



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

PŘÍPRAVA A CHARAKTERIZACE TRIPLE-IPA PRO TVORBU VEZIKULÁRNÍCH SYSTÉMŮ

PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF TRIPLE-IPA FOR THE FORMATION OF VESICULAR
SYSTEMS

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Ludmila Novotná

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Filip Mravec, Ph.D.

BRNO 2023

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1853/2022 Akademický rok: 2022/23
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Studentka: **Ludmila Novotná**
Studijní program: Chemie a chemické technologie
Studijní obor: bez specializace
Vedoucí práce: **doc. Ing. Filip Mravec, Ph.D.**

Název bakalářské práce:

Příprava a charakterizace triple-IPA pro tvorbu vezikulárních systémů

Zadání bakalářské práce:

1. Vypracovat rešerši zahrnující přípravu iontových amfifilních páru vhodných pro přípravu vezikulárních systémů. Součástí rešerše bude i přehled technik, které jsou vhodné pro základní charakterizaci vezikulárních systémů.
2. Na základě rešerše pak zvolit metody studia a charakterizace iontových amfifilních párů a z nich vytvořených vezikulárních systémů.
3. Zhodnotit a porovnat získané parametry a výsledky daného systému.

Termín odevzdání bakalářské práce: 22.5.2023:

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

Ludmila Novotná
studentka

doc. Ing. Filip Mravec, Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2023

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

ABSTRAKT

Tato práce se zabývá přípravou a charakterizací vezikulárních systémů tvořených triple-IPA (iontový amfifilní pár se třemi hydrofobními řetězci). Pro přípravu triple-IPA byly využity dvouřetězcové kationické tenzidy dimetyldimyrystylamonium bromid (DMSAB), dimetyldipalmityamonium bromid (DPAB), dimetyldioktadecylamonium bromid (DODAB) a dimetyldioktadecylamonium chlorid (DODAC) a jednořetězcový anionický tenzid dodecylsírán sodný (SDS). Z kationických tenzidů byly vybrány DMSAB a DPAB, které byly studovány důkladněji. Triple-IPA byly připraveny smícháním roztoků opačně nabitých tenzidů v ekvimolárním poměru, vzniklá sraženina triple-IPA byla odfiltrována a usušena. Ze získaného prášku byly rehydratací a sonifikací připraveny vezikulární systémy. Ke stabilizaci kataniontových vezikul byl použit cholesterol a kationické tenzidy, ze kterých byly připraveny triple-IPA. Vlastnosti vezikulárních systémů byly vyhodnoceny pomocí měření dynamického a elektroforetického rozptylu světla a turbidimetrie. Disperzní roztoky s přídavkem cholesterolu byly méně zakalené, proto lze předpokládat, že podpořily tvorbu kataniontových vezikul. Optimální obsah cholesterolu je 20 mol. %. Při této koncentraci se projeví vliv cholesterolu na reorganizaci membrány vezikul a kataniontový systém zůstává monodisperzní. U všech připravených roztoků byl stanoven kladný zeta potenciál ve stabilní oblasti, který se ještě zvýšil přidáním kladného tenzidu. Nejvhodnější kationický tenzid pro přípravu triple-IPA je DPAB, se kterým se dobře pracuje, vytváří nejvíce monodisperzní systémy a má nejmenší nejistoty měření.

KLÍČOVÁ SLOVA

iontový amfifilní pár (IPA), kataniontové vezikuly, zeta potenciál, dynamický rozptyl světla, elektroforetický rozptyl světla, turbidimetrie

ABSTRACT

This thesis deals with the preparation and characterization of vesicular systems consisting of triple-IPA (ion pair amphiphile with three hydrophobic chains). For the preparation of triple-IPA were used double-chain cationic surfactants dimethyldimyristylammonium bromide (DMSAB), dimethyldipalmitylammonium bromide (DPAB), dimethyldioctadecylammonium bromide (DODAB) and dimethyldioctadecylammonium chloride (DODAC) and the single-chain anionic surfactant sodium dodecyl sulfate (SDS). Among the cationic surfactants, DMSAB and DPAB were selected to be studied more thoroughly. Triple-IPAs were prepared by mixing solutions of oppositely charged surfactants in equimolar ratio, and the resulting triple-IPA precipitate was filtered and dried. From the obtained powder, vesicular systems were prepared by rehydration and sonication. Cholesterol and cationic surfactants, from which the triple-IPAs were prepared, were used to stabilize the cationic vesicles. The properties of the vesicular systems were evaluated by dynamic and electrophoretic light scattering measurements and turbidimetry. The dispersion solutions with the addition of cholesterol were less turbid; therefore, it can be assumed that they supported the formation of cationic vesicles. The optimum cholesterol content is 20 mol. %. At this concentration, the effect of cholesterol on vesicle membrane reorganization becomes apparent and the cationic system remains monodisperse. A positive zeta potential in the stable region was determined for all prepared solutions, which was further increased by the addition of a positive surfactant. The most suitable cationic surfactant for the preparation of triple-IPA is DPAB, which is easy to work with, produces the most monodisperse systems and has the lowest measurement uncertainties.

KEY WORDS

ion pair amphiphile (IPA), cationic vesicles, zeta potential, dynamic light scattering, electrophoretic light scattering, turbidimetry

NOVOTNÁ, Ludmila. *Příprava a charakterizace triple-IPA pro tvorbu vezikulárních systémů* [online]. Brno, 2023 [cit. 2023-05-17]. Dostupné z: <https://www.vut.cz/studenti/zav-prace/detail/148006>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí práce Filip Mravec.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

podpis studenta

Poděkování:

Ráda bych poděkovala doc. Ing. Filipu Mravcovi, Ph.D. za jeho odborné vedení, připomínky a věnovaný čas. Zvláštní poděkování patří Ing. Martině Havlíkové za její nekonečnou trpělivost, čas a ochotu při práci v laboratoři i při zpracování této práce. Také bych chtěla poděkovat rodině a přátelům za podporu nejen během studia.

OBSAH

1	Úvod.....	8
2	Teoretická část.....	9
2.1	Tenzidy.....	9
2.1.1	Anionické tenzidy.....	10
2.1.2	Kationické tenzidy.....	10
2.2	Steroidy.....	11
2.2.1	Cholesterol.....	12
2.3	Asociativní koloidy.....	12
2.3.1	Tvorba micel.....	12
2.3.2	Tvary micel.....	14
2.4	Kataniontová směs a iontový amfifilní pár (IPA).....	15
2.4.1	Příprava iontových amfifilních párů.....	17
2.5	Používané metody pro charakterizaci kataniontových vezikul.....	17
2.5.1	Dynamický rozptyl světla.....	17
2.5.2	Elektroforetický rozptyl světla.....	18
2.5.3	Turbidimetrie.....	19
3	Současný stav řešené problematiky.....	20
3.1	Příprava triple-IPA.....	20
3.2	Příprava double-IPA.....	21
4	Experimentální část.....	23
4.1	Použité chemikálie.....	23
4.3	Příprava zásobního prášku IPA.....	24
4.4	Příprava vezikulárních systémů.....	24
4.4.1	Příprava roztoků IPA.....	24
4.4.2	Příprava roztoků kationických tenzidů.....	24
4.4.3	Příprava roztoků IPA s přídavkem cholesterolu.....	24
4.4.4	Příprava roztoků IPA s přídavkem kationického tenzidu a cholesterolu.....	25
4.5	Měření vzorků.....	25
4.5.1	Měření dynamického a elektroforetického rozptylu světla.....	25
4.5.2	Měření turbidity.....	26
5	Výsledky a diskuze.....	27
5.1	Příprava zásobního prášku IPA.....	27

5.2	Příprava vezikulárních systémů z triple-IPA.....	28
5.2.1	Vezikulární systémy bez stabilizace	29
5.2.2	Vezikulární systémy se stabilizací cholesterolem.....	31
5.2.4	Vezikulární systémy se stabilizací kationickým tenzidem a cholesterolem	35
6	Závěr.....	37
7	Seznam použitých zdrojů.....	39
8	Seznam použitých zkratk a symbolů	44
8.1	Seznam zkratk.....	44
8.2	Seznam symbolů.....	44
9	Přílohy	45

1 ÚVOD

Tato bakalářská práce se zabývá iontovými amfifilními páry, které mohou nalézt své využití např. ve farmacii jako potenciální nosiče léčiv. Konkrétně se zaměřuje na triple-IPA, které zatím nebyly podrobně studovány. Jedná se o systém dvou opačně nabitých tenzidů se silným elektrostatickým působením mezi jejich hydrofilními skupinami, který má ve své struktuře tři hydrofobní uhlíkaté řetězce, jež na sebe navzájem působí hydrofobními interakcemi. Typicky obsahují iontové amfifilní páry pouze dva řetězce, proto se některé jejich vlastnosti od triple-IPA liší, např. jsou kvůli menšímu podílu hydrofobní části lépe rozpustné ve vodě. Obecně vzniká neutrální iontový amfifilní pár, který má ve vodném prostředí snahu formovat se do koloidních útvarů. V případě IPA se jedná o vezikulární systémy s nízkou stabilitou, která bývá podporována přidáním cholesterolu nebo dalšího nabitého tenzidu. Právě kvůli schopnosti vytvářet tzv. kataniontové vezikuly, které jsou schopny enkapsulovat hydrofilní a hydrofobní látky, např. léčiva a účinné látky, jsou iontové amfifilní páry intenzivně zkoumaným tématem. Tuto schopnost enkapsulovat látky mají také biokompatibilní fosfolipidy vytvářející lipozomy, avšak náklady na výrobu IPA jsou výrazně nižší. Proto je snaha přiblížit se vlastnostmi IPA k fosfolipidům, aby mohly být fosfolipidy nahrazeny levnější variantou se zachováním vlastností. Možné aplikace by IPA mohly najít ve farmacii, kosmetice a biotechnologiích.

První část práce představuje teoretický úvod k dané problematice, který se zabývá tenzidy vytvářejícími asociativní koloidy, dále metodami vhodnými pro zkoumání vezikulárních systémů vybraných na základě literární rešerše a současným stavem řešené problematiky. V dalších částech jsou uvedeny metody přípravy a charakterizace připravených systémů a diskutovány výsledky.

Cílem této práce byla příprava třířetězcových iontových amfifilních párů z kvarterní amoniové soli se dvěma uhlíkatými řetězci dimetyldimyrystylamonium bromidu (DMSAB), dimetyldipalmitylamonium bromidu (DPAB), dimetyldioktadecylamonium bromid (DODAB) a dimetyldioktadecylamonium chloridu (DODAC) s dodecylsíránem sodným (SDS). Z připraveného prášku triple-IPA byly vytvořeny vezikulární systémy, které byly analyzovány metodou DLS, ELS, turbidimetrickým měřením a vizuálním pozorováním. Zejména byla diskutována stabilita vezikulárních systémů, která je zásadní podmínkou pro využívání IPA v praxi.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Tenzidy

Tenzidy jsou organické sloučeniny s amfifilní strukturou, které mají schopnost hromadit se na mezifázovém rozhraní a snižovat volnou mezifázovou energii soustavy více než jiné organické sloučeniny [1]. Kvůli této schopnosti bývají nazývány také jako povrchově aktivní látky [2].

Hromadění tenzidů na fázovém rozhraní vychází z amfifilního charakteru těchto částic. Molekula tenzidu obsahuje dvě části. Lyofilní část s velkou afinitou k rozpouštědлу a lyofobní část, která se s rozpouštědlem odpuzuje. Ve vodném prostředí, které je nejčastějším rozpouštědlem, jsou tyto části nazývány hydrofilní a hydrofobní. Hydrofilní část má vysokou afinitu k vodě a zároveň se odpuzuje s nepolárními rozpouštědly, zatímco hydrofobní část, obvykle tvořená alkylem nebo alkylarylem, odpuzuje vodu, avšak vykazuje afinitu k nepolárním rozpouštědlům. Proto může být označována také jako lipofilní část [1, 2]. Schematická struktura tenzidu je znázorněna na obr. 1.

Povrchově aktivní látky lze využít v čisticích, emulgačních, dispergačních, smáčecích, pěnicích a odpěňovacích činidlech. Tvoří důležitou složku v mnoha praktických aplikacích, jako jsou barvy, detergenty, lepidla, emulze, dezinfekční prostředky, insekticidy a mnoho jiných [3]. Proto nachází využití v průmyslu, zemědělství a dalších odvětvích. Kvůli schopnosti snižovat mezifázové napětí více než jiné látky slouží jako hlavní složka pracích a čisticích prostředků v domácnostech a v komunálním sektoru [1, 4].

Tenzidy lze klasifikovat z různých hledisek jako je typ hydrofobní části, počet hydrofobních řetězců, polarita, počet hydrofilních skupin a další. Nejobvyklejší dělení je podle iontového charakteru, tedy podle typu hydrofilní části. Pokud hydrofilní část vykazuje iontový charakter, jedná se o ionické tenzidy, které se dále dělí na anionické a kationické, jež jsou rozepsány v následujících kapitolách, a amfoterní [2, 5]. Amfoterní tenzidy obsahují ve své struktuře anion i kation, což umožňuje jejich kombinování v recepturách s anionickými i kationickými tenzidy. Toho se využívá, protože některé amfoterní tenzidy snižují dermální dráždivost, stabilizují pěnovost a působí jako regulátor viskozity [6]. Neionické tenzidy jsou naopak tenzidy s hydrofilní částí bez iontového charakteru, které se dále dělí na oxyethylenáty a polyhydroxysloučeniny [2].

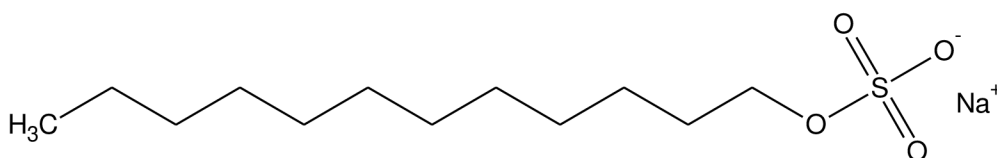


Obr. 1: Schematická struktura tenzidu. (a) jednořetězcový tenzid, (b) dvouřetězcový tenzid [7].

2.1.1 Anionické tenzidy

Anionické tenzidy disociují ve vodném prostředí na záporně nabitý organický anion (tenzid) a kladně nabitý anorganický kation (převážně alkalický kov) [4]. Záporný náboj obvykle nese karboxylová, sulfátová, sulfonátová nebo fosfátová skupina. K této skupině se řadí také mýdlo, nejstarší známý tenzid, jehož výroba je dodnes velmi významná. Své využití nachází anionické tenzidy v kosmetických mycích prostředcích, v detergenčních přípravcích i v průmyslu [2].

Často využívaný anionický tenzid je dodecylsíran sodný (SDS), známý také jako laurylsulfát sodný, jehož chemická struktura je znázorněna na obr. 2. Dodecylsíran sodný patří mezi alkylsulfáty, které jsou jedním z hlavních typů anionických tenzidů a jsou využívány zejména v pracích a mycích prostředcích [2]. SDS se vyrábí sulfatací dodekanolu z ropy nebo rostlinných zdrojů [2, 8]. Kvůli své struktuře má detergenční účinky a dobře pění [2]. Proto je využíván v kosmetických a čisticích prostředcích a jako modelová látka v experimentálních studiích a teoretických simulacích za účelem vysvětlení různých povrchových a koloidních jevů [8, 9].



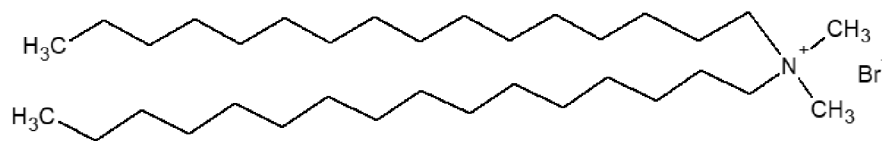
Obr. 2: Chemická struktura SDS [2].

2.1.2 Kationické tenzidy

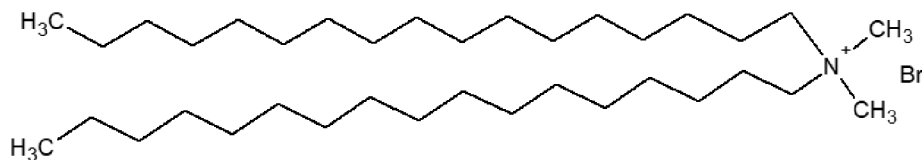
Kationické tenzidy jsou ve vodném prostředí schopny disociovat na kladně nabitý organický kation a anorganický anion [4]. Vykazují antistatické a mikrobicidní účinky, proto tvoří účinnou složku avivážních prostředků pro úpravu textilií po praní a kondicionálních přípravků pro vlasovou kosmetiku. Ve většině kationických tenzidů je nositelem kladného náboje kvarterní dusíkový atom. V porovnání s anionickými tenzidy je jejich strukturní variabilita vyšší, mohou je tvořit např. kvarterní amoniové soli heterocyklů, imidazolinu, pyridinu a další. Jejich nevýhodou je, že mají oproti anionickým tenzidům obecně horší biologickou rozložitelnost [6]. Chemická struktura kationických tenzidů používaných v této práci je znázorněna na obr. 3.

Významnou skupinou kationických tenzidů jsou tetraalkylamoniové soli. Jejich rozpustnost ve vodě závisí na délce řetězců, které obsahují, ale jsou dobře rozpustné v polárních organických rozpouštědlech. Mají antistatické a biocidní účinky a mohou se adsorbovat na textilní vlákna a na vlasy. Těchto vlastností se využívá v kondicionérech na vlasy a dříve i v avivážních prostředcích, kde je nahradily biologicky lépe rozložitelné esterqaty. Vyrábí se z nich antikoroziční prostředky na ocel a dezinfekční prostředky pro medicínu a pro potravinářský a textilní průmysl [2].

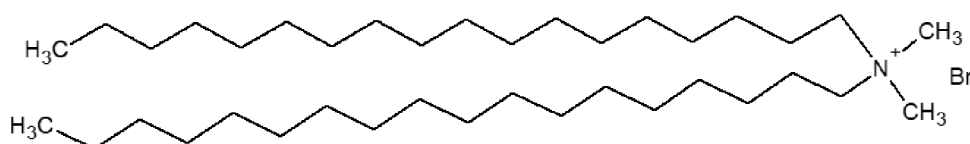
Dimetyldimyristylamonium bromid (DMSAB)



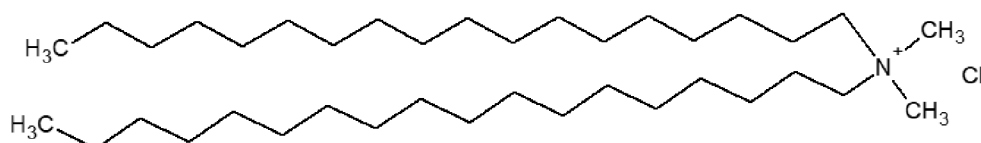
Dimetyldipalmitylamonium bromid (DPAB)



Dimetyldioktadecylamonium bromid (DODAB)



Dimetyldioktadecylamonium chlorid (DODAC)



Obr. 3: Chemická struktura kationických tenzidů využívaných v této práci [10–13].

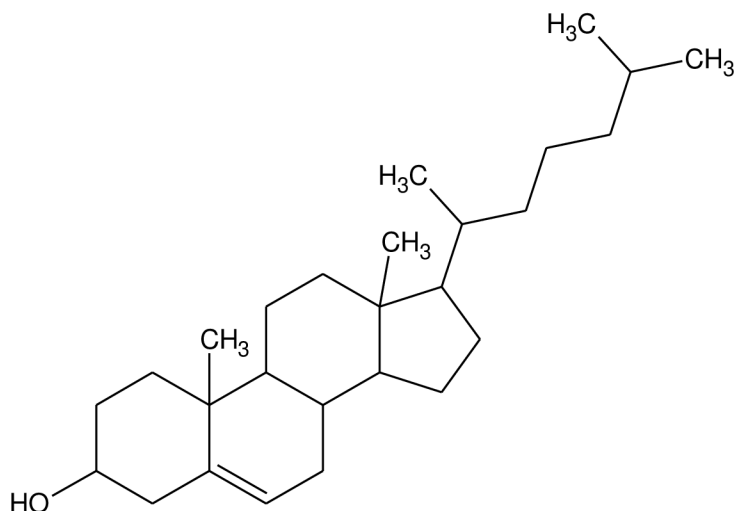
2.2 Steroidy

Steroidy jsou organické sloučeniny, jejichž strukturní základ tvoří tetracyklický systém steranu. Některé v lidském těle působí jako hormony, regulují metabolické děje a hladinu sodíku a vody. Uplatnění nachází v medicíně zejména kvůli protizánětlivým vlastnostem [14, 15]. Mezi steroidy patří všechny pohlavní hormony, hormony kůry nadledvin, žlučové kyseliny, steroly obratlovců a další fyziologicky aktivní látky živočichů a rostlin. Velká část steroidů je syntetická, v medicíně jsou využívány jejich protizánětlivé a anabolické účinky. Jednotlivé steroidy se od sebe liší povahou a polohou skupin a konfigurací steroidního jádra. Již malé modifikace v molekulární struktuře mohou vyvolat významné rozdíly v jejich biologické aktivitě [16].

2.2.1 Cholesterol

Jednou z nejvýznamnějších steroidních sloučenin je steroidní alkohol cholesterol, jehož struktura je zobrazena na obr. 4 [17]. Jeho přítomnost ve dvojvrstvě vezikul zvyšuje jejich stabilitu a odolnost, zabraňuje agregaci částic a reguluje propustnost, elasticitu a pružnost membrán. Přítomnost molekul cholesterolu do membrány může vést ke zvětšení částic v důsledku začlenění do dvojvrstvy [18].

V lidském těle je obsažen v buněčných membránách a v krevních lipoproteinech. Je důležitý jako prekursor steroidních hormonů, žlučových kyselin a vitamínu D. Přítomnost cholesterolu v buněčných membránách snižuje její fluiditu a tím i její propustnost pro malé molekuly. Kvůli této důležité funkci v membránách exprimují enzymy biosyntézy cholesterolu všechny buňky [17, 19].



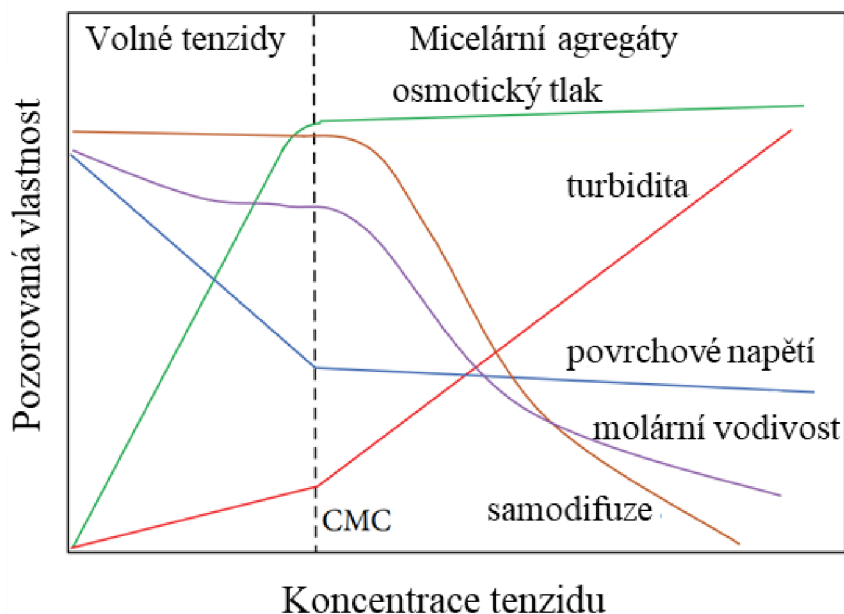
Obr. 4: Chemická struktura cholesterolu [14].

2.3 Asociativní koloidy

Vratnou asociací molekul povrchově aktivních látek vznikají asociativní koloidní soustavy. Tyto koloidně disperzní částice se nazývají micely, jsou to dynamické útvary, u nichž dochází k neustálé výměně molekul tenzidů mezi micelou a disperzním prostředím, proto nemají pevně definované fázové rozhraní. Bývají klasifikovány jako lyofilní, na rozdíl od lyofobních micel jsou stabilní i bez přídavku stabilizačních činidel [20, 21].

2.3.1 Tvorba micel

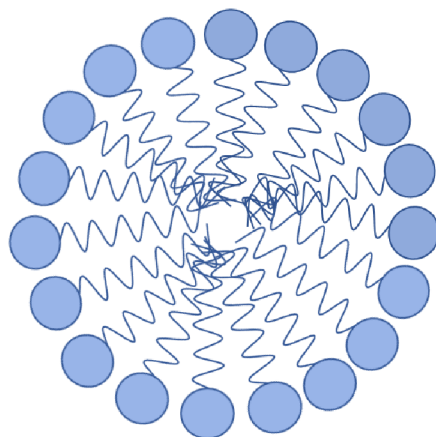
Fyzikální vlastnosti vodných roztoků anorganických a organických sloučenin se mění v závislosti na koncentraci rozpuštěné látky bez výraznějších anomálií. Naproti tomu fyzikální vlastnosti roztoků tenzidů v závislosti na koncentraci vykazují zlom, který nastává vždy při stejné koncentraci, jak lze vidět na obr. 5. Lze tedy předpokládat, že se charakter roztoků tenzidů při této koncentraci mění [2].



Obr. 5: Obecná závislost vybraných fyzikálních vlastností na koncentraci tenzidu [22].

Fyzikálně chemické vlastnosti tenzidů jsou dány protichůdným chováním hydrofilní a hydrofobní části molekuly [2]. Pro tvorbu asociativních koloidů je nutné, aby molekula obsahovala skupiny s velkou afinitou k rozpouštědлу, které zaručí její rozpustnost a zároveň musí obsahovat další část molekuly (dostatečně dlouhý uhlovodíkový řetězec), která je v daném prostředí sama o sobě nerozpustná [21].

Při nízké koncentraci tenzidu v roztoku způsobuje odpudivost vody a hydrofobní části molekul nerovnoměrné rozložení koncentrace tenzidu v objemu a na povrchu roztoku. Hydrofobní části jsou vytlačovány z roztoku, proto se na fázovém rozhraní hromadí molekuly tenzidu a zvyšuje se jeho koncentrace vzhledem k objemové fázi, přičemž se neustále ustanovuje rovnováha mezi koncentrací v povrchové a objemové fázi [2]. Při zvyšování koncentrace roste obsazenost fázového rozhraní a stoupá také koncentrace v objemové fázi. Pokud je v roztoku dosaženo koncentrace, při níž je vzájemná přitažlivost hydrofobních částí silnější než odpudivost hydrofilů, vznikají útvary zvané micely. Micely mají na svém povrchu, tedy na rozhraní s vodou, hydrofilní skupiny a jádro je tvořeno propletenými uhlovodíkovými řetězci (obr. 6). Koncentrace, při níž dochází ke vzniku micel, se nazývá kritická micelární koncentrace (CMC z angl. *Critical Micelle Concentration*) a pro každý tenzid má charakteristickou hodnotu. Jedná se spíše o koncentrační interval, pro různé tenzidy kolísá v rozmezí 10^{-5} až 10^{-3} mol dm^{-3} . Při CMC se v důsledku vzniku micel mění směrnice koncentračních závislostí mnoha fyzikálně chemických vlastností roztoků povrchově aktivních látek. Protože jsou vlastnosti systému ovlivňovány tvorbou micel různým způsobem, nemusí být stanovení CMC ze závislosti různých veličin zcela shodné [2, 23].



Obr. 6: Micela s hydrofobním jádrem a hydrofilním obalem [22].

Micely nejsou rigidní útvary, u kterých probíhá neustálá výměna mezi molekulami tenzidu v micelách a v roztoku. Hlavní požadavek ke spontánnímu samouspořádání soustavy je minimální energetický stav v její rovnováze. Ačkoliv se snižuje entropie u samouspořádaných struktur oproti entropii izolovaných složek, je tento pokles kompenzován růstem neuspořádanosti jejich okolí, která převládá a pohání asociaci [2, 22]. Se spontánním samouspořádáním těchto agregátů je spojen pokles Gibbsovy energie soustavy [23]. Pokud je micela tvořena ionickými tenzidy, vzniká nabitá částice obklopená elektrickou dvojrůstkou z disociovaných protiiontů [2, 22].

Molekuly tenzidů v micelě neudrží chemická vazba, ale pouze slabé vazebné interakce. Důležitou roli hrají zejména vodíkové můstky, hydrofobní interakce, elektrostatické interakce a van der Waalsovy síly. Ačkoliv jsou tyto systémy stabilizovány pouze slabými interakcemi, jejich celkový účinek je dostatečně silný na to, aby udržel molekuly tenzidů dohromady a zajistil stabilitu v roztoku. Slabé interakce činí strukturu pružnější, což umožňuje odolnost vůči drobným poruchám [22].

2.3.2 Tvary micel

Tvar a velikost micelárních agregátů závisí na molekulární geometrii daných tenzidů a na podmínkách roztoku jako je koncentrace tenzidu, teplota, pH a iontová síla [2, 22]. Pro popis geometrie molekuly tenzidu a predikci mikrostruktury tenzidových agregátů ve vodném prostředí slouží kritický sbalovací parametr p (angl. *critical packing parameter*). Kritický sbalovací parametr lze vypočítat z následující rovnice:

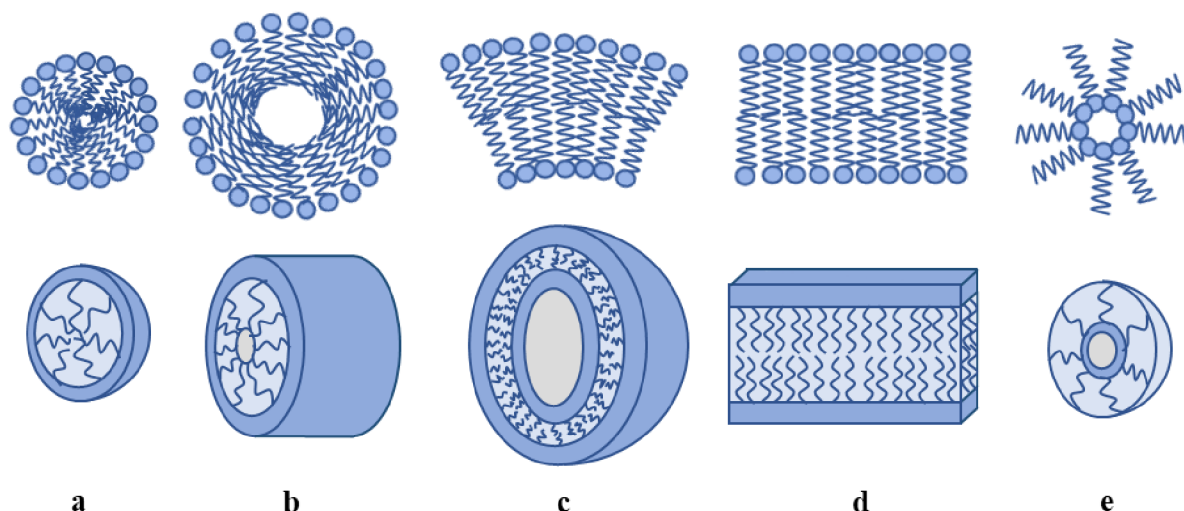
$$p = \frac{v}{l_c \cdot a_0} \quad (1)$$

kde v značí objem hydrofobní části molekuly tenzidu, l_c délku její hydrofobní části a a_0 plochu, kterou zaujímají hydrofilní skupiny na fázovém rozhraní [2, 24–26]. Dle velikosti kritického sbalovacího parametru lze rozdělit micely na několik typů. Sférické, tzv. Hartleyovy micely tvoří tenzidy, jejichž $p < 1/3$. Jejich hydrofilní části, které směřují do vody, mají větší plochu, než je plocha alkylového řetězce. Poloměr agregátu je přibližně roven délce molekuly tenzidu. S rostoucím kritickým sbalovacím parametrem a koncentrací se zvětšuje rozměr micel a uhlovodíkové řetězce se v nich stále více orientují navzájem rovnoběžně. Postupně tak tenzidy kritickým sbalovacím parametrem tvoří $1/3 < p < 1/2$ válcové micely, s parametrem

$1/2 < p < 1$ tvoří vezikuly a s parametrem $p = 1$ lamelární micely, tzv. McBainovy. Se vzrůstem kritického sbalovacího parametru se zvyšuje tendence k tvorbě větších agregátů, čímž se může zvyšovat viskozita [2, 23].

Vezikuly obecně odpovídají sférickým uzavřeným amfifilním dvojvrstevným strukturám s vnitřní dutinou obsahující disperzní roztok. Vezikuly jsou obvykle tvořeny tenzidy obsahujícími hydrofilní část a dva hydrofobní uhlovodíkové řetězce, typicky fosfolipidy. Takové vezikuly tvořené fosfolipidy se pak nazývají lipozomy. Fosfolipidy rozptýlené ve vodě mají tendenci agregovat a spontánně vytvářet dvojvrstvy podobající se biologickým membránám. Dvojvrstvé vezikuly jsou obecně metastabilní struktury ve vodném prostředí se závislostí na podmínkách přípravy (např. míchání a sonikace). K rozpuštění tenzidů tvořících vezikuly a jejich agregaci je zapotřebí dodání určité energie. Vzniklé vezikuly dosahují velikostí od 10 nm do 10 μ m, mohou být unilamelární s jedním nebo multilamelární s více koncentrickými dvouvrstevnými povrchy [22].

Amfifyly s kritickým sbalovacím parametrem $p > 1$ tvoří reverzní micely, v takovém případě jsou hydrofobní řetězce vytlačeny od centrálně agregovaných hydrofilních skupin na fázové rozhraní s rozpouštědlem [22]. Charakteristické tvary uvedených micel podle kritického sbalovacího parametru jsou znázorněny na obr. 7. obr. 1

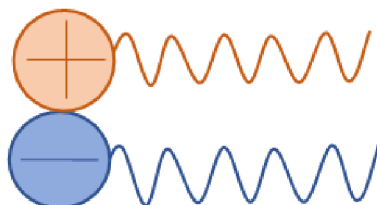


Obr. 7: Charakteristické tvary micel s rozdílnou hodnotou kritického sbalovacího parametru. (a) Hartleyova micela, (b) válcová micela, (c) vezikula, (d) lamelární micela, (e) reverzní micela [22].

2.4 Kataniontová směs a iontový amfifilní pár (IPA)

Směs anionických a kationických tenzidů ve vodném prostředí vytváří kataniontové směsi, které vznikají v důsledku silných elektrostatických interakcí mezi hydrofilními skupinami tenzidů [27]. Jako první použil termín kataniontová směs ve své práci Jokela v roce 1987. Postupem času se terminologie směsí opačně nabitých tenzidů vyvíjela a v roce 1990 je Fukula označil jako iontové amfifilní páry (IPA, z angl. *Ion pair amphiphile*) [28]. Dnes panuje shoda, že rozdíl v těchto termínech spočívá v přítomnosti protiiontů PAL. Zatímco v kataniontových směsích jsou protiionty přítomny, u IPA byly odstraněny [28, 29]. Další rozdíl je v poměru zastoupených složek. IPA jsou složeny z opačně nabitých tenzidů v ekvimolárním poměru,

naproti tomu u kataniontových směsí ekvimolární poměr být nemusí [25]. Nejběžnější IPA jsou připravovány párováním jednořetězcových opačně nabitých tenzidů v ekvimolárním poměru za vzniku nenabitých pseudo-dvouřetězcových tenzidů (obr. 8). Za dvouřetězcový lze tenzid považovat v tom smyslu, že obsahuje dva uhlíkaté řetězce kovalentně vázané na stejnou hlavovou skupinu [25, 29].



Obr. 8: Iontový amfifilní pár [7].

Kataniontové směsi vykazují nízké hodnoty CMC a změnu sbalovacího parametru v závislosti na směšovací poměru, proto z nich lze připravit velké množství složitých mikrostruktur. Variabilita takovýchto struktur je větší, než při použití jednotlivých tenzidů [27, 30]. Parametry vytvářených agregátů závisí na faktorech, jako je celková koncentrace PAL, směšovací poměr, teplota a délka alkylového řetězce. Obecně mají kataniontové směsi ve vodném prostředí tendenci vytvářet spíše vezikuly, než micely [30]. Právě spontánní tvorba vezikul z molekul IPA, která byla poprvé prokázána Kalerem, dává IPA aplikační potenciál. Vezikuly IPA by mohly sloužit jako náhrada lipozomů uplatňovaných ve farmacii např. k úpravě adsorpce, prodloužení biologického poločasu nebo snížení toxicity léčiv. Lipozomy jsou složeny z fosfolipidů, které se mohou samy formovat *in vitro* a nést ve svém jádru hydrofilní i hydrofobní látky [31]. Lipozomy jsou složeny z relativně netoxických lipidů, které mohou být rozloženy *in vivo*. Nicméně vysoká cena lipidů omezuje praktické využití lipozomů, naproti tomu kataniontové vezikuly mají mnohem nižší náklady. Proto jsou považovány za reálnou náhradu lipozomů [32]. Náhrada lipozomů vezikulami IPA má velký potenciál zejména ve farmaceutických, biomedicínských a kosmetických technologiích [27, 31].

Ve srovnání s lipozomy jsou vezikuly IPA chemicky stabilnější vůči hydrolýze, avšak obecně je jejich fyzikální a koloidní stabilita menší [31]. Ke zvýšení koloidní stability se využívají intravezikulární a intervezikulární modifikace. Při intravezikulární stabilizaci jsou do systému zavedeny stabilizační přísady, které ovlivňují mechanické vlastnosti a tekutost membrány vezikul. Nejznámějším stabilizačním činidlem je cholesterol, o němž je prokázáno, že stabilizuje dvojvrstvy IPA podobným způsobem jako lipidové dvojvrstvy [31, 32]. Cholesterol se začlení do membrány, kde od sebe odděluje nabitě hlavové skupiny, čímž snižuje jejich tendenci vázat k sobě další nabitě vezikuly. Kromě toho přítomnost cholesterolu ve vezikulární dvojvrstvě vyvolává větší neuspořádanost molekul, které dvojvrstva obsahuje, což zlepšuje flexibilitu membrány a napomáhá k tvorbě stabilních vezikul [32]. Pokud jsou vezikulární systémy stabilizovány pomocí intervezikulární modifikace, je do systému přidána další nabitá amfifilní látka, např. dvouřetězcový tenzid. Tím se zvýší náboj vezikul a kvůli elektrostatickému odpuzování, které zabraňuje srážkám vezikul, se zvyšuje koloidní stabilita systému [31].

2.4.1 Příprava iontových amfifilních párů

Prášek IPA lze připravit pomocí několika metod. Hojně využívaný způsob přípravy IPA je srážecí metoda, při které jsou smíchány roztoky opačně nabitých tenzidů s koncentrací vyšší než CMC v ekvimolárním poměru [29]. Po promíchání systému dojde k vysrážení IPA, sraženina je separována z roztoku pomocí centrifugace nebo filtrace. Promytím sraženiny jsou z ní odstraněny ionty a následně je sraženina vysušena [29, 33]. Druhá možnost, jak připravit IPA pomocí srážecí metody je srážení sodné, draselné nebo litné soli tenzidu stříbrnými ionty ve vodné fázi. Po přečištění je sraženina rozpuštěna ve směsi organického rozpouštědla s vodou a k roztoku je přidáno ekvivalentní množství anionického tenzidu s halogenidovým protiiontem [33].

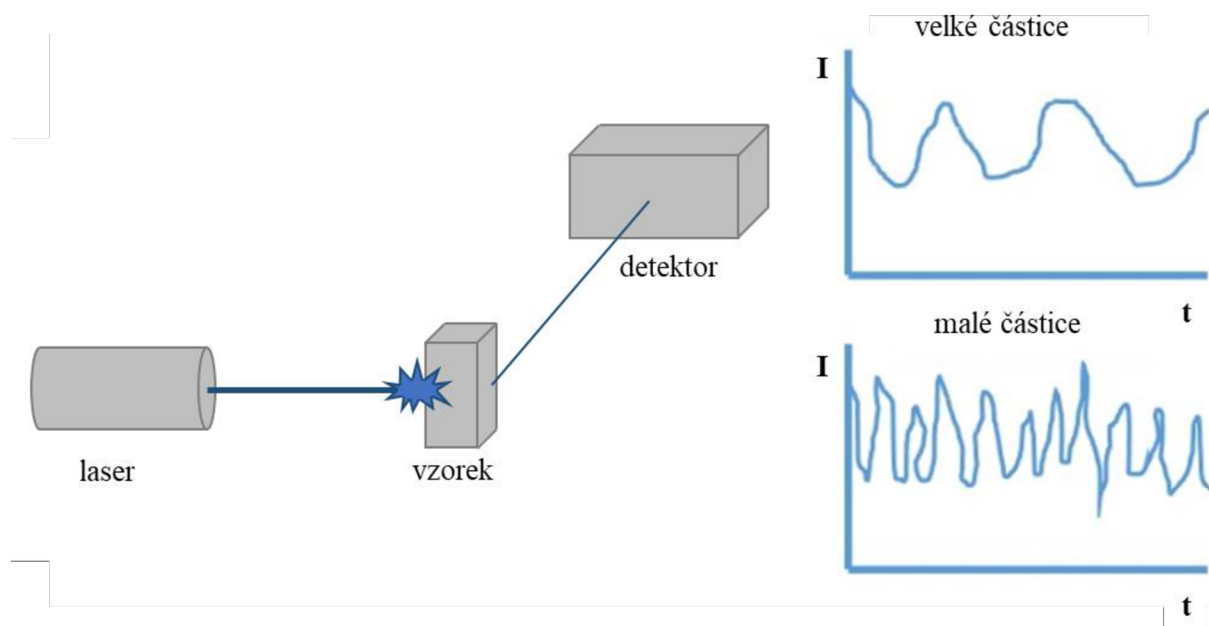
Pro anionické tenzidy s delším uhlovodíkovým řetězcem, které jsou ve vodě špatně rozpustné, je vhodnější metoda výměny iontů. Kationický tenzid je převeden na hydroxidovou formu (roztokem NaOH) a anionický tenzid je převeden na protonovanou formu (roztokem HCl). Po smíchání obou roztoků vzniká acidobazická reakcí IPA [29, 34]. Acidobazické reakce se využívá také u metody výměny protonů, při které vzniká IPA smícháním tenzidu s amino skupinou a tenzidu s kyselou skupinou. Další metodou přípravy IPA je extrakční metoda, která spočívá v míchání opačně nabitých tenzidů ve vodném prostředí za vzniku sraženiny IPA, která je extrahována do chloroformu, případně do jiného organického rozpouštědla a vysušena vakuem. Protiionty výchozích tenzidů zůstávají rozpuštěné ve vodné fázi [30, 33]. Naopak při extrakční metodě jsou opačně nabitě tenzidy rozpuštěny přímo v organickém rozpouštědle s nízkou teplotou varu smíchány v ekvimolárním poměru a rozpouštědlo je následně odpařeno [33].

2.5 Používané metody pro charakterizaci kataniontových vezikul

2.5.1 Dynamický rozptyl světla

Dynamický rozptyl světla (DLS z angl. *Dynamic Light Scattering*) je jednou z nejběžnějších a nejjednodušších metod pro analýzu distribuce velikosti částic. Při měření je vzorek ozářen monochromatickým zdrojem světla, např. laserem, které je rozptylováno přítomnými částicemi (obr. 9). Princip DLS spočívá ve sledování časově závislé fluktuace intenzity pružného rozptylu světla na částicích, jejíž stopa se skládá z konstruktivních a destruktivních interferencí rozptýleného světla. Kolísání intenzity rozptýleného světla je způsobeno Brownovým pohybem, kterým se sledované částice pohybují (obr. 9). Velikost částic je vypočítána jako funkce difuzního koeficientu, který je nepřímo úměrný velikosti částice podle Stokes–Einsteinovy rovnice. Hodnoty průměrné velikosti byly vypočítány z difuzního koeficientu Stokes–Einsteinovy rovnice [35, 36, 37].

Mezi hlavní výhody DLS patří neinvazivní způsob metody, krátká doba měření, přesnost při určování velikosti částic monodisperzního systému a analýza vzorků v širokém rozsahu koncentrací. Zároveň má tato metoda několik omezení, zejména je u ní problematické měření polydisperzních systémů s malých rozdílem velikostí částí a není vhodná pro měření n esféric kých částic, protože při analýze se předpokládá sféric ká povaha částic [36].

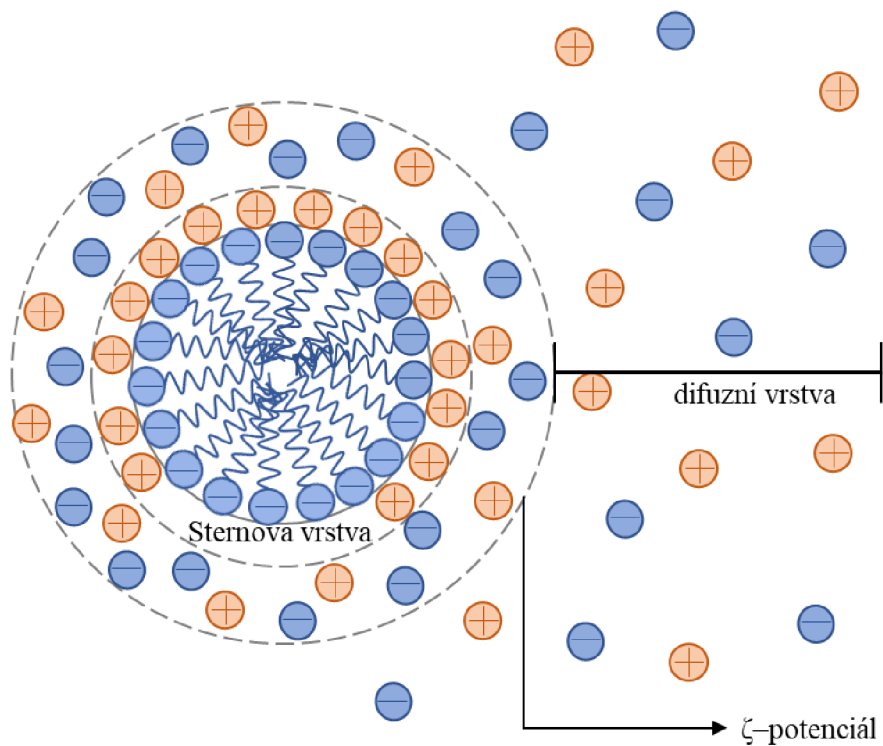


Obr. 9: Schéma měření DLS a kolísání intenzity rozptýleného světla pro malé a velké částice v závislosti na čase [35].

2.5.2 Elektroforetický rozptyl světla

Na povrchu částic koloidní disperze, která nese elektrický náboj, dochází ke zvýšení koncentrace protiiontů a k tvorbě elektrické dvojvrstvy. Elektrická dvojvrstva je tvořena vnitřní částí (Sternovou vrstvou) s pevně vázanými ionty a vnější částí (difuzní vrstvou), ve které jsou ionty asociovány slaběji. Uvnitř difuzní vrstvy existuje pomyslná hranice, v jejíž vnitřní části tvoří částice stabilní celek. Pokud se částice pohybuje, pohybují se s ní také ionty, které jsou na vnitřní straně pomyslné hranice, a ionty vně hranice zůstávají rozptýleny v roztoku. Elektrická dvojvrstva je znázorněna na obr. 10. Potenciál na této hranici se nazývá zeta potenciál a je důležitý při vyhodnocování stability koloidního systému [38].

Zeta potenciál nelze měřit přímo, proto se využívá metoda elektroforetického rozptylu světla (ELS z angl. *Electrophoretic Light Scattering*), při které se zeta potenciál odvozuje od elektroforetické pohyblivosti nabitých částic pod přiloženým elektrickým polem. Pohyblivé částice během elektroforézy rozptylují dopadající laserový paprsek. Rozptýlené světlo má jinou frekvenci než původní paprsek, frekvenční posun je úměrný rychlosti částic (Dopplerův posun). Z určeného Dopplerova posunu se vypočítá zeta potenciál [39].



Obr. 10: Elektrická dvojvrstva a zeta potenciál [22].

2.5.3 Turbidimetrie

Turbidimetrie je optická metoda pro stanovování zákalu založená na měření procházejícího světla zeslabeného rozptylem na částicích. Prochází-li záření transparentním prostředím, v němž jsou rozptýleny koloidní nebo pevné částice, rozptyluje se do všech směrů, což dává směsi zakalený vzhled. V závislosti na vlnové délce je měřena intenzita záření prošlá vzorkem, obvykle je intenzita záření měřena ve spektrálním rozsahu 300–1000 nm [37, 40].

3 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

3.1 Příprava triple-IPA

Přípravou a charakterizací třířetězcových iontových amfifilních párů (triple-IPA), kterou si tato práce klade za cíl, se zatím zabývá pouze málo studií. Ačkoliv tato problematika dosud není prozkoumána, existuje řada prací, které zkoumají iontové amfifilní páry se dvěma uhlíkatými řetězci (double-IPA). Proto byl k přípravě a určování vlastností triple-IPA zvolen přístup, který vychází ze studií o double-IPA. Nicméně některé práce se třířetězcovými IPA nebo kataniontovými systémy zabývají.

Neus Lozano a spol. se zabývali stabilitou třířetězcových a čtyřřetězcových kataniontových směsí připravených z anionického diacylfosfolipidu s kationickými monoacyly a diacyly na bázi argininu. K syntéze byl využit anionický 1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-fosfát sodný a kationický 1,2-dimyristoyl-rac-glycero-3-O-(N^α-acetyl-l-arginin) hydrochlorid a 1,2-dilauroyl-rac-glycero-3-O-(N^α-acetyl-l-arginin) hydrochlorid. Kataniontové systémy vznikly smícháním anionického diacylfosfolipidu a kationického tenzidu ve vodné fázi nebo 10⁻³ mol/kg roztoku HCl za intenzivního míchání při teplotě 90 °C. Míchání diacylfosfolipidu s kationickými tenzidy proběhlo v několika směšovacích poměrech. U připravených systémů byla měřena velikost částic a zeta potenciál. Z měření velikosti částic vyplývalo, že přidavek kationického tenzidu k fosfolipidu vede ke zvětšení velikosti vezikul. zeta potenciál vykazoval různé trendy v závislosti na použitém rozpouštědle, ve vodném prostředí se pohyboval v záporné oblasti, v kyselém prostředí HCl se blížil 0 mV [41].

Jose Robin a spol. připravovali z bromidů kvarterních amoniových solí s různým počtem a různou délkou hydrofobních řetězců (dodecyltrimetylamonium bromidu, trimetyl-tetradecylamonium bromidu, hexadecyltrimetylamonium bromidu, trimetyloktadecylamonium bromidu, didodecyldimetylamonium bromidu, dimetylditetradecylamonium bromidu, dihexadecyldimetylamonium bromidu a dimetyldioktadecylamonium bromidu) a bis(2-ethylhexyl)sulfokcinátu série osmi dvouřetězcových a třířetězcových IPA. U připravených látek byl zkoumán vliv počtu hydrofobních řetězců na jejich vlastnosti, zejména termickou stabilitu. Při přípravě IPA byly smíchány ekvimolární roztoky odpovídajících látek v dichlormetanu. Vzniklé roztoky byly promyty deionizovanou vodou, aby z roztoku byly odstraněny bromidové anionty. Po promytí byla organická fáze oddělena a odpařena. Z výsledků měření vyplývalo, že počet a délka alkylových řetězců ovlivňují termické vlastnosti a fázové přechody IPA [42].

Přestože se o triple-IPA zmiňují také další práce [43–45], většina publikovaných prací zabývajících se IPA a tvorbou jejich vezikulárních systémů se věnuje IPA se dvěma uhlíkatými řetězci. Pro přípravu triple-IPA byl zvolen anionický tenzid (sulfát) s jedním uhlíkatým řetězcem a kationické tenzidy (kvarterní amoniové soli) se dvěma uhlíkatými řetězci. Některé práce se zabývají přípravou double-IPA z obdobných výchozích látek, jako které byly zvoleny pro přípravu triple-IPA, liší se např. pouze počtem uhlíkatých řetězců. Metody z přípravy a charakterizace těchto látek byly aplikovány na triple-IPA.

3.2 Příprava double-IPA

Chih-Jung Wu a spol. připravovali double-IPA stabilizované dvouřetězcovými kationickými tenzidy. Pro přípravu double IPA byl použit kationický tenzid hexadecyltrimetylamonium bromid (HTMAB) a anionický tenzid dodecylsírán sodný (SDS) za vzniku hexydecyltrimetylamonium-dodecylsírán (HTMA-DS). IPA lze získat smícháním vodných roztoků opačně nabitých tenzidů s dostatečně vysokou koncentrací v ekvimolárním poměru. Na přípravu HTMA-DS tedy byly použity vodné roztoky obou tenzidů o objemu 500 ml a koncentraci 20 mM. Roztoky byly smíchány při laboratorní teplotě a 1 den ponechány k úplnému vysrážení. Poté byla sraženina oddělena od vodné fáze centrifugací, promyta čistou vodou a po dobu více než 3 dní vysušena v sušárně při teplotě 50 °C. Výsledný prášek byl podroben elementární analýze, aby se potvrdilo, že jsou vzniklé IPA složeny z opačně nabitých tenzidů HTMAB a SDS v ekvimolárním poměru. Z prášku IPA byly mechanickým rozrušováním připravovány katanionické vezikuly s molárním podílem kladně nabitých dvouřetězcových tenzidů DMSAB, DPAB a DODAB (obecně DXDAB) v rozmezí 0,1–0,5. Potřebné množství směsi HTMA-DS a DXDAB rozpuštěné v 10 ml chloroformu bylo vysušeno proudem vzduchu za účelem vzniku tenkého filmu na 3 mm skleněných kuličkách. Tento tenký film byl rehydratován 60 ml čisté vody a sonikován po dobu 1 h za konstantní teploty 70 °C. Po sonifikaci byly odstředěním odstraněny případné nečistoty. Pomocí zapouzdření fluorescenční sondy byl potvrzen vznik vezikul a pod transmisním elektronovým mikroskopem byla sledována jejich morfolgie, která se blíží kouli. Pro vyhodnocení fyzikálně-chemických vlastností vezikul byla měřena jejich velikost metodou dynamického rozptylu světla (DLS), zeta potenciál metodou elektroforetického rozptylu světla (ELS) a byla zaznamenána jejich infračervená spektra s Fourierovou transformací. Bylo zjištěno, že se vzrůstajícím přídatkem DXDAB ve vezikulách se zvyšovala jejich stabilita, avšak zeta potenciály se změnou složení vezikul významně neměnily. Z toho lze usuzovat, že hlavním faktorem ovlivňujícím stabilitu vezikul nebylo jejich vzájemné elektrostatické odpuzování, ale molekulární balení a molekulární interakce mezi HTMA-DS a DXDAB. Nejstabilnější vezikuly byly tvořeny směsí HTMA-DS/DPAB, tenzidy v této směsi mají dobrou shodu v délce alkylových řetězců a dostatečně silnou hydrofobní interakci [25].

An-Tsung Kuo a spol. v následné studii zkoumali vliv cholesterolu a délky alkylového řetězce DXDAB ve vezikulách tvořených HTMA-DS na fyzikální stabilitu vezikulárního systému. Pro přípravu vezikul bylo v chloroformu rozpuštěno požadované množství prášku IPA připraveného podle postupu z předchozí studie, DXDAB a cholesterolu. Po vytvoření filmu na kuličkách odpařením chloroformu byl film rehydratován za vzniku 4 mM vezikulární disperze. Disperze byla sonikována energií 25 kJ při amplitudě 20 %. Analyzační metody byly použity stejné jako v předešlé studii. Obecně se stabilita vezikul přidáním cholesterolu zvýšila. Přítomnost cholesterolu ve vezikule vedla ke zvýšení hodnot zeta potenciálu. Tento efekt cholesterolu je zřejmě způsobován zvětšením vzdálenosti nabitých hlavových skupin molekul v membráně, čímž se snižuje jejich vzájemné elektrostatické odpuzování a snižuje se tendence vázat protiionty. Nárůst zeta potenciálu vede k většímu elektrostatickému odpuzování vezikul, tím je usnadněna tvorba stabilního vezikulárního systému. Zařazení cholesterolu do

membránové dvojvrstvy zjevně vyvolalo větší neuspořádanost molekul, která vedla ke zlepšení fyzikální stability vezikul. Se zvyšující se délkou uhlovodíkového řetězce DXDAB se stával výraznější účinek vlivu cholesterolu na stabilitu vezikul. Proto byl nejstabilnější vezikulární systém tvořen směsí HTMA-DS/DPAB s cholesterolem [32].

Martina Havlíková a spol. se zabývali vlivem hladiny cholesterolu na stabilitu vezikulárních systémů iontového amfifilního páru HTMA-DS při laboratorní teplotě [18] a při různých teplotách (10–80 °C) [46]. U těchto kladných vezikulárních systémů bylo také zkoumáno, jak změna iontové síly ovlivňuje jejich fyzikálně-chemické vlastnosti, zejména jak ovlivňuje jejich kinetickou stabilitu [47]. Ve všech pracích byly prášky IPA a jejich vezikulární systémy připraveny stejným způsobem. Byly smíchány ekvivalentní objemy vodných roztoků HTMAB a SDS s koncentrací 20 mM. Tato směs byla jeden den ponechána k úplnému vysrážení. Vzniklá sraženina byla získána odstředováním a filtrací. Sraženina byla na filtru promyta čistou vodou, aby došlo k odstranění protiiontů. U získaného prášku byl elementární analýzou určen poměr obsaženého dusíku a síry, který potvrdil ekvimolární zastoupení opačně nabitých tenzidů. Prášek IPA byl spolu s DODAC v poměru 9 : 1 rozpuštěn v chloroformu [18, 46, 47] a bylo k němu přidáno různé množství cholesterolu [18, 46] nebo 43 mol. % cholesterolu [47]. Chloroform byl odpařen proudem vzduchu za vzniku tenkého filmu na skleněných kuličkách. Film byl poté rehydratován 60 ml čisté vody a vzorek byl dispergován pomocí sonifikace s amplitudou 50 % a sonifikační energií 25 kJ [18, 46, 47]. Při sledování vlivu iontové síly na vlastnosti vezikul byla část těchto vezikul potažena záporně nabitým hyaluronanem. K ovlivnění iontové síly byl využit chlorid sodný [48]. Pro vyhodnocení vlastností připravených vezikulárních disperzí byla využita vysokorozlišovací ultrazvuková spektroskopie, fluorescenční spektroskopie, měření velikosti částic metodou DLS, zeta potenciálu metodou ELS, turbidity, pH, viskozity a hustoty [18, 46, 47]. Při zkoumání vlivu přídavku cholesterolu za laboratorní teploty vzorky s nízkým (0–23 mol. %) a vysokým (73 mol. %) obsahem cholesterolu vykazovaly nízkou stabilitu. Nestabilita systému vedla ke značnému zákalu a vysokým hodnotám polydisperzity, opakovaná měření nevedla ke srovnatelným výsledkům a hodnoty zeta potenciálu se pohybovaly v nestabilní oblasti. Naopak systémy s obsahem 33–53 mol. % cholesterolu vykazovaly dobrou krátkodobou stabilitu. Nedocházelo u nich k výrazným změnám ve velikosti vezikul, ani nebyla pozorována precipitace a zeta potenciál se pohyboval v kladné stabilní oblasti [18]. Zkoumání vlivu cholesterolu při různých teplotách ukázalo, že změna teploty neměla u vzorků s hodnotami PDI do 0,3 žádný vliv na velikost částic. Nicméně docházelo k výrazným změnám hydratace a fluidity membrán, avšak tyto změny neovlivňovaly krátkodobou stabilitu vezikulárních systémů [46]. Zkoumání stability vezikulárních systémů v závislosti na velikosti iontové síly ukázalo, že s přídavkem soli a zvyšující se iontovou silou klesal zeta potenciál, který je hlavním parametrem stability. Zeta potenciál, se snižoval k nule jak u vezikul potažených, tak u nepotažených hyaluronanem, kromě toho se nad koncentrací 15 mM NaCl zvětšovala velikost vezikul. Vezikuly potažené hyaluronanem tvořily při postupném přidávání soli viditelné agregáty, které se následně rozpadaly. Se zvyšující se koncentrací soli se také výrazně snižovala viskozita celého systému [47].

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Pro přípravu triple-IPA byly vybrány výchozí látky v návaznosti na výzkumnou práci Fakulty chemické VUT. Zde jsou zkoumány vezikulární systémy double-IPA připravené především z anionického tenzidu dodecylsírany sodného (SDS) a kationického tenzidu hexadecyltrimetylamonium bromidu (HTMAB). Stejně výchozí látky používají také všechny práce zmíněné v předchozí kapitole. Proto byl pro přípravu triple-IPA zvolen anionický tenzid SDS (stejně jako pro přípravu double-IPA) a kationický tenzid dimetyldipalmitamonium bromid (DPAB), který je dvouřetězcovým analogem k HTMAB. Práce byla rozšířena o využití dalších kationických tenzidů s různou délkou alkylového řetězce. Změna asymetrie hydrofobních řetězců iontového amfifilního páru ovlivňuje jeho rozpustnost. Z toho důvodu byly jako další výchozí látky zvoleny dimetyldimyristylamonium bromid (DMSAB) s kratším alkylovým řetězcem a předpokládanou vyšší rozpustností vytvořeného IPA a dimetyldioktadecylamonium bromid (DODAB) s delším alkylovým řetězcem a předpokládanou nižší rozpustností IPA. Jako poslední kationický tenzid byl zvolen dimetyldioktadecylamonium chlorid (DODAC), analog DODAB s chloridovým protiiontem, který je využíván ke stabilizaci vezikul IPA.

Tato práce se zaměřuje na optimalizaci přípravy triple-IPA a jejich vezikulárních systémů. V prvotní fázi byly připraveny prášky IPA a jejich vodné disperze ze všech čtyř vybraných kationických tenzidů a SDS. Kvůli technologickým obtížím s přípravou triple-IPA z DODAB a DODAC (více v kapitole 5.1) byly pro veškeré další experimenty využity pouze kationické tenzidy DMSAB a DPAB. Vezikulární disperze byly připraveny také ze samotných kationických tenzidů bez SDS a porovnány s příslušnými systémy IPA. Dále byly vezikulární systémy IPA stabilizovány přidávkem 0, 20 a 40 mol. % cholesterolu. Z této koncentrační řady byly vybrány systémy DMSA-DS a DPA-DS s obsahem 20 mol. % cholesterolu, které byly navíc stabilizovány přidávkem příslušného kationického tenzidu.

4.1 Použité chemikálie

V tab. 1 jsou uvedeny použité chemikálie a jejich specifikace pro přípravu vezikulárních systémů z triple-IPA.

Tab. 1: Použité chemikálie a jejich specifikace.

Chemikálie	výrobce	CAS číslo	čistota	Mr [g/mol]
DMSAB	TCI	68105-02-2	> 97,0 %	518,75
DPAB	TCI	70755-47-4	> 97,0 %	574,86
DODAB	TCI	3700-67-2	> 98,0 %	630,97
DODAC	Alfa Aesar	107-64-2	> 97,0 %	586,64
SDS	Sigma-Aldrich	151-21-3	≥ 99,0 %	288,38
cholesterol	Sigma-Aldrich	57-88-5	≥ 99,0 %	386,65
chloroform	Penta	67-66-3	≥ 99,8 %	119,38
deionizovaná voda	Purelab			18,02

4.3 Příprava zásobního prášku IPA

Do zásobních lahví bylo naváženo potřebné množství kationických tenzidů a SDS, aby po přidání deionizované vody vzniklo 250 ml 20 mM roztoku kationického tenzidu a 250 ml 20 mM roztoku SDS. Po přidání deionizované vody byly směsi přes noc ponechány na míchačce při teplotě 30 °C. Získané roztoky kationických tenzidů byly smíchány v ekvimolárním poměru s roztokem SDS a 4 dny ponechány na míchačce při teplotě 30 °C za občasného protřepání, protřepávání roztoků podpořilo vysrážení IPA. Výsledná suspenze byla filtrována za sníženého tlaku přes speciální filtr (Munktell Filter Paper, Grade 391,84 g·m⁻², Ahlstrom-Munksjö) a promyta čistou vodou, aby byly odstraněny protiiony přítomné v roztoku. Filtrační koláč (IPA) byl 4 dny ponechán v sušárně při teplotě 30 °C. Po vysušení byl prášek IPA převeden z filtračního papíru do vialek a uskladněn. Smícháním opačně nabitých tenzidů vznikla sraženina dimetyldimyristylamonium dodecylsulfát (DMSA-DS), dimetyldipalmityamonium dodecylsulfát (DPA-DS), dimetyldioktadecylamonium dodecylsulfát (DODA(B)-DS) a dimetyldioktadecylamonium dodecylsulfát (DODA(C)-DS).

4.4 Příprava vezikulárních systémů

4.4.1 Příprava roztoků IPA

Bylo naváženo potřebné množství připraveného prášku IPA, aby po přidání deionizované vody vzniklo 60 ml 2 mM roztoku IPA. Navážený prášek IPA byl rozpuštěn v 1 ml chloroformu. K tomuto roztoku byly přidány skleněné kuličky, aby zakryly dno ve dvou vrstvách. Celý systém byl zvortexován, aby došlo k obalení kuliček chloroformovým roztokem. Chloroform se přes noc nechal odpařit v digestoři, vznikl tak tenký film na dně a stěnách nádoby a na povrchu skleněných kuliček. Následující den byl vzniklý film rehydratován 60 ml vody. Zvětšením původního povrchu IPA v prášku pomocí filmu na skleněných kuličkách bylo docíleno účinnější tvorby vezikul při rehydrataci. Tvorba vezikul byla podpořena také následovným zvortexováním. Dispergátorem s titanovou sondou (ultrazvukový homogonizátor Bandelin SONOPULS UW 3200 s využitím sondy VS 70 T) byla směs sonifikována dodáním energie 25 kJ s amplitudou 50 %. Ultrazvukové vlny by měly zejména rozbít případné multilamelární vezikuly na unilamelární. Po rehydrataci byly odstraněny skleněné kuličky.

4.4.2 Příprava roztoků kationických tenzidů

Pro srovnání vezikul z kationických tenzidů bez obsahu SDS a příslušných vezikul z IPA byly připraveny roztoky kationických tenzidů, jejichž příprava byla totožná jako příprava roztoků IPA. Pouze bylo místo prášku IPA naváženo potřebné množství prášku kationického tenzidu, aby byla koncentrace roztoku po zalití 60 ml vody 2 mM.

4.4.3 Příprava roztoků IPA s přidavkem cholesterolu

Během přípravy roztoků IPA bylo k naváženému prášku IPA přidáno potřebné množství cholesterolu, aby výsledná směs obou prášků obsahovala 0, 20 a 40 mol. % cholesterolu. Každá směs byla rozpuštěna v 1 ml chloroformu a byly k ní přidány skleněné kuličky. Následoval stejný postup přípravy vezikulárních systémů jako při přípravě bez cholesterolu. Cholesterol byl přidán jako stabilizační činidlo. Také může napomoci k reorganizaci látek v membráně vezikul a ovlivnit tak např. kritický sbalovací parametr. Přítomnost cholesterolu ve vezikulárním systému omezuje fluiditu dané vrstvy, čímž zvyšuje stabilitu systému.

4.4.4 Příprava roztoků IPA s přidavkem kationického tenzidu a cholesterolu

Byly připraveny zásobní roztoky IPA a příslušných kationických tenzidů (např. DMSA-DS a DMSAB) v chloroformu s koncentrací 120 mM. Poměr IPA a kationického tenzidu byl zvolen 9 : 1. Proto bylo k naváženému potřebnému množství cholesterolu přidáno 0,9 ml roztoku IPA (např. DMSA-DS) a 0,1 ml roztoku kationického tenzidu (např. DMSAB). Po přidání 60 ml vody byla celková koncentrace tenzidu 2 mM a obsah cholesterolu 20 mol. %. Po rozpuštění cholesterolu byl využit stejný postup jako při přípravě bez přidavku kationického tenzidu a cholesterolu, který je popsán výše.

4.5 Měření vzorků

Na základě literární rešerše byly vybrány metody pro charakterizaci triple-IPA, které poskytnou základní údaje o připravených systémech.

4.5.1 Měření dynamického a elektroforetického rozptylu světla

Metodou dynamického a elektroforetického rozptylu světla byla na přístroji ZetaSizer (ZetaSizer Nano Series, Malvern, He-Ne laser) při teplotě 25 °C měřena velikost částic a zeta potenciál vezikulárních systémů. Měření probíhalo s 1 ml vzorku ve skleněné kyvetě s nastavením přístroje podle parametrů uvedených v tab. 2. U každého vzorku byla nejprve měřena velikost částic a následně zeta potenciál. Měření DLS a ELS probíhalo do šesti hodin od přípravy vzorku.

Tab. 2: Nastavení parametrů pro měření DLS a ELS.

Dynamický rozptyl světla			
Prostředí:	voda	Pozice měření v kyvetě:	1 nm
Kyveta:	skleněná	Počet opakování:	3
Teplota:	25 °C	Počet měření jednoho opakování:	12
Doba temperování:	30 s		

Elektroforetický rozptyl světla			
Prostředí:	voda	Model:	Smoluchowski
Kyveta:	skleněná	Počet opakování:	3
Teplota:	25 °C	Počet měření jednoho opakování:	12
Doba temperování:	15 s		

Výstupem měření DLS byla průměrná velikost vezikul, distribuční křivka velikosti částic, index polydisperzity (PDI z angl. *Polydisperze index*) a korelogram, výstupem měření ELS byl průměrný zeta potenciál. Hodnota PDI udává polydisperzitu systému, pro monodisperzní systém by u vezikul měla dosahovat hodnot nižších než 0,3 [48].

4.5.2 Měření turbidity

Na UV-VIS spektrofotometru (CARY50, Varian) byla měřena turbidita připravených vezikulárních systémů. Měření probíhalo za laboratorní teploty v rozmezí 600–700 nm. Z naměřených hodnot byla vybrána příslušná hodnota turbidity pro vlnovou délku 633 nm, se kterou probíhalo také měření DLS a ELS na přístroji ZetaSizer (tab. 3). Turbidimetrické měření probíhalo do šesti hodin od přípravy vzorku.

Tab. 3: Nastavení parametrů pro turbidimetrické měření.

Rozsah vlnové délky:	600–700 nm	Teplota:	laboratorní
Sledovaná vlnová délka:	633 nm	Rychlost měření:	medium

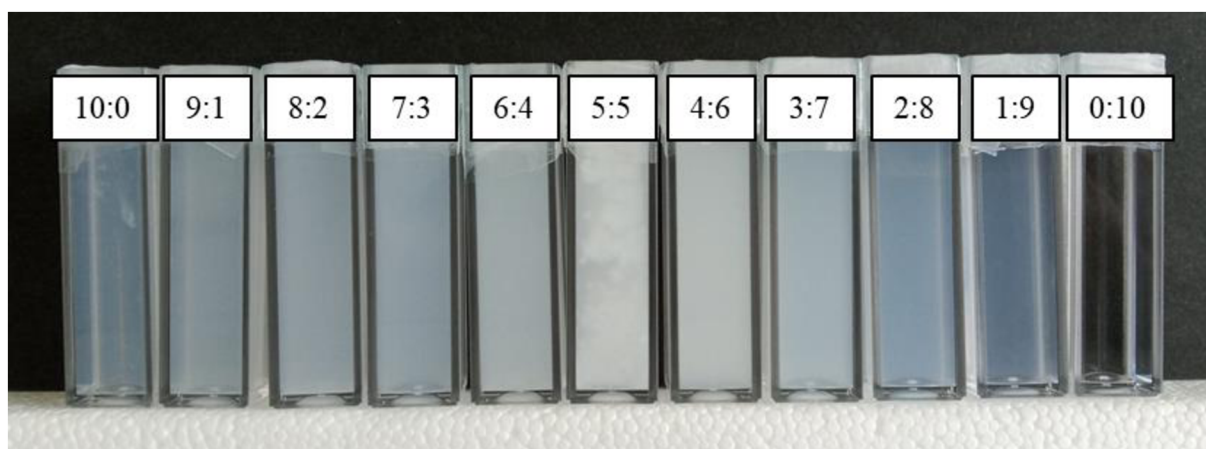
Získané hodnoty byly vyneseny do grafu v závislosti na množství cholesterolu obsaženém ve vzorku.

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

Cílem této práce bylo připravit triple-IPA a jejich stabilní vezikulární systémy. Nejprve byly připraveny zásobní prášky triple-IPA, ze kterých byly připraveny vezikulární systémy bez přídavku stabilizačního činidla. Zároveň byly připraveny vezikulární systémy z kationických tenzidů, jež byly využity pro přípravu triple-IPA (neobsahovaly SDS), aby bylo možné sledovat, jak se systém mění, pokud kationický tenzid interaguje s SDS a vytvoří iontový amfifilní pár. Dále byl zkoumán vliv přídavku cholesterolu v různé koncentraci, který má vliv na tvorbu membrány, může způsobit její reorganizaci a podpořit stabilitu vezikul. U vybraných vzorků byl sledován vliv přídavku kladného tenzidu, který by měl zvýšit náboj částic a přispět tak k jejich větší stabilitě. U všech připravených vzorků byla měřena velikost částic, zeta potenciál, který vypovídá o stabilitě systému a turbidita.

5.1 Příprava zásobního prášku IPA

Před samotnou přípravou prášku IPA byly v různém poměru míchány roztoky kationických tenzidů a SDS o stejné koncentraci za tvorby kataniontových směsí. Pro každý kationický tenzid byla sestavena koncentrační řada s jedenácti kroky. Vizuálním pozorováním bylo určeno, že nejvíce sraženiny vznikalo při poměru kationického tenzidu a SDS 1 : 1 (obr. 11, Přílohy, obr. 20, obr. 21 a obr. 22). Tento poměr odpovídá složení IPA, které by měly mít ekvimolární zastoupení opačně nabitých tenzidů. Proto byly prášky IPA připravovány právě mícháním roztoků o stejné koncentraci a stejném objemu.



Obr. 11: Vysrážené kataniontové směsi s různým poměrem DPAB : SDS.

Při přípravě prášku IPA byly nejprve připraveny roztoky samotných tenzidů. Po promíchání vznikly velmi zakalené roztoky DMSAB, DPAB a DODAB, u nichž se s délkou alkylového řetězce zákal zvyšoval, naproti tomu roztok DODAC byl méně zakalený. Ze všech používaných tenzidů byl ve vodě nejhůře rozpustný DODAB, jeho roztok byl velmi zakalený a rozpuštění neproběhlo kvantitativně. DODAC se po 1 dni míchání rozpustil kvantitativně, avšak došlo k výraznému zvýšení viskozity, zřejmě vlivem vzniku červovitých micel nebo podobných koloidních útvarů. Kvůli nehomogenitě roztoků DODAB a DODAC byly tyto výchozí látky z dalších experimentů vyřazeny. Nerovnoměrné rozložení tenzidu v roztoku by mohlo působit potíže při srážení s roztokem SDS a přípravě prášku IPA. Např. by sraženina po přídavku SDS mohla obsahovat kromě IPA také nerozpuštěný tenzid, proto by po promytí v prášku IPA nebylo ekvimolární zastoupení opačně nabitých tenzidů, prášek by byl nehomogenní a byl by

v něm více zastoupený kationický tenzid. Řešením by mohlo být zvýšení teploty roztoků kationických tenzidů (s teplotou rozpustnost těchto tenzidů roste) a vznikají slabě zakalené roztoky bez výrazného nárůstu viskozity. Avšak při vyšších teplotách je SDS nestabilní. Kvůli těmto technologickým potížím s DODAB a DODAC byly pro další experimenty využity pouze kationické tenzidy DMSAB a DPAB.

Po přidání SDS k roztokům kationických tenzidů ihned vznikala bílá sraženina. Vzniklá sraženina tvořící mléčný zákal byla volně rozptýlena v celém objemu a neměla tendenci dále agregovat a oddělovat se od vodné fáze, ani pokud byla směs protřepána. Až po několika dnech míchání podpořilo protřepání směsi agregaci vysrážených částic a oddělení fází kataniontové směsi, která vzlínala ke hladině, od čirého vodného roztoku. Roztok pod sraženinou byl čirý nebo mírně zakalený. Při každé přípravě byla míra zákalu odlišná. U vzorků byla odebrána část obou fází (sraženina a roztok pod sraženinou) a byla u nich měřena velikost částic a zeta potenciál. Velikost částic se pohybovala v řádu tisíců, což odkazuje na přítomnost sraženiny. Hodnota zeta potenciálu se nedala jednoznačně určit, protože naměřené výsledky nesplňovaly kritéria kvality měření, distribuce zeta potenciálu byla velmi široká a obsahovala vždy větší počet piků. Po oddělení fází byla výsledná suspenze filtrována. Obecně probíhala filtrace dobře. Přes filtr vždy protékal čirý filtrát, i když byl v suspenzi roztok pod sraženinou zakalený. Po vysušení filtračního koláče byly stanoveny výtěžky přípravy triple-IPA uvedené v tab. 4.

Tab. 4: Výtěžky přípravy DMSA-DS a DPA-DS.

	DMSA-DS	DPA-DS
1. příprava	86 %	79 %
2. příprava	79 %	88 %
3. příprava	97 %	95 %
průměr	87±9 %	87±8 %

Příprava prášků DMSA-DS a DPA-DS proběhla třikrát. Z těchto prášků byly rehydratací připraveny vezikulární systémy, jejichž vlastnosti byly vyhodnocovány pomocí vizuálního pozorování a měřením na přístrojích ZetaSizer a Varian Cary 50 UV-VIS. Všechna měření proběhla nejpozději 6 hod po přípravě vzorku.

5.2 Příprava vezikulárních systémů z triple-IPA

Z připravených prášků IPA byly připraveny vezikulární systémy bez stabilizace a vezikulární systémy stabilizované přídavkem 20 a 40 mol. % cholesterolu. Následně byly vezikulární systémy složené z triple-IPA s přídavkem 20 mol. % stabilizovány přídavkem 10 mol. % kladného tenzidu, z něhož byly vytvořeny příslušné iontové amfifilní páry.

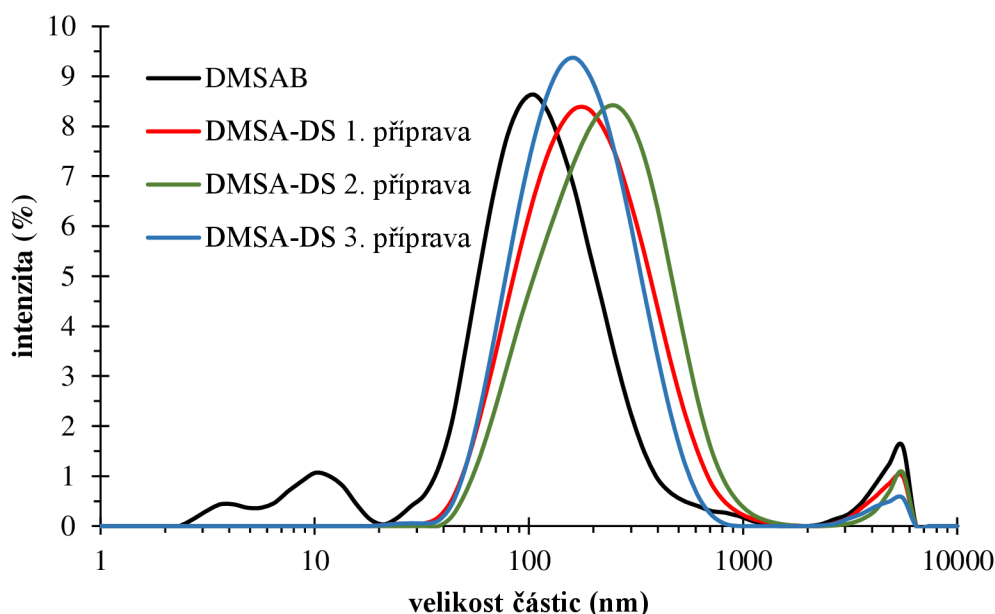
5.2.1 Vezikulární systémy bez stabilizace

Proběhly 3 přípravy prášku DMSA-DS a DPA-DS, z každé přípravy byly rehydratací připraveny 3 vzorky. Vzorky byly měřeny na přístroji ZetaSizer, výsledky z měření jsou uvedeny v tab. 5, tabulka obsahuje průměrované hodnoty pro jednotlivé měření. V tab. 5 jsou také uvedeny výsledky měření kationických tenzidů bez SDS, uvedené hodnoty jsou průměrem ze 3 vzorků.

Tab. 5: Naměřené hodnoty velikosti částic, PDI a zeta potenciálu pro DMSA-DS a DPA-DS.

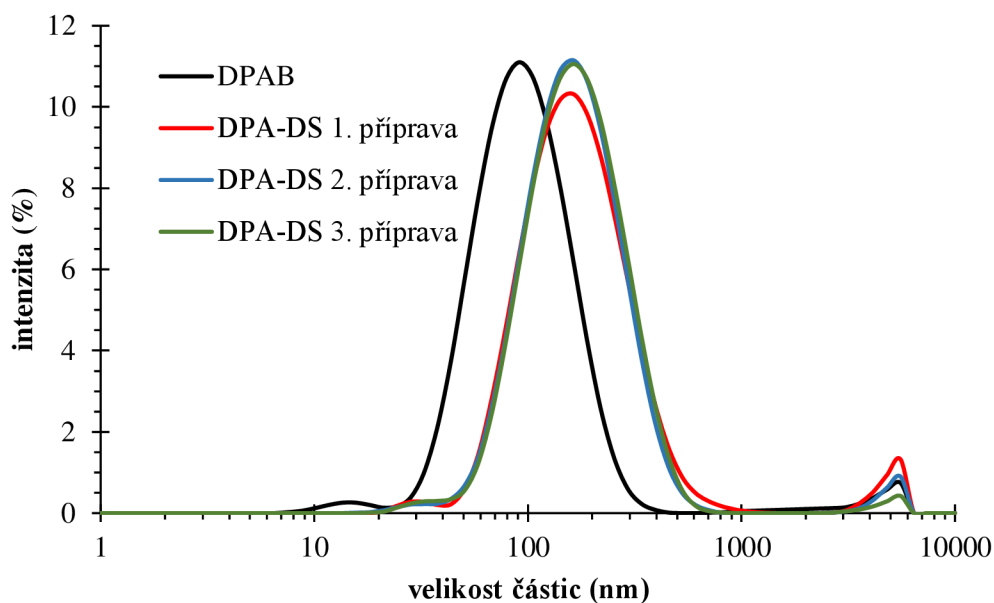
DMSA-DS			
	$d \pm \Delta d$ (nm)	PDI $\pm \Delta$ PDI (-)	$\zeta \pm \Delta \zeta$ (mV)
DMSAB	124 \pm 58	0,548 \pm 0,209	54 \pm 6
DMSA-DS 1. příprava	164 \pm 11	0,305 \pm 0,031	45 \pm 7
DMSA-DS 2. příprava	188 \pm 52	0,337 \pm 0,027	29 \pm 6
DMSA-DS 3. příprava	148 \pm 10	0,253 \pm 0,005	44 \pm 5
DMSA-DS průměr	167\pm34	0,298\pm0,042	38\pm9
DPA-DS			
	$d \pm \Delta d$ (nm)	PDI $\pm \Delta$ PDI (-)	$\zeta \pm \Delta \zeta$ (mV)
DPAB	78 \pm 9	0,326 \pm 0,039	53 \pm 5
DPA-DS 1. příprava	154 \pm 15	0,298 \pm 0,063	32 \pm 8
DPA-DS 2. příprava	141 \pm 8	0,291 \pm 0,035	43 \pm 9
DPA-DS 3. příprava	146 \pm 3	0,244 \pm 0,012	42 \pm 1
DPA-DS průměr	147\pm11	0,278\pm0,047	40\pm9

U DMSA-DS i DPA-DS se vyskytují podobné trendy v chování. Z měření velikosti částic DMSA-DS (tab. 5, Obr. 12) vyplývá, že velikost částic IPA, obsahující dodecylsulfát vzrostla oproti samotnému kationickému tenzidu DMSAB. Tento nárůst velikosti částic je podle očekávání, protože se do membránové dvojvrstvy musí uspořádat více molekul. Z distribuční křivky je také patrné, že se v roztoku DMSAB vyskytovaly částice s menší velikostí, která odpovídá micelám, u IPA nebyly micely zachyceny. Výskyt micel u DMSAB má za následek vysokou hodnotu PDI, protože se jedná o polydisperzní systém. U IPA se hodnoty PDI pohybují kolem hodnoty 0,3, vezikulární systémy s PDI do této hodnoty jsou považovány za monodisperzní [48]. Průměrná hodnota PDI u IPA je nižší než 0,3, nicméně některé přípravy tuto hodnotu přesahují. Hodnota zeta potenciálu DMSAB se dle očekávání pohybuje v kladné stabilní oblasti. Naopak hodnoty zeta potenciálu IPA byly očekávány v nestabilní oblasti kolem 0 mV, protože IPA byla připravena smícháním stejného množství kladného a záporného tenzidu, tudíž byl očekáván vznik nenabitého systému. Avšak hodnoty zeta potenciálu DMSA-DS se snížily výrazně méně, takže se pohybují v kladné stabilní oblasti nebo na hranici stability. Nicméně k částečnému poklesu zeta potenciálu došlo, což by mohlo značit, že je v systému navázaný dodecylsulfát, který část náboje vykompenzoval. Pro všechny přípravy byly vyneseny korelační křivky závislosti korelačního koeficientu na korelačním čase (Přílohy, obr. 23).



Obr. 12: Distribuční křivky závislosti intenzity na velikosti částic pro DMSA-DS a DMSAB.

U DPA-DS došlo k ještě výraznějšímu nárůstu velikosti částic oproti DPAB (tab. 5, obr. 13), než u systémů připravovaných z DMSAB. Směrodatné odchylky velikosti částic jednotlivých příprav i směrodatná odchylka ze všech měření je oproti DMSA-DS menší a z distribučních křivek je patrné, že velikosti částic různých příprav si více odpovídají. Mohlo by se tedy jednat o stabilnější systémy s lepší reprodukovatelností. Menší jsou také hodnoty PDI, částice tedy vznikají s užší distribucí velikosti částic. U DPAB je nižší hodnota PDI zapříčiněna také absencí micel. Distribuční křivka obsahuje pouze velmi malý pík u hodnot menších, než je hlavní podíl systému. Tento pík obsahují také distribuční křivky DPA-DS, avšak s posunem k vyšším hodnotám, stejně jako u velikosti vezikul. U zeta potenciálu je patrný stejný trend, jako v případě DMSA-DS. Přítomnost záporného tenzidu hodnotu zeta potenciálu sníží, avšak stále se pohybuje nad hranicí stability. Pro všechny přípravy byly vyneseny korelační křivky závislosti korelačního koeficientu na korelačním čase (Přílohy, obr. 24obrázky 23).



Obr. 13: Distribuční křivky závislosti intenzity na velikosti částic pro DPA-DS a DPAB.

5.2.2 Vezikulární systémy se stabilizací cholesterolem

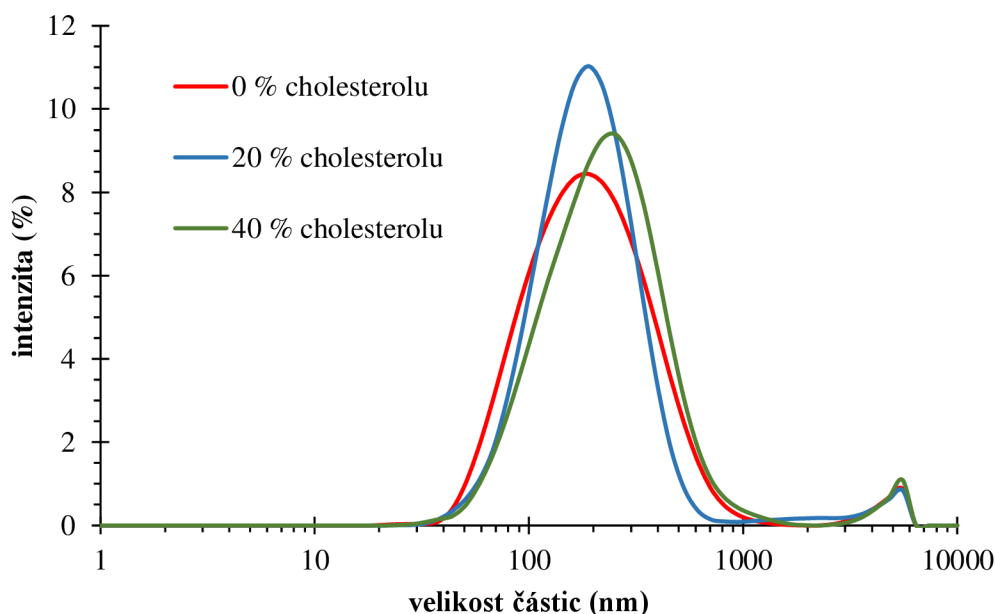
Vezikuly připravené pouze z IPA mají obvykle velmi nízkou fyzikální stabilitu a v roztoku mají snahu agregovat [18]. Nízká stabilita se projevuje hodnotou zeta potenciálu v nestabilní oblasti. U připravených systémů triple-IPA se hodnota zeta potenciálu pohybuje na hranici nebo nad hranicí stability, v kladné stabilní oblasti. Přesto byl při přípravě vezikulárních systémů přidán cholesterol, který je nejznámějším stabilizačním činidlem membrán a byl sledován vliv jeho koncentrace na chování vezikul. Koncentrace cholesterolu byla zvolena 20 a 40 mol. %, s podobnými koncentracemi pracuje také M. Havlíková [18] a An-Tsung Kuo [32].

Naměřené hodnoty velikosti částic a zeta potenciálu pro cholesterolovou koncentrační řadu vodného roztoku DMSA-DS a DPA-DS jsou uvedeny v tab. 6. U všech koncentrací cholesterolu byly připraveny 3 vzorky ze všech 3 příprav prášku IPA.

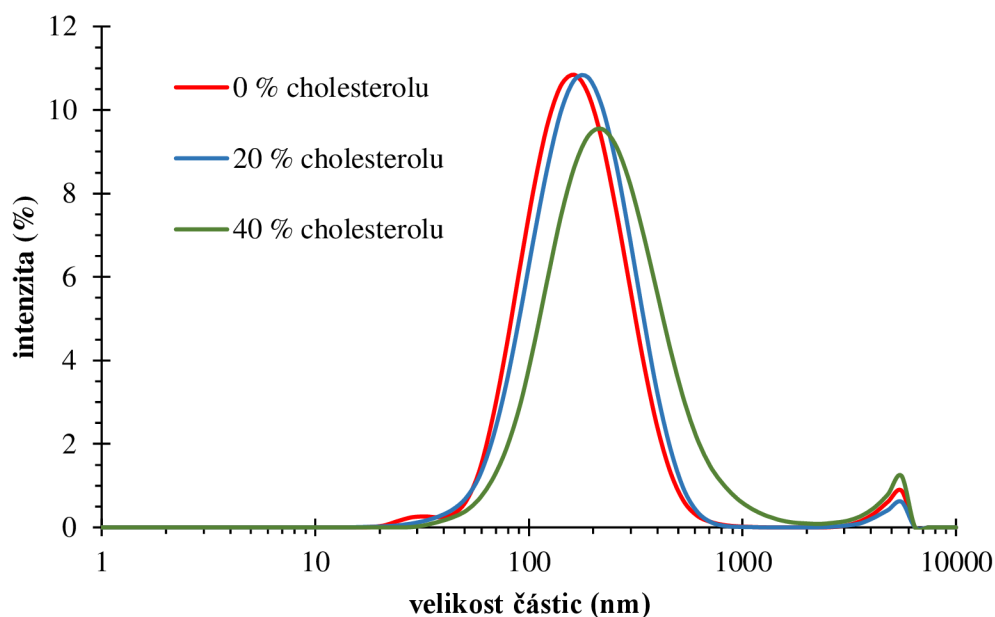
Tab. 6: Naměřené hodnoty velikosti částic, PDI a zeta potenciálu pro DMSA-DS a DPA-DS s různou koncentrací cholesterolu.

DMSA-DS			
	$d \pm \Delta d$ (nm)	PDI $\pm \Delta$ PDI (-)	$\zeta \pm \Delta \zeta$ (mV)
0 % cholesterolu	167 \pm 34	0,298 \pm 0,042	38 \pm 9
20 % cholesterolu	178 \pm 44	0,258 \pm 0,042	9 \pm 24
40 % cholesterolu	219 \pm 77	0,322 \pm 0,079	15 \pm 24
DPA-DS			
	$d \pm \Delta d$ (nm)	PDI $\pm \Delta$ PDI (-)	$\zeta \pm \Delta \zeta$ (mV)
0 % cholesterolu	147 \pm 11	0,278 \pm 0,047	40 \pm 9
20 % cholesterolu	160 \pm 10	0,255 \pm 0,036	35 \pm 10
40 % cholesterolu	213 \pm 30	0,338 \pm 0,072	32 \pm 11

Z uvedených hodnot velikosti částic DMSA-DS (tab. 6, obr. 14) a DPA-DS (tab. 6, obr. 15) je vidět, že se velikost částic s přidavkem 20 mol. % cholesterolu příliš nezměnila (u DMSA-DS v rámci směrodatné odchylky, u DPA-DS nepatrně více). U obou typů IPA je však zřetelný nárůst velikosti s přidavkem 40 mol. % cholesterolu. Nicméně u 40 mol. % násobně vzrostla směrodatná odchylka. U systémů DMSA-DS, které vykazovaly vysokou směrodatnou odchylku i při nižších koncentracích cholesterolu, se směrodatná odchylka zvětšila asi dvakrát a u DPA-DS třikrát. Proto se zřejmě jedná o systémy s nižší reprodukovatelností. Z hodnot PDI vyplývá, že nejvíce monodisperzní systém vzniká s přidavkem 20 mol. % cholesterolu. Naopak systémy se 40 mol. % cholesterolu překračují hodnotu 0,3, určující hranici monodisperzního systému [48]. Přítomnost cholesterolu v membráně napomůže k její reorganizaci, začleněním cholesterolu dojde k oddálení nabitých částic membrány, které pak mají menší tendenci vázat na sebe protiionty, proto dochází k nárůstu zeta potenciálu [31, 32]. Přesto po přidání cholesterolu k DMSA-DS došlo k výraznému poklesu zeta potenciálu a posunu do nestabilní oblasti, avšak směrodatné odchylky jsou velmi vysoké. Naopak u DPA-DS došlo k poklesu zeta potenciálu, a tím i k přiblížení hranici stability, se zachováním velikosti směrodatné odchylky. DPA-DS tedy zřejmě bude tvořit stabilnější vezikulární systémy. Pro koncentrační řady DMSA-DS i DPA-DS byly vyneseny korelační křivky (Přílohy, obr. 25 a obr. 26).

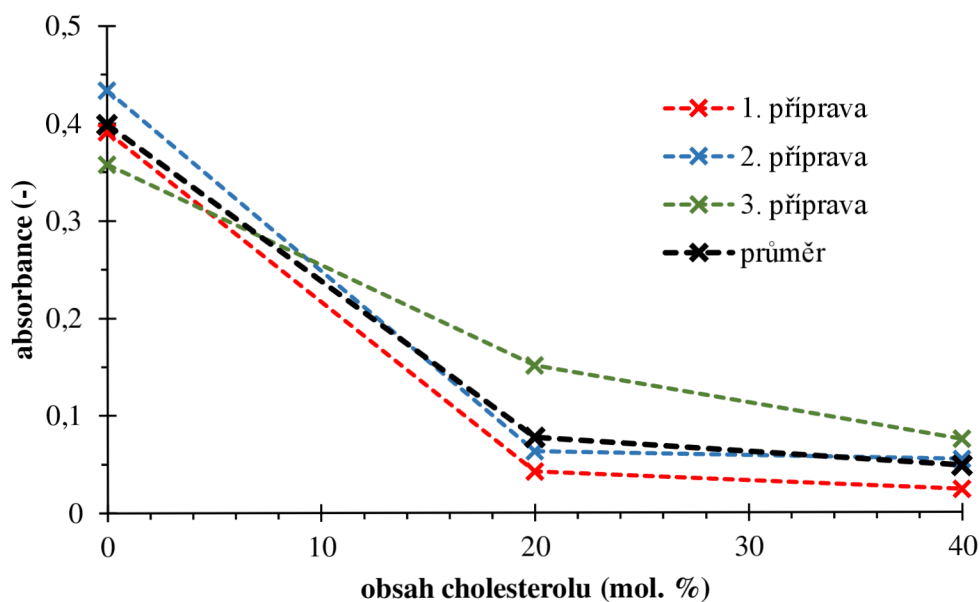


Obr. 14: Distribuční křivky závislosti intenzity na velikosti částic pro DMSA-DS s obsahem cholesterolu. 0, 20 a 40 mol. %.



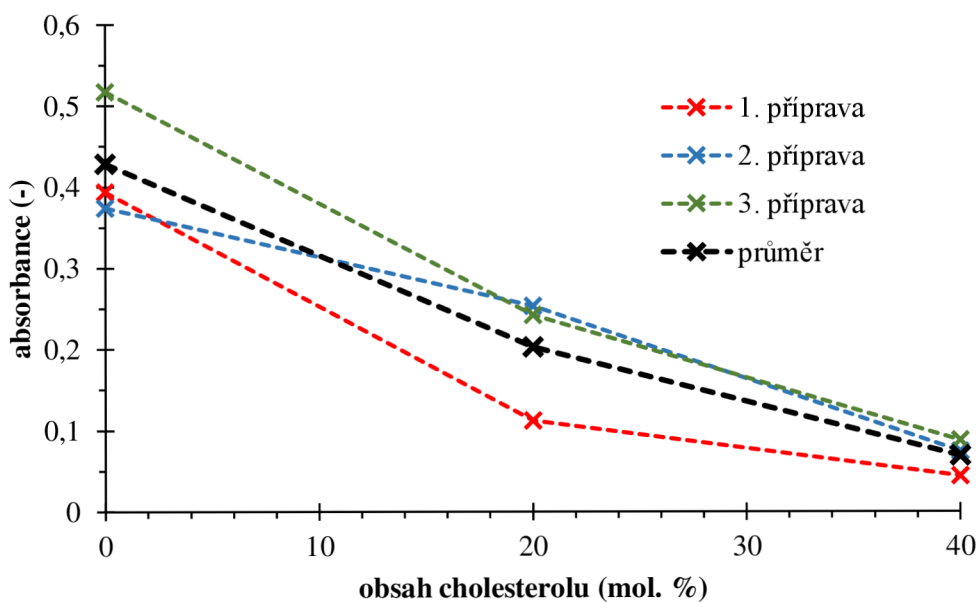
Obr. 15: Distribuční křivky závislosti intenzity na velikosti částic pro DMSA-DS s obsahem cholesterolu 0, 20 a 40 mol. %.

Reorganizace vezikulárních membrán je patrná z vizuálního pozorování, které bylo potvrzeno turbidimetrickým měřením. U vzorků s přidavkem cholesterolu došlo po sonifikaci k výraznějšímu vyčeření roztoku než u vzorků bez cholesterolu. U DMSA-DS (obr. 16) dochází s přidavkem 20 mol. % cholesterolu ke značnému poklesu absorbance, a tedy zákalu, který s přidavkem 40 mol. % zůstává téměř konstantní. Cholesterol zjevně podporuje uspořádání IPA do vezikulárních struktur. Ačkoliv se velikost částic s přidavkem 20 mol. % cholesterolu téměř nezměnila, došlo ke snížení intenzity rozptylovaného světla paprsku procházejícího vzorkem. Protože nedošlo ke změně velikosti částic, muselo ke změně absorbance dojít z jiného důvodu. Cholesterol mohl podpořit tvorbu vezikul, mohlo tedy dojít k většímu převedení prášku IPA do roztoku, kde vytvořil vezikuly. Protože jsou triple-IPA ve vodě špatně rozpustné, zřejmě po rehydrataci v roztoku zůstává nerozpuštěná část, která způsobuje zákal. S přidavkem cholesterolu by se tato nerozpuštěná část mohla více začlenit do vezikulárních struktur a zákal se tak snižuje.



Obr. 16: Absorbance disperzního roztoku v závislosti na obsahu cholesterolu pro DMSA-DS.

U DPA-DS (obr. 17) je pokles zákalu s přidavkem cholesterolu pozvolnější. Na rozdíl od DMSA-DS má na systém vliv také další přidavek cholesterolu (40 mol. %), protože dochází k dalšímu poklesu zákalu. Vliv přidavku cholesterolu na začlenění částic do vezikul je zřejmě velmi vysoký, protože s přidavkem 40 mol. % cholesterolu dochází ke zvětšení částic, na kterých se světlo více láme a absorbance by se tak měla zvětšovat. Avšak u absorbance došlo k dalšímu poklesu, a tedy i ke snížení zákalu.



Obr. 17: Absorbance disperzního roztoku v závislosti na obsahu cholesterolu pro DPA-DS.

5.2.4 Vezikulární systémy se stabilizací kationickým tenzidem a cholesterolem

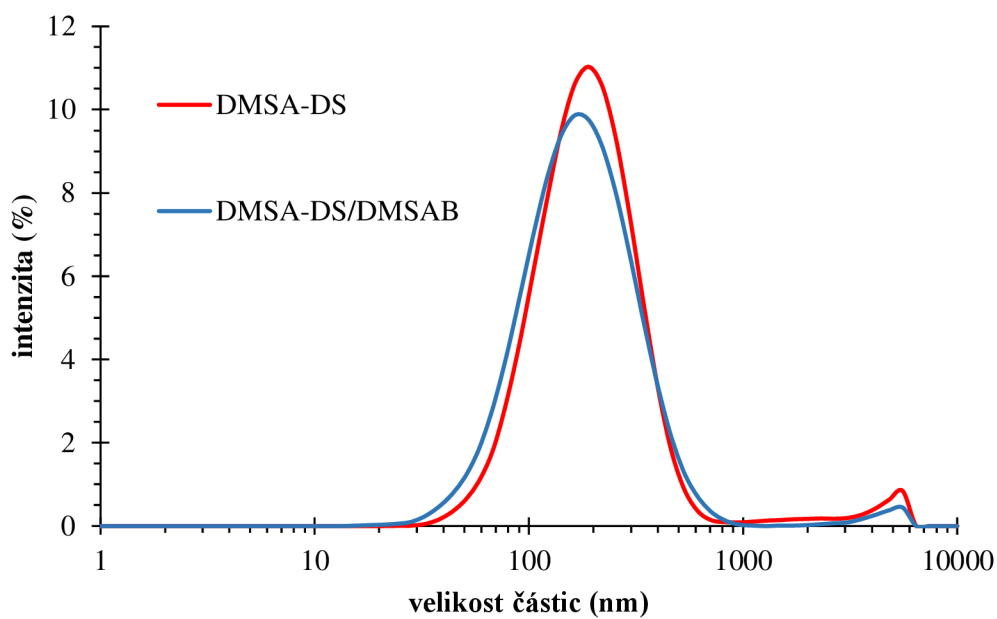
Pro stabilizaci nábojem byly zvoleny vzorky s obsahem 20 mol. % cholesterolu, které se jeví jako nejvhodnější pro přípravu vezikulárních systémů z triple-IPA. Systémy obsahující 20 mol. % vykazují nejnižší hodnoty PDI a největší překryv korelačních křivek jednotlivých měření. Oproti systémům bez přídavku cholesterolu, které mají také úzkou distribuci velikosti částic, se snižuje jejich zákal za současného zachování velikosti částic a její směrodatné odchylky. Jako stabilizační činidlo byl zvolen tenzid, ze kterého jsou připravené IPA, aby do systému nebyly zanášeny geometricky odlišné molekuly, které by mohly způsobit změny v balení molekul do vezikul. Přídavek kladného tenzidu činil 10 mol. %. Hodnoty pro vezikulární systémy bez stabilizace nábojem byly použity stejné jako v předchozí kapitole s obsahem 20 mol. % cholesterolu (tab. 6). Stabilizace nábojem byla provedena u roztoků připravených ze 3. přípravy triple-IPA. Pro každý tenzid byly připraveny 3 vzorky. Výsledky měření vezikul stabilizovaných dodáním náboje jsou uvedeny v tab. 7.

Tab. 7: Naměřené hodnoty velikosti částic, PDI a zeta potenciálu pro DMSA-DS a DPA-DS a pro systémy stabilizované kationickým tenzidem DMSA-DS/DMSAB a DPA-DS/DPAB s obsahem 20 mol. % cholesterolu.

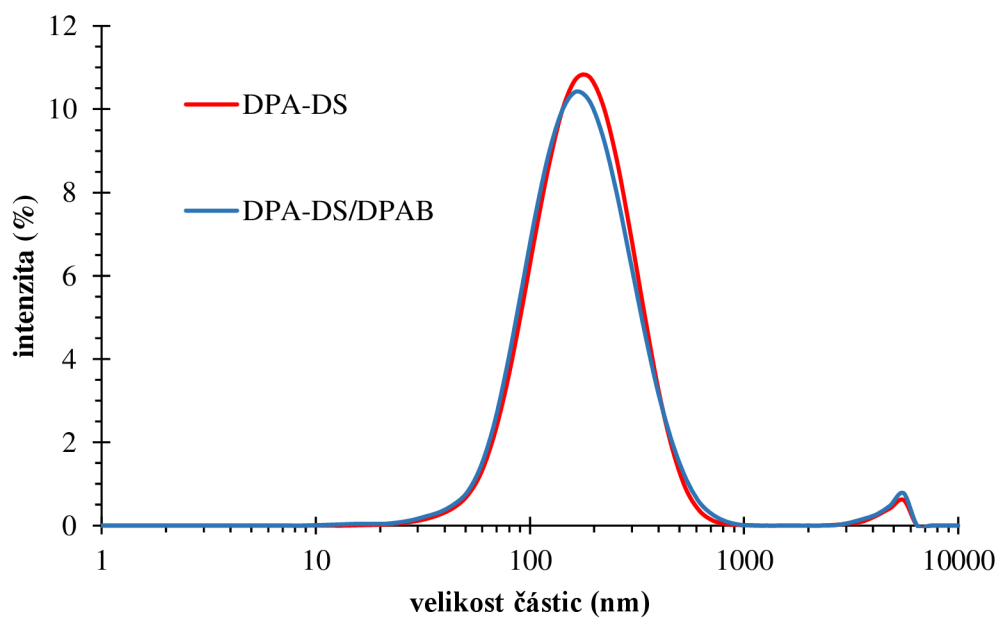
DMSA-DS			
	$d \pm \Delta d$ (nm)	PDI $\pm \Delta$ PDI (-)	$\zeta \pm \Delta \zeta$ (mV)
DMSA-DS	178 \pm 39	0,258 \pm 0,040	9 \pm 24
DMSA-DS/DMSAB	150 \pm 12	0,258 \pm 0,035	50 \pm 14

DPA-DS			
	$d \pm \Delta d$ (nm)	PDI $\pm \Delta$ PDI (-)	$\zeta \pm \Delta \zeta$ (mV)
DPA-DS	160 \pm 10	0,255 \pm 0,036	33 \pm 11
DPA-DS/DPAB	153 \pm 7	0,277 \pm 0,056	43 \pm 8

S přídavkem kladného tenzidu se velikost částic, ani PDI výrazně nemění (tab. 7, obr. 18, obr. 19). Podle očekávání dochází ke zvýšení hodnot zeta potenciálu, který je kladnější a vzdaluje se tak od hranice stability. Pro připravené systémy DMSA-DS/DMSAB a DPA-DS/DPAB byly vyneseny korelační křivky (Přílohy, obr. 27 a obr. 28 obr. 25). Nicméně v tomto systému není ekvimolární zastoupení opačně nabitých tenzidů a jsou přítomny jejich protionty. Proto by bylo vhodnější nazývat matici, z níž jsou tvořeny vezikuly jako kataniontové směsi než jako iontové amfifilní páry. Protože právě ekvimolární zastoupení tenzidů a přítomnost protiontů tyto pojmy odlišuje.



Obr. 18: Distribuční křivka velikosti částic pro DMSA-DS a DMSA-DS/DMSAB s 20 mol. % cholesterolu.



Obr. 19: Distribuční křivka velikosti částic pro DPA-DS a DPA-DS/DPAB s 20 mol. % cholesterolu.

6 ZÁVĚR

Cílem této práce bylo připravit kataniontový vezikulární systém z triple-IPA, který byl zatím pouze velmi málo prozkoumán, a charakterizovat jeho vlastnosti. K tomuto tématu byla vypracována literární rešerše, na jejímž základě byla vybrána metoda přípravy triple-IPA a jejich vezikulárních systémů a metody vhodné pro určení vlastností těchto systémů. Triple-IPA byly připraveny vysrážením po smíchání roztoků opačně nabitých tenzidů v ekvimolárním poměru, sraženina byla odfiltrována a usušena. Ze získaného prášku byly rehydratací a sonifikací připraveny vezikulární systémy, u nichž byla měřena velikost částic, zeta potenciál a turbidita. Tyto vlastnosti jsou u koloidních roztoků jedny z nejčastěji stanovovaných, protože poskytují základní informace o stavu koloidního systému. Kvůli technologickým komplikacím u DODAB a DODAC byly připraveny a charakterizovány pouze vezikulární systémy z DMSA-DS a DPA-DS. Komplikace u přípravy triple-IPA z DODAB a DODAC by bylo možné vyřešit pracováním za vyšší teploty což je problematické z pohledu termické stability SDS, proto by musel být vybrán jiný interakční partner s větší termickou stabilitou. Dalším řešením by mohla být přesnější analýza těchto příprav triple-IPA, kdyby potvrdila ekvimolární zastoupení opačně nabitých tenzidů v připraveném prášku IPA.

Z prášků IPA bez dalších stabilizačních činidel a ze samotných kationických tenzidů bez SDS byly připraveny vezikulární systémy. Oproti kationickým tenzidům, byl u vezikul z IPA pozorován nárůst jejich velikosti. Protože se u systémů IPA předpokládá ekvimolární zastoupení kationické a anionického tenzidu, byly očekávány hodnoty zeta potenciálu v nestabilní oblasti, okolo 0 mV. Avšak naměřené hodnoty se pohybovaly v kladné stabilní oblasti a jejich pokles oproti kationickým tenzidům bez SDS byl výrazně menší, než se předpokládalo. V průběhu experimentů bylo zaznamenáno, že na stěnách nádoby a skleněných kuličkách i po sonifikaci stále zůstává tenký film, který nebylo možné rehydratovat, což může mít vliv na tyto neočekávané výsledky. Proto by bylo vhodné provést elementární analýzu prášku IPA, zda došlo k vysrážení v ekvimolárním poměru a analýzu nerozpuštěných zbytků po sonifikaci, aby bylo možné určit zastoupení původních tenzidů v disperzní soustavě.

Pro vytvoření stabilnějšího vezikulárního systému byl k IPA přidán cholesterol. Z turbidimetrického měření jasně vyplývá, že přídavek cholesterolu ovlivňuje systém vezikul a mění jejich uspořádání. Po přidavku cholesterolu došlo ke snížení zákalu roztoků, to je zřejmě spojeno s větším začleněním IPA do membrán kataniontových vezikul. Velikost částic se s přídavkem 20 mol. % cholesterolu téměř nezměnila, s přídavkem 40 mol. % viditelně vzrostla a vzrostla také její směrodatná odchylka. Z hodnot PDI vyplývá, že s přídavkem 20 mol. % cholesterolu jsou systémy více monodisperzní než s vyšším obsahem cholesterolu. U DMSA-DS cholesterol způsobil velký pokles zeta potenciálu, který nebyl tak výrazný u DPA-DS, u kterého měl navíc menší odchylky měření, proto lze předpokládat, že DPA-DS tvoří stabilnější systémy.

I když se zeta potenciál připravených vezikulárních systémů pohybuje v kladné stabilní oblasti, byla provedena elektrostatická stabilizace přídavkem kladně nabitého tenzidu, která se u IPA běžně provádí, protože jsou samy o sobě nestabilní. Pro tuto stabilizaci byly vybrány systémy

obsahující 20 mol. % cholesterolu, které se zdají být nejvhodnější pro přípravu kataniontových vezikul. Pro stabilizaci byly vybrány dvojřetězcové kladné tenzidy, které jsou již přítomné v příslušných IPA, po přidavku kladného tenzidu se velikost částic téměř nezměnila a zeta potenciál vzrostl, takže se systém stal stabilnějším.

Z připravených systémů je pro přípravu vezikulárního systému triple-IPA zřejmě nejvhodnější DPA-DS s 20 mol. % cholesterolu. Obsažený cholesterol podporuje začlenění molekul do membrány kataniontových vezikul a zároveň vzniká monodisperzní systém, který nevzniká s přidavkem 40 mol. % cholesterolu. Oproti DMSA/DS má DPA/DS menší směrodatné odchylky, takže si jednotlivá měření více odpovídají. Toto chování by mohlo být způsobeno jinou asymetrií alkylových řetězců v iontovém amfifilním páru. U tohoto systému byly také měřeny jeho vlastnosti po přidavku DPAB, který zvýšil jeho stabilitu, nicméně tento systém by bylo vhodnější nazývat kataniontová směs spíše než IPA.

U všech vzorků byly naměřeny kladnější hodnoty zeta potenciálu, než bylo očekáváno. Zejména u kataniontových vezikul bez jakékoliv stabilizace byly očekávány nulové hodnoty zeta potenciálu, avšak zeta potenciál byl i u těchto systémů kladný, nad hranicí stability. Proto by bylo vhodné zjistit elementární analýzou složení připravených prášků triple-IPA a nerozpuštěných zbytků na stěnách po sonifikaci. Těmito analýzami by bylo dobré podpořit další pokračování práce, aby bylo možné zjistit složení disperzní soustavy. Obecně měly všechny připravené systémy při měření zeta potenciálu vysokou směrodatnou odchylku, která může být způsobena nehomogenitou výchozího prášku IPA, nerovnoměrným rozložením tenzidů v roztoku nebo v membráně vezikul nebo nízkou stabilitou. V této práci by se mohlo pokračovat charakterizací kataniontových vezikul dalšími metodami, které by pomohly určit jejich složení a další vlastnosti, aby bylo v budoucnu možné praktické využití triple-IPA. Např. je důležité zkoumání vlivu iontové síly na vezikulární systémy, které přítomnost iontů destabilizuje, aby bylo možné jejich využití ve fyziologických podmínkách. Překážkou k praktickému využití vezikul z triple-IPA by mohla být jejich velikost, protože vezikuly z triple-IPA jsou větší, než analogické systémy z double-IPA, avšak hlavním kritériem pro využití těchto systémů je biokompatibilita. Cílem je připravit takové systémy, které by bylo možné využít ve farmakologii, kosmetice a biotechnologiích.

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] KRONBERG, Bengt, Krister HOLMBERG a Björn LINDMAN. *Surface chemistry of surfactants and polymers*. Chichester: Wiley, 2014. ISBN 978-1-119-96124-6.
- [2] ŠMIDRKAL, Jan. *Tenzidy*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2020. ISBN 978-80-7592-056-0.
- [3] HIRSCH, Marc. Surface Active Agents (Surfactants). *Prospector* [online]. Santa Fe [cit. 2022-12-26]. Dostupné z: <https://knowledge.ulprospector.com/3106/pc-surface-active-agents-surfactants/>
- [4] PIŠTĚKOVÁ, Marie a Jan ŠÁLEK. Poutání tenzidů při filtraci různými zeminami. *Vodní hospodářství* [online]. 2021 [cit. 2022-12-28]. Dostupné z: <https://vodnihospodarstvi.cz/poutani-tenzidu/>
- [5] GHOSH, Sampad, Anirban RAY a Nabakumar PRAMANIK. Self-assembly of surfactants: An overview on general aspects of amphiphiles. *Biophysical Chemistry* [online]. 2020, 265 [cit. 2023-04-15]. ISSN 03014622. Dostupné z: doi:10.1016/j.bpc.2020.106429
- [6] ŠMIDRKAL, Jan. Tenzidy a detergenty dnes. *Chemické listy* [online]. 1999, 93(4), 421-47 [cit. 2023-04-14]. Dostupné z: http://www.w.chemicke-listy.cz/docs/full/1999_07_421-427.pdf
- [7] FILIPOVIĆ-VINCEKOVIĆ, Nada a Stanko POPOVIC. Solid-Phase Transitions of Ionic Surfactants. *Encyclopedia of Surface and Colloid Chemistry* [online]. 2002, 4718–4736 [cit. 2023-04-22]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/266686182_Solid-Phase_Transitions_of_Ionic_Surfactants
- [8] BONDI, Cara A. M., Julia L. MARKS, Lauren B. WROBLEWSKI, Heidi S. RAATIKAINEN, Shannon R. LENOX a Kay E. GEBHARDT. Human and Environmental Toxicity of Sodium Lauryl Sulfate (SLS): Evidence for Safe Use in Household Cleaning Products. *Environmental Health Insights* [online]. 2015, 9 [cit. 2023-01-17]. ISSN 1178-6302. Dostupné z: doi:10.4137/EHI.S31765
- [9] ARAY, Yosslen, José G. PARRA, Ricardo PAREDES, Luis Javier ÁLVAREZ a Antonio DIAZ-BARRIOS. Exploring the nature of the interactions between the molecules of the sodium dodecyl sulfate and water in crystal phases and in the water/39akuum interface. *Heliyon* [online]. 2020, 6(6) [cit. 2023-01-17]. ISSN 24058440. Dostupné z: doi:10.1016/j.heliyon.2020.e04199
- [10] PubChem Compound Summary for CID 3017829: Dimethylditetradecylammonium bromide. *National Center for Biotechnology Information* [online]. [cit. 2023-04-22]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dimethylditetradecylammonium-bromide>
- [11] PubChem Compound Summary for CID 9808235: Dihexadecyldimethylammonium bromide. *National Center for Biotechnology Information* [online]. [cit. 2023-04-22]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/9808235>

- [12] PubChem Compound Summary for CID 77293: Dimethyldioctadecylammonium bromide. *National Center for Biotechnology Information* [online]. [cit. 2023-04-22]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/77293>
- [13] PubChem Compound Summary for CID 7879: Dimethyldioctadecylammonium chloride. *National Center for Biotechnology Information* [online]. [cit. 2023-04-22]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/7879>
- [14] MCMURRY, John. *Organická chemie*. V Brně: VUTIUM, 2007. Překlady vysokoškolských učebnic. ISBN 978-80-214-3291-8.
- [15] ERICSON-NEILSEN, William, Alan David KAYE. Steroids: pharmacology, complications, and practice delivery issues. *Ochsner J.* [online]. 2014 Summer;14(2):203-207 [cit. 2023-04-23]. PMID: 24940130; PMCID: PMC4052587. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4052587/>
- [16] Steroid. In: *Britannica* [on-line]. BRAZENOR CLAYTON, Raymond, Ronald H. Kluger. [cit. 2023-04-23]. Dostupné z: <https://www.britannica.com/science/steroid>
- [17] KODÍČEK, M. cholesterol. Z *Biochemické pojmy: výkladový slovník* [online]. Praha: VŠCHT Praha, 2007 [cit. 2023-02-28]. Dostupné z: http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-002/ebook.html?p=cholesterol
- [18] HAVLÍKOVÁ, Martina, Jana SZABOVÁ, Adam JUGL, Ludmila MRAVCOVÁ, Chien-Hsiang CHANG, Po-Sung HUANG, Miloslav PEKAŘ a Filip MRAVEC. Study of cholesterol's effect on the properties of catanionic vesicular systems: Comparison of light-scattering results with ultrasonic and fluorescence spectroscopy. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* [online]. 2020, 607 [cit. 2023-03-01]. ISSN 09277757. Dostupné z: [doi:10.1016/j.colsurfa.2020.125526](https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2020.125526)
- [19] Cholesterol: Synthesis, Metabolism, and Regulation. In: *The Medical Biochemistry Page* [online]. [cit. 2023-04-23]. Dostupné z: <https://themedicalbiochemistrypage.org/cholesterol-synthesis-metabolism-and-regulation/>
- [20] KVÍTEK, Libor a Aleš PANÁČEK. *Základy koloidní chemie* [online]. Olomouc, 2007 [cit. 2023-04-23]. Dostupné z: <https://old.fch.upol.cz/wp-content/uploads/2015/07/Kolonoidni-chemie-text.pdf>
- [21] BARTOVSKÁ, Lidmila a Marie ŠIŠKOVÁ. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*. Vyd. 5., přeprac. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2005. ISBN 80-7080-579-x.
- [22] LOMBARDO, Domenico, Mikhail A. KISELEV, Salvatore MAGAZÙ a Pietro CALANDRA. Amphiphiles Self-Assembly: Basic Concepts and Future Perspectives of Supramolecular Approaches. *Advances in Condensed Matter Physics* [online]. 2015, 2015, 1-22 [cit. 2023-03-02]. ISSN 1687-8108. Dostupné z: [doi:10.1155/2015/151683](https://doi.org/10.1155/2015/151683)
- [23] NOVÁK, Josef. *Fyzikální chemie: bakalářský a magisterský kurz* [online]. Praha: VŠCHT Praha, 2016 [cit. 2023-04-23]. Dostupné z: <https://old.vscht.cz/fch/cz/pomucky/FCH4Mgr.pdf>

- [24] NAGARAJAN, R. Molecular Packing Parameter and Surfactant Self-Assembly: The Neglected Role of the Surfactant Tail. *Langmuir* [online]. 2002, **18**(1), 31-38 [cit. 2023-03-11]. ISSN 0743-7463. Dostupné z: doi:10.1021/la010831y
- [25] WU, Chih-Jung, An-Tsung KUO, Chen-Hsuan LEE, Yu-Min YANG a Chien-Hsiang CHANG. Fabrication of positively charged catanionic vesicles from ion pair amphiphile with double-chained cationic surfactant. *Colloid and Polymer Science* [online]. 2014, **292**(3), 589-597 [cit. 2023-03-31]. ISSN 0303-402X. Dostupné z: doi:10.1007/s00396-013-3104-9
- [26] KHALIL, Rabah A. a Al-hakam A. ZARARI. Theoretical estimation of the critical packing parameter of amphiphilic self-assembled aggregates. *Applied Surface Science* [online]. 2014, 318, 85-89 [cit. 2023-04-14]. ISSN 01694332. Dostupné z: doi:10.1016/j.apsusc.2014.01.046
- [27] BHATTACHARJEE, Jayita, V. K. ASWAL, P. A. HASSAN, Ravi PAMU, Janaky NARAYANAN a Jayesh BELLARE. Structural evolution in catanionic mixtures of cetylpyridinium chloride and sodium deoxycholate. *Soft Matter* [online]. 2012, 8(39) [cit. 2023-03-09]. ISSN 1744-683X. Dostupné z: doi:10.1039/c2sm25460c
- [28] BRAMER, Tobias, Noel DEW a Katarina EDSMAN. Pharmaceutical applications for catanionic mixtures. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* [online]. 2007, 59(10), 1319-1334 [cit. 2023-03-11]. ISSN 0022-3573. Dostupné z: doi:10.1211/jpp.59.10.0001
- [29] LEE, Wei-Han, Yi-Li TANG, Tzu-Chin CHIU a Yu-Min YANG. Synthesis of Ion-Pair Amphiphiles and Calorimetric Study on the Gel to Liquid-Crystalline Phase Transition Behavior of Their Bilayers. *Journal of Chemical & Engineering Data* [online]. 2015, 60(4), 1119-1125 [cit. 2023-03-11]. ISSN 0021-9568. Dostupné z: doi:10.1021/je501079n
- [30] MAITI, Kajari, Subhash C. BHATTACHARYA, Satya P. MOULIK a Amiya K. PANDA. Physicochemical studies on ion-pair amphiphiles: Solution and interfacial behaviour of systems derived from sodium dodecylsulfate and n-alkyltrimethylammonium bromide homologues. *Journal of Chemical Sciences* [online]. 2010, 122(6), 867-879 [cit. 2023-03-11]. ISSN 0974-3626. Dostupné z: doi:10.1007/s12039-010-0075-y
- [31] TIEN, Wu-jhao, Kun-you CHEN, Fong-yin HUANG a Chi-cheng CHIU. Effects of Cholesterol on Water Permittivity of Biomimetic Ion Pair Amphiphile Bilayers: Interplay between Membrane Bending and Molecular Packing. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2019, **20**(13) [cit. 2023-03-11]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms20133252
- [32] KUO, An-Tsung, Cheng-Lin TU, Yu-Min YANG a Chien-Hsiang CHANG. Enhanced Physical Stability of Mixed Ion Pair Amphiphile/Double-chained Cationic Surfactant Vesicles in the Presence of Cholesterol. *Journal of Oleo Science* [online]. 2018, 67(6), 727-735 [cit. 2023-03-18]. ISSN 1345-8957. Dostupné z: doi:10.5650/jos.ess18008
- [33] MANNA, Kausik a Amiya KUMAR PANDA. Catanionic Surfactants: Novel Surrogates of Phospholipids. In: OHSHIMA, Hiroyuki. *Encyclopedia of Biocolloid and Biointerface*

Science 2V Set [online]. Hoboken, NJ, USA: John Wiley, 2016, 2016-09-24, s. 1020-1043 [cit. 2023-03-25]. ISBN 9781119075691. Dostupné z: doi:10.1002/9781119075691.ch83

[34] KUO, An-Tsung a Chien-Hsiang CHANG. Recent Strategies in the Development of Catanionic Vesicles. *Journal of Oleo Science* [online]. 2016, **65**(5), 377-384 [cit. 2023-04-15]. ISSN 1345-8957. Dostupné z: doi:10.5650/jos.ess15249

[35] ROZO, Annaïg J., Megan H. COX, Andrew DEVITT, Alice J. ROTHNIE a Alan D. GODDARD. Biophysical analysis of lipidic nanoparticles. *Methods* [online]. 2020, 180, 45-55 [cit. 2023-04-11]. ISSN 10462023. Dostupné z: doi:10.1016/j.ymeth.2020.05.001

[36] LIN, Ping-Chang, Stephen LIN, Paul C. WANG a Rajagopalan SRIDHAR. Techniques for physicochemical characterization of nanomaterials. *Biotechnology Advances* [online]. 2014, **32**(4), 711-726 [cit. 2023-04-11]. ISSN 07349750. Dostupné z: doi:10.1016/j.biotechadv.2013.11.006

[37] ANZINI, Pietro, Daniele REDOGLIO, Mattia ROCCO, Norberto MASCIOCCHI a Fabio FERRI. Light Scattering and Turbidimetry Techniques for the Characterization of Nanoparticles and Nanostructured Networks. *Nanomaterials* [online]. 2022, **12**(13) [cit. 2023-04-11]. ISSN 2079-4991. Dostupné z: doi:10.3390/nano12132214

[38] KASZUBA, Michael, Jason CORBETT, Fraser Mcneil WATSON a Andrew JONES. High-concentration ζ -potential measurements using light-scattering techniques. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences* [online]. 2010, 368(1927), 4439-4451 [cit. 2023-04-11]. ISSN 1364-503X. Dostupné z: doi:10.1098/rsta.2010.0175

[39] BHATTACHARJEE, Sourav. DLS and ζ -potential – What they are and what they are not?. *Journal of Controlled Release* [online]. 2016, 235, 337-351 [cit. 2023-04-11]. ISSN 01683659. Dostupné z: doi:10.1016/j.jconrel.2016.06.017

[40] ŠTERN, Petr. Současné možnosti turbidimetrie a nefelometrie. *Klinická biochemie a metabolismus* [online]. 2006, 14(35), 146-151 [cit. 2023-04-14]. Dostupné z: <http://nts.prolekare.cz/cls/odkazy/kbm0603-146.pdf>

[41] LOZANO, Neus, Aurora PINAZO, Camillo LA MESA, Lourdes PEREZ, Patrizia ANDREOZZI a Ramon PONS. Catanionic Vesicles Formed with Arginine-Based Surfactants and 1,2-Dipalmitoyl- sn -glycero-3-phosphate Monosodium Salt. *The Journal of Physical Chemistry B* [online]. 2009, 113(18), 6321-6327 [cit. 2023-01-24]. ISSN 1520-6106. Dostupné z: doi:10.1021/jp810671p

[42] JOSE, Robin, Tilesh Jayantilal PATEL, Troy Allen CATHER, Janusz GREBOWICZ, Haesook HAN, Pradip Kumar BHOWMIK, Dena Mae AGRA-KOOIJMAN a Satyendra KUMAR. Room temperature thermotropic liquid crystalline phases of catanionic surfactants derived from quaternary ammonium surfactants and bis(2-ethylhexyl)sulfosuccinate. *Journal of Colloid and Interface Science* [online]. 2013, **411**, 61-68 [cit. 2023-01-21]. ISSN 00219797. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcis.2013.08.045

- [43] MARQUES, Eduardo F., Rodrigo O. BRITO, Yujie WANG a Bruno F.B. SILVA. Thermotropic phase behavior of triple-chained cationic surfactants with varying headgroup chemistry. *Journal of Colloid and Interface Science* [online]. 2006, **294**(1), 240-247 [cit. 2023-05-18]. ISSN 00219797. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcis.2005.07.021
- [44] LOZANO, Neus, Lourdes PÉREZ, Ramon PONS a Aurora PINAZO. Diacyl glycerol arginine-based surfactants: biological and physicochemical properties of cationic formulations. *Amino Acids* [online]. 2011, **40**(2), 721-729 [cit. 2023-05-18]. ISSN 0939-4451. Dostupné z: doi:10.1007/s00726-010-0710-4
- [45] BONINCONTRO, Adalberto, Maria FALIVENE, Camillo LA MESA, Gianfranco RISULEO a Miriam RUIZ PEÑA. Dynamics of DNA Adsorption on and Release from SDS-DDAB Cat-Anionic Vesicles: a Multitechnique Study. *Langmuir* [online]. 2008, **24**(5), 1973-1978 [cit. 2023-05-18]. ISSN 0743-7463. Dostupné z: doi:10.1021/la701730h
- [46] HAVLÍKOVÁ, Martina, Jana SZABOVÁ, Ludmila MRAVCOVÁ, Tereza VENEROVÁ, Chien-Hsiang CHANG, Miloslav PEKAŘ, Adam JUGL a Filip MRAVEC. Cholesterol Effect on Membrane Properties of Cationic Ion Pair Amphiphile Vesicles at Different Temperatures. *Langmuir* [online]. 2021, **37**(7), 2436-2444 [cit. 2023-05-18]. ISSN 0743-7463. Dostupné z: doi:10.1021/acs.langmuir.0c03504
- [47] HAVLÍKOVÁ, Martina, Adam JUGL, Martin KADLEC, Jiří SMILEK, Chien-Hsiang CHANG, Miloslav PEKAŘ a Filip MRAVEC. Cationic vesicles and their complexes with hyaluronan – A way how to tailor physicochemical properties via ionic strength. *Journal of Molecular Liquids* [online]. 2023, **371** [cit. 2023-05-18]. ISSN 01677322. Dostupné z: doi:10.1016/j.molliq.2022.121089
- [48] DANAEI, M., M. DEHGHANKHOLD, S. ATAEI, F. HASANZADEH DAVARANI, R. JAVANMARD, A. DOKHANI, S. KHORASANI a M. MOZAFARI. Impact of Particle Size and Polydispersity Index on the Clinical Applications of Lipidic Nanocarrier Systems. *Pharmaceutics* [online]. 2018, **10**(2) [cit. 2023-05-09]. ISSN 1999-4923. Dostupné z: doi:10.3390/pharmaceutics10020057

8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

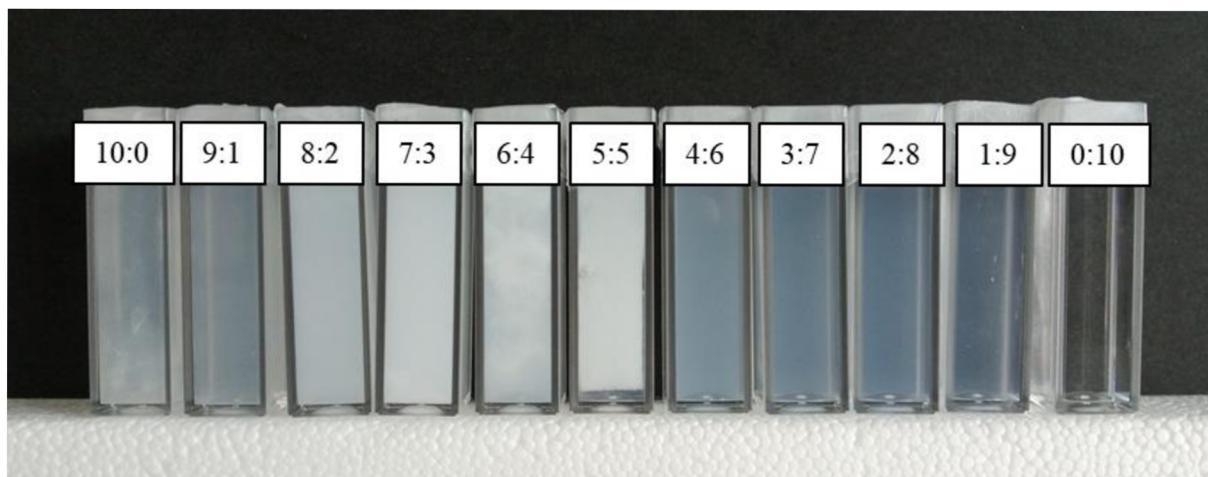
8.1 Seznam zkratek

CMC	kritická micelární koncentrace
DLS	dynamický rozptyl světla
DMSAB	dimetyldimyristylamonium bromid
DMSA-DS	dimetyldimyristylamonium dodecylsulfát
DODAB	dimetyldioktadecylamonium bromid
DODAC	dimetyldioktadecylamonium chlorid
DODA-DS	dimetyldioktadecylamonium dodecylsulfát
DODA-DS	dimetyldioktadecylamonium dodecylsulfát
double-IPA	dvouřetězcový iontový amfifilní pár
DPAB	dimetyldipalmitylamonium bromid
DPA-DS	dimetyldipalmitylamonium dodecylsulfát
DXDAB	dialkyldimethylamonium bromid
ELS	elektroforetický rozptyl světla
HTMAB	hexydecyltrimethylamonium bromid
HTMA-DS	hexydecyltrimethylamonium dodecylsulfát
IPA	iontový amfifilní pár
NaCl	chlorid sodný
PAL	povrchově aktivní látka (tenzid)
SDS	dodecylsírán sodný
triple-IPA	třířetězcový iontový amfifilní pár

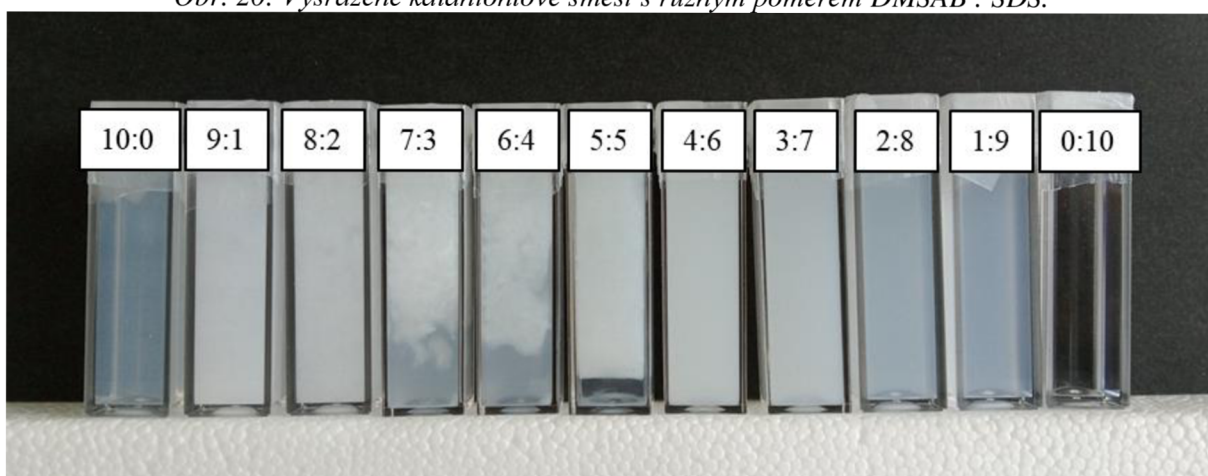
8.2 Seznam symbolů

a_0	plocha hydrofilní části tenzidu na fázovém rozhraní
d	velikost částic
I	intenzita rozptýleného světla
l_c	délka hydrofobní části tenzidu
p	kritický sbalovací parametr
t	čas
v	objem hydrofobní části tenzidu
ζ	zeta potenciál

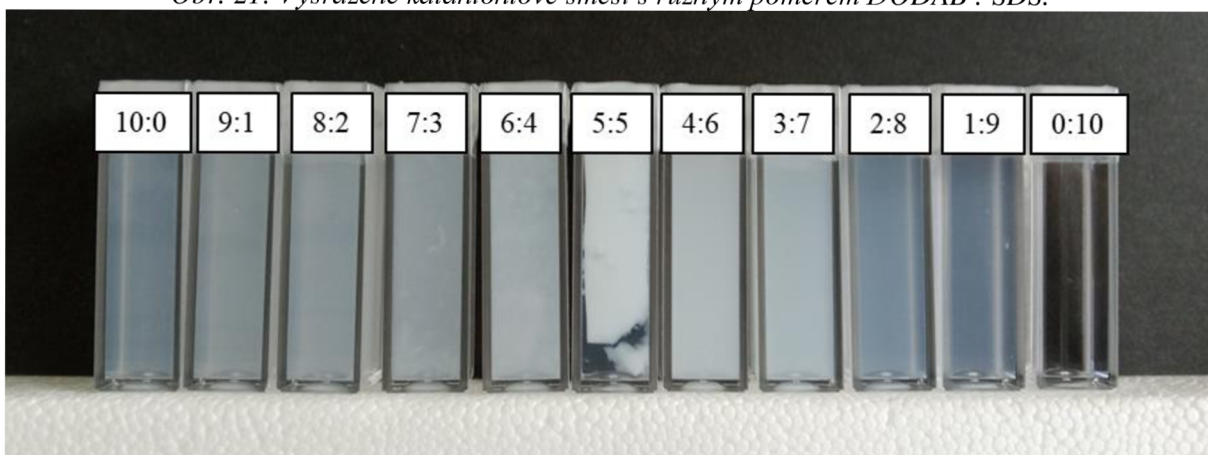
9 PŘÍLOHY



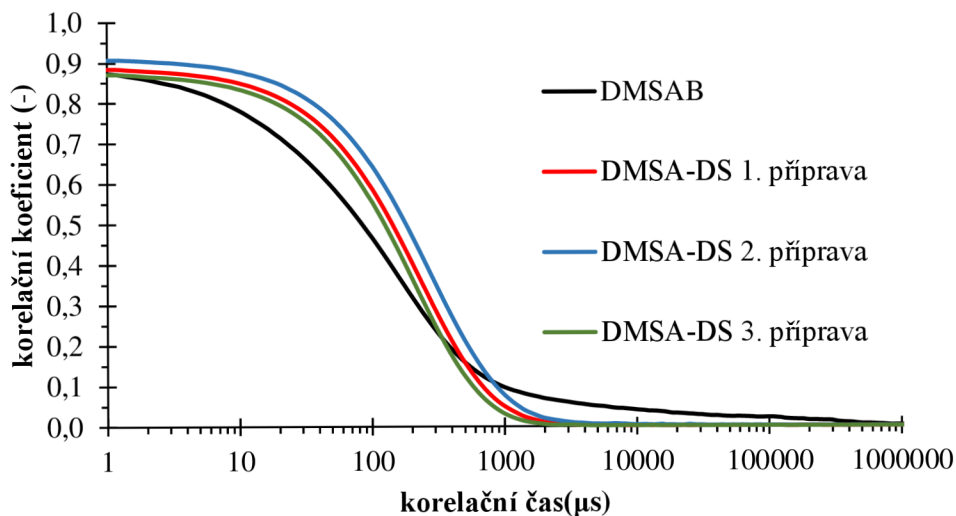
Obr. 20: Vysrážené kataniontové směsi s různým poměrem DMSAB : SDS.



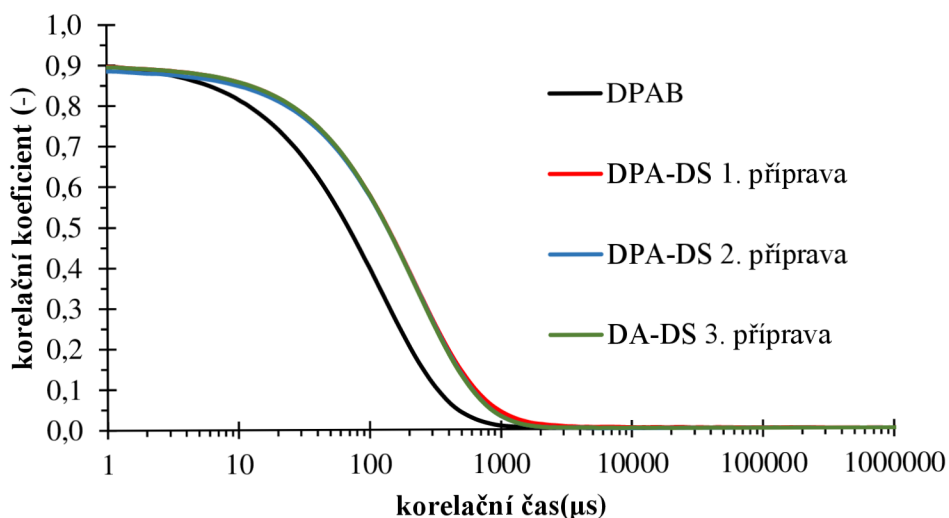
Obr. 21: Vysrážené kataniontové směsi s různým poměrem DODAB : SDS.



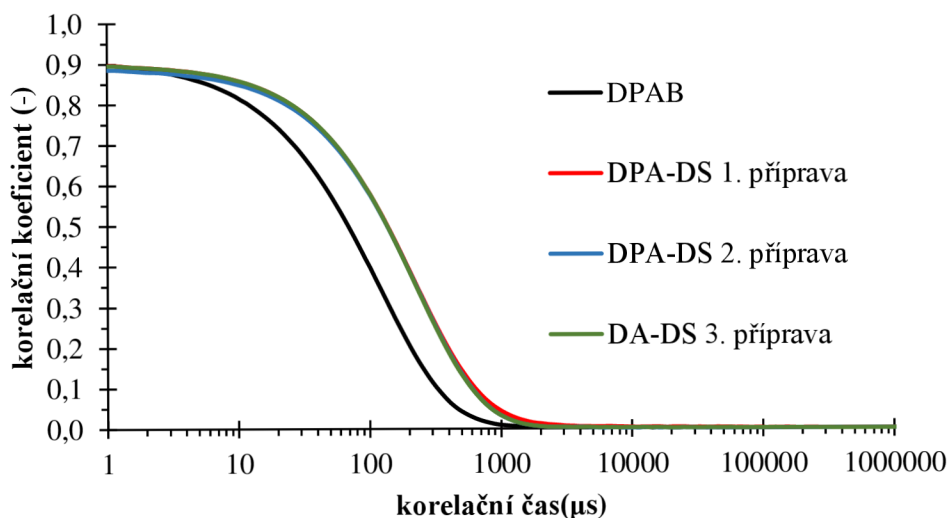
Obr. 22: Vysrážené kataniontové směsi s různým poměrem DODAC : SDS.



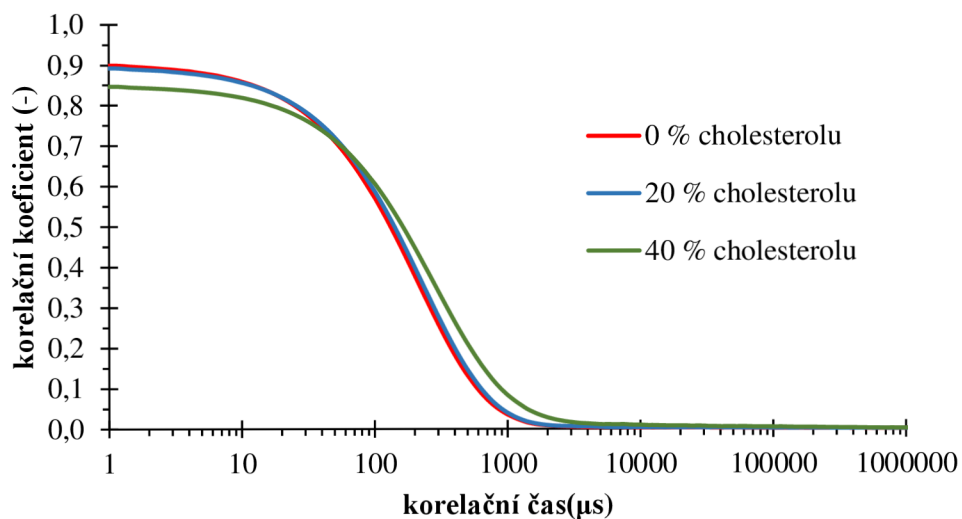
Obr. 23: Korelační křivky pro DMSA-DS a DMSAB bez stabilizace.



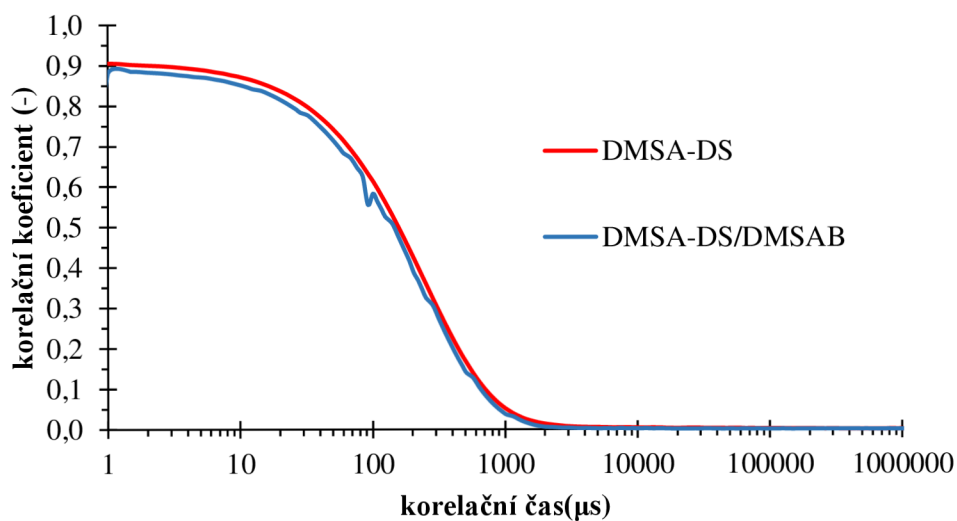
Obr. 24: Korelační křivky pro DPA-DS a DPAB bez stabilizace.



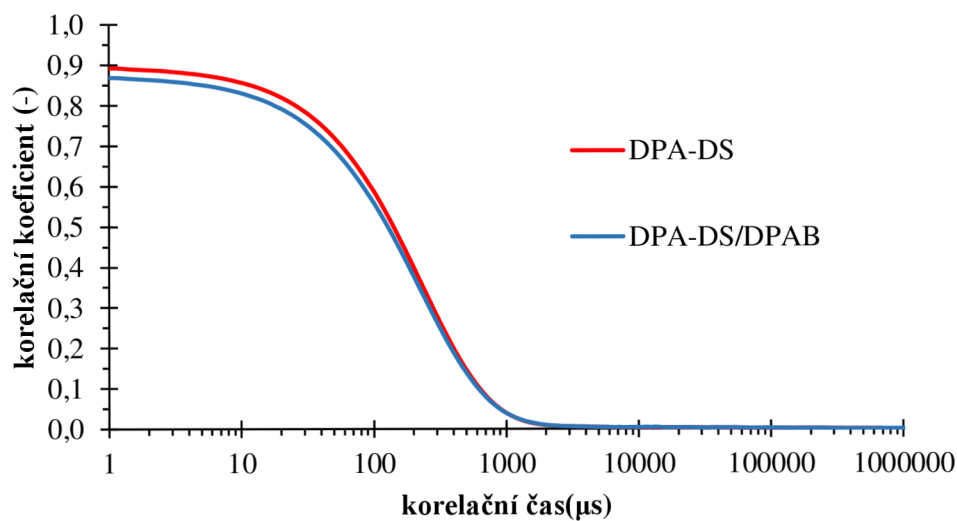
Obr. 25 : Korelační křivky pro DMSA-DS s koncentrací cholesterolu 0, 20 a 40 mol. %.



Obr. 26: Korelační křivky pro DPA-DS s koncentrací cholesterolu 0, 20 a 40 mol. %.



Obr. 27: Korelační křivka pro DMSA-DS a DMSA-DS/DMSAB s 20 mol. % cholesterolu.



Obr. 28: Korelační křivka pro DPA-DS a DPA-DS/DPAB s 20 mol. % cholesterolu.