

LİPOZOMLARIN YAPISI VE SINIFLANDIRILMASI

STRUCTURES AND CLASSIFICATION OF LIPOSOMES

Prof. Dr. Abbas YURDAKUL
Ege Ü. Tekstil Mühendisliği Bölümü

Arş. Gör. Rıza ATAV
Ege Ü. Tekstil Mühendisliği Bölümü

ÖZET

Lipozomlar, tabakalı fosfolipitlerin bileşimiyle meydana gelen çok küçük (nanometre boyutunda) kabarcıklardır. Hazırlanmaları için temel olarak doğal veya benzeri lipitler kullanılmaktadır. Bu moleküller hidrofil ve lipofil bölge içermeleriyle karakterize edilmektedir. Boyutlarına göre küçük (Small) ve büyük (Large), tabaka sayılarına göre de tek tabakalı (Monolayer), iki tabakalı (Bilayer) ve çok tabakalı (Multiplelayer) olarak sınıflandırılmaktadır. Farklı tip lipozomların eldesi için değişik hazırlama teknikleri ve lipidik bileşimler kullanılmaktadır. Değişik lipozom formülasyonlarının karakteristik ve özellikleri hazırlama tekniği, lipidik bileşim, yük, aktif ürün vb. tarafından belirlenmektedir. Bütün bu değişkenler elde edilen son aktif lipozom ürününün davranışı üzerinde önemli etkiye sahiptir. Her bir lipozom türü kendine has potansiyel aplikasyon alanına sahiptir. Lipozomların yeni uygulama alanlarından birisi tekstil boyacılığıdır.

Anahtar Kelimeler: Lipozom, fosfolipit, tekstil

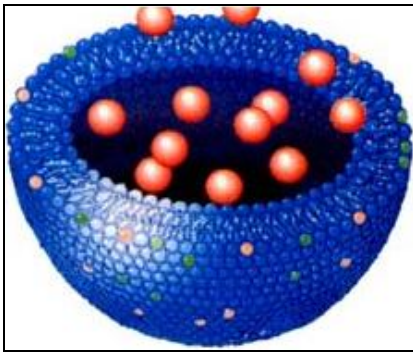
ABSTRACT

Liposomes are extremely small vesicles (in the nanometres range) mainly composed by phospholipids organized in a bilayer. Lipids are used for its preparation, basically natural or related compounds. These molecules are characterized by having a hydrophilic region and a lipophilic region. Liposomes are classified by their size –small and big- and by the number of layers monolayer, bilayer or multilamellar. To get the different types of liposomes, distinct preparation techniques and lipidic compositions are used. The characteristics and properties of the different liposomal formulations are determined by the preparation technique, lipidic composition, charge, active product, etc. All these variables have an important influence on the behaviour of the liposome final active product. Each type of liposome has its own potential application. The novel application area of liposomes is textile dyeing.

Key Words: Liposome, phospholipid, textile

1. GİRİŞ

Lipozomlar katmanlı fosfolipitlerin bileşimiyle meydana gelen çok küçük (nanometre boyutunda) sulu faz içeren kabarcıklardır. Lipozomların yapısı genel olarak Şekil 1'de görülmektedir.



Şekil 1. Tek tabakalı (Unilamelar) bir lipozomun yapısı (1)

Lipozomlar, temel olarak aktif maddelerin etkinliğini arttıracak ve istenmeyen toksik özelliklerini azaltacak şekilde, çok seçici olarak maddelerin taşın-

masında kullanılmaktadır. Diğer durumlarda, lipozomlar etkinin uzatılmasında, adsorbsiyonun geliştirilmesinde veya basitçe aktif maddelerin stabilize edilmesinde kullanılmaktadır. Ayrıca gen transferinde ve çeşitli teşhis ve endüstriyel aplikasyonlarda yararlı olmaktadır. Boyutları ve fizikokimyasal özellikleri, bu yapıların kapsüllenmiş ürünü serbest bırakarak doku içine değişik yollarla penetrasyon ve difüzyonuna yol açmaktadır (1).

Lipozomlar son yıllarda tıbbın pek çok uygulama alanında ilgi odağı haline gelmiştir. Lipozomların akışkanlığı, geçirgenliği ve moleküler organizasyonu gibi özellikleri üzerine yoğunlaşmış olan fizikokimyasal çalışmalar, doğal membranların yapısal elementi olarak çift katlı lipit tabakalarının önemini ortaya koymaktadır. Hücre biyolojisinde lipozom-hücre etkileşimleri, füzyon ve adhezyon gibi fizyolojik proseslere bir model unsur teşkil etmektedir. Buna ek olarak, hücre-hücre füzyonunu geliştir-

mek, membranların fosfolipit ve kolesterol içeriğini değiştirmek ve normal olarak suda çözünebilir, fakat hücre içine geçişi zor moleküllerin transferinde kullanılabilir. Ayrıca klinik araştırmalarda insülin, çeşitli enzimler ve anti tümör ilaçlar gibi çeşitli terapötik ilaçların farmakolojik kapsülleri olarak da kullanılmaktadır (2).

Lipozomlar, topikal (lokal), transdermal (deri içerisinden kan dolaşımına aktarma), oral (ağız yolu ile), intraperitoneal (karın zarı boşluğunun içerisinde, karınla ilgili organları içeren bölge), oküler (gözle ilgili bölge), intramusküler (kasın içerisine zerk edilen), subcutaneous (deri altına zerk edilerek), inhaled (solukla içeri çekme) gibi mümkün olan tüm medikal alanlarda kullanılmış ve her birinde olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Tedaviyle ilgili özelliklerin geliştirilmesi amacıyla şimdiye kadar en sık kullanılan kapsüllenmiş etken maddeler; anti-mantar, anti-kanser, vücudun bağışıklık sistemini zayıflatan

ilaçlar, antibiyotikler, hormonlar, güç tutuşurluk maddeleri ve ağrı kesicilerdir. Bunların yanı sıra, lipozomların aktif maddelerin bulunmadığı yapılar şeklinde bulunabilme olasılığı da dikkate alınmalıdır. Bu sayede güç tutuşurluk, anti-hipertansiyon, anti-virüs gibi çok çeşitli konular üzerinde çalışılabilmektedir (1).

Son yıllarda, lipozomun tekstilde kullanımına ilişkin birçok araştırma yapılmıştır. Bu yeni temiz teknoloji başta yün boyamacılığı olmak üzere çeşitli lif ve lif karışımlarının boyanmasında; boyarmadde alımını kolaylaştırmak, boyama düzgünlüğünü arttırmak, daha düşük sıcaklıkta boyama yapabilmek gibi çok çeşitli amaçlarla kullanılabilir.

2. LİPOZOMLARIN YAPISI VE ÖZELLİKLERİ

Lipozomların yapısını anlamak için öncelikle lipit ve fosfolipitin ne olduğunu kısaca açıklamak gerekmektedir. **Lipitler**, yağ ve vakslar gibi yaşayan organizmalarda meydana gelen bir grup kimyasal bileşik olup, sudaki çözünürlükleri oldukça düşüktür. **Fosfolipitler** ise, fosfat grubu içeren bir tür özel lipit olarak tanımlanabilir. Fosfolipitler lipozomların ve hücre zarının yapıtaşlarıdır. Vücudumuzun diğer kısımları gibi derimiz de, hücrelerin birleşiminden oluşmakta ve işlevini istenen şekilde yerine getirebilmesi için deriyi oluşturan hücre zarının sağlıklı ve dayanıklı olması gerekmektedir.

Lipitler genellikle hidrofob ve apolar bir yapıya sahiptirler. Bu nedenle su ile

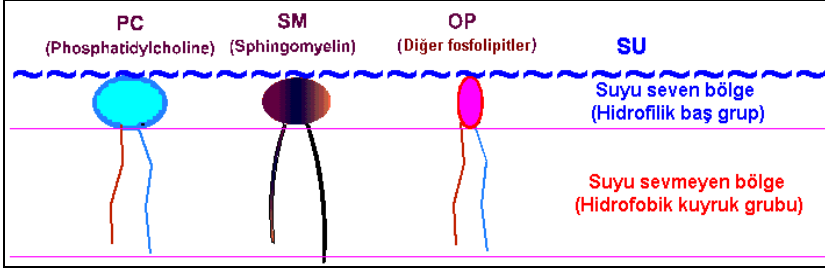
karışmazlar. Fakat, fosfolipitlerin fosfat grubu hidrofil ve polar yapıya sahip olduğundan, bunlar suyla karıştırılabilmektedir. Şekil 2'de belli başlı fosfolipit grupları ve bunların fiziksel ve kimyasal yapıları gösterilmektedir.

Phosphatidylcholine (PC), hayvan ve bitkilerde sıkça rastlanan fosfolipit (lesitin olarak da geçer) olup, toplamın %50'si kadarını oluşturmaktadır. PC iki katlı (bilayer) membranların temel yapı taşıdır. Özellikle plazma zarının dış yaprakçığının büyük bir kısmını teşkil etmektedir. PC aynı zamanda plazmada sirküle eden temel fosfolipit olup, lipoproteinlerin önemli bir bileşenidir. Bakteriyel zarlarda ise daha az miktarda (bakteri türlerinin muhtemelen %10'ununda) bulunmaktadır. Bunlar kuvvetli asidik ortamdan kuvvetli bazik ortama kadar değişen pH aralığında amfoter veya nötr karakterde olan fosfolipitlerdir.

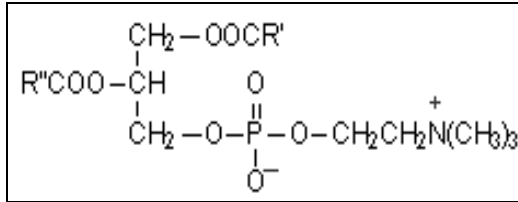
Sphingomyelin (SM) (ceramide phosphorylcholine), pozisyon 1'e eklenmiş phosphorylcholine parçası ile ceramide biriminden oluşmaktadır. Buradan sphingolipitin'in phosphatidylcholine'in benzeri olduğu ortaya çıkmaktadır. SM, hayvan hücresinin zarında sıkça rastlanan bir bileşiktir ve sphingolipit en fazla miktarda burada bulunmaktadır. Gerçekte, belirli dokulardaki lipitlerin %50 kadarını kapsayabilmektedir ve bu nedenle phosphatidylcholine'den daha az miktarda bulunmaktadır.

Fosfolipitler su içerisine eklendiğinde, hidrofilik bölgeleri suya doğru ve hidrofobik bölgeleri sudan uzaklaşacak şekilde kendilerini düzene sokarlar. Fosfolipitlere özgü bu eş zamanlı hidrofilik/hidrofobik yapıya sahip olmaları, bunların su içerisinde çift tabakalı gibi yapılanma özelliğinin temel nedenidir. Fosfolipit ve su molekülleri arasındaki çekme ve itme kuvvetleri, fosfolipitlerin kendi aralarında çift tabakalı (bilayer) gibi organize olmasını sağlamaktadır. Bu durum Şekil 5'de açık bir şekilde görülmektedir.

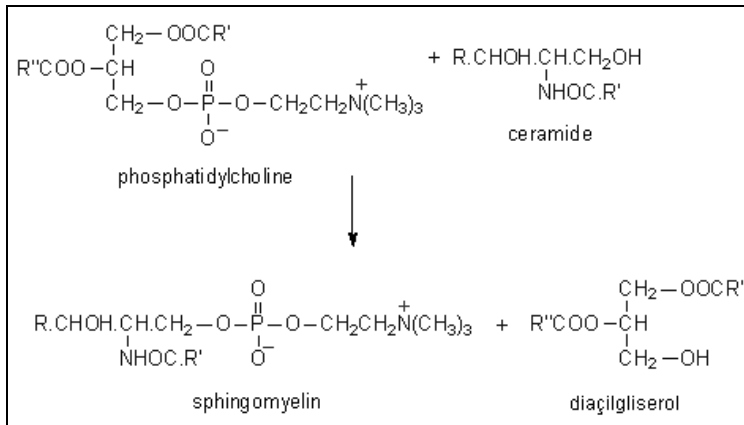
Sözü edilen çift katlı fosfolipit tabakaları lipozom ve hücre zarının çekirdek yapısını oluşturmaktadır (Şekil 6).



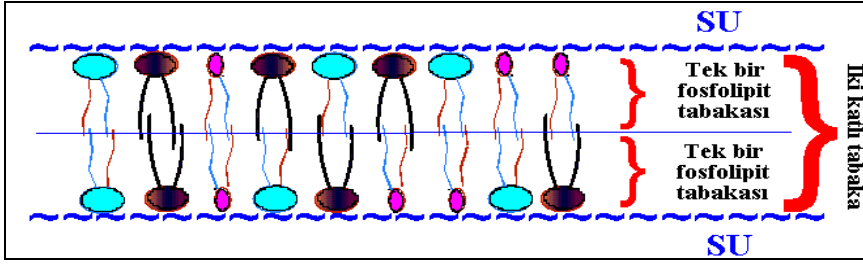
Şekil 2. Başlıca fosfolipit grupları ve bunların fiziksel ve kimyasal yapıları



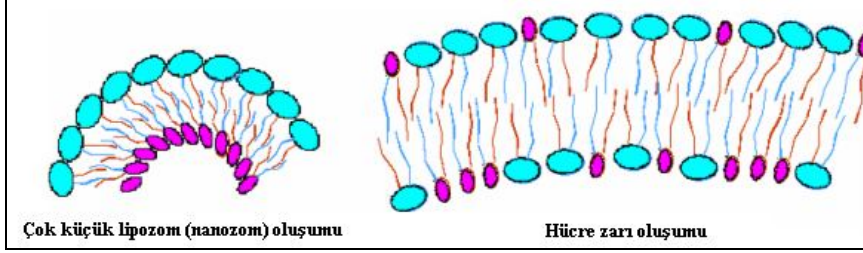
Şekil 3. Phosphatidylcholine'in kimyasal yapısı



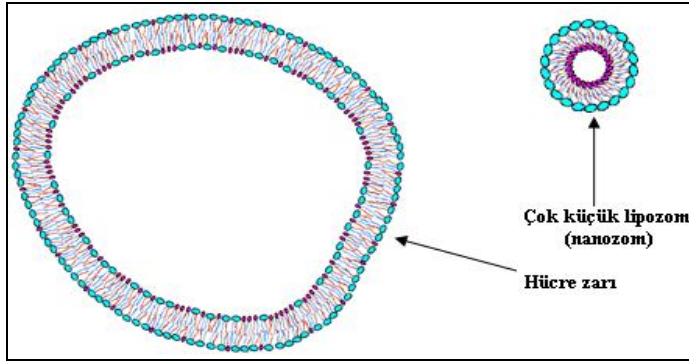
Şekil 4. Sphingomyelin'in oluşumu ve kimyasal yapısı



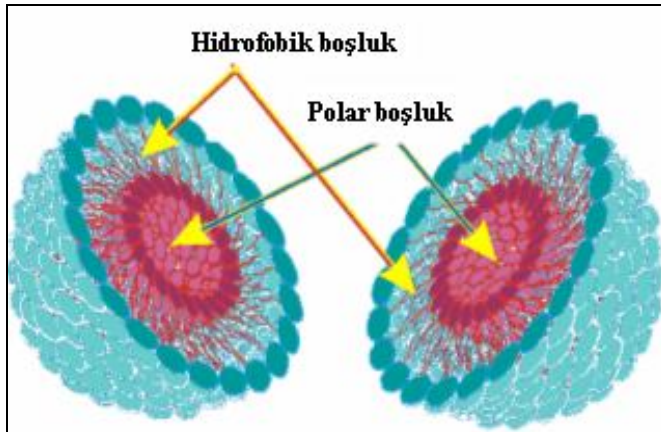
Şekil 5. Fosfolipitler arasındaki dikey ve yatay etkileşimler



Şekil 6. Çift katlı fosfolipit tabakalarından lipozom ve hücre zarının oluşumu



Şekil 7. Hücre zarı ile lipozomun karşılaştırılması



Şekil 8. Lipozomun üç boyutlu yapısı

Lipozomun yapısı temelde hücre zarı yapısı ile benzerlik göstermektedir. Şekil 7'de iki boyutlu olarak bir hücre zarı ile lipozomun karşılaştırılması gösterilmektedir.

Lipozomların üç boyutlu yapısı bir topa benzemektedir. İç yapılarının görülebilmesi için Şekil 8'de bu top ikiye bölünmüştür.

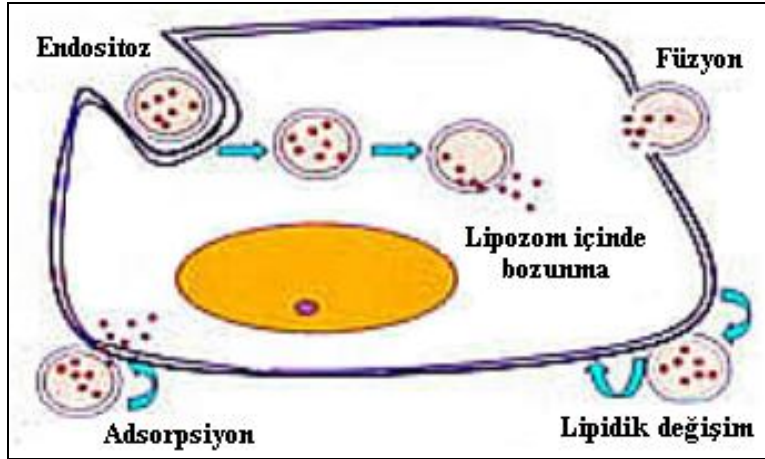
Şekil 8'den de görülebileceği üzere lipozomlar hem hidrofilik polar hem de hidrofob apolar boşluklar içermektedir. Bu sayede suda çözünebilir maddeleri polar boşluklarında, yağda çözünebilir maddeleri ise hidrofobik boşluklarında kapsülleyerek bunlar için bir taşıyıcı vazifesi görebilmektedirler (3). Lipozomlar içlerindeki özel boşluklarda suda çözünen maddeleri yağda çözünen maddelere göre daha iyi bir şekilde kapsülleyebilmekte ve taşıyabilmektedirler.

Lipozomlar gerek sentetik gerekse de doğal fosfolipitlere kolesterol ilave edilerek oluşturulmaktadır. Formülasyonlar daha çok tarihi sebeplerden veya doğal membran kompozisyonlarına olan benzerlik (analoji) sebebiyle tercih edilmiştir. Lipozomların hazırlanmasında en çok fosfatidilkolin (Lesitin) kullanılmaktadır. Ancak Tablo 1'de verilen pozitif ve negatif yüklü fosfolipitler de kullanılabilir (2).

Her fosfolipit türü bir jel-sıvı geçiş sıcaklığı (T_c) ile karakterize edilmektedir. Bu sıcaklığın altında yağ asidi zincirleri hemen hemen bir kristal düzlemindedir. Bu sıcaklığın üzerinde ise zincirler daha sıvı bir fazdadır. Zincirin erimesi ile birlikte çift tabakanın kalınlığı azalmakta ve her bir molekül başına düşen alan artmaktadır. Bu değişiklikler X-ışını difraksiyonu, nükleer manyetik rezonans, elektron spin rezonans, differansiyel scanning kalorimetri ve floresans depolarizasyonu gibi çeşitli fiziksel tekniklerle araştırılmıştır. Genel olarak T_c değeri zincir boyu azaltılarak, ana zincirlerin doymamasıyla, büyük yan gruplarla ve asıl zincirin dallanma göstermesi gibi durumlarla azaltılabilir. Polar bağ grupları da geçiş sıcaklığını etkiler, fakat ana zincirler kadar etkili olmaz. Doğal fosfolipitler (örneğin yumurta fosfatidilkolini), doymuş ve doymamış ana zincirlerin bir kompleksini içerir ve düşük sıcaklık geçişlerinin geniş oluşu ile karakterize edilir. Tabloda verilen bütün T_c değerleri multilamellar veziküller ile yapılan çalışmalara aittir. Küçük unilamellar veziküller genellikle da-

Tablo 1: Lipozom oluşturmak için kullanılan fosfolipitlerin özellikleri

LİPİT TİPİ	KISALTILMASI	YÜKÜ	T _c (°C)
Tek Komponent			
Yumurta Fosfatidilkolini	yumurta (egg) PC	0	-15,-7
Dioleoilfosfatidilkolin	DOPC	0	-22
Dilaurilfosfatidilkolin	DLPC	0	0
Dimiristoilfosfatidilkolin	DMPC	0	+23
Dipalmitoilfosfatidilkolin	DPPC	0	+41
Distearoilfosfatidilkolin	DSPC	0	+58
Diizostearoilfosfatidilkolin	DIPC	0	----
Sığır Beyni Sfingomiyelini	Brain SM	0	+32
Yumurta Fosfatidiletanolamini	yumurta (egg) PE	0	----
Dimristoilfosfatidiletanolamiin	DMPE	0	+48
Dimristoilfosfatidilgliserol	DMPG	(-)	+23
Dimristoilfosfatidik Asit	DMPA	(-)	+52
Sığır Beyni Fosfatidilserini	Brain PS	(-)	+5
Disetilfosfat	DCP	(-)	
Stearilamin	SA	(+)	
Karışımlar			
Ps/Dspc/Dppc (1:4,5:4,5)		(-)	+43
Dppd/Kolesterol(1:1)		0	YOK

**Şekil 9.** Lipozom ile hücreler arasındaki farklı etkileşim çeşitleri

ha düşük ve daha geniş geçiş sıcaklıkları göstermektedir. Kendisi lipozom teşkil etmeyen kolesterol, fosfolipitlerin jel-sıvı kristal fazı geçişlerini genişletir ve tamamen kaybolmasına neden olabilir. Bu durum 1:1 oranında karıştırılan dipalmitoilfosfatidilkolin/kolesterol karışımında görülür.

Farklı lipozomal formülasyonların özellikleri;

- hazırlama teknikleri,
- lipit yapısı,
- yük ve

• etken maddeler tarafından belirlenmektedir. Tüm bu parametrelerin elde edilen lipozomal ürünün davranışı üstünde önemli etkisi vardır. Hücre ile lipozom arasındaki moleküler etkileşim kadar boyut da, etkili hedefe ulaşmada göz önünde bulundurulmalıdır. Örneğin çok özel bir amaca ulaşabilmek, lipozomların yüzeyine monoklonlu antikorların bağlanmasıyla mümkün olmuştur (1).

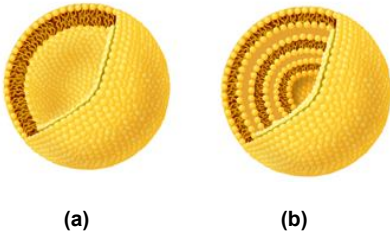
Fosfolipitlerin hücreler üzerine olan etkileri ile ilgili araştırmaların 1900'li yıllara dayanmasına rağmen, sadece yeni yapılan bazı çalışmalar lipozomal

yapılarla hücrelerin etkileşimi açısından bir takım açıklamalarda bulunabilmiştir. Bu gibi etkileşimlerin mekanizmaları ancak 1970'li yıllarda hücre biyolojisi ve tıp alanında lipozom uygulamalarının odağı haline gelmiştir (2). Günümüzde lipozomların hücrelerle farklı yollarla etkileşime girebildiği bilinmektedir. Bunlar; füzyon, adsorpsiyon, endositoz ve fagositoz şeklinde sıralanabilir. Lipozom ve hücre tipine bağlı olarak bunlardan biri ya da diğer etkileşimler meydana gelebilmektedir. Lipozomla hücreler arasındaki etkileşimlerin, büyük ölçüde lipozomların yapısı ve bileşimine bağlı olduğu bulunmuştur. Lipozom ile hücreler arasındaki farklı etkileşim çeşitleri şunlardır (1) (Şekil 9):

- **Adsorpsiyon:** Adsorpsiyon intakt (bozulmamış) haldeki lipozomların hücre içine girmeksizin hücre yüzeyi ile birleşmesidir. Adsorpsiyon spesifik olmayan kuvvetler (elektrostatik çekim kuvveti, hidrofobik etkileşim) tarafından oluşturulabildiği gibi hücre yüzeyi reseptörleri ve antikorlar gibi spesifik komponentler tarafından da oluşturulabilmektedir.
- **Endositoz:** Endositoz, intakt haldeki lipozomların endositotik veziküller (hücre içerisinde oldukça küçük ve kuşatılmış kısım) içine alınmasıdır. Genel olarak endositoz lizozomal aparatın salınmasına sebep olur; fakat bazı durumlarda lipozom içeriği stoplazma içine kaçabilmektedir.
- **Füzyon:** Lipit tabakalarının plazma membranı ile birleşmesi olayıdır. Bu birleşme ile birlikte lipozom içeriği stoplazmik boşluk içerisine salınır. Füzyon olayı sırasında bazı lipozom içeriklerinin ortama sızması da mümkündür. Füzyonun başlangıcında vezikül içerikleri stoplazma içine salınırken daha sonra bu materyaller lizozom gibi intraselüler kompartmanlar içinde konsantre edilmektedir.
- **Lipitik Değişim (Lipit transferi):** Lipit transferi, lipit moleküllerinin lipozom ve hücreler arasında gerçekleştirdiği sıvı haldeki lipozom içeriği ile hücre arasında bir birleşme olmaksızın transferidir (2).

3. LİPOZOMLARIN SİNİFLANDIRILMASI

Lipozomlar boyutlarına göre küçük (Small) ve büyük (Large) olarak, katman sayılarına göre tek tabakalı (Monolayer), iki tabakalı (Bilayer) ve çok tabakalı (Multiplelayer) olarak sınıflandırılmaktadır. Her bir sınıf kendine has potansiyel aplikasyon alanına sahiptir. Örneğin eczacılıkta daha çok tek katmanlı lipozomlar (40-250 nm) tercih edilmektedir. Farklı lipozom çeşitlerini elde etmek için farklı hazırlık teknikleri ve lipidik bileşimler kullanılmaktadır (1).

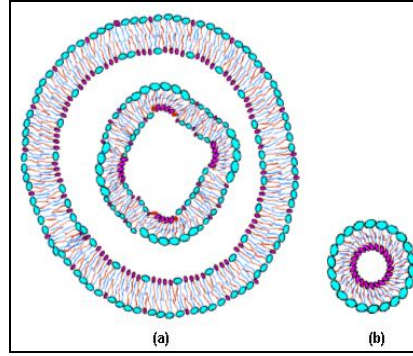


Şekil 10. Tek (Monolayer) (a) ve çok tabakalı (Multiplelayer) (b) lipozom (4)

Büyük, çok tabakalı lipozomlar gerçekte lipozom içinde lipozom olarak tanımlanabilir. Bunların dar kan damarlarına veya deri içerisine penetrasyon kabiliyetleri sınırlıdır. Lipozomların iç tabakalarına hapsedilen materyallerin ulaşılabilirliği ve serbest bırakılabilirliği ortadan kalkmaktadır. Büyük lipozomların eldesi kolaydır. Sadece fosfolipitin su içerisinde çalkalanması yeterlidir. Bu lipozomlar çok sınırlı bir fonksiyona sahiptirler ve genellikle en yaygın olarak gıda ürünlerinde bulunan ticari lesitinden yapılırlar.

Tek ve iki tabakalı lipozomlar, büyük lipozomlardan bazı temel özellikler bakımından farklılık göstermektedir. Bunlar mümkün olan en yüksek kaliteye sahip bileşenlerden oluşmakta ve özel tekniklere göre üretilmektedir. Nanozomlar ticari lesitinden daha kaliteli materyallerden elde edilmektedir. Nanozom eldesinde kullanılan madde oldukça yüksek oranda fosfatidylcholine (PC) içermektedir. Çok küçük, tek-iki tabakalı lipozomların (Nanozom-

lar) üretilmesi çok zordur, bu nedenle özel yöntemler kullanılmaktadır. Nanozomun eldesi büyük, çok tabakalı lipozomlara ultrasonik enerji uygulanmasını gerektirmektedir. Bu yöntem çok uzun ve son derece dikkat isteyen bir tekniktir. Ayrıca küçük partiler halinde yapılmaktadır. Nanozomlar enjeksiyon yoluyla kolaylıkla küçük kan damarlarına ve ayrıca lokal aplikasyonlarla deri içerisine penetre olabilmektedir. Şekil 11'de küçük ve büyük lipozomlar arasındaki bazı yapısal farklılıklar görülmektedir (3).



Şekil 11. Büyük çok tabakalı lipozom (a) ve küçük tek-iki tabakalı lipozom (b)

Üç ana lipozom sınıfı şunlardır;

- **Multilamellar Veziküller (MLV):** Multilamellar veziküllerde (MLV) iki tabaka arasındaki boşluklar, birbirine yaslanmış lameller arasındaki itici hidrasyon kuvvetleri ile Van der Waals ve elektrostatik çekim kuvvetleri arasındaki dengenin bir sonucu olarak ortaya çıkmıştır.

- **Küçük Üniamellar Veziküller (SUV):** Küçük unilamellar veziküller, çapları

yaklaşık 200-500 angström olan veziküllerdir. Sıvı kompartmanı sadece bir çift lipit tabakası tarafından kuşatılmıştır. SUV'ler büyüklüklerine ek olarak, çeşitli özellikleri bakımından da farklılıklar göstermektedir.

- **Büyük Üniamellar Veziküller (LUV):** Bu tip veziküllerin çapları yaklaşık 600 angströmden bir kaç mikrona kadar değişiklik göstermektedir.

Lipozomların üretiminde, sonikasyon, ekstrüzyon, çözgen enjeksiyon yöntemi gibi teknikler olmasına rağmen, bunların hepsi bir ürünün (özellikle eczacılıkla ilgili olanlar) durumuna ve ondan beklenenlere cevap verememektedir. Bir üretim yönteminin;

- Basit, standartize edilebilir, tekrarlanabilir ve makul bir fiyatta olması,
- Yeterli bir süre boyunca homojenitesini ve stabilliğini koruyabilen ürünler eldesini sağlaması
- Boyut ve diğer karakteristik özellikleri mümkün olduğunca kontrol edilebilir nitelikte olan ürünlerin üretimine imkan vermesi

istenmektedir (1).

Lipozomların hazırlanması, izolasyonu ve karakterizasyonu için kullanılan yöntemler, bu moleküllerin uygulama alanları kadar çeşitlidir (5).

Sonuç olarak, yapı ve tipleri özetlenen lipozomların tekstil boyacılığındaki kullanım alanları ve uygulama sonuçlarına bundan sonraki bölümde değinilecektir.

KAYNAKLAR/REFERENCES

- 1) <http://www.transtech.com/eng/conceptos1.htm> /26.02.2006
- 2) G. CORAL, (Danışman Prof. Dr. Ömer ÇOLAK), *Lipozom protoplast elektrofüzyon metoduyla Aspergillus niger kökenli glikoamilaz geninin Saccharomyces cerevisiae hücrelerine aktarılması ve ekspresyonu*, Doktora Tezi, Mersin Üniversitesi, 2000
- 3) www.elsomresearch.com /26.02.2006
- 4) <http://www.encapsula.com/pages/?business/26.02.2006>
- 5) S. C. BASU, M. BASU, *Liposomes Methode and Protocols*, Volume 199, 2002