



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ



ΕΘΝΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΕΡΕΥΝΩΝ
ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ ΧΗΜΙΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΔΙΙΔΡΥΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ΒΙΟΕΠΙΧΕΙΡΕΙΝ



ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«Εφαρμογές νανοδομών με βάση τις κυκλοδεξτρίνες και συναφή συστήματα ως μεταφορείς φαρμακευτικών μορίων με αντικαρκινική δράση: ανασκόπηση και μελλοντικές προκλήσεις»

**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: Δρ. Ιωάννης Κώστας, Ερευνητής,
Ινστιτούτο Χημικής Βιολογίας, Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών**

**ΜΑΡΙΑ-ΗΛΕΚΤΡΑ ΧΩΜΑΤΑ
00108
ΑΘΗΝΑ, 2023**



UNIVERSITY OF THESSALY
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY AND BIOTECHNOLOGY



NATIONAL HELLENIC RESEARCH FOUNDATION
INSTITUTE OF CHEMICAL BIOLOGY

**INTERSTITUTIONAL PROGRAM OF POSTGRADUATE STUDIES
IN
BIOENTREPRENEURSHIP**



MASTER THESIS

“Applications of cyclodextrin-based nanostructures and related systems as carriers of drug molecules with anticancer activity: review and future challenges”

SUPERVISOR: Dr. Ioannis Kostas, Researcher, Institute of Chemical Biology, National Hellenic Research Foundation

**MARIA-ILEKTRA CHOMATA
00108
ATHENS, 2023**

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η διπλωματική αυτή εργασία πραγματοποιήθηκε κατά το έτος 2022-2023 στην Αθήνα στο πλαίσιο της φοίτησής μου στο Μεταπτυχιακό πρόγραμμα σπουδών «Βιοεπιχειρείν».

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα της διπλωματικής μου εργασίας, Ερευνητή του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών Δρ. Ιωάννη Κώστα, για την πολύτιμη βοήθεια και την καθοδήγηση, καθώς επίσης και για την συνεργασία και την εμπιστοσύνη καθ' όλη τη διάρκεια της συνεργασίας μας. Επιπλέον ευχαριστώ θερμά τις Δρ. Cécile Arbez-Gindre και Δρ. Μαρία Ζερβού για τη συνεισφορά και καθοδήγησή τους κατά τη συγγραφή της παρούσας εργασίας.

Τέλος, ένα ξεχωριστό ευχαριστώ ανήκει στο οικογενειακό και φιλικό μου περιβάλλον για την ηθική συμπαράσταση και την συνεχή υποστήριξη καθ' όλη την διάρκεια των σπουδών μου.

Πίνακας περιεχομένων

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	5
ΛΕΞΕΙΣ-ΚΛΕΙΔΙΑ.....	6
ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ	6
ΣΚΟΠΟΣ.....	7
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	8
1.1 Νανοτεχνολογία-Νανοεπιστήμη	8
1.2 Νανোসωματίδια για μεταφορά φαρμάκων	8
1.3 Μηχανισμοί πρόσληψης νανোসωματιδίων από τα κύτταρα	11
1.4 Νανοϊατρική: Συμβολή στη θεραπεία του καρκίνου	15
2. ΚΥΡΙΟ ΜΕΡΟΣ: ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΕΣ ΩΣ ΦΟΡΕΙΣ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ..	17
2.1 Κυκλοδεξτρίνες	17
2.2 Νανοδομές με βάση Κυκλοδεξτρίνες (CDs).....	26
2.3 Πλεονεκτήματα στη μεταφορά αντικαρκινικών φαρμάκων με χρήση κυκλοδεξτρινών	31
2.4 Πρόοδος στην Αντικαρκινική θεραπεία	36
2.5 Περιορισμοί στη χρήση νανোসωματιδίων κυκλοδεξτρίνης	38
2.6 Συνδυαστική χρήση κυκλοδεξτρινών και νανοφορέων στη μεταφορά φαρμακευτικών ουσιών: Εφαρμογές και προκλήσεις	39
2.7 Τρέχουσα κατάσταση στη χρήση κυκλοδεξτρινών	52
3. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ	54

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι περισσότεροι από τους κυτταροτοξικούς χημειοθεραπευτικούς παράγοντες παρουσιάζουν μικρή διαλυτότητα σε υδατικά υγρά και χαμηλή διαπερατότητα στο βιολογικό περιβάλλον δυσχεραίνοντας έτσι την αποδοτική μεταφορά τους στο βιολογικό στόχο. Μια προσέγγιση για πιθανή βελτίωση της αποτελεσματικότητας των κυτταροτοξικών φαρμάκων θα μπορούσε να είναι ο συνδυασμός κυκλοδεξτρινών και νανοτεχνολογίας για την ανάπτυξη αποδοτικών συστημάτων μεταφοράς φαρμάκων στη νανοκλίμακα. Στην παρούσα εργασία παρουσιάζονται οι εφαρμογές των νανοσυστημάτων που σχετίζονται με την συμπλοκοποίηση αντικαρκινικών φαρμάκων με κυκλοδεξτρίνες, καθώς και η φόρτωση/ενθυλάκωση των συμπλοκοποιημένων φαρμάκων σε διάφορους νανοφορείς, όπως νανοσωματίδια, λιπιδικά και πολυμερικά νανοσωματίδια λιποσώματα, νιοσώματα και οι διάφορες προσεγγίσεις που έχουν αναπτυχθεί για την παράδοση των φαρμάκων στα κύτταρα στόχους. Η νανοτεχνολογία που βασίζεται στην κυκλοδεξτρίνη, ως σύστημα παράδοσης φαρμακευτικών παραγόντων φαίνεται να παρέχει καλό θεραπευτικό αποτέλεσμα ενάντια σε καρκινικά κύτταρα και παράλληλα να προστατεύει τα υγιή κύτταρα από την κυτταροτοξική δράση των φαρμάκων αυτών. Ωστόσο απαιτείται διερεύνηση των συστημάτων χορήγησης φαρμάκων με βάση την κυκλοδεξτρίνη, όσον αφορά τη φαρμακοκινητική και την τοξικολογία τους για να τεκμηριωθεί η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητά τους ενάντια στα καρκινικά κύτταρα.

ΛΕΞΕΙΣ-ΚΛΕΙΔΙΑ

Νανοσωματίδια

Νανοφορείς

Drug delivery

Νανοϊατρική

Καρκίνος

Κυκλοδεξτρίνη (CD)

Σύμπλοκο εγκλεισμού

Λιποσώματα

Θεραπευτική

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

CD: Κυκλοδεξτρίνη

α-CD: α-Κυκλοδεξτρίνη

β-CD: β-Κυκλοδεξτρίνη

NPS: Νανοσωματίδιο

MPS: Μικροσωματίδιο

CS: Χυτοζάνη

NS: Νανοσπόγγος

PEG: Πολυαιθυλενογλυκόλη

ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι να παρουσιαστούν οι εφαρμογές διάφορων νανοϋλικών, όπως νανοσωματιδίων και κολλοειδών συστημάτων, ως φορείς δραστικών ουσιών με έμφαση στις εφαρμογές των νανοδομών με βάση κυκλοδεξτρίνες και τροποποιημένες κυκλοδεξτρίνες, ως προς την χρήση και την αποτελεσματικότητα τους ως συστήματα μεταφοράς φαρμακευτικών μορίων με στοχευμένη δράση σε πληθώρα ασθενειών και ιδιαίτερα του καρκίνου.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

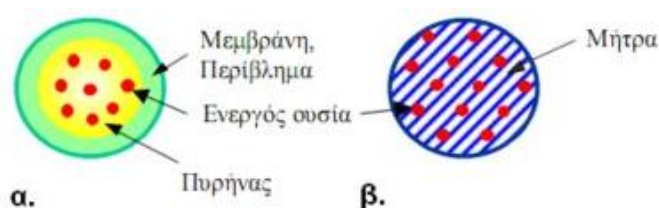
1.1 Νανοτεχνολογία-Νανοεπιστήμη

Η νανοτεχνολογία αποτελεί το σημαντικότερο αναπτυσσόμενο τομέα του τρέχοντος αιώνα και η γένεσή της προήλθε από τον Richard Feynman στο ετήσιο συνέδριο της Αμερικανικής Εταιρείας Φυσικής στις 29/12/1959 στο CalTech. Η νανοεπιστήμη ορίζεται ως η επιστήμη η οποία μελετά τη νανοτεχνολογία και χαρακτηρίζεται από διεπιστημονικότητα, καθώς απαιτεί τη συνέργεια της φυσικής, της χημείας, της βιολογίας και της επιστήμης των υλικών για να διεξαχθεί η μελέτη των αντικειμένων της νανοκλίμακας. Η ανάλυση για?? την εξέταση ατόμων, μορίων ή σωματιδίων μεγέθους νανοκλίμακας και οι μετρήσεις γίνονται σε νανόμετρα (10^{-9} m). Η επιλογή του προθέματος νάνο έγινε επειδή οι μεταβολές των ιδιοτήτων σε σύγκριση με τις αντίστοιχες στη φυσική κλίμακα συμβαίνουν στη νανοκλίμακα. Η νανοτεχνολογία εκμεταλλεύεται το γεγονός της αλλαγής των ιδιοτήτων των υλικών λόγω της μεταβολής των διαστάσεων τους, οπότε αναπτύσσει χρήσιμες εφαρμογές. Παραδείγματος χάριν, ιατρικές εφαρμογές, τεχνολογίες της πληροφορίας, παραγωγή και αποθήκευση ενέργειας, βιομηχανική παραγωγή, χρήση επιστημονικών οργάνων αλλά και έρευνα σε είδη διατροφής, υδάτινους πόρους και στο περιβάλλον. Η νανοτεχνολογία χαρακτηρίζεται από όρους μεγέθους και κλίμακας διαστάσεων, οπότε εφαρμόζεται σε πλήθος πεδίων και επιστημών οριζοντίως άσχετα από τη φύση των χρησιμοποιούμενων υλικών και διαδικασιών. Ένας αναπτυσσόμενος τομέας της νανοτεχνολογίας είναι αυτός της νανοβιοτεχνολογίας-νανοϊατρικής. Πρόκειται για ένα τομέα που έχει ως στόχο τη συνεργασία ιατρικού και βιολογικού κλάδου, όπου εφαρμόζονται οι γνώσεις της νανοδιάταξης για την εξέταση και ανάλυση βιολογικών συστημάτων και την παραγωγή καινοτόμων διεργασιών και φαρμάκων. Πιο συγκεκριμένα, στις ιατρικές εφαρμογές συγκαταλέγονται μικροσκοπικά διαγνωστικά μέσα, τα οποία μέσω νανοτεχνολογικών επιστρώσεων που θα τους προσδίδουν διαδραστικότητα και βιοσυμβατότητα, θα μπορούν να εμφυτεύονται για έγκαιρη διάγνωση ασθενειών. Επιπλέον υπό ανάπτυξη βρίσκονται νεότεριστικά συστήματα για στοχευμένη χορήγηση φαρμάκων, καθώς και νέες γενιές υλικών μηχανικής ιστών και βιομημητικών υλικών, από τα οποία θα μπορούν να κατασκευάζονται τεχνικά όργανα.

1.2 Νανოსωματίδια για μεταφορά φαρμάκων

Ως νανოსωματίδια χαρακτηρίζονται τα σωματίδια που έχουν τουλάχιστον μία από τις διαστάσεις τους μικρότερη των 100nm. Στα νανოსωματίδια περιλαμβάνονται τα νανোসφαιρίδια και οι νανοκάψουλες. Πρόκειται για στερεούς σχηματισμούς είτε οργανικούς είτε ανόργανους, που χαρακτηρίζονται από στερεότητα και μέγεθος που

κυμαίνεται μεταξύ 10nm-1000nm. Τα νανοσωματίδια είναι κρίσιμοι νανοφορείς για τα συμβατικά φάρμακα, τις πρωτεΐνες, τα εμβόλια και όπως έχει αποδειχθεί προσφάτως τα νουκλεοτίδια. Τα φάρμακα προσροφώνται στη νανοσωματιδιακή επιφάνεια ή εσωκλείονται σε αυτά για την προστασία τους από τη χημική και την ενζυμική αποδόμηση τους. Αξίζει να σημειωθεί ότι έχουν αναπτυχθεί μέθοδοι επιφανειακής τροποποίησης των νανοσωματιδίων, μέσω διαφόρων μορίων στόχευσης, οπότε οι θεραπευτικές τους εφαρμογές είναι πολλές. Η κατανόηση της δράσης θα μπορούσε δυνητικά να συνεισφέρει στην ανάπτυξη ασφαλών θεραπειών για πολλές ασθένειες (Μασμανίδου, 2015).



Εικόνα 1.2.1: α. Νανοκάψουλα β. Νανοσφαιρίδιο

- **Χαρακτηριστικά νανοσωματιδίων για τη μεταφορά φαρμακευτικών ουσιών**

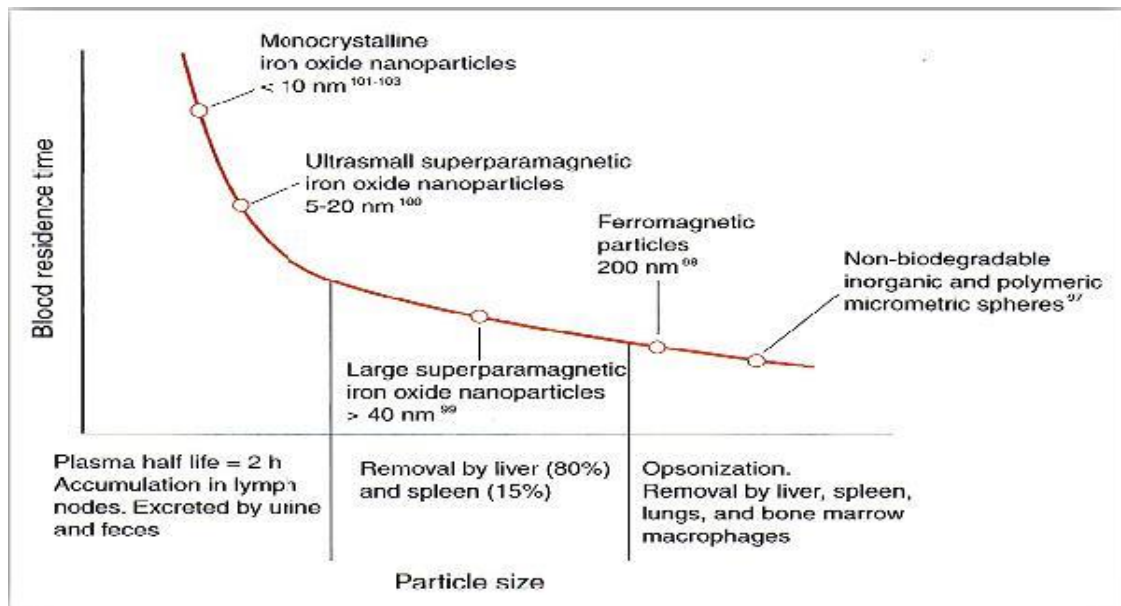
Τα νανοσωματίδια πρέπει να φέρουν συγκεκριμένα χαρακτηριστικά για να είναι κατάλληλοι μεταφορείς φαρμακευτικών ουσιών. Αυτά τα χαρακτηριστικά παρουσιάζονται παρακάτω:

- Σταθερότητα στο αίμα
- Απουσία τοξικότητας
- Δεν προξενεί θρομβώσεις
- Δεν προξενεί φλεγμονές
- Δεν παρουσιάζει αντιγονικότητα, δηλαδή δεν ενεργοποιούνται τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα λευκά αιμοσφαίρια και δεν παρουσιάζεται ανοσοαντίδραση
- Χαρακτηρίζεται ως βιοδιασπώμενο
- Είναι ικανό να φέρει μικρά μόρια, αλλά και βιομόρια, δηλαδή πρωτεΐνες, πεπτίδια και νουκλεϊκά οξέα
- Χαρακτηρίζεται από μη κοστοβόρα διαδικασία παραγωγής (Μασμανίδου, 2015).

Η ικανότητα πρόσληψης του αντιγόνου, δηλαδή της ουσίας που είναι επιθυμητή προς μεταφορά, από το νανοσωματίδιο είναι συνάρτηση του μεγέθους, του φορτίου και του

σχήματος του νανοσωματιδίου. Συγκεκριμένα, τα νανοσωματίδια συνίσταται να έχουν ανάλογο μέγεθος με αυτό των παθογόνων ώστε να αναγνωρίζονται άμεσα και εύκολα να προσλαμβάνονται από τα κύτταρα στόχους. Αναλυτικότερα, τα δενδριτικά κύτταρα προσλαμβάνουν υλικό μεγέθους ανάλογο με των ιών, δηλαδή 20-200nm, ενώ μελέτες έδειξαν ότι τα νανοσωματίδια από PLGA (πολυγαλακτικό-γλυκολικό οξύ) μεγέθους 300nm έχουν μεγάλο ποσοστό ενεργοποίησης των δενδριτικών κυττάρων. Άλλη μία κρίσιμη ιδιότητα από την οποία εξαρτάται η ανοσοαπόκριση είναι το φορτίο των νανοσωματιδίων. Τα κατιοντικά νανοσωματίδια παρουσιάζουν υψηλότερο επίπεδο πρόσληψης από τα κύτταρα εξαιτίας των ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων με τις ανιοντικές κυτταρικές μεμβράνες των κυττάρων, όμως και τα ανιοντικά νανοσωματίδια ευθύνονται για την πρόκληση κυτταρικής ανοσοαπόκρισης. Επίσης, η αλληλεπίδραση μεταξύ νανοσωματιδίων και κυττάρων εξαρτάται και από το σχήμα των νανοσωματιδίων. Τα ευμεγέθη νανοσωματίδια, δηλαδή μεγαλύτερα του 1μm, φαγοκυτταρώνονται από την κατηγορία των μακροφάγων, ενώ τα νανοσωματίδια που διαθέτουν οφιοειδές σχήμα παρουσιάζουν μικρό επίπεδο φαγοκυττάρωσης συγκριτικά με τα αντίστοιχα σφαιρικά. Αξίζει να σημειωθεί ότι η πρόσληψη των νανοσωματιδίων από τα κύτταρα είναι συνιστώσα της υδροφοβικότητας, με τα υδρόφοβα νανοσωματίδια να προξενούν μεγαλύτερη ανοσοαπόκριση από τα αντίστοιχα υδρόφιλα (Zhao et al., 2014).

Το μέγεθος των νανοσωματιδίων επιδρά στην *in vivo* κατανομή τους, στη βιολογική τους συμπεριφορά και στην απομάκρυνση τους από το σώμα, ενώ τα επιφανειακά τους χαρακτηριστικά, επιδρούν στη διάρκεια της κυκλοφορίας στους στον οργανισμό. Επιπλέον, η ικανότητα φόρτωσης του φαρμάκου στα νανοσωματίδια επιδρά στην ποσότητα του μεταφερόμενου φαρμάκου στον οργανισμό και καθορίζεται από τη διαλυτότητα του φαρμάκου εντός των νανοσωματιδίων, το μοριακό βάρος της φαρμακευτικής ουσίας και τις αλληλεπιδράσεις της με τις πλευρικές ομάδες του νανοσωματιδίου. Η αποδέσμευση της φαρμακευτικής ουσίας επιδρά στο ρυθμό απελευθέρωσης του φαρμάκου από τα νανοσωματίδια και είναι συνάρτηση της διαλυτότητας του, της εκρόφησης του, της διάχυσης του μέσω της μήτρας του νανοσωματιδίου και της ταυτόχρονης αποικοδόμησής του (Mohanraj and Chen, 2006).



Εικόνα 1.2.2: Χρονικό διάστημα παραμονής μικρο-/νάνο-σωματιδίων στο αίμα σε συνάρτηση με το μέγεθος τους (Mohanraj and Chen, 2006).

1.3 Μηχανισμοί πρόσληψης νανοσωματιδίων από τα κύτταρα

Οι βασικότεροι μηχανισμοί που ενεργοποιούνται για την πρόσληψη ενός νανοσωματιδίου από τα κύτταρα εξαρτώνται από τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του εκάστοτε νανοφορέα αλλά και του τύπου του κυττάρου και είναι η φαγοκύτωση ή φαγοκυττάρωση, και η ενδοκυττάρωση (Κατσικάρη, 2014).

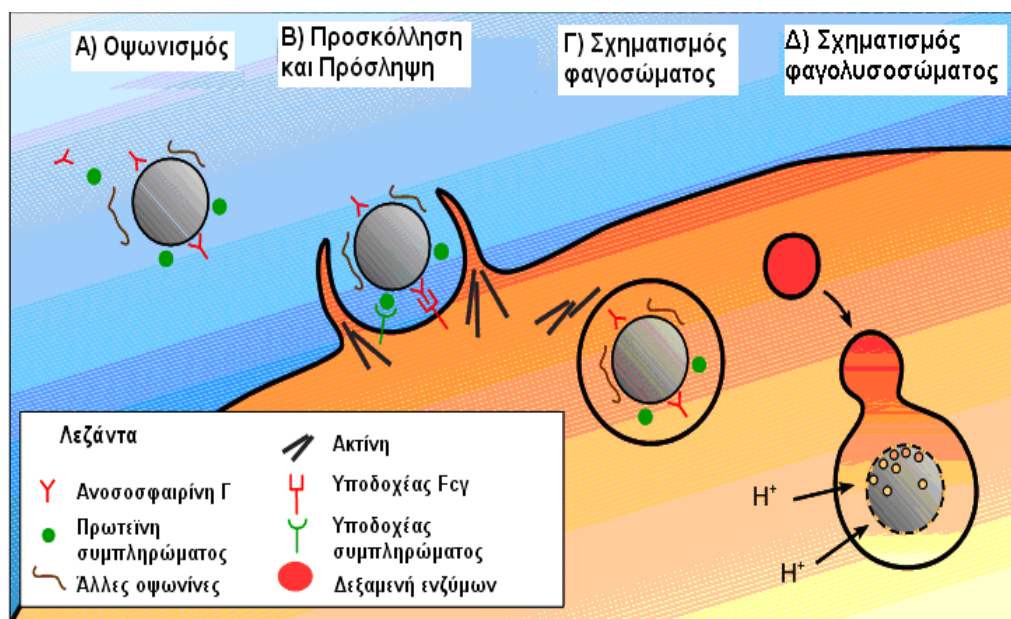
I. Φαγοκυττάρωση

Αυτή η διεργασία κατέχει βασικό ρόλο στην προστασία του οργανισμού έναντι των παθογόνων παραγόντων και γενικά εξωγενών στοιχείων, όπως οι νανοσωματιδιακοί φορείς. Η διαδικασία απαιτεί τη δράση εξειδικευμένων κυττάρων, δηλαδή των μακροφάγων, των μονοκυττάρων, των ουδετερόφιλων και των δένδριτικών κυττάρων. Όμως, υπάρχουν και άλλοι τύποι κυττάρων που παρουσιάζουν αντίστοιχη συμπεριφορά αλλά σε μικρότερο βαθμό, όπως οι ινοβλάστες, τα ενδοθηλιακά και τα επιθηλιακά κύτταρα. Η διαδικασία της φαγοκυττάρωσης αποτελείται από τρία στάδια:

1. Τα νανοσωματίδια επισημαίνονται με τις ειδικές πρωτεΐνες οψωνίνες. Αυτές περιλαμβάνουν ανοσοσφαιρίνες, στοιχεία του συμπληρώματος και φимπρονεκτίνες, και μέσω αυτών των πρωτεϊνών, τα κύτταρα αντιλαμβάνονται αυτά τα οψωνισμένα νανοσωματίδια.
2. Τα νανοσωματίδια προσκολλώνται στα κύτταρα μέσω των ειδικών επιφανειακών τους υποδοχέων.

3. Τα νανοσωματίδια προσλαμβάνονται από τα κύτταρα.

Η σύνδεση αυτών των σωματιδίων στους υποδοχείς πυροδοτεί την έναρξη μιας αλληλουχίας σηματοδοτούμενων συμβάντων που συνδέονται μέσω των μελών της οικογένειας πρωτεϊνών Rho GTPασων. Αυτές ενεργοποιούν την ακτίνη που προκαλεί το σχηματισμό ψευδοποδίων ή προεκβολών για την εγκόλπωση του σωματιδίου. Το προκύπτον φαγόσωμα θα οδηγήσει το νανοσωματίδιο προς το κυτταρόπλασμα (Κατσικάρη, 2014, Hillaireau and Courvreur, 2009).



Εικόνα 1.3.1: Διαδικασία φαγοκυττάρωσης (Κατσικάρη, 2014)

II. Ενδοκυττάρωση

Αυτή η διεργασία δεν είναι εξειδικευμένη όπως η φαγοκυττάρωση και εμφανίζεται σε κάθε κύτταρο τύπο. Πραγματοποιείται με διάφορες μεθόδους, με τη μεσολάβηση κλαθρίνης ή καβεολίνης ή με διεργασίες ανεξάρτητες αυτών των δυο ή και με μακροπινοκύτωση.

A. Μεσολάβηση κλαθρίνης

Αυτή η διαδικασία ενδοκυττάρωσης περιλαμβάνει την ενεργοποίηση ειδικών υποδοχέων, αν και πολλές φορές, πραγματοποιείται ανεξάρτητα από αυτούς. Με οποιαδήποτε τεχνική ή μέθοδο γίνει η ενδοκυττάρωση, το εγκολλώμενο νανοσωματίδιο οδηγείται στα αποικοδομητικά λυσοσώματα, όπου μεταβολίζεται απελευθερώνοντας το δραστικό του φορτίο εντός του κυττάρου. Η ενδοκυττάρωση λαμβάνει χώρα σε μεμβρανικές περιοχές πλούσιες σε πρωτεΐνες, όπου το κάλυμμα ή

η επένδυση αυτών των εσοχών αποτελείται από πολλές πρωτεΐνες, με βασικότερη την κλαθρίνη. Η κλαθρίνη είναι ένας τριμερής συμπλεγματικός σχηματισμός συμμετρικής δομής που λέγεται τρισκελής ή τρισκέλιον. Τα πλέγματα της κλαθρίνης είναι τα εργαλεία που μετασχηματίζουν τις καλυμμένες εσοχές σε καλυμμένα κυστίδια μέσης διαμέτρου 150nm. Όταν υδρολύεται το ATP και ενεργοποιούνται οι GTP-εξαρτώμενες πρωτεΐνες, όπως η δυναμίνη, τότε τα κυστίδια κλαθρίνης εκβλασταίνουν. Αυτά μεταφέρουν τα φορτία τους σε προλυσσωμικά οργανίδια, τα αρχικά ενδοσώματα, όπου αποχωρίζονται οι υποδοχείς από τα μόρια-συνδέτες. Όσον αφορά τα νανοσωματίδια, αυτά διαθέτουν επιφανειακούς υποδοχείς. Τα αρχικά ενδοσώματα συντήκονται με τα λυσοσώματα δομώντας τα τελικά και ώριμα ενδοσώματα καταλήγοντας στην απελευθέρωση των προϊόντων αποικοδόμησης του νανοσωματιδίου στο κυτόπλασμα (Κατσικάρη, 2014).

B. Μεσολάβηση καβεολίνης

Η ενδοκυττάρωση με αυτή τη διαδικασία πραγματοποιείται από λεία κυστίδια σχηματιζόμενα στην επιφάνεια των κυττάρων, τα οποία φέρουν ένα συγκεκριμένο ινώδες κάλυμμα αποτελούμενο από μια πρωτεΐνη με μοριακό βάρος 22kDa, την καβεολίνη. Αυτά τα κυστίδια διαθέτουν μεγάλα ποσά χοληστερόλης και λιπιδίων, ενώ εδράζουν κυρίως στα ενδοθηλιακά κύτταρα καταλαμβάνοντας το 10%-20% της κυτταρικής τους επιφάνειας, στους ινοβλάστες, αλλά και στα λεία μυϊκά κύτταρα. Τα νανοσωματίδια προσροφώνται στην επιφάνεια του κυττάρου και ακολουθεί η μετακίνηση τους στις εσοχές της καβεολίνης. Η σχάση του κυστιδίου από τις μεμβράνες για να δημιουργηθεί το κυτταροπλασματικό κυστίδιο της καβεολίνης, που στερείται ενζύμων, πραγματοποιείται με τη δράση της δυναμίνης. Αυτό το μονοπάτι προτιμάται για τη μεταφορά ευαίσθητων δραστικών ουσιών εντός νανοσωματιδίων διότι αποφεύγουν το μονοπάτι που περιλαμβάνει τη λυσοσωμική αποικοδόμηση (Κατσικάρη, 2014, Hillaireau and Courveur, 2009).

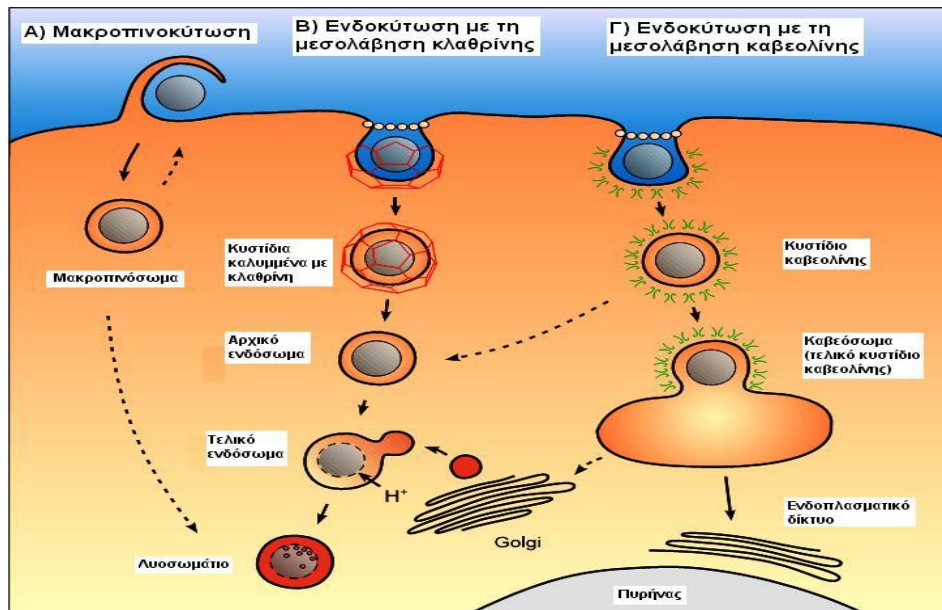
III. Μακροπινοκύτωση

Σε αυτόν τον μηχανισμό απαιτείται ο σχηματισμός ψευδοποδιών στη μεμβράνη που καθοδηγούνται από ακτίνη. Σε αυτήν την μέθοδο πρόσληψης, τα ψευδοπόδια δεν περικυκλώνουν το σωματίδιο, όπως στη φαγοκυττάρωση, αλλά συντήκονται με τις πλασματικές μεμβράνες, οπότε σχηματίζονται μεγάλα ενδοκυτταρικά κυστίδια. Αυτά ενδέχεται να ξεπερνούν σε μέγεθος το 1μm και φθάνουν ως και τα 5μm και αποτελούν τα μακροπινোসώματα. Διαθέτουν την ικανότητα να συντήκονται μεταξύ τους και ο τελικός τους προορισμός είναι συνάρτηση του κυτταρικού τύπου στον οποίο εδράζουν.

Ο τελικός τους προορισμός ενδέχεται να είναι η σύντηξη τους με τα λυσοσώματα ή η ανακύκλωση του περιεχομένου τους στην επιφάνεια του κυττάρου. Τα μακροπινোসώματα στερούνται συγκεκριμένης πρωτεϊνικής επικάλυψης. Το αναλυόμενο ενδοκυττωτικό μονοπάτι στερείται εκλεκτικότητας, αν και συναντάται σε κάποια περιστατικά πρόσληψης φορέων τύπου νανοσωματιδίου (Κατσικάρη, 2014).

IV. Υπόλοιπα μονοπάτια ενδοκυττάρωσης

Στα μονοπάτια αυτά δεν συμμετέχει η κλαθρίνη ή η καβεολίνη. Πρόκειται για ένα μηχανισμό, παρόμοιο με τη δράση του αντίστοιχου της καβεολίνης αλλά μεσολαβούν μικροδομές χοληστερόλης μέσης διαμέτρου 40-50nm. Τα συγκεκριμένα μονοπάτια δεν έχουν ταξινομηθεί και ούτε έχει προσδιοριστεί ο ρόλος τους στις μεταφορές των δραστικών ουσιών με τη συμμετοχή νανοσυστημάτων. Επιπλέον, η ενδοκυττάρωση γίνεται μόνο με κατανάλωση ενέργειας, οπότε σε θερμοκρασίες μικρότερες των 40°C, αυτή η διεργασία σταματά. Η ενδοκυττάρωση αναστέλλεται από ενώσεις που παρεμποδίζουν τη μεταφορά ηλεκτρονίων, άρα και την οξειδωτική φωσφορυλίωση και την πρωτεϊνοσύνθεση. Όμως, η φαγοκυττάρωση αναστέλλεται από ουσίες που παρεμποδίζουν τη γλυκόλυση. Όλες αυτές οι διαδικασίες χρειάζονται ενέργεια, όμως οι ανάλογες μεταβολικές οδοί είναι διαφορετικές. Ακόμη, επηρεάζονται από τα κυτταροσκελετικά στοιχεία. Απαιτείται διαφορετικός βαθμός άθικτου δικτύου μικροσωληνίσκων σε κάθε φάση της ενδοκυττάρωσης. Η κυτοχαλαζίνη D αναστέλλει επιλεκτικά την ενδοκυττάρωση που διεξάγεται είτε με καλυμμένα είτε με λεία κυστίδια στην κορυφαία επιφάνεια του κυττάρου. Αυτή η ουσία προκαλεί την αύξηση σε αριθμό των επενδεδυμένων εσοχών στην κορυφαία επιφάνεια του κυττάρου αναστέλλοντας τη δόμηση των καλυμμένων κυστιδίων (Κατσικάρη, 2014, Hillaireau and Courneir, 2009).



Εικόνα 1.3.2: Η διαδικασία της ενδοκυττάρωσης μέσω κλαθρίνης ή καβεολίνης (Κατσικάρη, 2014)

1.4 Νανοϊατρική: Συμβολή στη θεραπεία του καρκίνου

Όσον αφορά τη θεραπεία του καρκίνου η νανοϊατρική είναι ήδη μια πραγματικότητα που παρέχει ένα ευρύ φάσμα νέων εργαλείων και δυνατοτήτων, που συμβάλλουν στη βελτιωμένη απεικόνιση των όγκων, και την αποδοτικότερη και στοχευμένη θεραπεία, σε σχέση με τις παραδοσιακές προσεγγίσεις που χρησιμοποιούνται σήμερα. Η συμβολή της νανοϊατρικής στη μάχη για τον καρκίνο εστιάζεται στους παρακάτω κυρίως τομείς:

- Νανοϊατρική για έγκαιρη διάγνωση του καρκίνου μέσω καρκινικών βιοδείκτων (cancer biomarkers).
- Νανοϊατρική για την ακριβή απεικόνιση του καρκίνου (MRI-scans).
- Νανοϊατρική για τη θεραπεία του καρκίνου και τη χορήγηση φαρμάκων. Η νανοϊατρική είναι στην πρώτη γραμμή της στοχευμένης χορήγησης φαρμάκων και της εγγενούς θεραπείας. Η σύνδεση των ήδη υπαρχόντων φαρμάκων ή διαφόρων βιολογικών μορίων (γονιδίων, αντισωμάτων) με νανοσωματίδια επιτρέπει την εντοπισμένη χορήγηση των χημειοθεραπευτικών μειώνοντας σημαντικά την ποσότητα φαρμάκων που διαχέεται στην κυκλοφορία και απορροφώνται από άλλους ιστούς και μειώνοντας και τις παρενέργειες στους υγιείς ιστούς. Σε ορισμένες περιπτώσεις, με την προσάρτηση των νανοσωματιδίων σε ένα υπάρχον φάρμακο, αφενός μειώνεται η τοξικότητα του και αφετέρου δύναται να αυξηθεί το προσδόκιμο ζωής για τους ασθενείς.

Μια επίσης συμβολή της νανοϊατρικής στη θεραπεία του καρκίνου είναι η ανάπτυξη των θεραγνωστικών νανοσωματιδίων που συνδυάζουν την απεικόνιση με τη θεραπεία. Τα θεραγνωστικά νανοσωματίδια μπορούν να στοχεύουν και να συσσωρεύονται στους ιστούς ενδιαφέροντος και να δρουν εξατομικευμένα ως προς τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά της πάθησης του ασθενούς. Από την στιγμή που θα βρεθούν στον μοριακό στόχο, τα νανοθεραγνωστικά ενεργοποιούνται και καταστρέφουν επιλεκτικά τον καρκινικό ιστό ενώ ελαχιστοποιούν τις όποιες παρενέργειες και τις βλάβες στον υγιή ιστό, κάτι που συχνά συμβαίνει με τα παραδοσιακά χημειοθεραπευτικά. Η παρακολούθηση μπορεί να παραταθεί κατά την διάρκεια της θεραπείας για επιπρόσθετη εξατομίκευση της θεραπείας. Συνεπώς, η νανοθεραγνωστική διαδραματίζει ένα σημαντικό ρόλο στην αντιμετώπιση των προκλήσεων της ιατρικής για παθήσεις όπως ο καρκίνος.

- **Φαινόμενο ενισχυμένης διαπερατότητας και συγκράτησης (EPR Effect).**

Η κατευθυντήρια γραμμή για την ανάπτυξη νανοϊατρικής για τον καρκίνο

Όπως προαναφέρθηκε, ο τομέας της νανοϊατρικής εξελίσσεται ραγδαία, ιδιαίτερα για τη διάγνωση και τη θεραπεία του καρκίνου. Οι συμπαγείς καρκινικοί όγκοι συχνά αναπτύσσουν ανθεκτικότητα στα φάρμακα λόγω διαφόρων μηχανισμών. Αλλαγές στη γονιδιακή έκφραση καθιστούν τον όγκο αναίσθητο, ενώ αλλαγές στις μεταβολικές οδούς επηρεάζουν το μεταβολισμό των κυτταροτοξικών φαρμάκων. Επιπλέον παρατηρείται απορρύθμιση της επιδιόρθωσης του DNA και επακόλουθη επαγωγή απόπτωσης. Μαζί με αυτούς τους μηχανισμούς, το μικροπεριβάλλον του όγκου παίζει σημαντικό ρόλο στην αντοχή στα φάρμακα, επιβάλλοντας φραγμούς που περιορίζουν τη χορήγηση φαρμάκου στον όγκο. Η ολοκληρωμένη κατανόηση των μηχανισμών, του μικροπεριβάλλοντος και των φραγμών καθίσταται αναγκαία για την αντιμετώπιση των ζητημάτων που σχετίζονται με την περιορισμένη αποτελεσματικότητα της χημειοθεραπείας του καρκίνου. Οι παράγοντες νανο-μεγέθους έχουν μια σειρά από θεωρητικά πλεονεκτήματα σε σχέση με τους συμβατικούς παράγοντες χαμηλού μοριακού βάρους, συμπεριλαμβανομένης της μεγάλης ικανότητας φόρτωσης, της ικανότητας προστασίας του ωφέλιμου φορτίου από την υποβάθμιση, της ειδικής στόχευσης και της ελεγχόμενης ή παρατεταμένης απελευθέρωσης. Τα χαρακτηριστικά τους μπορούν να βελτιωθούν αλλάζοντας χαρακτηριστικά όπως το μέγεθος, το σχήμα, το ωφέλιμο φορτίο και τα χαρακτηριστικά της επιφάνειας. Όταν χορηγούνται ενδοφλεβίως, οι παράγοντες νανο-μεγέθους τείνουν να κυκλοφορούν για μεγάλο χρονικό διάστημα, εφόσον δεν είναι αρκετά μικροί για να απεκκριθούν από τα νεφρά ή αρκετά μεγάλοι ώστε να αναγνωρίζονται γρήγορα και να παγιδεύονται από το

δικτυοενδοθηλιακό σύστημα (RES). Παράγοντες νανο-μεγέθους με μεγάλους χρόνους κυκλοφορίας διαρρέουν κατά προτίμηση στον ιστό του όγκου μέσω της διαπερατής αγγείωσης του όγκου και στη συνέχεια διατηρούνται στον όγκο λόγω μειωμένης λεμφικής αποστράγγισης. Αυτό το φαινόμενο είναι γνωστό ως «φαινόμενο ενισχυμένης διαπερατότητας και συγκράτησης (EPR)».

Η βάση για τη χορήγηση φαρμάκου σε νανο-μεγέθη είναι η συσσώρευση του παράγοντα εντός των όγκων λόγω του φαινομένου EPR που ακολουθείται από την απελευθέρωση των θεραπευτικών ωφέλιμων φορτίων τους. Όσο περισσότερο το φάρμακο παραμένει στην κυκλοφορία, τόσο πιο πιθανό είναι να εξαγγειωθεί στον όγκο μέσω του φαινομένου EPR, αλλά ταυτόχρονα, το φάρμακο μπορεί επίσης να εξαγγειωθεί σε φυσιολογικούς ιστούς, αν και με πιο αργό ρυθμό. Έτσι, απαιτούνται μέθοδοι που αυξάνουν ακόμη και προσωρινά το τοπικό αποτέλεσμα EPR εντός του όγκου για τη βελτίωση της ειδικής πρόσληψης του φαρμάκου εντός του όγκου, βελτιώνοντας έτσι τη θεραπευτική του δράση (Y.Nakamura et. al, October 2016).

Μια άλλη στρατηγική για τη βελτίωση της θεραπείας του καρκίνου είναι η χρήση συνδυαστικών θεραπειών που βασίζονται σε νανοϊατρική. Παραδείγματος χάρη, έχει μελετηθεί μια ειδική κατηγορία νανοφαρμάκων που προκαλούν ασιτία από καρκίνο με αντι-αγγειογένεση και αγγειακό αποκλεισμό. Τέτοιες νανο-παρεμβάσεις έχουν συνδυαστεί με άλλες μεθόδους όπως η χημειοθεραπεία, η γονιδιακή θεραπεία και η φωτοδυναμική θεραπεία για την επίτευξη συνεργιστικών αποτελεσμάτων για τη θεραπεία του καρκίνου. Αναφορά έχει γίνει και σε σκεύασμα ευαίσθητο στο pH που συνδυάζει ένα ένζυμο, για εστιασμένη αφαίρεση όγκου με υπερήχους και ανακούφιση της υποξίας για την ενίσχυση της χημειοθεραπείας με βάση τη δοξορουβικίνη. Τα φορτωμένα με καταλάση νανοσωματίδια ήταν ικανά να αυξήσουν τα επίπεδα οξυγόνου στους όγκους μετατρέποντας το H_2O_2 σε O_2 το οποίο βελτίωσε την επίδραση της κατάλυσης με υπερήχους και μείωσε την υποξία του όγκου, και αυτά τα αποτελέσματα μαζί βελτίωσαν την αποτελεσματικότητα της δοξορουβικίνης (Y. Shi et.al, June 2020).

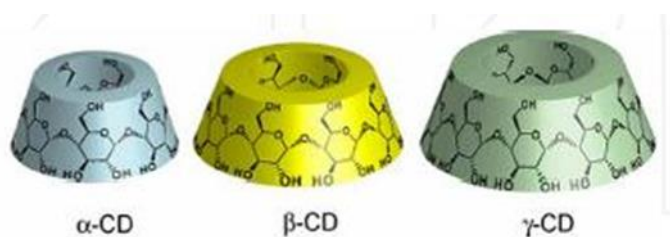
2. ΚΥΡΙΟ ΜΕΡΟΣ: ΚΥΚΛΟΔΕΞΤΡΙΝΕΣ ΩΣ ΦΟΡΕΙΣ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ

2.1 Κυκλοδεξτρίνες

Οι κυκλοδεξτρίνες προκύπτουν από την ενζυματική αποικοδόμηση και κυκλοποίηση του αμύλου. Αποτελούν κυκλικούς ολιγοσακχαρίτες και είναι παρόμοιες με το μόριο της κυτταρίνης. Οι φυσικές κυκλοδεξτρίνες εμφανίζονται σε τρεις τύπους, τους α , β , γ (De Valle et al., 2004). Αυτές έχουν κρυσταλλική δομή και φέρουν 6, 7, 8

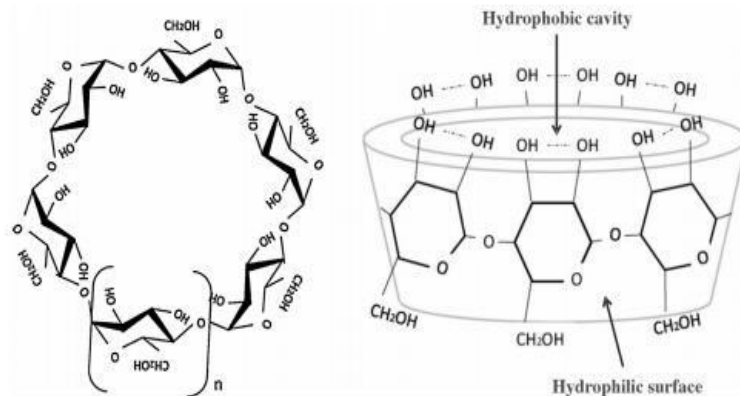
γλυκοπυρανοζικές μονάδες αντίστοιχα, συνδεδεμένες με α -(1, 4) γλυκοσιδικούς δεσμούς (Munin and Edwards, 2011).

Η μοριακή διάταξη των μονομερών της κυκλοδεξτρίνης δομεί ένα κύλινδρο, ή καλύτερα, έναν κόλouro κώνo (Kurkon and Loftsson, 2013). Οι διαστάσεις του κόλourου κώνου του κάθε τύπου των κυκλοδεξτρινών είναι περίπου 0,6nm, 0,8nm και 1nm για τους τύπους α , β , γ , αντιστοίχως (Szejtli, 2004). Η εγκόλπωση που σχηματίζεται στο εσωτερικό του κώνου απαρτίζεται από τους τύπους πρωτονίων H^3 , H^5 και γλυκοζιτικά άτομα οξυγόνου, οπότε η κοιλότητα τους χαρακτηρίζεται από υδροφοβικότητα. Συγκεκριμένα, τα αιθερικά άτομα του οξυγόνου και τα άπολα υδρογόνα που συνδέονται στους άνθρακες C3, C5, οι οποίοι εδράζονται στο εσωτερικό μέρος του μορίου, δομούν ένα σχηματισμό τόρου/torus και προσδίδουν στην κοιλότητα άπολο χαρακτήρα, μετατρέποντας τη σε υδροφοβική μήτρα (De Valle et al., 2004). Αντίθετα, η εξωτερική επιφάνεια των κυκλοδεξτρινών έχει υδροφιλικές ιδιοτητες, λόγω των πρωτοταγών και δευτεροταγών υδροξυλομάδων (Dodziuk, 2006).



Εικόνα 2.1.1: Απεικόνιση των τριών τύπων κυκλοδεξτρινών (Szejtli, 2004)

Τα ασύνδετα ζευγάρια των ηλεκτρονίων, των αιθερικών ατόμων του οξυγόνου που συμμετέχουν σε γλυκοζιτικές γέφυρες μεταβιβάζονται στο εσωτερικό της εγκόλπωσης, προκαλώντας την ύπαρξη υψηλής ηλεκτρονιακής πυκνότητας καθιστώντας τη βάση κατά Lewis (Costa et al., 2015). Αντίθετα, οι γλυκοζιτικές μονάδες με διαμόρφωση ${}^4C_1$ /chair formation τοποθετούν τους άνθρακες C₂, C₃, και συγκεκριμένα τις πρωτοταγείς και δευτεροταγείς υδροξυλομάδες τους, στο μεγάλο και μικρό χείλος στο δακτύλιο αντίστοιχα, προσδίδοντας υδροφιλικές ιδιότητες στην εξωτερική επιφάνεια του μορίου. Οι ομάδες C-2-OH, C-3-OH των γειτονικών γλυκοπυρανοζικών ομάδων σχηματίζουν δεσμό υδρογόνου μεταξύ τους (De Valle et al., 2004, Voncina and Vivod, 2013).



Εικόνα 2.1.2: Αριστερά: Χημική δομή γλυκοζιτικής μονάδας, Δεξιά: Σχήμα κόλουρου κώνου των κυκλοδεξτρινών (Munin and Edwards, 2011)

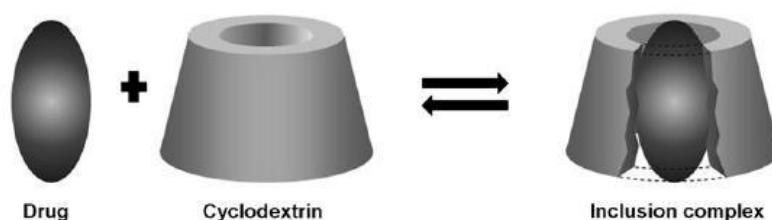
Η χρήση των κυκλοδεξτρινών σε διάφορους τομείς καθίσταται ελκυστική λόγω των παρακάτω πλεονεκτημάτων:

- Αποτελούν ημιφυσικά παράγωγα, μέσω ενζυμικών μετατροπών, ενός ανανεώσιμου φυσικού προϊόντος, του αμύλου.
- Παράγονται με περιβαλλοντικά φιλικές μεθόδους σε ποσότητα 1000 τόνων/έτος.
- Πρόκειται για ένα μη κοστοβόρο υλικό και χρησιμοποιείται σε περιβαλλοντικούς σκοπούς.
- Αλλάζουν τις ιδιότητες των υλικών, οδηγώντας στη δημιουργία συμπλόκων ενθυσάλκωσης με αυτές. Πρόκειται δηλαδή για ένα τύπο μοριακού εγκλεισμού.
- Εμφανίζουν μικρή τοξικότητα
- Μπορούν να καταναλώνονται από τους ανθρώπους ως φαρμακευτικά, τροφικά και κοσμετολογικά συστατικά (Szejtli, 2004).

Η προτιμώμενη κυκλοδεξτρίνη για εμπορικές εφαρμογές είναι η β-CD που περιέχει 7 γλυκοπυρανοζικές υπομονάδες και αποτελεί το 95% του παραγόμενου και καταναλισκόμενου συνόλου των κυκλοδεξτρινών. Ο λόγος είναι ότι συντίθεται απλά και μη κοστοβόρα, ενώ διατίθεται άμεσα και εύκολα. Η παραγωγή της β-CD είναι 10.000 τόνοι ετησίως και το κόστος της για τη χρήση της στα τρόφιμα είναι λιγότερη από 5\$/kg. Πρέπει να σημειωθεί ότι η β-CD παρουσιάζει μικρή υδατοδιαλυτότητα υπό συνθήκες δωματίου σε σύγκριση με τους υπόλοιπους τύπους κυκλοδεξτρινών (Costa et al., 2015).

- **Σύμπλοκο Εγκλεισμού (Inclusion Complex)**

Το κύριο χαρακτηριστικό των κυκλοδεξτρινών είναι ότι δομούν στερεά σύμπλοκα για τον εγκλεισμό στερεών, υγρών και αέριων ενώσεων με μοριακή συμπλοκοποίηση. Αναλυτικότερα, η ουσία προς εγκλεισμό/guest τοποθετείται-διασπείρεται εντός της κοιλότητας του μορίου κυκλοδεξτρίνης (Singh et al., 2002).



Εικόνα 2.1.3: Δημιουργία συμπλόκου εγκλεισμού

Τα σχηματιζόμενα σύμπλοκα εγκλεισμού απομονώνονται ως σταθερές άμορφες ή ως μικροκρυσταλλικές ενώσεις (Szejtli, 2004). Για τον σχηματισμό του συμπλόκου, η αναλογία μεταξύ των μορίων της κυκλοδεξτρίνης και των προς εγκλεισμό μορίων ισούται με 1:1. Όμως, σε περιπτώσεις εγκλεισμού μορίων μικρού μοριακού βάρους, η εγκόλπωση της κυκλοδεξτρίνης περιέχει περισσότερα παγιδευμένα για εγκλεισμό μόρια. Όσον αφορά ενώσεις προς εγκόλπωση με υψηλό μοριακό βάρος, αυτές ενδέχεται να συνενωθούν με πάνω από ένα μόριο κυκλοδεξτρίνης.

- **Μηχανισμοί Συμπλοκοποίησης**

Η δυνατότητα σχηματισμού συμπλόκου εγκλεισμού κυκλοδεξτρίνης-μορίου, εξαρτάται από δύο παραμέτρους.

- 1. Από την στερεοχημεία**

Πρόκειται δηλαδή για συνάρτηση του σχετικού μεγέθους της κυκλοδεξτρίνης, ως προς το μέγεθος του μορίου προς τον εγκλεισμό ή ειδικών χαρακτηριστικών ομάδων του μορίου, αποσκοπώντας αυτό το μόριο να χωράει στην εγκόλπωση του μορίου ξενιστή. Πιο συγκεκριμένα, όσο μικρότερο είναι το μέγεθος του μορίου προς εγκλεισμό, τόσο μεγαλύτερη είναι και η ικανότητα συμπλοκοποίησης του. Πρέπει να σημειωθεί ότι, η συμπλοκοποίηση ενός μεγάλου μορίου είναι συνάρτηση της παρουσίας ομάδων ή δακτυλίων κατάλληλων για εισχώρηση στην κοιλότητα της κυκλοδεξτρίνης. Βέβαια, δεν είναι απαραίτητο να εισχωρήσει ολόκληρο το μόριο εντός της κοιλότητας, αρκεί μόνο τμήμα του υδρόφοβου μέρους του.

2. Από την θερμοδυναμική αλληλεπίδραση μεταξύ της κυκλοδεξτρίνης, της ουσίας προς εγκλεισμό και του διαλύτη

Παραδείγματος χάρη, η α -CD δημιουργεί σύμπλοκα με μόρια μικρού μοριακού βάρους ή με μόρια που φέρουν αλειφατική αλυσίδα, ενώ η β -CD συμπλοκοποιεί αρωματικές ενώσεις και η γ -CD μεταφέρει μεγάλα μόρια, δηλαδή μακροκυκλικές ενώσεις ή στεροειδή (Marques, 2010, De Valle et al., 2004).

Αναλυτικότερα, οι σημαντικότερες δυνάμεις που ωθούν στη δόμηση των συμπλόκων είναι η απομάκρυνση των υδατικών μορίων με υψηλή ενθαλπία από την υδρόφοβη κοιλότητα του μορίου, και η αντικατάστασή τους από μόρια της υδρόφοβης προς εγκλεισμό ουσίας, τα οποία τοποθετούνται στο διάλυμα και δεν έχουν τόσο μεγάλη πολικότητα όσο αυτής του ύδατος. Άλλες δυνάμεις που συνεισφέρουν στην δημιουργία συμπλόκου είναι οι δυνάμεις Van der Waals, οι υδροφοβικές αλληλεπιδράσεις, οι ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις και αυτές της μεταφοράς του φορτίου, όπως και οι δεσμοί υδρογόνου (Rafati et al., 2009). Κατά τη συμπλοκοποίηση, δεν παρατηρείται λύση ή σχηματισμός των ομοιοπολικών δεσμών, οπότε υπάρχει δυναμική ισορροπία μεταξύ συμπλόκων και μορίων προς εγκλεισμό, και μορίων κυκλοδεξτρίνης που παραμένουν ελεύθερα εντός του διαλύματος (El Ashbahani et al., 2015). Υφίστανται τέσσερις ευνοϊκές, όσον αφορά την ενέργεια αλληλεπιδράσεις, που συμβάλλουν στη μεταφορά της ισορροπίας για τη δόμηση συμπλόκων εγκλεισμού:

- Απομάκρυνση του πολικού μορίου του ύδατος από τη μη πολική εγκόλπωση της κυκλοδεξτρίνης.
- Αύξηση του αριθμού των δεσμών υδρογόνου που δομούνται λόγω των υποκατεστημένων υδατικών μορίων που επιστρέφουν στο διάλυμα.
- Ελάττωση των απωθητικών δυνάμεων μεταξύ της υδρόφοβης προς εγκλεισμό ουσίας και του υδατικού διαλύματος.
- Αύξηση των υδρόφοβων δυνάμεων, διότι η υδρόφοβη ουσία εισχωρεί στη μη πολική εγκόλπωση της κυκλοδεξτρίνης (Saravana et al., 2013).

Τα σύμπλοκα εγκλεισμού με κυκλοδεξτρίνη, σχηματίζονται εντός του διαλύματος ή είναι κρυσταλλικής μορφής. Οι δομές των συμπλόκων CD κρυσταλλικής μορφής δεν παρουσιάζουν ομοιότητες με τις αντίστοιχες του διαλύματος. Στα διαλύματα, ολόκληρο ή τμήμα του μορίου προς εγκλεισμό τοποθετείται εντός της κοιλότητας της κυκλοδεξτρίνης και το σύμπλοκο περικλείεται από πολυστρωματικό ένυδρο στρώμα, σαν κέλυφος. Αντίθετα, στην κρυσταλλική μορφή, τα μόρια προς εγκλεισμό βρίσκονται εντός της κοιλότητας της CD, όπως και ανάμεσα στους δακτυλίους CD, διότι έχουν

εγκλειστεί από το κρυσταλλικό πλέγμα. Η διάλυση ενός δυσδιάλυτου σε υδατικό μέσο μορίου, σε υδατικό διάλυμα που περιέχει κυκλοδεξτρίνη επιφέρει τα παρακάτω αποτελέσματα:

- Η συγκέντρωση του μορίου αυξάνεται στη διαλυμένη φάση, ενώ η συγκέντρωση της ελεύθερης διαλυμένης CD ελαττώνεται
- Τα οπτικά χαρακτηριστικά του μορίου προς εγκλεισμό αλλάζουν
- Η δραστηριότητα αυτού του μορίου αλλάζει. Συχνότερα, παρατηρείται μείωση της δραστηριότητας του εξαιτίας της σταθεροποίησης του, αν και ενδέχεται η CD να συμπεριφερθεί ως τεχνητό ένζυμο καταλύοντας ή επισπεύδοντας αντιδράσεις
- Η πτητικότητα, όπως και η διάχυση, της εγκλεισμένης ουσίας ελαττώνονται
- Η υδρόφοβη προς εγκλεισμό ουσία, μετά το πέρας της συμπλοκοποίησης της μεταμορφώνεται σε υδρόφιλο σύμπλοκο

Ενώ για τη στερεή κατάσταση, τα αποτελέσματα είναι τα εξής:

- Η συμπλοκοποιημένη ένωση διασπείρεται σε επίπεδο μορίου εντός υδατανθρακικής μήτρας δημιουργώντας μικροκρυσταλλική ή άμορφη σκόνη.
- Η συμπλοκοποιημένη ένωση προστατεύεται έναντι οποιουδήποτε τύπου αντίδρασης, εκτός και αν αντιδρά με τις υδροξυλομάδες των κυκλοδεξτρινών ή λαμβάνουν χώρα αντιδράσεις που καταλύονται από αυτές.
- Η εξάχνωση και η εξάτμιση μειώνονται ραγδαία
- Το προκύπτον σύμπλοκο είναι υδρόφιλο, ευδιάλυτο και πολύ διαβρέξιμο (Szjetli, 2004).

• Μέθοδοι Συμπλοκοποίησης

Ανάλογα με τη φύση της επιλεγμένης κυκλοδεξτρίνης και των ιδιοτήτων της εγκλειόμενης ουσίας, μπορούν να χρησιμοποιηθούν διάφορες μέθοδοι δημιουργίας συμπλόκων δεξτρίνης-εγκλειόμενων ουσιών. Ο τύπος, η θέση και το πλήθος των υποκαταστατών στα μόρια των κυκλοδεξτρινών, επηρεάζει τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά τους και την ικανότητά τους να δομούν σύμπλοκα, ενώ η μέθοδος συμπλοκοποίησης επιδρά στην απόδοση σχηματισμού του συμπλόκου (Marques, 2010). Οι πιο συχνές σε προτίμηση μέθοδοι συμπλοκοποίησης κυκλοδεξτρινών και των επιθυμητών ουσιών παρουσιάζονται συνοπτικά παρακάτω.

Φυσική ανάμειξη: Η μηχανική πολτοποίηση συμβάλλει στη δημιουργία στέρεου φυσικού μίγματος που περιέχει την κυκλοδεξτρίνη και την επιθυμητή ουσία, και η

αποθήκευση του απαιτεί συγκεκριμένες τιμές θερμοκρασίας και πίεσης (Kadam et al., 2010).

Τεχνική ζύμωσης/Kneading method: Η ουσία προς εγκλεισμό είναι σε υγρή μορφή ή μορφή διαλύματος και προστίθενται σε πολύ κυκλοδεξτρινών. Ακολουθεί η προσεκτική του ζύμωση σε δοχείο για το σχηματισμό μιας πάστας που θα ξηρανθεί. Το εναπομείνον στερεό ανακτάται και συλλέγεται για να ξεπλυθεί με τον κατάλληλο διαλύτη, δηλαδή αιθέρα ή αιθανόλη, για την απομάκρυνση της ουσίας που δεν συμπλοκοποιήθηκε. Αυτή η τεχνική συνίσταται για δυσδιάλυτα στο νερό μόρια, αφού μέσω των αλληλεπιδράσεων εγκλεισμού, επιτυγχάνεται η αργή διάλυση τους. Χαρακτηρίζεται από μεγάλες αποδόσεις δόμησης συμπλόκων εγκλεισμού, αλλά δεν συμβάλλει στη δόμηση συμπλόκων σε μεγάλη κλίμακα (Marques, 2010).

Μορφή πολτού/Slurry complexation: Σε αυτήν την μέθοδο προστίθεται κυκλοδεξτρίνη σε ύδωρ με αναλογία 50%-60% στα στερεά, οπότε προκύπτει κορεσμένο υδατικό διάλυμα. Αργότερα, προστίθεται και η ουσία προς εγκλεισμό και δομούνται σύμπλοκα εγκλεισμού που κρυσταλλοποιούνται και καθιζάνουν (Shimri et al., 2005)

Συνιζηματοποίηση/Coprecipitation method: Η μέθοδος εφαρμόζεται σε εργαστηριακή κλίμακα (De Valle et al., 2004). Διαχωρίζεται σε:

- Μη βασισμένη στη διαλυτότητα των φάσεων σε ύδωρ: Το προς εγκλεισμό μόριο διαλύεται σε οργανικούς διαλύτες και ακολουθεί η προσθήκη ανάλογης ποσότητας κυκλοδεξτρίνης που έχει διαλυθεί σε ύδωρ και ξεκινά η ανάδευση. Ακολουθεί η ψύξη του διαλύματος και επέρχεται η κρυστάλλωση, οπότε προκύπτουν σύμπλοκα με μορφή σκόνης. Προτείνεται για υδρόφοβες ουσίες, αν και παρουσιάζει χαμηλή απόδοση διότι οι χρησιμοποιούμενοι οργανικοί διαλύτες για την καθίζηση, ενδέχεται να παρεμποδίσουν τον εγκλεισμό (Marques, 2010).
- Βασισμένη στη διαλυτότητα των φάσεων σε ύδωρ: Το εγκλειόμενο μόριο προστίθεται σε υδατικό περιβάλλον, ταυτοχρόνως με την κυκλοδεξτρίνη. Ακολουθεί η καλή ανακίνηση του διαλύματος ως την αποκατάσταση της ισορροπίας διάλυσης. Εναλλακτικά, μπορούν να διαλυθούν σε θερμό νερό και μετά το προκύπτον διάλυμα να ψυχρανθεί σε αργούς ρυθμούς. Η εγκλειόμενη ουσία καθιζάνει με τη μορφή μικροκρυσταλλικής σκόνης και παραλαμβάνεται με διήθηση. Συνεπώς, η στερεά φάση εγκλεισμού διαχωρίζεται από την υδατική διαλυματική φάση. Ακολουθεί η ξήρανση (Marques, 2010). Η κυκλοδεξτρίνη είναι δυσδιάλυτη, οπότε απαιτούνται μεγάλες ποσότητες νερού. Συνεπώς, η απαιτούμενη ενέργεια

για την ψύξη και τη θέρμανση, αλλά και η χωρητικότητα των δεξαμενών είναι παράμετροι κόστους.

Θέρμανση σε κλειστά δοχεία: Η δραστική ουσία του βενζοϊκού οξέος και το μόριο ξενιστής θερμαίνονται ταυτόχρονα σε κλειστό δοχείο. Το συγκεκριμένο μίγμα απορροφά δεδομένη ποσότητα υδρατμών και ακολουθεί η αποθήκευση του στο δοχείο για να θερμανθεί σε θερμοκρασίες που κυμαίνονται μεταξύ 43-142°C. Όταν ξεπεραστούν οι 70°C, προκύπτει η ένωση του εγκλεισμού σε μορφή κρυστάλλων. Αυτή η τεχνική προτιμάται για τις θερμικά σταθερές πτητικές ενώσεις, αφού τα μόρια αέριας κατάστασης εγκλείονται αποδοτικότερα εντός της κοιλότητας του ξενιστή (Marques, 2010).

Ξήρανση μέσω ψεκασμού/Spray drying: Οι ποσότητες της κυκλοδεξτρίνης και της εγκλειόμενης ουσίας διαλύονται σε απεσταγμένο ύδωρ. Για την επίτευξη διαυγών διαλυμάτων, που θα ξηρανθούν, χρειάζεται μικρή ποσότητα διαλύτη, με πιο χρησιμοποιημένους του υδροξείδιο του αμμωνίου, αιθανόλης και άλλων συνδιαλυτών. Μετά την απόκτηση της επιθυμητής διαύγειας, ακολουθεί ο ψεκασμός του με ακροφύσιο εντός ενός θαλάμου ξήρανσης. Αυτή η τεχνική συνίσταται για θερμικά σταθερές ουσίες διότι οι θερμοκρασίες κυμαίνονται μεταξύ 50-70°C. Πρόκειται για κοινή μέθοδο για τα φαρμακευτικά προϊόντα, ενώ παράγονται σύμπλοκα εγκλεισμού σε μορφή ξηρής σκόνης από υγρή φάση (Kadam et al., 2010).

Λυοφιλοποίηση/Freeze Drying: Η ουσία προς εγκλεισμό διαλύεται στο ύδωρ παρουσία αμμωνίας, όταν αυτή θεωρείται απαραίτητη. Ακολουθεί η προσθήκη της κυκλοδεξτρίνης στο διάλυμα στην κατάλληλη συγκέντρωση και αναδεύεται ώσπου να διαλυθεί πλήρως. Ακολουθεί η λυοφιλοποίηση του ενώ τα υπολείμματα ξηραίνονται σε κενό. Συνεπώς, το τελικό προϊόν έχει τη μορφή σκόνης. Προτείνεται για υδατοδιαλυτά μόρια, διότι αυτά όπως και οι κυκλοδεξτρίνες, χρειάζεται να διαλύονται σε ύδωρ πριν την ξήρανση. Παρουσιάζει υψηλή απόδοση δημιουργίας συμπλόκων εγκλεισμού. Συστήνεται για διαδικασίες μεγάλης κλίμακας (Marques, 2010).

Υπερκρίσιμα ρευστά/Supercritical technology: Αυτή η μέθοδος εκμεταλλεύεται τα χαρακτηριστικά των υπερκρίσιμων ρευστών και τα μετατρέπει σε διαλύτες άνω της κρίσιμης θερμοκρασίας και πίεσης τους. Στα όρια του κρίσιμου σημείου, αυτά τα ρευστά κατέχουν πυκνότητα αντίστοιχη των υγρών και δυνατότητα διάχυσης παρόμοια με αυτή των αερίων. Αυτή η τεχνολογία αποτελεί μια καινοτόμα προσέγγιση με την οποία δημιουργούνται σύμπλοκα με τα μόρια κυκλοδεξτρίνης περνώντας από

λιγότερες φάσεις επεξεργασίας και αποφεύγοντας τους επικίνδυνες διαλύτες. Το CO₂ αποτελεί τον πιο κοινό υπερκρίσιμο διαλύτη εξαιτίας των πλεονεκτημάτων του. Είναι αδρανές μόριο, μη διαβρωτικό, με εκρηκτικό, μη ευφλεκτο και μη διαβρωτικό, μη κοστοβόρο, μη τοξικό, είναι άφθονο και σε αυτό συνυπάρχουν επιθυμητά χαρακτηριστικά, δηλαδή χαμηλές τιμές θερμοκρασίας και πίεσης. Συνίσταται στη δημιουργία συμπλόκων εγκλεισμού στη στέρεη φάση. Αποτελεί οικονομικά συμφέρουσα και αποδοτική τεχνική αφού χαρακτηρίζεται από υψηλές αποδόσεις σχηματισμού των συμπλόκων και είναι απόρροια ισχυρών διαμοριακών δυνάμεων (Rudrangi et al., 2015). Δεν συμμετέχουν οργανικοί διαλύτες σε αυτή τη μέθοδο, οπότε αποτελεί καινοτομία και μη τοξική τεχνική για τη δημιουργία συμπλόκων.

Μικροκυματική ακτινοβολία/Microwave irradiation method: Αυτή η μέθοδος στηρίζεται στην αντίδραση της λιπόφιλης ουσίας με τον παράγοντα συμπλοκοποίησης με τη μεσολάβηση της μικροκυματικής ακτινοβολίας μέσα σε φούρνο μικροκυμάτων. Αναλυτικότερα, η ουσία προς εγκλεισμό και η κυκλοδεξτρίνη διαλύονται και αναμειγνύονται σε πλήρη αναλογία μορίων σε ένα προϋπάρχον μίγμα ύδατος και οργανικού διαλύτη συγκεκριμένης αναλογίας εντός σφαιρικής φιάλης. Το μίγμα παραμένει μέχρι να αντιδράσει, δηλαδή για 1-2 min σε θερμοκρασία T=60°C στο εσωτερικό του φούρνου. Με την ολοκλήρωση της αντίδρασης, γίνεται η προσθήκη ποσότητας διαλύτη εντός του μίγματος με σκοπό την απομάκρυνση των ποσοτήτων της κυκλοδεξτρίνης και της ξενιζόμενης ουσίας που δεν συμπλοκοποιήθηκαν. Το προκύπτον ίζημα διαχωρίζεται μέσω απλής διήθησης και ξηραίνεται σε κενό στο φούρνο σε T= 40°C για χρονικό διάστημα 48 ωρών. Θεωρείται καινοτόμος τεχνική με πλήθος πλεονεκτημάτων, όπως ο μειωμένος χρόνος αντίδρασης και η βελτιωμένη απόδοση προϊόντων (Kadam et al., 2010).

- **Εφαρμογές Συμπλόκου Εγκλεισμού**

Συνοπτικά, ο εγκλεισμός φαρμάκων στην κοιλότητα των CD προσφέρει τα παρακάτω:

- 1. Αυξημένη βιοδιαθεσιμότητα του φαρμάκου**

Τα φάρμακα μειωμένης βιοδιαθεσιμότητας είναι δυσδιάλυτα στο νερό και έχουν κρυσταλλική μορφή. Σχηματίζοντας σύμπλοκα εγκλεισμού με την κυκλοδεξτρίνη, που διαθέτει υδρόφιλες υδροξυλομάδες στο εξωτερικό της μέρος, επιτρέπουν την διαλυτοποίηση των φαρμακευτικών ουσιών (Katageri and Sheikh, 2012). Αυτή η συμπλοκοποίηση αυξάνει μόνο τη βιοδιαθεσιμότητα των φαρμάκων της κατηγορίας II τα οποία χορηγούνται με κατάποση και περιλαμβάνει φάρμακα χαμηλής διαλυτότητας και υψηλής διαπερατότητας (Marques, 2010).

2. Σταθεροποίηση δραστικών ουσιών

Η αποικοδόμηση των δραστικών ουσιών από παραμέτρους, όπως το οξυγόνο, το νερό, η θέρμανση, η ακτινοβολία αναστέλλεται, διότι το σύνολο των χημικών αντιδράσεων παρεμποδίζεται λόγω του εγκλεισμού τους εντός της κοιλότητας της κυκλοδεξτρίνης (Katageri and Sheikh, 2012).

2.2 Νανοδομές με βάση Κυκλοδεξτρίνες (CDs)

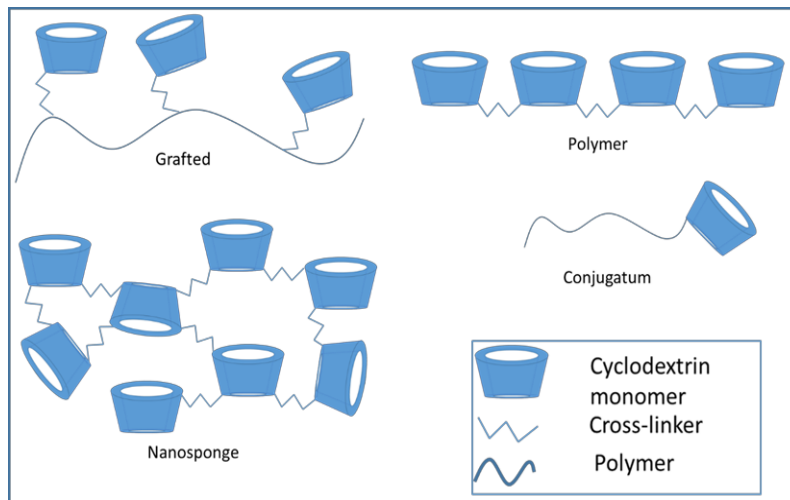
• Πολυψευδοροταξάνες και Πολυροταξάνες

Εκτός από τη σύνδεση λιπόφιλων μορίων φαρμάκου και των συμπλόκων φαρμάκου-κυκλοδεξτρίνης, η συσσώρευση μορίων κυκλοδεξτρίνης είναι επίσης γνωστό φαινόμενο. α-, β- και γ-κυκλοδεξτρίνες σχηματίζουν συσσωματώματα σε πυκνά διαλύματα (mM) και συνδέονται μεταξύ τους με ένα δίκτυο δεσμών υδρογόνου και με ενδιάμεσα, γεφυρωμένα μόρια νερού. Αυτά τα αυτοσυναρμολογούμενα συσσωματώματα κυκλοδεξτρινών ονομάζονται «πολυ-CD». Η βέλτιστη διαμόρφωση για τον γειτονικό δακτύλιο κυκλοδεξτρίνης είναι ο προσανατολισμός «κεφάλι με κεφάλι/ουρά προς ουρά». Ανάμιξη του συμπυκνωμένου υδατικού διαλύματος της α-κυκλοδεξτρίνης με το πολυμερές πολυαιθυλενογλυκόλη (PEG) ή της β-κυκλοδεξτρίνης με το πολυμερές πολυ(προπυλενογλυκόλη) προκαλεί τη συνεργατική κλωστή των μορίων της κυκλοδεξτρίνης κατά μήκος μιας μονής πολυμερικής αλυσίδας, στην οποία τα μόρια των κυκλοδεξτρινών περιελίσσονται συνεργατικά. Το προκύπτον μείγμα είναι θολό και παρατηρείται ίζημα σε αυτό, αν και η διαδικασία είναι αντιστρεπτή. Το σύμπλοκο ορίζεται ως πολυψευδοροταξάνη (Heimhoffer et al., 2019). Τα πεγκυλιωμένα μόρια, δηλαδή τα μόρια που φέρουν PEG, διατηρούν την ικανότητα σχηματισμού πολυψευδοροταξάνης. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η πεγκυλιωμένη ινσουλίνη που σχηματίζει πολυψευδοροταξάνες με α- και γ-CD μετά την εισαγωγή μιας ή δυο αλυσίδων PEG στην κοιλότητα των CD. Οι συνδεδεμένες αλυσίδες PEG που συμμετέχουν στο σχηματισμό των πολυψευδοροταξάνων με τις α-CD διατάσσονται σε υπερμοριακά μικκύλια. Όταν τα δυο άκρα της αλυσίδας του πολυμερούς συνδέονται με τους δακτύλιους κυκλοδεξτρίνης μέσω δυο ογκωδών ακραίων ομάδων, αυτοί οι δακτύλιοι αποτρέπονται να αποσυσπειρωθούν, και τότε η δομή ονομάζεται πολυροταξάνη. Πρόκειται για ένα μηχανικά συμπλεκόμενο μόριο, στο οποίο παρά την απουσία ομοιοπολικών δεσμών μεταξύ των δακτύλιων της κυκλοδεξτρίνης, αυτές παραμένουν στον άξονα τους. Η δομή της πολυροταξάνης χρησιμοποιείται ευρέως στη δημιουργία συστημάτων χορήγησης φαρμάκων, αφού οι δακτύλιοι των CD και οι πολυμερικές αλυσίδες χρησιμοποιούνται για τη βέλτιστη

απόδοση της κυτταρικής εισχώρησης. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι η δομή της πολυροταξάνης είναι η βάση της θεραπευτικής κατά των καρκινικών όγκων (Heimhoffer et al., 2019). Επιπλέον, οι κατιοντικές πολυροταξάνες κυκλοδεξτρίνης χρησιμοποιούνται στην μεταφορά πολυνουκλεοτιδίων και γονιδίων στα κύτταρα. Εκτός από τη σύνδεση και τα μηχανικά σύμπλοκα που προαναφέρθηκαν, μπορεί να επιτευχθεί χημική τροποποίηση ή πολυμερισμός των δακτυλίων κυκλοδεξτρίνης, για τον σχηματισμό περεταίρω νανοδομών με βάση κυκλοδεξτρίνες, για το σχηματισμό ποικίλων συστημάτων χορήγησης φαρμάκων σε νανοκλίμακα, όπως οι συζυγείς κυκλοδεξτρίνες, τα πολυμερή και οι νανοσπόγγιοι (Heimhoffer et al., 2019).

- **Συζυγείς Κυκλοδεξτρίνες, Πολυμερή και Νανοσπόγγιοι**

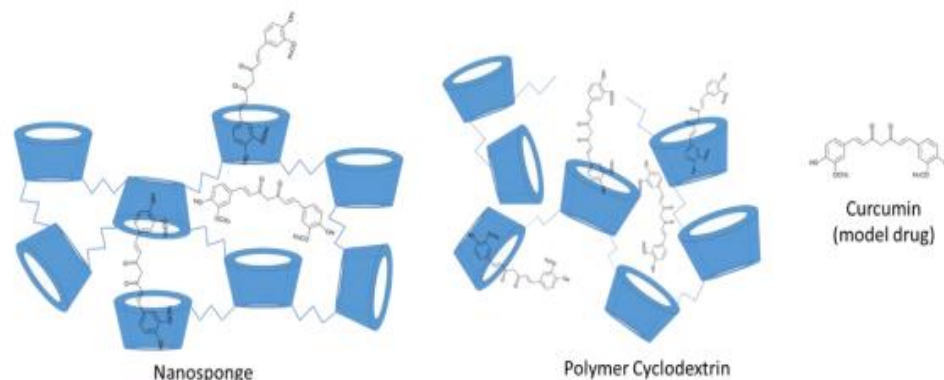
Οι κυκλοδεξτρίνες εκτός από τις διαμοριακές δυνάμεις που αναπτύσσουν, είναι δυνατό να τροποποιηθούν στις λειτουργικές τους ομάδες και να δημιουργήσουν μεγαλύτερες δομές με ομοιοπολικούς δεσμούς. Οι δακτύλιοι των κυκλοδεξτρινών παρουσιάζουν δραστικότητα στις υδροξυλομάδες 2,3,6, με τις ομάδες 2,6-OH να είναι οι πιο δραστικές. Αυτή η τροποποίηση των υδροξυλομάδων συμβάλλει στην εκτεταμένη χρησιμότητάς τους στο φαρμακευτικό κλάδο. Οι κύριες μέθοδοι τροποποίησης των κυκλοδεξτρινών είναι η αποπρωτονίωση, η αφυδάτωση και η συμπύκνωση (Heimhoffer et al., 2019). Κατά την αποπρωτονίωση, παρατηρείται αντίδραση μεταξύ της όξινης υδροξυλομάδας και μιας ισχυρής βάσης για την παραγωγή ενός ανιόντος, που χρησιμοποιείται στους πολυμερισμούς τύπου SN_2 . Ο βασικότερος παράγοντας διασύνδεσης στον πολυμερισμό είναι η επιχλωροϋδρίνη που αντιδρά και με το δακτύλιο των κυκλοδεξτρινών κατά τη φάση των πολυμερισμών (Heimhoffer et al., 2019). Με τη μέθοδο της αφυδάτωσης δημιουργούνται πολυαιθέρες και πολυεστέρες. Η τυπική διαδικασία περιλαμβάνει την αντίδραση των κυκλοδεξτρινών με διόλη ή διοξύ σε διάλυμα θειικού οξέος (Heimhoffer et al., 2019). Η τρίτη μέθοδος αφορά τη συμπύκνωση, δηλαδή την απευθείας αντίδραση ανάμεσα στην κυκλοδεξτρίνη και έναν δι-λειτουργικό συνδέτη, όπως το διισοκυανικό. Ανάλογα τον συνδέτη, η αντίδραση δύναται να παράγει ποικίλα είδη μοριακών δομών, όπως φαίνεται στην εικόνα 1.8.1 (Heimhoffer et al., 2019).



Εικόνα 2.2.1: Συζυγείς κυκλοδεξτρίνες, πολυμερή κυκλοδεξτρινών και νανοσπόγγοι κυκλοδεξτρινών

- **Πολυμερή Κυκλοδεξτρίνης**

Τα πολυμερή κυκλοδεξτρίνης προσφέρουν σημαντικές δυνατότητες στις εφαρμογές των κυκλοδεξτρινών. Η πολυμερική δομή κυκλοδεξτρίνης αυξάνει την πιθανότητα αλληλεπιδράσεων μεταξύ της κοιλότητας της κυκλοδεξτρίνης και των ενθυλακωμένων φαρμάκων. Ανάλογα με την αντίδραση και τους υποκαταστάτες είναι δυνατό να δημιουργηθούν διαλυτά ή αδιάλυτα πολυμερή. Η διαλυτότητα μειώνεται όσο αυξάνεται ο αριθμός των συνδεδεμένων μονομερών, μία παράμετρος που εξαρτάται από τη δραστικότητα του παράγοντα διασύνδεσης, των υποκαταστατών και του χρόνου αντίδρασης. Οι πιο κοινοί παράγοντες διασύνδεσης είναι η επιχλωρουδρίνη και το κιτρικό οξύ. Η από του στόματος χορήγηση του στερεού, αδιάλυτου στο νερό, πολυμερούς κυκλοδεξτρίνης, ως ένα ελεγχόμενο φάρμακο μικρού μεγέθους αποτελεί ένα πολλά υποσχόμενο εργαλείο για τη διαμόρφωση συστημάτων ελεγχόμενης χορήγησης φαρμάκων. Ο νανοσπόγγος (NS) αποτελεί έναν τύπο αδιάλυτου πολυμερούς κυκλοδεξτρίνης που έχει μια εξαιρετικά τρισδιάστατη δομή. Το μέγεθός του είναι περίπου 200–300 nm. Η δομή νανοσπόγγος προσφέρει αυξημένη διαλυτότητα των αδιάλυτων φαρμάκων, αυξημένη διαπερατότητα αυτών καθώς και την ελεγχόμενη απελευθέρωση τους (Heimhoffer et al., 2019).



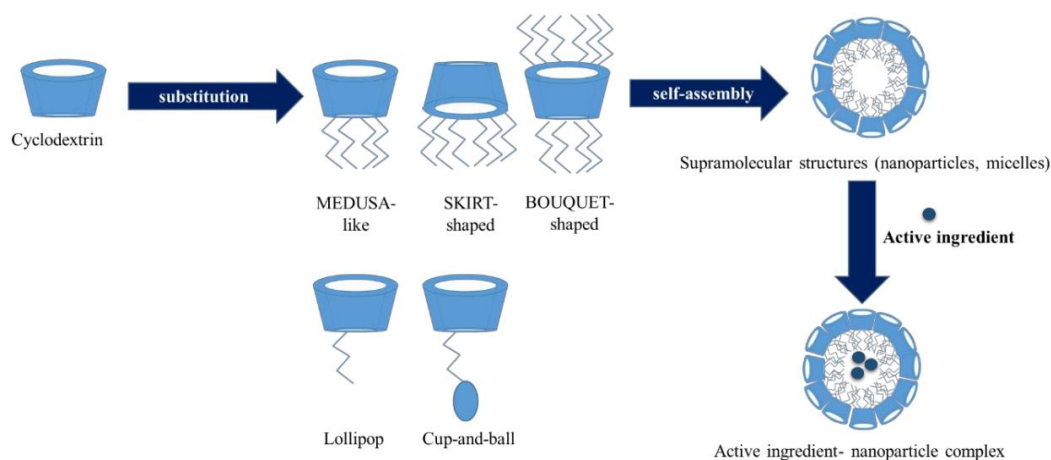
Εικόνα 2.2.2: Δομή κυκλοδεξτρίνης νανοσπόγγου και πολυμερούς κυκλοδεξτρίνης με το μοντέλο φαρμάκου κουρκουμίνης

• Αμφίφιλες κυκλοδεξτρίνες

Με την τοποθέτηση αλειφατικών ή υδροφοβικών αλυσίδων στην κύρια ή δευτερεύουσα επιφάνεια των κυκλοδεξτρινών, έχουν δημιουργηθεί κυκλοδεξτρινικά παράγωγα με αμφιφιλική φύση. Έχει παρατηρηθεί ότι αυτά αυτοσυναρμολογούνται σε υδατοδιαλυτά συσσωματώματα (π.χ μικκύλια). Με τη χρήση των αμφίφιλων κυκλοδεξτρινών βελτιώνεται η στόχευση των κυττάρων. Οι αμφίφιλες κυκλοδεξτρίνες κατατάσσονται σε δυο ομάδες. Στην πρώτη τα μέλη της προκύπτουν από την υποκατάσταση των πρωτοταγών ή δευτεροταγών υδροξυλομάδων. Οι πολλαπλά υποκατεστημένες αμφίφιλες κυκλοδεξτρίνες, ανάλογα με τη θέση των ομάδων υποκατάστασης, διακρίνονται σε υποομάδες, όπως αυτές με το σχήμα μέδουσας, φούστας και ανθοδέσμης (Heimhoffer et al., 2019). Οι κυκλοδεξτρίνες που μοιάζουν με μέδουσα συντέθηκαν μέσω ολικής υποκατάστασης των κύριων πλευρών με σουλφο-, θειο-, αλκυλ-, αμιδο- ή αμινο αλυσίδες. Ο τύπος σε σχήμα φούστας προέκυψε από τροποποίηση των δευτερογενών υδροξυλομάδων με αλκυλικές αλυσίδες μέσω μιας εστερικής ομάδας. Οι αμφίφιλες κυκλοδεξτρίνες που μοιάζουν με ανθοδέσμη περιέχουν υδρογονανθρακικές αλυσίδες και στις δύο πλευρές, αυξάνοντας έτσι την υδροφοβικότητά τους. Αυτά τα παράγωγα μπορούν επίσης να περιέχουν μια αλυσίδα πολυ(οξυαιθυλενίου) ή πολυμεθυλενίου σε κάθε πλευρά της κοιλότητας. Στην οικογένεια πολλαπλά υποκατεστημένων κυκλοδεξτρινών, αυτές περιέχουν υδρόφοβες αλκυλικές αλυσίδες στη μία πλευρά και υδρόφιλες αλυσίδες στην άλλη. Αυτά τα παράγωγα μπορούν να σχηματίσουν κυστίδια διπλής στοιβάδας, επομένως οι υδρόφιλες αλυσίδες στο επιφανειακό τους τμήμα αυξάνουν την κολλοειδή τους σταθερότητα, ενώ δυνητικά μειώνεται η δυσμενής ανοσοαπόκρισή τους (Heimhoffer et al., 2019).

Η άλλη ομάδα των αμφιφιλικών κυκλοδεξτρινών είναι οι μονοϋποκατεστημένες αμφίφιλες κυκλοδεξτρίνες. Αυτές προκύπτουν από την προσάρτηση μιας μόνο υδρόφοβης άγκυρας, με στόχο την βελτιωμένη στόχευση κυττάρων. Στην περίπτωση των αμφίφιλων κυκλοδεξτρινών που μοιάζουν με λιπίδια, η υδροφοβικότητα τους αυξήθηκε όταν ως άγκυρα που χρησιμοποιήθηκε η χοληστερυλική ή η φωσφολιπιδυλική ομάδα (Heimhoffer et al., 2019).

Επιπλέον, με βάση τη φόρτιση των αμφίφιλων κυκλοδεξτρινών διακρίνονται δύο τύποι. Ο κατιονικός, όπου οι κυκλοδεξτρίνες μπορούν να ληφθούν με τροποποίηση των πλευρικών αλυσίδων ολιγομερούς (ολιγο(αιθυλενογλυκόλη) με τη χρήση αμινομάδων, και ο ανιονικός. Οι ανιονικές κυκλοδεξτρίνες περιέχουν καρβοξυλικές ή θειικές ομάδες. Οι αμφίφιλες κυκλοδεξτρίνες μελετήθηκαν επίσης ως μη ιικοί φορείς για την μεταφορά γονιδίων ή νουκλεϊκού οξέος, καθώς τα πολυκατιονικά παράγωγα αλληλεπιδρούν με την ανιονική φύση των νουκλεϊκών οξέων. Επιπλέον, τροποποιημένες PEGυλιωμένες αμφίφιλες κυκλοδεξτρίνες χρησιμοποιήθηκαν για την παροχή siRNA και οι γαλακτοσυλιωμένες αμφίφιλες κυκλοδεξτρίνες δοκιμάστηκαν για στοχευμένη παράδοση γονιδίων στα ηπατοκύτταρα (Heimhoffer et al., 2019).



Εικόνα 2.2.3: Δομή, αυτοοργάνωση και ενθυλάκωση φαρμάκου στις αμφιφιλικές κυκλοδεξτρίνες

- **Αποκρινόμενες σε ερεθίσματα Κυκλοδεξτρίνες**

Έχουν αναπτυχθεί ευαίσθητα, έξυπνα συστήματα χορήγησης φαρμάκων που αλλάζουν τις ιδιότητές τους ανταποκρινόμενα σε θερμο-, pH- ή φωτο-ερεθίσματα. Οι αποκριτικές λειτουργίες βασίζονται σε αλληλεπιδράσεις του τύπου «οικοδεσπότη-επισκέπτη», πρόσθετων αποκρινόμενων τμημάτων, υπερμοριακών αλληλεπιδράσεων ή σε πολυμερή. Το πρώτο θερμο-ανταποκρινόμενο σύστημα που βασίζεται σε

κυκλοδεξτρίνη ήταν το σύμπλοκο α-κυκλοδεξτρίνης-PEG, η πολυψευδοροταξάνη, η οποία καθιζάνει κατά τον σχηματισμό της σε υδατικό διάλυμα, αλλά τα σύμπλοκα της διαλύονται στο νερό με θέρμανση. Η θερμο-ανταποκρινόμενη κυκλοδεξτρίνη, η οποία είναι συζευγμένη με πολυμερές, έχει κρίσιμη θερμοκρασία εργασίας ή επεξεργασίας. Στις περισσότερες περιπτώσεις, η διαλυτότητά της μεταβάλλεται από τη μεταβολή της θερμοκρασίας που ονομάζεται κατώτερη ή ανώτερη κρίσιμη θερμοκρασία διαλύματος. Τα πιο κοινά πολυμερή, που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή των θερμικά αποκρινόμενων συστημάτων είναι το N-ισοπροπυλακρυλαμίδιο, το ακρυλαμίδιο, το ακρυλικό οξύ και το πολυ(αιθυλένιογλυκόλη) (Heimhoffer et al., 2019).

Τα ευαίσθητα στο pH συστήματα χορήγησης φαρμάκων, μπορεί να είναι χρήσιμα για τη θεραπεία του καρκίνου. Ο καρκινικός όγκος παρουσιάζει μικροπεριβάλλον με χαμηλότερο pH από αυτό του αίματος ή άλλων ιστών. Το «έξυπνο σύστημα» είναι ικανό να αναγνωρίσει την αλλαγή του pH και να απελευθερώσει στοχευμένα το δραστικό συστατικό. Όμως, το pH του στομάχου είναι επίσης μικρότερο από αυτό του παχέος εντέρου, επομένως η χρήση ενός συστήματος ευαίσθητου στο pH μπορεί να βοηθήσει στην αποφυγή των επιβλαβών επιδράσεων του χαμηλού pH. Ο μηχανισμός για τις κυκλοδεξτρίνες έχει ως εξής: Το φορτισμένο μόριο κυκλοδεξτρίνης εγκλωβίζει τις φαρμακευτικές ουσίες, ενώ οι αλλαγές στο pH μεταβάλλουν το επιφανειακό φορτίο της. Μέσω αυτού του μετασχηματισμού προκαλείται η απελευθέρωση του φάρμακου από την κοιλότητα της κυκλοδεξτρίνης (Heimhoffer et al., 2019).

2.3 Πλεονεκτήματα στη μεταφορά αντικαρκινικών φαρμάκων με χρήση κυκλοδεξτρινών

Οι νανοφορείς με βάση την κυκλοδεξτρίνη παρασκευάζονται με χρήση της διπλής προσέγγισης, η οποία περιλαμβάνει συνδυασμό δύο διαφορετικών προσεγγίσεων σε ένα κοινό σύστημα παράδοσης φαρμάκου. Αρχικά το φάρμακο συμπλέκεται με κατάλληλη κυκλοδεξτρίνη και στη συνέχεια το σύμπλοκο φάρμακο ενθυλακώνεται στον νανοφορέα. Η παγίδευση του συμπλόκου κυκλοδεξτρίνης-φαρμάκου σε νανοφορείς αυξάνει τα πλεονεκτήματα και των δύο φορέων.

- **Βελτίωση αποτελεσματικότητας φόρτωσης και παγίδευσης φαρμάκων**

Για αποτελεσματικότερη χρήση του μεταφορικού συστήματος είναι απαραίτητη η υψηλή «φόρτωση» του φαρμάκου στα συστήματα νανοφορέων. Η ελεύθερη ενέργεια του συμπλόκου νανοσωματιδίου-φαρμάκου συνδέεται άμεσα με τη σταθερά δέσμευσης και επομένως με την αποτελεσματική παγίδευση του φαρμάκου. Οι φυσικοχημικές ιδιότητες του φαρμάκου, δηλαδή η μοριακή μάζα, η υδατική

διαλυτότητα, ο συντελεστής καταμερισμού, η σταθερά συσχέτισης K1:1 και η τεχνική φόρτισης επηρεάζουν κυρίως τη φόρτωση φαρμάκων σε λειτουργικές κυκλοδεξτρίνες. Η φόρτωση φαρμάκου μπορεί να βελτιωθεί με χρήση υποκατεστημένων, ημισυνθετικών κυκλοδεξτρινών. Ελεύθερη πακλιταξέλη ως αντικαρκινικό φάρμακο σε πολυ (ανυδρίτη) NPs έχει αναφερθεί ότι παρουσιάζει κακή φόρτωση φαρμάκων σε σύγκριση με το σύμπλοκό της με HP-β-CD. Πάντως, η σειρά της αποτελεσματικότητας της παγίδευσης αυτού του φαρμάκου έχει αναφερθεί ότι είναι $CS < CD9.6\text{-}\beta\text{-}CS < CD14\text{-}\beta\text{-}CS < CD20\text{-}\beta\text{-}CS$, υποδηλώνοντας σημαντική βελτίωση στην παγίδευση ανάλογα με τον αυξανόμενο βαθμό υποκατάστασης της χιτοζάνης (CS) από κυκλοδεξτρίνη. Αυτό μπορεί να οφείλεται στο ότι η κυκλοδεξτρίνη θα μπορούσε να φορτώσει αποτελεσματικά μη υδατοδιαλυτά φάρμακα στην κοιλότητά της. Επιπλέον, η αυξανόμενη υποκατάσταση δείχνει αυξανόμενο δυναμικό ζήτη. Όσο μεγαλύτερη η απόλυτη τιμή του δυναμικού, τόσο πιο σταθερό το σύμπλοκο CD-φάρμακο (Gadale and Pekamwar, 2019).

- **Βελτίωση διαλυτότητας, διάλυσης και βιοδιαθεσιμότητας του φαρμάκου**

Η υδρόφιλη σύνδεση ή επαφή ενός φαρμάκου είναι ζωτικής σημασίας, τόσο για τη φόρτωση του σε νανοσωματίδια, όσο και για την απελευθέρωσή του από το σύστημα χορήγησης, η οποία κατά συνέπεια μπορεί να επηρεάσει τη φαρμακοκινητική του συμπεριφορά. Έχουν αναφερθεί αρκετές προσεγγίσεις στη βιβλιογραφία για την ενίσχυση της διαλυτότητας των δυσδιάλυτων φαρμάκων. Τα CD-NP σύμπλοκα χρησιμοποιούνται επίσης ευρέως για το σκοπό αυτό, λόγω της συνεισφοράς που προσφέρει η κυκλοδεξτρίνη (Gadale and Pekamwar, 2019).

Οι πιθανοί μηχανισμοί ενίσχυσης της βιοδιαθεσιμότητας των φαρμάκων σε διάφορες οδούς χορήγησης συνοψίζονται ως εξής:

Οι υδρόφιλες κυκλοδεξτρίνες ενισχύουν τη διαλυτότητα, τον ρυθμό διάλυσης και διαβρεξιμότητας των μη υδατοδιαλυτών φαρμάκων, ενώ παράλληλα εμποδίζουν την αποικοδόμηση χημικά ασταθών φαρμάκων στις γαστρεντερικές οδούς καθώς και κατά την αποθήκευσή τους. Επιπλέον, οι κυκλοδεξτρίνες διαταράσσουν τη ρευστότητα της μεμβράνης για να μειώσουν το φράγμα και να αντιμετωπίσουν τα μεγάλα ενεργειακά εμπόδια, ώστε να καταφέρουν να διεισδύσουν στις βιολογικές μεμβράνες και κατά συνέπεια ενισχύουν την απορρόφηση φαρμάκων, συμπεριλαμβανομένων των πεπτιδικών και πρωτεϊνικών φαρμάκων. Έτσι, οι β-CD μπορούν να βελτιώσουν τη υδατοδιαλυτότητα των λιπόφιλων φαρμάκων με συμπλοκοποίηση, ενώ παράλληλα να ενισχύσουν τη βιοδιαθεσιμότητα του φαρμάκου, μεταφέροντάς το απευθείας στη μεμβράνη φραγμού, όπου το σύμπλοκο διασπάται και το ελεύθερο φάρμακο μπορεί να απορροφηθεί. Αυτή η διαδικασία προϋποθέτει τη δύναμη δέσμευσης μεταξύ της

κυκλοδεξτρίνης και του συμπλεγμένου φαρμάκου να μην είναι ισχυρή, ώστε να μπορεί να πραγματοποιηθεί διάσπαση του συμπλόκου. Η παρουσία περισσότερων μορίων κυκλοδεξτρίνης από αυτά που είναι απαραίτητα για τη διαλυτοποίηση, μειώνει τη βιοδιαθεσιμότητα του συμπλεγμένου φαρμάκου λόγω της υπερβολικής ποσότητας κυκλοδεξτρίνης. Ακόμη, οι α-CD σχηματίζουν σύμπλοκα με φωσφολιπίδια, ενώ για τις β-CD, η μεμβρανική χοληστερόλη αποτελεί έναν εξαιρετικό κυτταρικό στόχο. Η χοληστερόλη είναι βασικό συστατικό της κυτταρικής μεμβράνης και αντιπροσωπεύει περίπου το 30% των συνολικών λιπιδίων. Πάντως, οι αλληλεπιδράσεις μεμβράνης κυκλοδεξτρίνης-κυττάρου εξαρτώνται από τον τύπο των κυκλοδεξτρινών και τους υποκαταστάτες του δακτυλίου τους. Τέλος, η ανταγωνιστική συμπλοκοποίηση εγκλεισμού με τρίτα συστατικά (π.χ χολικό οξύ, χοληστερόλη, λιπίδια, κ.λπ.) μπορεί να συμβάλλει στην απελευθέρωση του εγκλεισμένου φαρμάκου και επομένως να βελτιώσει τη βιοδιαθεσιμότητά του (Gadale and Pekamwar, 2019). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα έρευνας σχετικά με το αντικαρκινικό φάρμακο Erlotinib, παρουσιάζεται αύξηση στη διαλυτότητα και τη βιοδιαθεσιμότητα, σχεδόν διπλάσια από την απλή μορφή του, όταν αυτό χορηγείται με τη μορφή του συμπλόκου νανοσπόγγου Erlotinib-CD. Η βελτίωση της διαλυτότητας του φαρμάκου αποδόθηκε στην απώλεια της κρυσταλλικότητας του, στη μείωση του αριθμού σωματιδίων πάνω από το μοριακό επίπεδο και στον δεσμό υδρογόνου μεταξύ του φαρμάκου και του νανοσπόγγου CD. Επιπλέον πρέπει να σημειωθεί ότι, όταν η CD έχει ομάδες μεθυλίου M-β-CD, αυτές διευρύνουν ολόκληρη την κοιλότητα του μορίου επεκτείνοντας τη δευτερογενή υδροξυλική πλευρά και στενεύοντας την πρωτογενή υδροξυλική πλευρά του κώνου, γεγονός που βελτιώνει τη διαλυτότητα σε μεγαλύτερο βαθμό (Gadale and Pekamwar, 2019).

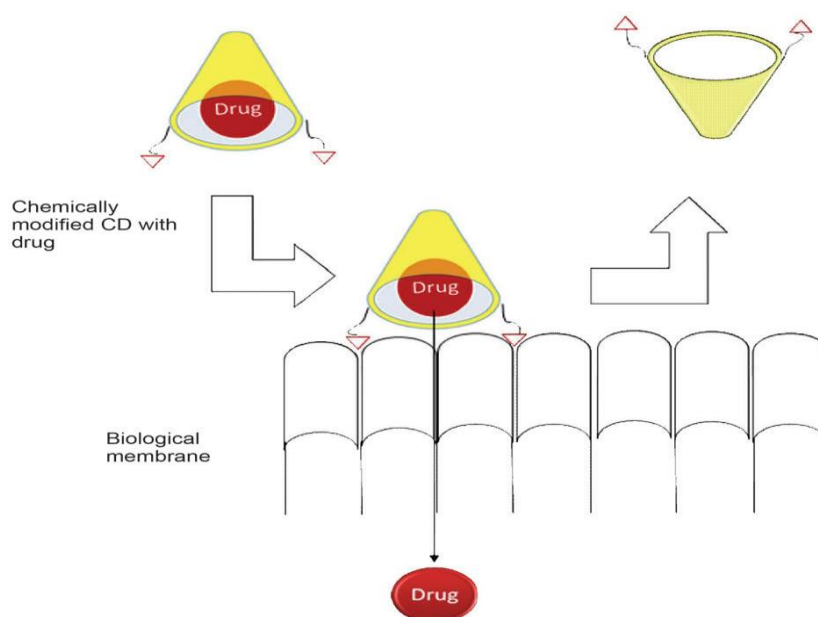
- **Στοχευμένη απελευθέρωση φαρμάκου**

Η απελευθέρωση της βέλτιστης ποσότητας φαρμάκου με ασφάλεια σε συγκεκριμένη περιοχή για την αποτελεσματική θεραπεία, έχει προκύψει από την ανάγκη για ελαχιστοποίηση της αναλογίας κινδύνου προς όφελος του φαρμάκου. Τα σύμπλοκα CD-NPs συμβάλλουν στη μείωση της τοξικότητας του φαρμάκου με τη μεταφορά του σε ειδική ή στοχευμένη θέση στο βιολογικό περιβάλλον (Gadale and Pekamwar, 2019). Ως παράδειγμα, χρησιμοποιήθηκε κυκλοδεξτρίνη για την διανομή siRNA στα κύτταρα του όγκου-στόχου με το σύστημα NP που αποτελείται από CD, τρανσφερίνη και πολυαιθυλενογλυκόλη. Οι κυκλοδεξτρίνες που χρησιμοποιούνται στην ανάπτυξη του νανοσυστήματος για την διανομή του siRNA λειτουργούν ως πολυκατιόντα και επιτρέπουν τη συμπλοκοποίηση με διαφορετικού μεγέθους και διαφόρων τύπων

νουκλειικών οξέων μέσω ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων, καθώς τα σχηματισμένα νανοσυγκροτήματα είναι ανθεκτικά στην αποικοδόμηση από νουκλεάση. Σε κλινική δοκιμή φάσης I με αυτό το σύστημα NP για τη στοχευμένη θεραπεία συμπαγών όγκων, παρατηρήθηκε μείωση τόσο του ειδικού αγγελιαφόρου RNA όσο και της πρωτεΐνης RRM2 (M2 υπομονάδα ριβονουκλεοτιδικής αναγωγής) (Gadale and Pekamwar, 2019). Ένα ακόμη παράδειγμα αποτελεί η χρήση υπερμοριακού πολυμερούς που ανταποκρίνεται σε διπλά ερεθίσματα NPs και βασίζεται σε πολυ(α-CD) και τροποποιημένο με ακετάλη β-CD αζοβενζόλιο. Παρατηρήθηκε ότι η απελευθέρωση του αντικαρκινικού φαρμάκου μεθοτρεξάτη γίνεται ταχύτερα σε όξινες συνθήκες (pH+5.0). Τα αποτελέσματα αυτά είναι πολλά υποσχόμενα για την εφαρμογή του NP με βάση τη CD στη χορήγηση φαρμάκων σε καρκινικά κύτταρα σε όξινο περιβάλλον. Ένα ακόμη παράδειγμα είναι η σίγαση γονιδίου, με τη βοήθεια του siRNA συνεζευγμένο με β-CD, το οποίο αποδεικνύει ότι η τροποποιημένη β-CD έχει την ικανότητα παροχής RNA στα καρκινικά κύτταρα, μέσω απλής συμπλοκοποίησης με πολυκατιονικά λιπίδια, διαμορφώνοντας σύμπλοκα εγκλεισμού αδαμαντυλ-PEG διανισαμίδης με το σύστημα CD-RNA NPs (Gadale and Pekamwar, 2019). Τέλος, αποδείχτηκε ότι το υδατοδιαλυτό σύμπλοκο με κουρκουμίνη-HP-γ-CD ενθυλακωμένο σε CS NP, όχι μόνο ενισχύει την στόχευση αλλά και οδηγεί σε υψηλή απελευθέρωση φαρμάκου εντός των καρκινικών κύτταρων, ενισχύοντας παράλληλα την αποτελεσματικότητά του (Gadale and Pekamwar, 2019).

- **Βελτίωση χαρακτηριστικών βλεννοπροσκόλλησης/βιοπροσκόλλησης**

Τα νανοσυστήματα κυκλοδεξτρίνης διαθέτουν δυνατότητα παρατεταμένης απελευθέρωσης του φαρμάκου μέσω βλεννοπροσκόλλησης/βιοπροσκόλλησης. Η χρήση τους οδηγεί σε αύξηση του χρόνου επαφής συμπλόκου-βλεννογόνου, βελτιώνοντας την απορρόφηση του φαρμάκου. Η βιοσυγκολλητική ιδιότητα των χημικά τροποποιημένων κυκλοδεξτρίνων μπορεί να διευκολύνει την αντιμετώπιση προβλημάτων, όπως ο μικρός βαθμός διαπερατότητας του φαρμάκου, αυξάνοντας τον χρόνο επαφής του φαρμάκου με την επιφάνεια του βλεννογόνου (Gadale and Pekamwar, 2019). Έχει αποδειχθεί ότι ένα βιοκολλητικό υπερμοριακό νανομικύλλιο με επίστρωση CS με βάση τη CD βελτιώνει τη βιοδιαθεσιμότητα του αντικαρκινικού φαρμάκου δοξορουβικίνης από το στόμα, ενώ έχει βιοαποικοδομήσιμη και βιοσυμβατή φύση (Gadale and Pekamwar, 2019). Μελέτες που έγιναν στη θεραπεία του καρκίνου αποκάλυψαν ότι τα NPs που λειτουργούσαν με θειόλη παρουσιάζουν σημαντικά υψηλότερη βλεννοπροσκολλητικότητα στο ουροθήλιο σε σύγκριση με τα υδροξυλικά και αμινο λειτουργικά NPs (Gadale and Pekamwar, 2019).



Εικόνα 2.3.1: Χημικά τροποποιημένη CD για βλεννοπροσκόλληση ή βιοπροσκόλληση (Gadale and Pekamwar, 2019)

- **Ελεγχόμενη και παρατεταμένη χορήγηση φαρμάκων**

Τα συστήματα ελεγχόμενης και παρατεταμένης χορήγησης φαρμάκων αναπτύχθηκαν με σκοπό τη μείωση της συχνότητας της χορήγησης του φαρμάκου. Αυτά τα συστήματα απελευθερώνουν το φάρμακο σε προκαθορισμένο χρονικό διάστημα, με δυνατότητα μείωσης των δόσεων και των επακόλουθων σχετικών παρενεργειών του φαρμάκου. Η παρατεταμένη ή ελεγχόμενη απελευθέρωση μπορεί να επιτευχθεί με τα λειτουργικά CD-NP. Ο ρυθμός και η ποσότητα του φαρμάκου που απελευθερώνεται από αυτά θα μπορούσε να επηρεάζεται από τη μέθοδο παρασκευής, τη φύση της κυκλοδεξτρίνης, τον εμβολιασμό του με άλλες ενώσεις ή παράγοντες διασύνδεσης αλλά και την υδατική διαλυτότητα του πολυμερούς και του φαρμάκου (Gadale and Pekamwar, 2019). Μία ενδιαφέρουσα περίπτωση αποτελούν τα σχήματα υπερμοριακής βάσης θειική-β-CD/CS, φορτωμένης με το αντικαρκινικό φάρμακο Docetaxel, τα οποία συναρμολογούνται από επιφανειοδραστικές ουσίες β-CD/calixarene και δείχνουν μια αρχική έκρηξη απελευθέρωσης του φαρμάκου, ακολουθούμενη από την απελευθέρωσή του για περίπου 30 έως 60 ώρες (Gadale and Pekamwar, 2019). Μία ακόμα ενδιαφέρουσα περίπτωση αποτελεί το σύμπλοκο κατιονικής-β-CD/5-Φλουροουρακίλης εντός νανοσωματιδίων αλγινικού/CS. Στην περίπτωση αυτή επιτυγχάνεται παρατεταμένη απελευθέρωση φαρμάκου σε όξινες (pH 2.3) και βασικές (pH 7.4) συνθήκες με σημαντικά υψηλότερη αποτελεσματικότητα ενθυλάκωσης και χαμηλότερο δείκτης πολυδιασποράς (Gadale and Pekamwar, 2019).

2.4 Πρόοδος στην Αντικαρκινική θεραπεία

- **Νανοσωματίδια κυκλοδεξτρίνης ως φορείς αντικαρκινικών φαρμάκων**

Η πακλιταξέλη είναι ένα από τα φάρμακα που χρησιμοποιούνται στην θεραπεία του προχωρημένου καρκίνου του πνεύμονα, του τραχήλου και των ωοθηκών. Η πακλιταξέλη απομονώνεται από το *Taxus brevifolia* και έχει ένα μοναδικό μηχανισμό δράσης, αλλά και ένα σημαντικό μειονέκτημα, την υδροφοβικότητα της, άρα και τη μειωμένη βιοδιαθεσιμότητα της (Lakkakula and Krause, 2014). Για την επίλυση αυτού του προβλήματος, αναπτύχθηκε αμφίφιλη CD (6-O-capro-β-CD), ως σύστημα μεταφοράς νανοσωματιδίων για αυτό το φάρμακο. Η διανομή του σε μορφή νανοσφαιρών ή νανοκαψουλών μέσω τεχνικής νανοκαθίζησης απέδειξε καλή κυτταροτοξικότητα έναντι των κυττάρων L929, ενώ οι ρυθμοί παρατεταμένης απελευθέρωσης του φαρμάκου που ελήφθησαν ήταν 12 ώρες για νανοσφαίρες και 24 ώρες για νανοκάψουλες (Lakkakula and Krause, 2014).

Ένα ακόμα παράδειγμα αποτελούν τα νανοσωματίδια πολυανυδρίτη φορτωμένα με πακλιταξέλη, τα οποία έχουν επιδείξει υψηλή βιοσυγκολλητική αλληλεπίδραση με τον γαστρεντερικό σωλήνα. Το σημαντικό μειονέκτημα που εντοπίζεται σε αυτήν την περίπτωση, είναι η ελάχιστη ενθυλάκωση του φαρμάκου. Συμπληρωματικά διερευνήθηκε και η χρήση των νανοσωματιδίων CD-πολυανυδρίτη για τη μεταφορά της πακλιταξέλης. Όπως αποδείχθηκε, η προσθήκη CD ενισχύει τη διαλυτότητα με το σχηματισμό συμπλέγματος εγκλεισμού, ενώ με τη χρήση του πολυανυδρίτη παρέχεται καλύτερη εντερική διαπερατότητα (Lakkakula and Krause, 2014).

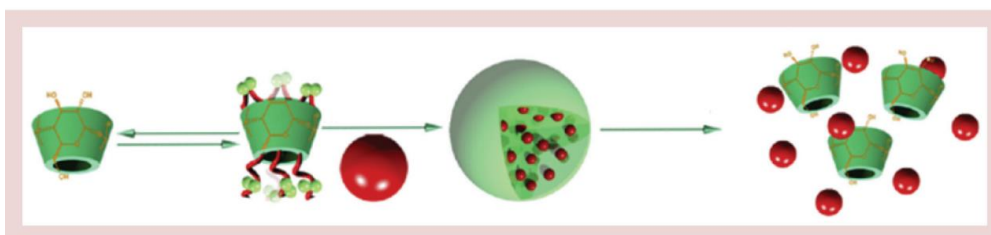
Σε ένα ακόμα σύστημα για τη χορήγηση του φαρμάκου της πακλιταξέλης, η β-CD τροποποιημένη με χιτοζάνη-πολυακρυλικό οξύ (PAACD) χρησιμοποιήθηκε για την ενίσχυση της διαλυτότητας του φαρμάκου, αποτελώντας ένα νέο σύστημα χορήγησης φαρμάκων σε νανοσωματίδια. Οι φορτωμένοι νανοφορείς πακλιταξέλης ήταν σε θέση να απελευθερώσουν το φάρμακο με ελεγχόμενο τρόπο σε διαφορετικές τιμές pH (Lakkakula and Krause, 2014).

Η καμπποθεκίνη είναι ένας άλλος σημαντικός αντικαρκινικός παράγοντας που χρησιμοποιείται κατά πολλών τύπων καρκίνου. Η καμπποθεκίνη συμπλοκοποιήθηκε με αμφίφιλη CD (6-O-capro-β-CD και β-CD-C6) και με HP-β-CD φορτωμένη σε νανοσωματίδια πολυ(γαλακτικό-συν-γλυκολικό οξύ) PLGA ή πολυκαπρολακτόνης (PCL) για να ξεπεραστούν προβλήματα που σχετίζονται με τη διαλυτότητα και την κακή σταθερότητα (Lakkakula and Krause, 2014). Ένα άλλο υδρόφοβο αντικαρκινικό φάρμακο ευρέος φάσματος, η κουρκουμίνη, εφαρμόζεται στη θεραπεία του καρκίνου μέσω της χρήσης λιποσωμικών νανοσωματιδίων ως όχημα παράδοσης. Η

διαλυτότητα της κουρκουμίνης αρχικά αυξήθηκε με το σχηματισμό ενός συμπλέγματος εγκλεισμού με 2-HP- γ -CD που ακολουθείται από ενθυλάκωση αυτού το συμπλέγματος μέσα σε λιποσωμικά νανοσωματίδια. Σε αυτό το σύστημα η CD ενίσχυσε τη διαλυτότητα της κουρκουμίνης, ενώ τα λιποσώματα ενίσχυσαν την παγίδευσή της (Lakkakula and Krause, 2014).

Η Docetaxel, ένα σημαντικό αντικαρκινικό φάρμακο, χρησιμοποιείται στην κλινική θεραπεία του καρκίνου του προστάτη, του μαστού και του καρκίνου του πνεύμονα, αλλά υφίστανται δυσκολίες ως προς τη δοσολογική σύνθεση κατά την ενδοφλέβια χορήγηση. Έτσι, ένα αμφίφιλο σύστημα CD, (2-O-ολιγο-[αιθυλενοξείδιο]-6-εξαδεκυλοθειο)- β -CD (SC16OH) αναπτύχθηκε για την παγίδευση της docetaxel και εμφάνισε σχεδόν 100% αποτελεσματικότητα ενθυλάκωσης του φαρμάκου (Lakkakula and Krause, 2014). Συγκριτικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν στην κυτταρική σειρά Hep-2 έδειξαν υψηλό κυτταρικό θάνατο από φορτωμένα νανοσωματίδια, σε σύγκριση με τη μονήρη δοσεταξέλη. Αυτό μπορεί να αποδοθεί στην ελεγχόμενη και παρατεταμένη απελευθέρωση του φαρμάκου από το νανοσωματίδιο (Lakkakula and Krause, 2014). Το docetaxel έχει επίσης φορτωθεί σε νανοσφαίρες chitosan-CD μέσω *in situ* σχηματισμού σε κύτταρα HeLa. Η εντερική διαπερατότητα του docetaxel έχει βελτιωθεί μέσω του βλεννοσυγκολλητικού νανοσωματιδίου που αποτελείται από μεθυλ- β -CD σε συνδυασμό με πολυ(ισοβουτυλοκυανοακρυλικό) επικαλυμμένο με θείο-επικαλυμμένη χιτοζάνη (Lakkakula and Krause, 2014).

Τέλος, συμπλοκοποίηση για τη σύζευξη μεταξύ ενός αντικαρκινικού φαρμάκου, του tacrolimus με επτάκης (2,6-δι-O-μεθυλ)- β -CD(DM- β -CD) μαζί με το BSA αναπτύχθηκε για να ελαχιστοποιήσει τις παρενέργειες που προκαλούνται από το φάρμακο και να απελευθερώσει το φάρμακο με παρατεταμένο τρόπο (Lakkakula and Krause, 2014).



Εικόνα 2.4.1: Απελευθέρωση πακλιταξέλης από α -CD ως απόκριση σε pH (Lakkakula and Krause, 2014)

- **Χρήση Νανοσωματιδίων κυκλοδεξτρίνης στη Θεραπευτική**

Η θεραπευτική είναι ένα νέο θεραπευτικό πρότυπο που επιτρέπει τη συγχρονισμένη εκτέλεση και ολοκλήρωση της διαγνωστικής και της θεραπευτικής διαδικασίας, με σκοπό τη βελτίωση της θεραπευτικής αγωγής. Οι θεραπευτικοί παράγοντες

διευκολύνουν τη διάγνωση της νόσου, τη θεραπεία αυτής και τη στιγμιαία παρακολούθηση της προόδου της θεραπείας και της αποτελεσματικότητάς της. Η χρήση της θερμοσυστρίμης διερευνάται εκτενώς στη διάγνωση και τη θεραπεία του καρκίνου, λόγω των μοναδικών πλεονεκτημάτων που προσφέρονται από νανοσωματίδια, τα οποία ανταποκρίνονται σε ερεθίσματα κακοήθους παθολογίας, επιτρέποντας στο νανοφορέα να ανταποκρίνεται ειδικά σε ενεργοποιητές, όπως στο pH, στα ένζυμα, στο οξειδοαναγωγικό μικροπεριβάλλον και στη θερμοκρασία για την έξυπνη απελευθέρωση μορίων στον όγκο (Gadale and Pekamwar, 2019).

- **Κυκλοδεξτρίνες ως φορείς γονιδίων για τη θεραπεία του καρκίνου**

Μικρά κομμάτια νουκλεϊκού οξέος, γνωστά ως siRNA, είναι ένας από τους πολλά υποσχόμενους φορείς για τη χορήγηση αντικαρκινικών φαρμάκων. Το ελεύθερο siRNA δεν παράγει αποτελεσματικό και προβλέψιμο θεραπευτικό αποτέλεσμα. Αυτό οφείλεται στο ότι το ελεύθερο siRNA έχει βιολογικό χρόνο ημιζωής μικρότερο από μία ώρα στο ανθρώπινο πλάσμα. Αξίζει να σημειωθεί, ότι τα siRNA γενικά παρουσιάζουν κακή διείσδυση στα κύτταρα με περιορισμένη σταθερότητα, και ως εκ τούτου η ενσωμάτωση τους σε κυκλοδεξτρίνες μπορεί να βοηθήσει στην παράδοση ολιγονουκλεοτιδίων επί του παρόντος υπό έρευνα για τη θεραπεία του καρκίνου. Τα νανοσωματίδια χιτοζάνης έχουν μελετηθεί για την παράδοση DNA και siRNA, και φάνηκε ότι ήταν σε θέση να συσχετίσουν υψηλές ποσότητες γενετικού υλικού με υψηλά επίπεδα γονιδιακής έκφρασης (Lakkakula and Krause, 2014). Σε μια προσέγγιση, για την παροχή του siRNA, η ιοντική CD cat συνδέθηκε σε μια αλυσίδα PEG για να διευκολυνθεί η προσκόλληση ανισαμίδης στην ομάδα στόχευσης. Ενδοφλέβια χορήγηση PEGylated CD με επισήμανση ανισαμίδης σε νανοσωματίδια έδειξαν σημαντική αδρανοποίηση του όγκου με μειωμένη τοξικότητα, χρησιμεύοντας έτσι ως ιδανικό σύστημα χορήγησης siRNA για τη θεραπεία του καρκίνου του προστάτη (Lakkakula and Krause, 2014).

2.5 Περιορισμοί στη χρήση νανοσωματιδίων κυκλοδεξτρίνης

Παρά τα πλεονεκτήματα που προσφέρει η χρήση των κυκλοδεξτρινών, ως νανοσυστήματα μεταφοράς φαρμακευτικών ουσιών, έχουν εντοπιστεί και προκλήσεις κατά τη χρήση τους, οι οποίες σχετίζονται με την ασφάλεια και την ενδεχόμενη τοξικότητα που αυτά παρουσιάζουν. Η τοξικότητα των κυκλοδεξτρινών εξαρτάται από την οδό χορήγησης τους. Οι κυκλοδεξτρίνες είναι μη τοξικές όσον αφορά τη χορήγηση τους από το στόμα, ενώ οι κυκλοδεξτρίνες που χορηγούνται από την ενδοφλέβια οδό παρουσιάζουν αιμολυτική δράση. Ωστόσο, ορισμένα παράγωγα των κυκλοδεξτρινών,

όπως το HP-β-CD, είναι ανεκτά και μη καρκινογόνα, ενώ άλλα είναι ακατάλληλα για χρήση δια της στοματικής οδού λόγω των επιδράσεων σε ηπατικά ένζυμα, στον όγκο των ούρων και μικρών ευρημάτων στους νεφρούς. Όμως, η χορήγηση δια στόματος των β-CD νανοσπόγγων έχει αποδειχθεί ασφαλής. Τα CD υδροξυπροπυλ- και σουλφοβουτυλαιθέρα- παράγωγα αναγνωρίζονται ως ασφαλή και χρησιμοποιούνται σε παρεντερικά διαλύματα, ενώ οι α-CD, β-CD και μεθυλ-CD θεωρούνται τοξικά παράγωγα κατά τη χορήγηση από την παρεντερική οδό.

Επιπλέον, οι χρήσεις τροποποιημένων κυκλοδεξτρινών μειώνουν ή εξαλείφουν την ανάγκη για την παρουσία επιφανειοδραστικής ουσίας κατά την παρασκευή NP βελτιώνοντας περαιτέρω την ενδοφλέβια ασφάλειά τους.

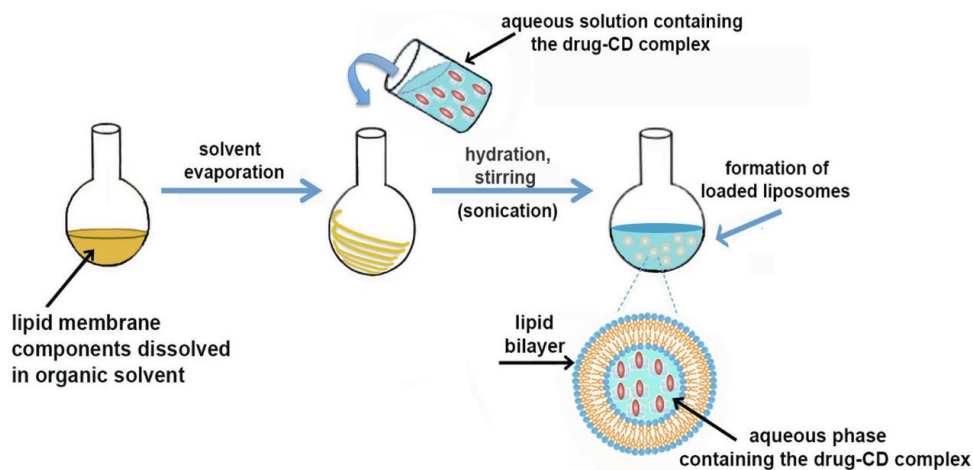
2.6 Συνδυαστική χρήση κυκλοδεξτρινών και νανοφορέων στη μεταφορά φαρμακευτικών ουσιών: Εφαρμογές και προκλήσεις

Τα πλεονεκτήματα που προσφέρει η συμπλοκοποίηση κυκλοδεξτρινών-φαρμάκων στον φαρμακευτικό τομέα έχουν αναλυθεί στην παρούσα εργασία. Ωστόσο, ορισμένα σημαντικά μειονεκτήματα, συμπεριλαμβανομένης της ταχείας απομάκρυνσης του φαρμάκου από την κυκλοφορία του αίματος μετά από *in vivo* χορήγηση, ή πιθανής αντικατάστασης, σε βιολογικά μέσα, των παγιδευμένων μορίων φαρμάκων από άλλα μόρια με υψηλότερη συγγένεια για την κοιλότητα της κυκλοδεξτρίνης, μπορούν να περιορίσουν την αποτελεσματικότητα των κυκλοδεξτρινών ως φορείς φαρμάκων. Για να ξεπεραστούν τα παραπάνω εμπόδια, έχουν αναπτυχθεί συνδυασμένες στρατηγικές που εκμεταλλεύονται ταυτόχρονα τη συμπλοκοποίηση μέσω κυκλοδεξτρίνης και τη φόρτωση του συμπλεγμένου φαρμάκου σε διάφορους κολλοειδείς φορείς (λιποσώματα, νιοσώματα, πολυμερή νανοσωματίδια, νανοσωματίδια λιπιδίων, νανογαλακτώματα, μικκύλια). Αυτά τα συνδυαστικά συστήματα έχουν διερευνηθεί ως πιθανό μέσο για την παράκαμψη των προβλημάτων που σχετίζονται και με τους δύο τέτοιους φορείς, όταν χρησιμοποιούνται χωριστά, ώστε τα οφέλη που παρουσιάζει κάθε ένας τους να ενωθούν σε ένα μοναδικό σύστημα παράδοσης. Έχουν αναφερθεί αρκετά παραδείγματα εφαρμογών για να επεξηγήσουν τα πιθανά πλεονεκτήματα που μπορούν να επιτευχθούν με μια τέτοια διπλή στρατηγική, ανάλογα με τον συνδυασμό κυκλοδεξτρίνης-νανοφορέα και με στόχο τη βελτιωμένη απόδοση του συστήματος χορήγησης, βελτιωμένες βιοφαρμακευτικές ιδιότητες και τη θεραπευτική αποτελεσματικότητα των φαρμάκων. Παρακάτω παρουσιάζονται παραδείγματα τέτοιων συνδυαστικών συστημάτων καθώς και τα κύρια προβλήματα που εντοπίστηκαν κατά την ανάπτυξή τους.

- **Συστήματα φάρμακο εντός κυκλοδεξτρίνης εντός λιποσώματος**

Τα λιποσώματα είναι κολλοειδή, σφαιρικά κυστίδια που σχηματίζονται από μια ή περισσότερες διπλοστοιβάδες φωσφολιπιδίων που περιβάλλουν έναν εσωτερικό υδατικό πυρήνα. Η χοληστερόλη συχνά ενσωματώνεται στα λιποσωμικά διπλά στρώματα για να βελτιώσει τη μηχανική ακαμψία και σταθερότητά τους, μειώνοντας παράλληλα την ρευστότητα της μεμβράνης. Τα φυσικά λιποσώματα αποτελούν μια βιοδιασπώμενη και μη τοξική σύνθεση και σε συνδυασμό με την ικανότητά τους να ενθυλακώνουν υδρόφοβα, αμφίφιλα και υδρόφιλα μόρια στη λιπιδική μεμβράνη, στη διεπιφάνεια υδατικού-λιπιδίου ή στον εσωτερικού υδατικού πυρήνα αντίστοιχα, καθίστανται ιδανικοί νανοφορείς φαρμάκου. Η παγίδευση φαρμάκων σε λιποσώματα μπορεί να αξιοποιηθεί για τη βελτίωση των φαρμακοκινητικών παραμέτρων, για την αύξηση της διαπερατότητας μέσω των βιολογικών μεμβρανών, ενισχύοντας παράλληλα τη βιοδιαθεσιμότητα και ελέγχοντας την απελευθέρωση, αυξάνοντας τη σταθερότητα, προλαμβάνοντας τον τοπικό ερεθισμό και μειώνοντας την τοξικότητα του φαρμάκου (Mura, 2020). Ωστόσο, ελάχιστα υδατοδιαλυτά φάρμακα ενσωματώνονται στο λιπίδιο και οι λιποσωμικές μεμβράνες έχουν συχνά χαμηλό επίπεδο όσον αφορά την αναλογία μάζας φαρμάκου προς λιπίδιο και θα μπορούσε να προκαλέσει πιθανά προβλήματα αποσταθεροποίησης της διπλοστοιβάδας. Επιπλέον, τα λιπόφιλα φάρμακα παγιδεύονται στο λιπόσωμα μέσω των μεμβρανικών φωσφολιπιδίων, και απελευθερώνονται γρήγορα μετά την *in vivo* χορήγηση. Επομένως, για μια πιο σταθερή ενθυλάκωση τέτοιων φαρμάκων, προτάθηκε μια καινοτόμα προσέγγιση, βασισμένη στον εγκλωβισμό τους ως υδατοδιαλυτά σύμπλοκα φαρμάκου-CD εντός του υδατικού λιποσωμικού πυρήνα, έτσι ώστε τα σχετικά πλεονεκτήματα των δυο μεταφορέων να συνυπάρξουν σε ένα μόνο σύστημα «φάρμακο-σε-CD-σε-λιπόσωμα». Επιπλέον, αναμένεται ότι η παγίδευση του συμπλόκου CD εντός της υδατικής λιποσωμικής φάσης συμβάλλει στην αποφυγή της πρόωρης αποβολής του από την κυκλοφορία του αίματος (Mura, 2020). Ωστόσο, πιθανά προβλήματα που σχετίζονται με τη συνδυαστική χρήση τέτοιων φορέων πρέπει να λαμβάνονται προσεκτικά υπόψη, δεδομένου ότι τα μόρια κυκλοδεξτρίνης που υπάρχουν στον υδατικό πυρήνα των λιποσωμάτων θα μπορούσαν να αλληλεπιδράσουν με τα φωσφολιπίδια της μεμβράνης επηρεάζοντας αρνητικά τη σταθερότητά τους και τροποποιώντας τη ρευστότητά τους (Mura, 2020). Ο μεγαλύτερος αριθμός εφαρμογών που παρατηρούνται σε συστήματα φαρμάκου-σε-CD-σε-λιπόσωμα βασίζεται στη στρατηγική της χρήσης κλασικών λιποσωμάτων, δηλαδή λιποσωμάτων που περιέχουν μόνο φωσφολιπίδια και χοληστερόλη. Αυτή η προσέγγιση έχει αξιοποιηθεί για τη βελτίωση της θεραπευτικής αποτελεσματικότητας διαφορετικών στεροειδών και μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων (Mura, 2020). Για παράδειγμα, η

παγίδευση πρεδνιζολόνης σε συμβατικά λιποσώματα ως σύμπλεγμα HPβ-CD επέτρεψε πολύ υψηλότερη αποτελεσματικότητα παγίδευσης σε σχέση με λιποσώματα φορτωμένα με το απλό φάρμακο. Έτσι, παρά το παρόμοιο ποσοστό του φαρμάκου που απελευθερώνεται στις 24 ώρες, η χρήση του συμπλέγματος CD-φαρμάκου πλεονεκτεί, λαμβάνοντας υπόψη τις περίπου 2.5 φορές υψηλότερη ποσότητα του αρχικά παγιδευμένου φαρμάκου (Mura, 2020). Στα μειονεκτήματα συγκαταλέγεται η κατακράτηση του φαρμάκου στα κυστίδια, η οποία αποδόθηκε σε πιθανές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των ελεύθερων μορίων CD και των φωσφολιπιδίων. Τα αποτελέσματα αυτά ανέδειξαν την ανάγκη χρήσης επαρκώς σταθερών συμπλόκων φαρμάκου-CD και αποφυγής της περίσσειας ποσοτήτων CD (Mura, 2020). Από την άλλη πλευρά, ο ρυθμός απελευθέρωσης φάνηκε να σχετίζεται με τις διαλυτοποιητικές και συμπλοκοποιητικές ιδιότητες των κυκλοδεξτρινών, οι οποίες επηρέασαν επίσης την αποτελεσματικότητα ενθυλάκωσης του φαρμάκου στα κυστίδια. Η ενθυλάκωση φαρμάκου σε μορφή συμπλέγματος CD αυξήθηκε έως και 7 φορές σε σύγκριση με αυτό που ελήφθη με το απλό φάρμακο. Επιπλέον, παρουσία β-μεθαζόνης, δεν παρατηρήθηκε κανένα πρόβλημα αλληλεπιδράσεων μεταξύ των CD και των λιποσωμικών μεμβρανικών συστατικών λόγω της μεγαλύτερης συγγένειας του CD για το φάρμακο παρά για τα λιπίδια της μεμβράνης (Mura, 2020). Η προσέγγιση φαρμάκου σε CD σε λιπόσωμα έχει μελετηθεί με επιτυχία και ως πιθανό μέσο για τη βελτίωση της θεραπευτικής αποτελεσματικότητας διαφορετικών αντικαρκινικών φαρμάκων. Για παράδειγμα, έχει αποδειχθεί ότι η φόρτωση δοξορουβικίνης σε PEGυλιωμένα λιποσώματα ως σύμπλοκο με γ-CD, παρά το γεγονός ότι δεν βελτίωσε περαιτέρω την αποτελεσματικότητα παγίδευσής του φαρμάκου σε σχέση με το απλό φάρμακο ή την κυτταρική του πρόσληψη σε ένα καρκινικό κύτταρο, οδήγησε σε μια σημαντικά πιο αργή απελευθέρωση, υποδεικνύοντας έτσι την πιθανή χρήση για πιο παρατεταμένη διατήρηση του φαρμάκου σε κύτταρα όγκου (Mura, 2020). Επιπλέον η νιτροκαμπτοθεκίνη ως σύμπλοκο με HP-β-CD φορτώθηκε σε συμβατικά λιποσώματα, των οποίων η επιφάνεια ήταν τροποποιημένη με τρανσφερίνη (Tf), ή σε PEGυλιωμένα λιποσώματα. Τα τροποποιημένα με Tf λιποσώματα έδειξαν υψηλή κυτταροτοξικότητα και ποσοστό ανασταλτικότητας του όγκου, συγκριτικά με το απλό σύμπλοκο φάρμακο-CD, αλλά και από τα PEGυλιωμένα κυστίδια (Mura, 2020).



Εικόνα 2.6.1: Φάρμακο σε CD σε κλασσικό λιπόσωμα (Mura, 2020)

- **Συστήματα Φάρμακο σε κυκλοδεξτρίνη σε παραμορφώσιμο λιπόσωμα**

Τα παραμορφώσιμα λιποσώματα έχουν προταθεί ως εναλλακτική λύση στα συμβατικά λιποσώματα, για τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας τους ως φορείς φαρμάκων μέσω του δέρματος. Το χαρακτηριστικό αυτών των κυστιδίων είναι η παρουσία στη λιποσωμική μεμβράνη, των λεγόμενων «ενεργοποιητών ακμής», που αποτελούνται από επιφανειοδραστικές ουσίες που αποσταθεροποιούν τις διπλές στοιβάδες των κυστιδίων ενισχύοντας την ελαστικότητά τους (Mura, 2020). Λόγω της υψηλής προσαρμοστικότητας και ευελιξίας τους, αυτά τα κυστίδια παρουσιάζουν βελτιωμένη διείσδυση μέσω των βιολογικών μεμβρανών και μπορούν να συμπιεστούν ανέπαφα ανάμεσα στα κύτταρα της κεράτινης στιβάδας και να φτάσουν στα βαθιά δερματικά στρώματα (Mura, 2020). Παραμορφώσιμα λιποσώματα που περιέχουν δεοξυχολικό νάτριο ως ενεργοποιητή ακμών και είναι φορτωμένα με ιτρακοναζόλη ως σύμπλοκο HP-β-CD αξιολογήθηκαν για να ερευνηθεί αν έχουν μεγαλύτερη ικανότητα διείσδυσης στο δέρμα και αντιμυκητιακή αποτελεσματικότητα σε σύγκριση με τα λιποσώματα φορτωμένα με ελεύθερα φάρμακα. Το νανοσύστημα μεταφοράς προκάλεσε αύξηση της ποσότητας φαρμάκου που απελευθερώθηκε στην κεράτινη στιβάδα και στα βαθύτερα στρώματα αποκομμένου κοιλιακού δέρματος από αρουραίο και η αντιμυκητιακή δράση διατηρήθηκε αμετάβλητη, γεγονός που υποδηλώνει ότι η νέα σύνθεση μπορεί να προσφέρει σημαντική υποστήριξη για μια πιο αποτελεσματική θεραπεία των δερματικών μυκητιακών λοιμώξεων (Mura, 2020).

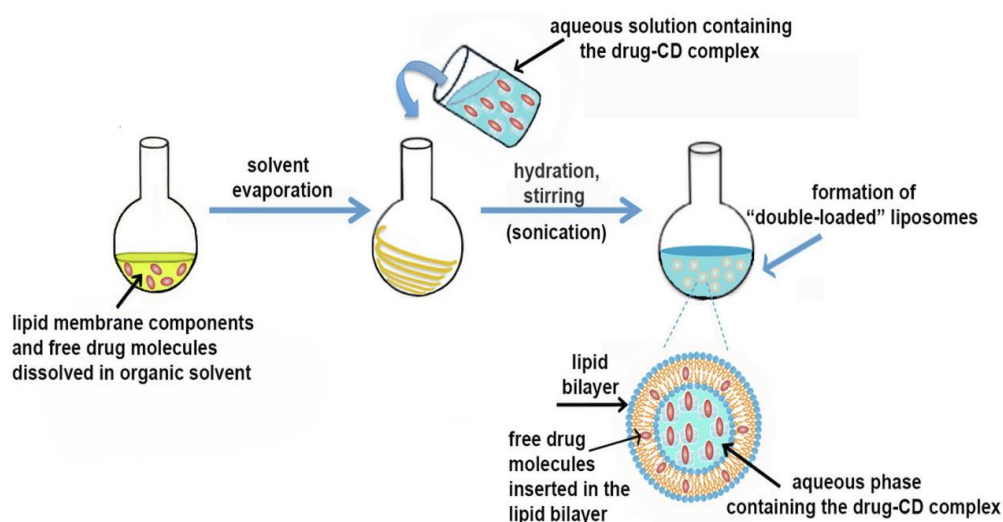
- **Συστήματα φάρμακο εντός κυκλοδεξτρίνης εντός λιποσώματος διπλού φορτίου**

Ένα πιθανό μειονέκτημα της προσέγγισης φάρμακο σε κυκλοδεξτρίνη σε λιπόσωμα είναι ο χαμηλός όγκος της υδατικής φάσης των κυστιδίων σε σχέση με τον όγκο της διπλής στιβάδας, ο οποίος θα μπορούσε να περιορίσει την ενθυλάκωση του υδρόφιλου συμπλέγματος (Mura, 2020). Έτσι, με στόχο τη μεγιστοποίηση της παγίδευσης του φαρμάκου, αναπτύχθηκε μια τεχνική διπλής φόρτισης που συνίσταται στη φόρτωση λιποσωμάτων τόσο με το απλό φάρμακο όσο και με το σύμπλοκο CD που προστίθεται, αντίστοιχα, στη λιπόφιλη και στην υδατική φάση των κυστιδίων. Στην προσέγγιση διπλής φόρτισης περιμένουμε να αυξηθεί η αναλογία φαρμάκου προς λιπίδιο σε σχέση με αυτή που λαμβάνεται από τη φόρτιση ενός μόνο φαρμάκου στις λιπιδικές ή στις υδατικές λιποσωμικές φάσεις, αλλά και να ρυθμίζεται καλύτερα η απελευθέρωση του φαρμάκου, λόγω της παρουσίας ελεύθερου φαρμάκου στη λιπιδική μεμβράνη, ώστε να πραγματοποιείται πιο αργή απελευθέρωση, οπότε και παρατεταμένο αποτέλεσμα (Mura, 2020).

Ωστόσο, όλα τα λιποσωματικά σκευάσματα παρουσίασαν παρόμοιο προφίλ διφασικής απελευθέρωσης. Η φόρτωση αξιολογήθηκε και συγκρίθηκε: στη διπλοστιβάδα λιπιδίων ως ελεύθερη βάση, στον πυρήνα του υδατικού κυστιδίου, ή ως σύμπλοκο μορφής βάσης-HP-β-CD, ή ως ελεύθερο υδροχλωρικό άλας, δηλαδή τόσο στη λιπιδική διπλοστιβάδα, ως ελεύθερη βάση, όσο και στην υδατική φάση, ως σύμπλοκο μορφής βάσης-HP-β-CD. Όλα τα σκευάσματα έδειξαν υψηλές τιμές αποτελεσματικότητας παγίδευσης του φαρμάκου, αν και in vivo μελέτες σε ινδικά χοιρίδια απέδειξαν ότι τα λιποσώματα που περιείχαν το σύμπλοκο βάσης φαρμάκου-HP-β-CD εμφάνισαν ενισχυμένη διάρκεια αναισθητικής δράσης σε σύγκριση με αυτά που φορτώθηκαν με το φάρμακο ως ελεύθερο αλάτι ή ελεύθερη βάση. Τα λιποσώματα διπλής φόρτισης επέτρεψαν τον μικρότερο χρόνο καθυστέρησης και το πιο παρατεταμένο αποτέλεσμα (Mura, 2020).

Παραμορφώσιμα λιποσώματα διπλού φορτίου που φέρουν ελεύθερη βενζοκαΐνη ή βουταμπένη στη λιπιδική διπλοστιβάδα και το προκύπτουν σύμπλοκο τους ως HP-β-CD στην υδατική φάση κυστιδίων, αναπτύχθηκαν για τη βελτίωση της θεραπευτικής αποτελεσματικότητας τοπικών αναισθητικών παραγόντων και συγκρίθηκαν με τα αντίστοιχα λιποσώματα ενός φορτίου που φέρουν το φάρμακο είτε στο λιπίδιο είτε στην υδατική φάση των κυστιδίων. In vivo μελέτες έδειξαν ότι και για τα δύο φάρμακα, τα λιποσώματα διπλού φορτίου, εκμεταλλευόμενα τα ευεργετικά αποτελέσματα της συμπλοκοποίησης των κυκλοδεξτρινών, επέτρεψαν μια σημαντική αύξηση τόσο στην ένταση όσο και στη διάρκεια της αναισθητικής δράσης σε σχέση με τα λιποσώματα ενός φορτίου (Mura, 2020). Επιπλέον, μελέτες με PEGυλιωμένα λιποσώματα διπλά

φορτωμένα με πακλιταξέλη ως απλό φάρμακο στη διπλοστοιβάδα κυστιδίων και ως σύμπλοκο με διμεθυλ-βCD στην υδατική φάση έδειξαν διπλάσια αύξηση της απόδοσης φόρτωσης σε σχέση με τα μονοφορτωμένα PEGυλιωμένα λιποσώματα. Συμπερασματικά, τα λιποσώματα διπλής φόρτισης επιτυγχάνουν βραδύτερο ρυθμό απελευθέρωσης φαρμάκου σε σχέση με τα μεμονωμένα, γεγονός που υποδηλώνει την πιθανή χρήση τους ως ένα σύστημα δεξαμενής παγιδευμένων μορίων του φαρμάκου, καθώς παρουσιάζουν υψηλότερη κυτταροτοξική δράση. Επιπλέον εμφανίζουν, παρατεταμένη απελευθέρωση του φαρμάκου σε σύγκριση με τα παραμορφώσιμα λιποσώματα φορτωμένα με το απλό φάρμακο (Mura, 2020).



Εικόνα 2.6.2: Λιπόσωμα διπλής φόρτωσης (Mura, 2020)

- **Συστήματα φάρμακο σε κυκλοδεξτρίνη σε πολυκυστιδικά λιποσώματα**

Τα πολυκυστιδικά λιποσώματα (multivesicle liposomes-MVLs) αποτελούνται από πολλά ασυνεχή εσωτερικά υδατικά διαμερίσματα που διαχωρίζονται από μη ομόκεντρες λιπιδικές διπλοστοιβάδες, που περιβάλλονται από μια εξωτερική μεμβράνη. Όπως και τα συμβατικά λιποσώματα μπορούν να εγκλωβίσουν υδατοδιαλυτά φάρμακα στον υδατικό πυρήνα τους και λιπόφιλα φάρμακα εντός της διπλής στοιβάδας της μεμβράνης. Ωστόσο, τα MVL διαφέρουν από τα συμβατικά μονοστρωματικά ή πολυστρωματικά κυστίδια σε δύο σημαντικά χαρακτηριστικά:

1. Μεγαλύτερο μέγεθος: κυμαίνονται από 5-100 μm και έτσι αποκλείεται η είσοδος τους στα τριχοειδή, επιτρέποντάς τους να παραμείνουν ως «αποθήκη» για τη χορήγηση του φαρμάκου

2. Χημική σύνθεση: Περιλαμβάνει ένα πρόσθετο συστατικό, δηλαδή ένα ουδέτερο έλαιο, όπως η τριλεΐνη ή η τριοκτανοΐνη, που είναι υπεύθυνη για την πολυκυστιδική δομή τους.

Τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά των MVL τους προσδίδουν ιδιότητες, όπως αυξημένη σταθερότητα του παγιδευμένου φαρμάκου, και παρατεταμένη απελευθέρωση εξασφαλίζοντας μεγαλύτερη διάρκεια θεραπευτικού αποτελέσματος. Επιπλέον, τα MVL περιέχουν περίπου 95% νερό στους πολλαπλούς εσωτερικούς υδατικούς θαλάμους τους, οπότε είναι ιδιαίτερα κατάλληλα για την παγίδευση υδρόφιλων φαρμάκων, καθώς και για την αποτελεσματική εφαρμογή της προσέγγισης του φαρμάκου σε κυκλοδεξτρίνη σε λιπόσωμα (Mura, 2020).

Τα πιθανά πλεονεκτήματα που προκύπτουν από τη συνδυασμένη χρήση των κυκλοδεξτρινών και των MVL ως φορείς φαρμάκων έχουν διερευνηθεί με την ανάπτυξη ενός αποθηκευτικού συστήματος του φαρμάκου celecoxib. Τα MVL που περιέχουν το φάρμακο ως σύμπλοκο με β -CD έδειξαν υψηλότερη αποτελεσματικότητα παγίδευσης από τα πολυελασματικά κυστίδια φορτωμένα με β -CD (multilamellar vesicles-MLVs) και πιο αργό *in vitro* και *in vivo* ρυθμό απελευθέρωσης φαρμάκου (Mura, 2020).

- **Συστήματα φάρμακο σε κυκλοδεξτρίνη σε νιοσώματα**

Τα νιοσώματα είναι δομές που βασίζονται σε μη ιονικά επιφανειοδραστικά και σχηματίζονται με αυτοσυναρμολόγηση μη ιονικών αμφιφιλικών μορίων σε υδατικά μέσα, με αποτέλεσμα τη δημιουργία κυστιδίων διπλής στοιβάδας και έχουν προταθεί ως εναλλακτική λύση των λιποσωμάτων ως φορείς φαρμάκων. Στην πραγματικότητα, σε σχέση με τα λιποσώματα, μπορούν να εγκλωβίσουν τόσο υδρόφιλα όσο και λιπόφιλα μόρια, αλλά παρουσιάζουν τα πλεονεκτήματα του χαμηλότερου κόστους, της μεγαλύτερης χημικής σταθερότητας, της υψηλότερης ευελιξίας στις δομικές τους ιδιότητες, καθώς η λειτουργικότητας της επιφάνειάς τους μπορεί να τροποποιηθεί για την παράδοση του φαρμάκου-στόχου (Mura, 2020).

Ωστόσο, τα νιοσώματα παρουσιάζουν τα ίδια μειονεκτήματα με τα λιποσώματα, όσον αφορά την περιορισμένη ικανότητα παγίδευσης του λιπόφιλου φαρμάκου στη διπλοστοιβάδα των λιπιδίων, τη χαμηλή αναλογία μάζας φαρμάκου προς λιπίδιο και πιθανά ζητήματα αποσταθεροποίησης δύο στιβάδων, καθώς και την πιθανή ταχεία απελευθέρωση των φαρμάκων αυτών μετά από *in vivo* χορήγηση. Ως εκ τούτου, μια συνδυαστική προσέγγιση, βασισμένη στην ενσωμάτωση λιπόφιλων φαρμάκων στον υδατικό νιοσωμικό πυρήνα ως υδατοδιαλυτά σύμπλοκα με κυκλοδεξτρίνες, δημιουργώντας ένα φάρμακο-σε-CD-σε-νιοσώμα θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί (Mura, 2020). Αυτή η διπλή προσέγγιση εφαρμόστηκε στην ανάπτυξη νιοσώματος για

σχηματισμούς φορτωμένους με μεθοτρεξάτη ως σύμπλοκο με ΗΡβ-CD ή β-CD, με αποτέλεσμα και στις δύο περιπτώσεις να προκύπτει βελτιωμένη αποτελεσματικότητα παγίδευσης, ενισχυμένη σταθερότητα κατά την αποθήκευση και αυξημένη αντικαρκινική δραστηριότητα σε σχέση με τα νιοσώματα φορτωμένα με το ελεύθερο φάρμακο (Mura, 2020).

Πλεονεκτήματα από τη συνδυαστική χρήση συμπλοκοποίησης μέσω κυκλοδεξτρίνης και παγίδευσης σε νιοσώματα ελήφθησαν και στην περίπτωση του αντικαρκινικού φαρμάκου *plum bagin*. Παρά την απροσδόκητη χαμηλότερη αποτελεσματικότητα παγίδευσης από τα ελεύθερα φάρμακα και την ταχύτερη *in vitro* απελευθέρωση, το σύστημα νιοσώμα-β-CD-φάρμακο έδειξε υψηλότερη αντικαρκινική δράση μετά από υποδόρια χορήγηση, σε σχέση με το σύμπλοκο φάρμακο-β-CD και το απλό νιοσωμικό φάρμακο. Αυτό αποδόθηκε στην αύξηση της διαλυτότητας του φαρμάκου λόγω της συμπλοκοποίησής του με κυκλοδεξτρίνη και στην ελεγχόμενη αποδέσμευση μέσω της νιοσωμικής σύνθεσης (Mura, 2020).

- **Συστήματα φάρμακο σε κυκλοδεξτρίνη σε πολυμερικά μικρο- ή νανο-σωματίδια**

Ο σημαντικός ρόλος των νανοσωματιδίων (NPs) ή των μικροσωματιδίων (MPs), δομούμενα από βιοαποδομήσιμα συνθετικά (π.χ. πολυλακτίδια, πολυαλκυλο-κυανοακρυλικά) ή φυσικά (αλγινικά, πηκτίνες, χιτοζάνη, αλβουμίνη κ.λπ.) πολυμερή στην αποτελεσματική μεταφορά φαρμάκων για την παροχή μιας ποικιλίας μορίων αυτών μέσω διαφορετικών οδών χορήγησης είναι βιβλιογραφικά τεκμηριωμένος (Mura, 2020). Οι μέθοδοι παρασκευής και χαρακτηρισμού τους, καθώς και οι σημαντικοί παράγοντες που ελέγχουν την απελευθέρωση των εγκλωβισμένων φαρμάκων έχει διερευνηθεί ευρέως. Στα σημαντικά πλεονεκτήματα των NPs ή MPs συγκαταλέγεται η υψηλή σταθερότητα του φαρμάκου, άρα και η μεγαλύτερη διάρκεια ζωής του, η γενικά καλή ικανότητα φόρτωσης, η δυνατότητα χρήσης ποικίλων οδών χορήγησης, συμπεριλαμβανομένων της στοματικής και της αναπνευστικής οδού, η ελεγχόμενη ή παρατεταμένη απελευθέρωση φαρμάκου και η στοχευμένη κυκλοφορία σε συγκεκριμένες περιοχές. Περαιτέρω πλεονεκτήματα θα μπορούσαν να ληφθούν με τη συνδυαστική χρήση συμπλοκοποίησης κυκλοδεξτρίνης με φάρμακο και παγίδευσης του συμπλόκου σε πολυμερή NPs ή MPs (Mura, 2020).

- i. NPs, MPs Χιτοζάνης (CS)*

Η χιτοζάνη (CS) είναι ένα φυσικό κατιονικό πολυμερές που χρησιμοποιείται ευρέως σε σκευάσματα NPs ή MPs, λόγω της βιοσυμβατότητας, της απουσίας τοξικότητας και των βλεννοσυγκολλητικών και ενισχυτικών ιδιοτήτων στη διαπερατότητα μεμβρανών

που παρουσιάζει. Επιπλέον, CS-NPs ή MPs μπορούν να σχηματιστούν εύκολα σε υδατικό μέσο με ιοντοτροπική ζελατινοποίηση, χρησιμοποιώντας ένα αρνητικά φορτισμένο παράγωγο, όπως το τριπολυφωσφορικό, ως παράγοντα καταβύθισης, αποφεύγοντας έτσι τη χρήση οργανικών διαλυτών. Ωστόσο, πρέπει να σημειωθεί ότι αυτή η μέθοδος προετοιμασίας περιορίζει έντονα την αποτελεσματικότητα στην παγίδευση υδρόφοβων φαρμάκων (Mura, 2020).

Εφαρμόζοντας μια τέτοια προσέγγιση, θα πρέπει να ληφθούν υπόψη οι πιθανές αλληλεπιδράσεις μεταξύ CS και CD, φαρμάκου και CS και CD και του συμπλόκου φαρμάκου-CD, το οποίο μπορεί να οδηγήσει σε μείωση της σταθερότητας του συμπλόκου φαρμάκου-CD και επίσης να επηρεάσει θετικά ή αρνητικά την διαλυτότητα φαρμάκου (Mura, 2020). Σε σχετική μελέτη αναπτύχθηκαν NP από CS και καρβοξυμεθυλ-βCD (CM-βCD) ως φορείς για μακρομοριακά φάρμακα όπως η ινσουλίνη και η ηπαρίνη. Και στις δύο περιπτώσεις επιτεύχθηκε παρόμοιο επίπεδο φόρτωσης, ενώ παρατηρήθηκαν πολύ διαφορετικά προφίλ απελευθέρωσης για την ινσουλίνη (περίπου το 90% απελευθερώνεται μετά από 15 λεπτά) και την ηπαρίνη (λιγότερο από 10% απελευθερώνεται μετά από 8 ώρες), δείχνοντας ότι μπορεί να επιτευχθεί γρήγορη ή αργή παροχή μακρομοριακών φαρμάκων, ανάλογα με το είδος του εγκλωβισμένου μορίου και τις αλληλεπιδράσεις του με τους φορείς (Mura, 2020). Η διπλή προσέγγιση CD-CS έχει επίσης αξιοποιηθεί για την παγίδευση σε CS NPs του υδρόφοβου φάρμακο μεθοτρεξάτης, ως υδατοδιαλυτό σύμπλοκο β-CD και του υδρόφιλο φυλλινικό ασβέστιο, καθώς έχει αποδειχθεί ότι η συγχορήγηση τους μπορεί να μειώσει την τοξικότητα της μεθοτρεξάτης στη θεραπεία της ρευματοειδούς αρθρίτιδας. Η συνδυασμένη προσέγγιση έδειξε παρόμοια ικανότητα φόρτωσης των NPs, τόσο για υδρόφοβα όσο και για υδρόφιλα μόρια. Τα προφίλ απελευθέρωσης που λήφθηκαν χαρακτηρίζονται από αρχική γρήγορη απελευθέρωση ακολουθούμενη από παρατεταμένη απελευθέρωση έως και 24 ώρες (Mura, 2020).

ii. NPs, MPs άλλων φυσικών πολυμερών

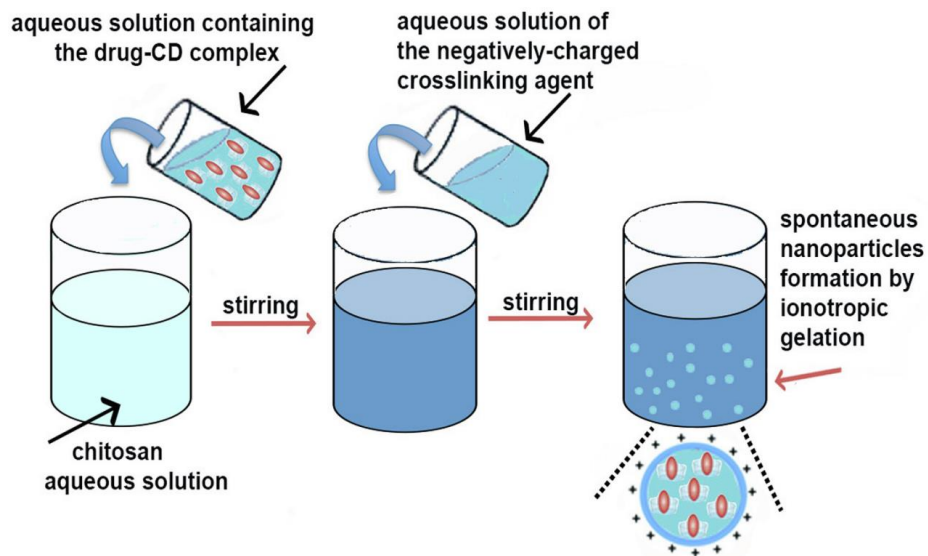
Εκτός της χιτοζάνης, τα αλγινικά και οι πηκτίνες ανήκουν στα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα βιοϋλικά για σκευάσματα NPs ή MPs, διότι διαθέτουν υψηλή βιοσυμβατότητα, μη τοξικότητα, βιοαποδομησιμότητα και βλεννοσυγκολλητικές ιδιότητες. Τα αλγινικά είναι υδατοδιαλυτοί πολυσακχαρίτες, που αποτελούνται από α - (1-4)- συνδεδεμένες μονάδες α -L-γουλουρονικού και β-D-μαννουρονικού οξέος, ενώ οι πηκτίνες αποτελούνται κυρίως από μερικώς μεθοξυλιωμένο πολυα - (1-4)-d-γαλακτουρονικό οξύ. Τόσο τα αλγινικά όσο και οι πηκτίνες είναι σε μορφή γέλης στα υδατικά διαλύματα, ενώ παρουσία δισθενών κατιόντων, όπως Ca^{2+} , που επάγουν διασταυρούμενη σύνδεση μεταξύ των πολυμερικών αλυσίδων, σχηματίζουν τη

λεγόμενη δομή κουτί αυγών (Mura, 2020). Συνδυασμός αλγινικού ασβεστίου ή πηκτινικού ασβεστίου με χιτοζάνη (CS) αποδείχθηκε ότι αποτελεί μια επιτυχημένη στρατηγική για την αύξηση των μηχανικών ιδιοτήτων της γέλης και τη μείωση της διαπερατότητάς της. Ως παράδειγμα, η συμπλοκοποίηση της ινσουλίνης με κατιονικό πολυμερικό-β-CD και η παγίδευσή του συμπλόκου σε αλγινικό Ca/CS NPs ή MPs επέτρεψε μια αποτελεσματική προστασία της πρωτεΐνης από την αποικοδόμηση σε προσομοιωμένο γαστρικό υγρό, και κατά συνέπεια, μια σημαντικά υψηλότερη απελευθέρωση σε προσομοιωμένο εντερικό υγρό, σε σχέση με NPs ή MPs φορτωμένα με απλή ινσουλίνη, και σε σχέση με το σύμπλοκο β-CD-ινσουλίνη (Mura, 2020).

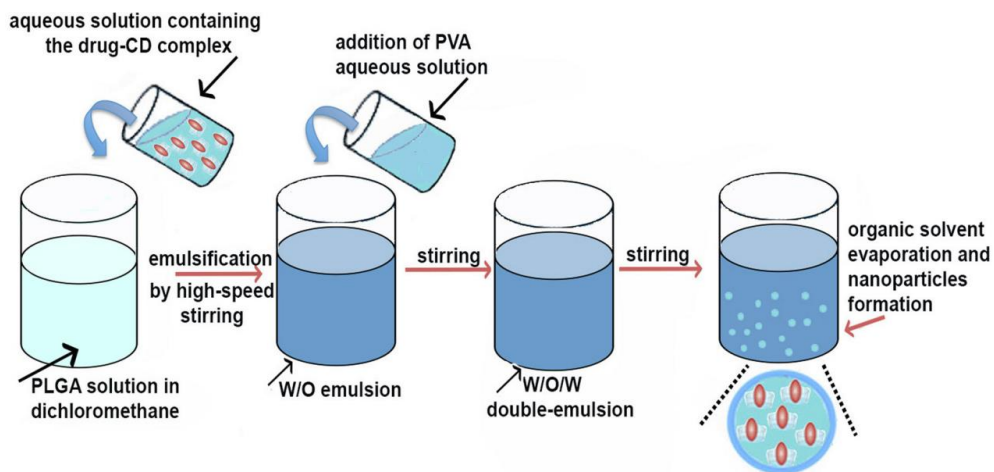
iii. NPs, MPs σε PLGA

Μεταξύ των διαφορετικών συνθετικών πολυμερών που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή NPs, το πολυ(γαλακτικό οξύ) (PLA), το πολυ(γλυκολικό οξύ) (PGA) και ιδιαίτερα το πολυμερές πολυ(λακτίδιο-συν-γλυκολίδιο) (PLGA) είναι τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα λόγω της εξαιρετικής βιοσυμβατότητας και της απουσίας τοξικότητας (Mura, 2020). Μια συνδυαστική προσέγγιση που βασίζεται στη συμπλοκοποίηση φαρμάκων με CD και τη φόρτωση τους σε PLGA-NPs έχει χρησιμοποιηθεί με στόχο την ταυτόχρονη ωφέλεια από τις ικανότητες διαλυτοποίησης και σταθεροποίησης των CD και τις ιδιότητες εκτεταμένης κυκλοφορίας και στόχευσης του PLGA-NP. Αυτά τα ευρήματα έδειξαν την πιθανή χρήση των CD όχι μόνο για βελτίωση, αλλά και για ρύθμιση της απελευθέρωσης του φαρμάκου από PLGA-NPs επιλέγοντας το κατάλληλο συνδυασμό CD (Mura, 2020).

Η στρατηγική αυτή έχει χρησιμοποιηθεί με επιτυχία στην περίπτωση του αντικαρκινικού φαρμάκου bendamustine, το οποίο ήταν παγιδευμένο σε PLGA-NPs ως σύμπλοκο με πολυμερική-β-CD. Με αυτήν την προσέγγιση επιτεύχθηκε βραδεία και παρατεταμένη απελευθέρωση φαρμάκου και οι μελέτες βιωσιμότητας των κυττάρων έδειξαν ότι τα PLGA-NP που περιείχαν το φάρμακο ως σύμπλοκο με CD παρουσίασαν πιο έντονη επίδραση στα καρκινικά κύτταρα σε σύγκριση με το ελεύθερο φάρμακο (Mura, 2020). Επιπλέον, φόρτωση σε PLGA-NPS του αντικαρκινικού φαρμάκου erlotinib ως σύμπλοκο με SBEβ-CD επέτρεψε τριπλάσια αύξηση της αποτελεσματικότητας παγίδευσης σε σύγκριση με τα απλά NPs φορτωμένα με φάρμακο (Mura, 2020).



Εικόνα 2.6.3: Φάρμακο σε CD σε νανομόρια χιτοζάνης (Mura, 2020)



Εικόνα 2.6.4: Φάρμακο σε CD σε νανομόρια PLGA (Mura, 2020).

- **Συστήματα φάρμακο σε κυκλοδεξτρίνη σε λιπιδικά NPs**

Τα λιπιδικά NPs έχουν εισαχθεί πρόσφατα ως εναλλακτικοί φορείς των παραδοσιακών κολλοειδών συστημάτων, όπως τα λιποσώματα, τα πολυμερικά νανοσωματίδια και τα μικρο και νανογαλακτώματα, λόγω του χαμηλότερου κόστους των συστατικών τους, της μεγαλύτερης σταθερότητας, της υψηλότερης αποτελεσματικότητας παγίδευσης και της υψηλής ευελιξίας τους (Mura, 2020).

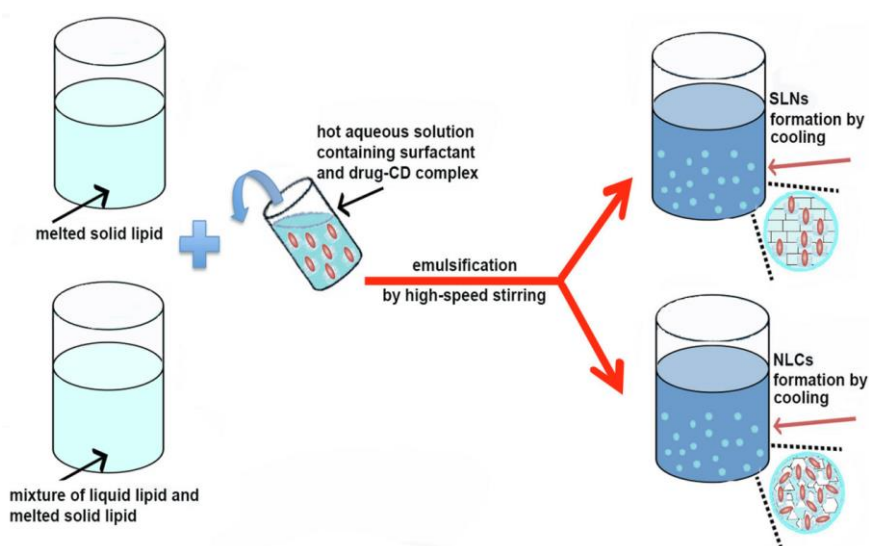
Συγκεκριμένα, τα στερεά λιπιδικά NPs (SLNs) αποτελούνται από μια μήτρα λιπιδίων, κατασκευασμένη από βιοσυμβατά, βιοαποδομήσιμα λιπίδια, κατάλληλα για διάφορες οδούς χορήγησης, συμπεριλαμβανομένης και της στοματικής. Αυτά τα συστήματα

ένωσαν τα οφέλη, των πολυμερικών NPs χάρη στην παρουσία της στερεάς μήτρας, η οποία προστατεύει τα φάρμακα και ελέγχει επαρκώς την απελευθέρωσή τους, με αυτά των λιποσωμάτων και των νανογαλακτωμάτων, που αποτελούνται επίσης από βιοσυμβατά λιπίδια, και αποδείχθηκε ότι ενισχύουν τη βιοδιαθεσιμότητα του φαρμάκου (Mura, 2020). Οι νανοφορείς λιπιδίων (NLCs) αντιπροσωπεύουν μια δεύτερη γενιά των λιπιδικών NPs, που αναπτύχθηκαν για να βελτιώσουν περαιτέρω τις ιδιότητες των SLN. Σε αντίθεση με τα SLN, που αποτελούνται μόνο από στερεά λιπίδια, τα NLC αποτελούνται από μια στερεή μήτρα λιπιδίων, που περιέχει ένα υγρό λιπίδιο κατανεμημένο σε νανοδιαμερίσματα. Αυτή η ειδική δομή παρέχει ορισμένα πρόσθετα οφέλη σε σύγκριση με τα SLN, όπως αυξημένη αποτελεσματικότητα φόρτωσης, ενισχυμένη φυσική σταθερότητα και μειωμένα προβλήματα διαρροής φαρμάκων κατά την αποθήκευση (Mura, 2020). Επιπλέον οφέλη θα μπορούσαν να προκύψουν από μια συνδυαστική στρατηγική που βασίζεται στη συμπλοκοποίηση φαρμάκου με κυκλοδεξτρίνη, για ενίσχυση της υδατοδιαλυτότητάς του και φόρτωση του συμπλέγματος σε SLN ή NLC, (Mura, 2020).

Αναφορικά με την προσέγγιση φάρμακο σε CD σε SLN, η απελευθέρωση των φαρμάκων από τα SLN που ενσωματώθηκαν ως σύμπλοκα-CD ήταν πιο αργή από αυτή από τα SLN φορτωμένα με τα ελεύθερα φάρμακα, ενώ η απελευθέρωση εξαρτάται από την υδροφιλικότητα των φαρμάκων και από το αν τοποθετούνται σε υδατικό περιβάλλον (Mura, 2020). Γενικά, η παρουσία των κυκλοδεξτρινών δεν επηρεάζει την κατασκευή σταθερών SLNs, αλλά αυξάνει την αποτελεσματικότητα παγίδευσης φαρμάκου, προστατεύει το φάρμακο από πρόωρη απελευθέρωση στο στομάχι και μειώνει το ποσοστό ή ρυθμό απελευθέρωσης του λόγω του σχηματισμού ενός πολύ σταθερού συμπλόκου με το φάρμακο (Mura, 2020). Ωστόσο, μια αύξηση της μοριακής αναλογίας CD:φαρμάκου από 1:1 σε 2:1 ευνοεί το ποσοστό απελευθέρωσης φαρμάκου, πιθανώς λόγω της μείωσης της σταθερότητας σύνθεσης (Mura, 2020). Φαρμακοκινητικές μελέτες μετά από ενδοφλέβια χορήγηση σκευασμάτων SLNs (με και χωρίς HP-β-CD) και πακλιταξέλης σε αρουραίους έδειξαν ότι τα SLN με HP-β-CD μπορεί να είναι πιο αποτελεσματικά από αυτά χωρίς CD, όσον αφορά την αύξηση της απορρόφησης και την παράταση της *in vivo* αντικαρκινικής δράσης του φαρμάκου, ενώ παράλληλα παρουσίασαν μειωμένη νεφροτοξικότητα σε σχέση με το διάλυμα του φαρμάκου (Mura, 2020).

Αναφορικά με την προσέγγιση φάρμακο σε CD σε NLCs, η συνδυαστική προσέγγιση συμπλοκοποίησης φαρμάκου κετοπροφαίνης σε CD και της ενσωμάτωσής αυτού του συμπλόκου σε NLCs έχει χρησιμοποιηθεί για να αξιοποιηθούν ταυτόχρονα οι διαλυτοποιητικές ιδιότητες των κυκλοδεξτρινών και η ενίσχυση παρατεταμένης αποδέσμευσης και διαδερμικότητας αυτών των λιπιδικών νανοφορέων (Mura, 2020).

Το πολυμερές β-CD-ερί χλωροϋδρίνη (EPI-βCD) ήταν πιο αποτελεσματικό από το καρβοξικό μεθυλ-βCD-επιχλωροϋδρίνη-πολυμερές στη βελτίωση της διαλυτότητας του φαρμάκου, και η συν-άλεση ήταν η καλύτερη μέθοδος παρασκευής στερεού φαρμάκου-CD (Mura, 2020). Η φόρτωση των NLC με κετοπροφαίνη ως προϊόν συν-αλεσμού με EPI β-CD οδήγησε σε αξιοσημείωτη αύξηση του ρυθμού απελευθέρωσης του φαρμάκου σε σύγκριση με αυτόν του NLC με απλά φάρμακα, κάτι που αποδίδεται στη διαβρεξιμότητα και τη διαλυτότητα που προσφέρει η κυκλοδεξτρίνη στο φάρμακο (Mura, 2020).



Εικόνα 2.6.5: Φάρμακο σε CD σε SLN ή NLC (Mura, 2020)

- **Φάρμακο σε CD σε μικρογαλάκτωμα (ME) ή νανογαλάκτωμα (NE)**

Τα μικρογαλακτώματα (MEs) και τα νανογαλακτώματα (NEs) είναι θερμοδυναμικά σταθερά κολλοειδή συστήματα που αποτελούνται από μια ελαιώδη και μια υδατική φάση, σταθεροποιημένη από την παρουσία μιας επιφανειακής μεμβράνης μορίων τασιενεργού-συνεπιφανειοδραστικού (Mura, 2020). Αποτελούν ένα ελκυστικό σύστημα μεταφοράς φαρμάκων, ιδιαίτερα για λιπόφιλα μόρια και ελάχιστα υδατοδιαλυτά φάρμακα, αφού συμβάλλουν στη βελτίωση της διαλυτότητάς τους και ενισχύουν την βιοδιαθεσιμότητάς τους. Έχει προταθεί κυρίως η συνδυασμένη χρήση CD και ME ή NE με στόχο την εκμετάλλευση της διαλυτοποιητικής ικανότητας και της ενίσχυσης της διείσδυσης που παρέχουν οι κυκλοδεξτρίνες. Ακόμη, αυτά τα κολλοειδή συστήματα έχουν σταθεροποιητικές ιδιότητες (Mura, 2020).

Έχει αποδειχθεί ότι η προσθήκη φυσικών CD σε NEs με βάση τη στεατική σακχαρόζη, όχι μόνο ενίσχυσε τη φυσική σταθερότητα του σκευάσματος, αλλά οδήγησε και σε αξιοσημείωτη αύξηση, δηλαδή έως και 5 φορές παρουσία γ-CD, του in vitro ρυθμού

διείσδυσης ενός μοντέλο φαρμάκου προγεστερόνης, σε σχέση με τα αντίστοιχα συστήματα χωρίς CD (Mura, 2020). Η προσθήκη CD φαίνεται να προκαλεί σημαντικές τροποποιήσεις στη μικροδομή του NE, όπως αποδεικνύεται από τις έρευνες Cryo TEM, οι οποίες μπορεί να ευθύνονται για τη βελτιωμένη διείσδυση του φαρμάκου στο δέρμα και την αυξημένη σταθερότητα της κολλοειδούς διασποράς (Mura, 2020).

- **Συστήματα φαρμάκων σε CD σε μικκύλια**

Τα μικκύλια είναι αυτοσυναρμολογούμενα κολλοειδή σωματίδια νανομεγέθους με λιπόφιλο πυρήνα και υδρόφιλη επιφάνεια. Έχουν μέγεθος στην περιοχή περίπου 5 έως 2000 nm. Τα μικκύλια έχουν χρησιμοποιηθεί σε μεγάλο βαθμό ως φορείς νανομεγέθους υδρόφοβων φαρμάκων, καθώς μέσω της διάλυσής τους σε υδατικά διαλύματα βελτιώνουν τη βιοδιαθεσιμότητά τους. Η διαλυτοποίηση φαρμάκων από τασιενεργά μικκύλια έχει διερευνηθεί εκτενώς. Ωστόσο, αναποτελεσματικότητα στη διαλυτοποίηση, υψηλή κρίσιμη μικκυλιακή συγκέντρωση (CMC), πιθανές ανεπιθύμητες ενέργειες, ιδιαίτερα μετά από ενδοφλέβια χορήγηση, μπορούν να περιορίσουν χρήση τους στη θεραπεία (Mura, 2020).

Τα πολυμερικά μικκύλια μπορούν να παρουσιάσουν μεγαλύτερα οφέλη από τα συμβατικά επιφανειοδραστικά μικκύλια, ως προς την ικανότητα διαλυτοποίησης, χαμηλότερο CMC, υψηλότερη σταθερότητα και καλύτερη ανεκτικότητα (Mura, 2020). Παρόλ' αυτά, η δυνατότητα αξιοποίησης μιας συνδυασμένης προσέγγισης, με συμπλοκοποίηση του φαρμάκου σε CD και παγίδευση σε μικκύλια για πιθανή βελτίωση της επίδοσης του φαρμάκου, σε σχέση με την χρήση των δύο μεταφορέων ξεχωριστά δεν έχει εξερευνηθεί εκτενώς (Mura, 2020).

2.7 Τρέχουσα κατάσταση στη χρήση κυκλοδεξτρινών

Οι φυσικές κυκλοδεξτρίνες έχουν συμπεριληφθεί στη λίστα του U.S. FDA για χρήση ως ασφαλή πρόσθετα τροφίμων το 2004, 2001 και 2000 αντίστοιχα. Επιπλέον δύο σημαντικά παράγωγα CD, το υδροξυπυροπυλ β-CD (HP-β-CD) και το σουλφοβουτυλαιθέρα-β-CD (SBE-β-CD) περιλαμβάνονται στη λίστα του FDA με τα «Ανενεργά Φαρμακευτικά» συστατικά που χρησιμοποιούνται σε νέες φαρμακευτικές εφαρμογές μαζί με φυσικές κυκλοδεξτρίνες. Επιπλέον έχουν εγκριθεί από το FDA νανοφάρμακα για τη θεραπεία του καρκίνου όπως είναι τα Doxil (λιποσωμιακό σκευάσμα της δοξορουβικίνης) για τον καρκίνο των ωοθηκών και το Abraxane (πακλιταξέλη συνδεδεμένη με λευκωματίνη υπό μορφή νανοσωματιδίων) για το μεταστατικό καρκίνο του μαστού. Οι θεραπευτικές εφαρμογές των νανοφορέων με βάση την κυκλοδεξτρίνη αναμένεται να αυξηθούν τα επόμενα χρόνια. Αναφορικά με τα

εγκεκριμένα προϊόντα, ο FDA έχει εγκρίνει τα λιποσωμικά σκευάσματα των φαρμάκων δαουνουβικίνη (DaunoXome), cytarabine (DepoCyt) και αμφοτερικίνη B (Abelcet), τα οποία έχουν αποδειχτεί ως ελκυστικές και λιγότερο τοξικές εναλλακτικές λύσεις σε σχέση με τα συμβατικά σκευάσματα φαρμάκων. Επιλέον πέντε προϊόντα μικκυλίων έχουν διερευνηθεί σε κλινικές δοκιμές για αντικαρκινική θεραπεία, εκ των οποίων το Genexol-PM έχει λάβει έγκριση από τον FDA για χρήση σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού. Αρκετά λιποσωμικά σκευάσματα συμβατικών αντικαρκινικών φαρμάκων βρίσκονται σε κλινικές δοκιμές φάσης I/II, συμπεριλαμβανομένων των λιποσωμικών vincristine, platinum, mitoxantrone, all-trans-retinoic acid και lurtotecan. Αναμένεται η χρήση των νανοφορέων να συμβάλλει στην καλύτερη χορήγηση των φτωχών σε διαλυτότητα αντικαρκινικών φαρμάκων, να ενισχύσει την πρόσληψη της δραστικής ουσίας από τον όγκο, βελτιώνοντας την αντικαρκινική τους δράση (Gidwani and Vyas, 2015).

Πίνακας 2.7.1: Ενδεικτικά παραδείγματα συμπλοκοποίησης αντικαρκινικών φαρμάκων με κυκλοδεξτρίνη και παράγωγά της-θεραπευτικό αποτέλεσμα σε εργαστηριακές δοκιμές του συμπλοκοποιημένου φαρμάκου (Gidwani and Vyas, 2015)

Φάρμακο	Χρήση	Κυκλοδεξτρίνη	Θεραπευτικό αποτέλεσμα
9-Nitro camptothecin	Καρκίνος παγκρέατος	HP- β-CD	Σημαντική βελτίωση δραστηριότητας του φαρμάκου έναντι των καρκινικών στόχων και μείωση της τοξικότητας φαρμάκου σε υγιείς ιστούς
Methotrexate	Λευχαιμία/Λέμφωμα	β-CD HP β-CD	Ενίσχυση υδατικής διαλυτότητας και βιοδιαθεσιμότητας του συμπλεγμένου φαρμάκου
Lonidamine	Καρκίνος του προστάτη	PM- β-CD	Ενίσχυση διαλυτότητας
Exemestane	Καρκίνος του μαστού	M β-CD	Αύξηση διαλυτότητας, βελτίωση βιοδιαθεσιμότητας και διάλυσης του φαρμάκου
Vorinostat	Λέμφωμα	HP- β-CD RM- β-CD	Ενίσχυση βιοδιαθεσιμότητας
Imatinib	Χρόνια λευχαιμία	β-CD RM- β-CD	Ενίσχυση διαλυτότητας
Doxorubicin	Λέμφωμα και λευχαιμία	HP-β-CD	Σταθερότητα φαρμάκου σε όξινη υδρόλυση και φωτοαποικοδόμηση

Cisplatin	Καρκίνος όρχεων, ωοθηκών και τραχήλου της μήτρας	HP- β-CD	Αύξηση διαλυτότητας, βελτίωση ρυθμού διάλυσης, μείωση τοξικότητας του φαρμάκου
Flutamide	Καρκίνος προστάτη	β-CD HP- β-CD	Ενίσχυση διαλυτότητας και διάλυσης
Zerumbone	Καρκίνος του παχέος εντέρου και καρκίνος του δέρματος	HP- β-CD	Βελτίωση διαλυτότητας, σταθερότητας και βιοδιαθεσιμότητας
Melphalan	Πολλαπλό μυέλωμα και καρκίνος ωοθηκών	HP- β-CD	Σταθερότητα στην υδρόλυση, αύξηση διαλυτότητας
Oridonin	Καρκίνος οισοφάγου	β-CD	Ενίσχυση βιοδιαθεσιμότητας
5-Fluorouracil	Καρκίνος του τραχήλου της μήτρας/του γαστρεντερικού συστήματος/του μαστού	β-CD HP- β-CD	Ενίσχυση διαλυτότητας

3. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Λαμβάνοντας υπόψη τις παραπάνω αναφορές τόσο των πλεονεκτημάτων που προσφέρει η χρήση των κυκλοδεξτρινών στη μεταφορά φαρμάκων, όσο και τις προκλήσεις στην ανάπτυξη ασφαλών νανοσυστημάτων-κυκλοδεξτρινών, είναι φανερό ότι οι κυκλοδεξτρίνες κατέχουν την εγγενή ικανότητα να φιλοξενούν ή να συσχετίζονται με μεγάλη ποικιλία μικρών μορίων, πρωτεϊνών και πεπτιδίων. Όμως χρειάζεται προσεκτική επιλογή του κατάλληλου τύπου κυκλοδεξτρίνης ή χημικές τροποποιήσεις της κυκλοδεξτρίνης, βάσει του προκαθορισμένου στόχου παράδοσης της. Οι χημικές τροποποιήσεις της κυκλοδεξτρίνης πραγματοποιούνται για να αυξηθεί η αλληλεπίδρασή της με τη βιολογική μεμβράνη, να ενισχυθεί η διαλυτότητα του φαρμάκου, να χορηγηθούν υδρόφοβα και υδρόφιλα φάρμακα, να ελεγχθεί η παρατεταμένη απελευθέρωση του φαρμάκου, να επιτευχθεί η αποκρινόμενη σε ερεθίσματα απελευθέρωση του φαρμάκου και να βελτιωθεί η σταθερότητα του.

Όσον αφορά τη θεραπεία του καρκίνου η νανοϊατρική είναι ήδη μια πραγματικότητα που παρέχει ένα ευρύ φάσμα νέων εργαλείων και δυνατοτήτων, που συμβάλλουν στη βελτιωμένη απεικόνιση των όγκων και την αποδοτικότερη και στοχευμένη θεραπεία σε σχέση με τις παραδοσιακές προσεγγίσεις που χρησιμοποιούνται έως σήμερα.

Επιπλέον, έχουν αναπτυχθεί συνδυασμένες στρατηγικές που εκμεταλλεύονται ταυτόχρονα τη συμπλοκοποίηση μέσω κυκλοδεξτρινών και τη φόρτωση του

συμπλεγμένου φαρμάκου σε διάφορους κολλοειδείς φορείς, ως πιθανό μέσο για την παράκαμψη των προβλημάτων που σχετίζονται με τους δύο αυτούς φορείς, όταν χρησιμοποιούνται χωριστά, ώστε τα οφέλη που παρουσιάζει κάθε ένας τους να συγκεραστούν σε ένα μοναδικό σύστημα παράδοσης. Πράγματι, έχουν αναφερθεί αρκετά παραδείγματα εφαρμογών, για να επεξηγήσουν τα πιθανά πλεονεκτήματα που μπορούν να επιτευχθούν με μια τέτοια διπλή στρατηγική, ανάλογα με τον συνδυασμό κυκλοδεξτρίνης-νανοφορέα και με στόχο τη βελτιωμένη απόδοση του συστήματος χορήγησης, βελτιωμένες βιοφαρμακευτικές ιδιότητες και τη θεραπευτική αποτελεσματικότητα των φαρμάκων. Πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι, λόγω του αριθμού των παραγόντων και των μεταβλητών που εμπλέκονται στην απόδοση του φαρμάκου, αυτή δεν μπορεί να προβλεφθεί με τα «συνδυασμένα» συστήματα παράδοσης αλλά εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το είδος του φαρμάκου, την κυκλοδεξτρίνη και τον νανοφορέα καθώς και από το πειραματικές συνθήκες που χρησιμοποιούνται για την ανάπτυξη του συνδυασμένου συστήματος. Ωστόσο, λαμβάνοντας υπόψη τα πολυάριθμα και σημαντικά οφέλη που μπορούν να αποκομιστούν, όσον αφορά τις βελτιωμένες ιδιότητες των συστημάτων χορήγησης και την ενισχυμένη βιοδιαθεσιμότητα του φαρμάκου, είναι σίγουρα άξιο ενδιαφέροντος να συνεχιστεί η διερεύνηση αυτής της πολλά υποσχόμενης κοινής στρατηγικής, με σκοπό να ξεπεραστούν τα σχετικά εκκρεμή προβλήματα, επεκτείνοντας τις εφαρμογές και τα χρήσιμα αποτελέσματα.

Αξίζει να σημειωθεί ότι τα σύμπλοκα κυκλοδεξτρίνης με στερεά λιπίδια, αλλά και αυτά με τα λιποσώματα διπλής φόρτωσης, μπορούν να θεωρηθούν αποδοτικότερα για την αποτελεσματική θεραπεία του καρκίνου, λόγω της ενίσχυσης των πλεονεκτημάτων των κυκλοδεξτρινών, τα οποία σχετίζονται με την απόδοση της φόρτωσης του φαρμάκου και το ρυθμό απελευθέρωσης του. Επειδή το μικροπεριβάλλον των καρκινικών όγκων έχει διαφορετικό και συγκεκριμένα μικρότερο pH από τους υγιείς ιστούς είναι απαραίτητη η περεταίρω διερεύνηση για την ανάπτυξη αποκρινόμενων στο pH συμπλόκων για στοχευμένη μεταφορά αντικαρκινικών φαρμάκων. Παραδείγματος χάρη, μια ελπιδοφόρα προσέγγιση κατά του καρκίνου θα μπορούσε να είναι ένα σύμπλοκο κυκλοδεξτρίνης-φαρμάκου, που θα αποκρίνεται στο pH του μικροπεριβάλλοντος του καρκινικού όγκου, το οποίο θα φορτωθεί σε λιπόσωμα διπλού φορτίου, για επιλεκτικότερη στόχευση στα καρκινικά κύτταρα, με το παράλληλο πλεονέκτημα της μακροβιότερης δράσης, λόγω της αργής απελευθέρωσης του φαρμάκου από τον λιποσωμικό νανοφορέα.

Αξίζει να σημειωθεί ότι και η θερανωστική προσέγγιση κατά του καρκίνου θα μπορούσε να επιτευχθεί χρησιμοποιώντας λιπόσωμα διπλής φόρτωσης. Σύμφωνα με αυτήν την προσέγγιση, ο δείκτης διάγνωσης θα φορτώνεται στη λιπιδική επιφάνεια για άμεση

απελευθέρωση στον στόχο, ενώ στο εσωτερικό του λιποσώματος θα βρίσκεται το σύμπλοκο με το θεραπευτικό φάρμακο. Με ένα τέτοιο σύστημα, θα μπορέσει να επιτευχθεί γρήγορη ανίχνευση καρκινικών όγκων και με την πιστοποίηση της ύπαρξης της ασθένειας, το φάρμακο θα ελευθερώνεται στα καρκινικά κύτταρα, ώστε να παρέχεται άμεση θεραπεία, η οποία είναι καθοριστική για την εξέλιξη και αντιμετώπιση της ασθένειας.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Hochella M. (2002). Nanoscience and Technology: The next revolution in the Earth sciences. *Earth and Planetary Science Letters*, 203(2): 593–605.
- [2] Nave R. (2017). Abundances of the Elements in the Earth's Crust, Georgia State University.
- [3] Μασμανίδου Ο., (2015). Ανάπτυξη Λειτουργικών Πολυμερικών Νανοσωματιδίων για Στόχευση Δενδριτικών Κυττάρων. Διπλωματική Μελέτη, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης.
- [4] Wikipedia, 2022
- [5] Kiparrisides C. and Kammona O. (2013). Nanoscale Carriers for Targeted Delivery of Drugs and Therapeutic Biomolecules. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 91(4): 638-651
- [6] Luo J, Maeda S., Hsu L., Yagita H. and Karin M. (2004). Inhibition of NF- κ B in Cancer Cells Converts Inflammation-Induced Tumor Growth Mediated by TNF α to TRAIL Mediated Tumor Regression. *Cancer Cell*, 6(3): 297-305.
- [7] Rawat M., Singh D., Saraf S. and Saraf S. (2006). Nanocarriers: Promising vehicle for bioactive drugs. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 29(9): 1790-1798.
- [8] Γκίνης Θ. (2009). Ανάπτυξη, Χαρακτηρισμός και Τεχνολογική Αξιοποίηση Μαγνητικών Νανοσωματιδίων. Διπλωματική Εργασία, Π.Μ.Σ. Φυσικής και Τεχνολογίας Υλικών, Τμήμα Φυσικής, Σχολή Θετικών Επιστημών, Α.Π.Θ., Θεσσαλονίκη.
- [9] Davinder S., Harikumar S. and Nirmala N. (2013). Nanoparticles: An overview. *Journal of Drug Delivery & Therapeutics*. 3(2): 169-175.
- [10] Mahmoudi M., S. Sant, B. Wang, S. Laurent, T. Sen. (2011). Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles (SPIONs): Development, surface modification and applications in chemotherapy. *s.l. : Adv. Drug Deliv. Rev.*
- [11] Χαριτίδης Κ., Κανελλοπούλου Ε., Καρτσωνάκης Ι. (2014). Σύνθεση με την Τεχνική της Κολλοειδούς Γέλης (sol-gel) και Χαρακτηρισμός Νανοδοχείων για βελτίωση Αντιδιαβρωτικών Ιδιοτήτων Επιστρώσεων. Σχ. Χημ. Μηχ., Ε.Μ.Π.
- [12] Zhao L., Seth A., Wibowo N., Zhao C., Mitter N., Yu C. and Middelberg A. (2014). Nanoparticle Vaccines. *Vaccine*, 32(3): 327-337.

- [13] Mohanraj V. and Chen Y. (2006). Nanoparticles : A review, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 5(1): 561-573.
- [14] Κατσικάρη Α. (2014). Ανάπτυξη Μεθόδων Μεταφοράς Βιομορίων με τη Χρήση Νανοσωματιδίων. Διδακτορική διατριβή. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης.
- [15] Hillaireau H. and Couvreur P. (2009). Nanocarriers' Entry into the Cell: Relevance to drug delivery. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 66: 2873-2896.
- [16] Bilia A. R., Guccione C., Isacchi B., Righeschi C., Firenzuoli F. and Bergonzi M. C. (2014). Essential Oils Loaded in Nanosystems: A developing strategy for a successful therapeutic approach. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.
- [17] Munin A. and Edwards-Lévy F. (2011). Encapsulation of Natural Polyphenolic Compounds: A review. *Pharmaceutics*, 3(4): 793-829.
- [18] Zhang J. Q., Wu D., Jiang K. M., Zhang D., Zheng X., Wan C. P. and Lin J. (2015). Preparation, Spectroscopy and Molecular Modelling Studies of the Inclusion Complex of Cordycepin with Cyclodextrins. *Carbohydrate research*, 406: 55-64.
- [19] Marques H. M. C. (2010). A Review on Cyclodextrin Encapsulation of Essential Oils and Volatiles. *Flavour and Fragrance Journal*, 25(5): 313-326.
- [20] Del Valle E. M. (2004). Cyclodextrins and Their Uses: A review. *Process Biochemistry*, 39(9): 1033-1046.
- [21] Voncina B. and Vivod V. (2013). Cyclodextrins in Textile Finishing. INTECH Open Access Publisher.
- [22] Χριστοφορίδης Η. (2008) Μελέτη Προϊόντος Εγκλεισμού β-ναφθαλενικού Οξέος σε β-κυκλοδεξτρίνη. Μεταπτυχιακή διατριβή, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών
- [23] Szejtli J. (2004). Past, Present and Future of Cyclodextrin Research. *Pure and Applied Chemistry*, 76(10): 1825-1845.
- [24] Loftsson T. and Masson M. (2001). Cyclodextrins in Topical Drug Formulations: Theory and Practice. *Int. J. Pharm*, 225(1-2):15-30.
- [25] Dodziuk H. (Ed.). (2006). Cyclodextrins and Their Complexes: Chemistry, analytical methods, applications. John Wiley & Sons.
- [26] Costa P., Medronho B., Gonçalves S. and Romano A. (2015). Cyclodextrins Enhance the Antioxidant Activity of Essential Oils From Three Lamiaceae Species. *Industrial Crops and Products*, 70: 341-346.

- [27] Salústio P. J., Pontes P., Conduto C., Sanches I., Carvalho C., Arrais J. and Marques H. M. C. (2011). Advanced Technologies for Oral Controlled Release: Cyclodextrins for oral controlled release. *AAPS PharmSciTech*, 12(4): 1276-1292.
- [28] Szejtli J. (1998). Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistry. *Chem Rev*, 98:1743-1753
- [29] Magnúsdóttir A., Masson M. and Loftsson T. (2002). Cyclodextrine. *J. Incl. Phenom. Macroc. Chem.*, 44:213-218
- [30] Martín Á., Varona S., Navarrete A., and Cocero M. J. (2010). Encapsulation and Coprecipitation Processes with Supercritical Fluids: Applications with essential oils. *Open Chemical Engineering Journal*, 4(1): 31-41.
- [31] Singh M., Sharma R. and Banerjee U. C. (2002). Biotechnological Applications of Cyclodextrins. *Biotechnology advances*, 20(5): 341-359.
- [32] Petrović G., Stojanović G. and Radulović N. (2010). Encapsulation of Cinnamon Oil in β -Cyclodextrin. *J. Med. Plants Res*, 4(14): 1382-1390.
- [33] Haiyun D., Jianbin C., Guomei Z., Shaomin S. and Jinhao P. (2003). Preparation and Spectral Investigation on Inclusion Complex of β -Cyclodextrin with Rutin. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 59(14): 3421-3429.
- [34] Rafati A. A., Hamnabard N., Ghasemian E. and Nojini Z. B. (2009). Study of Inclusion Complex Formation Between Chlorpromazine Hydrochloride, as an Antiemetic Drug, and β -Cyclodextrin, Using Conductometric Technique. *Materials Science and Engineering: C*, 29(3): 791-795.
- [35] El Asbahani A., Miladi K., Badri W., Sala M., Addi E. A., Casabianca H. and Elaissari A. (2015). Essential Oils: From extraction to encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics*, 483(1): 220-243.
- [36] Saravana K. K., Sushma M. and Prasanna R. Y. (2013). Dissolution Enhancement of Poorly Soluble Drugs by Using Complexation Technique—A Review. *J Pharm Sci Res*, 5(5): 120-124.
- [37] Astray G., Gonzales-Barreiro C., Mejuto J., Rial-Otero R. and Simal-Gandara J. (2009). Review: A review on the use of cyclodextrins in foods. *Food Hydrocolloids*, 23:1631-1640
- [38] Kadam D., Marapur S. and Kamalapur M. (2010). Inclusion Complex System; A novel technique to improve the solubility and bioavailability of poorly soluble drugs-A

review. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research, 1(2):29-34

[39] Shimpi S., Chauhan B. and Shimpi P. (2005). Cyclodextrins: Application in different routes of drug administration. Acta pharmaceutica, 55(2): 139-156.

[40] Rudrangi S. R. S., Bhomia R., Trivedi V., Vine G. J., Mitchell J. C., Alexander B. D. and Wicks S. R. (2015). Influence of the Preparation Method on the Physicochemical Properties of Indomethacin and Methyl- β -cyclodextrin Complexes. International Journal of Pharmaceutics, 479(2): 381-390.

[41] Katageri A. R. and Sheikh M. A. (2012). Cyclodextrin, a Gift to Pharmaceutical World Review. International Research Journal of Pharmacy, 3(1): 52-56.

[42] Kurkov S. V. and Loftsson T. (2013). Cyclodextrins. International journal of Pharmaceutics, 453(1): 167-180.

[43] Haimhoffer A., Rusznyák A., Réti-Nagy K., Vasvári G., Váradi J., Vecsernyés M., Bácskay I., Fehér P. and Ujhelyi Z. and Fenyvesi F. (2019). Cyclodextrins in Drug Delivery Systems and Their Effects on Biological Barriers. Sci. Pharm. 87(33)

[44] Mura P. (2020). Advantages of the Combined Use of Cyclodextrins and Nanocarriers in Drug Delivery: A review. International Journal of Pharmaceutics

[45] Gadade D. and Pekamwar S. (2020). Cyclodextrin Based Nanoparticles for Drug Delivery and Theranostics. Adv Pharm Bull, 10(2):166-183

[46] Lakkakula J. and Krause R. (2014). A Vision for Cyclodextrin Nanoparticles in Drug Delivery Systems and Pharmaceutical Applications. Nanomedicine, 9(6): 877–894

[47] Yuko Nakamura, Ai Mochida, Peter Choyke and Hisataka Kambayashi (2016). Nano-drug delivery: Is the enhanced permeability and retention (EPR) effect sufficient for curing cancer? Bioconjug Chem. 2016 Oct 19; 27(10): 2225–2238.

[48] Yang Shi, Roy Van der Meel, Xiaoyuan Chen and Twan Lammers (2020).

The EPR effect and beyond: Strategies to improve tumor targeting and cancer nanomedicine treatment efficacy. Theranostics. 2020; 10(17): 7921–7924.

[49] Bina Gidwani and Amber Vyas, (2015). A Comprehensive Review on Cyclodextrin-Based Carriers for Delivery of Chemotherapeutic Cytotoxic Anticancer Drugs