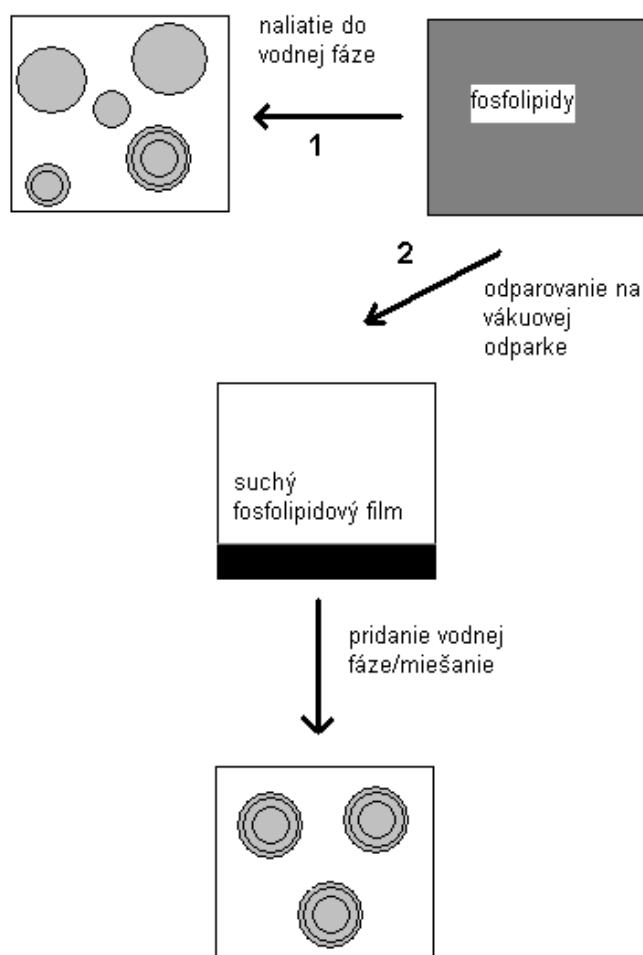
Táto metóda je založená na opakovanom pretláčaní MLV za mierneho tlaku (260 N/m^2) cez dva skládané filtre s veľkosťami pórov $0,1 \text{ }\mu\text{m}$. Výsledkom je relatívne homogénna populácia LUV s priemerom okolo 90 nm . Filtre s väčšou veľkosťou filtrov vedú k vytvá-

raniu väčších systémov s veľkou schopnosťou enkapsulácie. S ich veľkosťou rastie aj multilamelárny charakter. Táto metóda je vhodná predovšetkým pre vysoké koncentrácie lipidov (až 400 mg.ml^{-1}). [34]

3.3 Injekčná metóda

Je alternatívnou metódou na prípravu unilamelárnych lipozómov, ktoré možno pomerne spoľahlivo pripraviť účinkom ultrazvuku na vodnú disperziu membránovej zložky. Spolu s predchádzajúcou metódou (3.1) je vo forme schémy znázornená na obr. 6.

Injekčná striekačka s úzkou ihlou je napĺňaná alkoholickým roztokom lipidov. Tento roztok sa dávkuje do vodnej fázy, ktorá je intenzívne miešaná, pričom dávkovanie musí byť veľmi pomalé ($10^{-4} - 10^{-2} \text{ ml.min}^{-1}$).



Obr. 6. Schematické znázornenie vytvorenia vezikúl injekčnou metódou (1) a hydratáciou vysušeného filmu fosfolipidov (2)

3.4 Evaporácia na reverznej fáze

Táto metóda slúži k vytvoreniu obrích vezikúl, ale s oveľa väčším množstvom endovezikulovej vodnej fázy, než majú takéto vezikuly vytvorené bobtnaním fosfolipidového filmu. K roztoku fosfolipidu v organickom rozpúšťadle je pridaný vodný roztok pufru a následne je rozpúšťadlo odparené. Po pridaní vodnej fázy sa najprv vytvoria reverzné micely, ktoré pri odparovaní rozpúšťadla zanikajú a vznikajú dvojvrstvy. [33]

3.5 Detergentová metóda

V závislosti na použitej povrchovo aktívnej látke poskytuje detergentová metóda prostriedky na prípravu SUV aj LUV. Veľkosť vytvorených vezikúl závisí jednak na experimentálnych metódach, ale najmä na type detergentu. Medzi najčastejšie používané detergenty patria napríklad alkyl glykozidy. Lipidy s povrchovo aktívnymi látkami vytvárajú micely a tieto látky sú následne odstránené filtráciou, dialýzou alebo riedením a následne sú spontánne tvorené unilamelárne vezikuly. Je to šetrná metóda, kde nie sú aplikované žiadne mechanické sily ani vysoké teploty. Dôležité je ale minimalizovať alebo úplne odstrániť všetky zvyšky použitého detergentu. [34]

3.6 Proces zmrazovania a rozmrazovania

Týmto procesom je možné získať menšie unilamelárne vezikuly. Spočíva v opakovanom ochladení multivezikulárnych vezikúl, ktoré môžu byť vytvorené niektorou z vyššie popísaných metód (evaporácia na reverznú fázu alebo hydratácia fosfolipidového filmu), v kvapalnom dusíku. Následne dochádza k ohriatiu nad teplotu fázového prechodu. [32]

3.7 French press

Tento proces výroby vezikúl bol vyvinutý na prekonanie problémov spojených s používaním ultrazvuku ako výrobného zariadenia. Pri tejto metóde sú lipidy vystavené veľmi vysokým hydraulickým tlakom až do $13\,000\text{ N/m}^2$. Tieto sily sú dostatočne veľké na to, aby spôsobili mechanické narušenie MLV. Vzniknuté fragmenty potom vďaka hydrofóbnym interakciám spontánne tvoria vezikuly. Táto metóda prináša pomerne homogénne uni- alebo oligolamelárne vezikuly strednej veľkosti. K výhodám tejto metódy patrí aj skutočnosť, že pri príprave môžu byť použité aj vysoké koncentrácie lipidov. [34]

Obsiahly prehľad ďalších druhov metód príprav jednotlivých typov vezikúl je uvedený v tab. 1 až 4.

Tab. 1. Prehľad metód príprav pre malé unilamelárne vezikuly [34]

Metóda	Výhody	Nevýhody
<i>Sonikácia</i>	minimálna veľkosť vezikúl, relatívne jednoduchá príprava	degradácia lipidov, nízka možnosť zachycovania látok, kontaminácia titánom
<i>Injekčná metóda</i>	pomerne dobrá homogenita, bez degradácie lipidov	ťažko kontrolovateľná rýchlosť vstrekovania, prítomnosť etanolu
<i>Detergentová metóda</i>	vysoká homogenita, veľká možnosť zachycovania látok, bez degradácie, vysoké koncentrácie lipidov	zvyšok detergentu, potrebná kontrola rýchlosti dialýzy, potrebné špeciálne vybavenie
<i>French press</i>	vysoká homogenita, veľká možnosť zachycovania látok, bez degradácie	potrebné špeciálne vybavenie

Tab. 2. Prehľad metód príprav pre veľké unilamelárne vezikuly [34]

Metóda	Výhody	Nevýhody
<i>Evaporácia na reverznej fáze</i>	zachytenie veľkých makromolekúl	pôsobenie organických rozpúšťadiel
<i>Extrúzia</i>	stanovená veľkosť, vysoká homogenita, veľká možnosť zachytenia látok, vysoká koncentrácia lipidov	potreba špeciálneho vybavenia, úzke veľkostné rozmedzie
<i>Injekčná metóda</i>	zachytenie veľkých molekúl	ťažko kontrolovateľná rýchlosť vstrekovania

Tab. 3. Prehľad metód príprav pre obrie unilamelárne vezikuly [34]

Metóda	Výhody	Nevýhody
<i>Pomalá hydratácia fosfolipidového filmu</i>	zachytenie veľkých molekúl	obtiazna kontrola miery hydratácie
<i>Evaporácia na reverznej fáze</i>	veľká enkapsulácia látok	pôsobenie organických rozpúšťadiel
<i>Lyofilizácia</i>	veľká enkapsulácia látok	zložitý postup

Tab. 4. Prehľad metód príprav pre multilamelárne vezikuly [34]

Metóda	Výhody	Nevýhody
<i>Mechanická dispergácia</i>	jednoduchosť prípravy	nízka enkapsulácia látok (obvykle 2 – 10 %)
<i>Postupná extrúzia</i>	stanovená veľkosť, vysoká homogenita, veľká enkapsulácia látok (obvykle 30 %), vysoká koncentrácia lipidov	potrebné špeciálne vybavenie
<i>Dehydratácia-rehydratácia</i>	veľká enkapsulácia látok (obvykle viac než 40 %), vysoká koncentrácia lipidov	obtiazne kontrolovanie miery hydratácie
<i>Lyofilizácia</i>	veľká enkapsulácia látok, vysoká koncentrácia lipidov	vyžaduje nabité lipidy
<i>Reverzné-emulzie</i>	veľká enkapsulácia látok (obvykle viac než 35 %), vysoká stabilita, vhodná pre základné štúdie	pôsobenie organických rozpúšťadiel
<i>Dvojstupňová emulzifikácia</i>	veľká enkapsulácia látok	pôsobenie organických rozpúšťadiel
<i>Zried'ovanie z gélu</i>	bez rozpúšťadiel, ľahké zväčšenie rozmeru, veľká enkapsulácia látok	vysoká koncentrácia etanolu alebo polyolu
<i>Jednoduchá dispergácia</i>	žiadne rozpúšťadlá, ľahké zväčšenie rozmeru	možná degradácia lipidov

4 POUŽITIE LIPOZÓMOV

Lipozómy vykazujú niektoré vlastnosti, ktoré môžu byť užitočné v mnohých rôznych aplikáciách. Sú nositeľmi viacerých zvláštnych biologických vlastností, vrátane (špecifickej) interakcie s biologickými membránami a rôznymi bunkami. Vďaka svojim vlastnostiam predstavujú modelový systém v mnohých základných štúdiách biofyziky, fotofyziky, fotochémie, pri koloidných interakciách či bunkových funkciách. Do oblastí ich použitia patrí hlavne podávanie liekov v medicíne. Využívajú sa ako signálne nosiče v lekárskej diagnostike a analytickej biochémi. Sú solubilizátormi pre rôzne zložky rovnako ako podporujú prenikanie vylepšujúcich látok v kozmetike. [35]

4.1 Použitie lipozómov v medicíne

Využívanie lipozómov vo farmácii a v medicíne môže byť rozdelené do liečebnej a diagnostickej aplikácie, a používajú sa ako model, nástroj alebo činidlo v základnom štúdiu bunkových interakcií, v rozpoznávaní procesov a v štúdiu spôsobu vplyvu určitých látok na biologické systémy.

Výhody a obmedzenia lipozómov ako nosičov liečiv kriticky závisia na ich interakcii s bunkami a chovaní *in vivo* po podaní. *In vivo* a *in vitro* štúdie interakcií ukázali, že prevládajúca interakcia lipozómov s bunkami prebieha buď prostredníctvom jednoduchej adsorpcie, alebo endocytózy. Splynutie s bunkovými membránami je oveľa vzácnejšie. Štvrtá možnosť interakcie je výmena zložiek lipidovej dvojvrstvy, ako sú lipidy, cholesterol, a na membránu viazané molekuly s komponentmi bunkových membrán. Tieto interakcie určujú aj chovanie lipozómov *in vivo*. [35]

Ľudské telo je samo osebe chránené pomocou komplexného obranného systému. Pri vstupe do tela sú väčšie objekty príčinou trombu a časom je ich povrch pokrytý povlakom biomakromolekúl, kým menšie častice, vrátane mikróbov, baktérií a koloidov, sú prehltnuté bunkami imunitného systému. Táto reakcia imunitného systému vyvolala značné úsilie vo vývoji biokompatibilných a nerozpoznateľných povrchov a tiež zúžila spektrum aplikácií mikročasticových nosičov látok len na zacielenie veľmi podobnej bunky imunitného systému.

I keď sú lipozómy prevažne zložené z prírodných látok, aj tu sa stretávame s výnimkami. Z krvného obehu sú rýchlo pohltávané makrofágmi, ktoré sa nachádzajú hlavne v pečeni,

slezine a kostnej dreni. [35] Tieto vznikajúce problémy však nie sú relevantné pri aplikácii kozmetických prípravkov na kožu.

4.2 Využitie lipozómov v kozmetike

Rovnaké vlastnosti lipozómov sú využívané aj v kozmetických výrobkoch. Okrem toho aj lipozómy, ako nosná časť aktívnych kozmetických látok, ponúkajú výhody, pretože lipidy sú dobre hydratované, a tým napomáhajú ku zníženiu suchosti kože, ktoré predstavuje hlavnú príčinu jej starnutia. Pôsobia tiež ako zdroj, ktorý zabezpečuje doplnenie tukov vrátane kyseliny linolénovej, ktorá je pre ľudské telo nevyhnutná, ale telo si ju nevie samo vytvoriť. Jej nedostatok sa môže okrem iného prejaviť zhoršenou kvalitou pokožky. [36] Lipozómy v kozmetike môžu enkapsulovať rôzne účinné látky hydrofilnej aj lipofilnej povahy. Enkapsulovaný obsah v dutine lipozómu alebo vo vodných priestoroch medzi dvojrstvami multilamelárneho lipozómu môžu tvoriť hydrofilne látky ako napríklad vitamín C a vitamíny skupiny B. Do lipidovej dvojrstvy v obale lipozómu môžu byť zakomponované látky lipofilneho charakteru ako vitamíny A, E, kyselina γ -linolénová, koenzým Q10, rastlinné oleje a mnohé iné.

Všeobecné pravidlá pre lokálne aplikácie a dodávanie látok sú v kozmetických aplikáciách menej prísne ako pravidlá na parenterálne podanie. Preto je od roku 1987, kedy boli predstavené prípravky Capture (Christian Dior) a Niosomes (L'Oréal), na trhu komerčne dostupných niekoľko stoviek kozmetických výrobkov na báze lipozómov. Produkty siahajú od jednoduchých lipozomálnych pást, ktoré sú používané ako náhrada za krémy, gély a masti pre doma vyrábanú kozmetiku, cez prípravky obsahujúce rôzne extrakty, zvlhčujúce látky až po komplexné produkty s obsahom aktívnych látok vhodných pre upokojenie poranení alebo slnečných spálenín. Väčšina výrobkov s lipozómami sú pleťové krémy proti starnutiu. Opaľovacie krémy, parfémy s dlhou trvácnosťou, vlasové kondicionéry, prípravky po holení a podobné produkty získavajú tiež veľké podiely na trhu. [35]

Ako aj v prípade lokálneho podávania liekov v medicínskej aplikácii, tak aj v tejto oblasti sa odborníci nevedia zhodnúť na vplyve a mechanizme účinku lipozómov na organizmus. Kým niektorí varujú pred zvýšenou priepustnosťou do kože, iní vyhlasujú, že väčšina lipozómov je neinteraktívna, kožu nedráždia a vodná zložka pre účinné látky môže byť bez alkoholu, detergentov, olejov a iných syntetických solubilizátorov. [35]

Podľa výrobcov môžu lipozómy dodávať pleti vlhkosť a novú dávku molekúl lipidov do kožného tkaniva kvalitnejším spôsobom než iné prípravky, ktoré tieto častice neobsahu-

jú. Pre svoju schopnosť uchovávať množstvo aktívnych molekúl môžu byť využité pre pleťové krémy, vody po holení, balzamy, make-up a anti-aging krémy. [35]

4.2.1 Lipozómy vo vybraných druhoch kozmetických výrobkov

V nasledujúcej časti bakalárskej práce sú popísané vybrané lipozomálne výrobky. Vedľa názvu výrobku je v zátvorke vždy uvedený výrobca. Ingrediencie sú popísané podľa názvoslovía INCI, čo je dané vyhláškou 448/2009 Sb., o stanovení hygienických požiadavkú na kozmetické prostriedky, v §3. [38]

Leciderm krém (ALTERMED)

Tento telový krém je určený k ošetrovaniu dlhotrvajúcej extrémne suchej pokožky, ktorá má sklon k zápalu a šupinatenu. Je vhodný pre ľudí s oslabenou regeneráciou kože, napríklad diabetikov, pre jedincov s ekzémom alebo psoriázou.



Obr. 7. Leciderm od firmy

Altermed [37]

Ingrediencie (INCI): *Glycine soja oil* – zvláčňujúca prísada, *Aqua* – rozpúšťadlo, *Glycerin* – denaturant/zvláčňujúca prísada/rozpúšťadlo, *Atelocollagen* – biologická prísada, *Sodium hyaluronate* – biologická prísada, *Panthenol* – antistatická prísada, *Glyceryl stearate* – zvláčňujúca prísada/emulgátor, *Lanolin* – antistatická prísada/zvláčňujúca prísada/emulgátor, *Butyrospermum parkii* – látka rastlinného pôvodu, *Lecithin* – antistatická prísada/zvláčňujúca prísada/emulgátor, *Tocopheryl acetate* – antioxidant, *Cera flava* – zvláčňujúca prísada/emulgátor/filmotvorná prísada, *Cetearyl alcohol* – zvláčňujúca prísada/emulgátor/stabilizátor emulzie/znepriehľadňovacia prísada/regulátor viskozity, *Cetyl*

alcohol – zvláčňujúca prísada/emulgátor/znepriehľadňovacia prísada/regulátor viskozity, *Hydrogenated castor oil* – zvláčňujúca prísada/emulgátor/surfaktant/regulátor viskozity, *Phenoxyethanol* – konzervačná prísada, *Macadamia termifolia seed oil* – zvláčňujúca prísada, *Alcohol denatured* – rozpúšťadlo

Zvýraznené aktívne látky, lipozomálny lecitín spolu s kyselinou hyalurónovou a kolagénom, sa podieľajú na dlhodobej a intenzívnej hydratácii pokožky. U ľudí s kožnými ochoreniami ihneď odstraňujú nepríjemné svrbenie, ktoré tieto choroby často sprevádzajú. [37], [46]

Hydratačné sérum (AVÈNE)

Upokojujúce hydratačné sérum vo forme nemastného fluidu so zásobovacím účinkom poskytuje okamžitú hydratáciu citlivej a zmiešanej pleti. Uvoľňovanie účinných látok z lipozómov prispieva podľa výrobcu k dlhodobému posilneniu kožnej bariéry.



Obr. 8. Hydratačné sérum od firmy Avène [39]

Ingrediencie (INCI): *Avène aqua* – rozpúšťadlo (termálna voda Avène), *Methyl gluceth-20* – zvláčňujúca prísada, *Peg-12* – zvláčňujúca prísada/rozpúšťadlo, *Cyclomethicone* – antistatická prísada/zvláčňujúca prísada/zvlhčujúca prísada/rozpúšťadlo/regulátor viskozity

ty, *Glycerine* – denaturant/zvlhčujúca prísada/rozpúšťadlo, *Propylene glycol ceteth-3 acetate* – zvlhčujúca prísada, *Aqua* – rozpúšťadlo, *Polyacrylamide* – antistatická prísada/filmotvorná prísada, *Alcohol* – rozpúšťadlo, *Benzoic acid* – konzervačná prísada, *C13-14 isoparaffin* – zvláčňujúca prísada/rozpúšťadlo, *Parfum* – vonná látka, *Hydroxyethylcellulose* – pojivo/stabilizátor emulzie/filmotvorná prísada/regulátor viskozity, *Laureth-7* – emulgátor/surfaktant, *Dimethicone* – odpeňovacia prísada/zvláčňujúca prísada, *Phenoxyethanol* – konzervačná prísada, ***Phospholipids*** – biologická prísada, ***Sodium DNA*** – biologická prísada, *Tetrasodium EDTA* – chelatačná prísada

Zvýraznené aktívne látky predstavujú účinný koncentrát z lipozómov, ktorý umožňuje uvoľňovanie vysokej koncentrácie biologických látok. Tieto látky upokojujú pleť do hĺbky, a umožňujú tak intenzívnu starostlivosť namáhanej pleti. [46], [39]

Lipolan hydratačný krém (ORION PHARMA)

Krém obsahujúci lipozómy, ktoré vytvárajú prirodzenú ochranu proti strate vlhkosti z pokožky. Je vhodný najmä na atopickú pokožku v studenom a suchom zimnom období. Odporúča sa tiež na zjemnenie psoriatickej pokožky. U zdravých ľudí sa krém aplikuje na dlane, chodidlá alebo suché miesta, kde pôsobí proti zhrubnutiu a praskaniu kože. Je vhodný aj pre deti na ošetrovanie pokožky pod plienkami.



*Obr. 9. Lipolan hydratačný krém
od firmy Orion pharma [43]*

Ingrediencie (INCI): *Aqua* – rozpúšťadlo, *Peg-8* – zvlhčujúca prísada/rozpúšťadlo, *Petrolatum* – antistatická prísada/zvláčňujúca prísada, *Cetearyl alcohol* – zvláčňujúca prísada/emulgátor/stabilizátor emulzie/znepriehľadňujúca prísada/regulátor viskozity, *Ceteth-20* – emulgátor/surfaktant, *Alcohol* – rozpúšťadlo, *Sodium cetearyl sulfate* – surfaktant, *Phenoxyethanol* – konzervačná prísada, *Methylparaben* – konzervačná prísada, *Butylparaben* – konzervačná prísada, *Cholesterol* – zvláčňujúca prísada/emulgátor, *Dicetyl phosphate* – emulgátor, *Ethylparaben* – konzervačná prísada, *Isobutylparaben* – konzervačná prísada, ***Lecithin*** – antistatická prísada/zvláčňujúca prísada/emulgátor, *Propylparaben* – konzervačná prísada

Základnú zložku krému Lipolan tvoria lipozómy, obsahujúce fosfolipidy, ktoré zabraňujú nadmernej strate vlhkosti z pokožky. [46, 43]

Lipozómový koncentrát (LOUIS WIDMER)

Lipozómový koncentrát má hydratačné a regeneračné účinky na pleť. Nenahrádza však účinky denných alebo nočných krémov, ktoré sú stále najdôležitejšie pre starostlivosť o pleť.



Obr. 10. Lipozómový koncentrát
od firmy Louis Widmer [44]

Ingrediencie (INCI): *Aqua* – rozpúšťadlo, *Phenoxyethanol* – konzervačná prísada, *Lecithin* – antistatická prísada/zvláčňujúca prísada/emulgátor, *Acrylates/C10-30 alkyl acrylate crosspolymer* – filmotvorná prísada, *Collagen amino acids* – biologická prísada, *Ethylhexylglycerin* – prísada udržiavajúca pokožku v dobrom stave, *Sodium hyaluronate* – biologická prísada, *Sodium hydroxide* – pufrčná prísada/denaturačná prísada, *Glucose* – zvlhčujúca prísada

Zvýraznená aktívna látka, kyselina hyaluronová, obsiahnutá v gélovej báze, je účinná hydratačná látka, ktorá sa vyznačuje vysokou schopnosťou udržať vodu v rohovej vrstve kože. Kyselina hyaluronová spolu s kolagénovými aminokyselinami môžu nahradiť substancie, ktoré koža postráda vplyvom progresívneho znižovania periférnej cirkulácie. Ich zabudovaním do lipozómov je táto náhrada účinnejšia. [44], [46]

4.2.2 Kritériá pre výber lipozómov do kozmetických výrobkov

Kozmetický výrobca, ktorý sa rozhodol využiť lipozómy v príprave svojho produktu, je konfrontovaný s množstvom otázok týkajúcich sa tejto súčasti kozmetických výrobkov. Preto okrem stanovenia presného cieľa je pri vývoji kozmetického produktu dôležité mať odpovede na rad otázok kladených výrobcami lipozómov alebo ich dodávateľmi: [40]

1. Majú byť lipozómy prázdne alebo naplnené?
2. Ak sú použité prázdne lipozómy: sú určené k dosiahnutiu maximálneho kozmetického efektu z ich prirodzenej povahy (fosfolipidy rastlinného pôvodu) alebo hrajú marketingové hľadisko a oxidačná stabilita väčšiu rolu, a preto je potrebné využiť upravené fosfolipidy obsahujúce nasýtené mastné kyseliny?
3. Sú lipozómy kompatibilné so všetkými zložkami v konečnom zložení výrobku?
4. Tam, kde sú použité naplnené lipozómy: je dôležitá kapacita ukladania hydrofilnej, amfifilnej a lipofilnej látky? Pokiaľ áno, je nutné objasniť túto otázku v súvislosti s fyzikálnou stabilitou a homogenitou lipozómov. Podľa predchádzajúcich skúseností sa zdá, že optimálnej kapacity je dosiahnuté s oligolamelárnymi lipozómami.
5. Je možné zaistiť priemernú veľkosť lipozómov, v rozmedzí 100 – 400 nm, čo je zaujímavé pre kozmetické účely, alebo je veľkosť v rámci ideálneho rozsahu 100 – 200 nm?
6. Sú k dispozícii výsledky záťažových testov s lipozómami?

7. Obsahuje formulácia lipozómov stabilizátory membrány (napr. glycerol, cholesterol, dicetyl fosfát)? Pokiaľ áno, sú biokompatibilné? Sú predpokladané nejaké prímiesy, napríklad konzervačných látok?
8. Obsahuje formulácia lipozómov látky z výrobného procesu, ako sú zvyškové rozpúšťadlá, detergenty alebo zvyškovú kontamináciu ťažkými kovmi?
9. Sú dostupné dermatologické testy základného lipozomálneho materiálu (fosfolipidov) a lipozomálnych produktov?
10. Pokiaľ majú byť použité naplnené lipozómy: je enkapsulovaná látka kozmeticky a dermatologicky bezpečná, tzn. že riziká spôsobené špeciálnou kinetikou lipozómov môžu byť bezpečne vylúčené? Tento bod je tiež významným pre budúcnosť výberu parfémov a konzervantov, pretože sa jedná väčšinou o amfifílnu alebo lipofílnu zložku. Podľa toho sa môžu čiastočne rozptýliť do obalu lipozómov, a tak prenikať do kože v priebehu lokálnej aplikácie.
11. Je k dispozícii potvrdenie kontroly prípravy lipozómov a špeciálnej výstupnej kontroly hotového výrobku (elektrónová mikrofotografia, atď.)?
12. Aké sú výrobné náklady a/alebo kúpna cena lipozomálnych disperzií? [40]

Kľúčová je otázka výroby naplnených či prázdnych lipozómov, ktoré poskytujú odlišné možnosti ich využitia. Až odpovede na všetky tieto otázky dávajú kozmetickému výrobcovi predpoklad na naplnenie jeho predstavy o plánovanom kozmetickom výrobku a sú dôležitou súčasťou formulačnej stratégie.

4.2.3 Budúcnosť lipozomálnych výrobkov

Lipozomálna disperzia sa ukázala ako inovatívna a efektívna kozmetická prísada. V dermatológii sa lipozómy s úspechom používajú na prevenciu a liečbu niektorých kožných ochorení. V kozmetike sú lipozómy používané v mnohých typoch kozmetických výrobkov, sú schopné dopravovať do pokožky ako hydrofílnu, tak lipofílnu látku. Budúcnosť v tejto oblasti ich používania znamená hľadanie ďalších jedinečných vlastností a ich praktickú aplikáciu.

Všeobecne platí, že častice patriace do skupiny membránových nosičov, ako sú lipozómy a nanočastice, sú viac kompatibilné s kožnou štruktúrou než bežne používané tradičné vehikulá. „Kompatibilné“ znamená, že tieto útvary nenarúšajú celistvosť lipidovej dvojvrstvy kože, ale prenikajú do pokožky a nedochádza k ich odstráneniu pri čistení pleti. V zmysle

modernej stratégie kozmetiky si tieto preparáty vystačia s minimom pomocných látok, ktoré pôsobia na pleť zaťažujúco. Navyše, kompatibilita v tomto prípade znamená zabudovanie lipidov a hydrofilných látok do rohovej vrstvy a to je v súlade s prirodzeným stavom.

Je pozoruhodné, že fosfatidylcholín a všeobecne fosfolipidy nie je v lipozómoch nutné použiť vo vysokých koncentráciách, pretože experimenty ukazujú, že častice sú stabilné aj pri ich nižších množstvách. Pri opakovanom použití fosfatidylcholínu sa v rohovej vrstve tiež stretávame s kumulatívnym efektom. V mnohých prípadoch sú lipozómy a nanočastice vzájomne kompatibilné v tom zmysle, že môžu byť použité ako modulárny systém. Pri týchto časticiach sa teda predpokladá, že majú v kozmetike ešte veľkú budúcnosť. [41]

ZÁVER

Od šesťdesiatych rokov, kedy lipozómy slúžili len ako modely biologických membrán, sa oblasť ich využitia rozrástla takmer do všetkých základných vedných disciplín: matematiky, fyziky, biofyziky, chémie, biochémie, biológie, farmácie a medicíny.

Ich špecifické a výhodné chemicko-fyzikálne vlastnosti vrátane štruktúry im umožnili zohrávať významnú úlohu predovšetkým v medicíne pri podávaní liečiv, ktorá v súčasnej dobe zostáva najviac skúmanou oblasťou ich praktického využitia, a už niekoľko desiatok rokov sa lipozómy používajú v kozmetike.

O súčasnej popularite rôznych druhov kozmetických prípravkov obsahujúcich lipozómy netreba pochybovať. Dôvodom používania lipozómov v kozmetike sú ich dve dôležité vlastnosti. Je to schopnosť uchovávať vo svojom obsahu účinné látky a prenikať do hlbších vrstiev pokožky na rozdiel od iných zložitých látok, ktoré ostávajú len v najvrchnejších vrstvách. Pri vplyve na pokožku však nejde len o enkapsulované účinné látky, ale aj o samotné fosfolipidy, z ktorých sú lipozómy zložené. Predstavujú doplňujúcu dávku lipidov bunkovým membránam.

Výrobcovia lipozomálnych kozmetických prípravkov sú ale vystavení množstvu otázok týkajúcich sa z prevažnej väčšiny stability lipozómov. Do úvahy treba brať aj možné alergické reakcie spôsobené preniknutím lipozómov do spodnejších vrstiev pokožky v porovnaní s látkami z nelipozomálnych prípravkov.

Otázky týkajúce sa lipozómov si však nekladú len kozmetickí výrobcovia. Pre spotrebiteľa zostáva najdôležitejšou otázkou fakt, či reklamné slogany o účinnosti lipozómov sú naozaj pravdivé. Odpoveďou na túto otázku môže byť výrok onkológa a lymfológa, pána docenta Bechyně: „*Na kúži môžeme mazat cokoli, ale pokud ji nevyčistíme zevnitř, nic jí nepomůže.*“ [45]

ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY

- [1] Bangham, A. D., Standish, M. M. and Watkins, J. C.: Diffusion of univalent ions across the lamellae of swollen phospholipids. *J. Mol. Biol.* 1965, 13, 238-252
- [2] Fendler, J. H.: *Biomimetic Membrane Chemistry*, Wiley-Interscience, New York. 1982
- [3] Hui, S. W., Stewart, T. P., Boni, L. T.: The nature of lipidic particles and their roles in polymorphic transitions. *Chemistry and Physics of Lipids.* 1983, 33, 113-126
- [4] Fendler, J. H.: Surfactant vesicles as membrane mimetic agents: characterisation and utilisation. *Acc. Chem. Res.* 1980, 13, 7-13
- [5] Hope, M. J., Bally, M. B., Mayer, L. D., Janoff, A. S. and Cullis, P. R.: Generation of multilamellar and unilamellar phospholipid vesicles. *Chem. Phys. Lipids.* 1986, 40, 89-107
- [6] Israelachvili, J. N., Marcelja, S. and Horn, R. G.: Physical principles of membrane organisation. *Q. Rev. Biophys.* 1980, 13, 121-200
- [7] ŠÍCHO, V. a spol.: *Potravinářská biochemie*. Praha: SNTL, 1980. ISBN 04-815-81.
- [8] DOSTÁL, Jiří a spol.: *Biochemie pro bakaláře*. Brno: 2003. 97 s. ISBN 80-210-3232-4.
- [9] KARLSON, P.: *Základy biochemie*. Praha: Academia, 1981. 261-263 s. ISBN 104-21-852.
- [10] *Lipidy* [online]. [citácia 05. 10. 2011] Dostupné z: <http://www.orion.chemi.muni.cz/>
- [11] MURRAY, Robert K. a spol.: *Harperova Biochemie*. Connecticut: Appleton and Lange, 1993. 152-153 s.
- [12] *Lipozómy* [online]. [citácia 12. 10. 2011] Dostupné z: <http://www.daylong.sk/>
- [13] Huang, C.: Studies of phosphatidylcholine vesicles, formation and physical characteristics. *Biochemistry.* 1969, 8, 344-352
- [14] Lewis, R. N. A. H., Mak, N., McElhaney, R. N.: A differential scanning calorimetric study of the thermotropic phase behavior of model membranes composed

- of phosphatidylcholines containing linear saturated fatty acyl chains. *Biochemistry*. 1987, 6118-6126
- [15] Marsh, D.: General features of phospholipid phase transitions. *Chemistry and Physics of lipids*. 1991, 57, 109-120
- [16] Lewis, R. N. A. H., Sykes, B. D., McElhaney, R. N.: Thermotropic phase behavior of model membranes composed of phosphatidylcholines containing cis-monounsaturated acyl chain homologues of oleic acid: differential scanning calorimetric and ^{31}P NMR spectroscopic studies. *Biochemistry*, 1988, 27, 880-887
- [17] Zhang, Y.- P., Lewis, R. N. A. H., Hodges, R. S., McElhaney, R. N.: Interaction of a peptide model of a hydrophobic transmembrane α -helical segment of a membrane protein with phosphatidylethanolamine bilayers: differential scanning calorimetric and Fourier transform infrared spectroscopic studies. *Biophys. J.*, 1995, 68, 847-857
- [18] Boggs, J. M.: Lipid intermolecular hydrogen bonding: influence on structural organization and membrane function. *Biochim. Biophys. Acta*, 1987, 906, 353-404
- [19] Boggs, J. M., Rangaraj, G., Koshy, K. M.: Effect of hydrogen-bonding and non-hydrogen-bonding long chain compounds on the phase transition temperatures of phospholipids. *Chem. Phys. Lipids*, 1986, 40, 23-34
- [20] March, D., ed.: *Handbook of lipid Bilayers*. CRC Press, Boca Raton, 1990 FL
- [21] de Gier, J., Madersloot, J. G. and van Deenen, L. L. M.: Lipid composition and permeability of liposomes. *Biochim. Biophys. Acta*, 1986, 150, 666-675
- [22] Gebicki, J. M. and Hicks, M.: Preparation and properties of vesicles enclosed by fatty acid membranes. *Chem. Phys. Lipids*, 1976, 16, 142-160
- [23] Romero, A., Tran, C. D., Klahan, P. L. and Fendler, J. H.: Drug entrapment in surfactant vesicles. *Life Sci.*, 1978, 22, 1447-1450
- [24] Demel, R. A., Kinsky, S. C., Kinsky, C. B. and van Deenen, L. L. M.: Effects of temperature and cholesterol on the glucose permeability of liposomes prepared with natural and synthetic lecithins. *Biochim. Biophys. Acta*, 1968, 150, 655-665
- [25] Patel, K. R., Li, M. P., Schuh, J. R. and Baldeschwieler, J. D.: The pharmacological efficacy of a rigid non-phospholipid liposome drug delivery system. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1984, 797, 20-26

- [26] Senior, J. and Gregoriadis, G.: Stability of small unilamellar vesicles in serum and clearance from the circulation. *Life Sci.*, 1982, 30, 2123-2136
- [27] Allen, T. M. and Chonn, A.: Large unilamellar liposomes with low uptake into the reticuloendothelial system. *FEBS Lett.*, 1987, 223, 42-46
- [28] *How stable are liposomes?* [online]. [citácia 01. 11. 2011] Dostupné z: <http://www.quora.com>
- [29] Fransen, G. J., Salemink, P. J. M. and Crommelin, D. J. A.: Critical parameters in freezing of liposomes. *Int. J. Pharm.*, 1986, 33, 27-35
- [30] Regen, S. L., Singh, A., Oehme, G. and Singh, M.: Polymerized phosphatidylcholine vesicles. Synthesis and characterisation. *J. Am. Chem. Soc.*, 1982, 104, 791-795
- [31] Ichawatari, T. and Fendler, J. H.: Polymerized surfactant vesicles: effects of polymerization on intravesicular ester hydrolysis. *J. Am. Chem. Soc.*, 1984, 106, 1908-1912
- [32] *Biomimetika – organizované vrstvy, liposomy* [online]. [citácia 10. 11. 2011] Dostupné z: http://www.uochb.cas.cz/Zpravy/PostGrad2005/6_Hampl.pdf
- [33] Fendler J. H.: *Membrane Mimetic Chemistry*, J. Wiley, New York, 1982, 6
- [34] LAWRENCE, M. J.: *Controlled Particle, Droplet and Bubble Formation*. Butterworth – Heineman: 1994. ISBN – 10: 0750614943
- [35] D. D. Lasic: *Handbook of Biological Physics*. Volume 1, 1995, 491 – 519
- [36] *Kyselina alfa-linolénová* [online]. [citácia 23. 11. 2011] Dostupné z: <http://www.ordinace.cz> [citácia 30. 10. 2011]
- [37] *Altermed Leciderm* [online]. [citácia 10. 11. 2011] Dostupné z: <http://www.prozdravi.cz/leciderm-telovy-krem-pro-velmi-suchou-pokozku.html>
- [38] *Vyhláška 448/2009 Sb., o stanovení hygienických požadavků na kosmetické prostředky* [online]. [citácia 23. 04. 2012] Dostupné z: http://www.khshk.cz/khsdata/hv/pbu/vyhlaska_448_2009.pdf
- [39] *Avène hydratační sérum* [online]. [citácia 10. 11. 2011] Dostupné z: <http://www.kosmedion.cz/avene-hydratacni-zklidnujici-serum-serum-apaisant-hydratant.html>

- [40] Dr. H. Lautenschläger, Dr. J. Röding, Dr. M. Ghyczy: The use of Liposomes from Soya Phospholipids in Cosmetics
- [41] Blusztajn JK.: Choline, a vital amine. *Science*: 1998, 281, 794 – 795
- [42] Schuber R. Lipozomy v léčích.: In: Žabka M, Müller RH, Hildebrandt GE: Moderní lékové formy ve farmaceutické technologii. SAP – Slovak Academic Press, Bratislava 2001, 22, 235-257
- [43] *Orion Pharma Lipolan* [online]. [citácia 17. 01. 2012] Dostupné z: <http://www.finska-kosmetika.cz/sk/lipolan-zlozenie-inci.html>
- [44] *Louis Widmer Lipozómový koncentrát* [online]. [citácia 18. 01. 2012] Dostupné z: <http://www.widmer.cz/widmer/eshop/0/0/5/12-WIDMER-EL3-EXTRAIT-LIPOSOMAL-BP>
- [45] Hadek K., AROMATERAPIE, časopis pro krásu a zdraví č.1/2011
- [46] *European Commission database* [online]. [citácia 02. 12. 2012] Dostupné z: <http://www.ec.europa.eu/consumers/cosmetics/cosing/>

ZOZNAM POUŽITÝCH SYMBOLOV A SKRATIEK

MLV	Multilamellar large vesicles
OLV	Oligolamellar vesicles
UV	Unilamellar vesicles
SUV	Small unilamellar vesicles
LUV	Large unilamellar vesicles
GUV	Giant unilamellar vesicles
MLV	Multivesicular vesicles
PC	Fosfatidylcholín
PE	Fosfatidyletanolamín
PS	Fosfatidylserín
PG	Fosfatidylglycerol
EDTA	Kyselina ethylendiamintetraoctová
INCI	International nomenclature of cosmetic ingredients
T_m	Fázový prechod teploty
ΔH	Entalpia

ZOZNAM OBRÁZKOV

<i>Obr. 1. Štruktúra lipozómu [12]</i>	13
<i>Obr. 2. Vzorec fosfatidylserínu [10]</i>	14
<i>Obr. 3. Vzorec fosfatidylcholínu [10]</i>	15
<i>Obr. 4. Vzorec fosfatidylethanolamínu [10]</i>	15
<i>Obr. 5. Vzorec fosfatidylinozitolu [10]</i>	16
<i>Obr. 6. Schematické znázornenie vytvorenia vezikúl injekčnou metódou (1) a hydratáciou vysušeného filmu fosfolipidov (2)</i>	24
<i>Obr. 7. Leciderm od firmy Altermed [37]</i>	30
<i>Obr. 8. Hydratačné sérum od firmy Avène [39]</i>	31
<i>Obr. 9. Lipolan hydratačný krém od firmy Orion pharma [43]</i>	32
<i>Obr. 10. Lipozómový koncentrát od firmy Louis Widmer [44]</i>	33

ZOZNAM TABULIEK

<i>Tab. 1. Prehľad metód príprav pre malé unilamelárne vezikuly [34]</i>	<i>26</i>
<i>Tab. 2. Prehľad metód príprav pre veľké unilamelárne vezikuly [34]</i>	<i>26</i>
<i>Tab. 3. Prehľad metód príprav pre obrie unilamelárne vezikuly [34]</i>	<i>27</i>
<i>Tab. 4. Prehľad metód príprav pre multilamelárne vezikuly [34]</i>	<i>27</i>