

Lipozomların Kan ve Plazmadaki Stabiliteleri

The ,Stability of Liposomes in Blood and Plasma

Asuman BOZKIR*, Efsun DUMAN*

ÖZET

Uzun yıllardır lipozomlar üzerinde incelemelerde bulunan araştırmacılar, lipozomların in vitro ve in vivo olarak biyolojik sıvılardaki stabilite problemlerine tam olarak bir çözüm bulamamışlardır.

Bu derlemede, biyolojik sıvılar arasından sadece kan ve plazma seçilerek, lipozomların, bu sıvılardaki stabiliteleri ve stabilitelerini artırma amacı ile yapılmış çalışmalar özetlenmiştir.

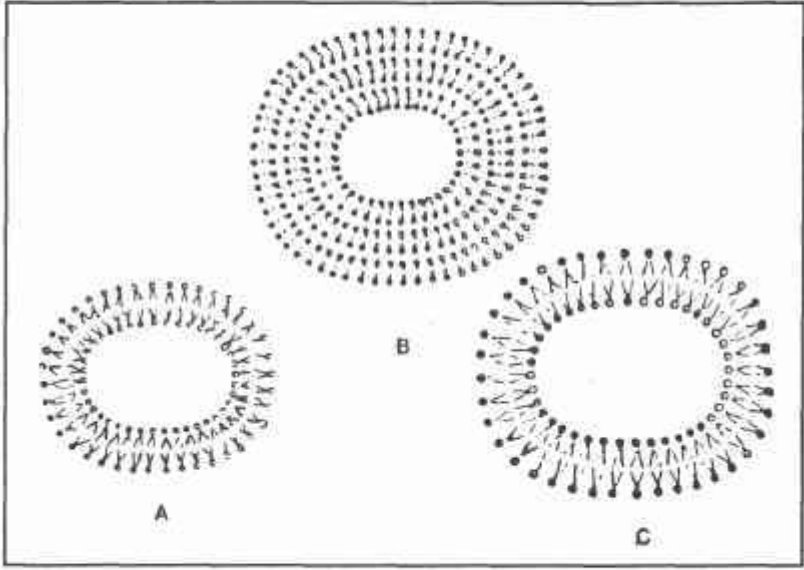
SUMMARY

The researchers who have investigated liposomes for years, could not find an exact solution to the stability problem of the liposomes in vitro and in vivo in the biological fluids.

in this review, among the biological fluids, blood and plasma were chosen to summarize the stability of liposomes in these fluids and the studies that are aimed to improve the stability.

Key words: Liposomes, stability of liposomes, in blood, in plasma, HDL.

İlaç taşıyıcı sistemlerden biri olan lipozomlar, tek veya içice birçok tabakadan oluşmuş aralarında sulu faz içeren yaklaşık 0.02-3.5 um çapında küresel veziküllerdir (Şekil 1). Hücre membranına model oluşturmak üzere ilk defa 1964'de Bangham ve arkadaşları tarafından hazırlanmışlardır. Toksik ve immunojenik değildir. Suda ve yağda çözünen etken maddeleri taşıyabilen lipozomlar, etken maddeleri kontrollü olarak serbestleştirebilirler, hedef bölgeye taşıyabilirler ve biyolojik olarak yıkılırlar (1).



Şekil 1: Farklı tipte lipozomların şematik görünümü (2).
 A: Küçük Tek Tabakalı Lipozomlar (SUV)
 B: Çok Tabakalı Lipozomlar (MLV)
 C: Büyük Tek Tabakalı Lipozomlar (LUV)

Lipozomların günümüze kadar tam çözümlenememiş sorunlarından biri hazırlanmalarından kullanılmalarına kadar geçen süre içerisindeki kimyasal ve fiziksel stabilitelere (3). Lipozomların ilaç taşıyıcısı olarak kullanılmasında ortaya çıkan 2 önemli problem daha vardır. Biri; lipozomların *in vivo* uygulanmasında bütünlüklerini koruyamayıp, taşıdığı ilacın hedef bölgeye ulaşmadan kanda salınması, diğeri ise lipozomların retikuloendotelial sistem (RES) hücrelerinde tutularak aynı şekilde hedef hücrelere ulaşamamasıdır (4).

Son yıllarda lipozom yapısını geliştirerek, lipozomların içinde bulunacakları biyolojik ortama uygun bir şekilde düzenleme çalışmaları devam etmektedir (5).

Lipozomlar *in vitro* koşullarda tampon çözeltiler içerisinde 4°C de ve azot gazı altında uzun süre bozulmadan kalabilir fakat biyolojik sıvılar içinde *in vitro* ve *in vivo* koşullarda bu dayanıklılığı gösteremezler (1).

Biyolojik sıvılar arasında kan; süspansiyonlu şekilli elemanlar ile plazmadan oluşan kompleks bir sıvıdır. Plazma ise, pıhtılaşması önlenmiş kandan santrifüj edilerek şekilli elemanların ayrıldığı, yapısında organik, inorganik maddelerle plazma proteinlerini içeren bir sıvıdır. Serum, plazmadan fibrinojenin yokluğu ile ayrılır (6).

Yapılan çalışmalarda lipozomal içerik üzerine plazma bileşenlerinin etkileri ve aynı zamanda bütün bu etkilere karşı lipozomların dirençli kalmalarını sağlayacak koşullar detaylı olarak belirtilmiştir. 1970'lerin ortalarında kan plazmasında bulunan faktörlerin, lipozomlardan ilaç salım hızını şiddetli bir şekilde arttırdıkları gözlemlenmiştir (7, 8).

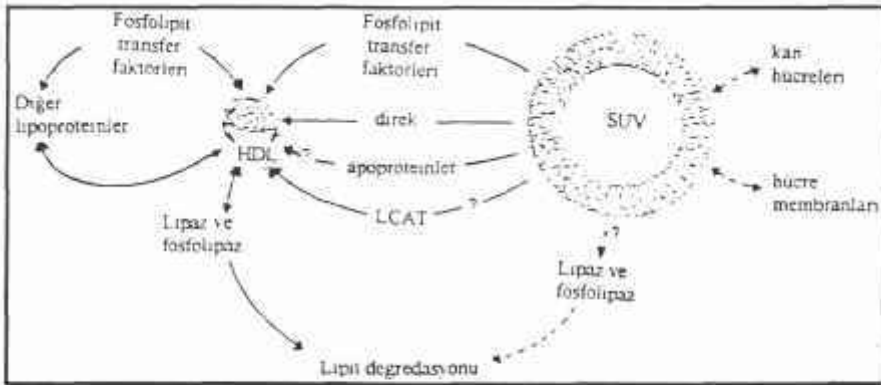
Plazma tarafından çevrelenen lipozomların, elektroforetik hareket kabiliyetlerinin değiştiği, böylece plazma proteinlerine adsorbsiyon gösterdikleri bildirilmiştir (9).

Yüksek dansiteli lipoproteinler (HDL), lipozomların plazmadaki bütünlüklerinin bozulmasından sorumlu faktörler arasında en etkin olanlarıdır. HDL'lerin bu olayı gerçekleştirme mekanizmalarının 2 şekilde olduğu düşünülmüştür.

1) Fosfolipit kütesinin, lipozomlardan yeni oluşan HDL partiküllerine transferi. (Şekil 2). Bu işlem plazma-lipit transfer proteinlerince kolaylaştırılır(10, 11, 12).

2) Apoproteinlerin, özellikle HDL apoproteinlerinin lipozomal lipit tabakasına girmesi; lipozomun disk şeklindeki tabakasal yapıya aynlmasına, parçalanmasına, bunun sonucunda da sulu faza hapsedilmiş maddenin salımına neden olur. Diskler en az %30 (a/a) protein içerir (13, 14, 15).

Lipozomlar ve lipoproteinler arasındaki bu etkileşme 3 tip reaksiyon ürünü ile sonuçlanır (15).



Şekil 2: Normal lipit metabolizmasında, lipozomlar ve HDL arasındaki fosfolipit hareketi. (Kesiksiz çizgiler; fosfolipit -genellikle fosfatidilkolin (PC)- transferini belirtirken, kesik çizgiler; minör transferi ya da sadece fosfolipit değişimini göstermektedir) (16).

1) Lipoproteinlerden olan, az miktardaki apoproteinle etkileşim sonucu, özel taşıyıcı yapılarını muhafaza eden lipozomların oluşumu.

2) Fazla miktarda apoprotein ile lipozomun parçalara ayrılması sonucu disk şeklindeki komplekslerin oluşumu.

3) Fosfolipitçe zenginleştirilmiş, kolesterol ve proteinle tüketilerek hazırlanmış lipozomlardan dolayı yeni lipoproteinlerin oluşumu (Pre-existing lipoproteins) (17).

Kanın, bir ölçüde de plazmanın lipozom bütünlüğü üzerine olumsuz etkilerinin saptandığı, serum içerisinde ise bu etkilerin daha fazla meydana geldiği belirlenmiştir. Kanın şekilli elemanları tarafından, lipoproteinlerin fosfolipit alımının doyurulması ve kolesterolün lipozomlara verilmesi, kandaki stabilitenin daha fazla olduğunu açıklayan sebepler olarak belirtilmiştir (18,19,20).

Lipozomların dayanıksızlığında HDL'nin önemli rolü yapılan bir çalışmada şöyle gösterilmiştir. Kolesterolsüz, Karboksiflorosein (CF) içeren SUV'ler, i.v. olarak lipoprotein eksikliği olan farelere injekte edilmiştir. İnjesiyon sonunda, CF'nin normal lipoprotein düzeyine sahip farelerdekine kıyasla daha yüksek oranda tutulduğu, yani lipozomların belli ölçüde yapısal bütünlüklerini korudukları belirlenmiştir. Aynı çalışmada lipoprotein eksikliği olan farelerden alınan plazma, HDL, düşük dansiteli lipoproteinler (LDL), orta dansiteli lipoproteinler (IDL) ve çok düşük dansiteli lipoproteinler (VLDL) miktarları artırılarak desteklenmiştir. (Bu işlem, fare kanında lipoprotein konsantrasyonunu fizyolojik aralıkta tutmak üzere yapılmıştır). Lipoproteinler, PC-SUV'lerin eklenmesinden önce ilave edilmiş, daha sonra 37°C de inkübe edilmiştir. Sonuçta, çalışılan lipoproteinler arasında, lipozomal stabiliteye en zararlı olarak HDL bulunmuştur (21).

Diğer taraftan, Lesitin Kolesterol Acil Transferaz (LCAT) enzim eksikliğinin etkisi araştırılmıştır. PC-SUV'lerinin, düşük HDL seviyesi ile karakterize, konjenital LCAT eksikliği olan hastanın plazması ile maruz bırakılması sonucu elde edilen taşıyıcı stabilitesinin, normal insan plazması ile maruz bırakıldığında oluşan stabiliteden daha yüksek olduğu bulunmuştur (16).

Lipozom-Plazma Etkileşimleri Üzerine Etki Eden Faktörler

A- Taşıyıcı yapısına ait bozukluklar

Lipit tabakalan ile proteinler arasındaki hassas etkileşim lipit-su bileşiminin kalitesine dayanmaktadır. Çok düzgün ve saf bir fosfolipit membran, proteinlerin hızla penetrasyonuna olanak vermez. Lipit mole-

küllerinin düzgün olmayan bir şekilde yüzeyde toplanması daha fazla penetrasyona yol açmaktadır.

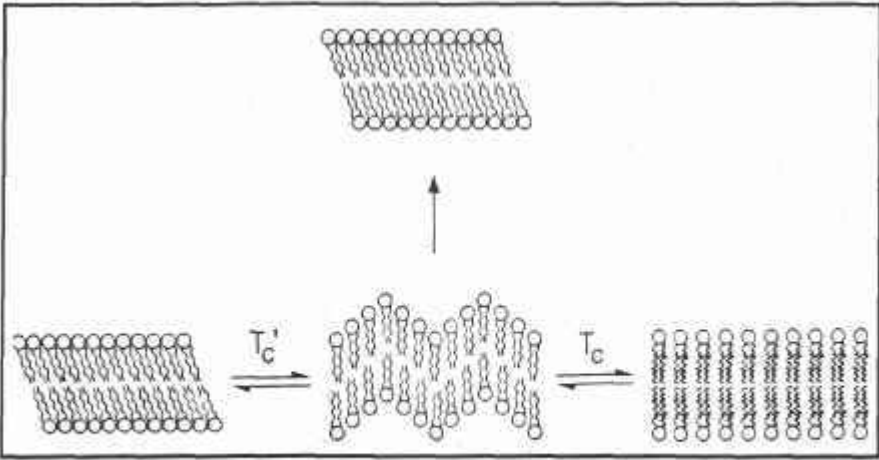
Fosfolipit membranındaki yapısal bozukluklar, lipit, faz değiştirme sıcaklığının altında sonikasyon yapıldığında gözlenir. Bu yapı, düzgün çevreli bir membran haline, faz değiştirme sıcaklığı (T_c)'nin üzerinde bir sıcaklığa ısıtıldığında dönüşür. Ayrıca, bu yapısal bozuklukların, lipitin fosfolipaz hassasiyeti üzerinde güçlü uyarıcı etkide olduğu da bulunmuştur (22).

B- Lipozomların Faz Davranışı

Faz değiştirme sırasında sıvı kristal ve jel fazı, aynı tabakada birarada bulunur. Bu oluşum, faz sınırının varlığını aynı zamanda düzensiz yapıyı temsil eder (Şekil 3). Bu halleri ile, HDL ile etkileşime daha hassastırlar. Böylece, bu yapıdan protein penetrasyonu kolaylaşmış olur. Bu durum dikkate alınarak, çalışmalarda, formülasyonun faz değiştirme sıcaklığının 37°C 'a yakın olup olmadığı diferansiyel termal analiz cihazı (DSC) ile belirlenmelidir. (23, 24, 25).

MLV'lerin faz değiştirme sıcaklığına yakın sıcaklıklarda geçirgenliklerinin çok fazla olduğu ve ozmotik koşullara hassas formda oldukları bilinmektedir. SUV'ler ise ortamda faz değişimine bağlı salımı destekleyen bir protein olmadığı durumlarda bu sıcaklık aralığında daha stabil kalmaktadırlar (27).

Yapılan bir çalışmada, dimiristoil fosfatidilkolin (DMPC)'in faz değiştirme sıcaklığında (24°C) daha duyarlı olduğu bulunmuştur. Dipalmi-



Şekil 3: Lipozomların faz değiştirme özellikleri (26).

toil lesitin (DPL) ise faz değiştirme sıcaklığında (42°C) bütünlüğünü çok yavaş kaybetmiştir. Bu durum; sadece faz sınırının değil, aynı zamanda fosfolipit molekülünün aıl zincir uzunluğunun ve böylece lipit molekülleri arasındaki kohezyon kuvvetlerinin de plazma hassasiyeti oluşturduğunu göstermiştir. Sonuç olarak, faz değiştirme sıcaklığında DPL'den oluşmuş lipit molekülleri, DMPC lipit mülüküllerinin oluşturduğu lipit tabakaya göre daha sıkı yerleşmiştir (22).

C- Taşıyıcı Büyüklüğü ve ifte Tabaka Oluşumu

Lipozom oluşumu esnasında tabakalarda meydana gelen kavis, lipozomal ifte tabakanın yapısına alacağı lipitin yerleşimini etkilemekte ve bu olay etkisini, faz değiştirme sıcaklığını düşürerek ya da yükselterek göstermektedir. DPL'den hazırlanan SUV'lerin faz değiştirme sıcaklık aralığı 34-43°C arasında değişmekte, aynı lipit kompozisyonundan oluşan MLV'lerde 42°C, LUV'lerde ise 41°C olmaktadır. Sonuçta, MLV'lerle kıyaslandığında SUV ve LUV tiplerinin faz değiştirme sıcaklığında azalma olduğu saptanmıştır.

Lipoprotein ya da fosfolipaz atağına karşı lipozomal fosfolipit hassasiyeti güçlü bir şekilde taşıyıcı büyüklüğüne dayanmaktadır. MLV'lerde tabaka yüzey alanı/mole lipit, SUV'lerden daha azdır. SUV'ler yüksek yüzey alanları ile devamlı olarak yapısal düzensizlik gösterirken, bu halleri ile lipoproteinler tarafından çözünmeye karşı hassastırlar. Örneğin; yumurta lesitinin 37°C de plazmada, MLV yapısındaiken, 24 saatlik inkübasyon sırasında herhangi bir çözünürlük aktivitesi gözlenmemiştir. Buna karşılık, aynı koşullarda hazırlanan yumurta lesitini/HDL kompleksinden oluşan SUV'lerde çözünürlük aktivitesi saptanmıştır. Buna benzer şekilde, DML'den hazırlanan SUV'ler plazma tarafından hızlı bir şekilde, geniş bir sıcaklık aralığında çözünür hale getirilmiştir. MLV'lerde belirgin bir çözünürlük elde etmek için inkübasyonun yukarıda belirtilen faz değiştirme sıcaklığında yapılması gerektiği vurgulanmıştır (22).

Değişik büyüklükteki SUV'ler arasında ifte tabaka kavisindeki çok ufak değişmeler, fosfolipaz ya da HDL'ye karşı hassasiyeti belirginleştiren özelliktedir. Enkapsüle edilen hacim/mole lipit ne kadar küçükse, plazmaya karşı SUV'lerin hassasiyeti de o kadar yüksek olmaktadır (28).

Yapılan bir çalışmada; kolesterol içermeyen ve artan molekül ağırlığında madde [Sukroz (M.A. 342.30), İnülin (M.A. 5000), Polivinilpirolidon (PVP) (M.A. 25000)] içeren PC-SUV'lerinde, taşıyıcı tabakasında por oluşumunun total taşıyıcı dağılımından daha fazla olduğu gözlenmiştir. 37°C de plazma inkübasyonunda, maddenin molekül ağırlığı arttıkça, madde kaybının daha az olduğu bulunmuştur (Tablo 1). Buna ek olarak, boş PC-SUV'leri CF ile karıştırılmış plazma ile maruz bırakıldığında, boyanın bir kısmını içlerine aldıkları kromatografik ayrılmalarından sonra

gözlemlenmiştir. Araştırmacılar bunu da, porlu yapıdaki SUV'lerin yapısal mevcudiyetlerini, por kanalları üzerinde kalan fosfolipit yağ asiti zincirleri ile etkileşen plazma proteinlerinin hidrofob bölgeleri ile korudukları şeklinde yorumlamışlardır. Diğer taraftan, LUV'lerin plazmayla ilk temasta HDL'ye fosfolipit kaybı ile geçirgenliklerinin arttığı, daha sonra bunun ortadan kalktığı, çünkü azalmış sulu hacimle taşıyıcıların, daha küçük yapılar oluşturmak üzere büzüldüğü ifade edilmiştir.

Böylece, SUV'ler için ileri sürülen por oluşumunun büyük taşıyıcılarda gereksiz olduğu düşünülmüştür. Sonuçta; taşıyıcıların HDL aktivitesine karşı gösterdikleri hassasiyetin, taşıyıcı büyüklüğünün azalmasıyla arttığı doğrulanmıştır (15, 29).

Tablo 1: Plazma varlığında SUV'lerden değişik molekül ağırlığındaki maddelerin salımı (29, 30) (Sonuçlar, açığa çıkan radyoaktivite yüzde değerleri \pm standart sapmaları belirt-

Lipozomlar	Sukroz	Inülin	PVP
PC (Kolesterolsüz)	80.6 \pm 10.4	68.9 \pm 6.9	26.913.7
PC-Kolesterol (7:2)	42.2 \pm 2.8	31.117.2	26.113.0
PC-Kolesterol (7:7)	4.1 \pm 2.1	7.7 \pm 0.9	6.6, 7.7

D- Kolesterol

Birçok araştırmacı tarafından kolesterolün lipozomlardan etken madde salımı ve HDL'ye lipit transferi üzerindeki etkileri açıklanmıştır (22).

Esterleşmemiş yapıda kolesterol içeren lipozomların, fosfolipit kütlelerini hızla HDL'ye vererek kaybetmedikleri yine de lipozomlar ile HDL arasındaki fosfolipit değişiminin devam ettiği bildirilmiştir. Böylece, lipozom fosfolipiti ile lipoprotein türevi fosfolipitin yer değiştirilmesi ile fosfolipit kaybının kompanse edildiği ve bu olayın taşıyıcıya büyük zarar vermediği anlaşılmıştır (15, 31).

Kolesterol'ün stabilize edici etkisi, bir sıvı tabaka içerisindeki fosfolipit moleküllerinin yerleşimini sıkılaştırma kapasitesi olarak açıklanmıştır. Bunun yanısıra, başka bir kaynaktan, kolesterolün esas etkisinin, plazma lipoproteinleri ve kırmızı kan hücrelerinin membranına fosfolipit transferini azalttığından kaynaklandığı belirtilmiştir (22,25, 32).

Aynı zamanda, esterleşmemiş kolesterol, lipozom tabakasının akışkanlığını azaltmakta, bu da apoproteinlerin penetrasyonunu zorlaştırmak-

tadır. Böylece esterleşmemiş kolesterol içeren lipozomlar düşük dozlarda dahi plazmada stabil halde kalabilmektedir (15).

Lesitin molekülleri ile olan etkileşim sonucu, kolesterol, jel-sıvı kristal faz değişimini ortadan kaldırır. Örneğin, 2:1 oranında DML/kolesterol karışımında bütün fosfolipit molekülleri, kolesterol molekülü ile kompleks oluşturmuş ve sonuçta böyle bir sistemde faz değişimi gözlenmemiştir. Böylece, plazmada lipozom çözünürlüğü inhibe edilmiştir (22).

Lipoproteinlerden kaynaklanan fosfolipit değişimi sırasında lipozomal işaretleyicinin kinetik ve metabolik davranışı değişebilmektedir. Bu durumda işaretli sfingomyelinin (SPH), lipozomal lipit işaretleyicisi olarak işaretli lesitin yerine kullanımı daha güvenilir olmuştur. ¹⁴C-SPH içeren taşıyıcılardan işaretleyici transferinin neredeyse tamamına yakınının yüksek lipozomal kolesterol içeriği ile baskılandığı bulunmuştur (33).

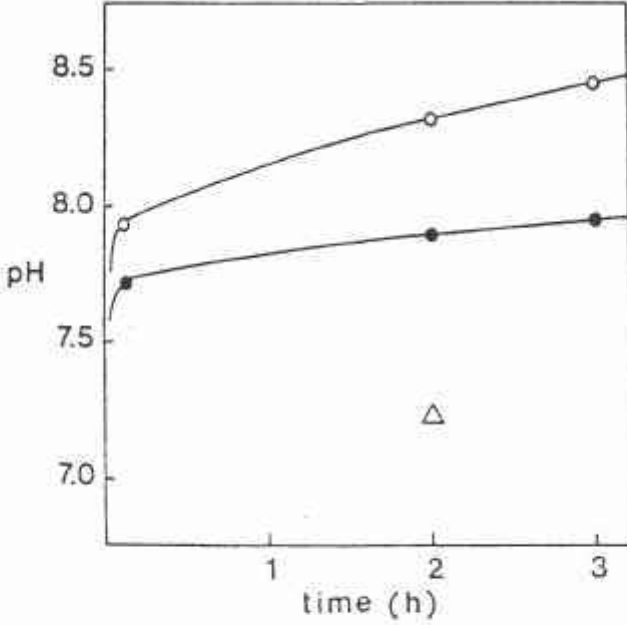
Bir başka çalışmada, HDL ile kolesterolce zengin lipozom etkileşiminin tam olmadığı gösterilmiştir. Çünkü, bu etkileşim sırasında oluşan fosfolipit değişiminin lipozomal lipit tabakasının dış tabakasıyla sınırlı kaldığı bulunmuştur (22).

Yapılan diğer bir çalışmada, insan serum albumini taşıyan, yumurta fosfatidilkolin, kolesterol ve disetilfosfat (7:2:1) içeren MLV lipozomları, sıçanlara i.v olarak injekte edilmiştir. Hem lipit hem de sulu faz işaretlenmiştir (¹³¹I işaretli albumin ve [³H] kolesterol). İki işaretleyicinin dolaşımından temizlenmesinin gözlenmesi ile, bu stabil lipozomlarla kantitatif olarak proteinin (albumin) alıkonulduğu bulunmuştur (34).

Başka bir çalışma da, ¹²⁵I işaretli albumin hapsedilmiş yumurta fosfatidilkolin, kolesterol, disetilfosfat (7:1:2) içeren lipozomların sıçan plazmasıyla inkübasyonu yapılmıştır. Sonuçlar, HDL ile etkileşen lipozomların yapı bütünlüğünün bozulduğunu kanıtlamıştır. 30 dakika süre ile 37°C deki inkübasyon sonunda, hapsedilen albuminin %60'a yakınının salındığı bulunmuştur (35).

İnsan serum albumini ile yapılan diğer bir çalışmada, nötral tek tabakalı kolesterol-DPL içeren lipozomlarda, proteinin bu lipozomlar üzerine etkisi araştırılmıştır. Sonuçta, albuminin bu tek tabakadan penetrasyon kabiliyeti ile lipozomlar üzerindeki sızdırma etkisi arasında ilişki olduğu saptanmıştır (36).

PC lipozomlarında, kolesterol içeriğinin stabilite üzerine etkisi değişik fosfolipitlerle hazırlanmış SUV'lerin uygulanması ile incelenmiştir. CF içeren dilauril fosfatidilkolin (DLPC), DMPC, dioleil fosfatidilkolin (DOPC) ve SM (Sfingomyelin)'den oluşturulmuş SUV'ler, 37°C de 60 dakika süre ile fare kanında inkübe edildiğinde CF'i sızdırır hale geldikle-



Şekil 4: 37°C'da inkübe edilen;

- Taze sıçan plazmasındaki pH değişimi
- Plazmanın 1:1 oranında 150 mM NaCl/10 mM Tris. HCl (pH:7.2) ile dilüsyonu sonucu oluşan pH değişimi
- △ Aynı tampona karşı plazma diyalizinden sonra pH değişimi

ri gözlenmiştir. DLPC, DMPC, DOPC SUV'lerinde CF'nin tamamı sızmıştır. Bunun yanı sıra, CF, SM-SUV'lerinde belli ölçüde alıkonulmuştur. Diğer taraftan, fosfolipit konsantrasyonuna eşit molar konsantrasyonda kolesterolün SUV formülasyonlarına eklenmesi, CF birikimi ile sonuçlanmıştır. Bu birikimin miktarının, fosfolipit bileşenine bağlı olduğu bulunmuştur. DMPC ve SM lipozomlarında kanda sırasıyla 6 saat ve 12 saat için inkübasyondan sonra bile alıkonmanın neredeyse tama yakın olduğu saptanmıştır. DLPC lipozomlarında ise alıkonmanın çok daha az olduğu belirtilmiştir (15).

E- pH değişiklikleri

Plazma ile etkileşim sonucu, lipozomdan içerik salımı, inkübasyon sırasında pH değişikliklerinden etkilenebilir. Özellikle lipozomlardan CF salımının güçlü bir şekilde pH ya bağımlı olduğu bulunmuştur. pH, lipozomlara hapsedilen bileşiklerin protonasyonun derecesini ifade ederken

aynı zamanda bu bileşiklerin fosfolipit tabakadan difüzyon hızlarını da yansıtmaktadır.

Hapsedilen işaretleyicinin in vitro salımı lipozomal stabiliteyi ifade ettiğinden, pH daki değişme stabilitenin yanlış yorumlanmasına neden olacaktır. Plazmanın 1:1 oranında 10 mM Tris tamponu dilüsyonuyla oluşan pH 7.2, kısmen pH'nın yükselmesini azaltacaktır (Şekil 4). pH'nın optimum stabilizasyonu; 2 saat süreyle aynı tampona karşı plazmanın diyalizi ile elde edilmektedir. Diyalize alınmış plazma, uygun inkübasyon ile fazla pH değişimi göstermemektedir (22).

F- Lipoprotein olmayan plazma bileşenleri

SUV'lerden HDL'ye fosfolipit saliminin büyük bir oranda plazmanın lipoprotein olmayan kısmının varlığı ile arttığı düşünülmektedir. Bu olaydan sorumlu olan proteinlerden bir kısmı her ne kadar saflaştırılmış olsa da, henüz bunların davranış mekanizmaları tam olarak açıklanamamıştır. Bir düşünüşe göre; protein, taşıyıcının lipoprotein ile etkileşimini daha hassas hale getirmek üzere davranır. Bu durumda SUV/HDL sistemi ile plazmada cereyan eden olayların sonuçları ile, stabilite hakkında yorum yapmak tam olarak doğru olmayacaktır. Stimüle edici faktör (protein) varlığında ve/veya yokluğunda, taşıyıcı ile HDL arasındaki etkileşme mekanizmasının benzer olup olmadığı konusunda kesin birşey söylenememektedir (22).

Yapılan çalışmalar gözönüne alındığında, lipozomların in vivo stabilitelerinin,

*Kolesterol veya kolesterol yerine tokoferol ilavesi,

*Mono, di ya da trisialogangliosidlerin ilavesi (Bunlar kolesterol ile sinerjik etki eder).

*Fosfolipit analoglarının ilavesi (Örneğin; eter fosfolipitleri, yumurta PC'in karbamil analogları),

*Yüksek jel-sıvı kristal faz değişim sıcaklığına sahip fosfolipitlerin ilavesi,

*Uygun formülasyon bileşiminin ve lipozom hazırlama tekniğinin seçimi, ile arttırılabileceği belirlenmiştir (1, 7, 37).

SONUÇ

Lipozom teknolojisinde, bir formülasyonun ortaya çıkışı birçok parametrenin gözönüne alınmasıyla başarılı sonuca ulaşılır.

Lipozomların biyolojik sıvılardaki stabilitelerinin ne derece önemli olduğu, yapılan çalışmalar sonucu elde edilen bulgulardan anlaşılmaktadır. Bu sebeple, stabilite arttırımı için gerekli olan işlemlerin, doğru bir şekilde seçilip uygulanması, formülasyonun gelişimi için kaçınılmaz olmaktadır.

Kısaca; lipozomların, in vitro ve in vivo stabil bir ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılmaları için, yapılarına teknolojik bazı modifikasyonlar uygulanıp, üretim koşullarına adaptasyonları sağlanmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Gürsoy A., 1989, Lipozomlar (Kontrollü İlaç Serbestleştirilen Sistemler), Gürsoy A., Pişkin E., Peppas A., Dortunç B., Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 173.
2. Minarro M., 1992, Aplicaciones De Los Liposomas en Farmacia, Rev. R. Acad. Farm. Barc, 13, 71-118.
3. **Bozkır A.**, Koçyiğit S., 1995, Lipozomların Fiziksel ve Kimyasal Stabilitelerinin İncelenmesi, A.U. Eczacılık Fakültesi Dergisi, 24 (1), 42-52.
4. Alkan H., 1983. Lipozomlar. II. İlaç Taşıyıcısı Olarak Kullanılmaları FABAD Farm Bil. Der., 8, 197-212.
5. Gregoriadis G., 1980, Tailoring Liposome Structure, Nature, 283 (28), 814-815.
6. Noyan A., 1984, Kan Fizyolojisi (Fizyoloji Ders Kitabı), Anadolu Üniversitesi Yayınları No. 2,433.
7. Scherphof G.L., 1991, In Vivo Behavior of Liposomes: Interactions with the Mononuclear Phagocyte System and Implications for Drug Targeting (Targeted Drug Delivery), 100, Juliano R.L., Springer-Verlag, Berlin, 285.
8. Gregoriadis G., 1988, Liposomes As A Drug Delivery System: Optimization Studies (Biotechnological Applications of Lipid Microstructures), Gaber B.P., Schnur M.J., Chapman D., Plenum Press, New York, 151.
9. Mazda F. Üre içeren kozmetik amaçlı lipozom ve noniyonik sürfaktan vezikül formülasyonları üzerinde çalışmalar (Farmasötik Teknoloji Programı Bilim Uzmanlığı Tezi), Ankara, 1993.
10. **Tall A.R.**, 1986. Plasma Lipid Transfer Proteins, Journal of Lipid Research, 27, 361-367.
11. **Tall A.R.**, 1980, Studies on the Transfer of Phosphatidylcholine from Unilamellar Vesicles into Plasma High Density Lipoproteins in the Rat, Journal of Lipid Research, 21, 354-363.
12. Gregoriadis G., 1993, Liposomes as Immunological Adjuvants for Peptide and Protein Antigens (Liposomes in Drug Delivery), Gregoriadis G., Florence A.T., Patel H.M, Harwood Academic Publishers, Svitzerland, 79.

13. **Tall A.R., Donald M.S.**, 1977, Solubilisation of Phospholipid Membranes by Human Plasma High Density Lipoproteins, *Nature*, 265 (13), 163-164.
14. **Chobanian J.V., Tall A.R., Brecher P.I.**, 1979, Interaction between Unilamellar Egg Yolk Lecithin Vesicles and Human High Density Lipoprotein, *Biochemistry*, 18.180-187.
15. **Williams K J., Tall A.R.**, 1988, Interaction of Liposomes with Lipoproteins: Relevance to Drug Delivery Systems and to the Treatment of Atherosclerosis (Liposomes as Drug Carriers), Gregoriadis G., John Wiley and Sons, 93.
16. **Senior J.H.**, 1986, Fate and Behavior of Liposomes in vivo: A Review of Controlling Factors (CRC Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems), 3 (2),
17. **Tali A.R., Green P.H.R.**, 1981, Incorporation of Phosphatidylcholine into Spherical and Discoidal Lipoproteins During Incubation of Egg Phosphatidylcholine Vesicles with Isolated High Density Lipoproteins or with Plasma, *The J. Biol. Chem.*, 256 (4), 2035-2044.
18. **Kirby C., Clarke J., Gregoriadis G.**, 1980, Effect of Cholesterol Content of Small Unilamellar Liposomes on Their Stability in vivo and in vitro, *Biochem. J.*, 186, 591-598.
19. **Williams J.K., Scanu M.A.**, 1986, Uptake of Endogenous Cholesterol by A Synthetic Lipoprotein, *Biochim. Biophys. Acta*, 875, 183-194.
20. **Lelkes P.I., Tandeter H.B.**, 1982, Studies on the Methodology of The Carboxyfluorescein Assay and on the Mechanism of Liposome Stabilization by Red Blood Cells in vitro, *Biochim. Biophys. Acta*, 716, 410-419.
21. **Senior J., Gregoriadis G., Mitropoulos K.A.**, 1983, Stability and Clearance of Small Unilamellar Liposomes Studies with Normal and Lipoprotein-deficient Mice, *Biochim. Biophys. Acta*, 760,111-118.
22. **Gregoriadis G.**, 1984, Targeted Drug Delivery and Biological Interaction (Liposome Technology), CRC Press, Boca Raton, Florida, 212.
23. **Ailen M.T.**, 1981, A Study of Phospholipid Interactions between High-density Lipoproteins and Small Unilamellar Vesicles, *Biochim. Biophys. Acta*, 640, 385-397.
24. **Guzman M., Selles E., Aberturas M.R.**, 1989, Effect of Human Plasma on the Stability of Large Multilamellar Liposomes with Digitoxin, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 15 (11), 1759-1770.
25. **Weiner N., Martin F., Riaz M.**, 1989, Liposomes as Drug Delivery System, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 15 (10), 1523-1554.
26. **Erdoğan S.** Radyokontrast etken madde taşıyan lipozom ve NISV taşıyıcı sistemler üzerinde çalışmalar (Farmasötik Teknoloji Programı Bilim Uzmanlığı Tezi), Ankara, 1996.
27. **Weinstein J.N., Klausner R.D., Innerarity T., Ralston E., Blumenthal R.**, 1981, Phase Transition Release, A New Approach to the Interaction of Proteins with Lipid Vesicles, *Biochim. Biophys. Acta*, 647, 270-284.

28. **Scherphof G., Morselt H.**, 1984, On the Size-Dependent Disintegration of Small Unilamellar Phosphatidylcholine Vesicles in Rat Plasma, *Biochem. J.*, 221, 423-429.
29. **Kibry C, Gregoriadis G.**, 1981, Plasma Induced Release of Solutes from Small Unilamellar Liposomes is Associated with Pore Formation in the Bilayers, *Bioc-hem. J.*, 199, 251-254.
30. **Riaz M., Weiner N., Martin F.**, 1989, *Liposomes (Pharmaceutical Dosage Forms: Dispers Systems)*, Lieberman H.A., Rieger M.H., Barker G.S., Marcel Dekker, NewYork, 567.
31. **New R.R.C., Black C.D.V., Parken R J., Puri A., Scherphof L.G.**, 1990, *Liposo-mes in Biological Systems (Liposomes: A Practical Approach)*, New R.R.C., Ox-ford University Press, 221.
32. **Lange Y., D'Alessandro J., Small D.M.**, 1979, The Affinity of Cholesterol for Phosphatidylcholine and Sphingomyelin, *Biochim. Biophys. Acta*, 556, 388-398.
33. **Damen J., Regts J., Scherphof G.**, 1981, Transfer and Exchange of Phospholipid between Small Unilamellar-Liposomes and Rat Plasma High Density Lipoproteins, *Biochim. Biophys. Acta*, 665, 538-545.
34. **Gregoriadis G., Ryman E.B.**, 1972, Fate of Protein-containing Liposomes Injected into Rats, *Eur. J. Biochem*, 24,485-491.
35. **Scherphof G., Roerding F., Waite M., Parks J.**, 1978, Disintegration of Phospha-tidylcholine Liposomes in Plasma as A Result of Interaction with High Density Li-poproteins, *Biochim. Biophys. Acta*, 542,296-307.
36. **Hernandez J., Estelrich J., Montero M.T., Valls O.**, 1989, Interaction between Human Serum Albumin and Liposome Study, *Int. J. Pharm.*, 57, 211-215.
37. **Tezcaner A., Özden M. Y., Hasırcı V.**, 1995, Influence of Composition on Structu-ral Stability of Liposomes, *Prof. 2nd Natl. Biomed. Sci. Tech. Symp.*,
23.