



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΠΡΟΝΟΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ**

**Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών  
«Προχωρημένη Αισθητική και Κοσμητολογία: Ανάπτυξη, Ποιοτικός Έλεγχος και Ασφάλεια  
νέων καλλυντικών προϊόντων»**

**Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία  
Σχεδιασμός εγκλωβισμού της κανναβιδιόλης σε μικκύλια και μελέτη μεταφοράς σε μεμβράνες  
με στόχο την ανάπτυξη νέων αντιοξειδωτικών καλλυντικοτεχνικών μορφών**

**Της**

**Μαρίας Φαφαλιού**

**A.M 202119**

Παρουσιάστηκε για τη μερική εκπλήρωση των υποχρεώσεων για την απονομή του  
Μεταπτυχιακού Τίτλου Σπουδών στο Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών  
του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής

**Επιβλέπων: Απόστολος Παπαδόπουλος**

**ΑΘΗΝΑ, 2022**



**UNIVERSITY OF WEST ATTICA  
SCHOOL OF HEALTH AND CARE SCIENCES  
DEPARTMENT OF BIOMEDICAL SCIENCES**

**Master of Science in  
Advanced Aesthetics and Cosmetic Science: Development-Quality Control and Safety of new  
cosmetic products**

**Master Thesis  
Cannabidiol encapsulation design in micelles and membrane transport study for the development of new  
antioxidant cosmetic formulations**

**By**

**Maria Fafaliou**

**202119**

Presented for the partial fulfillment of the obligations for the award of the  
Master's Degree in the Department of Biomedical Sciences  
of the University of West Attica

**Supervisor: Apostolos Papadopoulos**

**Athens, 2022**

**Σχεδιασμός εγκλωβισμού της κανναβιδιόλης σε μικκύλια και μελέτη μεταφοράς σε μεμβράνες με στόχο την ανάπτυξη νέων αντιοξειδωτικών καλλυντικοτεχνικών μορφών**

**Μέλη Εξεταστικής Επιτροπής συμπεριλαμβανομένου και του Εισηγητή**

Η μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία εξετάστηκε επιτυχώς από την κάτωθι Εξεταστική Επιτροπή:

<b>A/a</b>	<b>ΟΝΟΜΑ ΕΠΩΝΥΜΟ</b>	<b>ΒΑΘΜΙΑΔΑ/ΔΙΟΤΗΤΑ</b>	<b>ΨΗΦΙΑΚΗ ΥΠΟΓΡΑΦΗ</b>
1	ΒΑΡΒΑΡΕΣΟΥ ΑΘΑΝΑΣΙΑ	ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ/ ΦΑΡΜΑΚΟΠΟΙΟΣ	
2	ΠΑΠΑΓΕΩΡΓΙΟΥ ΣΠΥΡΙΔΩΝ	ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ/ ΧΗΜΙΚΟΣ	
3	ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΣ ΑΠΟΣΤΟΛΟΣ	ΛΕΚΤΟΡΑΣ/ ΧΗΜΙΚΟΣ	

## ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Μαρία Φαφαλιού του Ιωάννη, με αριθμό μητρώου 202119 φοιτητής/τρια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών “Προχωρημένη Αισθητική και Κοσμητολογία: Ανάπτυξη, Ποιοτικός Έλεγχος και Ασφάλεια νέων καλλυντικών προϊόντων» του Τμήματος Βιοϊατρικών επιστημών .της Σχολής Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της μεταπτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της, είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος.

Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Η Δηλούσα

**\* Μαρία Φαφαλιού /Μεταπτυχιακή φοιτήτρια**

**Ψηφιακή Υπογραφή Επιβλέποντα**  
(Υπογραφή)

Όλα τα δικαιώματα διατηρούνται

Copyright © 2022 University of West Attica

All rights reserved



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

**Σχεδιασμός εγκλωβισμού της κανναβιδιόλης σε μικκύλια και μελέτη μεταφοράς σε μεμβράνες με στόχο την ανάπτυξη νέων αντιοξειδωτικών καλλυντικοτεχνικών μορφών**

Μαρία Φαφαλιού

Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών

Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής,

### *Περίληψη*

*Οι ελεύθερες ρίζες είναι άτομα ή μόρια με ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο σθένους. Σε κυτταρικό επίπεδο δημιουργούνται κυρίως από την αλληλεπίδραση της UV ακτινοβολίας. Το οξειδωτικό στρες που προκαλείται από την ανισορροπία μεταξύ των ελεύθερων ριζών και των αντιοξειδωτικών παραγόντων, εμπλέκεται στην εμφάνιση διαφόρων παθολογικών καταστάσεων του δέρματος, μεταξύ των οποίων είναι η πρόωγη γήρανση και οι φλεγμονώδεις παθήσεις. Η CBD είναι μια ελεύθερη ρίζα μικρής δραστηριότητας και αδρανοποιεί τις ελεύθερες ρίζες του περιβάλλοντος και τις δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS) και συμβάλλει στη διατήρηση της ισορροπίας του οξειδωτικού στρες. Η αντιοξειδωτική δράση της CBD είναι ισχυρή όταν αυτή βρίσκεται στο χώρο των κυτταρικών μεμβρανών, επειδή αποτρέπει την οξείδωση των PUFA's που είναι δομικά στοιχεία του κυττάρου. Επειδή η διαδερμική απορρόφηση της CBD είναι πολύ χαμηλή λόγω της ελάχιστης διαλυτότητας της στο νερό, ως μέσα εγκλωβισμού και μεταφοράς της CBD στα κυτταρικά διαμερίσματα και στα βαθύτερα στρώματα του δέρματος μπορούν να χρησιμοποιηθούν λιποσώματα. Εφόσον η CBD εγκλωβίζεται στο λιπόφιλο χώρο των λιποσωμάτων κατά την σύντηξη της με το κύτταρο, ενσωματώνεται στην κυτταρική μεμβράνη και προστατεύει τα δομικά μέρη της από την οξείδωση.*

**Λέξεις κλειδιά:** CBD, κανναβιδιόλη, λιποσώματα, αντιγήρανση, αντιοξειδωτικό, εγκλωβισμός CBD, μικκύλια

## **ABSTRACT**

### **Cannabidiol encapsulation design in micelles and membrane transport study for the development of new antioxidant cosmetic formulations**

**Maria Fafaliou**

Department of Biomedical Sciences

University of West Attica, 2022

Free radicals are atoms or molecules with an unpaired valence electron. At the cellular level they are created mainly by the interaction of UV radiation. Oxidative stress caused by the imbalance between free radicals and antioxidants. It is involved in the appearance of various pathological conditions of the skin, such as premature aging and inflammatory diseases. CBD is a low-activity free radical that inactivates environmental free radicals and reactive oxygen species (ROS) and helps maintain the balance of oxidative stress. The antioxidant activity of CBD is strong when it is present in the cell membrane space, because it prevents the oxidation of PUFA's which are structural elements of the cell. Because the transdermal absorption of CBD is very low due to its minimal solubility in water, liposomes can be used as a means of encapsulating and transporting CBD to the cell compartments and deeper layers of the skin. Since CBD is trapped in the lipophilic space of liposomes during its fusion with the cell, it integrates into the cell membrane and protects its structural parts from oxidation.

**Keywords:** CBD, cannabidiol, liposomes, anti-aging, antioxidant, CBD encapsulation, micelles

## **Ευχαριστίες**

Ευχαριστώ θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή κ. Απόστολο Παπαδόπουλο για τη βοήθεια, τη στήριξη και την πολύτιμη καθοδήγηση που μου προσέφερε σε όλη τα στάδια της εκπόνησης της παρούσας εργασίας.



## **Βιβλιογραφικό CV**

### **Μαρία Φαφαλιού**

Μεταπτυχιακός Τίτλος Σπουδών

«Προχωρημένη Αισθητική και Κοσμητολογία: Ανάπτυξη, Ποιοτικός Έλεγχος και Ασφάλεια νέων καλλυντικών προϊόντων»

**Σχεδιασμός εγκλωβισμού της κανναβιδιόλης σε μικκύλια και μελέτη μεταφοράς σε μεμβράνες με στόχο την ανάπτυξη νέων αντιοξειδωτικών καλλυντικοτεχνικών μορφών**

Επιστημονικό Πεδίο: Κοσμητολογία

Βιογραφικά Στοιχεία: Εργασία ως αισθητικός σε ινστιτούτο αισθητικής από: Μάρτιο 2021 .

Προσωπικά Στοιχεία: Ημερομηνία γέννησης 27/05/1997. Τόπος Γέννησης :Αθήνα

Εκπαίδευση: Πτυχίο Αισθητική και Κοσμητολογία Α.Τ.Ε.Ι. Θεσσαλονίκης

Εκπλήρωσε τις απαιτήσεις για το Μεταπτυχιακό Τίτλο Σπουδών «Προχωρημένη Αισθητική και Κοσμητολογία: Ανάπτυξη, Ποιοτικός Έλεγχος και Ασφάλεια νέων καλλυντικών προϊόντων» στο Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής, Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας, Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών, τον Ιούλιο, 2022

ΕΓΚΡΙΣΗ ΕΠΙΒΛΕΠΟΝΤΟΣ: Απόστολος Παπαδόπουλος

Πίνακας περιεχομένων

ABSTRACT

Ευχαριστίες

Βιβλιογραφικό CV

Κατάλογος Πινάκων

Κατάλογος Σχημάτων

1	Εισαγωγή και Σκοπός της Εργασίας .....	1
1.1	Ελεύθερες ρίζες.....	1
1.2	Αντιοξειδωτικά.....	1
1.3	Κανναβιδιόλη και αντιοξειδωτικές ιδιότητες.....	3
1.4	Λιποσώματα και ενθυλάκωση αντιοξειδωτικών συστατικών.....	3
1.5	Σκοπός της ενθυλάκωσης της κανναβιδιόλης.....	5
1.6	Σκοπός της εργασίας.....	6
2.	Κανναβιδιόλη.....	7
2,1	Κανναβιδιόλη.....	7
2.1.1	Η βιοσύνθεση της CBD στο φυτό της Cannabis Sativa L.....	10
2.2	Η αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδης δράση της κανναβιδιόλης στα Κερατινοκύτταρα.....	12
2.2.1	Επιδράσεις της CBD στη λειτουργία των σμηγματογόνων αδένων σε ανθρώπινα κύτταρα SZ95.....	12
2.3	Ενδοκανναβινοειδές σύστημα .....	14
2.4	Διεργασίες λήψης της CBD από το φυτό Cannabis Sativa L.....	15
3.	Σύσταση Δομή των λιπιδικών διπλοστιβάδων κυττάρων και η λειτουργία τους υπό την επίδραση εξωκυτταρικών ουσιών.....	19
3.1	Κυτταρικές μεμβράνες.....	19
3.1.1	Φωσφολιπίδια των κυτταρικών μεμβρανών.....	19
3.1.2	Χοληστερόλη.....	21
3.1.3	Πρωτεΐνες κυτταρικής μεμβράνης.....	23
3.1.4	Διαμεμβρανική μεταφορά μορίων.....	24
3.1.5	Το μοντέλο του ρευστού μωσαϊκού.....	25
3.2	Μικκύλια.....	25
3.3	Λιποσώματα.....	28
4.	Λιποσώματα και κανναβιδιόλη.....	33
4.1	Λιποσώματα και κανναβιδιόλη.....	33

5. Μηχανισμός απελευθέρωσης της κανναβιδιόλης από τα λιποσώματα στη λιπιδική διπλοστιβάδα των κερατινοκυττάρων του δέρματος.....	37
6. Μηχανισμοί δράσης της CBD με τις ελεύθερες ρίζες στα κερατινοκύτταρα.....	45
7. Σχεδιασμός φόρμουλας λιποσωματικής κανναβιδιόλης σε καλλυντικό προϊόν και σχεδιασμός μελέτης σταθερότητας.....	52
7.1 Γενικές μέθοδοι παρασκευής.....	52
7.2 Αντιγηραντική κρέμα με λιποσωματική CBD.....	54
7.2.1 Συστατικά και περιεκτικότητα.....	54
7.2.2 Παρασκευή κρέμας.....	55
7.2.3 Μελέτη σταθερότητας.....	56
8. Συμπεράσματα.....	58
9. Βιβλιογραφία.....	60

## **Κατάλογος Πινάκων**

Πίνακας 2.1. Αντιοξειδωτικά και κανονικό δυναμικό οξειδοαναγωγής

Πίνακας 7.2.1 Συστατικά και περιεκτικότητα φόρμουλας

## Κατάλογος Σχημάτων

Σχήμα 6.1 Εξουδετέρωση μιας ελεύθερης ρίζας υπεροξειδίου (HOO•) από την CBD

Σχήμα 6.2 Αντίδραση Fenton

Σχήμα 6.3 Επίδραση της CBD στα ιόντα σιδήρου

## Κατάλογος Εικόνων

Εικόνα 1.2.1 Μεταφορά ηλεκτρονίου από το αντιοξειδωτικό στην ελεύθερη ρίζα

<https://www.medicalnewstoday.com/articles/318652>

Εικόνα 1.2.2 Επίδραση του οξειδωτικού στρες στα κύτταρα

<https://skinkraft.com/blogs/articles/free-radicals>

Εικόνα 1.3.1. Σκελετική δομή της CBD <https://www.sabotanicals.com/>

Εικόνα 1.4.1 Λιπόσωμα σε υδατικό περιβάλλον

<https://www.google.com/imgres?imgurl=https%3A%2F%2Fwww.doctorsformulas.com%2Ffiles%2Fcontentdoctors%2Fflipo2.png&imgrefurl=https%3A%2F%2Fwww.doctorsformulas.com%2F%25CF%2584%25CE%25B9-%25CE%25B5%25CE%25B9%25CE%25BD%25CE%25B1%25CE%25B9-%25CE%25BF%25CE%25B9-%25CE%25BB%25CE%25B9%25CF%2580%25CE%25BF%25CF%2583%25CF%2589%25CE%25BC%25CE%25B9%25CE%25B1%25CE%25BA%25CE%25B5%25CF%2583-%25CF%2586%25CE%25BF%25CF%2581%25CE%25BC%25CE%25BF%25CF%2585%25CE%25BB%25CE%25B5%25CF%2583.htm&tbnid=54EA-VJXzSd5CM&vet=12ahUKEwjt2KD60Mr0AhUIVhoKHV8jBr0QMygBegUIARCWAq..i&docid=COqqvYdBp5-DiM&w=328&h=249&itg=1&q=%CE%BB%CE%B9%CF%80%CE%BF%CF%83%CF%89%CE%BC%CE%B1%CF%84%CE%B1&ved=2ahUKEwjt2KD60Mr0AhUIVhoKHV8jBr0QMygBegUIARCWAq#imgrc=54EA-VJXzSd5CM&imgdii=xJ24ku6cLh69jM>

Εικόνα 1.4.2 Φωσφολιπιδική διπλοστιβάδα

[https://www.google.com/imgres?imgurl=https%3A%2F%2Fwww.eubiotiki.gr%2Fimage%2Fdata%2FLipolife%2Fwhat-is-a-liposome-phospholipids.jpg&imgrefurl=https%3A%2F%2Fwww.eubiotiki.gr%2Findex.php%3Froute%3Djournal%2Fblog%2Fpost%26journal\\_blog\\_post\\_id%3D13&tbnid=EXJ6EbS3oD5-6M&vet=12ahUKEwjt2KD60Mr0AhUIVhoKHV8jBr0QMygGegUIARCgAg..i&docid=rWdDrJUWZxuDKM&w=661&h=487&itg=1&q=%CE%BB%CE%B9%CF%80%CE%BF%CF%83%CF%89%CE%BC%CE%B1%CF%84%CE%B1&ved=2ahUKEwjt2KD60Mr0AhUIVhoKHV8jBr0QMygGegUIARCgAg#imgrc=54EA-VJXzSd5CM&imgdii=xJ24ku6cLh69jM](https://www.google.com/imgres?imgurl=https%3A%2F%2Fwww.eubiotiki.gr%2Fimage%2Fdata%2FLipolife%2Fwhat-is-a-liposome-phospholipids.jpg&imgrefurl=https%3A%2F%2Fwww.eubiotiki.gr%2Findex.php%3Froute%3Djournal%2Fblog%2Fpost%26journal_blog_post_id%3D13&tbnid=EXJ6EbS3oD5-6M&vet=12ahUKEwjt2KD60Mr0AhUIVhoKHV8jBr0QMygGegUIARCgAg..i&docid=rWdDrJUWZxuDKM&w=661&h=487&itg=1&q=%CE%BB%CE%B9%CF%80%CE%BF%CF%83%CF%89%CE%BC%CE%B1%CF%84%CE%B1&ved=2ahUKEwjt2KD60Mr0AhUIVhoKHV8jBr0QMygGegUIARCgAg#imgrc=54EA-VJXzSd5CM&imgdii=xJ24ku6cLh69jM)

[%CE%BF%CF%83%CF%89%CE%BC%CE%B1%CF%84%CE%B1&ved=2ahUKEwjt2KD60Mr0AhUIVhoKHV8jBr0QMygGegUIARCgAg](#)

Εικόνα 1.5.1 Λιπόσωμα με ενθυλακωμένο λιπόφιλο μόριο στη φωσφολιπιδική διπλοστιβάδα

[https://en.uit.no/forskning/forskningsgrupper/sub?p\\_document\\_id=338459&sub\\_id=344032](https://en.uit.no/forskning/forskningsgrupper/sub?p_document_id=338459&sub_id=344032)

Εικόνα 2.1.1 Στερεοχημική δομή της κανναβιδιόλης

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/644019#section=2D-Structure>

Εικόνα 2.1.2 Σκελετική δομή Limonene

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Limonene>

Εικόνα 2.1.3. Σκελετική δομή Olivetol

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Olivetol>

Εικόνα 2.1.4 Στερεοχημική δομή της CBD

[https://www.researchgate.net/figure/Molecular-structure-of-cannabidiol-CBD\\_fig2\\_334898050](https://www.researchgate.net/figure/Molecular-structure-of-cannabidiol-CBD_fig2_334898050)

Εικόνα 2.1.5. In vitro σύνθεση της CBD

<https://www.semanticscholar.org/paper/Cannabidiol%3A-an-overview-of-some-chemical-and-Part-Mechoulam-Hanu%C5%A1/04c5048289fd0ed9fa28769ac1a729f4cfd92ccf>

Εικόνα 2.1.6. Η βιοσύνθεση της CBD και THC στο φυτό της Cannabis Sativa L.

<https://wilsonbotanics.com/cbd-cannabidiol/cbd-vs-thc-what-is-the-difference/>

Εικόνα 2.3.1 Το ενδοκανναβινοειδές σύστημα στον άνθρωπο

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Olivetol>

Εικόνα 2.3.2 Υποδοχείς ενδοκανναβινοειδών στο δέρμα

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7736837/figure/f0001/>

Εικόνα 2.4.1 Εκχύλιση CBD με τη μέθοδο υπερκρίσιμου

CO<sub>2</sub> <https://www.quora.com/What-is-the-CBD-CO2-extraction-process>

Εικόνα 3.1.1.1. Δομή φωσφολιπιδίου [https://www.creative-](https://www.creative-proteomics.com/services/phospholipids-analysis-service.htm)

[proteomics.com/services/phospholipids-analysis-service.htm](https://www.creative-proteomics.com/services/phospholipids-analysis-service.htm)

Εικόνα 3.1.1.2 Τα φωσφολιπίδια στην κυτταρική

διπλοστιβάδα <https://crackworldofbiology.blogspot.com/2020/03/cell-biology-cell-membrane.html>

Εικόνα 3.1.2.1. Χοληστερόλη: Μοριακός τύπος

<https://gr.dreamstime.com/%CF%87%CE%BF%CE%BB%CE%B7%CF%83%CF%84%CE%B5%CF%81%CF%8C%CE%BB%CE%B7->

[%CE%B4%CE%BF%CE%BC%CE%AE-%CE%B5%CE%BD%CF%8C%CF%82-%CE%BC%CE%BF%CF%81%CE%AF%CE%BF%CF%85-image120252308](#)

Εικόνα 3.1.2.2. Η χοληστερόλη στη διπλοστιβάδα φωσφολιπιδίων

[https://canvas.swansea.ac.uk/courses/20062/pages/module-3-dot-4-the-plasma-membrane?module\\_item\\_id=544774](https://canvas.swansea.ac.uk/courses/20062/pages/module-3-dot-4-the-plasma-membrane?module_item_id=544774)

Εικόνα 3.1.4.1. Τρόποι διαμεμβρανικής μεταφοράς ιόντων

<https://www.quora.com/What-is-cell-membrane-transport>

Εικόνα 3.2.1 Μικκύλιο σε λιπαρό περιβάλλον <https://pixels.com/featured/2-inverse-micelle-maurizio-de-angelisscience-photo-library.html>

Εικόνα 3.2.2 Δομή μικκύλιου

[https://stock.adobe.com/ee/search?k=micelle&asset\\_id=423110713](https://stock.adobe.com/ee/search?k=micelle&asset_id=423110713)

Εικόνα 3.2.3 Οι δύο τύποι μικκυλίων. Μικκύλιο σε λάδι και μικκύλιο σε νερό

[www.chegg.com/learn/biology/anatomy-physiology-in-biology/function-of-micelle](http://www.chegg.com/learn/biology/anatomy-physiology-in-biology/function-of-micelle)

Εικόνα 3.3.1 Λιπόσωμα αποτελούμενο από μια διπλοστιβάδα φωσφολιπιδίων

<https://www.istockphoto.com/photo/liposome-circular-bilayer-structure-membrane-3d-illustration-gm1367968686-438069683>

Εικόνα 3.3.2 Λιπόσωμα αποτελούμενο από 2 διπλοστιβάδες φωσφολιπιδίων

<https://www.lipolife.co.za/what-is-a-liposome/>

Εικόνα 3.3.3 Δομή λιποσώματος [https://www.researchgate.net/figure/Multilayer-liposome\\_fig3\\_333684416](https://www.researchgate.net/figure/Multilayer-liposome_fig3_333684416). Figure 4 - available via license: Creative Commons Attribution 3.0 Unported

Εικόνα 3.3.4. Λιπόσωμα με ενθυλακωμένα λιπόφιλα και υδρόφιλα μόρια

<https://www.google.com/imgres?imgurl=https%3A%2F%2Fd3i71xaburhd42.cloudfront.net%2F62a9b092ceb0bb2a1a3b6a593a35655a97d3c07%2F2-Figure1-1.png&imgrefurl=https%3A%2F%2Fwww.semanticscholar.org%2Fpaper%2FLiposome-size-analysis-by-dynamic%252Fstatic-light-upon-Hupfeld-Holsaeter%2F62a9b092ceb0bb2a1a3b6a593a35655a97d3c07%2Ffigure%2F0&tbnid=egDpeZ-pvKCxcM&vet=12ahUKEwj0rX-vf0AhUzUeUKHU-tASIQxiAoAHoECAAQEQ..i&docid=KfdfW7249Fg-TM&w=690&h=698&itg=1&q=drug%20delivery%20liposomal%20drug%20liposome&hl=en&ved=2ahUKEwj0rX-vf0AhUzUeUKHU-tASIQxiAoAHoECAAQEQ>

Εικόνα 3.3.5 Σύντηξη λιποσώματος με κυτταρική μεμβράνη και απελευθέρωση των

δραστικών συστατικών <https://cen.acs.org/articles/91/web/2013/10/2013-Nobel-Prize-Physiology-Medicine.html>

Εικόνα 4.1.1 Υπεροξειδωση λιπιδίων της λιπιδικής διπλοστιβάδας

<https://pergamos.lib.uoa.gr/uoa/dl/frontend/file/lib/default/data/1313047/theFile>

Εικόνα 5.1 Σύντηξη λιποσώματος με την κυτταρική μεμβράνη  
<https://chaos.utexas.edu/people/faculty/ernst-ludwig-florin/membrane-fusion>

Εικόνα 5.2 Σύντηξη λιποσώματος με κυτταρική μεμβράνη παρουσία μόνο SNARE πρωτεϊνών

<https://www.labxchange.org/library/pathway/lx-pathway:673636ac-9158-4257-9778-1ea27535ba97/items/lx-pb:673636ac-9158-4257-9778-1ea27535ba97:html:004412bd>

Εικόνα 5.3 Ιός Σενταΐ και οι πρωτεΐνες του ιού  
[https://viralzone.expasy.org/87?outline=all\\_by\\_species](https://viralzone.expasy.org/87?outline=all_by_species)

Εικόνα 5.4 Παθητική μεταφορά ενός υδρόφιλου, λιπόφιλου και ισχυρά λιπόφιλου (υδρόφοβου) μορίου δια μέσω της πλασματικής μεμβράνης

Εικόνα 5.5 Σύντηξη λιποσωματικής CBD με την πλασματική μεμβράνη του κυττάρου [https://www.betterliving.co/2017/03/14/liposomal-vitamins-for-best-bioavailability-and-absorption/?fbclid=IwAR1tYkifYjtzdP97zDI4I-lr\\_I5UBMK9j9Y\\_uObG55hKLNOSHGavaWLFEX8](https://www.betterliving.co/2017/03/14/liposomal-vitamins-for-best-bioavailability-and-absorption/?fbclid=IwAR1tYkifYjtzdP97zDI4I-lr_I5UBMK9j9Y_uObG55hKLNOSHGavaWLFEX8)

Εικόνα 5.6 Σχηματισμός συμπλόκου φωσφολιπιδίου/CBD και ενθυλάκωση στην πλασματική μεμβράνη του λιποσώματος <https://www.shutterstock.com/el/image-vector/vector-illustration-phospholipid-lipid-bilayer-liposome-715396363>

Εικόνα 6.1 Στερεοχημική δομή της CBD  
[https://www.researchgate.net/figure/Molecular-structure-of-cannabidiol-CBD\\_fig2\\_334898050](https://www.researchgate.net/figure/Molecular-structure-of-cannabidiol-CBD_fig2_334898050)

Εικόνα 6.2 Οι θέσεις του ασύζευκτου ηλεκτρονίου στα υβρίδια συντονισμού

Εικόνα 6.3 Ενεργοποίηση του μεταγραφικού πυρηνικού παράγοντα Nrf2  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1074552110001535>



## Συντμήσεις, ακρωνύμια, σύμβολα και ορισμοί

UV	Ultraviolet
DNA	Deoxyribonucleic Acid
UVB	Ultraviolet B
ROS	Reactive Oxygen Species
CBD	Κανναβιδιόλη
PUFAs	Πολυακόρεσταλιπαράοξέα Polyunsaturated fatty acids
Prx	Peroxyredoxins
CAT	Καταλάσες
SOGs	Δισμουτάσες του σουπεροξειδίου
GPx	Υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης
CBGA	Cannabigerolic acid
THCA	Tetrahydrocannabinolic acid
AEA	Anandamide/ Ανανδαμίδη/N-arachidonoyl ethanolamine
ECS	Ενδοκανναβινοειδές σύστημα
LPS	Λιποπολυσακχαρίτες
ΚΝΣ	Κεντρικό Νευρικό Σύστημα
ATP	Τριφωσφορική αδενοσίνη
CMC	Critical Micelle Concentration
LUV	Large unilamellar vesicles
SUV	Small unilamellar vesicles
LDS	Lyotropic Delivery System
LPS	Lipopolysaccharides
Nrf2	Nuclear factor-erythroid factor 2-related factor 2

HMOX1	Αιμοοξυγενάση I
PTX	Πακλιταξέλη
DOX	Δοξορουβικίνη
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
MS	Mass Spectrometer
DMS	Δομή Δερματικής Μεμβράνης
NSF	N-ethylmaleimide Sensitive Fusion protein
PE	Polyethylene
SOD	Υπεροξειδικής δισμουτάσης Superoxide Dismutase
PEG	Polyethylene glycol/πολυαιθιλενογλυκολη
RT	Θερμοκρασία Περιβάλλοντος
NSF	N-ethylmaleimide Sensitive Fusion protein

# 1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

## 1.1 ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ

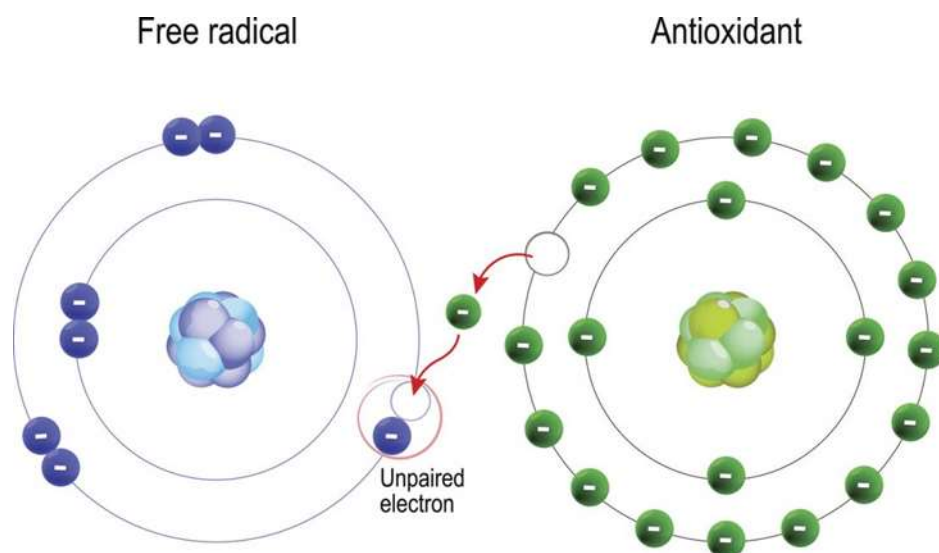
Οι ελεύθερες ρίζες είναι άτομα ή μόρια με ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο σθένους Στο περιβάλλον σχηματίζονται κυρίως από την ρύπανση των βιομηχανιών, των αυτοκινήτων, τον καπνό των τσιγάρων, τις ιοντίζουσες ακτινοβολίες και την υπεριώδη ακτινοβολία. Σε κυτταρικό επίπεδο δημιουργούνται όταν η UV ακτινοβολία αλληλεπιδρά με τα κύτταρα. Επειδή η ενέργεια των φωτονίων της ακτινοβολίας μπορεί να διασπάσει ομοιοπολικούς δεσμούς των βιομορίων των κυττάρων, είναι δυνατόν να σχηματιστούν ελεύθερες ρίζες στο κυτταρικό περιβάλλον. Οι οξειδωτικές ιδιότητες των ελεύθερων ριζών προκαλούν αλλοιώσεις στα κύτταρα, οξειδώνουν τα λιπίδια και τους υδατάνθρακες τα οποία αποτελούν τα δομικά μέρη των κυτταρικών μεμβρανών, αλληλεπιδρούν και δημιουργούν βλάβες στις πρωτεΐνες, αδρανοποιούν τα πρωτεϊνικά ένζυμα και διασπούν το κυτταρικό DNA. Σε χαμηλές συγκεντρώσεις οι ελεύθερες ρίζες εκτελούν σημαντικές λειτουργίες στα βιολογικά συστήματα(1).

Με αυτήν την διαδικασία ευνοείται η οξειδωτική προσβολή ή οι προοξειδωτικές καταστάσεις οι οποίες χαρακτηρίζονται ως οξειδωτικό στρες (2). Το οξειδωτικό Η διατάραξη της ισορροπίας ανάμεσα στο σχηματισμό των ελεύθερων ριζών και στην εξουδετέρωση τους από τους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς των κυττάρων, έχει σαν αποτέλεσμα την ανεξέλεγκτη παραγωγή τους στρες εμπλέκεται στην εμφάνιση διαφόρων παθολογικών καταστάσεων του δέρματος, όπως πρόωγη γήρανση, φλεγμονώδεις παθήσεις, φωτοτοξικότητα, φωτοαλλεργία και παθήσεις του ανοσοποιητικού συστήματος. Επίσης προκαλεί βλάβες των βιομορίων (λιπίδια, πρωτεΐνες, νουκλεϊνικά οξέα, υδατάνθρακες) της κυτταρικής μεμβράνης, των μιτοχονδρίων και των κυττάρων, καθώς και τη δυσλειτουργία πολλών μηχανισμών της κυτταρικής ανανέωσης, που μπορεί να οδηγήσουν σε καρκινογένεση (3). Το οξειδωτικό στρες, αυξάνεται με την επίδραση, κυρίως της UVB ακτινοβολίας στα κερατινοκύτταρα, επειδή αυξάνει έμμεσα τα επίπεδα των δραστικών μορφών οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS) (4).

## 1.2 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ

Σαν αντιοξειδωτικό μπορεί να χαρακτηριστεί οποιοδήποτε συστατικό, το οποίο όταν βρίσκεται σε χαμηλότερη συγκέντρωση συγκριτικά με ένα προς οξείδωση υπόστρωμα (λιπίδια, υδατάνθρακες, πρωτεΐνες, DNA), αναστέλλει ή επιβραδύνει σημαντικά την οξείδωση του υποστρώματος (5). Οι αντιοξειδωτικές ουσίες έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες, που σχηματίζονται υπό την

επίδραση της UV ακτινοβολίας, την περιβαλλοντική μόλυνση και το οξειδωτικό stress.



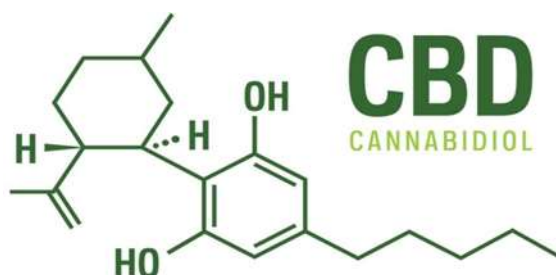
Εικόνα 1.2.1 Μεταφορά ηλεκτρονίου από το αντιοξειδωτικό στην ελεύθερη ρίζα

Γενικά, οι αντιοξειδωτικές ουσίες λειτουργούν είτε παρεμποδίζοντας τη δημιουργία δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS), είτε διακόπτοντας την ανεξέλεγκτη διάδοση των ελεύθερων ριζών που δημιουργούνται από τις αλυσιδωτές αντιδράσεις μέσα στα κύτταρα. Επίσης μια πρόσθετη λειτουργία τους είναι η προοξειδωτική τους δράση. Προοξειδωτικό θεωρείται ένας παράγοντας που μπορεί να προκαλέσει οξειδωτικό στρες.(6)



Εικόνα 1.2.2 Επίδραση του οξειδωτικού στρες στα κύτταρα

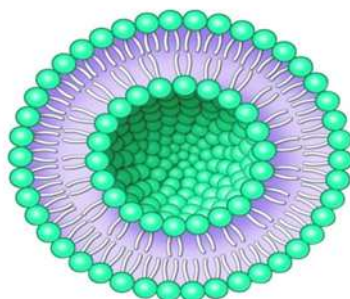
### 1.3 ΚΑΝΝΑΒΙΔΙΟΛΗ ΚΑΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ



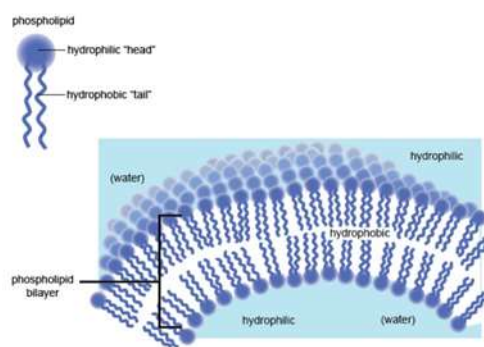
Εικόνα 1.3.1 Σκελετική δομή της CBD

Η κανναβιδιόλη (CBD) είναι μια τερπеноφαινολική ένωση η οποία απαντάται στο φυτό της κάνναβης. Αποτελείται από δύο κύρια μόρια, ένα μονοτερπένιο (limonene) και ένα παράγωγο της υδροξυφαινόλης (Olivetol). Οι ισχυρές αντιοξειδωτικές ιδιότητες της οφείλονται στην φαινολική ομάδα, η οποία οξειδώνεται αποβάλλοντας ένα ηλεκτρόνιο σθένους και παράλληλα συνεισφέροντας το ηλεκτρόνιο ανάγει μια άλλη χημική ένωση.

### 1.4 ΛΙΠΟΣΩΜΑΤΑ ΚΑΙ ΕΝΘΥΛΑΚΩΣΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ



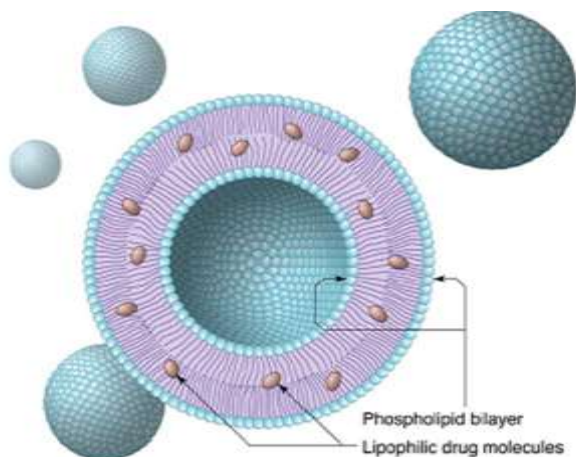
Εικόνα 1.4.1 Λιπόσωμα σε υδατικό περιβάλλον



Εικόνα 1.4.2 Φωσφολιπιδική διπλοστιβάδα

Τα λιποσώματα είναι κλειστές σφαιρικές δομές χαμηλής ενέργειας που αποτελούνται από μία ή περισσότερες λιπιδικές διπλοστιβάδες. Οι στιβάδες αποτελούνται κυρίως από φωσφολιπίδια όπου σε υδρόφιλο περιβάλλον το υδρόφιλο μέρος τους προσανατολίζεται στην εξωτερική επιφάνεια της σχηματιζόμενης μεμβράνης και στην εσωτερική υδατική κοιλότητα. Το λιπόφιλο μέρος τους αποτελείται από τις λιπόφιλες ουρές οι οποίες προσανατολίζονται προς το εσωτερικό και συνωστίζονται σχηματίζοντας το λιπόφιλο χώρο των λιποσωμάτων. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα το σχηματισμό υδρόφιλων και λιπόφιλων περιοχών. Η σφαιρική δομή των λιποσωμάτων δίνει τη δυνατότητα να χρησιμοποιηθούν ως μέσα εγκλωβισμού και μεταφοράς δραστικών ουσιών με σκοπό την προστασία τους από οξειδωτικούς παράγοντες και τη στοχευμένη μεταφορά τους αφενός μεν στα κυτταρικά διαμερίσματα (πλασματική μεμβράνη, κυτταρόπλασμα) αφετέρου στα βαθύτερα στρώματα του δέρματος. Οι υδατοδιαλυτές ουσίες εγκλωβίζονται στην υδατική κοιλότητα των λιποσωμάτων, ενώ οι λιποδιαλυτές στο διαμεμβρανικό χώρο των λιπόφιλων ουρών. Όπως ειπώθηκε, τα λιποσώματα αποτελούνται από μια διπλοστιβάδα φωσφολιπιδίων, η διπλοστιβάδα αυτή είναι δομικά όμοια με τις βιολογικές μεμβράνες καθώς και με την κυτταρική μεμβράνη των ευκαρυωτών και κατ' επέκταση των κερατινοκυττάρων του δέρματος. Όταν ένα λιπόσωμα έρθει σε επαφή με την κυτταρική μεμβράνη ενός κερατινοκυττάρου ενσωματώνεται σε αυτήν (ενότητα 4). Τα λιποσώματα ανήκουν στις νανο-κolloειδείς διασπορές. Το μέγεθος τους κυμαίνεται από 20nm έως μερικές δεκάδες nm ενώ το πάχος της διπλοστιβάδας είναι περίπου 4nm. Αυτές οι δομές βελτιώνουν την αποτελεσματικότητα των εγκλωβισμένων ουσιών και ελαχιστοποιούν τις ανεπιθύμητες ενέργειες τους.

## 1.5 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΝΘΥΛΑΚΩΣΗΣ ΤΗΣ ΚΑΝΝΑΒΙΔΙΟΛΗΣ



Εικόνα 1.5.1 Λιπόσωμα με ενθυλακωμένο λιπόφιλο μόριο στη φωσφολιπιδική διπλοστιβάδα

Η κανναβιδιόλη (CBD) είναι λιπόφιλο μόριο, άρα αδυνατεί να περάσει το φραγμό που σχηματίζουν οι πολικές κεφαλές των φωσφολιπιδίων στις κυτταρικές μεμβράνες των κυττάρων του δέρματος. Για να καταστεί δυνατή η διαβατότητα της CBD υπερνικώντας το φραγμό θα πρέπει να εφαρμόσουμε τη μέθοδο εγκλωβισμού της σε λιποσώματα. Η CBD εγκλωβίζεται στοχευμένα στον λιπόφιλο χώρο των λιποσωμάτων. Κατά τη σύντηξη του λιποσώματος με την κυτταρική μεμβράνη παραμένει εγκλωβισμένη στο λιπόφιλο χώρο των κυτταρικών διπλοστιβάδων. Σε αυτό τον χώρο αναστέλλει την οξείδωση κυρίως των PUFAs (πολυακόρεστα λιπαρά οξέα), των πρωτεϊνών και των υδατανθράκων. Συμπεραίνεται λοιπόν η ισχυρή αντιοξειδωτική δράση της CBD όταν βρίσκεται στον χώρο των κυτταρικών μεμβρανών.

## 1.6 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Στην εργασία αυτή αναφέρονται συνοπτικά οι παρακάτω έννοιες

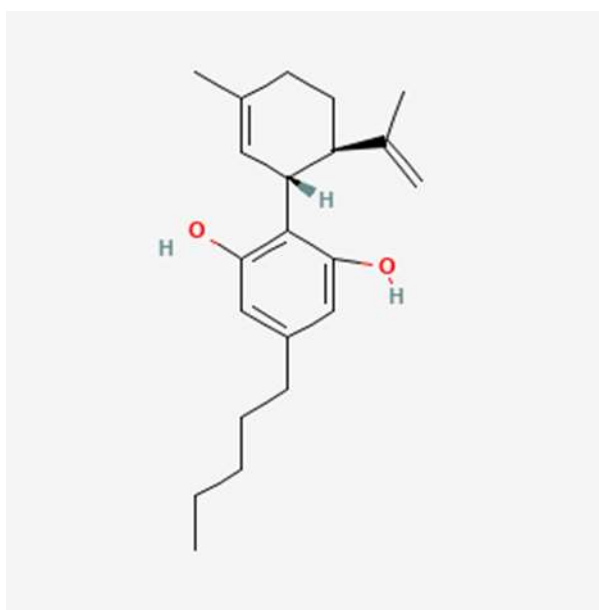
- Ελεύθερες ρίζες και αντιοξειδωτικό στρες
- Η αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδης δράση της κανναβιδιόλης στα κερατινοκύτταρα
- Κανναβιδιόλη και αντιοξειδωτικές ιδιότητες
- Λιποσώματα και ενθυλάκωση αντιοξειδωτικών συστατικών

Ο σκοπός της ενθυλάκωσης της κανναβιδιόλης σε λιποσώματα, καθώς και η εξέταση της αποτελεσματικότητας και της αντιοξειδωτικής της δράσης στα κύτταρα στόχους γίνεται μέσω σύγκρισης και ανάλυσης δεδομένων από ήδη υπάρχουσες βιβλιογραφίες. Από τα συμπεράσματα των πειραματικών δεδομένων και αποτελεσμάτων μπορεί να προταθεί μια φόρμουλα λιποσωματικής κανναβιδιόλης σε καλλυντικό προϊόν με στόχο την αντιοξειδωτική δράση της αλλά και ο σχεδιασμός μελέτης σταθερότητας ενός τέτοιου προϊόντος.



## 2. ΚΑΝΝΑΒΙΔΙΟΛΗ

### 2.1 ΚΑΝΝΑΒΙΔΙΟΛΗ

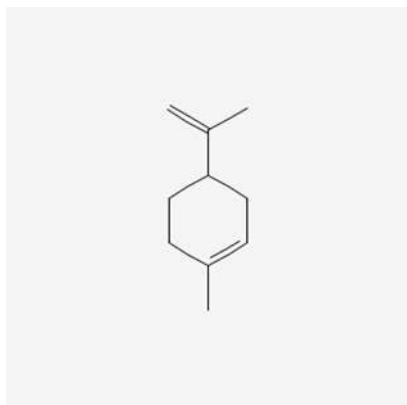


Εικόνα 2.1.1 Στερεοχημική δομή της κανναβιδιόλης

Όνομασία IUPAC: 2-[(1R,6R)-6-isopropenyl-3-methylcyclohex-2-en-1-yl]-5-pentylbenzene-1,3-diol

Η κανναβιδιόλη (CBD) είναι μια τερπενοφαινολική ένωση η οποία απαντάται στο φυτό της κάνναβης και σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις βρίσκεται στην ποικιλία *sativa* L. Η αντιοξειδωτική δράση της CBD μπορεί να είναι άμεση ή έμμεση. Η άμεση αντιοξειδωτική δράση της οφείλεται σε αντίδραση υποκατάστασης ελευθέρων ριζών, κατά την οποία η CBD αδρανοποιεί τις ελεύθερες ρίζες του περιβάλλοντος και τις δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS). Η έμμεση αντιοξειδωτική δράση προκύπτει, επειδή τα αυξημένα επίπεδα CBD οδηγούν σε αύξηση των επιπέδων των αντιοξειδωτικών ενζύμων όπως τις δισμουτάσες του σουπεροξειδίου (SODs), τις καταλάσες (CAT), τις υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης (GPx) και τις περοξυρεδοξίνες (Prx, peroxyredoxins) οι οποίες εμπλέκονται στο μεταβολισμό του οξυγόνου και στη διατήρηση της ισορροπίας του οξειδωτικού στρες (7).

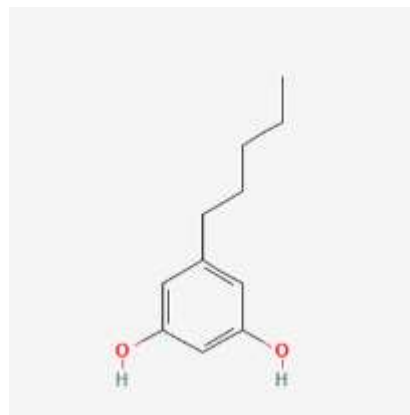
Το μόριο της CBD αποτελείται, από ένα κυκλικό μονοτερπένιο (limonene) και ένα παράγωγο μιας υδρόξυφαινόλης (Olivetol)



Limonene

Εικόνα 2.1.2 Σκελετική δομή

IUPAC:1-methyl-4-prop-1-en-2-ylcyclohexene



Olivetol

Εικόνα 2.1.3 Σκελετική δομή

IUPAC:5pentylbenzene1,3-diol

Πρόκειται για μια λευκή, κρυσταλλική ουσία η οποία είναι λιπόφιλη και πρακτικά αδιάλυτη στο νερό και διαλυτή σε οργανικούς διαλύτες (αιθανόλη, DMSO, χλωροφόρμιο, βενζόλιο, πετρελαϊκό αιθέρα)

Μοριακός τύπος:  $C_{12}H_{20}O_2$

Μοριακό βάρος: (314,46 Da).

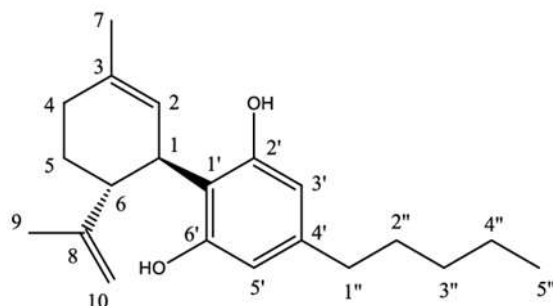
Σημείο βρασμού:  $463,9^{\circ} \pm 45^{\circ}C$

Σημείο τήξης:  $66^{\circ}C$  ( $151^{\circ}F$ )

Σημείο πήξης :  $180^{\circ}C$  ( $356^{\circ}F$ )

Οι δύο υδροξυλομάδες (OH) στον αρωματικό δακτύλιο ( $C_1', C_3'$ ) είναι δότες και δέκτες σχηματισμού δεσμών υδρογόνου. Έχει δύο στερεογονικά κέντρα (δύο ασύμμετρα άτομα άνθρακα)  $C_1, C_6$  στο δακτύλιο του Limonene και συνεπώς μπορεί να υπάρχει σε τέσσερα στερεοϊσομερή (R,R) (R,S) (S,R) (S,S). Κατά τη βιοσύνθεση της CBD σχηματίζεται ένα στερεοϊσομερές (R,R) με γεωμετρική trans ισομέρεια. Τα στερεοϊσομερή έχουν περισσότερο σημασία για την φαρμακολογική δράση. Είναι αμφίφιλο μόριο λόγω της υψηλής περιεκτικότητας σε δομικές μονάδες C-C και C-H και των δύο υδροξυλομάδων. Ωστόσο το υδρογονανθρακικό τμήμα του μορίου

καθορίζει και τη διαλυτότητα του με αποτέλεσμα το μόριο να είναι περισσότερο διαλυτό σε οργανικούς διαλύτες και ελάχιστα διαλυτό σε νερό. Αυτή η ιδιότητα της CBD καθορίζει και την διαδερμική απορρόφηση της.



Εικόνα 2.1.4 Στερεοχημική δομή της CBD

Ως φαινολική ένωση, η CBD συμμετέχει σε αντιδράσεις οξειδοαναγωγής. Το κανονικό δυναμικό οξειδοαναγωγής είναι  $E_0: +1,21$  Volt και συνεπώς οξειδώνεται εύκολα συνεισφέροντας ένα ηλεκτρόνιο. Συγκρινόμενο με τα κανονικά δυναμικά οξειδοαναγωγής άλλων αντιοξειδωτικών ουσιών όπως το BHT ( $E_0: +1,24$  Volt), την Retinal (Vitamin A,  $E_0: -2,1$  Volt) την  $\alpha$ -Tocopherol (Vitamin E,  $E_0: +0,80$  Volt) και το L-Ascorbic acid (Vitamin C,  $E_0: +0,39$  Volt), θεωρείται ως ήπιο αντιοξειδωτικό υλικό.

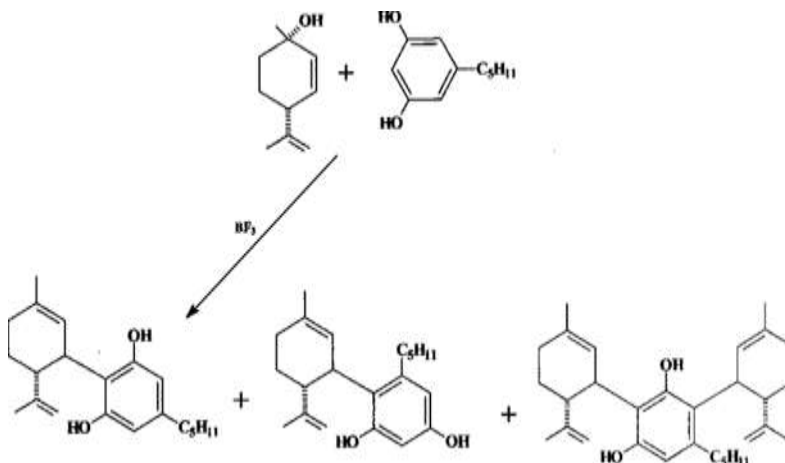
Αντιοξειδωτικό	Κανονικό δυναμικό οξειδοαναγωγής ( $E_0$ : Volt)
BHT	+ 1,24
Cannabidiol	+ 1,21
$\alpha$ -Tocopherol	+ 0,80
L-Ascorbic acid	+ 0,39
Retinal	-2,1

Πίνακας 2.1. Αντιοξειδωτικά και κανονικό δυναμικό οξειδοαναγωγής

Η κανναβιδιόλη έχει αποδειχθεί ότι λειτουργεί στον ανθρώπινο οργανισμό ως αναλγητικό, αντιφλεγμονώδες, αντινεοπλασματικό, αντιπολλαπλασιαστικό, αντιαγγειογόνο και προαποπτωτικό.(8-10) Φαίνεται να αναστέλλει την επιθετικότητα

και τη μετάσταση των καρκινικών κυττάρων, και δεν έχει αναφερθεί καμία αρνητική επίδραση πέραν του ερεθισμού του δέρματος σε επιδερμική επαφή. Είναι επιβλαβής σε περίπτωση κατάποσης (Προειδοποίηση Οξεία τοξικότητα, από του στόματος). Θεωρείται ύποπτη ότι βλάπτει τη γονιμότητα ή το αγέννητο παιδί (Προειδοποίηση Αναπαραγωγική τοξικότητα). (11)

Η *in vitro* σύνθεση της CBD πραγματοποιείται με αντίδραση πυρηνόφιλης αρωματικής υποκατάστασης μεταξύ ενός μορίου P-Mentha-2,8-dien-1-ol (μονοτερπένιο) και της 5-pentylbenzene-1,3-diol (Olivetol). Κατά την σύνθεση σχηματίζονται παραπροϊόντα και θα πρέπει να απομονωθούν από την CBD. Αυτό είναι ένα μειονέκτημα της μεθόδου, διότι απαιτεί χρήση χημικών ουσιών (διαλύτες) για τον διαχωρισμό του τελικού προϊόντος από τα παραπροϊόντα αυξάνοντας παράλληλα το κόστος της μεθόδου και την ρύπανση του περιβάλλοντος.

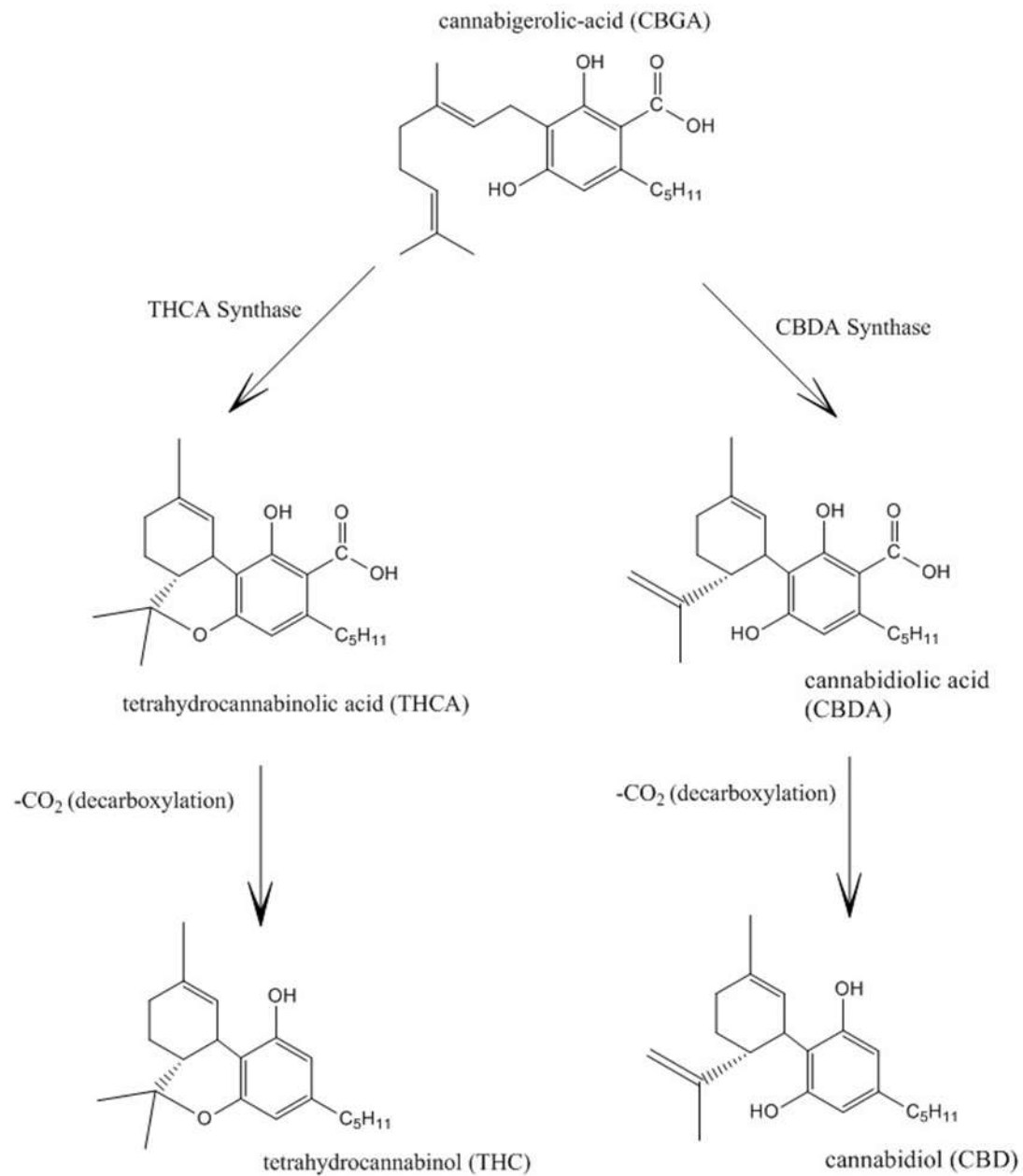


Εικόνα 2.1.5 *in vitro* σύνθεση της CBD

### 2.1.1 Η βιοσύνθεση της CBD στο φυτό της *Cannabis Sativa L.*

Η βιοσύνθεση της CBD πραγματοποιείται από την CBGA (cannabigerolic acid) υπό την επίδραση του ενζύμου CBDA Synthetase. Σε πρώτο στάδιο βιοσυντίθενται σε υψηλή περιεκτικότητα το κανναβιδιολικό οξύ (Cannabidiolic acid: CBDA) και σε χαμηλότερη περιεκτικότητα το τετραυδροκανναβινολικό οξύ (Tetrahydrocannabinolic acid: THCA). Αμφότερα είναι τα τελικά προϊόντα της βιοσύνθεσης και είναι οι πρόδρομες ουσίες της CBD και της Δ<sup>9</sup>-THC. Το μίγμα των

ενώσεων CBDA και THCA πρέπει στην συνέχεια να υποστεί τεχνητή αποκαρβοξυλίωση (-CO<sub>2</sub>) έτσι ώστε τα δύο οξέα να μετατραπούν σε CBD και Δ<sup>9</sup>-THC.



Εικόνα 2.1.6 Η βιοσύνθεση της CBD και THC στο φυτό της Cannabis Sativa L.

## **2.2 Η ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΚΑΙ ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗΣ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΚΑΝΝΑΒΙΔΙΟΛΗΣ ΣΤΑ ΚΕΡΑΤΙΝΟΚΥΤΤΑΡΑ.**

Η γήρανση του δέρματος συντελείται υπό την επίδραση των ελευθέρων ριζών του περιβάλλοντος, των δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) σε συνθήκες οξειδωτικού στρες και σε φλεγμονώδεις καταστάσεις. Το έλαιο της κάνναβης έχει πολλές εφαρμογές και μια από αυτές είναι η τοπική εφαρμογή του στο δέρμα. Συνδυάζεται με προϊόντα που περιέχουν ceramides, υαλουρονικό οξύ, πεπτίδια και νιασιναμίδη καθώς λειτουργεί συνεργατικά και θρέφει σε βάθος ενισχύοντας το φραγμό της επιδερμίδας. Προκλινικά στοιχεία υποδηλώνουν ότι η τοπική εφαρμογή της CBD μπορεί να είναι αποτελεσματική για ορισμένες δερματικές διαταραχές, όπως το έκζεμα, η ψωρίαση, ο κνησμός και οι φλεγμονώδεις καταστάσεις. Η CBD καταστέλλει τη φλεγμονώδη αντίδραση της αλλεργικής δερματίτιδας εξ επαφής *in vitro*, χωρίς κυτταροτοξικά αποτελέσματα. (6,8-9,12-13)

### **2.2.1 Επίδρασεις της CBD στη λειτουργία των σμηγματογόνων αδένων σε ανθρώπινα κύτταρα SZ95**

Τα κύτταρα SZ95 είναι η κυτταρική σειρά ανθρώπινου σμηγματογόνου αδένου που δείχνει τα μορφολογικά, φαινοτυπικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά των φυσιολογικών ανθρώπινων σμηγματοκυττάρων.

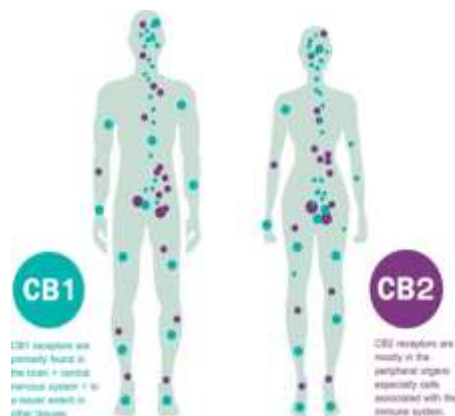
Οι σμηγματογόνοι αδένες παράγουν μια ουσία που ονομάζεται σμήγμα. Το σμήγμα λιπαίνει το δέρμα, το προστατεύει από την τριβή, δημιουργεί ένα λεπτό φιλμ στην επιδερμίδα και έτσι δεν επιτρέπει στο δέρμα να χάσει την υγρασία του. Επιπλέον, ο σμηγματογόνος αδένας μεταφέρει αντιοξειδωτικά σε όλα τα στρώματα του δέρματος, και στην επιφάνεια του και επιδεικνύει μια φυσική προστατευτική δράση από το φως. Διαθέτει έμφυτη αντιβακτηριακή δράση και έχει προ- και αντι-φλεγμονώδη λειτουργία. Το ανθρώπινο σμήγμα αποτελείται από σκουαλένιο, εστέρες γλυκερίνης, κεριού και χοληστερόλης, καθώς και από ελεύθερη χοληστερόλη και λιπαρά οξέα. Τα τριγλυκερίδια και τα λιπαρά οξέα μαζί, αποτελούν την κυρίαρχη αναλογία (57,5%) και ακολουθούν οι εστέρες κεριού (26%) και το σκουαλένιο (12%). Μπορεί το σμήγμα να είναι ένα απαραίτητο προϊόν του οργανισμού με θετικές επιδράσεις στην επιδερμίδα, πολλές φορές όμως υπάρχει υπερπαραγωγή σμήγματος από τους σμηματογόνους αδένες, και έτσι δημιουργείται η ανάγκη να “ρυθμιστεί” η παραγωγή του. Διαπιστώθηκε ότι μια 24ωρη θεραπεία μόνο με CBD (1–10  $\mu\text{M}$ ) δεν

προκάλεσε αλλαγές στη σύνθεση των λιπιδίων των κυττάρων. Ωστόσο, όταν τα κύτταρα υποβλήθηκαν σε θεραπεία για πρώτη φορά με παράλληλες δόσεις CBD και AEA (Anandamide/ Ανανδαμίδη/N-arachidonoylethanolamine, νευροδιαβιβαστής λιπαρών οξέων) που φαίνεται να παράγεται στους σηγγματογόνους αδένες και να αλληλεπιδρά με το ενδοκανναβινοειδές σύστημα παρατηρήθηκε καταστολή των εκκρίσεων του σμήγματος. Οι ερευνητές δοκίμασαν άλλες λιπογονικές ουσίες του σμήγματος, συμπεριλαμβανομένου του αραχιδονικού οξέος και ενός μείγματος λινολεϊκού οξέος και τεστοστερόνης, και διαπίστωσαν ότι η CBD ήταν σε θέση να αναστείλει την οξειδωση τους. Αυτό το αποτέλεσμα υποδηλώνει ότι η επίδραση της CBD είναι ευρεία και δεν περιορίζεται στην άμεση αλληλεπίδραση με το ενδοκανναβινοειδές σύστημα (ECS) του οργανισμού. Οι ερευνητές συνέχισαν να μελετούν τις αντιπολλαπλασιαστικές ικανότητες της CBD in vitro. Διαπίστωσαν ότι η CBD δεν κατέστειλε τον αριθμό των κυττάρων πέρα από τον αρχικό αριθμό (δεν μείωσε τον αριθμό των βιώσιμων κυττάρων), αλλά μείωσε σημαντικά τον συνολικό κυτταρικό πολλαπλασιασμό σε δόσεις 1–10 μΜ.

Η ερευνητική ομάδα του Ολάχ εξέτασε τις αντιφλεγμονώδεις επιδράσεις της CBD και διαπίστωσε ότι ήταν σε θέση να αποτρέψει την αύξηση της έκφρασης του TNF-α mRNA (mRNA παράγοντα νέκρωσης όγκων). Ήταν επίσης σε θέση να ομαλοποιήσει την επαγόμενη από LPS (Λιποπολυσακχαρίτες) έκφραση της IL-1B (Ιντερλευκίνη 1β) και της IL6 (Ιντερλευκίνη 6). Αυτά τα δεδομένα παρέχουν περαιτέρω πληροφορίες σχετικά με τις βασικές αντιφλεγμονώδεις επιδράσεις της CBD. Συγκεκριμένα, πιστεύεται ότι ο έλεγχος του πολλαπλασιασμού των σηγγματογόνων κυττάρων και η παραγωγή λιπιδίων συνδέεται με τη σηματοδότηση TRPV4 (πρωτεΐνη διαύλου ιόντων). (13-14)

Ο Huang και οι συνεργάτες του έχουν δείξει ότι η CBD διεγείρει την δραστηριότητα τόσο της μελανίνης όσο και της τυροσινάσης, η οποία επάγεται από τους υποδοχείς CB1 στα ανθρώπινα επιδερμικά μελανοκύτταρα. (15)

## 2.3 ΕΝΔΟΚΑΝΝΑΒΙΝΟΕΙΔΕΣ ΣΥΣΤΗΜΑ



Εικόνα 2.3.1 Το ενδοκανναβινοειδές σύστημα στον άνθρωπο

Το ECS (Endocannabinoid System) είναι ένα δίκτυο μοριακής σηματοδότησης που παίζει ρόλο στη ομοιόσταση. Το ECS αποτελείται από διαφορετικά συστήματα όπως

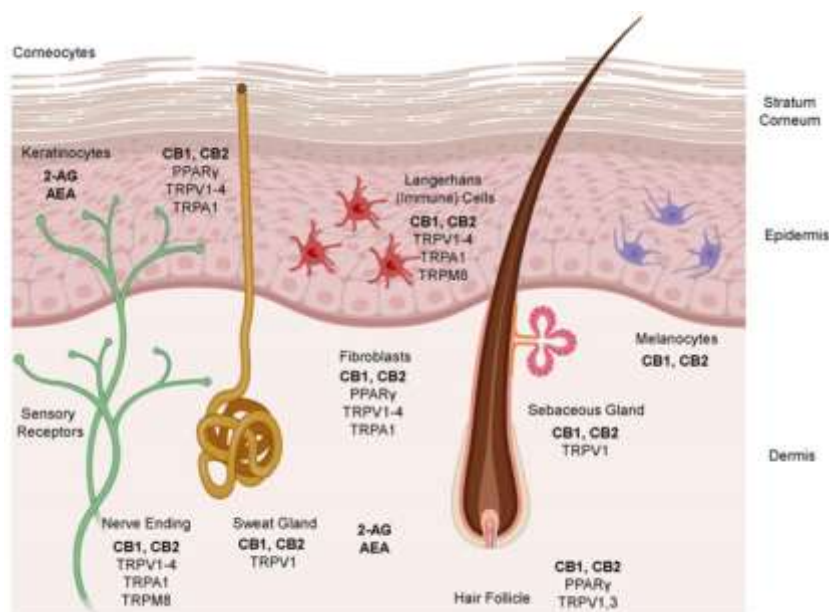
- μόρια σηματοδότησης τα οποία ονομάζονται ενδοκανναβινοειδή
- ειδικούς υποδοχείς
- ένζυμα που συνθέτουν και διασπούν τα ενδοκανναβινοειδή ή λειτουργούν ως μεταφορείς τους.

Οι λειτουργίες του ECS που έχουν ερευνηθεί περισσότερο, σχετίζονται με τη διαμόρφωση του κεντρικού νευρικού συστήματος (ΚΝΣ) και τη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος. Πρόσφατη έρευνα έχει υποδείξει τον κρίσιμο ρόλο του ECS στη διατήρηση της ομοιόστασης και του φραγμού του δέρματος. Διαταραχές της λειτουργίας του ECS έχουν εμπλακεί σε διάφορες δερματικές διαταραχές όπως ατοπική δερματίτιδα, φαγούρα, ακμή, τριχοφυΐα, τριχόπτωση, υπερμελάγχρωση και υπομελάγχρωση. Οι υποδοχείς κανναβινοειδών CB1 υπάρχουν σε αφθονία στο κεντρικό νευρικό σύστημα (εγκέφαλος και νωτιαίος μυελός) και οι υποδοχείς CB2 υπάρχουν στο περιφερικό νευρικό (νεύρα στα άκρα), στο πεπτικό και στο ανοσοποιητικό σύστημα. Οι CB1 και CB2 βρίσκονται επίσης σε επιδερμικά κερατινοκύτταρα, σε επιδερμικές νευρικές ίνες, σε κύτταρα στο χόριο, σε μελανοκύτταρα, σε ιδρωτοποιούς αδένες και σε τριχοθυλάκια. Οι υποδοχείς κανναβινοειδών υπάρχουν σε διάφορους τύπους κυττάρων του δέρματος (Εικόνα



2.2.1) και εμπλέκονται σε διαφορετικές λειτουργίες όπως ο σχηματισμός και η διατήρηση του δερματικού φραγμού , η ανάπτυξη των κυττάρων , η κυτταρική διαφοροποίηση, καθώς και σε ανοσολογικές και φλεγμονώδεις διεργασίες. (14-20)

Η κάνναβη περιέχει περισσότερες από 400 διαφορετικές χημικές ενώσεις, από τις οποίες περίπου οι 100 θεωρούνται κανναβινοειδή, μια κατηγορία ενώσεων που δρουν στους ενδογενείς υποδοχείς κανναβινοειδών του σώματος. Οι υποδοχείς κανναβινοειδών χρησιμοποιούνται ενδογενώς από το σώμα μέσω του ενδοκανναβινοειδούς συστήματος, το οποίο περιλαμβάνει μια ομάδα λιπιδικών πρωτεϊνών, ενζύμων και υποδοχέων που εμπλέκονται σε πολλές φυσιολογικές διεργασίες. (21)



Εικόνα 2.3.2 Υποδοχείς ενδοκανναβινοειδών στο δέρμα

Είναι γνωστό ότι το ECS παίζει βασικό ρόλο στην ομοίωση του δέρματος, και συγκεκριμένα στη λιπογένεση. Το ενδοκανναβινοειδές ΑΕΑ, έχει αποδειχθεί ότι διεγείρει την παραγωγή λιπιδίων σε ανθρώπινα σμηγματοκύτταρα σε χαμηλές συγκεντρώσεις ,αλλά προκαλεί απόπτωση σε υψηλότερα επίπεδα. (22) Η CBD θα μπορούσε να είναι μια νέα μέθοδος αντιμετώπισης στη διαχείριση της ακμής, δρώντας σε μονοπάτια που σχετίζονται με την παραγωγή σμήγματος, τον πολλαπλασιασμό των σμηγματοκυττάρων και τη φλεγμονή.

## 2.4 ΔΙΕΡΓΑΣΙΕΣ ΛΗΨΗΣ ΤΗΣ CBD ΑΠΟ ΤΟ ΦΥΤΟ CANNABIS SATIVA L.

Για τη παραγωγή ενός καλλυντικού προϊόντος CBD, υψηλής ποιότητας και καθαρότητας, θα πρέπει να εφαρμοστεί μια ήπια μέθοδος διεργασίας για την παραλαβή της πρώτης ύλης CBD από το φυτό της Cannabis Sativa L. Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται περισσότερο είναι οι ακόλουθες.

- Εκχύλιση με διαλύτη:

Με αυτή τη μέθοδο, η βιομάζα των φύλλων και ανθών του φυτού της κάνναβης εμποτίζεται με έναν διαλύτη - συνήθως αιθανόλη ή με έναν υδρογονάνθρακα όπως το πεντάνιο ή εξάνιο λαμβάνοντας τις επιθυμητές ενώσεις.

Στην περίπτωση της εκχύλισης με υδρογονάνθρακες, το μείγμα που λαμβάνεται, περιέχει τα κανναβινοειδή και άλλες χρήσιμες ενώσεις όπως τα τερπένια. Ακολουθώντας το μίγμα κατεργάζεται περαιτέρω για εξευγενισμό. Το στάδιο εξευγενισμού περιλαμβάνει την αποκαρβοξυλίωση του CBDA (Cannabidiolic acid), την μετατροπή του σε CBD και την απομάκρυνση της περιεχόμενης χλωροφύλλης. Στην συνέχεια απομακρύνεται ο διαλύτης εκχύλισης του πεντανίου ή εξανίου λαμβάνοντας το συμπυκνωμένο έλαιο CBD.

Με την διεργασία της εκχύλισης με αιθανόλη, το μίγμα της βιομάζας/αιθανόλης που προκύπτει στη συνέχεια αποστάζεται για να διαχωριστεί το έλαιο CBDA από την αιθανόλη και να απομονωθούν περαιτέρω οι επιθυμητές ενώσεις. Το έλαιο CBDA πρέπει στην συνέχεια να υποστεί αποκαρβοξυλίωση έτσι ώστε να παραληφθεί η CBD.

- Απόσταξη με υδρατμούς:

Αυτή η μέθοδος εξαγωγής αιθέριων ελαίων μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για την εξαγωγή κανναβινοειδών. Ο ατμός χρησιμοποιείται για την απελευθέρωση των πτητικών ενώσεων (κανναβινοειδή σε αυτήν την περίπτωση) από τη βιομάζα φύλλων/ανθών της Cannabis Sativa L. Οι παραγόμενοι υδρατμοί, οι οποίοι είναι κορεσμένοι με τις χρήσιμες ενώσεις, στη συνέχεια ψύχονται και συμπυκνώνονται. Το έλαιο και το νερό που συλλέγονται ως ένα κλάσμα διαχωρίζονται λόγω των διαφορετικών πυκνοτήτων H<sub>2</sub>O/έλαιο και της διαφορετικής διαλυτότητας

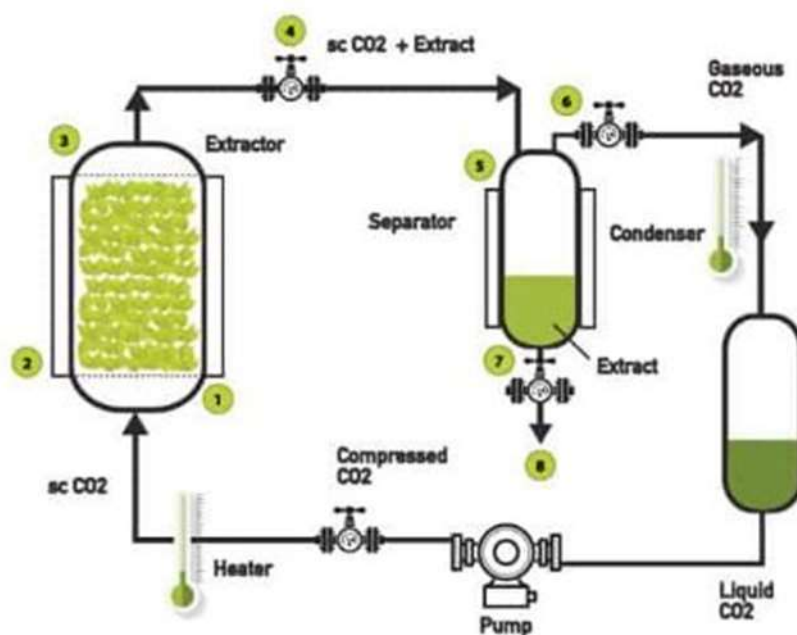
- Εκχύλιση με υπερκρίσιμο CO<sub>2</sub> (scCO<sub>2</sub>):

Αυτή η μέθοδος χαρακτηρίζεται ως εκχύλιση με πράσινο διαλύτη και έχει πολλά οφέλη. Είναι φιλική προς το περιβάλλον μέθοδος, παρουσιάζει απουσία τοξικότητας, έχει χαμηλό κόστος, εξασφαλίζει την εύκολη ανάκτηση και επαναχρησιμοποίηση του

εκχυλιστικού μέσου (CO<sub>2</sub>), προσφέρει μεγάλη διεισδυτικότητα δια μέσω της εκχυλιζόμενης βιομάζας και υψηλή εκχυλιστική ικανότητα.

Σε αυτή τη μέθοδο, το CO<sub>2</sub> (διοξείδιο του άνθρακα) χρησιμοποιείται για την εκχύλιση κανναβινοειδών και άλλων επιθυμητών ενώσεων από το φυτό της κάνναβης. Αυτή η διεργασία περιλαμβάνει τρία στάδια. Στο πρώτο στάδιο, το CO<sub>2</sub>, το οποίο βρίσκεται σε αέρια κατάσταση υπό κανονικές συνθήκες, μετατρέπεται σε υγρή κατάσταση με αύξηση της πίεσης και σημαντική μείωση της θερμοκρασίας. Στη συνέχεια ακολουθεί σταδιακή αύξηση της θερμοκρασίας και της πίεσης έως ότου το υγρό CO<sub>2</sub> φτάσει στο «κρίσιμο» σημείο. Σε αυτό το σημείο, η υγρή και αέρια φάση βρίσκονται σε θερμοδυναμική ισορροπία. Το μίγμα αυτό θεωρείται ρευστό και διατηρεί τις ιδιότητες του αέριου και υγρού CO<sub>2</sub>. Στο δεύτερο στάδιο, αφού έχει επιτευχθεί το κρίσιμο σημείο, το υπερκρίσιμο CO<sub>2</sub> (supercritical CO<sub>2</sub>) εισέρχεται στο θάλαμο, ο οποίος περιέχει τη βιομάζα της Cannabis Sativa L. Το scCO<sub>2</sub> διέρχεται δια μέσω της βιομάζας, διαχωρίζοντας το έλαιο από το φυτικό υλικό. Στο τρίτο στάδιο, το έλαιο και το scCO<sub>2</sub> εισέρχονται στον τρίτο και τελευταίο θάλαμο όπου διαχωρίζονται και το υπολειπόμενο CO<sub>2</sub> απλά εξατμίζεται και ανακτάται στον θάλαμο επανακύκλωσης της διεργασίας. Αυτό που απομένει είναι ένα εξαιρετικά συμπυκνωμένο εκχύλισμα ελαίου CBD.

## Supercritical CO<sub>2</sub> Extraction Process



#### Εικόνα 2.4.1 Εκχύλιση CBD με τη μέθοδο υπερκρίσιμου CO<sub>2</sub>

- Εκχύλιση ψυχρής πίεσης

Η διεργασία της ψυχρής έκθλιψης είναι μακράν η πιο φυσική και φιλική προς το περιβάλλον μέθοδος. Το τελικό προϊόν περιλαμβάνει περισσότερες ενώσεις και κανναβινοειδή. Η διαδικασία είναι αρκετά απλή. Η φυτική ύλη (βιομάζα) της κάνναβης ψύχεται και συνθλίβεται υπό πίεση για να εξαχθεί το επιθυμητό προϊόν. Το φυτό κάνναβης διατηρεί όλα τα κανναβινοειδή, τερπένια, φλαβονοειδή κατά την ψυχρή έκθλιψη. Το μειονέκτημα είναι ότι η χαμηλή απόδοση του τελικού προϊόντος δεν χρησιμοποιείται τόσο ευρέως σε μεγάλη κλίμακα.

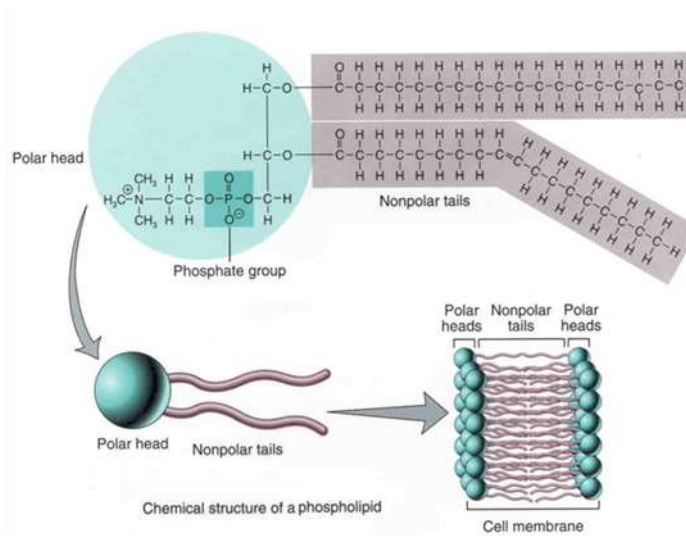
### **3. ΣΥΣΤΑΣΗ ΔΟΜΗ ΤΩΝ ΛΙΠΙΔΙΚΩΝ ΔΙΠΛΟΣΤΙΒΑΔΩΝ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΚΑΙ Η ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥΣ ΥΠΟ ΤΗΝ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΕΞΩΚΥΤΤΑΡΙΩΝ ΟΥΣΙΩΝ**

#### **3.1 ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΜΕΜΒΡΑΝΕΣ**

Οι κυτταρικές μεμβράνες είναι οργανωμένα συγκροτήματα μορίων κυρίως λιπιδίων και πρωτεϊνών σε αναλογία περίπου 50%-50% w/w. (23) Η κύρια λειτουργία τους είναι να διαχωρίζουν τα διάφορα κύτταρα από το περιβάλλον τους. Η δομή τους βασίζεται στο μοντέλο του ρευστού μωσαϊκού. Η οργάνωση της δομής τους συνίσταται στην ρευστή διπλοστιβάδα από φωσφολιπίδια, η οποία σχηματίζει ένα μωσαϊκό με διάφορες πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, γλυκολιπίδια και χοληστερόλη. Οι κυτταρικές μεμβράνες βρίσκονται σε κατάσταση υγρού κρυστάλλου. Παρόλο που η δομή τους δεν είναι στερεοτυπικά ίδια σε κάθε κύτταρο, υπάρχουν ορισμένα βασικά χαρακτηριστικά κοινά σε όλες τις μεμβράνες. Όλες αποτελούνται από φωσφολιπίδια, πρωτεΐνες και υδατάνθρακες. Οι πρωτεΐνες των μεμβρανών εκτελούν όλες τις εξειδικευμένες λειτουργίες, όπως τη μεταφορά μορίων και ιόντων. Οι υδατάνθρακες της πλασματικής μεμβράνης των κυττάρων είναι ενωμένοι με πρωτεΐνες και λιπίδια σχηματίζοντας γλυκοπρωτεΐνες και γλυκολιπίδια. Βρίσκονται στην επιφάνεια των διπλοστιβάδων στον εξωκυττάριο χώρο. Οι γλυκοπρωτεΐνες και τα γλυκολιπίδια της κυτταρικής μεμβράνης μεσολαβούν στην επικοινωνία του κυττάρου με τον εξωκυττάριο χώρο, καθώς λειτουργούν ως υποδοχείς χημικών ερεθισμάτων που δέχεται το κύτταρο από το περιβάλλον του. Η διαδικασία αυτή ονομάζεται κυτταρική αναγνώριση. (24)

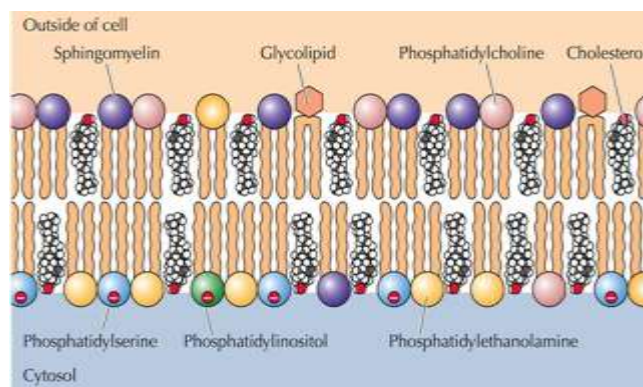
##### **3.1.1 Φωσφολιπίδια των κυτταρικών μεμβρανών.**

Τα φωσφολιπίδια αποτελούνται από δύο υδρόφοβες αλυσίδες λιπαρών οξέων συνδεδεμένες με μια υδρόφιλη κεφαλή μέσω μιας φωσφορικής ομάδας. Στα περισσότερα λιπίδια, η κεντρική ομάδα είναι ένα μόριο γλυκερόλης όπου είναι συνδεδεμένα δύο μόρια λιπαρών οξέων με εστερικούς δεσμούς σχηματίζοντας τις υδρόφοβες υδρογονανθρακικές αλυσίδες. Η πολική κεφαλή αποτελείται κυρίως από μια φωσφορική ομάδα που είναι συνδεδεμένη με την τρίτη υδροξυλομάδα της γλυκερόλης μέσω ενός φωσφοδιεστερικού δεσμού.



Εικόνα 3.1.1.1 δομή φωσφολιπιδίου

Τα τέσσερα κύρια είδη λιπιδίων που δομούν μια κυτταρική μεμβράνη είναι η φωσφατιδυλοχολίνη (phosphatidylcholine), η φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη (phosphatidylethanolamine), η φωσφατιδυλοσερίνη (phosphatidylserine) και η σφιγγομυελίνη (sphingomyelin). Κατανέμονται ασύμμετρα στα δύο τμήματα της διπλοστιβάδας. Το εξωτερικό τμήμα της διπλοστιβάδας αποτελείται κυρίως από φωσφατιδυλοχολίνη και σφιγγομυελίνη, ενώ στο εσωτερικό τμήμα επικρατούν η φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη και η φωσφατιδυλοσερίνη.



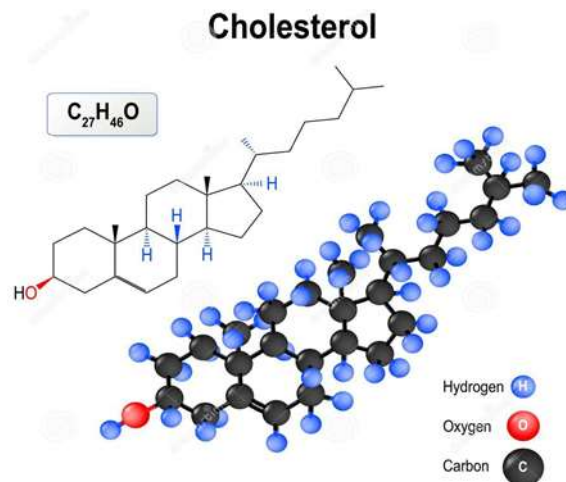
Εικόνα 3.1.1.2 Τα φωσφολιπίδια στην κυτταρική διπλοστιβάδα

Οι πολικές κεφαλές των λιπιδίων εξασκούν ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις και δημιουργούν δεσμούς υδρογόνου με αμινοξικά κατάλοιπα διεπαφής των

μεμβρανικών των επιφανειακών πρωτεϊνών της πλασματικής μεμβράνης επηρεάζοντας την δραστηριότητά τους. Οι υδρογονανθρακικές αλυσίδες των λιπιδίων έχουν μήκος δεκατέσσερα έως είκοσι τέσσερα άτομα άνθρακα. Ο αριθμός των ατόμων άνθρακα είναι πάντα άρτιος εξαιτίας του μηχανισμού σύνθεσής τους. Οι αλυσίδες έχουν συνήθως παράλληλη διάταξη μεταξύ τους. Η διαμόρφωση των αλυσίδων σύμφωνα με τις προβολές Newman, εξαρτάται από τις περιστροφές που πραγματοποιούνται γύρω από τους δεσμούς άνθρακα – άνθρακα (C-C). Οι περιστροφές κατά μήκος των αλυσίδων τους προσδίδουν την διαβαθμισμένη αντι ή την gauche διαμόρφωση. Η gauche διαμόρφωση δημιουργεί στρέβλωση της υδρογονανθρακικής αλυσίδας. Η αντι διαμόρφωση επιτρέπει στις αλυσίδες να βρίσκονται κοντά η μία στην άλλη ενώ η gauche αυξάνει την απόσταση μεταξύ της στρεβλωμένης αλυσίδας και των γειτονικών αλυσίδων. Οι αποστάσεις μεταξύ των υδρογονανθρακικών αλυσίδων έχουν ως επακόλουθο τη δημιουργία των φυσικών ιδιοτήτων της μεμβράνης όπως είναι η μετακίνηση των λιπιδίων, η διαπερατότητα από πολικές ομάδες και η μετάπτωση φάσης από ρευστή σε κολλώδη. Στην κολλώδη φάση οι λιπιδικές αλυσίδες είναι ευθυγραμμισμένες με λίγες περιστροφές γύρω από τους απλούς δεσμούς C-C που βρίσκονται κυρίως στην αντι διαμόρφωση. Η ρευστή μορφή της μεμβράνης χαρακτηρίζεται από σχετικά υψηλή διάχυση των μεμβρανικών συστατικών και μικρότερο πάχος της λιπιδικής διπλοστιβάδας εξ' αιτίας του μεγάλου αριθμού των gauche διαμορφώσεων των υδρογονανθρακικών αλυσίδων. Οι διπλοί δεσμοί C=C στις υδρογονανθρακικές αλυσίδες επίσης μπορούν να βρεθούν με (E) ή (Z) γεωμετρική ισομέρεια. Λιπίδια με κορεσμένες ή ακόρεστες αλυσίδες με (E) γεωμετρική ισομέρεια, συσσωρεύονται με μεγάλη πυκνότητα. Λιπίδια με ακόρεστες αλυσίδες με (Z) ισομέρεια, που είναι και οι πλέον συνήθεις στις βιολογικές μεμβράνες, συσσωρεύονται με μικρότερη πυκνότητα εξαιτίας των παραμορφώσεων των αλυσίδων. Η παρουσία διπλών δεσμών με (Z) ισομέρεια μειώνει το μήκος της υδρογονανθρακικής αλυσίδας και έτσι οι λιπιδικές διπλοστιβάδες των μεμβρανών των ακόρεστων λιπιδίων είναι λεπτότερες από τις αντίστοιχες κορεσμένες του ίδιου αριθμού ανθράκων.

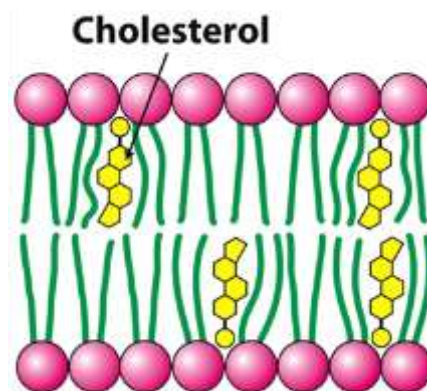
### 3.1.2 Χοληστερόλη

Η χοληστερόλη ανήκει στα στεροειδή. Αποτελείται από τέσσερις συμπυκνωμένους μεταξύ τους υδρογονανθρακικούς δακτυλίους που συνδέονται με μια υδρογονανθρακική αλυσίδα (ουρά) στο ένα άκρο και με μια υδροξυλομάδα στο αντίθετο άκρο. Ο πολικός κυκλικός της δακτύλιος που φέρει την υδροξυλομάδα έχει πολικές ιδιότητες και είναι άκαμπτος.



Εικόνα 3.1.2.1 Χοληστερόλη: Μοριακός τύπος

Η χοληστερόλη βρίσκεται ανάμεσα στις διπλοστιβάδες, με τον πολικό της δακτύλιο κοντά στις πολικές κεφαλές των φωσφολιπιδίων. Η επίδραση που έχει στη ρευστότητα των μεμβρανών, εξαρτάται από τη θερμοκρασία. Σε υψηλές θερμοκρασίες περιορίζει την κίνηση των αλυσίδων των λιπαρών οξέων, μειώνοντας έτσι τη ρευστότητα του εξωτερικού τμήματος της μεμβράνης, και μειώνοντας την διαπερατότητά της σε μικρομόρια. Σε χαμηλές θερμοκρασίες, περιορίζει την αλληλεπίδραση των αλυσίδων των λιπαρών οξέων και έτσι τις προστατεύει από την πήξη, με αποτέλεσμα να διατηρούν την ρευστότητά τους.



Εικόνα 3.1.2.2. Η χοληστερόλη στη διπλοστιβάδα φωσφολιπιδίων.

Τα γλυκολιπίδια αποτελούνται από έναν υδατάνθρακα ομοιοπολικά ενωμένο με ένα λιπίδιο. Στις κυτταρικές μεμβράνες συναντώνται κυρίως σαν γλυκοσφιγγολιπίδια, με βασική δομική μονάδα το κεραμίδιο (λιπίδια που αποτελούν το ~50% των



συστατικών του φυσικού επιδερμικού φραγμού). Η σφιγγομειλίνη είναι το γλυκολιπίδιο που συναντάται συχνότερα στις διπλοστιβάδες. Είναι μια αμινοαλκοόλη που περιέχει μια ακόρεστη υδρογονανθρακική αλυσίδα. Η αμινομάδα της συνδέεται με ένα λιπαρό οξύ ενώ η υδροξυλομάδα της με μια φωσφοριλιωμένη αλκοόλη την χολίνη. Απαντώνται κυρίως στην εσωτερική στιβάδα δηλαδή στη στιβάδα που γειτνιάζει με τον ενδοκυττάριο χώρο. Το απλούστερο γλυκολιπίδιο είναι ο κερεβροζίτης, που αποτελείται από ένα μόριο σακχάρου, τη γλυκόζη ή τη γαλακτόζη. Πιο πολύπλοκα γλυκολιπίδια μπορεί να περιέχουν μια διακλαδισμένη αλυσίδα που αποτελείται από έως και επτά μονοσακχαρίτες.

### 3.1.3. Πρωτεΐνες κυτταρικής μεμβράνης

Οι πρωτεΐνες που βρίσκονται στην κυτταρική μεμβράνη και έχουν ένα τουλάχιστον πολυπεπτιδικό τμήμα να διαπερνά την λιπιδική διπλοστιβάδα, λέγονται διαμεμβρανικές πρωτεΐνες. Πολλές πρωτεΐνες από αυτές περιέχουν και γλυκοσιδικές αλυσίδες που συνήθως προσκολλώνται στην αμινική ομάδα του αμινοξέος, την ασπαραγίνη. Οι πρωτεΐνες αυτές λέγονται γλυκοπρωτεΐνες. Το περιβάλλον των μεμβρανικών πρωτεϊνών έχει μία πολική υδρόφιλη περιοχή εκτός της μεμβράνης, μία πολική ιοντική περιοχή στη μεμβρανική επιφάνεια και μία λιπόφιλη περιοχή στο εσωτερικό της μεμβράνης. Το διαφορετικό περιβάλλον, με διαφορετικές διηλεκτρικές ιδιότητες, θέτει δομικούς περιορισμούς στις μεμβρανικές πρωτεΐνες και επίσης ρυθμίζει τη δυναμική τους λειτουργία. Όλες οι μεμβρανικές πρωτεΐνες έχουν μία συγκεκριμένη κατακόρυφη ή πλευρική προς την μεμβράνη διεύθυνση στην διλιπιδική στιβάδα. Οι μεμβρανικές πρωτεΐνες ανάλογα με τη θέση τους στη μεμβράνη χωρίζονται σε κατηγορίες.

- Περιφερειακές Μεμβρανικές Πρωτεΐνες (Peripheral Membrane Proteins)

Βρίσκονται έξω από την διπλοστιβάδα των φωσφολιπιδίων, αλλά συνδέονται με αυτήν με μη ομοιοπολικούς δεσμούς. Μπορεί να βρίσκονται στον ενδοκυττάριο ή στον εξωκυττάριο χώρο. Οι περιφερειακές πρωτεΐνες σχηματίζουν ένα φλοιό (κυτταρικός φλοιός) και προσδίδουν έτσι στο κύτταρο τη μορφή του, προσφέρουν σταθερότητα στη μεμβράνη, διαβιβάζουν εξωκυττάρια σήματα στο εσωτερικό του κυττάρου.

- Ενσωματωμένες Μεμβρανικές Πρωτεΐνες (Integral Membrane Proteins). Στις ενσωματωμένες πρωτεΐνες ανήκουν και οι διαμεμβρανικές πρωτεΐνες (transmembrane proteins) οι οποίες, διαπερνούν τη λιπιδική διπλοστιβάδα (τουλάχιστον 1 φορά), και τμήματα τους προεξέχουν και από τις δύο πλευρές της μεμβράνης.

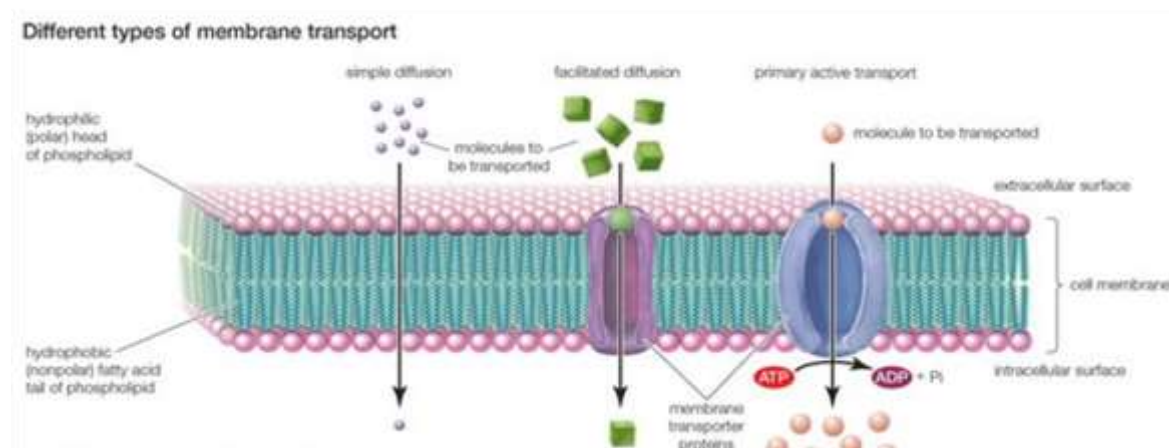
- Λιποσυνδεδεμένες Μεμβρανικές Πρωτεΐνες (Lipid-Anchored Proteins)

Βρίσκονται εκτός της λιπιδικής διπλοστιβάδας και είναι ομοιοπολικά συνδεδεμένες με λιπίδια. (24-25)

### 3.1.4 Διαμεμβρανική μεταφορά μορίων

Για την μεταφορά μικρών μορίων μπορεί να ακολουθήσει μια από τις εξής διαδικασίες.

- Παθητική διάχυση (passive diffusion). Στην περίπτωση αυτή το μόριο διαχέεται μέσα στη διπλοστιβάδα της κυτταρικής μεμβράνης και διέρχεται έως την άλλη της πλευρά και στη συνέχεια διαλύεται στο υδατικό περιβάλλον που βρίσκεται στον ενδοκυττάριο χώρο.
- Υποβοηθούμενη διάχυση (facilitated diffusion). Στην υποβοηθούμενη διάχυση οι ουσίες δεν διέρχονται από την λιπιδική διπλοστιβάδα αλλά μέσα από τις διαμεμβρανικές πρωτεΐνες, και δεν υπάρχει αλληλεπίδραση με τον λιπόφιλο χώρο των μεμβρανών. Οι πρωτεΐνες που συμμετέχουν στην διαδικασία αυτή είναι οι πρωτεΐνες-φορείς και οι πρωτεΐνες-διάλυοι.
- Ενεργός μεταφορά (active transport). Στην περίπτωση της ενεργού μεταφοράς χρησιμοποιείται η ενέργεια που παράγεται από μια αντίδραση π.χ. την υδρόλυση της ATP (τριφωσφορική αδενοσίνη) για να μεταφερθούν τα μόρια προς την επιθυμητή κατεύθυνση (26-28).



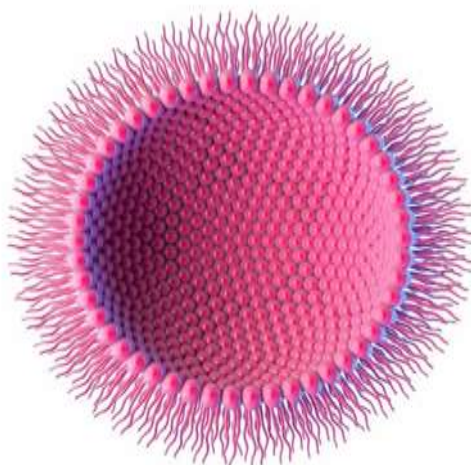
Εικόνα 3.1.4.1. Τρόποι διαμεμβρανικής μεταφοράς ιόντων.

### 3.1.5 Το μοντέλο του ρευστού μωσαϊκού

Σύμφωνα με το μοντέλο του ρευστού μωσαϊκού, η κυτταρική μεμβράνη αποτελείται από μια διπλοστιβάδα λιπιδίων, τα οποία βρίσκονται σε μια υγρή κατάσταση, με τη

δυνατότητα να μετακινούνται, να περιστρέφονται και να αλλάζουν επίπεδο, δηλαδή να μεταφέρονται από την εξωτερική στιβάδα στην εσωτερική και αντίστροφα. Η ρευστότητα αποδίδεται στα συστατικά που δομούν την κυτταρική μεμβράνη, ενώ η εμφάνιση του μωσαϊκού αποδίδεται στην ποικιλότητα των δομικών της μορίων. Οι μεμβράνες συμπεριφέρονται σαν δισδιάστατα ρευστά, δηλαδή τα μεμονωμένα μόρια των λιπιδίων και των πρωτεϊνών έχουν την δυνατότητα να περιστρέφονται και να κινούνται πλευρικά στο επίπεδό της μεμβράνης. Η ρευστότητα της εξαρτάται τόσο από την θερμοκρασία όσο και από τη σύσταση των λιπιδίων. Οι αλληλεπιδράσεις που δημιουργούνται ανάμεσα στα φωσφολίπια είναι διαμοριακές δυνάμεις van der Waals και εξαρτώνται από το μήκος των αλυσίδων, των λιπαρών οξέων. Όσο μικρότερο το μήκος των αλυσίδων, τόσο ασθενέστερες οι διαμοριακές δυνάμεις van der Waals που αναπτύσσονται. Οι κυτταρικές μεμβράνες με φωσφολίπια με αλυσίδες μικρού μήκους, είναι πιο εύκαμπτες, και διατηρούν τη ρευστότητά τους σε χαμηλές θερμοκρασίες. Επίσης, τα λιπίδια που περιέχουν ακόρεστα λιπαρά οξέα αυξάνουν την ρευστότητα των μεμβρανών, αφού οι διπλοί δεσμοί που υπάρχουν, στρεβλώνουν τις αλυσίδες των λιπαρών οξέων και δεν έχουν τη δυνατότητα να αλληλεπιδράσουν στενά μεταξύ τους. Ένας ακόμα παράγοντας που επηρεάζει τη ρευστότητα των μεμβρανών είναι η χοληστερίνη.

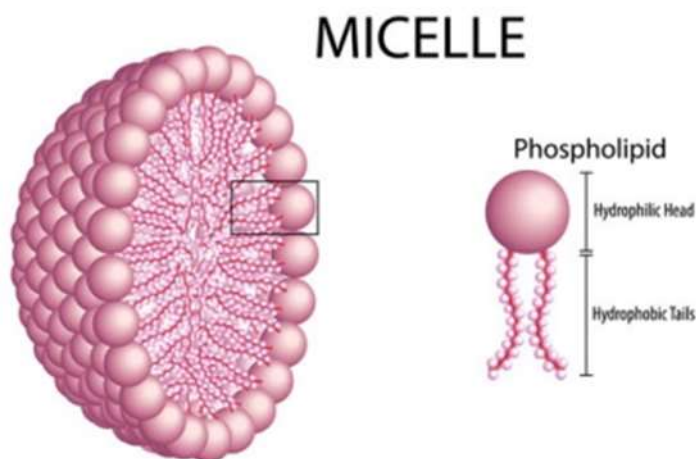
### 3.2 ΜΙΚΚΥΛΙΑ



Εικόνα 3.2.1 Μικκύλιο σε λιπαρό περιβάλλον

Στα λιπαρά οξέα διακρίνουμε μια πολική κεφαλή και μια υδρόφοβη ουρά. Ενώσεις που αποτελούνται από υδρόφοβες και πολικές ομάδες χαρακτηρίζονται αμφίτροπες ή αμφίφιλες. Τα αμφίτροπα μόρια τείνουν να σχηματίζουν στο νερό μικκύλια. (29)

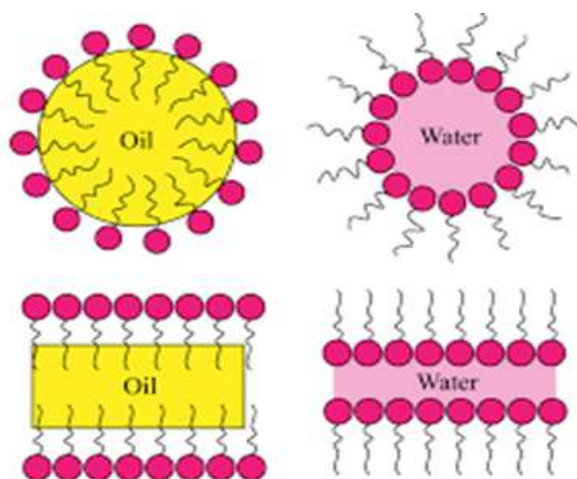
Έτσι οι φορτισμένες καρβοξυλομάδες βρίσκονται εκτεθειμένες στο υδατικό περιβάλλον, ενώ οι υδρόφοβες ουρές είναι ομαδοποιημένες στον εσωτερικό χώρο του μικκυλίου, όπου αναπτύσσονται μεταξύ τους ασθενείς δυνάμεις van der Waals. Λόγω του υδρόφοβου περιβάλλοντος που σχηματίζεται στο εσωτερικό της δομής των μικκυλίων έχουμε τη δυνατότητα να εγκλωβίσουμε υδρόφοβες - λιπόφιλες ουσίες. Αντίθετα όταν τα λιπαρά οξέα βρίσκονται σε λιπόφιλο περιβάλλον οι λιπόφιλες ουρές βρίσκονται στο εξωτερικό του σχηματιζόμενου μικκυλίου και οι πολικές κεφαλές στο εσωτερικό του όπου σχηματίζουν ένα υδρόφιλο εσωτερικό χώρο. Τα μικκύλια είναι συνήθως σφαιρικά, αφού η σφαιρική δομή απαιτεί τη λιγότερη ενέργεια για να παραμείνει σταθερή με μέγεθος από 2 έως 20 nm ανάλογα με τη σύνθεση. Οι πιο συνηθισμένες μέθοδοι για την παρασκευή μικκυλίων περιλαμβάνουν το γαλάκτωμα ελαίου σε νερό και οι διαστάσεις της διαμέτρου στη νανοκλίμακα είναι μικρότερη από 50 nm.(30) Μια άλλη κατηγορία μικκυλίων αποτελείται από μίγμα συνθετικών πολυμερών με λιπίδια. Ένα πολύ συνηθισμένο στην κοσμητολογία πολυμερές είναι το PEG-PE.



Εικόνα 3.2.2 Δομή μικκύλιου

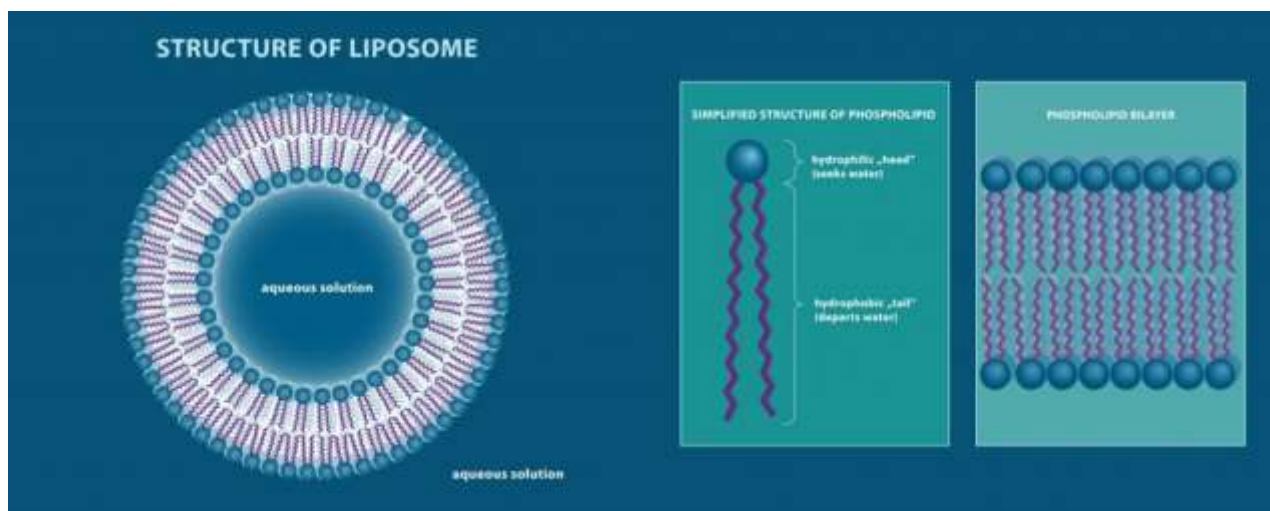
Στην κοσμητολογία και την φαρμακευτική ο εγκλωβισμός σε μικκύλια χρησιμοποιείται για πολύ δραστικές και ευαίσθητες ουσίες, επειδή τις αποτρέπει από το να αντιδρούν ή να οξειδώνουν άλλες εξωκυττάρια ουσίες με αποτέλεσμα να τις μεταφέρονται στα κύτταρα στόχους αναλλοίωτες. Στα μικκύλια μπορούν να εγκλωβιστούν τόσο υδρόφιλοι όσο και υδρόφοβοι παράγοντες οι οποίοι αποδεσμεύονται με παρατεταμένο και ελεγχόμενο τρόπο. Τα μικκύλια βελτιώνουν τη φαρμακοκινητική και την ευνοϊκή κατανομή της ουσίας στους ιστούς και αυξάνουν

την βιοδιαθεσιμότητα της δραστικής ουσίας (31). Σε χαμηλές συγκεντρώσεις σε υδατικό μέσο, τα αμφίφιλα μόρια βρίσκονται σε αποστάσεις μεταξύ τους ως μεμονωμένα μόρια. Ωστόσο, όταν η συγκέντρωσή τους είναι αυξημένη, τα μόρια αρχίζουν να γειτνιάζουν πολύ κοντά το ένα με το άλλο. Η συγκέντρωση στην οποία το μονομερές αμφίφιλο σχηματίζει μικκύλια ονομάζεται κρίσιμη συγκέντρωση μικκυλίου (CMC: Critical Micelle Concentration). Ο αριθμός των μεμονωμένων μορίων που σχηματίζει ένα μικκύλιο ονομάζεται αριθμός συσσωμάτωσης του μικκυλίου. Ο σχηματισμός τους καθορίζεται από την ελάττωση της ελεύθερης ενέργειας  $\Delta G$  στο σύστημα λόγω των απώσεων και της απομάκρυνσης των υδρόφοβων τμημάτων από το υδατικό περιβάλλον και της αποκατάστασης του δικτύου δεσμών υδρογόνου στο νερό. Το ποσό της απαραίτητης ενέργειας μειώνεται, λόγω των ελκτικών δυνάμεων van der Waals μεταξύ υδρόφοβων μορίων στον πυρήνα των σχηματισμένων μικκυλίων. (32)



Εικόνα 3.2.3 Οι δύο τύποι μικκυλίων. Μικκύλιο σε λάδι και μικκύλιο σε νερό

### 3.3 ΛΙΠΟΣΩΜΑΤΑ



Εικόνα 3.3.1 Λιπόσωμα αποτελούμενο από μια διπλοστιβάδα φωσφολιπιδίων

Τα λιποσώματα αποτελούνται από μια διπλοστιβάδα φωσφολιπιδίων όπου λόγω της διαδικασίας της αυθόρμητης αυτοοργάνωσης δημιουργούνται σφαιρικές δομές. Στο εσωτερικό του λιποσώματος υπάρχει μια κοιλότητα με υδρόφιλο χαρακτήρα, αλλά και η εξωτερική επιφάνειά τους έχει υδρόφιλο χαρακτήρα αντίστοιχα. Στον ενδιάμεσο χώρο των λιπόφιλων ουρών, σχηματίζεται το λιπόφιλο περιβάλλον. Τα φωσφολιπίδια διατάσσονται παράλληλα με τις κεφαλές προς τα έξω και τις ουρές προς τα μέσα σχηματίζοντας διπλοστιβάδες. Αυτή η διαδικασία γίνεται αυθόρμητα σε υδατικό περιβάλλον. Το μέγεθος των κυστιδίων επηρεάζει το χρόνο ημιζωής στην κυκλοφορία των λιποσωμάτων και τόσο το μέγεθος όσο και ο αριθμός των διπλοστιβάδων επηρεάζουν την ποσότητα της ενθυλάκωσης της δραστικής ουσίας στα λιποσώματα. Ανάλογα με το μέγεθος και τον αριθμό των διπλοστιβάδων, τα λιποσώματα ταξινομούνται σε δύο κατηγορίες:

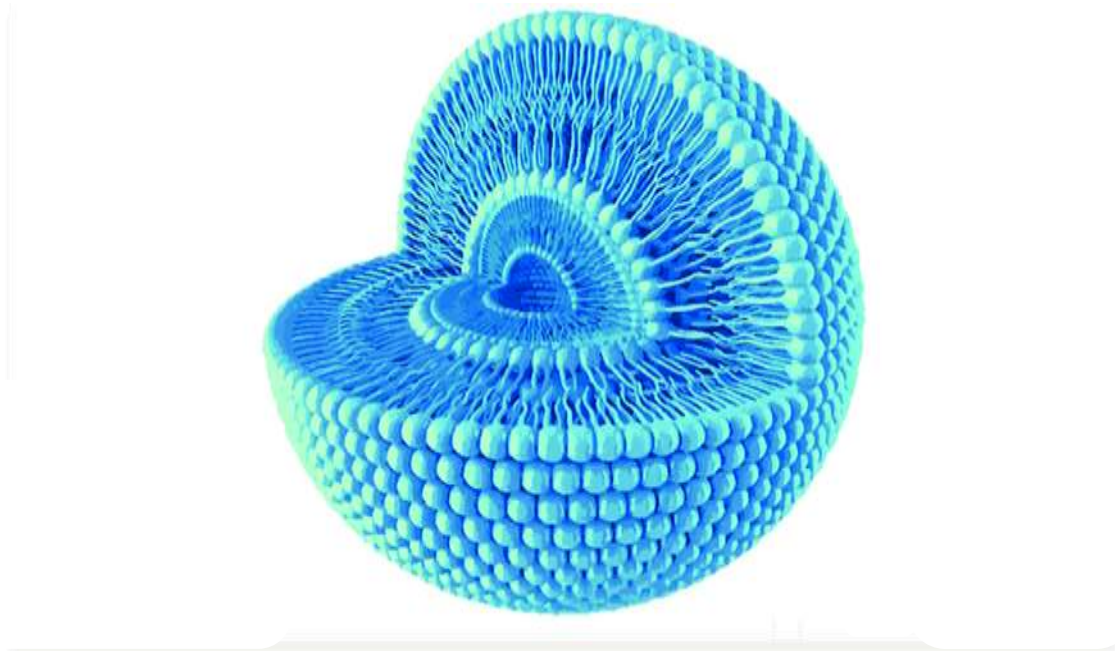
- 1) πολυστρωματικά κυστίδια (MLV: multilamellar vesicles) και
- 2) μονοστρωματικά κυστίδια.

Τα μονοστρωματικά κυστίδια μπορούν επίσης να ταξινομηθούν σε δύο κατηγορίες:

- i. μεγάλα μονοστρωματικά κυστίδια (LUV: large unilamellar vesicles) και
- ii. μικρά μονοστρωματικά κυστίδια (SUV: small unilamellar vesicles).

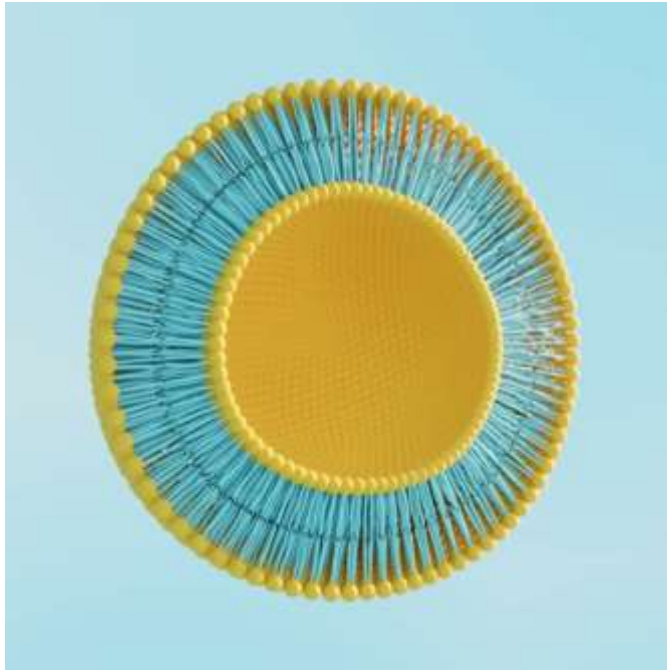
Στα μονοστιβαδικά λιποσώματα, το κυστίδιο έχει μια μοναδική φωσφολιπιδική διπλοστιβάδα που περικλείει το υδατικό διάλυμα. Στα πολυστρωματικά λιποσώματα,

τα κυστίδια έχουν δομή κρεμμυδιού. Πολλά μονοστρωματικά κυστίδια θα σχηματιστούν στο εσωτερικό του άλλου κυστιδίου με μικρότερο μέγεθος, δημιουργώντας μια πολυστρωματική δομή ομόκεντρων φωσφολιπιδικών σφαιρών που χωρίζονται από στρώματα νερού. (32-33)



Εικόνα 3.3.2 Λιπόσωμα αποτελούμενο από 2 διπλοστιβάδες φωσφολιπιδίων.

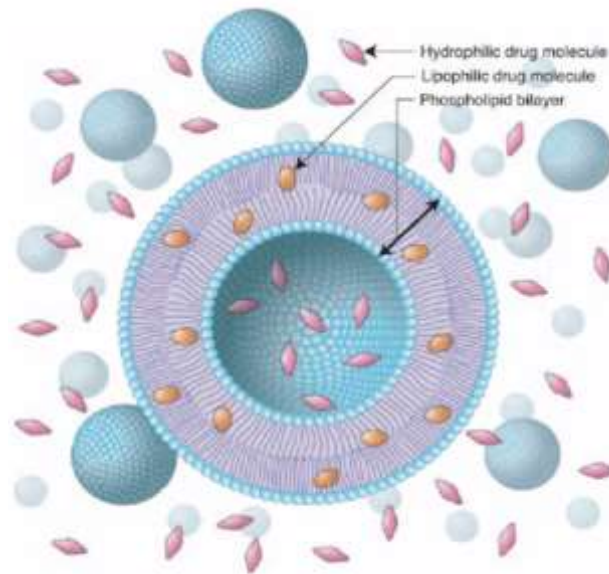
Τα λιποσώματα μπορούν να λειτουργήσουν σαν φορείς, μεταφέροντας βιοδραστικά μόρια στην πλασματική μεμβράνη και στον ενδοκυττάριο χώρο των κυττάρων (34).



Εικόνα 3.3.3 Δομή λιποσώματος

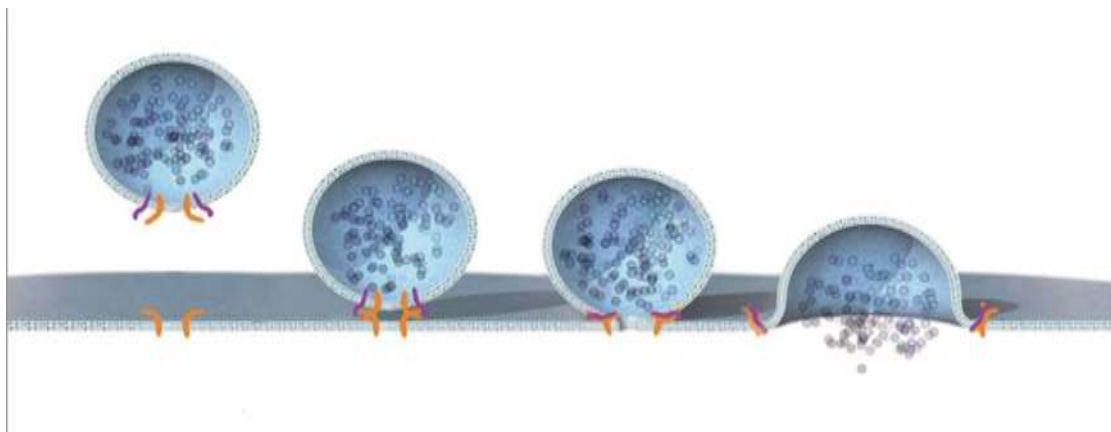
Η δομή και η μορφολογία των λιποσωμάτων που σχηματίζονται σε υδατικό περιβάλλον εξαρτάται από τις ιδιότητες των μορίων και την επιφανειακή τάση. Ο παράγοντας πακεταρίσματος  $S$  των λιπιδίων δίνεται από την εξίσωση  $S=V/a_0 \cdot l_0$  ( $V$ :volume of the hydrophobic tail/όγκος της υδρόφοβης ουράς των φωσφολιπιδίων,  $l_0$ :length of the hydrophobic tail/το μήκος της υδρόφοβης ουράς των φωσφολιπιδίων,  $a_0$ :headgroup area- περιοχή πολικών κεφαλών). Για τις τιμές  $\frac{1}{2} < S < 1$  τα φωσφολιπίδια διατάσσονται σε διπλοστιβάδες. Στις υδρόφιλες και λιπόφιλες περιοχές των λιποσωμάτων μπορούν να εγκλωβιστούν στοχευμένα λιπόφιλες και υδρόφιλες ουσίες αντίστοιχα. Συμφωνία με πειραματικές μελέτες, ακολουθώντας τον τύπο  $S=V/a_0 \cdot l_0$  προκύπτει πώς η μέγιστη ποσότητα χοληστερόλης που μπορεί να ενσωματωθεί σε διπλές στοιβάδες PC είναι 50 mol%.(35)





Εικόνα 3.3.4 Λιπόσωμα με ενθυλακωμένα λιπόφιλα και υδρόφιλα μόρια

Οι υδρόφιλες ουσίες που βρίσκονται εγκλωβισμένες στην υδρόφιλη κοιλότητα του λιποσώματος απελευθερώνονται στον ενδοκυττάριο χώρο με διάχυση. Οι λιπόφιλες ουσίες όπου βρίσκονται εγκλωβισμένες στο χώρο των λιπόφιλων ουρών, παραμένουν εγκλωβισμένες πλέον στο λιπόφιλο χώρο των κυτταρικών μεμβρανών. Έτσι μπορούν να χρησιμοποιηθούν πολύ δραστικές και ασταθείς ουσίες, με λιγότερες παρενέργειες και με πιο στοχευμένη δράση.



Εικόνα 3.3.5. Σύντηξη λιποσώματος με κυτταρική μεμβράνη και απελευθέρωση των δραστικών συστατικών

Τέσσερις κύριοι τύποι λιποσωμάτων έχουν χρησιμοποιηθεί ως συστήματα μεταφοράς δραστικών ουσιών.

α) Συμβατικά λιποσώματα. Αυτά περιλαμβάνουν ουδέτερα φωσφολιπίδια, τα οποία δημιουργούν σχετικά ασταθείς δομές των λιποσωμάτων. Έχουν επίσης μειωμένες ικανότητες μεταφοράς και τείνουν να απελευθερώνουν μη στοχευμένα τις εγκλωβισμένες ουσίες. Παρά τους περιορισμούς αυτούς, τα περισσότερα από τα LDS (Lyotropic Delivery System) που χρησιμοποιούνται βασίζονται σε αυτόν τον τύπο κυστιδίων. Συχνά προστίθεται χοληστερόλη για να σταθεροποιηθούν αυτές οι δομές.

β) Τα λιποσώματα Stealth, που ονομάζονται επίσης δομικά σταθεροποιημένα (sterically stabilized) λιποσώματα, διαμορφώνονται με την ενσωμάτωση υδρόφιλων πολυμερών μακράς αλυσίδας, όπως η πολυαιθυλενογλυκόλη (PEG, PEGylated λιποσώματα) στη διπλοστιβάδα, με αποτέλεσμα να επικαλύπτεται το λιπόσωμα με μια επιφάνεια που απωθεί τη διείσδυση και την προσρόφηση. Αυτά τα λιποσώματα είναι σταθερότερα και παρέχουν πρόσθετη προστασία των ενθυλακωμένων ουσιών επεκτείνοντας έτσι τον χρόνο ημιζωής της μεταφοράς σε σύγκριση με τα συμβατικά λιποσώματα.

γ) Ενεργά λιποσώματα. Περιλαμβάνουν τροποποιημένα λιποσώματα που περιέχουν ουσίες που επιτρέπουν εκλεκτική, ελεγχόμενη απελευθέρωση τους από το λιπόσωμα. Αρχικά, τα διεσπαρμένα λιποσώματα κυκλοφορούν δια μέσου των διαμερισμάτων του κυττάρου χωρίς καμία αξιόλογη απελευθέρωση των εγκλωβισμένων ουσιών.

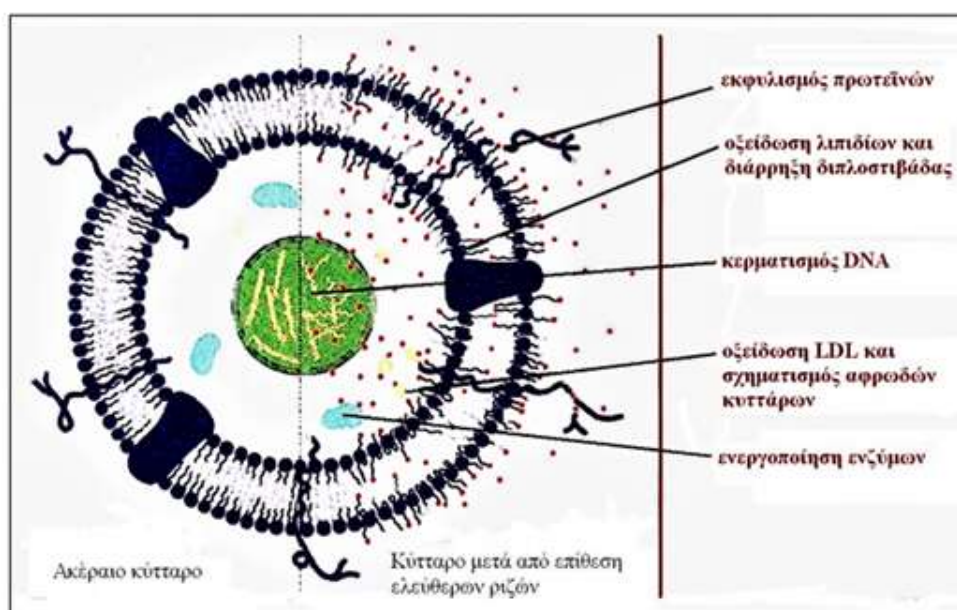
δ) Φορτισμένα λιποσώματα ή λιπόλεξα, τα οποία περιλαμβάνουν λιποσώματα που ενσωματώνουν φορτισμένα φωσφολιπίδια. Σε αυτή την κατηγορία λιποσωμάτων εξασκούνται ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις με αντίθετα φορτισμένα μακρομόρια (δηλαδή DNA, RNA και πρωτεΐνες). Αυτού του τύπου τα λιποσώματα αποτελούν επίσης έναν αποτελεσματικό τρόπο μεταφοράς και αξιοποίησης ουσιών υψηλού μοριακού βάρους.(36)

## 4. ΛΙΠΟΣΩΜΑΤΑ ΚΑΙ ΚΑΝΝΑΒΙΔΙΟΛΗ

### 4.1 ΛΙΠΟΣΩΜΑΤΑ ΚΑΙ ΚΑΝΝΑΒΙΔΙΟΛΗ

Η δράση της λιποσωματικής CBD έχει μελετηθεί διεξοδικά στην αντιμετώπιση διαφόρων ασθενειών και λιγότερο στην αντιοξειδωτική της δράση στα κερατινοκύτταρα. Ωστόσο, στην παρούσα εργασία θα ήταν σκόπιμο να γίνει μια σύντομη αναφορά στην θεραπευτική δράση της μη ενθυλακωμένης και ενθυλακωμένης σε λιποσώματα κανναβιδιόλης σε ορισμένες παθήσεις και στην συνέχεια να αναφερθεί η αντιοξειδωτική της και προστατευτική της δράση στα δερμοκύτταρα.

Ο σκοπός της ενθυλάκωσης της κανναβιδιόλης σε λιποσώματα είναι η αποτροπή της αντίδρασης της με εξωτερικούς παράγοντες καθώς οξειδώνεται εύκολα, διατηρώντας με αυτήν την τεχνική τη σταθερότητα και δραστικότητα της. Επίσης, επιτρέπει τη διάχυση σε βαθύτερες στιβάδες και τη στοχευμένη απελευθέρωση της στα κύτταρα. In vitro μελέτες διάχυσης με χρήση ανθρώπινου ιστού έχουν αποδείξει τη δυνατότητα μεταφοράς της CBD στα βαθύτερα στρώματα του δέρματος.(37) Προκλινικές και κλινικές μελέτες έχουν συμβάλει στην κατανόησή των δυνατοτήτων της CBD για την αντιμετώπιση πολλών παθήσεων συμπεριλαμβανομένων και αυτών που σχετίζονται με το οξειδωτικό στρες.



Εικόνα 4.1.1 Υπεροξείδωση λιπιδίων της λιπιδικής διπλοστιβάδας

Η CBD μελετήθηκε αφενός μεν σε λιποσώματα, αφετέρου και σε άλλα συστήματα ενθυλάκωσης καθώς επίσης και σε μη ενθυλακωμένη μορφή. (38) Σύμφωνα με

έρευνα που πραγματοποιήθηκε το 2020, παρασκευάστηκαν μικροκάψουλες (συστήματα εγκλωβισμού) με την χρήση melt-print τεχνικής για πολυμερή. Στο σύστημα εγκλωβισμού ενθυλακώθηκε κανναβιδιόλη και εγχύθηκε υποδόρια σε ποντίκια. Παρατηρήθηκε πως η CBD απελευθερωνόταν σταδιακά για τις επόμενες δύο εβδομάδες, κάτι που φαινόταν και από την συγκέντρωση της στο αίμα. Μια εβδομάδα μετά τη χορήγηση, μειώθηκε η συχνότητα των επιληπτικών κρίσεων κατά 40% και αυξήθηκε το ποσοστό επιβίωσης κατά 50% .

Σε μια επιστημονική μελέτη, εξετάστηκε η επίδραση που έχει η κανναβιδιόλη σε *in vitro* καλλιέργεια ινοβλαστών, που είχαν υποστεί θεραπεία με LPS (lipopolysaccharides). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η κανναβιδιόλη που χορηγήθηκε εγκλωβισμένη σε λιποσώματα, είχε την μέγιστη αντιφλεγμονώδη δράση (39).

Μια άλλη αναφορά σχετικά με την κλινική ασφάλεια πραγματοποιήθηκε σε δέκα εθελοντές, που έλαβαν παρασκευάσμα ενθυλακωμένης κανναβιδιόλης σε λιποσώματα. Πραγματοποιήθηκαν συνολικά τριακόσιες σαράντα εξετάσεις αίματος, από τις οποίες οι τριακόσιες τριάντα εννέα παρουσίαζαν σταθερές τιμές ή μεταβλήθηκαν προς τις ιδανικές τιμές. Επίσης αρχικά υπήρχαν πέντε συμμετέχοντες με ανεβασμένη τιμή γλυκόζης στο αίμα κατά την αρχική μέρα (day 0), οι οποίοι είχαν φυσιολογικά επίπεδα γλυκόζης κατά την λήξη της μελέτης την τριακοστή ημέρα (day30). (40)

Διερευνήθηκε η αποτελεσματικότητα της τοπικής εφαρμογής CBD (1–10%) σε μορφή gel, ειδικά για μείωση των συμπτωμάτων που σχετίζονται με φλεγμονή αρθρίτιδας, και διαπιστώθηκε ότι απορροφήθηκε καλά. Η απορροφούμενη ποσότητα εκφρασμένη σε συγκέντρωση έδειξε γραμμική σχέση με τη δόση που εφαρμόστηκε. Η τοπική εφαρμογή CBD έχει θεραπευτικές δυνατότητες για ανακούφιση από πόνο και φλεγμονές που σχετίζονται με τον πόνο της αρθρίτιδας χωρίς εμφανείς παρενέργειες, (41)

Μία άλλη ερευνητική εργασία αναφέρεται σε φυσιολογικά ανθρώπινα κερατινοκύτταρα στα οποία επέδρασε η CBD προκαλώντας την έκφραση πολλών γονιδίων-στόχων Nrf2 (Nuclear factor-erythroid factor 2-related factor 2 ), με το ένζυμο HMOX1(Αιμοοξυγενάση1),το οποίο έχει αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες να είναι το περισσότερο ρυθμιζόμενο γονίδιο από την CBD. (25)

Σε μια άλλη επιστημονική έρευνα, πραγματοποιήθηκε *in vitro* μελέτη για την αντιμετώπιση του γλοιοβλαστώματος. Εξετάστηκε η κανναβιδιόλη εγκλωβισμένη πάλι σε λιποσώματα, αλλά και λιποσώματα εμβυθισμένα σε κανναβιδιόλη , καθώς και λιποσώματα που δεν περιείχαν CBD. Παρατηρήθηκε ότι τα λιποσώματα μικρότερου μεγέθους (20nm) οδήγησαν σε τρεις φορές μεγαλύτερη μείωση της τιμής της IC50 (Μέση Μέγιστη Ανασταλτική Συγκέντρωση: Μέτρο της

αποτελεσματικότητας μιας ουσίας στην αναστολή μιας συγκεκριμένης βιολογικής ή βιοχημικής λειτουργίας) σε σύγκριση με τα μεγαλύτερου μεγέθους λιποσώματα (50nm) .(42)

Σε άλλη έρευνα που πραγματοποιήθηκε με συμμετοχή δεκαπέντε εθελοντών μετρήθηκαν τα ποσοστά κανναβιδιόλης στο αίμα, με λήψη από το στόμα, μη ενθυλακωμένης κανναβιδιόλης και σκεύασματος με κανναβιδιόλη ενθυλακωμένη σε λιποσώματα. Το 100% των συμμετεχόντων που λάμβαναν το σκεύασμα με τα λιποσώματα, είχαν κανναβιδιόλη στο αίμα, ενώ για τους συμμετέχοντες που λάμβαναν το σκεύασμα της μη ενθυλακωμένης κανναβιδιόλης, μόλις το 40% παρουσίασε επίπεδα συγκέντρωσης κανναβιδιόλης στο αίμα .(43)

Η κανναβιδιόλη (CBD) έχει προταθεί ως ένας πιθανός παράγοντας για τη διαχείριση του καρκίνου του μαστού. Εξετάστηκε η πιθανή χρήση κανναβιδιόλης σε διάλυμα (CBDsol) και εγκλεισμένη σε πολυμερή μικροσωματίδια όταν συνδυάζεται με πακλιταξέλη (PTX) και δοξορουβικίνη (DOX) στη θεραπεία του καρκίνου του μαστού. Η χορήγηση του CBDsol, ενίσχυσε την αποτελεσματικότητα της PTX και DOX και στους δυο τύπους καρκινικών κυττάρων του μαστού. Η παράλληλη χορήγηση CBDsol και PTX ή DOX έδειξε συνεργηστική δράση. Το σκεύασμα που σχεδιάστηκε {CBD-Mps / (CBD Microparticles)} ήταν αποτελεσματικό ως μονοθεραπεία, με παρατεταμένη αντιπολλαπλασιαστική δράση για τουλάχιστον δέκα ημέρες όταν αυτό συνδυάστηκε με PTX ή DOX. Επίσης το σκεύασμα παρουσίασε σημαντική αύξηση στην αντιπολλαπλασιαστική δράση του PTX και DOX. (44)

Η αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση της CBD στα κερατινοκύτταρα έχει αναφερθεί σε διάφορες επιστημονικές μελέτες και είναι λιγότερο διερευνημένη σε σχέση με την θεραπευτική της δράση ως φαρμακοφόρο μόριο.

Σε μια επιστημονική in vitro μελέτη χρησιμοποιήθηκαν ανθρώπινα κερατινοκύτταρα, και αναφέρθηκε ότι η CBD μπόρεσε να διεισδύσει σε αυτά και να αποκαταστήσει την ισορροπία του οξειδωτικού στρες που είχε διεγερθεί από την ακτινοβολία UVB. Βρέθηκε ότι η CBD ενισχύει σημαντικά τη δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων όπως η υπεροξειδική δισμουτάση και η αναγωγάση της θειορεδοξίνης σε κερατινοκύτταρα που ακτινοβολούνται με υπεριώδη ακτινοβολία. (45)

Επίσης παρατηρήθηκε ότι η CBD είχε αντιοξειδωτική και προστατευτική δράση κατά της αποικοδόμησης της κυτταρικής μεμβράνης που προκαλείται από την δράση των ελευθέρων ριζών σχηματίζοντας υπεροξειδία των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων. Σε αυτό συνηγορεί μια έρευνα, (46) κατά την οποία χρησιμοποιήθηκε η τεχνική HPLC/MS (High Performance Liquid Chromatography Mass Spectrometer) για την διερεύνηση της μεταφοράς της CBD στα κερατινοκύτταρα. Σε πρώτο στάδιο, τα κερατινοκύτταρα ακτινοβολήθηκαν με UVB ακτινοβολία προς διέγερση του

οξειδωτικού στρες και κατά συνέπια ανεξέλεγκτη παραγωγή ελευθέρων ριζών. Στην συνέχεια παρατηρήθηκε με HPLC/MS η μεταβολή των συγκεντρώσεων υπεροξειδωμένα λιπίδια/ακέραια λιπίδια πριν και μετά την χορήγηση λιποσωματικής CBD. Από την μελέτη προέκυψε ότι με την χορήγηση της λιποσωματικής CBD, η αναλογία υπεροξειδωμένα λιπίδια /ακέραια λιπίδια ελαττώθηκε, ένα αποτέλεσμα που αποδεικνύει την αντιοξειδωτική της δράση.

Μία επιστημονική έρευνα αναφέρεται στην αντιφλεγμονώδη δράση της CBD κατά την οποία τρεις ασθενείς που έπασχαν από Bullosa επιδερμόλυση είχαν ταχύτερη επούλωση πληγών, λιγότερη δημιουργία φυσαλίδων και ανακούφιση του πόνου με τοπική χρήση κανναβιδιόλης. Η Bullosa-επιδερμόλυση είναι μια σπάνια δερματική διαταραχή που χαρακτηρίζεται από πόνο και φουσκάλες .(47)

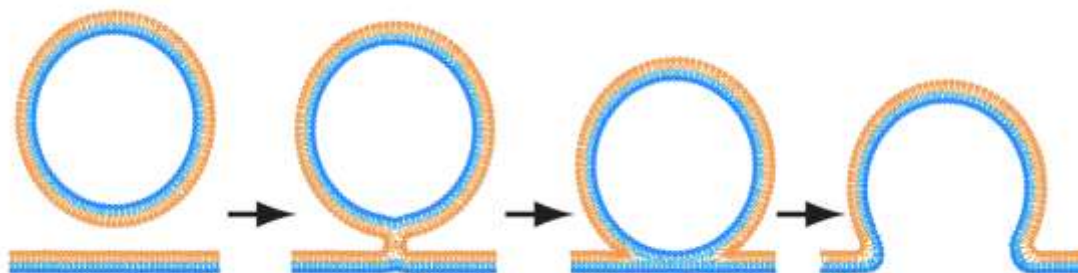
Άλλη μελέτη πραγματοποιήθηκε για να αξιολογηθεί η αποτελεσματικότητα κρέμας με λιποσώματα DMS ( Δομή Δερματικής Μembrάνης) με εγκλωβισμένη κυρίως CBD για την αντιμετώπιση του κνησμού σε ασθενείς που υποβάλλονται σε αιμοκάθαρση. Μετά από θεραπεία τριών εβδομάδων, ο κνησμός εξαλείφθηκε πλήρως σε οκτώ ασθενείς (38,1%). Η περίοδος θεραπείας των τριών εβδομάδων οδήγησε σε πλήρη μείωση της ξηρότητας σε δέκα επτά ασθενείς (81%). (48)

Η χορήγηση μη ενθυλακωμένης CBD σε καλλιέργεια ανθρώπινων σμηγματοκυττάρων φάνηκε να ανέστειλε τις λιπογονικές δράσεις διαφόρων ενώσεων, συμπεριλαμβανομένου του αραχιδονικού οξέος και ενός συνδυασμού λινολεϊκού οξέος και τεστοστερόνης, καταστέλλοντας τον πολλαπλασιασμό των σμηγματοκυττάρων. Αυτά τα ευρήματα υποδηλώνουν ότι λόγω των συνδυασμένων λιποστατικών, αντιπολλαπλασιαστικών και αντιφλεγμονωδών επιδράσεων, η CBD έχει την ικανότητα να αντιμετωπίζει την κοινή ακμή. Τα αποτελέσματα των ανωτέρω μελετών αναφορικά με την αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση της λιποσωματικής και μη ενθυλακωμένης CBD, συνηγορούν κατά πρώτον ότι ποσότητα της κανναβιδιόλης απελευθερώνεται στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων και στην συνέχεια εμπλέκεται σε μηχανισμούς ελέγχων του οξειδωτικού στρες καταστέλλοντας την υπερπαραγωγή των ελευθέρων δραστικών μορφών του οξυγόνου στο οξειδωτικό στρες. Κατά δεύτερον παρατηρείται απελευθέρωση της κανναβιδιόλης στην πλασματική μεμβράνη των κερατινοκυττάρων η οποία αδρανοποιεί με άμεσο μηχανισμό δράσης τις ελεύθερες ρίζες και παρέχει προστασία από την υπεροξειδωση των φωσφολιπιδίων. (13)

## 5. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΑΠΕΛΕΥΘΕΡΩΣΗΣ ΤΗΣ ΚΑΝΝΑΒΙΔΙΟΛΗΣ ΑΠΟ ΤΑ ΛΙΠΟΣΩΜΑΤΑ ΣΤΗΝ ΛΙΠΙΔΙΚΗ ΔΙΠΛΟΣΤΙΒΑΔΑ ΤΩΝ ΚΕΡΑΤΙΝΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ

Μηχανισμός απελευθέρωσης της κανναβιδιόλης από τα λιποσώματα στην λιπιδική διπλοστιβάδα των κερατινοκυττάρων του δέρματος.

Τα λιποσώματα έχουν δομή αντίστοιχη με αυτή των κυτταρικών μεμβρανών. Δηλαδή αποτελούνται από μια διπλοστιβάδα φωσφολιπιδίων. Έτσι όταν έρχονται σε επαφή με το δέρμα εισχωρούν στην κεράτινη στιβάδα, καθώς η κυτταρική μεμβράνη ακολουθεί το πρότυπο του ρευστού μωσαϊκού, δίνει την δυνατότητα στα φωσφολιπίδια να κινούνται στην επιφάνεια της. Μόλις το λιπόσωμα έρθει σε επαφή με τα φωσφολιπίδια του ρευστού μωσαϊκού της μεμβράνης των κυττάρων ενσωματώνεται σε αυτή και αποτελεί μέρος της. Έτσι η κανναβιδιόλη που βρισκόταν εγκλωβισμένη στο εσωτερικό της διπλοστιβάδας του λιποσώματος, βρίσκεται πλέον στο εσωτερικό της διπλοστιβάδας της κυτταρικής μεμβράνης. Εκεί απελευθερώνονται τα δραστικά συστατικά με διάχυση, ενσωμάτωση και συγχώνευση με την κυτταρική μεμβράνη (49-50). Στη συνέχεια υπάρχει πιθανότητα να εισχωρήσουν σε βαθύτερες στιβάδες.



Εικόνα 5.1 Σύντηξη λιποσώματος με την κυτταρική μεμβράνη

Κατά την επαφή των λιποσωμάτων μεταφορέων με την διπλοστιβάδα της κυτταρικής μεμβράνης των κερατινοκυττάρων του δέρματος, οι δύο διπλοστιβάδες ενώνονται και ενσωματώνεται το λιπόσωμα, με αυτή τη διαδικασία γίνεται η ενσωμάτωση του λιποσώματος στην κυτταρική μεμβράνη. Όταν αυτή η διαδικασία ακολουθείται από το ίδιο το κύτταρο, με κυστίδια που έχουν δημιουργηθεί από το ίδιο, απαραίτητος παράγοντας για να υπάρξει η σύντηξη της κυτταρικής μεμβράνης με το λιπόσωμα είναι οι πρωτεΐνες. Οι πρωτεΐνες που εμπλέκονται είναι οι πρωτεΐνες SNARE

(Soluble NSF Attachment Receptor proteins) (NSF :N-ethylmaleimide Sensitive Fusion protein) , η πρωτεΐνη RAB GTPαση , και η RAB Efector πρωτεΐνη. Οι πρωτεΐνες SNARE χωρίζονται στις T-SNARE και V-SNARE πρωτεΐνες. Οι T βρίσκονται στη μεμβράνη στόχο ( target membrane) και οι V βρίσκονται στη μεμβράνη του φορέα (viecle membrane). Η πρωτεΐνη RAB GTPαση βρίσκεται στο λιπόσωμα και είναι αυτή η πρωτεΐνη που αναγνωρίζει τη μεμβράνη στόχο, ενώ η RAB Effector πρωτεΐνη συναντάται στην κυτταρική μεμβράνη και είναι μια πρωτεΐνη πρόσδεσης. (51)

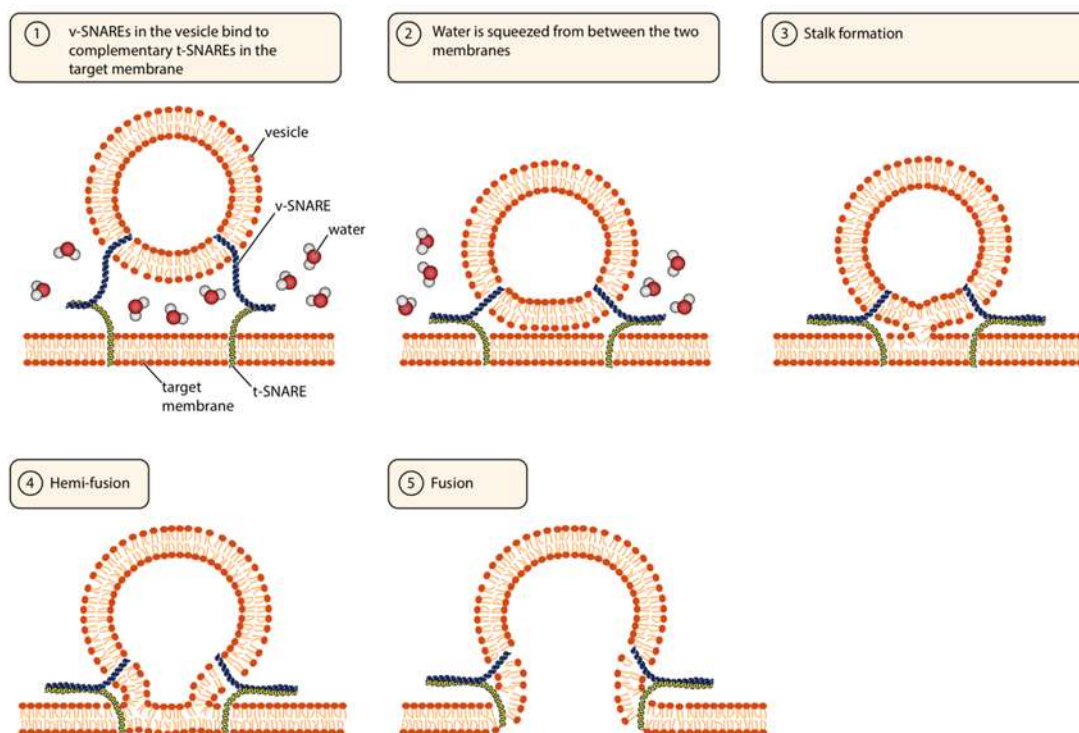
Η διαδικασία της σύντηξης της μεμβράνης με το λιπόσωμα ακολουθείται από τρία στάδια.

- ο Το στάδιο tethering,
- ο το στάδιο docking
- ο το στάδιο fusion.

Κατά το 1ο στάδιο η πρωτεΐνη RAB GTPαση του λιποσώματος αναγνωρίζει την πρωτεΐνη RAB Effector της μεμβράνης, που αλληλεπιδρούν και προσδέονται μεταξύ τους. Κατά το στάδιο docking οι SNARE πρωτεΐνες T-SNARE της μεμβράνης και V-SNARE του λιποσώματος αναγνωρίζονται αντίστοιχα, συνδέονται, οπότε προκύπτει το transe SNARE complex . Στην συνέχεια η GTPαση της πρωτεΐνης RAB υδρολύεται σε GDP και έτσι προκύπτει ένα διαλυτό μόριο RAB GDP, αποσυνδεδεμένο από τα δύο μόρια και έτσι γίνεται η σύνδεση των δύο μεμβρανών. Τέλος οι SNARE πρωτεΐνες έχουν δημιουργήσει ένα σύμπλεγμα Cis Transe SNAR το οποίο υδρολύεται από την NSF και διαχωρίζονται. Αυτή είναι μια διαδικασία που χρησιμοποιούν τα κύτταρα για να μεταφέρουν τις διάφορες ουσίες ,πρωτεΐνες κλπ, σε συγκεκριμένα κύτταρα ή σε κυτταρικά οργανίδια. Αν κατασκευάσουμε ή απομονώσουμε τις απαραίτητες SNARE πρωτεΐνες και τις ενσωματώσουμε σε λιποσώματα κατά την παραγωγή, αυξάνουμε τις πιθανότητες της σύντηξης τους με τις κυτταρικές μεμβράνες.

Σύμφωνα με *in vitro* μελέτες είναι δυνατή η σύντηξη μόνο με την παρουσία συμπλόκων SNARE πρωτεϊνών, δηλαδή v-SNARE και t-SNARE, χωρίς παρουσία των πρωτεϊνών RAB. (52) Το πιο συχνό είναι το συναπτικό σύμπλεγμα SNARE που αποτελείται από συναπτομπρεβίνη (synaptobrevin)/Vamp στο κυστίδιο και συνταξίνη (syntaxin) 1 και SNAP-25 στην πλασματική μεμβράνη. Οι πρωτεΐνες SNARE συνδέονται σε ένα σύμπλεγμα τεσσάρων παράλληλων ελικοειδών δεσμίδων, με το SNAP-25 να παρέχει δύο και τις άλλες δύο πρωτεΐνες να παρέχουν από μία αλληλουχία. Η συναρμολόγηση του συμπλέγματος προχωρά ακολουθώντας μια διαδικασία που μοιάζει με φερμουάρ και είναι ικανό να παρέχει ενέργεια για τη σύντηξη. (53)

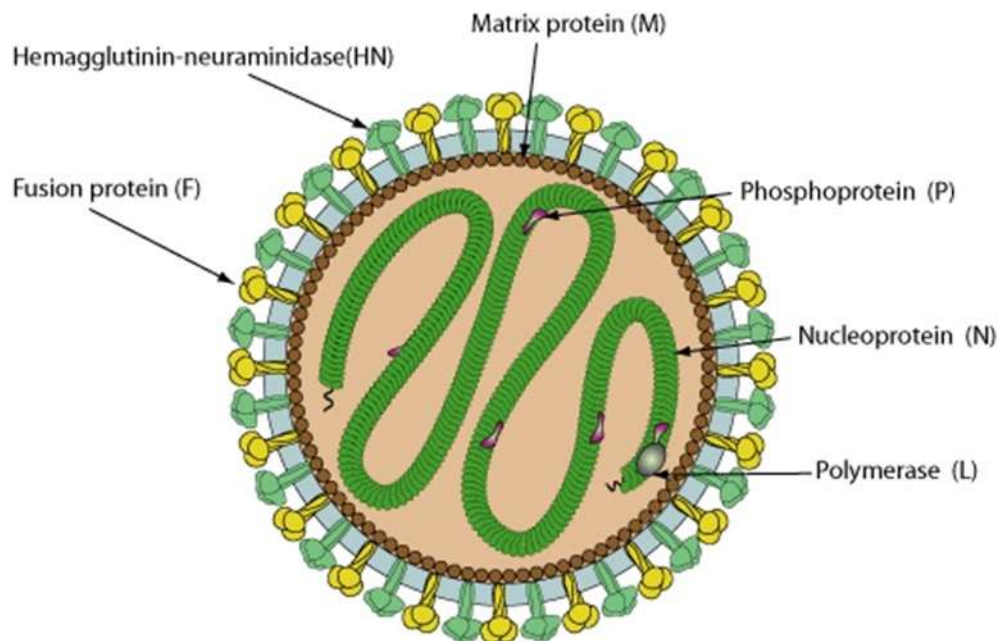




Εικόνα 5.2 Σύντηξη λιποσώματος με κυτταρική μεμβράνη παρουσία μόνο SNARE πρωτεϊνών

Ένας τρόπος βελτίωσης της ενδοκυτταρικής διάχυσης δραστικών ουσιών βασίζεται στην ικανότητα ορισμένων λιποσωμάτων να συντήκονται με το κύτταρο στόχο. Μια αλλαγή της λιπιδικής σύνθεσης μπορεί να οδηγήσει σε ευαισθητα στο pH λιποσώματα, προκαλώντας αυξημένα συντηκτογόνα αποτελέσματα σε περιοχές με χαμηλό pH, όπως τα ενδοσώματα. Λιπίδια που μπορούν να σχηματίσουν μη διστρωματικές φάσεις, όπως η διελαοϋλοφωσφατιδυλοαιθανολαμίνη (DOPE), (54) οδηγούν στην αποσταθεροποίηση της διπλής στιβάδας και προάγουν την σύντηξη.

Η πιο αποτελεσματική μέθοδος για την *in vitro* διάχυση των λιποσωμικών συστατικών στα κύτταρα μέσω της διαδικασίας της σύντηξης είναι η σύντηξη πρωτεΐνης του ιού Σεντάϊ (Sendai virus proteins). (55) Με αυτόν τον τρόπο δεν εισέρχονται στα κύτταρα μόνο τα υδατοδιαλυτά συστατικά που βρίσκονται εγκλωβισμένα στο εσωτερικό των λιποσωμάτων, αλλά και οι λειτουργικές μεμβρανικές πρωτεΐνες γίνονται μέρος της κυτταρικής μεμβράνης. Η σύντηξη μπορεί να επιτευχθεί και με άλλες μεθόδους, όπως την ενσωμάτωση στην κυτταρική μεμβράνη της PE (Polyethylene/ Πολυαιθυλένιο), του ελαϊκού οξέος ή θετικά φορτισμένων λιπιδίων.



Εικόνα 5.3 Ιός Σενταΐ και οι πρωτεΐνες του ιού

Ένας μηχανισμός στόχευσης που παρουσιάζουν τα λιποσώματα είναι η ενεργητική εσωτερική στόχευση. Ο μηχανισμός δηλαδή των υποδοχών της κυτταρικής μεμβράνης, ο οποίος επιτρέπει στους υποδοχείς μια εξειδικευμένη αλληλεπίδραση μεταξύ των λιποσωμάτων και των κυττάρων. Τα λιποσώματα φέρουν πάνω τους προσδέματα στόχευσης (targeting ligands) τα οποία συνδέονται στους αντίστοιχους υποδοχείς των κυττάρων μεταξύ των οποίων είναι το φολικό οξύ, τα σάκχαρα (γαλακτόση, ασιαλογλυκοπρωτεΐνη), λεκτίνες, τροποποιημένη αλβουμίνη, πεπτίδια και αντισώματα.

Συμπολυμερή κατά συστάδες. Είναι πολυμερή που σχηματίζονται όταν δύο μονομερή συσσωματωθούν και σχηματίσουν ένα μπλοκ επαναλαμβανόμενων μονάδων. Η δυνατότητα και η ποικιλία που δίνουν τα συμπολυμερή κατά συστάδες στο σχεδιασμό μακρομορίων έχει κερδίσει το ενδιαφέρον των ερευνητών. Οι ερευνητές είναι πλέον σε θέση να ελέγχουν τα μακρομοριακά χαρακτηριστικά τους. Έχουν τη δυνατότητα να επέμβουν στο μέγεθος των συστάδων, στην αρχιτεκτονική του και στη μοριακή πολυδιασπορά. Παράλληλα εφάρμοσαν ειδικές διαδικασίες σύνθεσης με την ονομασία «ζωντανός πολυμερισμός» (living polymerization). Ο σχηματισμός

πολυμεροσωμάτων (δομές που αποτελούνται από αμφίφιλα συσταδικά συμπολυμερή που αυτοοργανώνονται έτσι ώστε στο εσωτερικό και στο εξωτερικό της κύστης να είναι υδρόφιλα, ενώ στον ενδιάμεσο χώρο παρουσιάζουν υδροφοβική συμπεριφορά) είναι μία σημαντική και μοναδική ιδιότητα τους. Ο σχηματισμός αυτός επιτυγχάνεται με την αυτό-συναρμολόγηση (self assemble) των αμφίφιλων συσταδικών συμπολυμερών σε πολυμερικά κυστίδια που έχουν μέγεθος από 10 nm έως 10 μm και είναι υδρόφιλα στο εσωτερικό και στο εξωτερικό μέρος της κύστης, αλλά έχουν υδροφοβική συμπεριφορά στην πολυμερική διπλοστιβάδα (εικόνα 3.1.3)

Τα συστήματα αυτά είναι ιδιαίτερα πρόσφορα για τη μεταφορά βιοδραστικών μορίων εφόσον μπορούν να εγκλωβίζουν τα υδρόφιλα και να ενσωματώνουν τα υδρόφοβα βιοδραστικά μόρια. Επίσης, στα λιποσώματα αν προστεθούν τα κατάλληλα βιο-υλικά έχουν την ικανότητα να ανταποκρίνονται σε εξωτερικά ερεθίσματα όπως είναι η θερμοκρασία, το pH, η ιοντική ισχύς και το φως, μπορούν να μεταφέρουν όχι μόνο βιοδραστικά μόρια αλλά και πρωτεΐνες, DNA και αντισώματα. (56)

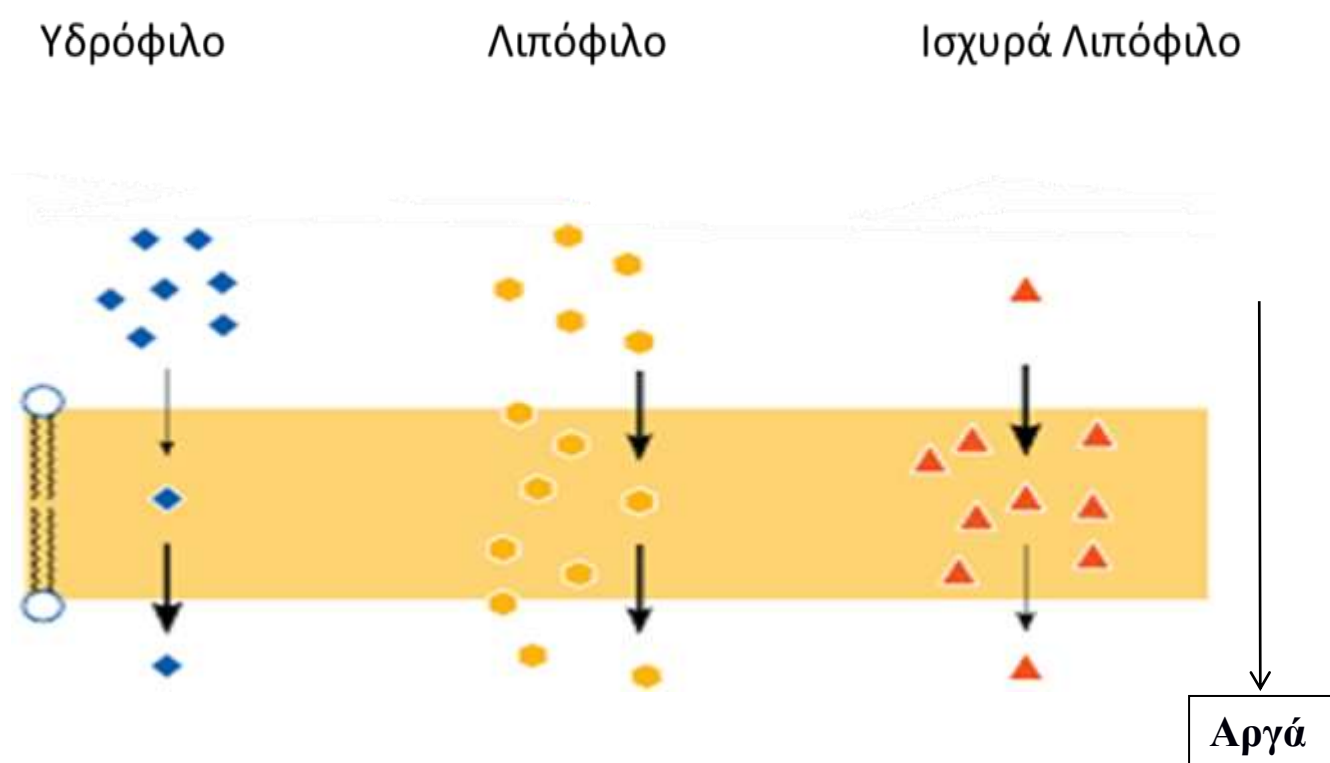
Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία η αυτό-συναρμολόγηση των αμφίφιλων συμπολυμερών κατά συστάδες που συντελείται μέσα στα λιποσώματα θα βοηθήσει στη διατήρηση της διπλοστιβαδικής δομής των κυστιδίων και στην ενίσχυση της φυσικής τους σταθερότητας. Η διαδικασία ενσωμάτωσης είναι η ακόλουθη:

Οι υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις προκαλούν την υδρόφοβη συστάδα (block) να διεισδύσει μέσα στη διπλοστιβάδα και συγκεκριμένα ανάμεσα στις ουρές των λιπιδίων και οι υδρόφιλες συστάδες εκτείνονται προς το υδρόφιλο εξωτερικό περιβάλλον.

Οι αλληλεπιδράσεις του συμπολυμερούς κατά συστάδες και της λιπιδικής διπλοστιβάδας ποικίλουν σε μορφή, ανάλογα με τη μοριακή αρχιτεκτονική, το μέγεθος της υδρόφοβης συστάδας σε σχέση με το πάχος της διπλοστιβάδας της μεμβράνης.(57) Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία τα προκύπτοντα λιποσώματα έχουν αυξημένη σταθερότητα κατά την αποθήκευση, εμφανίζουν ανοχή έναντι της θραύσης και της σύντηξης και διακρίνονται από μοναδικά χαρακτηριστικά διείσδυσης. Το συμπολυμερές κατά συστάδες δημιουργεί δομικές αλλαγές στη διπλοστιβάδα. Η υδρόφοβη συστάδα του συμπολυμερούς λειτουργεί ως διαχωριστικό (spacer) και συμπληρώνει τα κενά μεταξύ των λιπιδίων. Η υδρόφιλη ομάδα παρέχει θέσεις (arms) προσέγκυσης μορίων νερού με αποτέλεσμα τη δημιουργία απωθητικών δυνάμεων ενυδάτωσης. Ας σημειωθεί ότι μια υδρόφιλη αλυσίδα με μεγαλύτερο μήκος προσφέρει στα λιποσώματα σημαντικά ενισχυμένη σταθερότητα σε σχέση με υδρόφιλες αλυσίδες με μικρότερο μήκος. (58)

Όπως έχει ήδη ειπωθεί σχετικά με την πολικότητα της CBD, αυτή είναι μία ισχυρά λιπόφιλη ένωση. Επειδή η εξωκυττάρια πλευρά της μεμβράνης των κυττάρων είναι πολική, η διάχυση της CBD με παθητική μεταφορά στον ενδοκυττάριο χώρο

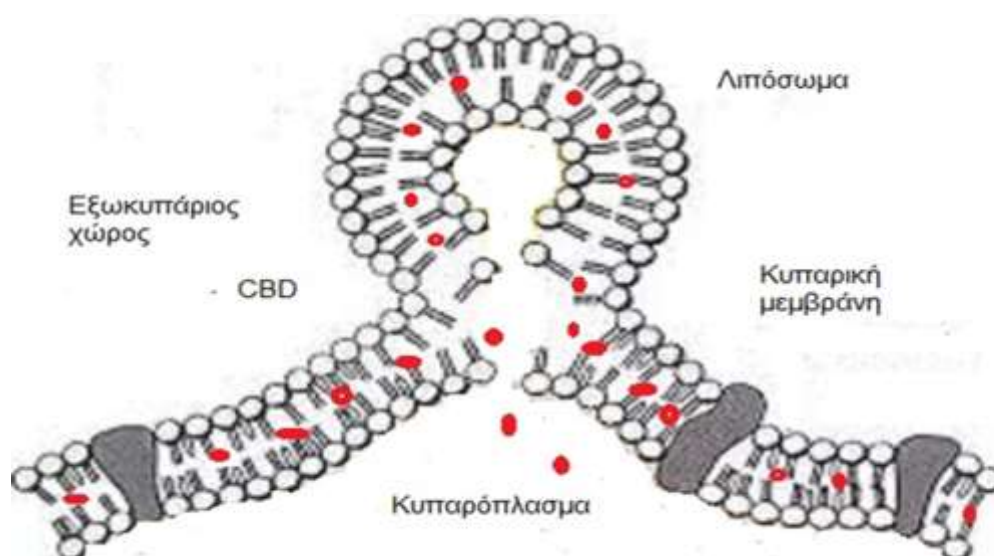
παρεμποδίζεται και καθυστερεί λόγω των ισχυρών αποστικών δυνάμεων μεταξύ της ελεύθερης CBD και των πολικών κεφαλών της μεμβράνης των κυττάρων. Το ίδιο συμβαίνει και με τα υδρόφιλα μόρια τα οποία αλληλεπιδρούν με τις πολικές κεφαλές της εξωκυττάριας πλευράς της πλασματικής μεμβράνης με αποτέλεσμα να συγκρατούνται από τις πολικές κεφαλές ενώ απωθούνται από τον λιπόφιλο διαμεμβρανικό χώρο του κυττάρου. Στην εικόνα 5.4 παρουσιάζεται η παθητική μεταφορά ενός υδρόφιλου, λιπόφιλου και ισχυρά λιπόφιλου (υδρόφοβου) μορίου δια μέσω της πλασματικής μεμβράνης του κυττάρου. Όπως φαίνεται από το σχήμα τα πολύ ισχυρά λιπόφιλα μόρια εγκαθίστανται στον διαμεμβρανικό χώρο της πλασματικής μεμβράνης.



Εικόνα 5.4 Παθητική μεταφορά ενός υδρόφιλου, λιπόφιλου και ισχυρά λιπόφιλου (υδρόφοβου) μορίου δια μέσω της πλασματικής μεμβράνης

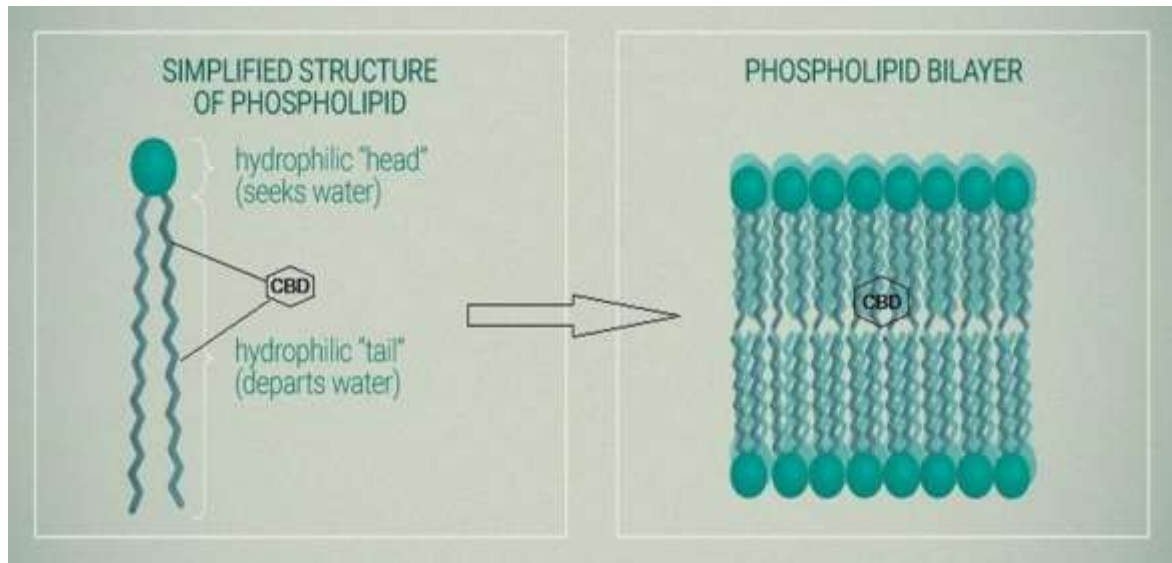
Για να υπερνικηθεί ο φραγμός CBD/πολικές κεφαλές μεμβράνης και να επιταχυνθεί η παθητική μεταφορά της CBD στον διαμεμβρανικό λιπόφιλο χώρο των διπλοστοβάδων, εφαρμόζεται η τεχνική των λιποσωμάτων. Ο στοχευμένος εγκλωβισμός της CBD στον διαμεμβρανικό χώρο των λιποσωμάτων έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της διαλυτότητας της CBD στον υδατικό εξωκυττάριο χώρο και την υπερνίκηση των αποστικών δυνάμεων μεταξύ CBD και των πολικών

κεφαλών των λιπιδίων. Με αυτήν την διαδικασία το λιπόσωμα όπως παρουσιάζεται στην εικόνα 5.5, συντήκεται με την πλασματική μεμβράνη του κυττάρου με αποτέλεσμα τον εγκλωβισμό της CBD στον διαμεμβρανικό χώρο. Σε αυτόν τον χώρο η CBD λειτουργεί αντιοξειδωτικά προστατεύοντας τα PUFA;s από την οξείδωση των ελευθέρων ριζών. Ωστόσο ένα ποσοστό της CBD διαχέεται και στο κυτταρόπλασμα όπου και λειτουργεί ως αντιοξειδωτικό και αντιφλεγμονώδες με έμμεσο και άμεσο μηχανισμό όπως περιγράφεται στην ενότητα 6.



Εικόνα 5.5 Σύντηξη λιποσωματικής CBD με την πλασματική μεμβράνη του κυττάρου

Η ενθυλάκωση της CBD στα λιποσώματα επιτυγχάνεται, όπως αναφέρθηκε στην ενότητα τρία (3) με διασπορά της CBD σε περιβάλλον με μόρια φωσφολιπιδίων όπως παρουσιάζεται στην εικόνα 5.6. Κατά την διασπορά, το λιπόφιλο τμήμα των φωσφολιπιδίων αλληλεπιδρά με την ισχυρά λιπόφιλη CBD όπου δημιουργούνται ασθενείς διαμοριακές δυνάμεις van der Waals τύπου επαγωγμένου διπόλου/επαγωγμένου διπόλου και διπόλου/επαγωγμένου διπόλου σχηματίζοντας ένα σύμπλοκο φωσφολιπιδίων/CBD.



Εικόνα 5.6 Σχηματισμός συμπλόκου φωσφολιπιδίου/CBD και ενθυλάκωση στην πλασματική μεμβράνη του λιποσώματος

Τα σύμπλοκα CBD/ελεύθερα φωσφολιπίδια, διασπείρονται σε υδατικό περιβάλλον με αποτέλεσμα τον σχηματισμό σφαιρικών δομών δηλαδή λιποσωμάτων. Η εξωτερική πλευρά με τις πολικές κεφαλές γειτνιάζει με το υδατικό περιβάλλον. Στον διαμεμβρανικό χώρο είναι ενθυλακωμένη η CBD και ο εσωτερικός χώρος του λιποσώματος αποτελείται από υδατικό περιβάλλον. (Εικόνα 1.5.1)

## 6. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ CBD ΜΕ ΤΙΣ ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ ΣΤΑ ΚΕΡΑΤΙΝΟΚΥΤΤΑΡΑ

Η κανναβιδιόλη είναι ένα μόριο το οποίο αντιδρά και εξουδετερώνει τις ελεύθερες ρίζες οπότε χαρακτηρίζεται ως αδρανοποιητής ελεύθερων ριζών. Με την τεχνική του στοχευμένου εγκλωβισμού της κανναβιδιόλης στα λιποσώματα η CBD ενθυλακώνεται στον ενδιάμεσο χώρο της κυτταρικής διπλοστιβάδας. Κατά τη σύντηξη του λιποσώματος με τη μεμβράνη του κυττάρου η CBD ενθυλακώνεται στον διαμεμβρανικό χώρο της μεμβράνης και λειτουργεί ως αντιοξειδωτικό, αποτρέποντας την οξείδωση των PUFAs (Polyunsaturated fatty acids, πολυακόρεστα λιπαρά οξέα), των πρωτεϊνών και των υδατανθράκων, με αυτή τη διαδικασία συμβάλλει στην προστασία της ακεραιότητας της μεμβράνης. Η επίδραση ελευθέρων ριζών στα λιπαρά οξέα της μεμβράνης και των βιοσυνθετικά παραγόμενων λιπαρών οξέων εντός του κυττάρου προκαλεί δομική τροποποίηση τους. Σχηματίζονται υπεροξειδία των λιπαρών οξέων τα οποία τροποποιούνται σε άλλες χημικές δομές, μειώνοντας με αυτόν τον τρόπο την πυκνότητα και τη συνοχή της πλασματικής μεμβράνης των κερατινοκυττάρων. (59)

Η αντιοξειδωτική δράση της CBD οφείλεται στον σχηματισμό μίας ελεύθερης ρίζας της. Αυτή χαρακτηρίζεται από χαμηλή ενέργεια λόγω σταθεροποίησης της από τις δομές συντονισμού στις οποίες το ασύζευκτο ηλεκτρόνιο μετακινείται ελεύθερα στον φαινολικό δακτύλιο. Η ελεύθερη μετακίνηση του ηλεκτρονίου μέσα στο μόριο ονομάζεται απεντοπισμός του ηλεκτρονίου.

Η CBD αντιδρά άμεσα με ελεύθερες ρίζες και τις αδρανοποιεί λόγω του φαινολικού δακτυλίου. Ο φαινολικός δακτύλιος έχει την τάση να οξειδώνεται αποβάλλοντας ένα ηλεκτρόνιο παρουσία μιας ελεύθερης ρίζας. Η αποβολή και συνεισφορά του ηλεκτρονίου σε μία ελεύθερη ρίζα, έχει ως αποτέλεσμα την αναγωγή και αδρανοποίηση της. Με αυτόν τον τρόπο αδρανοποιούνται οι ελεύθερες ρίζες που προέρχονται από το περιβάλλον και οι ελεύθερες ρίζες του δραστικού οξυγόνου (ROS) του οξειδωτικού στρες.

### *Άμεσος μηχανισμός δράσης*

Ο άμεσος μηχανισμός δράσης της CBD συνίσταται στην :

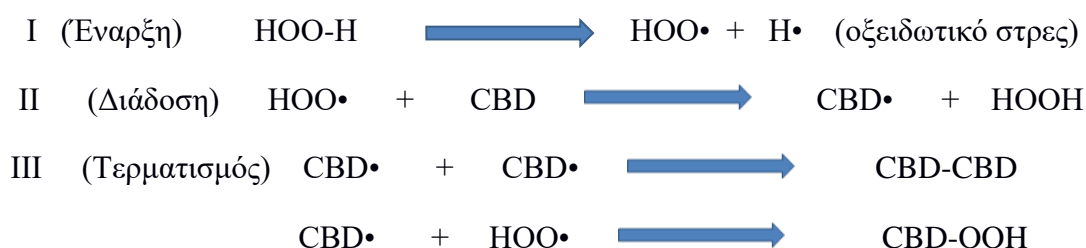
1. Αντίδραση υποκατάστασης με τις ελεύθερες ρίζες του περιβάλλοντος που έρχονται σε επαφή με το δέρμα.
2. Αντίδραση υποκατάστασης με τις ελ.εύθερες ρίζες του δραστικού οξυγόνου (ROS) σε συνθήκες οξειδωτικού στρες, διακόπτοντας έτσι τις αλυσιδωτές αντιδράσεις.

Ένα παράδειγμα άμεσου μηχανισμού δράσης της CBD είναι η εξουδετέρωση μιας ελεύθερης ρίζας υπεροξειδίου (HOO•) σε συνθήκες οξειδωτικού στρες η οποία μπορεί να εξουδετερωθεί από την CBD. Ο κύριος μηχανισμός είναι μια αντίδραση υποκατάστασης ελευθέρων ριζών. Η αντίδραση εξελίσσεται σε τρία στάδια.

I. Το πρώτο στάδιο είναι η έναρξη της αντίδρασης όπου σχηματίζεται η ελεύθερη ρίζα του HOO•. Αυτή προκύπτει από την ομολυτική διάσπαση του H-O του H-O-O-H.

II. Το δεύτερο είναι η αντίδραση διάδοσης με εμπλοκή της CBD όπου το υδρογόνο (H) της μίας υδροξυλομάδας της CBD αποσπάται ομολυτικά και αντιδρά με τη ελεύθερη ρίζα (HOO•). Η ελεύθερη ρίζα (HOO•) μετατρέπεται σε HOOH (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) και εξουδετερώνεται ,ενώ σχηματίζεται μια ελεύθερη ρίζα της (CBD•).

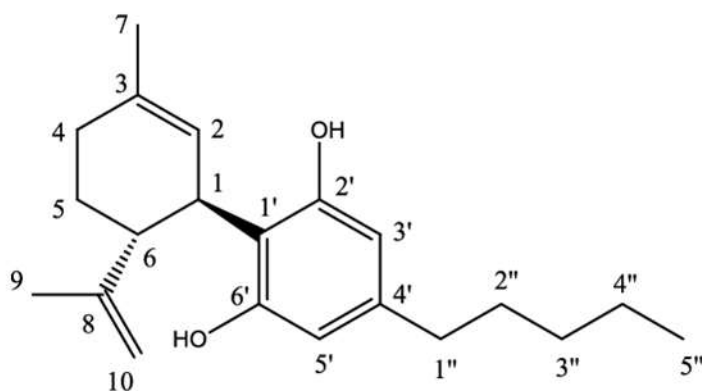
III. Το τρίτο στάδιο είναι ο τερματισμός των αλυσιδωτών αντιδράσεων όπου οι παραγόμενες ελεύθερες ρίζες του σταδίου της διάδοσης ενώνονται μεταξύ τους με αποτέλεσμα τον τερματισμό τους.



Σχήμα 6.1 Εξουδετέρωση μιας ελεύθερης ρίζας υπεροξειδίου (HOO•) από την CBD

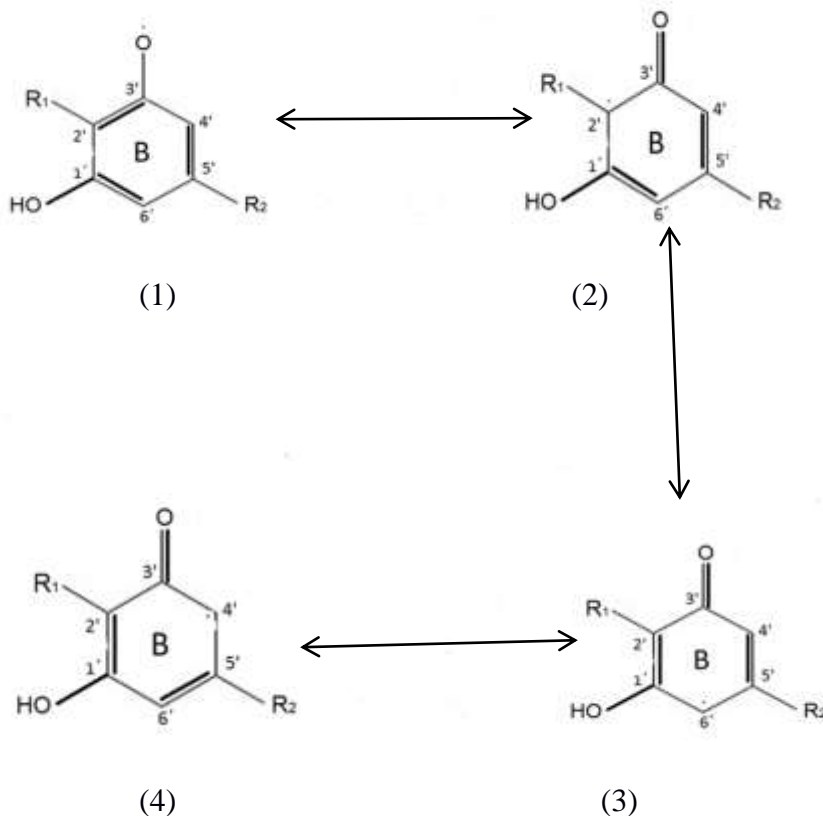
Οι ελεύθερες ρίζες που σχηματίζονται σε αυτές τις αντιδράσεις σταθεροποιούνται από τις δομές συντονισμού, στις οποίες ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο είναι απεντοπισμένο στο φαινολικό δακτύλιο. (60)





Εικόνα 6.1 / Εικόνα 2.1.4 Στερεοχημική δομή της CBD

Η (CBD•) είναι ελεύθερη ρίζα πολύ χαμηλής ενέργειας, συνεπώς χαμηλής δραστηριότητας και αποτρέπει περαιτέρω τις αλυσιδωτές αντιδράσεις των ελευθέρων ριζών. Η δυνατότητα μετακίνησης (απεντοπισμός) του ασύζευκτου ηλεκτρονίου στον φαινολικό δακτύλιο (φαινόμενο συντονισμού) σταθεροποιεί την ελεύθερη ρίζα της (CBD•). Όσο περισσότερες είναι οι δομές συντονισμού (υβρίδια συντονισμού) τόσο σταθερότερη είναι η σχηματιζόμενη ελεύθερη ρίζα (η κανναβιδιολη έχει τέσσερις δομές συντονισμού). Συνεπώς η δραστηριότητα της ελεύθερης ρίζας της CBD ελαττώνεται. Η σταθερότητα των δομών συντονισμού [1,2,3,4] επηρεάζεται και από τους υποκαταστάτες R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, -OH. Οι αναφερόμενοι υποκαταστάτες αυξάνουν επιπλέον τη σταθερότητα των δομών συντονισμού λόγω ηλεκτρονιακών φαινομένων. Συγκεκριμένα, η πεντυλομάδα (R<sub>1</sub>) και η ομάδα του Limonene (R<sub>2</sub>) ως υποκαταστάτες στο φαινολικό δακτύλιο και λόγω του θετικού επαγωγικού φαινομένου (+I Effect) που έχουν, αυξάνουν την ηλεκτρονιακή πυκνότητα του φαινολικού δακτυλίου. Αύξηση της ηλεκτρονιακής πυκνότητας του φαινολικού δακτυλίου προέρχεται και από τη δεύτερη υδροξυλομάδα -OH του φαινολικού δακτυλίου λόγω του θετικού φαινομένου μεσομέρειας (+M Effect) που έχει. Το (+M Effect) παρατηρείται σε ακόρεστες ενώσεις, ή δραστικές ομάδες με ασύζευκτα ζεύγη ηλεκτρονίων ικανό να προκαλέσει τη μερική μετατόπιση ενός ζεύγους ηλεκτρονίων. Το αποτέλεσμα είναι η σταθεροποίηση του ασύζευκτου ηλεκτρονίου της CBD•. Οι θέσεις του ασύζευκτου ηλεκτρονίου στο συντονισμό εντοπίζονται στα άτομα [O (1), C2'(2), C4'(4), C6' (3)].



Εικόνα 6.2 Οι θέσεις του ασύζευκτου ηλεκτρονίου στα υβρίδια συντονισμού

Η αντιοξειδωτική δράση της CBD οφείλεται και σε έμμεσους μηχανισμούς. Οι μηχανισμοί είναι δύο. Σύμφωνα με τον πρώτο μηχανισμό, η κανναβιδιόλη αλληλεπιδρά με τα ιόντα δισθενούς Fe(II) και τρισθενούς σιδήρου Fe(III) της αντίδρασης Fenton με αποτέλεσμα την μείωση του επιπέδου των ελεύθερων ριζών.

Σύμφωνα με τον δεύτερο μηχανισμό, η CBD σε συνθήκες οξειδωτικού στρες ενεργοποιεί τον πυρηνικό παράγοντα μεταγραφής Nrf2 (Nuclear factor erythroid 2-related factor), ο οποίος είναι υπεύθυνος για την μεταγραφή του κυτταροπροστατευτικού γονιδίου NFE2L2, συμπεριλαμβανομένων και των αντιοξειδωτικών γονιδίων. Τα αντιοξειδωτικά γονίδια είναι υπεύθυνα για την επαγωγή της σύνθεσης των αντιοξειδωτικών ενζύμων του κυτταροπλάσματος όπως της υπεροξειδικής δισμουτάσης (SOD) (Superoxide Dismutase) τα οποία ρυθμίζουν τα επίπεδα των ελεύθερων ριζών του υπεροξειδίου (OH•).

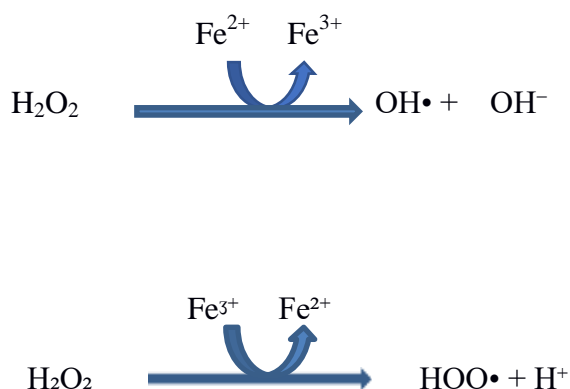
### **Έμμεσος μηχανισμός δράσης**

Ο έμμεσος μηχανισμός δράσης της CBD συνίσταται:

1. Στην καταστολή της αντίδρασης Fenton σε συνθήκες οξειδωτικού στρες

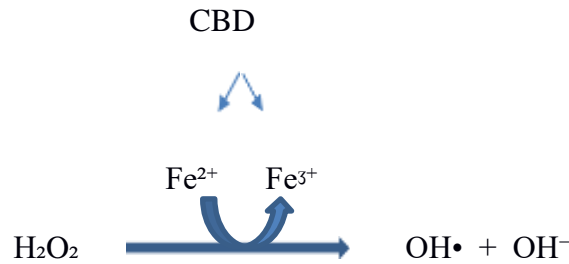
2. Στην δυνατότητα της να αυξάνει τα επίπεδα των αντιοξειδωτικών ενζύμων των κερατινοκυττάρων τα οποία εμπλέκονται στο μεταβολισμό του οξυγόνου και στην διατήρηση της ισορροπίας μεταξύ του αντιοξειδωτικού μηχανισμού και ROS σε συνθήκες οξειδωτικού στρες.

Η αντίδραση Fenton είναι μία ενδιάμεση αντίδραση του μεταβολισμού του οξυγόνου στα μιτοχόνδρια. Σε αυτή την αντίδραση, το παραγόμενο  $H_2O_2$  υπό την καταλυτική επίδραση των δισθενών ιόντων του σιδήρου ( $Fe^{2+}$ ) μετατρέπεται σε ελεύθερη ρίζα του  $OH\cdot$  (oxidative stress) και ανιόν του υδροξυλίου ( $OH^-$ ) (electrophile stress) όπως παρουσιάζεται στο σχήμα 6.2.(59, 61) Παράλληλα, ο δισθενής σίδηρος οξειδώνεται σε τρισθενή σίδηρο ( $Fe^{3+}$ ). Υπό κανονικές συνθήκες, τα επίπεδα της σχηματιζόμενης ελεύθερης ρίζας ( $OH\cdot$ ) είναι χαμηλά, δεν είναι επιβλαβή για τα κερατινοκύτταρα και λειτουργούν προστατευτικά για το κύτταρο σε φλεγμονώδεις καταστάσεις.



Σχήμα: 6.2 Αντίδραση Fenton

Ωστόσο σε συνθήκες οξειδωτικού στρες, η παραγωγή του  $H_2O_2$  αυξάνεται με αποτέλεσμα η ισορροπία της αντίδρασης Fenton να διαταράσσεται εις βάρος των κανονικών επιπέδων της ελεύθερης ρίζας του υδροξυλίου. Κάτω από αυτές τις συνθήκες τα επίπεδα της  $OH\cdot$  αυξάνονται με αποτέλεσμα να λειτουργούν οξειδωτικά στα βιομόρια του κυττάρου (λιπίδια, πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, DNA) και να επιφέρουν τον κυτταρικό θάνατο. Κάτω από αυτές τις συνθήκες η CBD αλληλεπιδρά με τα ιόντα δισθενή και τρισθενή σιδήρου  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ , καταστέλλοντας την αντίδραση Fenton με αποτέλεσμα τη μείωση του επιπέδου των παραγόμενων ελεύθερων ριζών του υδροξυλίου και την κυτταροπροστασία των κερατινοκυττάρων.



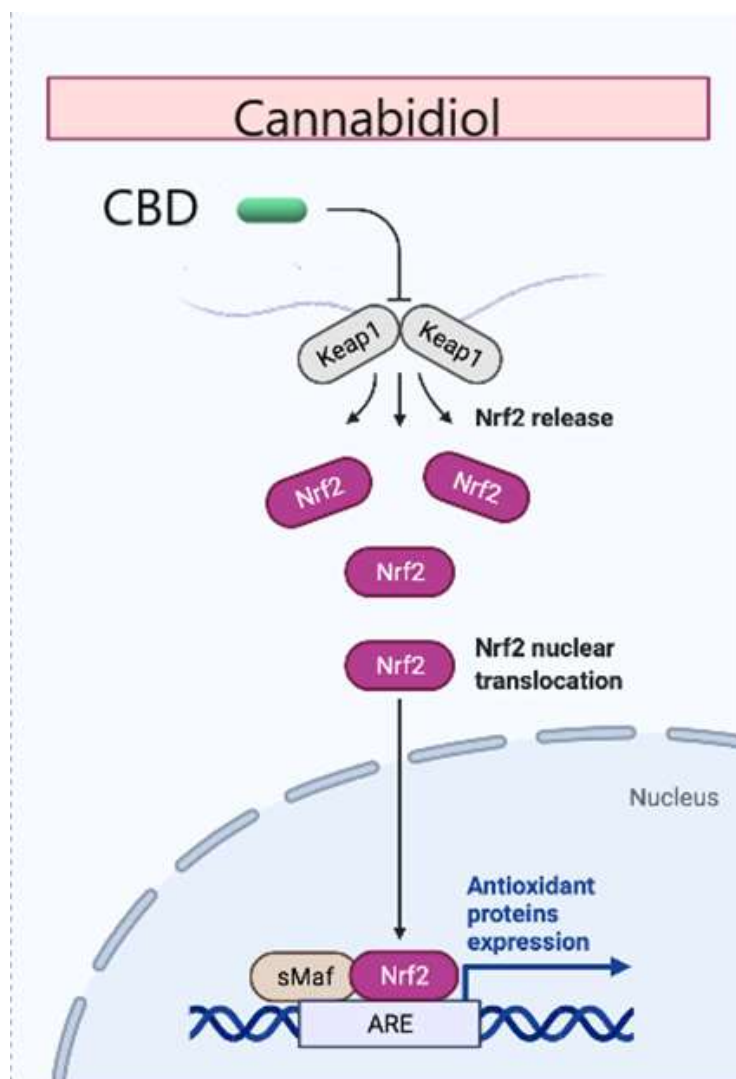
Σχήμα 6.3 : Επίδραση της CBD στα ιόντα σιδήρου

Σύμφωνα με αυτόν τον μηχανισμό τα δισθενή και τρισθενή ιόντα σιδήρου, δεσμεύονται από τις υδροξυλομάδες του φαινολικού δακτυλίου B της CBD και έτσι τα μόρια CBD-Fe<sup>2+</sup> και CBD-Fe<sup>3+</sup> είναι χαμηλής δραστηριότητας και αναστέλλουν την αντίδραση Fenton. Ο ρυθμός παραγωγής των ROS μειώνεται, με επακόλουθη υποκατάσταση της ισορροπίας ROS/οξειδωτικό στρες. (62-63)

Όπως ειπώθηκε, ο δεύτερος μηχανισμός της έμμεσης δράσης της CBD συνίσταται στην ενεργοποίηση του μεταγραφικού πυρηνικού παράγοντα Nrf2. Ο Nrf2 είναι μία πρωτεΐνη η οποία βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα συνδεδεμένη με την πρωτεΐνη Keap1 (Kelch-like ECH-associated protein 1) όπως παρουσιάζεται στην εικόνα 6.3 Σε κατάσταση ισορροπίας ROS/οξειδωτικό στρες ο Nrf2 είναι ανενεργός. Σε συνθήκες οξειδωτικού στρες οι οποίες ευνοούνται υπό την επίδραση της UVB ακτινοβολίας του περιβάλλοντος, έχουν ως αποτέλεσμα την αύξηση των επιπέδων των ελευθέρων ριζών των ROS. Η αύξηση των ελευθέρων ριζών του κυττάρου προκαλεί την ενεργοποίηση του Nrf2 ο οποίος στην συνέχεια επάγει την μεταγραφή των αντιοξειδωτικών γονιδίων και την σύνθεση των αντιοξειδωτικών ενζύμων. Ωστόσο η επίδραση της UVB ακτινοβολίας υποβαθμίζει την δράση των αντιοξειδωτικών ενζύμων. Η αντιοξειδωτική δράση της CBD σε αυτόν τον μηχανισμό οφείλεται στην αύξηση των επιπέδων του Nrf2 και συνεπώς την αύξηση των επιπέδων των αντιοξειδωτικών ενζύμων. (64)

Σύμφωνα με αυτόν τον μηχανισμό, η CBD αλληλεπιδρά με δύο σουλφυδρυλικές ομάδες (-SH151 και -SH288) δύο μορίων κυστεΐνης του Keap1 και το σύμπλοκο Keap1-Nrf2 διάσπασται σε Keap1 και Nrf2. Στην συνέχεια ο Nrf2 φωσφοριλιώνεται (P) στο κυτταρόπλασμα, μεταφέρεται στον πυρήνα του κυττάρου και μαζί με την πρωτεΐνη Maf (musculoaponeurotic fibrosarcoma) αναγνωρίζει την αλληλουχία (ARE) του γονιδιώματος όπου και συμπλέκεται. Η αλληλουχία ARE (Antioxidant Response Element) (εκκινητής) είναι τμήμα του αντιοξειδωτικού γονιδιώματος (Antioxidants genes) που επάγει την σύνθεση των αντιοξειδωτικών ενζύμων του κυττάρου. Η μεταγραφή του γονιδίου σε mRNA πραγματοποιείται από την RNA

πολυμεράση. Το mRNA μεταφράζει την σύνθεση των αντιοξειδωτικών ενζύμων στα ριβοσώματα στο κυτταρόπλασμα.



Εικόνα 6.3 Ενεργοποίηση του μεταγραφικού πυρηνικού παράγοντα Nrf2

Τα αποτελέσματα των ανωτέρω μελετών αναφορικά με την αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση της λιποσωματικής και μη ενθυλακωμένης CBD, συνηγορούν κατά πρώτον ότι ποσότητα της κανναβιδιόλης απελευθερώνεται στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων και στην συνέχεια εμπλέκεται σε μηχανισμούς ελέγχων του οξειδωτικού στρες καταστέλλοντας την υπερπαραγωγή των ελευθέρων δραστικών μορφών του οξυγόνου στο οξειδωτικό στρες. Κατά δεύτερον παρατηρείται απελευθέρωση της κανναβιδιόλης στην πλασματική μεμβράνη των κερατινοκυττάρων η οποία αδρανοποιεί με άμεσο μηχανισμό δράσης τις ελεύθερες ρίζες και προστασία από την υπεροξειδωση των φωσφολιπιδίων.

## **7. ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΦΟΡΜΟΥΛΑΣ ΛΙΠΟΣΩΜΑΤΙΚΗΣ ΚΑΝΝΑΒΙΔΙΟΛΗΣ ΣΕ ΚΑΛΛΥΝΤΙΚΟ ΠΡΟΪΟΝ ΚΑΙ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑΣ**

Με βάση τη βιβλιογραφική μελέτη του εγκλωβισμού της κανναβιδιόλης σε μικκύλια και της διαδικασίας μεταφοράς της σε μεμβράνες με στόχο την ανάπτυξη νέων αντιοξειδωτικών καλλυντικοτεχνικών μορφών, θα μπορούσε να προταθεί για σύνθεση μία φόρμουλα γαλακτώματος που θα μπορούσε να παρασκευαστεί. Επίσης με βάση τη βιβλιογραφία θα μπορούσε να προταθεί και η μελέτη σταθερότητας της.

### **7.1 ΓΕΝΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗΣ**

Όλες οι μέθοδοι παρασκευής των λιποσωμάτων περιλαμβάνουν τέσσερα βασικά στάδια:

- Εήρανση λιπιδίων από οργανικό διαλύτη
- Διασπορά των λιπιδίων σε υδατικό μέσο
- Καθαρισμός των προκυπτόντων λιποσωμάτων
- Ανάλυση του τελικού προϊόντος

Μέθοδος παρασκευής λιποσωμάτων και εγκλωβισμός δραστικών ουσιών.

Για την παρασκευή λιποσωμάτων με εγκλωβισμένη δραστική ουσία χρησιμοποιούνται οι ακόλουθες μέθοδοι:

- Τεχνικές παθητικής φόρτισης
- Τεχνική ενεργητικής φόρτωσης.

Οι τεχνικές παθητικής φόρτισης περιλαμβάνουν τρεις διαφορετικές μεθόδους:

- Μέθοδος μηχανικής διασποράς.
- Μέθοδος διασποράς διαλύτη.
- Μέθοδος αφαίρεσης απορρυπαντικού (αφαίρεση μη εγκλεισμένου υλικού)

Τύποι μεθόδων μηχανικής διασποράς:

- ο Μέθοδος υπερήχων

- ο Γαλλική κυψέλη πίεσης: εξώθηση.
- ο Λιποσώματα που έχουν καταψυχθεί και αποψυχθεί
- ο Ενυδάτωση λιπιδικού φιλμ με ανακίνηση. Ανακίνηση ή ξήρανση με κατάψυξη.
- ο Μικρογαλακτωματοποίηση.
- ο Εξώθηση μεμβράνης.
- ο Αποξηραμένα ανασυσταμένα κυστίδια

Η φόρτωση της δραστικής ουσίας μπορεί να επιτευχθεί είτε παθητικά (δηλαδή να ενθυλακώνεται κατά τη διάρκεια του σχηματισμού λιποσωμάτων) είτε ενεργά (δηλ. μετά το σχηματισμό λιποσωμάτων). Οι υδρόφοβες δραστικές ουσίες, μπορούν να συνδυαστούν απευθείας σε λιποσώματα κατά τον σχηματισμό κυστιδίων και η ποσότητα πρόσληψης και κατακράτησης ρυθμίζεται από αλληλεπιδράσεις ουσίας-λιπιδίου. Η αποτελεσματικότητα παγίδευσης 100% είναι συχνά εφικτή, αλλά αυτό εξαρτάται από τη διαλυτότητα της δραστικής ουσίας στη μεμβράνη του λιποσώματος. Η παθητική ενθυλάκωση υδατοδιαλυτών δραστικών ουσιών εξαρτάται από την ικανότητα των λιποσωμάτων να παγιδεύουν υδατικό ρυθμιστικό διάλυμα που περιέχει μια (ή και περισσότερες) διαλυμένη δραστική ουσία κατά τον σχηματισμό κυστιδίων. Η αποτελεσματικότητα παγίδευσης (γενικά <30%) περιορίζεται από τον παγιδευμένο όγκο που οριοθετείται στα λιποσώματα και τη διαλυτότητα της δραστικής ουσίας. Από την άλλη πλευρά, οι υδατοδιαλυτές δραστικές ουσίες, που έχουν λειτουργίες πρωτονιομένης αμίνης (protonizable amine functions),(65) μπορούν να παγιδευτούν ενεργητικά χρησιμοποιώντας διαβαθμίσεις του pH, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει σε παγίδευση με αποτελεσματικότητα που πλησιάζει το 100%. (66-71)

Η ανεπάρκεια των συμβατικών λιποσωμάτων θα μπορούσε να συμπληρωθεί με την προσθήκη υδρόφιλου πολυμερούς (PEG, Polyethylene glycol/πολυαιθιλενογλυκόλη) για την ενίσχυση της σταθερότητας και του χρόνου που μπορούν να παραμένουν σταθερά στους ιστούς πριν την σύντηξη. Συχνά προστίθεται χοληστερόλη για να σταθεροποιηθούν αυτές οι δομές. (72-77)

Τα λιπίδια μπορούν να επιλεγούν για λιποσωμικές συνθέσεις που ενισχύουν κάποιες συγκεκριμένες ιδιότητες. Βοηθητικά λιπίδια όπως η 1,2-Διολεοϋλο-snΓλυκερο-3-Φωσφοαιθανολαμίνη (DOPE) και η χοληστερόλη προστίθενται συχνά για να αυξήσουν τη σταθερότητα, να βοηθήσουν τη σύνθεση λιποσωμάτων και να ενισχύσουν την κυτταρική απορρόφηση.(78-79) Κεραμίδια έχουν ενσωματωθεί σε λιποσώματα σε 32 πειραματικές έρευνες. (80) Και στις δύο περιπτώσεις πρόκειται για ουδέτερες συνθέσεις που φέρουν σημαντικές ποσότητες κεραμιδίου, 30 mol% με τη

μία ομάδα να έχει πεγκυλιωμένο λιπόσωμα και η άλλη να έχει μη πεγκυλιωμένη σύνθεση ο όρος πεγκυλίωση αναφέρεται στην τροποποίηση μιας πρωτεΐνης, ενός πεπτιδίου ή ενός μη πεπτιδικού μορίου,(81) με τη σύνδεση μιας ή και περισσότερων αλυσίδων πολυαιθυλενογλυκόλης (PEG)]. Η συστηματική χορήγηση και των δύο σκευασμάτων έδειξε βελτιωμένη φαρμακοκινητική.

## 7.2 ΑΝΤΙΓΗΡΑΝΤΙΚΗ ΚΡΕΜΑ ΜΕ ΛΙΠΟΣΩΜΑΤΙΚΗ CBD

### 7.2.1.Συστατικά και περιεκτικότητα

ΦΑΣΗ 1	
1,2 Διολεοϋλο- sn Γλυκερόλη-3-Φωσφατιλοαιθανολαμίνη( DOPE) (βοηθητικό λιπίδιο)	0,10%
Χοληστερόλη	1%
Πολυαιθυλενογλυκόλη	0,10%
Polysorbate 80 (γαλακτωματοποιητής)	2%
Lecithin (phosphatidilocholini) (φωσφατιδιλοχολίνη DSPC)	1%
CBD oil	2%
Water	93,80%
ΦΑΣΗ 2	
Glyceryl stearate citrate (2οςγαλακτοποιητής)	1%
Xanthan gum ( σταθεροποιητής ρυθμιστήςξώδους binder)	0,20%
Propyleneglycol (ρυθμιστής ιξώδους humectant, διαλύτης)	5%
ΦΑΣΗ 3	
Methylparaben (συντηρητικό)	0,2%
Carbomer ( πηκτωματοποιητής)	0,50%
Cetearile glucoside (γαλακτωματοποιητής)	5%
Sodium Hyaluronate (δραστική ουσία αντιγηραντική)	0,02%
Sodium benzoate ( συντηρητικό, αντιοξειδωτικό)	0,1%
Caprylglycoside (επιφανειοδραστικό)	5%
Allantoin ( αντιγηραντικό, μαλακτικό, επουλωτικό)	0,20%
Citric acid (50% buffer solution)	
Water	68,48%
ΦΑΣΗ 4	
Cetyl Alcohol (σταθεροποιητής , αυξάνει το ιξώδες δευτερεύον γαλακτωματοποιητής)	2%
Squalane (μαλακτικό, λιπαντικό)	1%
phenoxy ethanol	0,80%
Borage oil	1%



Dimethicon	0,50%
Octyl palmitate	2%
CBD oil	1%
Vitamin A oil	2%
Vitamin C oil	2%

Πίνακας 7.2.1 Συστατικά και περιεκτικότητα

## 7.2.2. Παρασκευή κρέμας

### Φάση 1

A. Σε δοχείο αναμιγνύουμε την Πολυαιθυλενογλυκόλη( PEG) με τη1,2 Διολεοϋλο- sn Γλυκερόλη-3-Φωσφατιλοαιθανολαμίνη(DOPE).

B. Στη συνέχεια στο υλικό που προέκυψε από την Παρασκευή A ( DOPE-PEG) προσθέτουμε τα συστατικά Cholesterol, Lecithin και Polysorbate 80 σε θερμοκρασία δωματίου και αναδεύουμε το μίγμα μέχρι να ομογενοποιηθούν τα συστατικά του.

Γ. Στο ομογενοποιημένο μίγμα προσθέτουμε την CBD και σε θερμοκρασία δωματίου συνεχίζουμε την ανάδευση του νέου μίγματος έως ότου επιτευχθεί η ομογενοποίηση του μίγματος.

Δ. Σε νέο δοχείο βάζουμε το νερό και προσθέτουμε το μίγμα που έχει προκύψει από το βήμα Γ ,και συνεχίζουμε με τη χρήση υπερήχων (300-400 s/g) (40-70 micrones) ώστε να δημιουργηθούν λιποσώματα.

E. Ακολουθεί η ξήρανση των λιποσωμάτων

### Υδατική φάση

#### Φάση 2

Σε δοχείο ζέσεως προσθέτουμε το νερό και τα συστατικά Methylparaben ,Carbomer, Cetearile glucoside, Sodium hyaluronate, Sodium benzoate, Caprylglycoside, Allantoin, water και το τοποθετούμε σε υδατόλουτρο στους 75 °C έως ότου διαλυθούν όλα τα συστατικά του μίγματος.

#### Φάση 3

Σε άλλο δοχείο τοποθετούμε τα συστατικά Glyceryl stearate citrate, Xanthan gum και Propylene glucol κατόπιν το τοποθετούμε σε υδατόλουτρο στους 75 °C έως ότου διαλυθούν όλα τα συστατικά του μίγματος και ομογενοποιηθούν .

### Φάση 2+3

Μεταφέρουμε τα συστατικά της φάσης 3 στο δοχείο που περιέχει τη φάση 2 και αναδεύουμε με σταθερό ρυθμό χρησιμοποιώντας γυάλινη ράβδο μέχρι να ομογενοποιηθούν όλα τα συστατικά του νέου μίγματος.

### Λιπαρή Φάση

#### Φάση 4

Σε δοχείο ζέσεως τοποθετούμε τα συστατικά Cetyl Alcohol, Squalane, phenoxy ethanol, Borage oil, Dimethicon, Octyl palmitate, CBD oil, το τοποθετούμε σε υδατόλουτρο στους 75 °C και αναδεύουμε με σταθερό ρυθμό χρησιμοποιώντας γυάλινη ράβδο μέχρι να ομογενοποιηθούν όλα τα συστατικά του μίγματος.

Στη φάση 4 κατά τη διάρκεια που το μίγμα βρίσκεται στο υδατόλουτρο στους 75 °C προσθέτουμε σταδιακά το διάλυμα που έχει προκύψει από τη φάση 2+3 και αναδεύουμε έως ότου ομογενοποιηθούν τα συστατικά.

Όταν επιτευχθεί η ομογενοποίηση των συστατικών του μίγματος, απομακρύνουμε το δοχείο από το υδατόλουτρο και αναδεύουμε συνεχώς με μέτρια ταχύτητα. Όταν η θερμοκρασία του διαλύματος φτάσει τους 40 °C τοποθετούμε τα έλαια, τις βιταμίνες A και C και συνεχίζουμε αναδεύοντας μέχρι να επιτευχθεί ομογενοποίηση.

Όταν ομογενοποιηθούν όλα τα συστατικά προσθέτουμε τα λιποσώματα που έχουν προκύψει από τη φάση 1 της διαδικασίας και το άρωμα διαλυμένο στο Isopropyl miristate και αναδεύουμε μέχρι την ομογενοποίηση. Στη συνέχεια ελέγχουμε το pH και προσαρμόζουμε ανάλογα χρησιμοποιώντας το διάλυμα κιτρικού οξέος.

### 7.2.3.Μελέτη σταθερότητας

Για να θεωρηθεί ένα γαλάκτωμα ή γενικότερα ένα καλλυντικό σκεύασμα σταθερό πρέπει να διατηρεί όλα τα φυσικά, χημικά, μικροβιολογικά, θεραπευτικά και τοξικολογικά χαρακτηριστικά του σε όλη τη διάρκεια της ζωής του, έως τη λήξη του. Διάρκεια ζωής ορίζουμε το χρονικό διάστημα που έχει ως αρχή την ημέρα παρασκευής και συσκευασίας του καλλυντικού προϊόντος, έως την ημερομηνία εκείνη κατά την οποία δεν υπάρχει σημαντική μεταβολή στη χημική, βιολογική, και καλλυντική του δράση. Μέχρι την ημερομηνία δηλαδή που πληρούνται οι προδιαγραφές που ορίζουν οι διεθνείς κανονιστικές οδηγίες. Η αξιολόγηση της σταθερότητας των γαλακτωμάτων, και η ασφαλής πρόβλεψη της διάρκειας ζωής τους προϋποθέτει την εφαρμογή συγκεκριμένων διεργασιών ώστε να εξασφαλιστεί η εξαγωγή των απαραίτητων συμπερασμάτων. Οι διεργασίες που πρέπει να ακολουθηθούν είναι οι εξής:

• Το προϊόν πρέπει να αποθηκευτεί σε θερμοκρασία δωματίου (RT) για τους χρόνους  $t_0=0$ ,  $t_1=1$  μήνα και  $t_2=3$  μήνες. Τα γαλακτώματα πρέπει να παραμείνουν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (RT) συνολικά για 90 ημέρες. Σε όλη τη διάρκεια αυτού του διαστήματος πρέπει να υπάρχει οπτική παρατήρηση των αποθηκευμένων γαλακτωμάτων. Παράλληλα, λαμβάνονται μετρήσεις στο Malvern Mastersizer, στους χρόνους  $t_0=24$  ώρες,  $t_1=1$  μήνα και  $t_2=3$  μήνες από την ημερομηνία παρασκευής των γαλακτωμάτων. Ταυτόχρονα, εφαρμόζονται διεργασίες επιταχυνόμενης γήρανσης. Κατά τη διάρκεια των διεργασιών αυτών μελετάται ο βαθμός αποσύνθεσης ή φυσικής μεταβολής των γαλακτωμάτων σε συνθήκες ακραίων επιπέδων θερμοκρασίας και υγρασίας (ανέφερε ακραίες θερμοκρασίες και υγρασία). Οι διαδικασίες αυτές δίνουν τη δυνατότητα πρόβλεψης της αντίστασης των γαλακτωμάτων σε αλλαγές θερμοκρασίας και επιτυγχάνουμε μία ένδειξη σταθερότητας σε θερμοκρασία δωματίου. Οι διαδικασίες που εφαρμόζονται είναι οι εξής:

Κύκλοι κατάψυξης-απόψυξης/freeze-thaw cycles. Η επιταχυνόμενη αυτή διαδικασία εξασφαλίζει την εκτίμηση της σταθερότητας των γαλακτωμάτων στις φάσεις ψύξης και απόψυξης. Η διαδικασία αποσταθεροποίησης των γαλακτωμάτων συντελείται στα χρονικά διαστήματα που λαμβάνει χώρα η ψύξη και η απόψυξη και όχι στο χρονικό διάστημα που τα γαλακτώματα διατηρούνται σε θερμοκρασίες ψύξης. Όταν τα γαλακτώματα καταψύχονται στους  $-21^\circ\text{C}$ , δημιουργούνται μικροί κρύσταλλοι πάγου στη συνεχή φάση. Τα κρυσταλλίδια αυτά ασκούν συνεχόμενες πιέσεις στα διάσπαρτα σταγονίδια ελαίου και συνήθως το αποτέλεσμα των πιέσεων είναι η ρήξη του γαλακτώματος. Οι κύκλοι ψύξης – απόψυξης που εφαρμόζονται είναι συνολικά τέσσερις.

Η διαδικασία που ακολουθείται είναι η εξής: Σε αεροστεγώς κλεισμένα δοχεία τοποθετούμε μικρή ποσότητα γαλακτώματος και τα τοποθετούμε σε καταψύκτη στους  $-21^\circ\text{C}$  για το χρονικό διάστημα 16 ωρών. Μετά την πάροδο του χρονικού διαστήματος της κατάψυξης ακολουθεί η παραμονή των γαλακτωμάτων σε θερμοκρασία δωματίου  $(21\pm 2)^\circ\text{C}$  για 8 ώρες. Αυτός είναι ο πρώτος κύκλος ψύξης – απόψυξης ο οποίος επαναλαμβάνεται συνολικά 4 φορές. Πραγματοποιούνται μετρήσεις διαμέτρου των σωματιδίων στο τέλος του δεύτερου και τέταρτου κύκλου. Γίνεται αντιληπτή λοιπόν η καταπόνηση των γαλακτωμάτων μέσω της συγκεκριμένης επιταχυνόμενης διαδικασίας για τη μελέτη σταθερότητας τους. Αξίζει να σημειώσουμε ότι με αυτή τη διεργασία λαμβάνουμε μόνο εκτιμήσεις σχετικές με τη σταθερότητα των γαλακτωμάτων και όχι για την ακριβή διάρκεια ζωής τους. (82-83)

## 8. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η κανναβιδιόλη έχει αποδειχθεί ότι λειτουργεί στον ανθρώπινο οργανισμό μεταξύ άλλων ως αντιοξειδωτικό, αναλγητικό, αντιφλεγμονώδες και σμηγματορρυθμιστικό.

ο Η αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδης δράση της CBD σε κυτταρικό επίπεδο, επιβραδύνει τις διαδικασίες που οδηγούν στον κυτταρικό θάνατο. Συγκεκριμένα η αντιοξειδωτική δράση της CBD είναι ισχυρή όταν βρίσκεται στο χώρο των κυτταρικών μεμβρανών, διότι αναστέλλει την οξείδωση κυρίως των PUFA, των πρωτεϊνών και των υδατανθράκων. Συμπεραίνουμε λοιπόν ότι η CBD έχει αντιγηραντικές ιδιότητες.

ο Η CBD μπορεί να δράσει κατά της κοινής ακμής λόγω των συνδυασμένων λιποστατικών, αντιπολλαπλασιαστικών και αντιφλεγμονωδών ιδιοτήτων της.

Η αντιοξειδωτική δράση της CBD προκύπτει από τις εξής ιδιότητες

ο Αντιδρά άμεσα σε αντίδραση υποκατάστασης ελευθέρων ριζών, κατά την οποία η CBD αδρανοποιεί τις ελεύθερες ρίζες του περιβάλλοντος και τις δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS).

ο Αλληλεπιδρά με τα ιόντα δισθενή [Fe (II)] και τρισθενή σιδήρου [Fe(III)] με αποτέλεσμα την μείωση του επιπέδου των παραγόμενων ελευθέρων ριζών του υδροξυλίου και την κυτταροπροστασία των κερατινοκυττάρων.

ο Ενεργοποιεί τον πυρηνικό παράγοντα Nrf2 σε συνθήκες οξειδωτικού στρες ο οποίος είναι υπεύθυνος για την αύξηση της σύνθεσης των αντιοξειδωτικών ενζύμων του κυττάρου και τα οποία καταστέλλουν την ανεξέλεγκτη παραγωγή των ελευθέρων ριζών του οξειδωτικού στρες.

Η διαδερμική απορρόφηση της CBD καθορίζεται από τη διαλυτότητα της στο νερό, η οποία εξαρτάται από το υδρογονανθρακικό τμήμα του μορίου της. Η CBD είναι σχεδόν αδιάλυτη στο νερό και διαλυτή σε οργανικούς διαλύτες, άρα έχει χαμηλή διαδερμική απορρόφηση. Η αποτελεσματικότητα της στην αντιγήρανση είναι σημαντική όταν δρα στο εσωτερικό των κυττάρων και κυρίως στην κυτταρική μεμβράνη. Λόγω της πολικότητας της εξωτερικής επιφάνειας των κυτταρικών μεμβρανών, η διάχυση της CBD στο εσωτερικό της κυτταρικής μεμβράνης και στον ενδοκυττάριο χώρο είναι σχεδόν μηδενική. Αυτό μπορεί να αντιμετωπιστεί με τη χρήση λιποσωμάτων στα οποία εγκλωβίζεται η CBD. Τα λιποσώματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως μέσα εγκλωβισμού και μεταφοράς δραστικών ουσιών με σκοπό την προστασία τους από οξειδωτικούς παράγοντες και την στοχευμένη μεταφορά τους αφενός μεν στα κυτταρικά διαμερίσματα (πλασματική μεμβράνη, κυτταρόπλασμα) αφετέρου στα βαθύτερα στρώματα του δέρματος. Τα λιποσώματα

που έρχονται σε επαφή με την κυτταρική μεμβράνη των κυττάρων συντήκονται, γίνονται τμήμα της κυτταρικής μεμβράνης και επιτρέπουν τη δράση της CBD στο λιπόφιλο ενδιάμεσο χώρο της.

Ο εγκλωβισμός ουσιών σε μικκύλια χρησιμοποιείται για πολύ δραστικές και ευαίσθητες ουσίες, επειδή τις αποτρέπει από το να αντιδρούν ή να οξειδώνουν άλλες εξωκυττάρια ουσίες με αποτέλεσμα να μεταφέρονται στα κύτταρα στόχους.

Η ανεπάρκεια των συμβατικών λιποσωμάτων θα μπορούσε να συμπληρωθεί με την προσθήκη υδρόφιλου πολυμερούς (PEG, Polyethylene glycol /πολυαιθυλενογλυκόλη) ή και χοληστερόλης για την ενίσχυση της σταθερότητας και επιμήκυνση του χρόνου που μπορούν να παραμένουν σταθερά στους ιστούς πριν την σύντηξη.

## 9. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Lademann J, Darvin, M E, Heinrich U. Antioxidants and Skin Nutrition and Skin. New York, N Y: Springer, 2011.
2. Sies H. Oxidative stress: introductory remarks. In Oxidative Stress edn, London: Academic Press, 1985.
3. Bickers D R, Athar M. Oxidative stress in the pathogenesis of skin disease. *J. Invest. Dermatol.* 2006; 126 (12) : 2565–2575.
4. Dalmau N, Andrieu-Abadie N, Tauler R, Bedia C. Phenotypic and lipidomic characterization of primary human epidermal keratinocytes exposed to simulated solar UV radiation. *J. Dermatol Sci.* 2018; 92 (1): 97–105.
5. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. 3 rd edn. Oxford: Oxford University Press, 1999.
6. Palozza P. Prooxidant Actions of Carotenoids in Biologic Systems. *Nutrition Reviews* 1998; 56 (9): 257-265.
7. Pellati F, Borgonetti V, Brighenti V, Biagi M, Benvenuti S, Corsi L. Cannabis sativa L. and Nonpsychoactive Cannabinoids: Their Chemistry and Role against Oxidative Stress, Inflammation, and Cancer. *BioMed Res Int.* 2018: 1691428.
8. Baswan, S M. et al. <p>Therapeutic Potential of Cannabidiol (CBD) for Skin Health and Disorders</p>. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology.* 2020; (13): 927–942.
9. Scheau C, et al. Cannabinoids in the Pathophysiology of Skin Inflammation. *Molecules* 2020; 25 (3): 652
10. Silva Soares M G et al. The use of cannabinoids in dermatological pathophysiology: a systematic review. *Research Society and Development.* 2022; 11 (2)
11. Morrison G, Crockett J, Blakey G, Sommerville K A. Phase 1, Open-Label, Pharmacokinetic Trial to Investigate Possible Drug-Drug Interactions Between Clobazam, Stiripentol, or Valproate and Cannabidiol in Healthy Subjects. *Clin. Pharmacol. Drug. Dev.* 2019; (8): 1009–1031.
12. Petrosino S, Verde R, Vaia M, Allara M, Iuvone T, Di Marzo V. Anti-inflammatory Properties of Cannabidiol, a Nonpsychotropic Cannabinoid, in Experimental Allergic Contact Dermatitis. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2018; 365 (3): 652–663.
13. Oláh A. et al. Cannabidiol exerts sebostatic and antiinflammatory effects on human sebocytes. *J Clin Invest.* 2014; 124 (9): 3713–3724.

14. Grotenhermen F. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cannabinoids. *Clin. Pharmacokinet.* 2003; 42 (4): 327–360
15. Hwang YS. et al. Cannabidiol upregulates melanogenesis through CB1 dependent pathway by activating p38 MAPK and p42/44 MAPK. *Chem Biol Interact.* 2017; 273: 107–114.
16. Simmerman E, Qin X, Yu, J.C., Baban B. Cannabinoids as a Potential New and Novel Treatment for Melanoma: A Pilot Study in a Murine Model. *J. Surg. Res.* 2018; 235: 210–215.
17. Garbe, C. et al. Diagnosis and treatment of melanoma. European consensus-based interdisciplinary guideline – Update 2012. *Eur. J. Cancer* .
18. Juknat A. et al. Microarray and pathway analysis reveal distinct mechanisms underlying cannabinoid-mediated modulation of LPS-induced activation of BV-2 microglial cells. *PLoS One.* 2013;8 (4): 61462. 2012; 48: 2375–2390.
19. Blázquez C et al. Cannabinoid receptors as novel targets for the treatment of melanoma. *FASEB J.* 2006; 20 (14): 2633–2635.
20. Armstrong, JL, et al. Exploiting Cannabinoid-Induced Cytotoxic Autophagy to Drive Melanoma Cell Death. *J. Invest. Dermatol.* 2015; 135 (6): 1629–1637.
21. Juknat A, et al. Differential transcriptional profiles mediated by exposure to the cannabinoids cannabidiol and Delta9-tetrahydrocannabinol in BV-2 microglial cells. *Br J Pharmacol.* 2012;165 (8): 2512–2528.
22. Dobosi N et al. Endocannabinoids enhance lipid synthesis and apoptosis of human sebocytes via cannabinoid receptor-2-mediated signaling. *Faseb J.* 2008; 22 (10): 3685-3695.
23. Halliwell B, Gutteridge JM. Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts. *Archives of biochemistry and biophysics.* 1986; 246 (2): 501-14.
24. Winkle C C, Gupton S L, International Review of Cell and Molecular Biology. Elsevier 2016; 322: 247-280.
25. Gozzelino R, Jeney V, Soares MP. Mechanisms of cell protection by heme oxygenase-1. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2010; 50: 323–354.
26. Ghovanloo M R, Shuart N G, Mezeyova, J, Dean R A, Ruben, P C, Goodchild, S J. Inhibitory Effects of Cannabidiol on Voltage-Dependent Sodium Currents. *J. Biol. Chem.* 2018; 293 (43): 16546–16558.
27. Watkins A R. Cannabinoid Interactions with Ion Channels and Receptors. *Channels* 2019; 13(1):162–167.
28. Jackson M B, Inferring Structures of Kinetic Intermediates in Ca<sup>2+</sup>-Triggered Exocytosis. *Current Topics in Membranes on science topic* .2011; 68: 185-208.

29. Cooper G M, Hausman R E. Το κύτταρο Μία μοριακή προσέγγιση Αλεξανδρούπολη: Ακαδημαϊκές Εκδόσεις Ι. Μπάσδρα και Σια ΟΕ, 2011.
30. Aguilar Z P. Types of Nanomaterials and Corresponding Methods of Synthesis, in *Nanomaterials for Medical Applications* Ch. 2 Elsevier, 2013 pp 33-82.
31. Mitra A K, Cholkar K, Mandal A. Peptide and Protein-Based Therapeutic Agents in Emerging Nanotechnologies for Diagnostics, Drug Delivery and Medical Devices. Amsterdam: Elsevier, 2017.
32. Rana S, Bhattacharjee J, Barick K C, Verma G, Hassan, Yakhmi J V. Interfacial engineering of nanoparticles for cancer therapeutics in *Nanostructures for Cancer Therapy* Ch 7. Elsevier, 2017.
33. Akbarzadeh A, et al. Liposome: classification, preparation, and applications. *Nanoscale Res Lett.* 2013 ; 8 (1) :102.
34. Coune A. Liposomes as drug delivery system in the treatment of infectious diseases. *Potential applications and clinical experience. Infection* 1985 ; 16 (3) : 141-147.
35. Dong-Uk Lee, Hye-Won Park & Seung-Cheol Lee. Comparing the stability of retinol in liposomes with cholesterol,  $\beta$ -sitosterol, and stigmasterol. *Food Science and Biotechnology.* 2021; 30 : 389–394.
36. Mehran Alavi, Naser Karimi, and Mohsen Safaei. Application of Various Types of Liposomes in Drug Delivery Systems. *Adv Pharm Bull.* 2017; 7 (1): 3–9.
37. Verrico C D et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled study of daily cannabidiol for the treatment of canine osteoarthritis pain. *Pain.* 2020; 161 (9): 2191–2202.
38. Uziel A, et al. Full-Spectrum Cannabis Extract Microdepots Support Controlled Release of Multiple Phytocannabinoids for Extended Therapeutic Effect . *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2020; 12 (21): 23707-23716.
39. Goodman J, Danaher M. AC-HeAC Hemp Oil Liposome PF Efficacy Data. Study IL-6 ELISA Assay. 2018.
40. Blair E. Next Generation of Liposomal Delivery for Cannabidiol From a Hemp Extract: A Safety Study. *American Journal of Endocannabinoid Medicine AJEM.* 2019; 1 (1): 20-23.
41. Hammell D C, Zhang L P , Ma F, Abshire S M, McIlwrath S L, Stinchcomb A L, Westlund K N. Transdermal cannabidiol reduces inflammation and pain-related behaviours in a rat model of arthritis. *Eur J Pain.* 2016;.20.(6):.936-48.
42. Aparicio-Blanco J, Sebastián V, Benoit J P, Torres-Suárez A I. Lipid nanocapsules decorated and loaded with cannabidiol as targeted prolonged release



carriers for glioma therapy: in vitro screening of critical parameters. *Eur J Pharm Biopharm* 2019;134:126-137

43. Blair E. Liposomal Cannabidiol Delivery: A Pilot Study. *American Journal of Endocannabinoid Medicine*. 2007; 2 (1):19-21

44. Sánchez F , Carballido F ,Herbada S, Sabroso M, Suárez T. CBD loaded microparticles as a potential formulation to improve paclitaxel and doxorubicin-based chemotherapy in breast cancer. *Int J Pharm* 2020; 574: 118916.

45. Valle A, Oliver J, Roca P, Role of Uncoupling Proteins in Cancer, *Cancers*, 2010; 2: 567-591

46. Medeiros Ramalho I M, et al. Current trends on cannabidiol delivery systems: where are we and where are we going? *Expert Opin Drug Deliv*. 2021; (11): 1577-1587.

47. Chelliah M P, Zinn Z, Khuu, Teng J MC. Self-initiated use of topical cannabidiol oil for epidermolysis bullosa. *Case Reports Pediatr Dermatol*. 2018; 35 (4): 224-227.

48. Szepietowski J C, Szepietowski T, Reich A. Efficacy and tolerance of the cream containing structured physiological lipids with endocannabinoids in the treatment of uremic pruritus: a preliminary study. *Acta Dermatovenerol Croat* 2005; 13 (2): 97-103.

49. Knoll G, Burger K N, Bron R, Meer G, Verkleij A. Fusion of liposomes with the plasma membrane of epithelial cells: fate of incorporated lipids as followed by freeze fracture and autoradiography of plastic sections. *J. of Cell Biol* 1988; 107 (6): 2511–2521.

50. Damen J, Regit J, Scherphof G. Transfer and exchange of phospholipid between small unilamellar liposomes and rat plasma high density lipoproteins. Dependence on cholesterol content and phospholipid composition. *Biochim Biophys Acta* 1981; 665 (3): 538-545.

51. Bogaart G, Holt M G, Bunt G, Riedel D, Wouters F S, Jahn R. One SNARE complex is sufficient for membrane fusion. *Nat Struct Mol Biol* 2010; 17 (3): 358-364.

52. Plemper R K, Melikyan G B. Membrane Fusion. *Encyclopedia of Biological Chemistry*. Second Edition. 2013.

53. Meng J, Wang J, Buddenkotte J, Buhl T, Steinhoff M. Role of SNAREs in the Atopic Dermatitis-related Cytokine Secretion and Skin-Nerve Communication. *Journal of Investigative Dermatology*. 2019; 139(11):2324-23333.

54. Del Río C, Millán E, García V, Appendino G, DeMesa J, Muñoz E. The endocannabinoid system of the skin. A potential approach for the treatment of skin disorders. *Biochem Pharmacol*. 2018; 157: 122-133.

55. Bagai S, Sarkar D P Targeted delivery of hygromycin B using reconstituted Sendai viral envelopes lacking hemagglutinin-neuraminidase. *FEBS Letters* 1993; 326 (1–3): 183-188.
- 56A. Δεμέτζος Ν Κ. Φαρμακευτική Νανοτεχνολογία: Εκδόσεις Παρισιάνου Α.Ε, 2014.
- 56B. Βαρβαρέσου Α, Ιακώβου Κ. Σημειώσεις συστημάτων μεταφοράς δραστικών ουσιών. Αθήνα: Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής, 2019.
57. Amado L L, et al. A method to measure total antioxidant capacity against peroxy radicals in aquatic organisms: Application to evaluate microcystins toxicity. *Science of The Total Environment*. 2009; 407 (6): 2115-2123.
58. Shen W, Hu J, Hu X. Impact of amphiphilic triblock copolymers on stability and permeability of phospholipid/polymer hybrid vesicles. *Chemical Physics Letters*. 2014; 600: 56–61.
59. Lee C. Collaborative power of nrf2 and pparγ activators against metabolic and drug-induced oxidative injury. *Oxid Med Cell Longev*. 2017; 2017:1378175.
60. Pereira S P, Hackett B, O'Driscoll D N, Cui Sun M, Downer E J. Cannabidiol modulation of oxidative stress and signaling. *Neuronal Signal*. 2021; 5(3)
61. Nelson M K et al The Essential Medicinal Chemistry of Cannabidiol (CBD). *J. Med. Chem*. 2020; 63 (21): 12137-12155.
62. Borges R S, et al. Understanding the Molecular Aspects of Tetrahydrocannabinol and Cannabidiol as Antioxidants. *Molecules* 2013; 18 (10): 12663–12674.
63. Jastrzab A, Gęgotek A, Skrzydlewska E. Cannabidiol Regulates the Expression of Keratinocyte Proteins Involved in the Inflammation Process through Transcriptional Regulation. *Cells*. 2019; 8 (8): 827.
64. Atalay S, Jarocka-Karpowicz I, Skrzydlewska E. Antioxidative and Anti-Inflammatory Properties of Cannabidiol. *Antioxidants (basel)* 2019; 9 (1): 21.
65. Cullis P R, Bally M B, Madden T D, Mayer L D, Hope M J. pH gradients and membrane transport in liposomal systems. *Trends Biotechnol*. 1991; 9 (8): 268-272.
66. Chonn A, Cullis P R. Recent advances in liposomal drug-delivery systems. *Curr Opin Biotechnol* .1995; 6 (6): 698–708.
67. Riaz M. Liposome preparation method. *Pak J Pharm Sci*. 1996; 9 (1): 65–77.
68. Anwekar H, Patel S, Singhai A K. Liposomes as drug carriers. *IJPLS* 2011; 2 (7): 945–951.
69. Stella B, Baratta F, Pepa C, Arpicco S, Gastaldi D, Dosio F. Cannabinoid Formulations and Delivery Systems: Current and Future Options to Treat Pain. *Drugs*. 2021; 81 (13): 1513–1557.

70. Francke N , Grüne L , Bunjes H. Formulation Of Cannabidiol in Lipid Carriers. *Molecules*. 2021; 26 (5): 1469.
71. Clements A J .Liposome Technology Cancer Research Institute, University of California San Francisco, Department of Pharmacology University of Alberta, Canada, Department of Oncology, Hadassah Medical Center, Jerusalem, Israel, Department of Experimental Pathology, Roswell Park Cancer Institute, Buffalo, Communicated by John A.Clements,1991.
72. Woodle M C. Sterically stabilized liposome therapeutics. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 1995; 16 (2-3): 249-265
73. Allen M T. Long-circulating (sterically stabilized) liposomes for targeted drug delivery. *Trends in Pharmacological Sciences*. 1994; 15 (7): 215-220.
74. Lasic D D, Martin F J ,Gabizon A,Huang S K, Papahadjopoulos D. Sterically stabilized liposomes: a hypothesis on the molecular origin of the extended circulation times. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*. 1991; 1070 (1): 187-192.
75. Papahadjopoulos D et al. Sterically stabilized liposomes :Improvements in pharmacokinetic sandanti tumor therapeutic. *Medical Sciences.Proc. Natl. Acad. Sci. USA*.1991; 88: 11460-11464
76. AC Hemp Oil Liposome PF Sample Formulations. INCI Name: Water & Phospholipids & Cannabis Sativa Flower/Leaf/Stem Extract.Code: 61005PF
77. Tardi P , Bally M B, Harasym T O . Clearance properties of liposomes involving conjugated proteins for targeting. *Adv. Drug Delivery Rev*. 1998;.32.(1-2):.99-118.
78. Attwood D, Florence A T.Physical pharmacy. London : Pharmaceutical, 2008.
79. Kirby C, Clarke J, Gregoriadis G. Effect of the cholesterol content of small unilamellar liposomes on their stability in vivo and in vitro. *Biochem. J*. 1980; 186 (2): 591-598.
80. Stover T, Kester M. Liposomal delivery enhances short-chain ceramide-induced apoptosis of breast cancer cells. *J Pharmacol Exp Ther*. 2003; 307 (2): 468-475.
81. Veronese F M, Pasut G, PEGylation, successful approach to drug delivery. *Drug Discov Today*. 2005;.10.(21):.1451-1458.
82. Guidelines on the stability testing of cosmetic products.ISO/TR 18811:2018(en) Cosmetics. <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:tr:18811:ed-1:v1:en>
83. Stability testing cosmetics for shelf life. Parameter generation Control.<https://humiditycontrol.com/stability-testing-cosmetics-shelf-life/>