

Οργανογέλες Λεκιθίνης ως Φορείς Φαρμακευτικών ή Καλλυντικών Ουσιών

Σπυρίδων Αβραμιώτης¹, Ευαγγελία Πρωτόπαπα² και Άρης Ξενάκης¹

1. Μονάδα Βιομηχανικής Ενζυμολογίας, Ινστιτούτο Βιολογικών Ερευνών και Βιοτεχνολογίας, Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών, Βασ Κωνσταντίνου 48, 11635 Αθήνα, Ελλάς

2. Τμήμα Αισθητικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Αθηνών, Αγ Σπυρίδωνος, Αιγάλεω, Αθήνα, Ελλάς

Λέξεις κλειδιά: Οργανογέλες λεκιθίνης, φαρμακευτικά προϊόντα, καλλυντικά

Key words: Lecithin organogels, pharmaceutical products, cosmetics

Δεκτή για δημοσίευση: 5 Απριλίου 2005

Π ε ρ ί λ η ψ η Στην εργασία αυτή εξετάζεται η δυνατότητα παρασκευής οργανογελών λεκιθίνης και χρησιμοποίησής τους ως φορείς φαρμακευτικών ουσιών. Παρασκευάστηκαν οργανογέλες λεκιθίνης από σόγια, χρησιμοποιώντας ως οργανική φάση ισοοκτάνιο, παλμιτικό ισοπροπύλιο και μυριστικό ισοπροπύλιο. Οι οργανογέλες σχηματίζονται, όταν προστίθεται μικρή ποσότητα ύδατος σε διάλυμα λεκιθίνης/οργανικού διαλύτη και είναι διαυγείς με υψηλό ιξώδες που φθάνει τα 1000 Pa s. Μελετήθηκαν τα διαγράμματα φάσεων των συστημάτων από τα οποία φαίνεται ότι το ποσοστό του περιεχομένου ύδατος, το οποίο κυμαίνεται από 0,15-1,15% v/v, εξαρτάται από την περιεκτικότητά τους σε λεκιθίνη και από το είδος του οργανικού διαλύτη που χρησιμοποιείται. Προσδιορίστηκε η ικανότητα των οργανογελών λεκιθίνης να διαλυτοποιούν μόρια με φαρμακευτική δράση, όπως οι ξανθίνες, καφεΐνη, θεοφυλλίνη και θεοβρωμίνη.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα μικρογαλακτώματα ύδατος σε έλαιο (w/o) είναι ειδική κατηγορία κολλοειδών συστημάτων τα οποία χαρακτηρίζονται από τη σύγχρονη πα-

ρουσία δύο ξεχωριστών μικροφάσεων, μιας υδατικής και μιας οργανικής, σε ένα διάλυμα μακροσκοπικά ομογενές και θερμοδυναμικά σταθερό (1). Η σταθεροποίηση των μικροφάσεων αυτών που χαρακτηρίζονται από τελείως διαφορετικές ιδιότητες, επιτυγχάνεται με την παρουσία των επιφανειοενεργών μορίων, τα οποία περιβάλλουν τη διεσπαρμένη υδατική φάση με τρόπο ώστε να αποφεύγεται η επαφή της με τη συνεχή οργανική φάση. Μία από τις ιδιότητες αυτών των συστημάτων είναι ότι παρέχουν τη δυνατότητα σύγχρονης διαλυτοποίησης ουσιών με διαφορετικές ιδιότητες, εξασφαλίζοντας ταυτόχρονα πολύ μεγάλη επιφάνεια επαφής μεταξύ τους (2,3).

Βιολογικά ενεργές ουσίες, όπως ένζυμα, φαρμακευτικά δραστικές ουσίες, βιοπολυμερή, κ α , είναι δυνατόν να εγκλωβιστούν σε τέτοια συστήματα υπερμοριακών σχηματισμών (4,5).

Με τον γενικότερο όρο γέλες χαρακτηρίζονται τα στερεά ή ημιστερεά συστήματα που αποτελούνται από δύο τουλάχιστον συστατικά. Η μαζα τους είναι συμπυκνωμένη και αποτελείται κατα σημαντικό ποσοστό από ένα υγρό. Εάν το υγρό είναι ύδωρ, ονομάζονται υδρογέλες, ενώ αν είναι, έλαιο ονομάζονται οργανογέλες.

Send reprint requests to Dr S Avramiotis, Institute of Biological Research and Biotechnology, The National Hellenic Research Foundation, 48, Vas Constantinou Ave, 11635, Athens, Greece

Οι οργανογελές λεκιθίνης είναι μικρογαλακτώματα που χαρακτηρίζονται από υψηλό ιξώδες και απόλυτη οπτική διαυγεία. Η παρασκευή τους είναι απλή και βασίζεται στην προσθήκη μικρής ποσότητας ύδατος σε διάλυμα λεκιθίνης σε μη πολικό διαλύτη. Αποτέλεσμα είναι η δημιουργία οργανογελής με μεγάλο ιξώδες, ακόμη και πολύ υψηλότερο από 100 Pa s (10^3 poise). Οι οργανογελές του τύπου αυτού διατηρούν το υψηλό ιξώδες μέχρι τους 40 °C. Σε μεγαλύτερες θερμοκρασίες περνούν σε υγρή μορφή (6).

Αξιοσημείωτη είναι η ιδιότητα οργανογελής λεκιθίνης να εγκλωβίζει στο λιποφιλό ή στο υδροφιλό περιβάλλον της διάφορα μόρια μικρού ή μεγάλου μοριακού βάρους. Μεταξύ των διαλυτών που μπορεί να χρησιμοποιηθούν για την παρασκευή τέτοιων οργανογελών είναι οι εστερες των λιπαρών οξέων, όπως ο παλμιτικός ισοπροπυλεστερας και ο μυριστικός ισοπροπυλεστερας, οι οποίοι παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον στο πεδίο των φαρμακευτικών εφαρμογών (7).

Η έρευνα στο πεδίο της φυσικοχημείας των μικκυλιακών αυτών συστημάτων εξελίσσεται ταχέως τα τελευταία χρόνια, έτσι ώστε, πέρα από την προοδόν που έχει συντελεστεί σε θέματα βασικής έρευνας (δόμες, κινητική αντιδράσεων, μηχανισμοί σε διαμερισματοποιημένο μικροπεριβάλλον, κ.α.), να υπάρχει και σημαντική προοδός στον τομέα των εφαρμογών (8,9). Μία από τις προτεινόμενες βιοιατρικές εφαρμογές είναι η χρήση του υδατινού πυρήνα μικρογαλακτωμάτων για μικροεγκλείσιμο διαφόρων ουσιών, όπως φάρμακα, εμβόλια, πρωτεΐνες, καθώς και ενζύμα (10-12). Με την τεχνική αυτή οι μικροφασείς μπορούν να μετατραπούν σε μικροκαψούλες, επιτυγχάνοντας κατευθυνόμενη εκλεκτική εναπόθεση των ουσιών σε συγκεκριμένα όργανα. Σε αυτές τις εφαρμογές η χρήση φυσικών επιφανειοενεργών μορίων θεωρείται επιβεβλημένη. Στις περιπτώσεις αυτές, η μελέτη εστιάζεται κυρίως στη χρήση φυσικών επιφανειοενεργών μορίων, όπως είναι η λεκιθίνη και άλλων παρομοίων φωσφολιποειδών, λόγω της βιοσυμβατότητας των μορίων αυτών, αλλά και από το γεγονός ότι αυτές οι ενώσεις ήδη χρησιμοποιούνται εκτεταμένα σε κλασικές συνταγές φαρμακευτικών και καλλυντικών σκευασμάτων (13,14). Σύμφωνα με δημοσιευμένα αποτελέσματα, πρωτεΐνες που τροποποιούνται με προσδεση υδροφοβών ομάδων (φωσφολιπιδία, λιπαρα οξέα) μπορεί να αλ-

ληλεπιδρασούν και να διαπεράσουν βιολογικές μεμβράνες (15,16). Τα αντιστρόφα μικκυλία σχηματισμένα με λεκιθίνη, είναι δυνατόν να αποτελούν φορείς ουσιών (π.χ. πρωτεϊνών, φαρμάκων), που, αλληλεπιδρώντας με τις βιολογικές μεμβράνες, επιτρέπουν τη διείσδυση αυτών των ουσιών και τη δράση τους εκλεκτικά σε κύτταρα στόχους (17,18).

Στη συγκεκριμένη εργασία, παρασκευάστηκαν και μελετήθηκαν συστήματα οργανογελών λεκιθίνης από σογία, με τρεις οργανικούς διαλύτες: ισοοκτανίο, ισοπροπυλεστερα του παλμιτικού οξέος (IPP) και ισοπροπυλεστερα του μυριστικού οξέος (IPM). Στη συνέχεια διαλυτοποιήθηκαν (μικροεγκλωβισμός) στα συστήματα αυτά οι φαρμακευτικές ουσίες καφεΐνη, θεοφυλλίνη και θεοβρωμίνη.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Στην εργασία αυτή χρησιμοποιήθηκαν οι ακόλουθες ουσίες:

- Λεκιθίνη (1,2-διακυλ-sn-γλυκερο-3-φωσφατιδυλοχολίνη) από σογία, Erikeron 200 της LUKAS MEYER, Hamburg, Germany, 92-93% σε φωσφατιδυλοχολίνη
- Ισοοκτανίο (2,2,4-τριμεθυλο-πεντανίο) της MERCK, καθαρότητας 99%
- Ισοπροπυλεστερας του παλμιτικού οξέος της FLUKA, καθαρότητας 90%
- Ισοπροπυλεστερας του μυριστικού οξέος της FLUKA, καθαρότητας 95%
- Καφεΐνη ανυδρός, USP, 99%, SIGMA
- Θεοφυλλίνη ανυδρός, 99%, SIGMA
- Θεοβρωμίνη, 99%, SIGMA
- Απιονισμένο ύδωρ από συσκευή Milli Q Plus της Millipore

Τα φασμάτα και οι μετρήσεις ορατού-υπεριώδους φωτός ελήφθησαν με θερμοστατούμενο φωτομετρο διπλής δεσμής Hitachi U-2000.

Η μέθοδος παρασκευής μικρογαλακτώματος οργανογελής λεκιθίνης/οργανικού διαλύτη/ύδατος είναι η ακολουθία Παρασκευάζονται διαλύματα λεκιθίνης (Erikeron 200) σε ισοοκτανίο 5-25% w/w. Η διαλυτοποίηση επιτυγχάνεται με αναδευση και με αύξηση της θερμοκρασίας στους 45 °C περίπου. Η οργανογελή σχηματίζεται με προσθήκη καταλληλής ποσότητας ύδατος. Για τυπικό μικρογαλακτώμα αναμειγνύονται 1 ml διαλύματος λεκιθίνης/ισοοκτανίου 5%w/w και 0,0025 ml ύδατος.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Παρασκευή οργανογελων - Φυσικοχημικα χαρακτηριστικα

Πίνακας 1

Ελαχιστες και μεγαistes ποσοτητες υδατος με τις οποιες σχηματιζονται οργανογελες λεκιθινης σε οργανικους διαλυτες

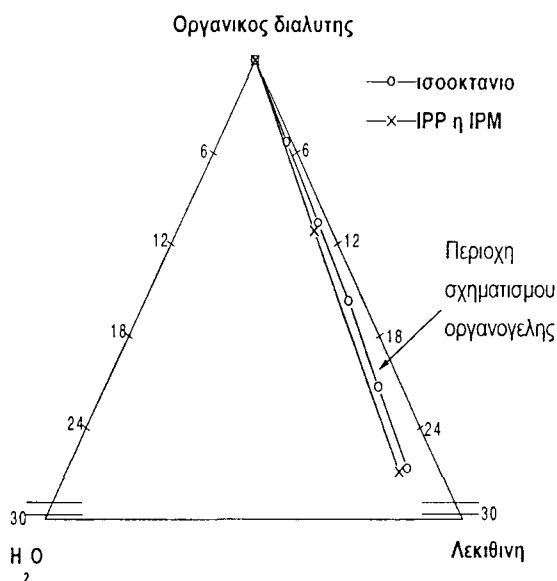
% w/w λεκιθινη/ισοοκτανιο	% w/w H ₂ O σε gel ελαχιστο	% w/w H ₂ O σε gel μεγιστο
5	0,21	0,36
10	0,49	0,71
15	0,57	0,85
20	0,71	1,68
25	0,99	2,23
%w/w Lecithin/IPP		
5	0,40	0,74
10	1,04	1,27
25	1,56	2,51
%w/w Lecithin/IPM		
5	0,24	0,70
10	0,95	1,25
25	1,50	2,48

aaa IPP=isopropyl palmitate (ισοπροπυλεστερας του παλμιτικού οξεος)

IPM=isopropyl myristate (ισοπροπυλεστερας του μυριστικού οξεος)

Αρχικα παρασκευαστηκαν διαφορα διαλυματα λεκιθινης (5%, 10% και 25% w/w) στους τρεις οργανικους διαλυτες ισοοκτανιο, ισοπροπυλεστερα του παλμιτικού οξεος (IPP) και ισοπροπυλεστερα του μυριστικού οξεος (IPM) Γενικα παρατηρηθη ο σχηματισμος πηκτωματος (gel) υψηλου ιξωδους, οταν σε διαλυμα λεκιθινης στον οργανικο διαλυτη προστιθεται μια πολυ μικρη και κρισιμη ποσοτητα υδατος. Οπως φαινεται στον Πίνακα 1, οι ποσοτητες του υδατος κυμαινουνται απο 0,15 μεχρι 0,50% v/v στο συστημα λεκιθινη/ισοοκτανιο, απο 0,35 μεχρι 1,15% v/v στο συστημα λεκιθινη/IPP και απο 0,20 μεχρι 1,15% v/v στο συστημα λεκιθινη/IPM. Επιπλεον, η μεγαιση ποσοτητα του υδατος εξαρταται και απο την περιεκτικοτητα των διαλυματων σε λεκιθινη. Με προσθηκη μεγαλυτερης ποσοτητας υδατος, δηλαδη επανω απο τα ορια που παρουσιαζονται στον Πίνακα 1, το πηκτωμα παυει να υπαρχει και το συστημα διαχωριζεται σε δυο φασεις. Το φαινομενο εχει παρατηρηθει και σε διαλυματα λεκιθινης απο σογια σε αλλους οργανικους διαλυτες

και η μεγαιση ποσοτητα του υδατος για την οποια το πηκτωμα εξακολουθει να υφισταται εξαρταται απο τον χρησιμοποιουμενο καθε φορα διαλυτη (για διαλυμα λεκιθινης/κυκλοεξανιου φθανει σε επταπλασια ποσοτητα απο ο τι στο διαλυμα λεκιθινης/ισοοκτανιου) (19)). Αξιοσημειωτη ειναι η παρατηρηση οτι διαλυματα λεκιθινης ανεπαρκους καθαροτητας ως προς τη φωσφατιδυλοχολινη δεν σχηματιζουν πηκτωματα (6)



Σχημα 1 Τμημα τριγωνικου διαγραμματος φασεων του συστηματος λεκιθινης/υδατος/οργανικου διαλυτη. Στο σχημα φαινεται η περιοχη οπου εμφανιζονται συστηματα οργανογελων

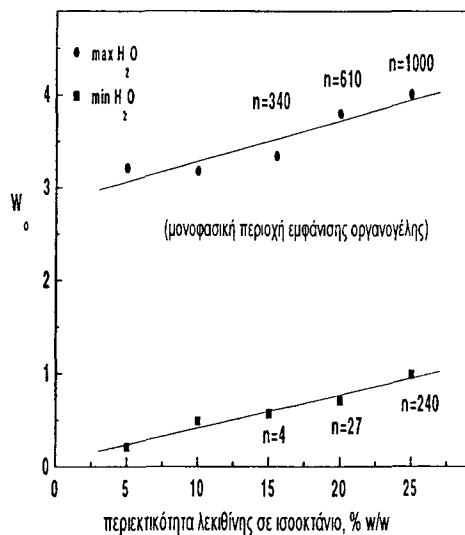
Για τη μελετη και την κατασκευη των διαγραμματος φασεων παρασκευαστηκαν οργανογελες με τη μεθοδο της δυναμικης τιτλοδοτησης (προσθηκη ολιγον κατ ολιγον ποσοτητας υδατος σε διαλυμα λεκιθινης-οργανικου διαλυτη ορισμενης συγκεντρωσης) και παρατηρησης της σταθεροτητας των φασεων. Επισης παρασκευαστηκε σειρα οργανογελων με συνθεση κοντα στις περιοχες αλλαγης φασεων, τα οποια σφραγιστηκαν και τεθηκαν σε παρακολουθηση (στατικη τιτλοδοτηση). Στο Σχημα 1 παρουσιαζεται τμημα του τριγωνικου διαγραμματος φασεων που κατασκευαστηκε και για τα τρια συστημα για το συστημα λεκιθινης/ισοοκτανιου/υδατος για το συστημα λεκιθινης/IPP/υδατος και για το συστημα λεκιθινης/IPM/υδατος.

Στο Σχημα 1 φαινεται η περιοχη του διαγραμματος οπου εμφανιζονται σταθερα συστηματα

οργανογελών. Στο διάγραμμα φάσεων μπορεί να παρατηρηθεί η διαφορά στη συμπεριφορά των συστημάτων που παρασκευάστηκαν με οργανική φάση το ισοοκτάνιο και των δύο εστέρων. Η ποσότητα ύδατος που ενσωματώνεται στο σύστημα με ισοοκτάνιο είναι σημαντικά μικρότερη και φθάνει περίπου στο 1/3 των αντίστοιχων συστημάτων με τους εστέρες.

Σημαντική είναι η παρατήρηση ως προς το ιξώδες των σχηματιζόμενων οργανογελών. Το σύστημα λεκιθίνης/ισοοκτανίου σχηματίζει οργανογέλη με το μεγαλύτερο ιξώδες, ενώ το σύστημα λεκιθίνης/IPP σχηματίζει οργανογέλη με το μικρότερο ιξώδες. Στο Σχήμα 2 παρουσιάζεται το διάγραμμα φάσης στο οποίο φαίνεται η έκταση της περιοχής και τα όρια σχηματισμού μικρογαλακτωμάτων οργανογελών υψηλού ιξώδους σε σύστημα ισοοκτανίου/λεκιθίνης/ύδατος. Πιο συγκεκριμένα εμφανίζεται η σχέση μεταξύ περιεκτικότητας σε λεκιθίνη σε συνάρτηση με το w_0 , όπου w_0 είναι ο γραμμομοριακός λόγος ύδατος και λεκιθίνης στο σύστημα:

$$W_0 = \text{H}_2\text{O}/\text{Λεκιθίνη}$$



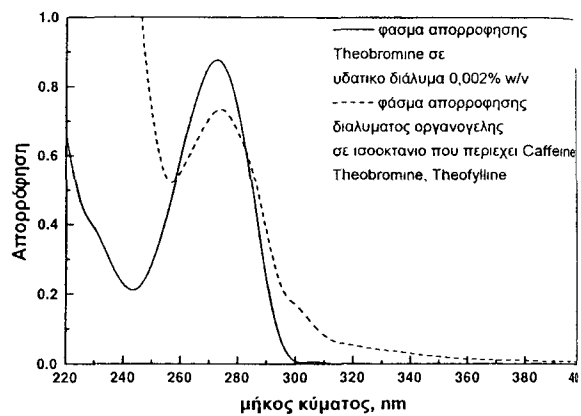
Σχήμα 2. Διάγραμμα φάσεων. Περιεκτικότητα ύδατος (w_0) σε συνάρτηση με την περιεκτικότητα σε λεκιθίνη. Οι τιμές του ιξώδους n είναι σε Pa s

Στο Σχήμα 2 επίσης φαίνονται οι τιμές ιξώδους των οργανογελών που μετρήθηκαν. Παρατηρείται τεράστια αύξηση του ιξώδους από την μικρότερη έως τη μεγαλύτερη ποσότητα ύδατος. Για συγκέντρωση λεκιθίνης 15% παρατηρείται αύξηση ιξώδους κατά 85 φορές, ενώ για συγκέν-

τρωση 25% παρατηρείται αύξηση κατά 4 περίπου φορές.

Διαλυτοποίηση στις οργανογέλες καφεΐνης, θεοφυλλίνης και θεοβρωμίνης

Οι ουσίες καφεΐνη, θεοφυλλίνη και θεοβρωμίνη, διαλύθηκαν σε ύδωρ και τα διαλύματα παρασκευάστηκαν σύμφωνα με τη βιβλιογραφία (20-21). Οι διαλυτότητες των ουσιών αυτών ήταν για την καφεΐνη 2% w/v, για τη θεοφυλλίνη 0,6% w/v και για τη θεοβρωμίνη 0,05% w/v.



Σχήμα 3: Φάσματα απορρόφησης θεοβρωμίνης σε υδατικό διάλυμα και οργανογέλης που περιέχει θεοβρωμίνη σε διάλυμα με ισοοκτάνιο

Στα διαλύματα αυτά κατεγράφησαν τα φάσματα απορρόφησης. Τα φάσματα και των τριών ουσιών ήσαν όμοια, γεγονός που αποδίδεται στην παρόμοια δομή των τριών χημικών μορίων (22). Στο Σχήμα 3, παρουσιάζεται το φάσμα απορρόφησης της θεοβρωμίνης σε υδατικό διάλυμα αυτής 0,002 % w/v (συνεχής γραμμή) το οποίο εκτείνεται από 240 έως 300 nm και παρουσιάζει μέγιστο σε μήκος κύματος $\lambda=272$ nm.

Στη συνέχεια παρασκευάστηκαν μικρογαλακτώματα οργανογελών τα οποία σχηματίστηκαν χρησιμοποιώντας τα ανωτέρω διαλύματα των δραστικών ουσιών. Οι ποσότητες της χρησιμοποιούμενης υδατικής φάσης ήσαν οι ίδιες όπως και στη περίπτωση του καθαρού ύδατος, επιτυγχάνοντας τα ίδια αποτελέσματα ως προς το ιξώδες και γενικότερα ως προς τη μορφή των μικρογαλακτωμάτων. Στο Σχήμα 3 παρουσιάζεται και το φάσμα απορρόφησης που καταγράφη-

κε σε διαλυμα μικρογαλακτώματος οργανογελής που περιείχε καφεΐνη, θεοφυλλίνη και θεοβρωμίνη σε ισοοκτάνιο (διακεκομμένη γραμμή), το οποίο εκτείνεται από 255 έως 320 nm και παρουσιάζει μέγιστο σε μήκος κύματος $\lambda=274$ nm Το αριστερο μερος του φάσματος, με ισχυρη απορροφηση από 220 έως 250 nm αποδίδεται στη παρουσία λεκιθίνης

Σταθεροτητα των παρασκευασμάτων

Μια σημαντική παράμετρος, που επίσης εξετάστηκε μετά την παρασκευή των συγκεκριμένων παρασκευασμάτων, ήταν η σταθεροτήτά τους σε συνθήκες αποθήκευσης Παρασκευάστηκαν δείγματα τα οποία σφραγίστηκαν και τέθηκαν σε παρακολούθηση για ένα περίπου έτος Επίσης μελετήθηκε η συμπεριφορά των παρασκευασμάτων σε θερμοκρασία δωματίου και θερμοκρασία ψυγείου 4 °C Οι παρατηρήσεις ήταν οι εξής Τα δείγματα δεν παρουσιάζουν καμία αλλοίωση στην εμφάνισή τους και στα φυσικοχημικά τους χαρακτηριστικά, όταν παραμείνουν σφραγισμένα Το κατάλληλο εύρος θερμοκρασιών είναι από 3 °C μέχρι 50 °C Δείγματα που τέθηκαν σε παρακολούθηση εκτός ψυγείου δεν παρουσίασαν καμία αλλοίωση Σε δείγματα που τοποθετήθηκαν σε ψυγείο κάτω από 3°C παρατηρείται διαχωρισμός φάσεων και θόλωμα Η ομοιογενής εμφάνιση επανέρχεται, όταν επανέλθει η θερμοκρασία στα ανωτέρω όρια Η δομή της οργανογέλης δεν καταστρέφεται, αλλά η εμφάνιση δεν είναι ομοιογενής Με έντονη ανακίνηση του περιέκτη η ομοιογένεια μπορεί να ανακτηθεί

Συμπερασματικά οι οργανογέλες που παρασκευάζονται με λεκιθίνη και χρησιμοποιώντας ως οργανική φάση ισοοκτάνιο, παλμιτικό ισοπροπύλιο και μυριστικό ισοπροπύλιο μπορούν να εγκλωβίσουν πρότυπες φαρμακευτικές ουσίες όπως η καφεΐνη, η θεοφυλλίνη και η θεοβρωμίνη Τα συστήματα αυτά μπορούν να μελετηθούν φασματοσκοπικά λόγω της οπτικής τους διαύγειας Η σταθεροτητα των παρασκευασμάτων ήταν σημαντική επιτρέποντας τη χρήση τους σε εφαρμογές

Lecithin Organogels as Drug and Cosmetics Carriers

S Avramiotis¹, E. Protopapa² and A. Xenakis¹

1 Institute of Biological Research and Biotechnology, The National Hellenic Research Foundation, 48, Vas Constantinou Ave, 11635, Athens, Greece

2. Faculty of Health and Caring Professions, Technological Educational Institution (TEI) of Athens, Ag Spyridonos, Egaleo, Athens, Greece

SUMMARY The preparation of lecithin organogels and their possible application as drug carriers was examined Organogels have been prepared from solutions of soyabean lecithin in the organic solvents isooctane, isopropyl palmitate and isopropyl myristate, by addition of a critical amount of water The organogels are transparent, with a high viscosity reaching 1000 Pas Their water content varies from 0.15 to 1.15% v/v and depends on the nature of the organic solvent and the lecithin concentration, as shown by the phase diagram study The capacity of the organogels to incorporate molecules with pharmacological action, such as xanthines, can be studied spectroscopically

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΠΑΡΑΠΟΜΠΕΣ

- 1 Danielson I, Lindman B The definition of microemulsions *Colloids Surf* 3: 391 (1982)
- 2 Hilhorst R, Spruijt R, Laane C, Veeger C Rules for the regulation of enzyme activity in reverse micelles as illustrated by the conversion of apolar steroids by 20- β -hydroxysteroid dehydrogenase *Eur J Biochem* 144: 459 (1984)
- 3 Ξενακίς Α Μικρογαλακτώματα I Συντομη παρουσίαση *Rev Clin Pharmacol Pharmakokin* 8: 15 (1990)
- 4 Luisi P L Enzymes hosted in reverse micelles in hydrocarbon solution *Angew Chem Int Ed* 24: 439 (1985)
- 5 Ξενακίς Α Μικρογαλακτώματα II Ένα νέο περιβάλλον για ενζυμικές μελέτες *Rev Clin Pharmacol Pharmakokin* 8: 25 (1990)
- 6 Scartazzini R, Luisi P L Organogels from lecithins *J Phys Chem* 92: 829 (1988)
- 7 Hatzara E, Karatza E, Avramiotis S, Xenakis A Spectroscopic mobility probing studies of lecithin organogels *Progr Colloid Polym Sci* 123: 94 (2004)
- 8 Avramiotis S, Xenakis A, Lianos P Trypsin in lecithin based w/o microemulsions Fluorescence and enzyme activity studies *Biocatal Biotransform* 14: 299-316 (1997)
- 9 Protopapa E E, Xenakis A, Avramiotis S, Prodromou E V, Koukaki S M The epilatory effects of trypsin on human skin, applied via lecithin reverse micelles *Epithoor Klin Farmakol Farmakokin*, 12: 101 (1998)
- 10 Nixon J R (ed) Microencapsulation Marcel Dekker, New York, 1976

- 11 Avramiotis S, Cazianis C T, Xenakis A Interfacial properties of lecithin microemulsions in the presence of lipase A membrane spin-probe study *Langmuir* 15 2375 (1999)
- 12 Paolino D, Vevtura C A, Nistico S, Puglisi G, Fresta M Lecithin microemulsions for the topical administration of ketoprofen percutaneous adsorption through human skin and in vivo human skin tolerability *Inter J Pharmaceutics* 244 21 (2002)
- 13 Kahlweit M, Busse G, Faulhaber B, Eib H Preparing non toxic microemulsions *Langmuir* 11 4185 (1995)
- 14 Dreher F, Walde P, Luisi P L, P Elsner P Human skin irritation of a lecithin microemulsion gel and of lecithin liposomes *Skin Pharmacol* 9 124 (1996)
- 15 Rotman S S Passage of proteins through membranes *Am J Physiol* 238 G391 (1980)
- 16 Dreher F, Walde P, Walther P, Wehrli E Interaction of a lecithin microemulsion with human *stratum corneum* and its effect on transdermal transport *J Controlled Release* 45 131 (1997)
- 17 Willman H, Walde P, Luisi P L, Gazzaniga A, F Stroppolo F Lecithin organogel as a matrix for transdermal transport of drugs *J Pharm Sci* 81 871 (1992)
- 18 Protopapa E E, Gaissert H, Xenakis A, Avramiotis S, Stavrianeas N G, Sekeris C E, Schenkel J, Alonso A The Effect of proteolytic enzymes on skin hair follicles of transgenic mice expressing the lacZ-proteins in cells of the bulge region *J Eur Acad Dermatol Venereology* 13 28 (1999)
- 19 Capitani D, Segre A L, Sparapani R, Giustini M, Scartazzini R, Luisi P L Lecithin microemulsion gels A NMR study of molecular mobility based on the line widths *Langmuir* 7 250 (1991)
- 20 USP-NF (1980)
- 21 MARTINDALE The extra Pharmacopoeia, 27th ed 1977
- 22 Merck index (1983)
- 23 Kefala V, Anthouli F, Protopapa E The use of bleaching agents in the management of melasma *Rev Clin Pharmacol Pharmacokinet* 17 (3) 159-163 (2003)
- 24 Kefala V, Kiriagalaki P In vivo evaluation of the effect of cycloheximide complex glycolic acid 50% in skin elasticity and skin humidity *Rev Clin Pharmacol Pharmacokinet* 16 (3S) 203-205 (2001)
- 25 Kefala V, Kiriagalaki P In vivo evaluation on sebum secretion in people developing two kinds of acne vulgaris A comedonal acne and B cosmetic acne *Rev Clin Pharmacol Pharmacokinet* 16 179 182 (2002)
- 26 Kefala V, Kostara I, Karageorgiou H, Varonos D D In vitro model for evaluation of medicines phototoxic activity *Rev Clin Pharmacol Pharmacokinet* 14 43-47 (2000)
- 27 Πρωτοπαπα Ε Ε, Χαριζανη Φ Ο, Πλεσσας Σ Τ, Επίδραση αυξητικών παραγόντων ορμονών και κυτταροκινών στον πολλαπλασιασμό και στην αποπτωση των αναγεννητικών κυττάρων του θυλακού της τρίχας *Επιθ Κλιν Φαρμακολ Φαρμακokin* 2 73-76 (2003)