

ΤΟ

Καλλυντικό #36

ΠΕΡΙΟΔΙΚΟ ΚΟΣΜΗΤΟΛΟΓΙΑΣ



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ ΚΟΣΜΗΤΟΛΟΓΙΑΣ

ΑΠΡΙΛΙΟΣ - ΜΑΪΟΣ - ΙΟΥΝΙΟΣ 2016

ISSN:1791 - 3012



ΕΠΟΥΛΩΣΗ, ΑΝΑΠΛΑΣΗ
ΚΑΙ ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗ
ΔΕΡΜΑΤΟΣ ΜΕ
ΜΗ ΕΠΕΜΒΑΤΙΚΕΣ
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΕΣ
(Β' ΜΕΡΟΣ)

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΙΑΧΥΣΗΣ
ΕΝΟΣ ΜΑΚΡΟΜΟΡΙΟΥ
ΔΙΑΜΕΣΟΥ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥ
ΔΕΡΜΑΤΟΣ IN VITRO
ΚΑΙ ΤΗΣ ΚΑΤΑΝΟΜΗΣ
ΤΟΥ ΣΤΗ ΚΕΡΑΤΙΝΗ
ΣΤΟΙΒΑΔΑ

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ
ΣΥΜΒΟΛΗΣ ΤΩΝ
ΝΑΝΟΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΩΝ
ΣΤΗ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΚΑΙ
ΤΗΝ ΕΝΔΟΔΕΡΜΙΚΗ
ΔΙΕΙΣΔΥΣΗ ΤΟΥ UV-
ΦΙΛΤΡΟΥ AVOBENZONE

ΕΛΕΓΧΟΣ ΑΝΑΣΤΟΛΗΣ ΤΗΣ
ΤΥΡΟΣΙΝΑΣΗΣ ΑΠΟ ΦΥΣΙΚΑ
ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ
ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ
ΔΕΡΜΑΤΙΚΩΝ
ΜΕΛΑΝΟΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ
ΒΛΑΒΩΝ

ΤΟ Καλλυντικό

ΕΠΙΣΗΜΟ ΤΡΙΜΗΝΙΑΙΟ ΠΕΡΙΟΔΙΚΟ
ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ ΚΟΣΜΗΤΟΛΟΓΙΑΣ
Τεύχος 36 • Απρίλιος - Μάιος - Ιούνιος 2016 • ISSN:1791 - 3012

ΣΥΝΤΑΚΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ / ΔΙΟΙΚΗΤΙΚΟ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟ - Ε.Ε.Κ.

- Γ. Θ. ΠΑΠΑΪΩΑΝΝΟΥ, Ομ. Καθηγητής Φαρμακευτικής
- Σ. ΧΑΤΖΗΑΝΤΩΝΙΟΥ, Επικ. Καθηγήτρια, Τομέας Φαρμ. Τεχνολογίας, Τμ. Φαρμακευτικής, Παν. Πατρών
- Α. ΠΑΤΕΡΑ Χημικός, Διεύθυνση R&D Εταιρεία ΑΡΙVITA
- Δ. ΜΕΛΙΣΣΟΣ Χημικός, qacs
- Κ. ΒΑΣΙΛΑΤΟΥ Χημικός, Σύμβουλος Ανάπτυξης και Καινοτομίας Καλλυντικών Προϊόντων
- Σ. ΧΑΛΜΠΕΣ Φαρμακοποιοός, Προϊστάμενος Τμήματος Αξιολόγησης Καλλυντικών και Τμήματος Αξιολόγησης Εκτελωνισμού, Αναπλ. Διευθυντής Αξιολόγησης Προϊόντων Ε.Ο.Φ.
- Π. ΔΑΛΛΑΣ Επικ. Καθηγητής, Τομέας Φαρμ. Τεχνολογίας, Τμ. Φαρμακευτικής, ΕΚΠΑ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΣ ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ

- Γ.Θ. ΠΑΠΑΪΩΑΝΝΟΥ Ομ. Καθηγητής, ΕΚΠΑ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΕΠΙΜΕΛΗΤΡΙΑ

- Σ. ΧΑΤΖΗΑΝΤΩΝΙΟΥ Επικ. Καθηγήτρια, Τομέας Φαρμ. Τεχνολογίας, Τμ. Φαρμακευτικής, Παν. Πατρών

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

- ΑΝΤΩΝΙΟΥ ΧΡΙΣΤΙΝΑ Καθηγήτρια Δερματολογίας ΕΚΠΑ
- ΑΥΓΟΥΣΤΑΚΗΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ Καθηγητής Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής Πανεπιστήμιο Πατρών
- ΒΑΡΒΑΡΕΣΟΥ ΑΘΑΝΑΣΙΑ Αν. Καθηγήτρια, Τμήμα Αισθητικής & Κοσμητολογίας, ΑΤΕΙ Αθήνας
- ΚΑΡΑΜΑΝΟΥ ΜΑΡΙΑΝΝΑ Δερματολόγος - Αφροδισιολόγος, Επιστημονική Συνεργάτης Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ
- ΚΑΤΣΑΜΠΑΣ ΑΝΔΡΕΑΣ Ομ. Καθηγητής Δερματολογίας ΕΚΠΑ
- ΚΑΤΣΑΡΟΥ ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ Καθηγήτρια Δερματολογίας ΕΚΠΑ
- ΚΕΦΑΛΑ ΒΑΣΙΛΙΚΗ Καθηγήτρια, Τμήμα Αισθητικής & Κοσμητολογίας, ΑΤΕΙ Αθήνας
- ΚΙΝΤΖΙΟΥ ΕΛΕΝΗ Καθηγήτρια, Τμήμα Αισθητικής & Κοσμητολογίας, ΑΤΕΙ Αθήνας
- ΚΟΥΣΚΟΥΚΗΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ Καθηγητής Δερματολογίας, Ιατρική Σχολή ΔΠΘ
- ΠΑΠΑΓΕΩΡΓΙΟΥ ΣΠΥΡΟΣ Χημικός, Καθηγητής Εφαρμογών, Τμήμα Αισθητικής & Κοσμητολογίας, ΑΤΕΙ Αθήνας
- ΠΡΩΤΟΠΑΠΑ ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ Καθηγήτρια, Τμήμα Αισθητικής & Κοσμητολογίας, ΑΤΕΙ Αθήνας
- ΡΑΛΛΗΣ ΜΙΧΑΗΛ Επικ. Καθηγητής Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής ΕΚΠΑ
- ΣΤΑΥΡΙΑΝΕΑΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ Ομ. Καθηγητής Δερματολογίας ΕΚΠΑ
- ΦΑΤΟΥΡΟΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ Επικ. Καθηγητής Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, ΑΠΘ



ΙΔΙΟΚΤΗΣΙΑ: ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ
ΚΟΣΜΗΤΟΛΟΓΙΑΣ
ΕΔΡΑ: Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας
Τμήμα Φαρμακευτικής, ΕΚΠΑ, Πανεπιστημιόπολη,
15771 Αθήνα,
Τηλ.: 210 7274024
Fax: 210 7274395



ZITA MEDICAL MANAGEMENT S.A.
1ο χλμ. Παιανίας Μαρκοπούλου,
Παιανία, Αττική, 190 02, Ελλάδα
Τηλ.: +30 211 1001 777
Fax: +30 210 6642116
E - mail: info@zita - management.gr



Editorial



Αγαπητοί Συνάδελφοι,

Μετά την επιτυχία που σημείωσε η έκδοση του 35ου τεύχους, προχωρούμε στην έκδοση του επόμενου τεύχους.

Στο παρόν τεύχος παρουσιάζονται βιβλιογραφικές και ερευνητικές εργασίες από ερευνητικές ομάδες των Τμημάτων Φαρμακευτικής Αθηνών, Θεσσαλονίκης και Πατρών. Έχουμε την ελπίδα ότι σύντομα το περιοδικό μας θα φιλοξενήσει τα αποτελέσματα των εργασιών επιστημονικών ομάδων και άλλων Τμημάτων.

Συγκεκριμένα στο ανά χείρας τεύχος παρουσιάζεται το δεύτερο μέρος της εργασίας σχετικά με τη χρήση της ασύρματης ηλεκτροδιέγερσης με μικρορεύματα για την επούλωση, ανάπλαση και αναγέννηση του δέρματος.

Επίσης παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της μελέτης της διάχυσης ενός μακρομορίου διαμέσου ανθρώπινου δέρματος *in vitro* και της κατανομής του στην κεράτινη στοιβάδα.

Επιπλέον παρουσιάζεται μια μελέτη σχετικά με τη συμβολή της νανοτεχνολογίας στη σταθερότητα και την ενδοδερμική διείσδυση της αβοβενζόνης.

Σε ένα ακόμη άρθρο παρουσιάζεται μια βιβλιογραφική ανασκόπηση επί της ανασταλτικής δράσης της τυροσινάσης από φυσικά προϊόντα.

Τέλος από το παρόν τεύχος θα εκδίδεται Δελτίο τύπου σχετικά με τα τρέχοντα θέματα στην Ευρώπη για τα Καλλυντικά.

Με Συναδελφικούς χαιρετισμούς,

Ο Πρόεδρος της Ε.Ε.Κ.

Γεώργιος Θ. Παπαϊωάννου

Ομ. Καθηγητής Πανεπιστημίου Αθηνών

Περιεχόμενα

Άρθρα βιβλιογραφικής ανασκόπησης

0 - 00 Επούλωση, ανάπλαση και αναγέννηση δέρματος με μη επεμβατικές τεχνολογίες (β' μέρος):

Ασύρματη ηλεκτροδιέγερση με μικρορεύματα -Wireless Micro Current Stimulation (WMCS)

Κωνσταντίνος Πουλάς, Αντωνάκη Μαρία, Ζαγκλακάς Αλέξανδρος, Ζήση Ειρήνη, Θηβαίου Δήμητρα, Λουίζου Δήμητρα, Μήτρου Ειρήνη, Παπαγεωργίου Φωτεινή, Σουλάκη Μαρία, Τσανακτσίδου Ελένη

0 - 00 Μελέτη της διάχυσης ενός μακρομορίου διαμέσου ανθρώπινου δέρματος in vitro και της κατανομής του στη κεράτινη στοιβάδα

Ελένη Κοντογιαννίδου, Δημήτριος Φατούρος

0 - 00 Μελέτη της συμβολής των νανογαλακτωμάτων στη σταθερότητα και την ενδοδερμική διείσδυση του UV-φίλτρου ανοbenzone

Χ. Χαμαλάκη, Π. Κλεπετσάνης, Α. Αυγουστάκης, Σ. Χατζηαντωνίου

0 - 00 Έλεγχος αναστολής της τυροσινάσης από φυσικά προϊόντα
Βιβλιογραφική ανασκόπηση των ακόλουθων δερματικών μελανοκυτταρικών βλαβών: μέλασμα, εφηλίδες, σπίλοι - μελάνωμα

Αναστασία Πρωτόπαπα, Αναστασία Καριώτη, Ελένη Σκαλτσά

0 - 00 Δελτίο τύπου ΕΕΚ για τρέχοντα θέματα στην Ευρώπη για τα καλλυντικά

00 Οδηγίες προς τους συγγραφείς

*Τα ενυπόγραφα άρθρα εκφράζουν αποκλειστικά τις απόψεις των συγγραφέων.
Το περιοδικό διατηρεί το δικαίωμα συντόμευσης των δελτίων τύπου που λαμβάνει.*

Επούλωση, ανάπτυξη και αναγέννηση δέρματος με μη επεμβατικές τεχνολογίες (β' μέρος): Ασύρματη ηλεκτροδιέγερση με μικρορεύματα - Wireless Micro Current Stimulation (WMCS)

Κωνσταντίνος Πουλάς¹

Αντωνάκη Μαρία¹, Ζαγκλακάς Αλέξανδρος¹, Ζήση Ειρήνη³, Θηβαίου Δήμητρα¹, Λουίζου Δήμητρα¹, Μήτρου Ειρήνη¹, Παπαγεωργίου Φωτεινή¹, Σουλάκη Μαρία¹, Τσανακτσίδου Ελένη¹

¹Τμήμα Φαρμακευτικής, Παν/μιο Πατρών, 26500 Πάτρα kpoulas@upatras.gr

³Τμήμα Βιολογίας, Παν/μιο Πατρών, 26500 Πάτρα

Περίληψη

Κλινικές μελέτες σχετικά με την επίδραση της ηλεκτρικής διέγερσης στην επούλωση τραυμάτων, στην ανακούφιση του πόνου και σε προβλήματα αισθητικής, οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι η ηλεκτροθεραπεία αποτελεί μία από τις αποτελεσματικότερες μη επεμβατικές μεθόδους. Μία από τις τεχνικές που χρησιμοποιείται σήμερα είναι η Wireless Micro Current Stimulation. Η τεχνική αυτή, με τη χρήση μικρορευμάτων έντασης 1-5μΑ και την αξιοποίηση των ιόντων N_2^+ και O_2^- της ατμόσφαιρας, μιμείται τα ενδογενή ηλεκτρικά πεδία επιταχύνοντας έτσι τη φυσιολογική διαδικασία της επούλωσης. Αποτέλεσμα είναι η αύξηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και της παραγωγής κολλαγόνου και τελικά η κατά πολύ ταχύτερη ανάπτυξη του δέρματος. Το πλεονέκτημα της μεθόδου αυτής είναι ότι επιτυγχάνεται ασύρματη μεταφορά του ρεύματος στην περιοχή που πάσχει, ακόμα και πάνω από κεκαλυμμένη πληγή, ευκολία στη χρήση και διευκόλυνση της νοσηλείας του ασθενούς.

Λέξεις κλειδιά: wireless micro current stimulation, μικρορεύματα

1. Εισαγωγή

Σύμφωνα με την αρχή της ηλεκτρικής διέγερσης (electrical stimulation, ES) η εξωγενής μεταφορά του ρεύματος γίνεται μέσω της επιφάνειας δύο ηλεκτροδι-

ων, τα οποία βρίσκονται σε επαφή με την περιφέρεια της πληγής. Εξαιτίας, όμως, ορισμένων μειονεκτημάτων, όπως για παράδειγμα την πιθανότητα μόλυνσης, λόγω επαφής με το τραύμα, αλλά και τον πόνο που προ-

καλούσε, η τεχνολογία δεν αναπτύχθηκε και δεν γνώρισε την εφαρμογή που αναμένετο. Παρουσιάζεται ωστόσο μια νέα, καινοτόμος μέθοδος ηλεκτρικής διέγερσης, που ονομάζεται Wireless Micro Current Stimulation (WMCS), η οποία είναι ασύρματη και αποφεύγει την άμεση επαφή του τραύματος με ηλεκτρόδια.

2. Ασύρματη ηλεκτροδιέγερση με μικρορεύματα (WMCS)

Η WMCS μετατρέπει τα ατμοσφαιρικά αέρια (είτε οξυγόνο είτε άζωτο) σε ιόντα και τα «ψεκάζει» πάνω στον ιστό (**Εικ. 1**). Η WMCS αξιοποιεί την ικανότητα του φορτισμένου αέρα να μεταφέρει σε χαμηλή ατμοσφαιρική πίεση ηλεκτρικά φορτισμένα σωματίδια, χάρη στα ιόντα αζώτου (N_2^+) και οξυγόνου (O_2^-) που παράγει. Όταν εφαρμόζεται ασθενές ηλεκτρικό πεδίο συνεχούς ρεύματος στην ατμόσφαιρα, τα φυσικώς παραγόμενα N_2^+ μετακινούνται προς την κατεύθυνση του πεδίου και τα O_2^- προς την αντίθετη (η ροή των O_2^- έχει κατεύθυνση από τη συσκευή προς τον ασθενή). Όταν το O_2^- προσπίπτει σε μία αγώγιμη επιφάνεια, όπως το δέρμα, παύει να υπάρχει ως ιόν, μετατρέπεται σε μόριο O_2 και χάνει το αρνητικό του φορτίο. Το φορτίο αυτό είναι που τελικά επάγει ρεύμα στα σωματικά κύτταρα και υγρά. Στην ουσία, το O_2^- δεν εισέρχεται ποτέ στο σώμα.

2.1 Περιγραφή Συσκευής

Στην μέθοδο WMCS, η ηλεκτρική διέγερση πραγματοποιείται ασύρματα στο τραύμα, με βάση την ικανότητα του αζώτου και του οξυγόνου να δέχονται ή να δίνουν ηλεκτρόνια. Έτσι η ηλεκτρική διέγερση επιτυγχάνεται με «ψεκασμό» του ρεύματος από απόσταση, ενώ ένα ρυθμιζόμενο εύκαμπτο βραχιόλι (ουδέτερο ηλεκτρόδιο) εφαρμόζεται γύρω από ένα υγιή καρπό ή τον αστράγαλο του ασθενούς το οποίο κλείνει το κύκλωμα χωρίς φυσική επαφή με το τραύμα (**Εικ. 2**). Στην WMCS, η εξωγενής μεταφορά του ρεύματος γίνεται με εφαρμογή μικρορευμάτων. **Μικρορεύματα (MP) ή ρεύματα χαμηλής έντασης** θεωρούνται τα ρεύματα εκείνα που η έντασή τους είναι μικρότερη ή ίση του 1mA (1000μΑ). Είναι ρεύματα τελευταίας γενιάς, έχουν πολικότητα, περιλαμβάνουν τις κυματομορφές τόσο των συνεχών όσο και των εναλλασσόμενων ρευμάτων και διαθέτουν συχνότητα, διάρκεια παλμού, κυματομορφή και ένταση.

Η επουλωτική συσκευή WMCS τοποθετείται σε από-

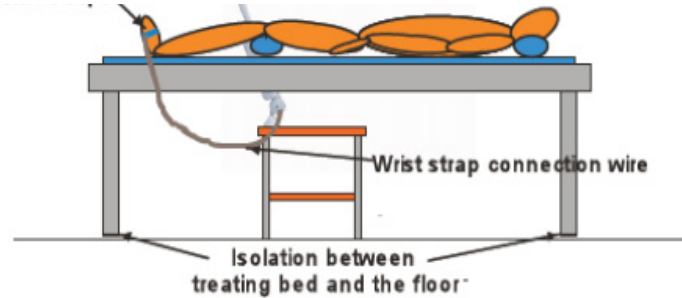


Εικόνα 1: Απεικόνιση της συσκευής WMCS κατά την διάρκεια λειτουργίας της

σταση 10 - 15 cm παράλληλα στην πληγή, και μέσω ενός οργάνου ελέγχου καταγράφεται ο ρυθμός έκθεσης και το συνολικό φορτίο που διέρχεται από το σώμα (**Εικ. 3**). Κατά τη διάρκεια της θεραπείας, ο ασθενής δε θα πρέπει να έρχεται σε επαφή με το έδαφος, προκειμένου να αποφευχθεί ο σχηματισμός συνεχούς κυκλώματος με όλο το σώμα. Η συχνότητα χρήσης και η διάρκεια κάθε θεραπείας ποικίλλει ανάλογα με τη περίπτωση και την έκταση του προβλήματος.

2.2 Επίδραση μικρορευμάτων στον οργανισμό

Η διεγερτική επίδραση των μικρορευμάτων δεν επιτυγχάνεται με την συνηθισμένη διαδικασία ενεργοποίησης των αισθητικών νευρώνων. Σε γενικές γραμμές, ο ερεθισμός που αυτά προκαλούν στηρίζεται στη μίμηση φυσικών βιολογικών φαινομένων, που λαμβάνουν χώρα κατά τον τραυματισμό και την επούλωση. Παραδείγματος χάριν, μιμούνται το φυσιολογικό ηλεκτρικό πεδίο, το ρεύμα τραύματος (ενδογενές ηλεκτρικό πεδίο), τη διέγερση του κυτταρικού μεταβολισμού και τα βιοηλεκτρικά πεδία που προάγουν την ανάπτυξη, τα οποία μπορούν να επιταχυνθούν, να διεγερθούν ή να υποκατασταθούν τεχνητά. Τα κύτταρα διεγείρονται άμεσα από το ρεύμα και αυξάνουν τον φυσιολογικό τους πολλαπλασιασμό, την κινητικότητα, τη μετανάστευση, την αγγειογένεση της περιοχής. Ακόμα, προωθείται η σύνθεση DNA και κολλαγόνου. Ταυτόχρονα, κατά τη διέγερση περιοχών τραύματος με Μικρορεύματα (MP), εμφανίζεται αύξηση στα επίπεδα των υποδοχέων του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFRs), του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGFRs) και των ιντεγκρινών.



Εικόνα 2: Απεικόνιση της κλινικής εφαρμογής της συσκευής



Εικόνα 3: Απεικόνιση της συσκευής κατά τη διάρκεια εφαρμογής της σε επούλωση έλκους



Εικόνα 4: Αποκατάσταση διαβητικού έλκους κάτω άκρου μετά από 45 μέρες



Εικόνα 5: Ταχεία αποκατάσταση έλκους χεριού μετά από 3 βδομάδες

2.3 Κυριότερες ενδείξεις - χρήσεις

Αποτελέσματα κλινικών και προκλινικών μελετών έχουν δείξει ότι η χρήση του WMCS έχει εντυπωσιακά αποτελέσματα στην διαδικασία επούλωσης τραυμάτων και άλλων ανοικτών πληγών. Συγκεκριμένα παρατηρήθηκε αξιοσημείωτη πρόοδος σε ασθενείς με χρόνια έλκη στα άκρα λόγω διαβήτη τύπου 2 ή φλεβικής ανεπάρκειας (**Εικ. 4, 5**). Διαπιστώθηκε ότι η ταχεία αποκατάσταση των ελκών οφείλεται στην επαγόμενη από την ηλεκτρική διέγερση αύξηση της αιματικής ροής και της συγκέντρωσης οξυγόνου γύρω από την πάσχουσα περιοχή.

3. Συμπεράσματα

Συνοψίζοντας θα λέγαμε ότι η WMCS αποτελεί μία πολλά υποσχόμενη θεραπευτική μέθοδος που χαρακτηρίζεται από πλεονεκτήματα όπως,

- Εξοικονόμηση πόρων ιατροφαρμακευτικής περίθαλψης
- Ταχεία ίαση χρόνιων ελκών και εγκαυμάτων
- Ανώδυνη για τον ασθενή θεραπεία
- Ελαχιστοποίηση κινδύνου μόλυνσης
- Κάλυψη μεγαλύτερης επιφάνειας πληγής
- Εύχρηστη μέθοδος
- Απουσία παρενεργειών **K**

Abstract

Clinical studies on the effect of electrical stimulation in wound healing and pain relief, led to the conclusion that the electrotherapy is one of the most effective non-invasive methods. An innovative methodology used today is the Wireless Micro Current Stimulation. This technique, with the utilization of microcurrent intensity 1-5 μ A and ions N_2^+ and O_2^- of the atmosphere, imitates the endogenous electric fields, accelerating the physiological healing process. The results are an increase in cell proliferation and collagen production and acceleration of skin regeneration. The advantage of this method is that a wireless transfer of current can be applied in the injured area, even when the wound is covered. As a result, easier use and patient care can be achieved.

Key words: microcurrent, wireless micro current stimulation

Βιβλιογραφία

1. E. Papadopoulos, O. Castana, G. Rempelos, D. Alexakis. Promotion of Pressure Ulcer Healing through Electrical Stimulation: A case study. Int J Low Extrem Wounds. 2007;6(3):176 - 229.
2. Wirsing P, Habrom A. Can WMCS (Wireless Microcurrent Stimulation) improve the treatment of chronic wounds? EWMA Conference. 2012, No P149.
3. Blatti M, Friedli S, Zehnder T. Use of a new method of Electrostimulation for hard-to-heal wounds. EWMA Conference. 2012, No P244
4. Castana O, Dimitrouli A, Argyrakos T, Theodorakopoulou E, Stampolidis N, Papadopoulos E, Pallantzas A, Stasinopoulos I and Poulas K. Wireless Electrical Stimulation: An Innovative Powerful Tool for the Treatment of a Complicated Chronic Ulcer, The International Journal of Lower Extremity Wounds; 2013, 12:18 - 21.
5. Ramadhinara A, Poulas K.. Use of wireless microcurrent stimulation for the treatment of diabetes-related wounds: 2 case reports, Adv Skin Wound Care; 2013, 26(1):1 - 4.

Μελέτη της διάχυσης ενός μακρομορίου διαμέσου ανθρώπινου δέρματος *in vitro* και της κατανομής του στη κεράτινη στοιβάδα

Ελένη Κοντογιαννίδου, Δημήτριος Φατούρος*

Εργαστήριο Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Πανεπιστημιούπολη, 54124 Θεσσαλονίκη

Περίληψη

Στη παρούσα εργασία μελετήθηκε η μεταφορά ενός μακρομορίου της ισοθιοκυανικής φλουορεσκεΐνης - δεξτράνης 4,4 kDa (FD-4) διαμέσου ιστού ανθρώπινου δέρματος και η κατανομή αυτής στη κεράτινη στοιβάδα. Μετά τη διεξαγωγή της μελέτης διάχυσης ακολούθησε η τεχνική *tape-stripping* σε μια προσπάθεια να εξετασθεί η κατανομή της FD-4 στην κεράτινη στοιβάδα, ενώ η ακεραιότητα της αντί των FD-4 εκτιμήθηκε με φασματοσκοπία φθορισμού. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η διάχυσης μέσω του δέρματος της FD-4 ήταν μικρή. Σημαντικά μεγαλύτερες ποσότητες της FD-4 συσσωρεύτηκαν στην κεράτινη στοιβάδα, όπως προκύπτει από τη μέθοδο του *tape-stripping*. Τέλος, η αποικοδόμηση του FD-4 μέσα στο δέρμα ήταν αμελητέα. Η γνώση σχετικά με διάχυση στο δέρμα είναι χρήσιμη για τη βελτιστοποίηση καλλυντικών που περιέχουν μακρομόρια (π.χ. υαλουρονικό οξύ, κολλαγόνο).

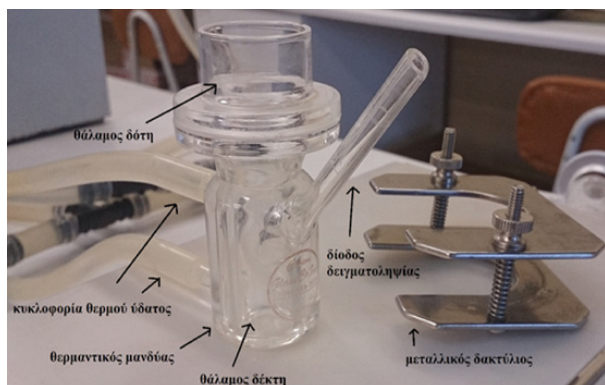
Λέξεις - κλειδιά: διαδερμική χορήγηση, μακρομόρια, *tape stripping*, φθορισμομετρία

1. Εισαγωγή

Το δέρμα καλύπτει όλη την εξωτερική επιφάνεια του σώματος σαν ελαστική ασπίδα. Η εξωτερική στοιβάδα του δέρματος καλείται κεράτινη στοιβάδα (SC) και λειτουργεί ως φραγμός ενάντια σε οποιαδήποτε εισβολή από μικροοργανισμούς, ιούς, τοξικές χημικές ουσίες, ενάντια στη ζέστη ή σε μηχανική επίθεση¹.

Η διάχυση μορίων μέσω του δέρματος απαιτεί ουσίες με μοριακό βάρος μικρότερο από 500 Da και

μέτριο βαθμό λιποφιλικότητας (επαρκή μερισμό μεταξύ οκτανόλης - νερού 10-1000)^{2,3}. Με δεδομένο ότι στα καλλυντικά σκευάσματα η παρουσία μακρομορίων είναι αρκετά συχνή (π.χ. υαλουρινικό οξύ, κολλαγόνο κ.τ.λ.) είναι σημαντικό να γνωρίζουμε την κατανομή (profile) αυτών των μακρομορίων στη κεράτινη στοιβάδα και στην επιδερμίδα. Στη παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκε μια μακρομοριακή ένωση η ισοθιοκυανική φλουορεσκεΐνη - δεξτράνη 4,4 kDa



Εικόνα 1: Διάταξη κελιών διάχυσης Franz

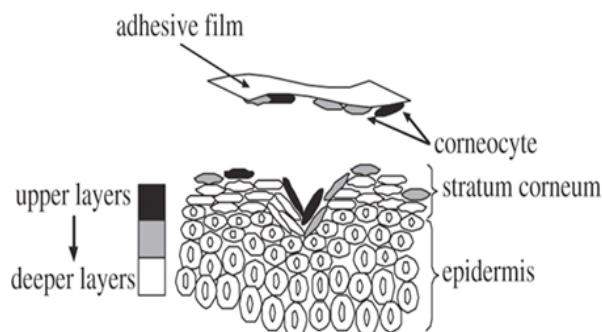
(FD-4) και μελετήθηκε η κατανομή αυτής στην κεράτινη στοιβάδα ανθρώπινου δέρματος καθώς και η διάχυση της μέσω αυτού.

2. Υλικά - Μέθοδοι

Οι πρώτες ύλες που χρησιμοποιήθηκαν για την διεξαγωγή των πειραμάτων ήταν αναλυτικού βαθμού καθαρότητας. Συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκαν η ισοθειοκυανική φλουορεσκεΐνη - δεξτράνη (FITC-Dextran) με μοριακό βάρος 4,400 Da, [Sigma Aldrich, Germany]. Για την παρασκευή του ρυθμιστικού διαλύματος PBS (phosphate buffer saline, pH 7.4) χρησιμοποιήθηκαν τα ακόλουθα άλατα: 8 g NaCl, 0.2 g KCl, 0.24 g KH_2PO_4 , 1.44 g Na_2HPO_4 σε 1L απεσταγμένο H_2O , και έγινε προσαρμογή του pH στην τιμή 7.4 με διάλυμα HCl συγκέντρωσης 1M. Κολητική ταινία (Scotch® Magic™ Tape 810, 3M France) χρησιμοποιήθηκε για τη μέθοδο tape stripping.

2.1 In vitro μελέτη της διαπερατότητας του δέρματος

Για την διεξαγωγή των *in vitro* πειραμάτων χρησιμοποιήθηκαν στατικά κελιά διάχυσης (vertical diffusion cells), γνωστά ως Franz cells (με εμβαδόν διάχυσης 4.91cm^2) (Εικόνα 1). Ποσότητα 15 mL, προθερμασμένου στους 32°C , ρυθμιστικού διαλύματος PBS pH 7.4 προστέθηκε στον δέκτη (acceptor phase), εντός του οποίου ήταν τοποθετημένος μικρού μεγέθους μαγνητικός αναδευτήρας. Εν συνεχεία, τοποθετήθηκε ο ιστός στην επιφάνεια του κελιού, με τέτοιο τρόπο ώστε η κεράτινη στοιβάδα να προσανατολίζεται



Εικόνα 2: Σχηματική αναπαράσταση της τεχνικής tape-stripping⁴

προς τον δότη (donor phase). Η μαγνητική ανάδευση εντός του θαλάμου-δέκτη ήταν ήπια (200 rpm) για την αποφυγή σχηματισμού φυσαλίδων. Στη συνέχεια προστέθηκε 200μM FITC - Dextran σε 1 mL PBS στο θάλαμο-δότη. Δειγματοληψία 700 μL από το ρυθμιστικό διάλυμα του θαλάμου-δέκτη έγινε για τις χρονικές στιγμές των 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 21 και 24 ωρών, ενώ γινόταν αντικατάσταση με ίσο όγκο φρέσκου και προθερμασμένου διαλύματος PBS. Κατά τη διάρκεια των 24 ωρών η θερμοκρασία διατηρήθηκε στους 32°C και η μελέτη διαπερατότητας έγινε τουλάχιστον 6 φορές ($n \geq 6$). Το ανθρώπινο δέρμα που χρησιμοποιήθηκε ήταν από πλαστικές επεμβάσεις κοιλίας, ύστερα από επεξεργασία αφαίρεσης του υποδόριου λίπους με τη βοήθεια νυστεριού. Το δέρμα χρησιμοποιήθηκε εντός 24 ωρών από τη λήψη του.

Ο ποσοτικός προσδιορισμός της FD - 4 στα συλλεχθέντα δείγματα πραγματοποιήθηκε με φθορισμομετρία. Τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν και το υπερκείμενο υγρό τοποθετήθηκε σε κυψελίδα προς ανάλυση. Η ένταση φθορισμού των δειγμάτων μετρήθηκε στο φθορισμόμετρο με μήκη κύματος διεγερσης και εκπομπής 492 nm και 518 nm αντίστοιχα. Η καμπύλη αναφοράς της FD - 4 εμφάνισε ικανοποιητική γραμμικότητα ($r^2=0,999$) σε εύρος συγκεντρώσεων 0,006-0,125μM.

2.2 Tape - stripping

Το tape stripping είναι μία μέθοδος απομάκρυνσης της κεράτινης στοιβάδας από επαναλαμβανόμενη εφαρμογή αυτοκόλλητης ταινίας. Η ποσότητα της κε-

ράτινης στοιβάδας που αφαιρείται με μία μόνο ταινία εξαρτάται από το πάχος της κεράτινης στοιβάδας, την ηλικία του ασθενούς, τη σύνθεση και την ποσότητα λιπιδίου που ποικίλλει ανάλογα με την ανατομική θέση και τέλος παραμέτρους του δέρματος, όπως απώλεια νερού και pH (**Εικόνα 2**).

Μετά από την μελέτη διαπέρασης αφαιρέθηκε η κεράτινη στοιβάδα από τους ιστούς του δέρματος, με σκοπό να αξιολογηθεί η διείσδυση της δραστικής ουσίας στις διάφορες στοιβάδες του δέρματος. Είκοσι αυτοκόλλητες ταινίες (20 strips ≈stratum corneum) πιέστηκαν με την βοήθεια ενός κυλίνδρου για 5 φορές μπρος πίσω, ώστε να κολλήσουν καλά πάνω στο δέρμα. Έπειτα, οι ταινίες τραβήχτηκαν γρήγορα με μία κίνηση και βυθίστηκαν σε φιαλίδια τα οποία ήταν διαχωρισμένα σε 7 κλάσματα ως εξής: 1 (strip 1), 2 (strips 2-3), 3 (strips 4-5), 4 (strips 6-8), 5 (strips 9-12), 6 (strips 13-16) και 7 (strips 17-20). Τα φιαλίδια περιείχαν 2mL διαλύματος PBS και η δραστική ουσία εκχυλίστηκε με τη χρήση λουτρού υπερήχων για 1h και μετρήθηκαν στο φθορισμόμετρο⁶. Για την τεχνική του tape-stripping χρειάστηκε να γίνει νέα καμπύλη αναφοράς της FD - 4 και για να διαπιστωθεί η αποτελεσματικότητα της εκχύλισης, διαλύματα των συγκεκριμένων συγκεντρώσεων συγκρίθηκαν με τα διαλύματα της εκχύλισης των ταινιών. Η αποτελεσματικότητα της εκχύλισης ήταν περίπου 95 %.

2.2 Ανάλυση των αποτελεσμάτων διαπέρασης

Ο ρυθμός διέλευσης σε κατάσταση ισορροπίας (steady-state flux), J_{ss} ($\mu\text{g cm}^{-2} \text{h}^{-1}$), υπολογίστηκε με βάση την εξίσωση:

$$J_{ss} = Q / A t \quad (1)$$

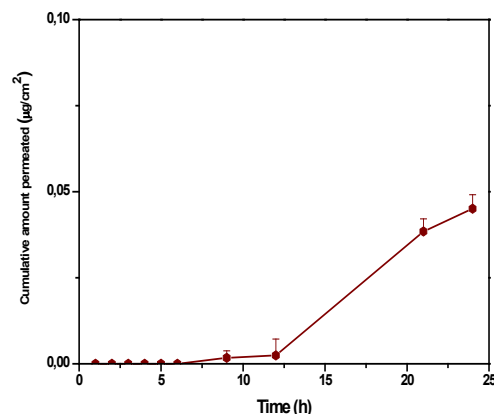
όπου:

Q = αθροιστική ποσότητα της δραστικής ουσίας που διαπερνά το δέρμα (μg)

A = εμβαδόν της επιφάνειας διάχυσης (cm^2)

t = χρόνος (h)

Η τιμή της παραμέτρου J_{ss} υπολογίστηκε από την κλίση της ευθείας που προέκυψε κατά την παράσταση των δεδομένων της ποσότητας της δραστικής ουσίας που διαπέρασε το δέρμα ανά μονάδα επιφάνειας ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) έναντι του χρόνου (h).



Σχήμα 1: Συνολική ποσότητα ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) FD-4 μέσω του δέρματος μετά από 24 ώρες ($n=6$)

Η σχετική σταθερά διαπερατότητας, P_{app} (cm/h) υπολογίστηκε με βάση την εξίσωση:

$$P_{app} = J_{ss} / C_d \quad (2)$$

όπου:

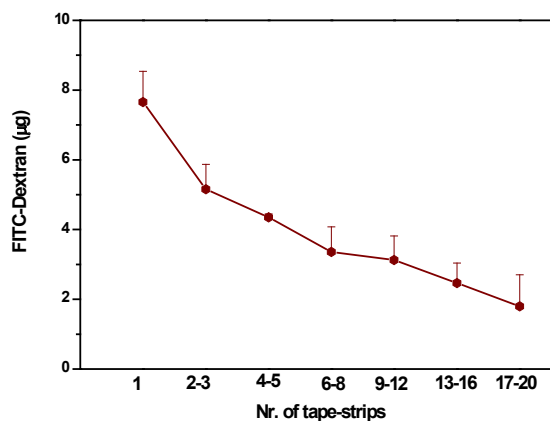
C_d = συγκέντρωση της δραστικής ουσίας στο θάλαμο-δότη.

2.4 Ακεραιότητα του μακρομορίου στο δέρμα

Η ακεραιότητα της FD-4 μελετήθηκε με φασματοσκοπία φθορισμού μετρώντας το φθορισμό ενός μητρικού διαλύματος FD-4 (stock solution) καθώς και το φθορισμό δειγμάτων από τον δότη (donor phase) και τον δέκτη ενός κελιού διάχυσης μετά το τέλος ενός πειράματος διάχυσης (acceptor phase).

3. Αποτελέσματα

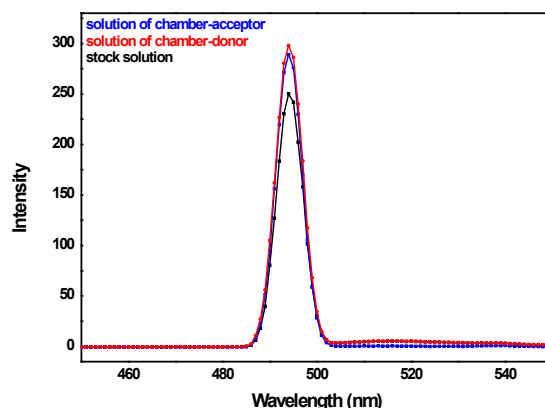
Στο **σχήμα 1** παρουσιάζεται το ποσό του FD-4 το οποίο πέρασε από το ανθρώπινο δέρμα μετά από 24 ώρες. Η ροή σε σταθερή κατάσταση (steady state flux) και ο συντελεστής διαπερατότητας (permeability coefficient) ήταν αντίστοιχα $J_{ss} = 0.0034 \pm 0.0003$ ($\mu\text{g}/\text{cm}^2 \text{h}^{-1}$) και $P = 0.43 \pm 0.04 \times 10^{-5}$ (cm/h). Παρατηρήθηκε ένας χρόνος υστέρησης (lag time) περίπου 11 ωρών. Η ποσότητα που διαπερνά το δέρμα είναι πολύ μικρή μόλις $0.045 \mu\text{g}$ από τα αρχικά $800 \mu\text{g}$ που χορηγήθηκαν σε συμφωνία με προηγούμενες μελέτες⁶.



Σχήμα 2: Ποσό διαπεράσεως της δραστικής ουσίας σε αναλογία με τον αριθμό των κλασμάτων των tape-strips (n=3)

Με σκοπό να αξιολογηθεί η διείσδυση της δραστικής ουσίας στις διάφορες στοιβάδες του δέρματος, εφαρμόστηκε η τεχνική του tape-stripping. Στο **σχήμα 2** εμφανίζεται το ποσό της FD-4 που βρίσκεται στην επιδερμίδα.

Όπως ήταν αναμενόμενο, όσο ο αριθμός των κλασμάτων αυξάνεται, η ποσότητα της FD-4 μειώνεται, κάτι το οποίο φανερώνει την δυσκολία της δραστικής ουσίας να διαπεράσει την κεράτινη στοιβάδα του δέρματος. Για παράδειγμα η ποσότητα της FD-4 στο πρώτο κλάσμα είναι 7.6 μg στο δεύτερο κλάσμα περίπου 5 μg ενώ φθάνοντας στα τελευταία κλάσματα (17-20 κοντά στην επιδερμίδα) το ποσό μειώνεται σε 2 περίπου μg. Αξιοσημείωτο είναι ότι η ποσότητα της FD-4 η οποία συσσωρεύεται στην κεράτινη στοιβάδα είναι πολύ υψηλότερη σε σχέση με την ποσότητα φαρμάκου που έχει περάσει από το δέρμα μετά από 24 ώρες.



Σχήμα 3: Φάσματα της FD-4 μετά το τέλος ενός πειράματος διάχυσης.

Τέλος εξετάστηκε πιθανή αποικοδόμηση της FD-4 κατά τη μέλετη διάχυσης διαμέσου του δέρματος. Για το σκοπό αυτό η ακεραιότητα της FD-4 πιστοποιήθηκε με φθορισμομετρία. Στο σχήμα 3 τα φάσματα του διαλύματος γνωστής συγκέντρωσης και των διαλυμάτων του θαλάμου δέκτη και δότη, αποδεικνύουν ότι η δραστική ουσία μεταφέρεται σχεδόν άθικτη μέσω του δέρματος καθώς όλα τα φάσματα σχεδόν ταυτίζονται⁷.

4. Συμπεράσματα

Η παρούσα μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί για άλλα μακρομόρια, που παρουσιάζουν ενδιαφέρον για κοσμετολογικά προϊόντα. Η γνώση σχετικά με τη διάχυση αυτών των μακρομορίων στο δέρμα είναι χρήσιμη για τη βελτιστοποίηση καλλυντικώνσκευασμάτων για τη στόχευση συγκεκριμένων στοιβάδων ή κυττάρων στο ανθρώπινο δέρμα. **K**

Abstract

The objective of this study was to provide insight into the administration of a model macromolecule namely; fluorescein isothiocyanate - dextran 4,4 kDa (FD-4) into the skin. Transport studies were conducted across full thickness human skin. Tape stripping followed the transport studies in an attempt to examine the disposition of FD-4 on and within the skin whereas the integrity of FD-4 was assessed by fluorescence spectroscopy. The results shown that the transport of FD-4 was low across skin membrane. Significantly higher amounts of the drug were accumulated to the stratum corneum as evident from the tape-stripping method. Finally, the degradation of the FD-4 into the skin was negligible. The knowledge about diffusion in the skin is useful to optimize cosmetics containing macromolecules (e.g. hyaluronic acid, collagen).

Key words: transdermal delivery, tape-stripping macromolecules, fluorescence spectroscopy

Βιβλιογραφία

1. Barry B.W., Dermatological formulations: Percutaneous Absorption, Marcel Dekker Inc. New York, 1983
2. Brown M.B., Martin, G.P., Jones, S.A., Akomeah, F.K., Dermal and transdermal drug delivery systems: current and future prospects, Drug Deliv 13 (3), 175-187, 2006
3. Thong HY., Zhai H., Maibach H.I., Percutaneous penetration enhancers: an overview, Skin Pharmacol Physiol, 20 (6), 272-282, 2007
4. Pailler-Mattei C., C. Guerret-Piécourt, H. Zahouani, S. Nicoli, Interpretation of the human skin biotribological behaviour after tape stripping, J. R. Soc. Interface 8, 934-941, 2011
5. Honeywell-Nguyen L. "Surfactant-based elastic vesicles as skin delivery" vehicles, 2004, Thesis, Leiden University
6. Ogiso T., Paku T., Iwaki M., Tanino T., Percutaneous penetration of fluorescein isothiocyanate-dextran and the mechanism for enhancement effect of enhancers on the intercellular penetration, Biol Pharm Bull 18 (11), p. 1566-1571, 1995
7. Verbaan F.J., Bal S.M., Van den Berg, Dijkman J.A., M. van Hecke, Verpoorten H., Luttge R., Bouwstra J.A., Improved piercing of microneedle arrays in dermatomed human skin by an impact insertion method, J Controlled Release 128, 80-88, 2008

Μελέτη της συμβολής των νανογαλακτωμάτων στη σταθερότητα και την ενδοδερμική διείσδυση του UV-φίλτρου avobenzone

Χ. Χαμαλάκη¹, Π. Κλεπετσάνης², Α. Αυγουστάκης¹, Σ. Χατζηαντωνίου¹ *

¹Εργαστήριο Φαρμακευτικής Τεχνολογίας και ²Εργαστήριο Φυτικοφαρμακευτικής, Τμήμα Φαρμακευτικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Πατρών, Τ.Κ. 265 04, Ρίο Πατρών

Περίληψη

Στην παρούσα μελέτη παρουσιάζεται η παρασκευή και ο χαρακτηρισμός συμβατικών και νανογαλακτωμάτων, στα οποία ενσωματώνονται φίλτρα UV ακτινοβολίας. Σκοπός της εργασίας ήταν η μελέτη της σταθερότητας του φίλτρου Avobenzone σε συμβατικά και νανογαλακτώματα παρουσία του Ethylhexylmethoxy Cinnamate και η αξιολόγηση in-vivo της ενδοδερμικής διείσδυσής του.

Παρασκευάστηκε ένα συμβατικό γαλάκτωμα τύπου o/w και το αντίστοιχο νανογαλάκτωμα μετά από τον εγκλωβισμό του μίγματος των φίλτρων Avobenzone, Ethylhexylmethoxy Cinnamate και Octyltriazone στην ελαιώδη φάση. Ως μάρτυρες παρασκευάστηκαν συμβατικά γαλακτώματα ίδιας σύστασης χωρίς UV-φίλτρα. Η κατανομή του μεγέθους των σωματιδίων της διεσπαρμένης φάσης στα συμβατικά γαλακτώματα μετρήθηκε με στατικό σκεδασμό του φωτός (Static Light Scattering), ενώ στα νανογαλακτώματα με δυναμικό και ηλεκτροφορητικό σκεδασμό του φωτός (Dynamic and Electrophoretic Light Scattering). Η σταθερότητα των γαλακτωμάτων μελετήθηκε σε διαφορετικές συνθήκες φύλαξης (25 °C, 4 °C και 45 °C), ενώ τόσο το συμβατικό όσο και το νανογαλάκτωμα υποβλήθηκαν σε επιταχυνόμενη γήρανση (τρεις κύκλοι εναλλαγής μεταξύ θέρμανσης (45 °C) και ψύξης (25 °C)) και φυγοκέντρηση (2000 rpm, 30 min). Για την αξιολόγηση της σταθερότητας των γαλακτωμάτων, οι παράμετροι που μετρήθηκαν ήταν η κατανομή του μεγέθους και της ομοιομορφίας και το ζ-δυναμικό των σωματιδίων της διεσπαρμένης φάσης σε προκαθορισμένα χρονικά διαστήματα (1, 8, 15, 30, 60 και 90 ημέρες). Ο ποσοτικός προσδιορισμός του φίλτρου Avobenzone έγινε με φασματοσκοπία υπεριώδους - ορατού. Στη συνέχεια, μελετήθηκε η σταθερότητα του φίλτρου Avobenzone τόσο στο συμβατικό όσο και στο νανογαλάκτωμα ύστερα από ακτινοβολήση των αντίστοιχων δειγμάτων. Η ενδοδερμική διείσδυση του αντιηλιακού φίλτρου Avobenzone αξιολογήθηκε με την τεχνική αποκόλλησης αυτοκόλλητης ταινίας (tape-stripping) προσδιορίζοντας το φίλτρο Avobenzone σε προκαθορισμένα χρονικά διαστήματα μετά από εφαρμογή των δειγμάτων σε υγιείς εθελοντές.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το νανογαλάκτωμα είναι πιο σταθερό από το αντίστοιχο συμβατικό, με καλύτερη

ΣΥΓΓΡΑΦΕΑΣ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑΣ: Σ. Χατζηαντωνίου, Εργαστήριο Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Πατρών, Τ.Κ. 265 04, Ρίο Πατρών, Tel. : 2610 962319, E - mail: sohatzi@upatras.gr

σταθερότητα να επιτυγχάνεται στους 4 °C. Ο εγκλωβισμός σε νανογαλάκτωμα οδηγεί σε αυξημένη φυσική σταθερότητα ενώ παράλληλα προστατεύει το φίλτρο Avobenzone από φωτοαποικοδόμηση, αλλά αυξάνει την ποσότητα και το βάθος διείσδυσης του φίλτρου στην κερατίνη στοιβάδα.

Λέξεις κλειδιά: νανογαλακτώματα, αβοβενζόνη, σταθερότητα, τεχνική αποκόλλησης αυτοκόλλητης ταινίας, ενδοδερμική διαπερατότητα

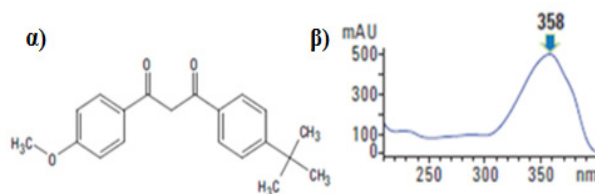
1. Εισαγωγή

Για την εξασφάλιση της βέλτιστης δυνατής φωτοπροστασίας κρίνεται επιτακτική η ανάγκη για ανάπτυξη πιο αποτελεσματικών αντιηλιακών προϊόντων.

Τα οργανικά φίλτρα υπεριώδους ακτινοβολίας (UV - φίλτρα) είναι ενώσεις που έχουν ενσωματωθεί σε αντιηλιακά σκευάσματα με σκοπό την απορρόφηση συγκεκριμένων μηκών κύματος της υπεριώδους ακτινοβολίας. Η υψηλή ικανότητα των UV - φίλτρων να απορροφούν τις υπεριώδεις ακτίνες πρέπει να διατηρείται σταθερή καθ' όλη τη διάρκεια έκθεσης στον ήλιο, προκειμένου να επιτευχθεί η αναμενόμενη για το εμπορικό αντιηλιακό προϊόν φωτοπροστασία.

Η Αβοβενζόνη (AVO) ($C_{20}H_{22}O_3$) είναι μία λιποδιαλυτή, αρωματική β - δικετόνη, παράγωγο του διβενζοϋλομεθανίου ($C_6H_5COCH_2COC_6H_5$). Επειδή απορροφά σε συνολικά ευρύτερη περιοχή (UV - A και UV - B) ακτινοβολίας κατατάσσεται στα UV - φίλτρα ευρέος φάσματος (broad spectrum sunscreens) (**Εικ. 1**). Λόγω της ιδιότητας αυτής, η AVO χρησιμοποιείται ευρύτατα στα αντιηλιακά προϊόντα παρά το γεγονός ότι χαρακτηρίζεται από υψηλή αστάθεια στο φως και η έκθεσή του στην υπεριώδη ακτινοβολία συχνά οδηγεί σε αποικοδόμηση/διάσπαση του φίλτρου. Τα προϊόντα φωτοαποικοδόμησής του έχουν συσχετισθεί με πολλές αλλεργικές και κυτταροτοξικές αντιδράσεις. Η φωτοχημική του συμπεριφορά έχει μελετηθεί εκτεταμένα.

Έχουν διερευνηθεί αρκετές στρατηγικές με σκοπό τη βελτίωση της σταθερότητας της AVO. Έτσι για την επίτευξη φωτοσταθερότητας, σε συνδυασμό με άλλα UV - φίλτρα ή με σταθεροποιητές. Οι σταθεροποιητές είναι ουσίες που δρουν ως καταστολείς και συμβάλλουν στη φωτοσταθεροποίηση των UV - φίλτρων. Συνηθέστερα χρησιμοποιούμενοι φωτοσταθεροποιητές είναι οι εξής: methylbenzyliden camphor, 2,6 - diethylhexyl

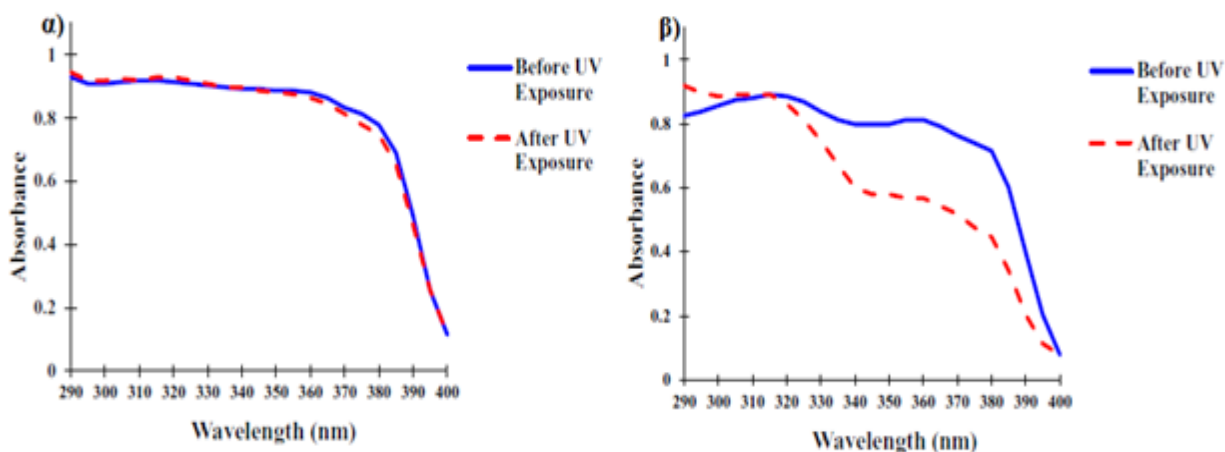


Εικόνα 1. Χημική δομή (α) και φάσμα απορρόφησης (β) του φίλτρου Avobenzone (Μέγιστη απορρόφηση στα 358 nm). ¹ Η Αβοβενζόνη ($C_{20}H_{22}O_3$) είναι μία λιποδιαλυτή, αρωματική β-δικετόνη, παράγωγο του διβενζοϋλομεθανίου ($C_6H_5COCH_2COC_6H_5$)

naphthalate, diethylhexyl syringylidene malonate, bis - ethylhexyloxyphenol methoxyphenyltriazine, Trimethoxy Dimethyl Pentanedion καθώς και το φίλτρο Octocrylene. Για παράδειγμα, ο συνδυασμός AVO - Octocrylene (2 - Cyano - 3,3 - diphenyl acrylic acid) (**Εικ. 2α**) επιτυγχάνει αύξηση της φωτοσταθερότητας της AVO, πιο αποτελεσματικά σε σχέση με το συνδυασμό του με μεθυλοβενζυλιδενοκαμφορά (4 - Methylbenzylidene Camphor).

Ωστόσο, οι σταθεροποιητές, δεν εξαλείφουν ολοκληρωτικά τα προβλήματα σταθερότητας και επιπλέον είναι ακριβά και παράλληλα δύσκολο να ενσωματωθούν στα τελικά προϊόντα^{2,3}. Ως εκ τούτου, κρίνεται επιτακτική η ανάγκη για μορφοποίηση νέων συστημάτων που να παρουσιάζουν βελτιωμένη φωτοσταθερότητα του συνδυασμού των UV - φίλτρων^{2,4}.

Στις περισσότερες χώρες τόσο η AVO όσο και το UVB - φίλτρο Octylmethoxycinnamate (INCI: Ethylhexylmethoxy cinnamate, OCT) κυριαρχούν στην κατάταξη των δημοφιλέστερων φίλτρων της αγοράς λόγω του χαμηλού τους κόστους και της καλής συμβατότητας με πολλά συστατικά⁵. Για το λόγο αυτό, χρησι-



Εικόνα 2. αμπίλες απορρόφησης: φωτοσταθερός συνδυασμός 10% Octocrylene+ 2% AVO σε ο/ω αντιηλιακό σκεύασμα α) και φωτοσταθής συνδυασμός 7.5% OCT + 2% AVO σε ο/ω αντιηλιακό σκεύασμα β) πριν και μετά την ακτινοβολήση¹

μπορούνται συχνά σε πολλά προϊόντα επειδή βελτιώνουν τη σταθερότητά τους, μέσω της παρεμπόδισης της φωτοαποικοδόμησης των συστατικών τους. Οι δύο αυτοί αντιηλιακοί παράγοντες εξασφαλίζουν προστασία από τις επιβλαβείς ακτίνες σε όλο το εύρος της UVA και UVB ακτινοβολίας, γεγονός που καθιστά ιδιαίτερα ενδιαφέροντα το συνδυασμό τους στο ίδιο σκεύασμα⁶. Μάλιστα, ο πιο συχνά χρησιμοποιούμενος συνδυασμός UV - φίλτρων θεωρείται αυτός των AVO και OCT επειδή ο συνδυασμός τους παρέχει υψηλή προστατευτική δράση και αποδεδειγμένη πρόληψη κατά του καρκίνου του δέρματος και της φωτογήρανσης².

Ωστόσο, είναι γνωστό ότι ο συνδυασμός αυτός των αντιηλιακών φίλτρων παρουσιάζει φωτοαστάθεια (**Εικ. 2β**). Μάλιστα, η φωτοχημική αδρανοποίηση που προκαλεί αποτελεί περιοριστικό παράγοντα για τη μορφοποίησή τους σε φωτοσταθερά ευρέος φάσματος αντιηλιακά προϊόντα. Ο συνηθέστερος τρόπος βελτίωσης της σταθερότητας του συνδυασμού AVO - OCT ύστερα από έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία βασίζεται στην προσθήκη φωτο - σταθεροποιητικών παραγόντων.

Ένα ιδανικό αντιηλιακό σκεύασμα θα πρέπει να εξασφαλίζει τη πλήρη διαλυτοποίηση των UV - φίλτρων που περιέχει, να προστατεύει το ευαίσθητο στην φωτοαποικοδόμηση φίλτρο (AVO), να επιτυγχάνει την αποδέσμευση των φίλτρων στην κεράτινη στοιβάδα

(SC) και την παραμονή τους εκεί για μεγάλο χρονικό διάστημα, καθώς και να αποτρέπει τη διείσδυση τους διαμέσου του δέρματος στη συστηματική κυκλοφορία. Για το σκοπό αυτό, συνίσταται ο εγκλωβισμός τους σε νανογαλάκτωμα⁶.

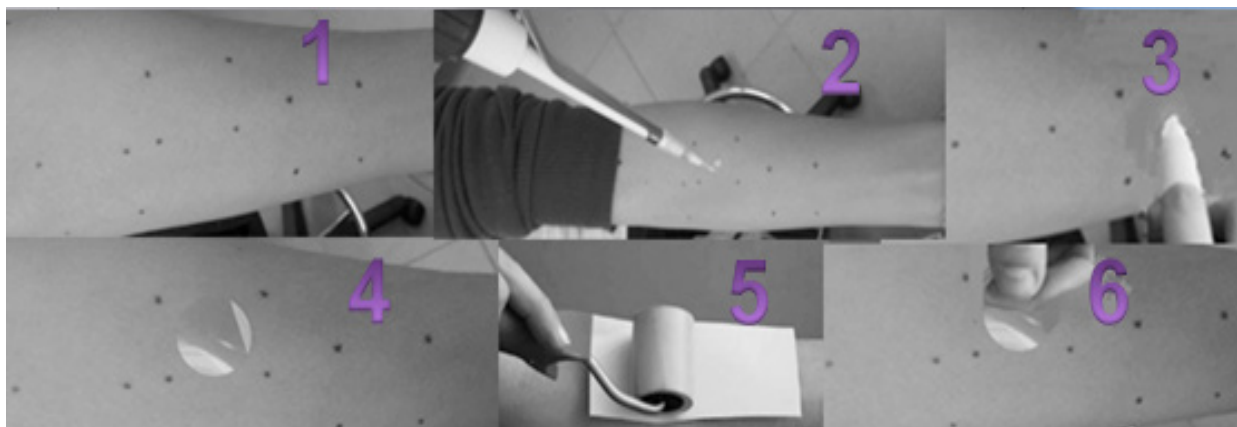
Η παρούσα εργασία είχε ως σκοπό τη μελέτη της επίδρασης της ενσωμάτωσης του φίλτρου Anobenzzone σε νανοφορείς στη χημική του σταθερότητα, καθώς και την αξιολόγηση της ενδοδερμικής διείσδυσής του.

Έτσι, παρασκευάστηκε ένα νανογαλάκτωμα (NE) καθώς και το αντίστοιχο συμβατικό γαλάκτωμα (CE) τύπου ο/ω στην ελαιώδη φάση των οποίων ενσωματώθηκαν τα φίλτρα AVO, OCT και OTZ. Ως μάρτυρας παρασκευάστηκε NE και CE, τα οποία δεν περιείχαν UV - φίλτρα. Ακολούθησε ο φυσικοχημικός χαρακτηρισμός των δειγμάτων καθώς και η μελέτη σταθερότητας τους. Τέλος, το βάθος διείσδυσης και η κινητική αποδέσμευσης του αντιηλιακού φίλτρου AVO αξιολογήθηκε in vivo σε υγιείς εθελοντές, με την τεχνική αποκόλλησης ταινίας (tape - stripping).

2. Υλικά - Μέθοδοι

2.1. Υλικά

Ως συστατικά της λιπαρής φάσης των γαλακτωμάτων χρησιμοποιήθηκε μίγμα Softisan® 110 (Hydrogenated Coco - Glycerides, Sasol Germany GmbH), Crodamol™ GTCC/ Miglyol® 812 C (Caprylic/Capric Triglyceride,



Εικόνα 3. Βήματα της τεχνικής αποκόλλησης ταινίας (tape-stripping): Σημάδεμα των περιοχών εφαρμογής των γαλακτωμάτων (1), εφαρμογή του γαλακτώματος στις σημειωμένες περιοχές του δέρματος (2), άπλωμα με ελαφρά κίνηση δακτύλου μέχρι πλήρους ενσωμάτωσης του γαλακτώματος (3), τοποθέτηση αυτοκόλλητης ταινίας (4), ομοιόμορφη πίεση της ταινίας με κύλινδρο 10 φορές, αφού προηγήθηκε τοποθέτηση ενός φύλλου χαρτιού πάνω από την ταινία προς αποφυγή αποκόλλησής της (5), αφαίρεση της ταινίας (6)

Croda). Τα UV - φίλτρα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν: AVO (Parsol® 1789, DSM Nutritional Products, Ltd), OCT (Neo Heliopan® AV, Symrise), OTZ (Uvinul® T 150, BASF Care Creations). Ως γαλακτωματοποιητές χρησιμοποιήθηκαν: Lecithin, (Emulmetik™ 900 Lucas Meyer Cosmetics, France), Macrogol 15 Hydroxystearate (Solutol HS® 15, Basf, Germany). Ως υδατική φάση χρησιμοποιήθηκε ενέσιμο ύδωρ (Water for injection, Fresenius Kabi, Hellas). Όλα τα υλικά ήταν φαρμακευτικής ή καλλυντικής καθαρότητας (pharmaceutical, cosmetic grade).

2.2 Παρασκευή δειγμάτων

2.2.1 Παρασκευή συμβατικών γαλακτωμάτων

Τα συστατικά της ελαιώδους φάσης (Πιν. 1) τέχθηκαν σε υδατόλουτρο (60 - 70 °C). Τα UV - φίλτρα ενσωματώθηκαν στα συστατικά της λιπαρής φάσης, ενώ παρασκευάστηκαν μάρτυρες χωρίς UV - φίλτρα (CEm). Η υδατική φάση θερμάνθηκε στην ίδια θερμοκρασία και ακολούθησε γαλακτωματοποίηση υπό ανάδευση σε μαγνητικό αναδευτήρα. Η ανάδευση συνεχίστηκε μέχρι το γαλάκτωμα να φτάσει σε θερμοκρασία δωματίου. Το γαλάκτωμα αφέθηκε σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 24h ώστε να έλθει σε κατάσταση ισορροπίας πριν πραγματοποιηθούν οι δοκιμασίες σταθερότητας⁷.

2.2.2 Παρασκευή νανογαλακτωμάτων

Τα NE αντίστοιχης σύστασης με τα συμβατικά παρασκευάστηκαν με υπερήχηση, σε ακίδα υπερήχων (Sonics, Vibra Cell™, U.S.A) (Amplitude: 83%) για 4 κύκλους των 30sec υπό έντονη ανάδευση σε κυκλοαναδευτήρα. Μετά το πέρας των 4 κύκλων υπερήχησης, η ανάδευση συνεχίστηκε μέχρι το νανογαλάκτωμα να φτάσει σε θερμοκρασία δωματίου. Τέλος, το νανογαλάκτωμα παρέμεινε για 24h σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για εξισορρόπηση⁸. Επίσης παρασκευάστηκαν μάρτυρες χωρίς UV - φίλτρα (NEm).

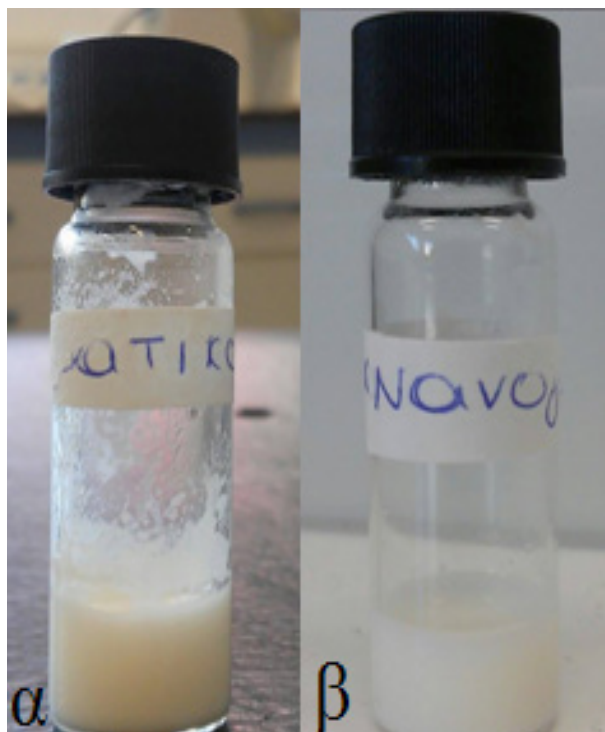
2.3 Φυσικοχημικός χαρακτηρισμός

2.3.1 Οπτικό μικροσκόπιο

Η πορεία της γαλακτωματοποίησης των συμβατικών γαλακτωμάτων παρακολουθήθηκε με οπτικό μικροσκόπιο (Leica, Germany).

2.3.2 Προσδιορισμός μεγέθους σταγονιδίων συμβατικών γαλακτωμάτων

Για τη μέτρηση του μεγέθους των σταγονιδίων της διεσπαρμένης φάσης των CE χρησιμοποιήθηκε συσκευή σκέδασης φωτός (Mastersizer S, Malvern, UK). Τα δείγματα αραιώθηκαν με ενέσιμο ύδωρ μέχρι η θολρότητα να πάρει τιμή μεταξύ 12% - 30%. και μετρήθηκε η μέση διάμετρος σφαίρας ισοδύνα-



Εικόνα 4. Φωτογραφία του α) συμβατικού (CE) και β) νανογαλακτώματος (NE) μετά από ακτινοβόληση

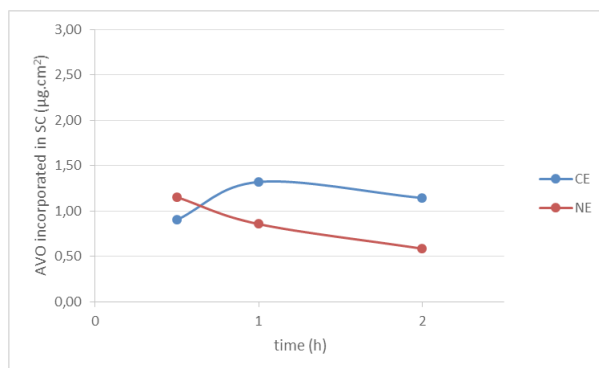
μου όγκου D[4,3], ο δείκτης πολυδιασποράς (Span) και η ομοιομορφία (Uniformity).

2.3.3 Προσδιορισμός μεγέθους και ζ - δυναμικού των σταγονιδίων των νανογαλακτωμάτων

Η κατανομή του μεγέθους των σταγονιδίων της διασπαρμένης φάσης των NE μετρήθηκε με δυναμικό και ηλεκτροφορητικό σκεδασμό του φωτός (Dynamic and Electrophoretic Light Scattering). αντίστοιχα (Nano - ZS, Zetasizer (Malvern, UK). Για την μελέτη σταθερότητας των NE καταγράφηκαν οι τιμές του μέσου μέγεθος σωματιδίων (Mean size), του δείκτη πολυδιασποράς (PI, Polydispersity index), του ζ - δυναμικού (zeta - potential) και του εύρους της κατανομής (width).

2.3.4 Ποσοτικός προσδιορισμός του φίλτρου Anobenzone

Τα δείγματα υποβλήθηκαν σε εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα σε λουτρό υπερήχων για 15 min και φυγοκέντριση (5 min, 5000 rpm). Ο ποσοτικός προσδιορισμός της AVO στο υπερκείμενο έγινε με φασματοσκοπία



Διάγραμμα 1. Ποσότητα του φίλτρου AVO που ενσωματώνεται στην κεράτινη στοιβάδα εθελοντών 0.5, 1 και 2h μετά την εφαρμογή συμβατικού (CE) και νανογαλακτώματος (NE)

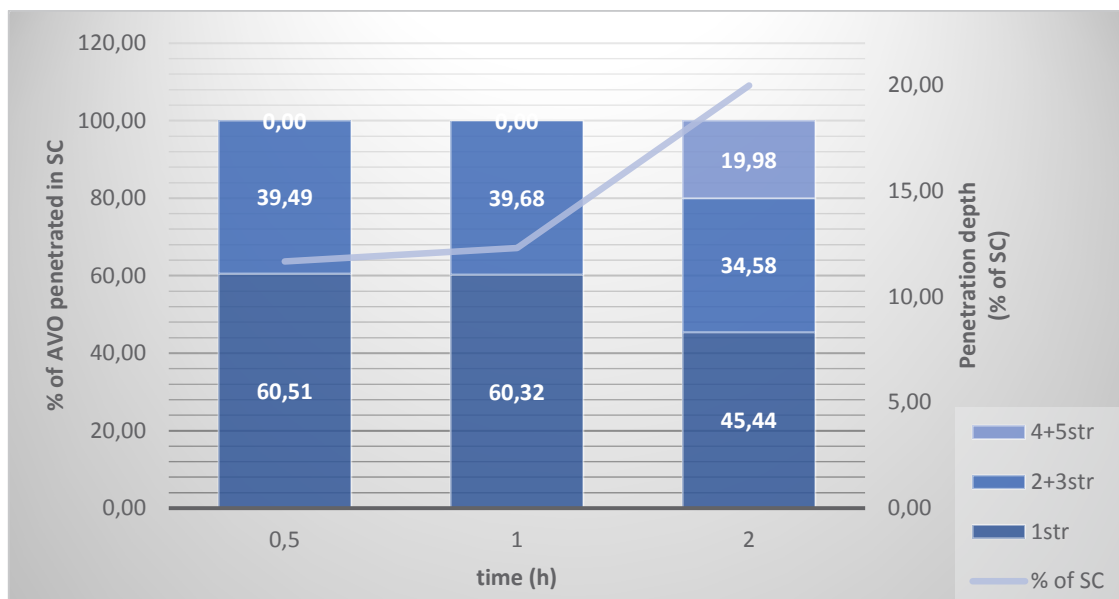
υπεριώδους - ορατού (UV - 1800, Shimadzu) και αφού κατασκευάστηκε πρότυπη καμπύλη αναφοράς AVO (μήκος κύματος μέγιστης απορρόφησης AVO: 356nm).

2.4 Μελέτη σταθερότητας

Αφού παρασκευάστηκαν, όλα τα δείγματα υποβλήθηκαν σε φυγοκέντριση (Z32HK, Germany) (@ 22°C, 30min, 2000rpm). Στο τέλος της δοκιμασίας παρατηρήθηκε η φυσική κατάσταση των δειγμάτων. Στη συνέχεια τα δείγματα αποθηκεύτηκαν στους 25°, 4° και 45° C προκειμένου να ελεγχθεί η επίδραση των συνθηκών αποθήκευσης στη σταθερότητα τους. Τέλος όλα τα δείγματα υποβλήθηκαν στη δοκιμασία της επιταχυνόμενης γήρανσης, η οποία περιλάμβανε τρεις κύκλους εναλλαγής μεταξύ θέρμανσης στους 45 °C και ψύξης στους 25 °C. Οι παράμετροι που μετρήθηκαν για την αξιολόγηση της σταθερότητας των δειγμάτων είναι η κατανομή του μεγέθους, και του ζ - δυναμικού των διασπορών, καθώς και η περιεχόμενη AVO σε προκαθορισμένα χρονικά διαστήματα.

2.5 Μελέτη επίδρασης του φορέα στη χημική σταθερότητα του φίλτρου Anobenzone

Τα δείγματα CE και NE εκτέθηκαν σε φυσικό ηλιακό φως για το ίδιο χρονικό διάστημα (4 ημέρες). Η έκθεση αυτή πραγματοποιήθηκε σε εξωτερικό χώρο κατά τη διάρκεια τεσσάρων ηλιόλουστων ημερών στα τέλη Φεβρουαρίου, στην πόλη της Πάτρας. Η μέγιστη ημε-



Διάγραμμα 2. Κινητική μελέτη της κατανομής του φίλτρου Avobenzone της κεράτινης στιβάδας (CE, συμβατικό γαλάκτωμα)

ρήσια θερμοκρασία ήταν 20°C. Για την αξιολόγηση της συμβολής του φορέα στη σταθερότητα της AVO, συγκρίθηκαν τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των γαλακτωμάτων (μέγεθος και ζ - δυναμικό των σταγονιδίων της διεσπαρμένης φάσης) και ποσοτικός προσδιορισμός της AVO πριν και μετά την ακτινοβολήση⁹.

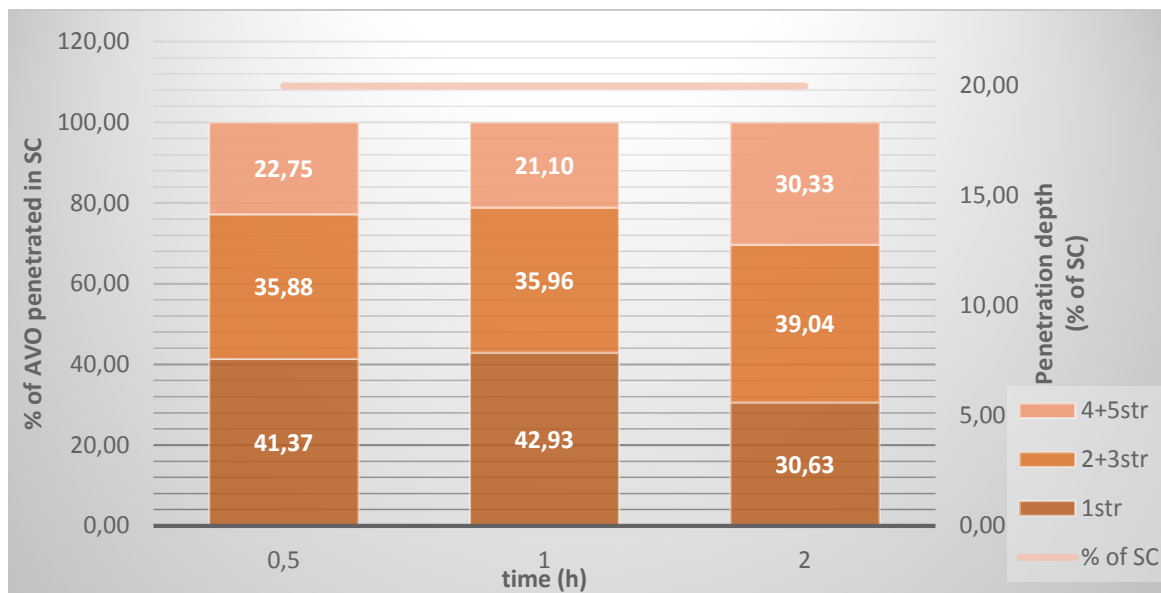
2.6 Προσδιορισμός βάθους διέλευσης Avobenzone με αυτοκόλλητες ταινίες

Ο προσδιορισμός του βάθους διέλευσης καθώς και η κινητική της αποδέσμευσης της AVO έγινε σε υγιείς εθελοντές. Μετά την παραμονή για 20min στο χώρο ελέγχου (θερμοκρασία: 25 °C), σημαδεύτηκαν οι περιοχές εφαρμογής των δειγμάτων, εμβαδού 5,29 cm² στο δέρμα του έσω αντιβραχίου του εθελοντή. Στο ένα αντιβράχιο εφαρμόστηκε το CE και στον άλλο το NE. ποσότητα 2 mg/cm² δέρματος (10,86 mg) από κάθε δείγμα απλώθηκε με κυκλικές, προσεκτικές κινήσεις δακτύλου προστατευμένου με γάντι, μέχρι το δείγμα να ενσωματωθεί πλήρως στην επιδερμίδα. Στη συνέχεια, το δείγμα αφέθηκε στην επιφάνεια του δέρματος του εθελοντή για διάστημα 2 ωρών. Σε προκαθορισμένα χρονικά διαστήματα (0,5, 1, 2 h), έγινε δειγματοληψία της SC με την τεχνι-

κή αποκόλλησης ταινίας, αφού πρώτα οι περιοχές εφαρμογής καθαρίστηκαν απαλά με στεγνό χαρτί. Στη συνέχεια, τοποθετήθηκαν οι αυτοκόλλητες ταινίες στις οποίες ασκήθηκε ομοιόμορφη πίεση με τη βοήθεια κυλινδρικής συσκευής 10 φορές πάνω από το δέρμα για διάστημα περίπου 15 sec. Τέλος, οι ταινίες απομακρύνθηκαν με αργή κίνηση. Σε κάθε σημείο εφαρμόστηκαν διαδοχικά 5 ταινίες (Εικ. 3). Κάθε ταινία ζυγίστηκε πριν και μετά την εφαρμογή στο δέρμα του εθελοντή, για τον προσδιορισμό της μάζας της SC που απομακρύνθηκε από την περιοχή του δέρματος. Γνωρίζοντας τη μάζα υπολογίστηκε το πάχος της SC με βάση την εξίσωση Anderson & Cassidy.¹⁰ Η περιεχόμενη AVO στις ταινίες προσδιορίστηκε ποσοτικά με φασματοσκοπία υπεριώδους ορατού, αφού εκχυλίστηκε με οξικό αιθυλεστέρα (§2.3.4).

3. Αποτελέσματα

Παρασκευάστηκαν ένα συμβατικό γαλακτώματα (CE) και ένα αντίστοιχο νανογαλάκτωμα (NE) στα οποία ενσωματώθηκαν τα τρία UV - φίλτρα AVO, OCT και OTZ (Πιν. 1). Το μέγεθος των σταγονιδίων της διεσπαρμένης φάσης των CE ήταν 50.69μm και



Διάγραμμα 3. Κινητική μελέτη της κατανομής του φίλτρου Avobenzone της κεράτινης στιβάδας (NE, νανογαλάκτωμα)

η ομοιομορφία (Uniformity) 0.67 (**Πιν 2**). Το μέγεθος των σταγονιδίων της διεσπαρμένης φάσης των NE ήταν $163.3\text{nm} \pm 1.3\text{nm}$ (Pdl 0.2), ενώ η τιμή του ζ - δυναμικό - $51.3\text{mV} \pm 0.3\text{mV}$ (width 7.8) ήταν ενδεικτική καλής μακροχρόνιας σταθερότητας (**Πιν 3**). Ο εγκλωβισμός των UV - φίλτρων αύξησε το μέγεθος των σταγονιδίων της διεσπαρμένης φάσης, τόσο των CE όσο και των NE (**Πιν 2,3**).

Η συγκέντρωση της AVO που ενσωματώθηκε στα CE και NE ήταν 1mg/ml.

Και τα δύο δείγματα (CE και NE) πέρασαν επιτυχώς τη δοκιμασία φυγοκέντρωσης και επιταχυνόμενης γήρανσης. Κατά την αποθήκευση σε διάφορες συνθήκες θερμοκρασίας βρέθηκε ότι το NE ήταν σταθερό σε όλες τις συνθήκες χωρίς να εμφανίσει σημαντικές μεταβολές στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του τουλάχιστον μέχρι 90 ημέρες αποθήκευσης. Αντίθετα το CE εμφάνισε διαχωρισμό φάσεων μετά από 15 ημέρες αποθήκευσης στους 25°C και 45°C, ενώ διατήρησε τη σταθερότητά του μέχρι τις 60 ημέρες αποθήκευσης στους 4°C (**Πιν.2, 3**).

Μετά από ακτινοβολήση το NE διατήρησε τη φυσική σταθερότητά του, όπως αποδεικνύεται από τη μέτρηση της κατανομής του μεγέθους των σταγονι-

Πίνακας 1: Συνταγή των CE και NE

Συστατικό (INCI)	Συγκέντρωση (% w/v)
hydrogenated palm oil	1
caprylic/capric triglyceride	2
Emulmetik 900	3
PEG-15-hydroxystearate	1,44
Butyl methoxydibenzoyl methane (AVO)	1,5
Ethylhexylmethoxy cinnamate (OMC)	1,5
Ethylhexyl triazone (OTZ)	0,5
Aqua	qs ad
	100

δίων και του ζήτη δυναμικού, ενώ στο CE εμφανίστηκε διαχωρισμός φάσης και καθίζηση (**Εικ. 4**). Η συγκέντρωση της AVO στα NE παρέμεινε σταθερή ενώ στα CE μειώθηκε κατά 53,4% (**Πιν.4**).

Το συνολικό ποσό της AVO που ενσωματώθηκε στην SC 2 ώρες μετά την εφαρμογή CE ή NE στο δέρμα του αντιβραχίου υγιών εθελοντών ήταν 1 $\mu\text{g} / \text{cm}^2$ και για τα δύο σκευάσματα. Στα σημεία εφαρ-

Πίνακας 2. Μελέτη σταθερότητας του μεγέθους των σωματιδίων της διεσπαρμένης φάσης των συμβατικών γαλακτωμάτων σε διαφορετικές συνθήκες φύλαξης

CEm						
25 °C			4 °C		45 °C	
t(days)	D[4,3] (μm)	Uniformity	D[4,3] (μm)	Uniformity	D[4,3] (μm)	Uniformity
1	20,18	0,4105	20,18	0,410	20,18	0,410
8	23,13	0,3583	19,14	0,388	41,24	1,064
15	24,00	0,3401	19,31	0,351	19,71	0,335
22	-	-	19,69	0,344	6,31	1,597
30	-	-	20,07	0,348		
CE						
25 °C			4 °C		45 °C	
t(days)	D[4,3] (μm)	Uniformity	D[4,3] (μm)	Uniformity	D[4,3] (μm)	Uniformity
1	50,69	0,667	50,69	0,667	50,69	0,667
8	53,52	0,632	47,15	0,695	51,43	0,639
15	48,92	0,722	48,16	0,666	43,13	0,700
22	-	-	43,86	0,674	-	-
30	-	-	57,75	0,897	-	-
60	-	-	42,01	0,686	-	-
90	-	-	-	-	-	-

μογής CE διατηρήθηκε σταθερή συγκέντρωση AVO έως 2 ώρες μετά την εφαρμογή, ενώ στα σημεία εφαρμογής NE η AVO μειώθηκε κατά 25% της αρχικής συγκεντρώσεως 1 ώρα και 49% στις 2 ώρες μετά την εφαρμογή (**Διαγρ. 1**).

Το 60% της ποσότητας της AVO στα CE και μόνο το 40% στα NE παρέμεινε στην επιφάνεια της SC (1^η ταινία) 30 min μετά την εφαρμογή. Η ποσότητα της AVO που παρέμεινε στα CE ανιχνεύτηκε στις ταινίες 2 + 3 οι οποίες αντιστοιχούν στο 10% της συνολικής SC. AVO δεν ανιχνεύθηκε σε ταινίες 4 + 5 (20% του συνόλου των SC) πριν από 2 ώρες εφαρμογής (**Διαγρ.2**). Η ποσότητα AVO που παρέμεινε στα NE 0,5 ώρες μετά την εφαρμογή κατανεμήθηκε μεταξύ 10% και 20% της SC σε ποσοστά 35% και 20% αντίστοιχα (**Διαγρ. 3**). Αυτά τα αποτελέσματα σε συνδυασμό με το γεγονός ότι μετά από 2 ώρες εφαρμογής

η συνολική ποσότητα της AVO στα NE μειώνεται (**Διαγρ. 1**) είναι ενδεικτική της διεύθυνσης της σε βαθύτερα στρώματα του SC.

4. Συμπεράσματα

Από τα αποτελέσματα διαπιστώθηκε ότι τα νανογαλακτώματα αβοβενζόνης είναι πιο σταθερά από στο αντίστοιχο συμβατικά. Καλύτερη σταθερότητα των φυσικών χαρακτηριστικών και προστασία της αβοβενζόνης επιτυγχάνεται κατά την αποθήκευση στους 4 °C. Σε αντίθεση με τα συμβατικά, τα νανογαλακτώματα διατηρούν τη φυσική σταθερότητα τους και προστατεύουν την ενσωματωμένη αβοβενζόνη από φωτο - αποικοδόμηση μετά από ακτινοβολήση. Τέλος, η ενσωμάτωση της αβοβενζόνης σε νανογαλακτώμα ενισχύει τη διεύθυνση του σε βαθύτερα στρώματα της SC. **K**

Πίνακας 3: Μελέτη σταθερότητας του μεγέθους των σωματιδίων της διεσπαρμένης φάσης των νανογαλακτωμάτων σε διαφορετικές συνθήκες φύλαξης

NEm				
25 °C				
t(days)	Mean Size (nm)	Polydispersity Index (PI)	ζ-potential (mV)	Width (mV)
1	119,3 ± 0,8	0,254 ± 0,007	-39,9 ± 1,35	14,82
8	112 ± 3,0	0,262 ± 0,003	-47,7 ± 1,75	12,79
15	110,4 ± 1,6	0,25 ± 0,004	-53 ± 2,87	12,49
22	103,9 ± 1,4	0,253 ± 0,003	-57,1 ± 3,2	12,62
30	-	-	-	-
4 °C				
t(days)	Mean Size (nm)	Polydispersity Index (PI)	ζ-potential (mV)	Width (mV)
1	119,3 ± 0,8	0,254 ± 0,007	-39,9 ± 1,3	14,82
8	103,1 ± 1,4	0,264 ± 0,008	-51,0 ± 2,9	13,42
15	107,4 ± 0,1	0,261 ± 0,01	-52,9 ± 2,1	12,50
22	102,4 ± 0,7	0,258 ± 0,006	-61,7 ± 7,5	12,89
30	99,48 ± 1,2	0,268 ± 0,006	-55,6 ± 3,5	12,65
45 °C				
t(days)	Mean Size (nm)	Polydispersity Index (PI)	ζ-potential (mV)	Width (mV)
1	119,3 ± 0,8	0,254 ± 0,007	-39,9 ± 1,3	14,82
8	105,7 ± 1,1	0,271 ± 0,003	-50,6 ± 0,6	11,97
15	61,72 ± 0,1	0,411 ± 0,004	-47,8 ± 1,7	16,91
22	96,35 ± 1,2	0,102 ± 0,011	-45,3 ± 1,7	12,95
30	-	-	-	-
NE				
25 °C				
t(days)	Mean Size (nm)	Polydispersity Index (PI)	ζ-potential (mV)	Width (mV)
1	163,3 ± 1,3	0,199 ± 0,006	(-51,3) ± 0,3	7,82
8	169,4 ± 0,8	0,202 ± 0,004	(-67,6) ± 0,6	10,42
15	159,7 ± 3,1	0,179 ± 0,007	(-70,4) ± 1,2	9,85
22	152,1 ± 2,0	0,221 ± 0,008	(-44,2) ± 2,0	9,07

Πίνακας 3: Μελέτη σταθερότητας του μεγέθους των σωματιδίων της διεσπαρμένης φάσης των νανογαλακτωμάτων σε διαφορετικές συνθήκες φύλαξης

NE				
25 °C				
t(days)	Mean Size (nm)	Polydispersity Index (PI)	ζ-potential (mV)	Width (mV)
30	143,1 ± 0,9	0,19 ± 0,003	(-63,8) ± 1,2	11,87
60	137,2 ± 0,8	0,182 ± 0,007	(-61,7) ± 2,6	14,47
90	182,9 ± 0,9	0,230 ± 0,005	(-32,2) ± 1,6	31,47
4 °C				
t(days)	Mean Size (nm)	Polydispersity Index (PI)	ζ-potential (mV)	Width (mV)
1	163,3 ± 1,3	0,199 ± 0,006	(-51,3) ± 0,3	7,82
8	162,4 ± 1,0	0,204 ± 0,008	(-69,9) ± 0,8	9,23
15	160,8 ± 0,7	0,208 ± 0,009	(-67,2) ± 2,0	11,76
22	158,2 ± 1,6	0,240 ± 0,013	(-53,8) ± 2,1	10,91
30	162,2 ± 1,4	0,211 ± 0,011	(-76,1) ± 2,8	14,77
60	150,9 ± 0,4	0,205 ± 0,004	(-68,9) ± 1,8	13,65
90	153,2 ± 4,3	0,212 ± 0,014	(-64,7) ± 4,8	11,23
45 °C				
t(days)	Mean Size (nm)	Polydispersity Index (PI)	ζ-potential (mV)	Width (mV)
1	163,3 ± 1,3	0,199 ± 0,006	(-51,3) ± 0,3	7,82
8	155,7 ± 1,4	0,207 ± 0,006	(-63,5) ± 0,8	10,36
15	141,6 ± 1,4	0,194 ± 0,011	(-60,5) ± 1,5	8,45
22	138,6 ± 2,2	0,227 ± 0,008	(-43) ± 2,1	8,10
30	133,5 ± 0,1	0,183 ± 0,013	(-53,8) ± 1,8	8,39
60	134,1 ± 1,4	0,202 ± 0,010	(-49,9) ± 0,7	7,95
90	164,5 ± 5,1	0,227 ± 0,013	(-37) ± 1,2	29,61

Πίνακας 4: Μελέτη χημικής σταθερότητας του ενσωματωμένου φίλτρου Avobenzone στο συμβατικό και στο νανογαλάκτωμα μετά από ακτινοβολήση

t (days)	Avobenzone (mg/ml)	
	CE	NE
1	1,578	1,011
4	0,849	1,017

Abstract

Awareness and concern about the adverse effects of ultraviolet radiation has increased significantly in recent years. As a result, consumers are seeking more efficient protection from the sunscreen products. Avobenzene (4-tert-butyl-4'-methoxydibenzoylmethane, INCI Name: Butyl methoxydibenzoyl methane, AVO) is one of the few available UVA filters and is widely used in sun protection formulations. The major drawback to its use is its well-known photoinstability, especially when used in combination with the UVB filter octylmethoxycinnamate, (Ethylhexylmethoxy cinnamate, OCT). Oddly this combination along with the UVB filter Octyltriazone (INCI name: Ethylhexyl triazone OTZ) is used in the majority of sunscreens mainly because it provides protection over a wide range of UV radiation. The stability of avobenzene is usually improved by adding stabilizers such as octocrylene.

Nanoemulsions (NE) find increasing applications as vehicles for the transport of bioactive ingredients in specific layers of the skin. In comparison to conventional emulsions (CE) their dispersed phase consisted of small droplets, provides resistance towards physical destabilization.

The aim of this work was to enhance chemical stability of AVO by incorporation in nanoemulsions and to investigate the impact of the carrier on the skin penetration kinetics.

CE and NE incorporating AVO, OCL and OTZ were prepared. The lipid phase consisted of miglyol 812 (Crodamol GTCC (S); Croda, Leek, UK, INCI: caprylic/capric triglyceride), Softisan® 154 (Condea, Witten, Germany, INCI: hydrogenated palm oil), and Solutol® HS 15 (BASF; Ludwigshafen, Germany, INCI: PEG-15-hydroxystearate). Their physicochemical characteristics were determined and their colloidal stability over time was assessed by monitoring particle size changes using Dynamic Light Scattering or Static Light Scattering, as appropriate, after i. centrifugation, ii. accelerated aging (three cycles of heating and cooling: 45°C - 25°C) and iii. storing them in various conditions (25°C, 4°C and 45°C) (2). The stability of AVO in CE and in the NE after irradiation of the samples was evaluated by assessing their physicochemical characteristics and AVO content (3). The penetration depth and kinetics of AVO in stratum corneum (SC) was evaluated in vivo, using tape stripping technique over 2 h of applying 2 mg / cm² of CE or NE on the skin of forearm of healthy volunteers. 5 tape stripping per site of application was used which corresponds to 20% of total SC (4). The quantification of AVO was performed using UV-spectroscopy.

The concentration of AVO incorporated in both CE and NE as measured after preparation was 1 mg/ml. The size of the dispersed phase droplets of CE was 50.69 µm and the Uniformity 0.67. NE droplets were 163.3 nm ± 1.3 nm (PDI 0.2). The zeta potential (-51.3 mV ± 0.3 mV, width 7.8) was indicative of good long term stability. Both formulations CE and NE passed successfully the centrifugation and accelerated aging tests. NE was stable at all storing conditions, without significant alterations on its droplets size and zeta potential distribution and AVO content. On the contrary CE demonstrated phase separation after 15 days of storage at 25°C and 45°C, while it retained its stability up to 60 days of storage at 4°C.

After irradiation NE retained its stability as proven by measuring its particle size and zeta potential distribution while CE displayed phase separation and sedimentation. The reduction of AVO content in NE and CE was 0% and 46% respectively.

The total amount of AVO incorporated in SC after 2 h post application of CE or NE on the skin of forearm of healthy volunteers was 1 µg/cm² for both formulations. CE retained stable AVO concentration up to 2 h post application. At NE application sites AVO was reduced by 25% of the initial concentration at 1 h and 49% at 2 h post application.

60% of AVO in CE and only 40% in NE remained on the surface of SC (1st tape) 0.5 h post application. The remained amount of AVO in CE was detected in 2+3 tapes which corresponds to 10% of total SC. AVO was

not detected on tapes 4+5 (20% of total SC) before 2 h of application. The remained amount of AVO in NE 0.5 h post application was partitioned between 10% and 20% of SC at 35% and 20% respectively. These results in combination to the fact that after 2 h of application the total amount of AVO in NE is reduced is indicative of its penetration to deeper layers of SC.

The results revealed that the NE incorporating AVO is more stable than the corresponding CE. Better stability of physical characteristics and AVO protection is achieved at storage at 4°C. In contrast to CE, NE maintained its physical stability and protected AVO from photo-degradation after irradiation. Finally the incorporation of AVO in NE enhances its penetration to deeper layers of SC.

Keywords: nanoemulsions, avobenzon, stability, tape stripping, intradermal penetration

Βιβλιογραφία

1. Siji Joseph, Michael Woodman. (2010). Agilent 1290 Infinity LC with Agilent Poroshell columns for simultaneous determination of eight organic UV filters in under two minutes. Agilent Technologies, Inc
2. J. Frank Nash & Paul R. Tanner, (2014). Relevance of UV filter/sunscreen product photostability to human safety. Photodermatol Photoimmunol Photomed; 30: 88 - 95.
3. S. Afonso, K. Horita, J.P. Sousa e Silva, I.F. Almeida, M.H. Amaral, P.A. Loby, P.C. Costa, Margarida S. Miranda, Joaquim C.G. Esteves da Silva, J.M. Sousa Lobo, (2014). Photodegradation of Avobenzon: Stabilization effect of antioxidants. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology 140, p. 36 - 40.
4. Santo Scalia and Matteo Mezzena, (2010). Photostabilization Effect of Quercetin on the UV Filter Combination, Butyl Methoxydibenzoylmethane - Octyl Methoxycinnamate. Photochemistry and Photobiology, 86: 273 - 278
5. Carmelo Puglia, Elisabetta Damiani, Alessia Offerla, Luisa Rizza, Giorgia Giusy Tirendi, Maria Stella Tarico, Sergio Curreri, Francesco Bonina, Rosario Emanuele Perrotta, (2014). Evaluation of nanostructured lipid carriers (NLC) and nanoemulsions as carriers for UV - filters: Characterization, in vitro penetration and photostability studies. European Journal of Pharmaceutical Sciences 51, p: 211 - 217.
6. Ibrahim Hanno, Cecilia Anselmi, Kawthar Bouchemal, (2012). Polyamide Nanocapsules and Nano - emulsions Containing Parsol® MCX and Parsol® 1789: In Vitro Release, Ex Vivo Skin Penetration and Photo - Stability Studies. Pharmaceutical Research 29: p.559 - 573
7. Florentino, A. C. (2014). Development of Babassu Oil Based Nanoemulsions. Latin American Journal of Pharmacy, p.338,339,342.
8. Deli G., Hatziantoniou S., Nikas Y., Demetzos G., (2009). Solid lipid nanoparticles and nanoemulsions containing ceramides: Preparation and physicochemical characterization. J Liposome Res.,19(3): 180 - 188.
9. S. Afonso, K. Horita, J.P. Sousa e Silva, I.F. Almeida, M.H. Amaral, P.A. Loby, P.C. Costa, Margarida S. Miranda, Joaquim C.G. Esteves da Silva, J.M. Sousa Lobo, (2014). Photodegradation of Avobenzon: Stabilization effect of antioxidants. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology 140, p. 36 - 40.
10. J. Lademann, U. Jacobi, C. Surber, H. - J. Weigmann, J.W. Fluhr, (2009). The tape stripping procedure - evaluation of some critical parameters. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 72, p. 317 - 323.

Έλεγχος αναστολής της τυροσινάσης από φυσικά προϊόντα

Βιβλιογραφική ανασκόπηση των ακόλουθων δερματικών μελανοκυτταρικών βλαβών: μέλασμα, εφηλίδες, σπίλοι - μελάνωμα

Αναστασία Πρωτόπαπα¹, Αναστασία Καριώτη², Ελένη Σκαλτσά³

²Εργαστήριο Φαρμακογνωσίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Πανεπιστημιόπολη, 54124, Θεσσαλονίκη.

³Τμήμα Φαρμακευτικής, Τομέας Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων, Πανεπιστημιόπολη, Ζωγράφου, 157 71 Αθήνα

Περίληψη

Μια από τις αιτίες της υπερμελάγχρωσης είναι η υπερπαραγωγή μελανίνης. Η μελανίνη βιοσυντίθεται λόγω της δράσης της τυροσινάσης, από την τυροσίνη σε 3,4-διυδροξυφαινοϋλαλανίνη (DOPA) και το 4-(2-καρβοξυ-2-αμινοαιθυλο)-1, 2-βενζοκινόνη (dopaquinone). Κατά συνέπεια, το ένζυμο τυροσινάση, διαδραματίζει έναν πολύ σημαντικό ρόλο στο στάδιο της βιοσύνθεσης της μελανίνης και σχετίζεται σημαντικά με την υπερμελάγχρωση του δέρματος. Σ' αυτό το άρθρο επιχειρείται η βιβλιογραφική ανασκόπηση επί της ανασταλτικής δράσης της τυροσινάσης από φυσικά προϊόντα

Λέξεις - κλειδιά: τυροσινάση, αναστολείς, φυσικά προϊόντα, εφηλίδες, σπίλοι, μελάνωμα

Βιοσύνθεση μελανίνης

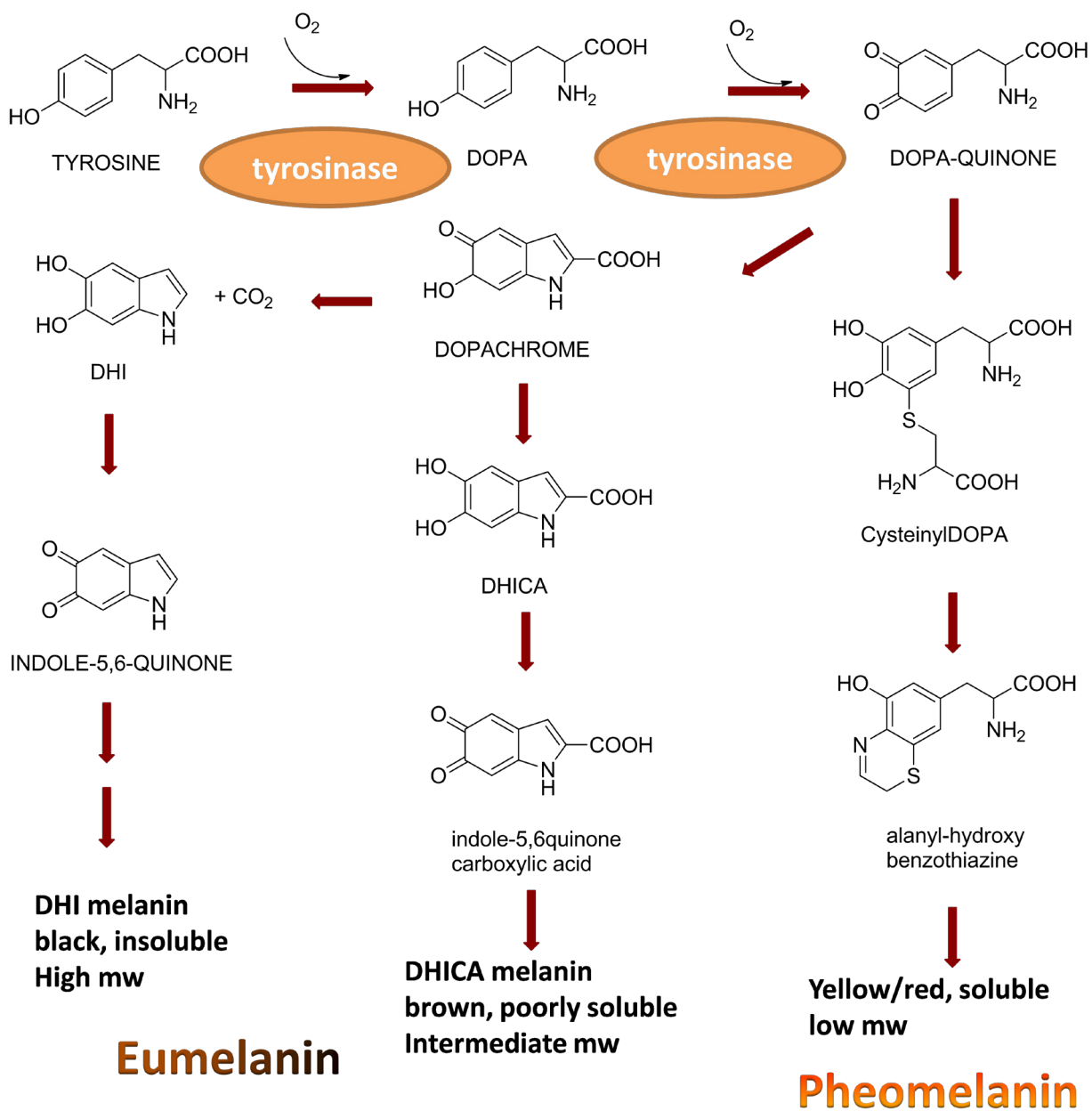
Η τυροσινάση (μονοφαινόλη, L - DOPA: οξυγονο οξειδοαναγωγή EC1.14.18.1), γνωστή και ως πολυφαινολογξειδάση (PPO), είναι ένα αμφιλιτουργικό πρωτεϊνικό σύμπλεγμα, ευρέως εξαπλωμένο στη φυλογενετική κλίμακα, που φέρει χαλκό. Τρεις διαφορετικές μορφές του χαλκού στο ενεργό κέντρο εμπλέκονται στις αντιδράσεις. Το ένζυμο καταλύει δύο διαφορετικές αντιδράσεις: την υδροξυλίωση της μονοφαινόλης σε ο-διφαινόλη (δράση κρεολάσης) και την οξειδωση της ο-διφαινόλης σε ο-κινόνη (δράση κατεχολάσης). Το ένζυμο είναι υπεύθυνο για την μελανογένεση στα ζώα, και για την αμαύρωση των φυτών.

In vivo, η τυροσινάση μετατρέπει την τυροσίνη σε

Dopa-κινόνη (3, 4 - διυδροξυ - φαινοϋλαλανίνη κινόνη - dopaquinone), με την ενδιάμεση παραγωγή DOPA. Αυτή η αντίδραση αποτελεί το πρώτο στάδιο στη βιοσύνθεση της μελανίνης (**Εικ.1**).

Μια από τις αιτίες του μελάγχρωσης είναι η υπερπαραγωγή μελανίνης. Κατά συνέπεια, η τυροσινάση, διαδραματίζει έναν πολύ σημαντικό ρόλο στη βιοσύνθεση της μελανίνης και σχετίζεται σημαντικά με την υπερμελάγχρωση του δέρματος¹.

Η μελανίνη είναι το σημαντικότερο προϊόν των μελανοκυττάρων και είναι ο καθοριστικός παράγοντας για τις διαφορές χρώματος του δέρματος. Δύο είναι οι κύριες μορφές σύνθεσης της μελανίνης: μία σκουρόχρωμη καστανόμαυρη, αδιάλυτη, η ευμελανίνη,



Σχ. 1. Βιοσυνθετικό Μονοπάτι της Μελανίνης

και μία ανοιχτόχρωμη ωχροκόκκινη, διαλυτή σε αλκαλικό διάλυμα, η φαιομελανίνη, μια ουσία που περιέχει θείο (**Σχ. 1**).

Η μελανίνη είναι ένα μίγμα φαιομελανίνης και μονομερών της ευμελανίνης και η αναλογία μεταξύ των

δύο καθορίζει το τελικό χρώμα του δέρματος και της τρίχας². Η μείωση της ευμελανίνης και η κυρίαρχη παρουσία της φαιομελανίνης, όπως στα κόκκινα μαλλιά, ρυθμίζεται κατά ένα μεγάλο μέρος από τον υποδοχέα της μελανοκορτίνης (MSH).

Το κύριο χαρακτηριστικό της μελανίνης είναι η απορρόφηση και η διασπορά της UV ακτινοβολίας (280 - 400nm) και η προστασία του DNA από πιθανή βλάβη. Εντούτοις, τα ενδιάμεσα προϊόντα της βιοσύνθεσης της μελανίνης, καθώς και η ίδια η μελανίνη μπορούν επίσης να είναι επιβλαβή. Οι κινόνες που παράγονται από την αντίδραση της τυροσινάσης είναι κυτταροτοξικές προκαλώντας νέκρωση του κυττάρου, όταν συσσωρεύονται σε υψηλά επίπεδα μέσα σ' αυτό. Επιπλέον, τα μόρια που σχετίζονται με τη μελανίνη ενισχύουν την ακτινοβολία UVA (320 έως 400 nm) προκαλώντας θραύση του DNA³. Η μελανίνη αντιδρά έντονα με το DNA, είναι φωτοαντιδρόν μόριο και ικανό να καταστρέψει τις ελεύθερες οξυγονούχες ρίζες ως απάντηση στην UVA ακτινοβολία. Αυξημένα επίπεδα φαιομελανίνης ή ενδιάμεσων προϊόντων μελανίνης προκαλούν υψηλότερα επίπεδα θραύσης του DNA σε καλλιέργειες ανθρώπινων μελανοκύτταρων από άτομα με ανοιχτόχρωμα δέρματα, τα οποία έχουν ακτινοβοληθεί με UVA, συγκριτικά με μελανοκύτταρα άτομων με σκούρο δέρμα⁴. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η υψηλότερη συχνότητα του φωτός προκάλεσε μελανώματα στα άτομα με ανοιχτό δέρμα και κόκκινα μαλλιά και ότι αυτό οφείλεται όχι μόνο στην έλλειψη φυσικής προστασίας, αλλά και στην ενισχυμένη μεταλλαξιογένεση των ενδιάμεσων προϊόντων της φαιομελανίνης και της μελανίνης. Αυτές οι ανεπιθύμητες δράσεις της μελανίνης εξηγούν την αυξημένη πίεση να περιοριστεί η παραγωγή και ο εντοπισμός της στα μελανοσώματα.

Μετά από έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία παρατηρείται άμεση μελάγχρωση του δέρματος, η οποία εξαφανίζεται μετά από 6 - 8 ώρες. Αυτό πιθανόν αποτελεί κλινική εκδήλωση της οξειδωσης προϋπάρχουσας μελανίνης ή προδρόμων ουσιών- μορφών της και δεν οφείλεται στη σύνθεση νέας χρωστικής. Αντίθετα, η μελάγχρωση που εμφανίζεται μετά από 2 - 3 ημέρες προκύπτει από παραγωγή νέας χρωστικής και οφείλεται στην κλινική επίδραση και της UVA και της UVB⁵.

Κακοήθεις νεοπλασίες - μελάνωμα

Πρόκειται για ένα δυνητικά μοιραίο δερματικό καρκίνωμα το οποίο προέρχεται από τα μελανοκύτταρα, πιθανόν σαν αποτέλεσμα της υπερδιέγερσης τους από την υπεριώδη ακτινοβολία, και το οποίο μπορεί να με-

θίσταται δια μέσου των λεμφαγγείων και της αιματικής κυκλοφορίας⁵.

Επιδημιολογία

Είναι κακοήθης όγκος των μελανοκυττάρων. Αποτελεί το 5% όλων των κακοήθων όγκων και η συχνότητά του αυξάνει σ' όλο τον κόσμο κατά 4 - 7% ετησίως, ενώ η ετήσια αύξηση του πληθυσμού είναι 1.17%. Ο κίνδυνος ανάπτυξης μελανώματος κατά τη διάρκεια του βίου ενός ατόμου (lifetime risk) στις ΗΠΑ το 1935 ήταν 1:1500, το 1960 ήταν 1:600, το 2000 1:75 και υπολογίζεται να είναι 1:50 το έτος 2010 (για τους λευκούς)^{6,7}. Η θνητότητά του έχει διπλασιασθεί τα τελευταία 35 χρόνια. Η αύξηση αυτή αφορά μόνο στο μελάνωμα του δέρματος και όχι στο εξωδερματικό (σπλαγχνικό) μελάνωμα. Η επίπτωση ποικίλλει γεωγραφικώς. Η Ουγκάντα έχει 0.05/100.000 επίπτωση, ενώ η Queensland στην Αυστραλία το 1969 είχε 16.2/100.000, και το 1977 είχε 35/100.000. Στην Αυστραλία ο λόγος ανδρών:γυναικών είναι 1:1 ενώ στην Ευρώπη 1:2⁷. Αυτή η διαφορά δεν διαπιστώνεται σε περιοχές συχνής εμφάνισης των μελανωμάτων όπου και τα δύο φύλα προσβάλλονται ισότιμα. Αυτό έχει ερμηνευτεί ως μια διαφορά στις ορμόνες των δύο φύλων, που καθιστά τις γυναίκες πιο ευάλωτες στην εμφάνιση αυτής της μορφής του καρκίνου. Η διαφορά αυτή εξαλείφεται στις περιοχές όπου υπάρχει έντονη ηλιακή ακτινοβολία⁸, οπότε τα δύο φύλα προσβάλλονται με την ίδια συχνότητα.

Τα μελανώματα σπάνια εκδηλώνονται πριν την εφηβεία. Η επίπτωση αυξάνει με την ηλικία. Πολλαπλά μελανώματα εμφανίζονται στο 1 - 4% των περιπτώσεων και παρατηρούνται συνήθως στον κορμό των ανδρών και τα κάτω άκρα των γυναικών⁹.

Αιτιολογία - παθογένεση

Αρκετοί παράγοντες έχουν ενοχοποιηθεί στην αιτιολογία και παθογένεση. Οι σημαντικότεροι από αυτούς είναι η υπεριώδης ακτινοβολία και η γενετική προδιάθεση του ατόμου για την ανάπτυξη μελανώματος όπως αυτή εκφράζεται με την εμφάνιση μορφών σπύλων που έχουν αυξημένο ποσοστό μελανωματικής εξαλλαγής, το **οικογενές ιστορικό και οι προϋπάρχοντες σπίλοι**.

Μελάνωμα και τυροσινάση

Η τυροσινάση συνδέεται άμεσα με τα μελανοκύτταρα.

Κατά συνέπεια, λαμβάνοντας υπόψη τους αντικαρκινικούς παράγοντες που λειτουργούν βάση της κινόνης και τον τύπο αντιδράσεων, που καταλύονται από την τυροσινάση, είναι δυνατόν να αναπτυχθούν συγκεκριμένες για το μελάνωμα χημειοθεραπευτικές στρατηγικές. Περαιτέρω, τα επίπεδα της τυροσινάσης που συνδέονται με τις περισσότερες από τις καρκινικές σειρές μελανώματος έχουν καθοριστεί και επομένως είναι δυνατό να αναζητήσει κανείς μια εκλεκτική δραστηριότητα στα θετικά για την τυροσινάση κύτταρα. Διάφορα φυσικά προϊόντα είναι κυτταροτοξικά και η δράση αυτή εξαρτάται από το μεταβολισμό της τυροσινάσης. Επομένως μπορούν να χαρακτηριστούν ως τυροσινάση-εξαρτημένα προφάρμακα¹⁰.

Καλοήθεις νεοπλασίες μελανοκυτταρικοί σπίλοι ή μελαγχρωματικοί σπίλοι (melanocytic naevi).

Η κλινική συμπεριφορά του μελανώματος όπως και οι ιστολογικοί και βιολογικοί χαρακτήρες του είναι ο αντίποδας του κοινού, καλοήθους μελαγχρωματικού σπύλου¹¹. Είναι πολύ συχνό και ονομάζονται «ελιές». Χαρακτηρίζονται από καλοήγη πολλαπλασιασμό των μελανοκυττάρων, τα οποία προέρχονται από τη νευρική ακρολοφία νωρίς στην εμβρυϊκή ζωή. Αναλόγως του χρόνου εμφάνισης των σπύλων αυτοί διακρίνονται σε **επίκτητους και συγγενείς**. Μερικοί μελανοκυτταρικοί εμφανίζονται με την γέννηση (**συγγενείς σπίλοι**) και είναι μόνιμοι⁵.

Όταν σε κάποιο σημείο του δέρματος παρατηρηθεί πολλαπλασιασμός μελανοκυττάρων, τότε προκύπτει η κλινική εικόνα της απλής φακίδας (lentigo) του δέρματος. Σε μια άλλη φάση, που συνιστά τη χρονολογική σειρά ανάπτυξης όλων σχεδόν των μορφών των μελαγχρωματικών σπύλων, τα αυξημένα μελανοκύτταρα συναθροίζονται σε μικρή φωλεά παραμένοντας στην ίδια θέση, δηλαδή στο όριο μεταξύ επιδερμίδας και χορίου (junctional nevus). Με την πάροδο του χρόνου, οι φωλεές των συναθροισμένων μελανοκυττάρων καταδύονται στο χόριο, ενώ παράλληλα νέες συναθροίσεις αναπτύσσονται στο σημείο μετάβασης της επιδερμίδας στο χόριο (compound nevus). Αργότερα, όλα τα μελανοκύτταρα συναθροίζονται στο χόριο υπό τη μορφή φωλεών, χορδών και νηματίων (intradermal nevus)¹¹. Επομένως, ο μελαγχρωματικός σπίλος είναι αποτέλεσμα του τοπικού πολλαπλασιασμού των φυ-

σιολογικών μελανοκυττάρων του δέρματος. Το δέρμα δεν είναι η μοναδική επιφάνεια του σώματος, που αναπτύσσονται μελαγχρωματικοί σπίλοι. Σπανιότερα σπίλοι αναπτύσσονται στους επιπεφυκότες, στο βλεννογόνο της στοματικής κοιλότητας ή και σε λεμφαδένες¹¹.

Επίκτητοι σπίλοι

Οι τυπικοί επίκτητοι σπίλοι εμφανίζονται από την πρώιμη παιδική ηλικία μέχρι την τέταρτη δεκαετία της ζωής. Ο μέσος ενήλικας λευκής φυλής έχει 25-35 σπίλους. Υψηλότερος αριθμός σπύλων αυξάνει τον κίνδυνο ανάπτυξης μελανώματος μέχρι και 10 φορές για αριθμό σπύλων μεγαλύτερο των 100. Οι επίκτητοι σπίλοι είναι συνήθως μικρής διαμέτρου (<5mm), στρογγυλοί και ομοιόμορφα μελαγχρωματικοί¹².

Μέλασμα [Χλόασμα, προσωπείο της κηφέως]

Το μέλασμα (όρος που προέρχεται από την ελληνική λέξη "μέλας"), είναι επίκτητη κηλιδώδης, συμμετρική⁶ ακανόνιστου σχήματος, καστανή ή μερικές φορές καστανόφαιη υπερμελάνωση του προσώπου και μερικές φορές και του λαιμού^{13,14}.

Επιδημιολογία

Η κατάσταση αυτή θεωρείται συχνή⁵, αν και προσβάλλονται κυρίως γυναίκες, οι άνδρες δεν αποκλείονται από το μέλασμα και αντιπροσωπεύουν περίπου το 10% των περιπτώσεων. Παρότι όλες οι φυλές προσβάλλονται, το μέλασμα φαίνεται να είναι πολύ πιο συνηθισμένο σε άτομα με σκούρο δέρμα ισπανικής, ανατολίτικης και ινδοκινέζικης καταγωγής, που ζουν σε μέρη με ισχυρή ηλιακή ακτινοβολία. Οι άνθρωποι και ιδίως οι γυναίκες αυτών των φυλών, έχουν την τάση να αναπτύσσουν μέλασμα σε μάλλον μικρή ηλικία. Το μέλασμα είναι πολύ συνηθισμένο σε μαύρους ασθενείς¹³.

Αιτιολογία και παθογένεια

Η ακριβής αιτία του μελάσματος είναι άγνωστη¹³. Οι σημαντικότεροι αιτιολογικοί παράγοντες είναι γενετική προδιάθεση, η έκθεση στην UV ακτινοβολία, τα οιστρογόνα και η προγεστερόνη⁶.

Τα φυσικά και συνθετικά οιστρογόνα και προγεστερόνες έχουν ενοχοποιηθεί στην παθογένεια. Αυτό οφείλεται στη συσχέτιση της νόσου με την κύηση, τα αντισυλληπτικά από το στόμα και τους όγκους της ωο-

Βιβλιογραφική ανασκόπηση

θήκης. Αν και ο τρόπος με τον οποίο τα οιστρογόνα προκαλούν μέλασμα είναι άγνωστος, έχει ανακοινωθεί ότι τα μελανοκύτταρα περιέχουν υποδοχείς οιστρογόνων, που τα διεγείρουν με αποτέλεσμα να γίνονται υπερενεργά¹³.

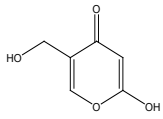
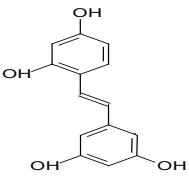
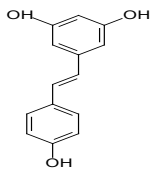
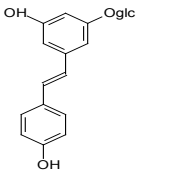
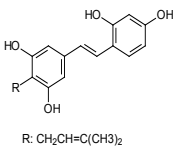
Πέρα από την κύηση, μπορεί να εκδηλωθεί σε δυσλειτουργίες του θυρεοειδούς αδένος, σε άτομα που χρησιμοποιούν καλλυντικά με ορισμένα φωτοευαισθητοποιητικά συστατικά (π.χ. οξειδωμένο λινελαϊκό οξύ, σαλικυλικό, κιτρικό, συντηρητικά) και σε ασθενείς οι οποίοι βρίσκονται σε θεραπεία με φωτοτοξικά φάρμακα^{13, 14}.

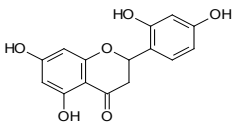
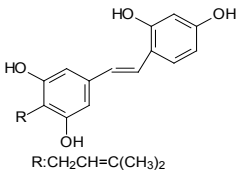
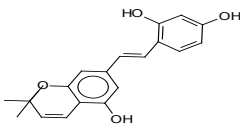
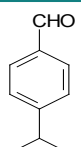
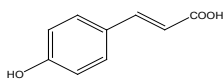
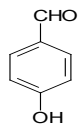
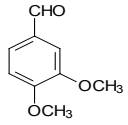
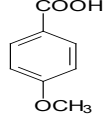
Ο ρόλος της ηλιακής ακτινοβολίας έχει μεγάλη ση-

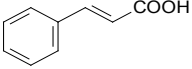
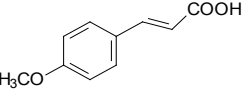
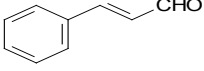
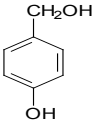
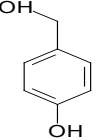
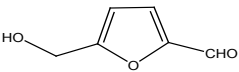
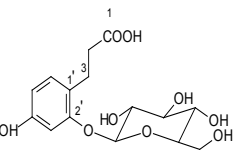
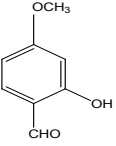
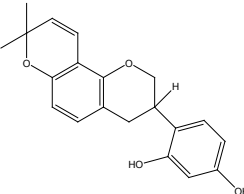
μασία. Εξάρσεις μελάσματος παρατηρούνται σχεδόν αναπόφευκτα μετά από ανεξέλεγκτη έκθεση στον ήλιο, ενώ αντίθετα έχει παρατηρηθεί ξεθώριασμα του μελάσματος κατά τη διάρκεια περιόδων αποφυγής του ήλιου. Οι γενετικοί παράγοντες επικρατούν, όπως υποδηλώνεται από την οικογενειακή εμφάνιση¹³.

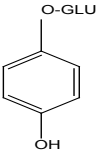
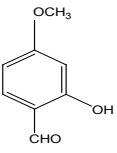
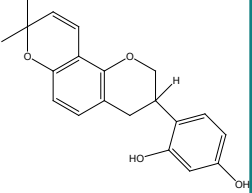
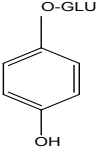
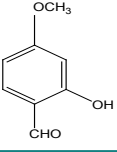
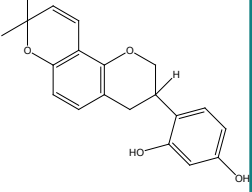
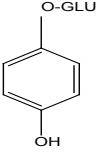
Με βάση τα ανωτέρω, οι ανασταλτικοί παράγοντες της τυροσινάσης έχουν ευρείες εφαρμογές. Τελευταία έχουν γίνει πολύ σημαντικοί στα φαρμακευτικά και καλλυντικά προϊόντα σε σχέση με την υπερμελάγχρωση του δέρματος. Ιδιαίτερα οι ανασταλτικοί παράγοντες, που απομονώνονται από φυσικές πηγές θεωρούνται ανώτεροι έναντι των συνθετικών προϊόντων¹⁵. **K**

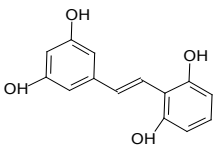
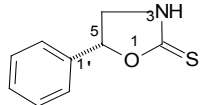
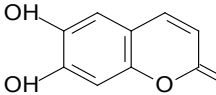
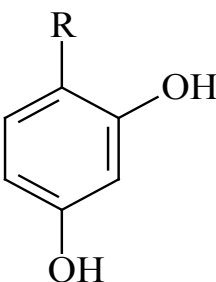
Βιβλιογραφική ανασκόπηση επί της ανασταλτικής δράσης της τυροσινάσης από φυσικά προϊόντα

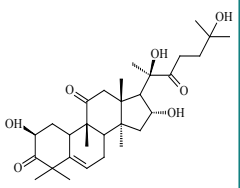
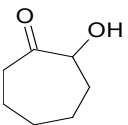
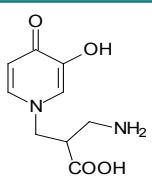
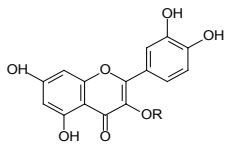
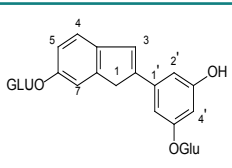
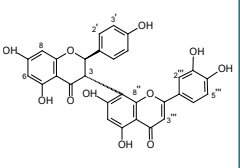
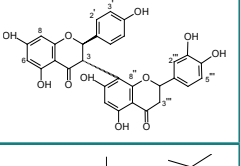
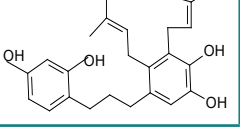
Δραστική ουσία	Χημικός τύπος	Αναστολή δράσης της τυροσινάσης (mushroom tyrosinase)	Βιβλιογραφία
κοζικό οξύ		+	17 (Kubo et al. 2000)
2',3,4',5-τετραϋδροξυστιλβένιο ή οξυρεσβερατρόλη		+ 32 φορές μεγαλύτερη από το κοζικό οξύ	18 (Kim et al. 2002)
ρεσβερατρόλη		+ διπλάσια δράση από το κοζικό οξύ	19 (Ohguchi et al. 2003)
πικεΐδης		+ μεγαλύτερη δράση από το κοζικό οξύ	20 (Ohguchi et al. 2003)
χλωροφορίνη	 R: CH ₂ CH=C(CH ₃) ₂	+ πολύ μεγαλύτερη από το κοζικό οξύ	21 (Shimizu et al. 2005)

Βιβλιογραφική ανασκόπηση επί της ανασταλτικής δράσης της τυροσινάσης από φυσικά προϊόντα			
Δραστική ουσία	Χημικός τύπος	Αναστολή δράσης της τυροσινάσης (mushroom tyrosinase)	Βιβλιογραφία
νορ-αρτοκαρπαρόνη		+ πολύ μεγαλύτερη από το κοζικό οξύ	21 (Shimizu et al. 2005)
4 - πρενυλοξυρεσβερατρόλη	 R:CH ₂ CH=C(CH ₃) ₂	+ μεγαλύτερη από το κοζικό οξύ	21 (Shimizu et al. 2005)
αρτοκαρβένιο		+ πολύ μεγαλύτερη από το κοζικό οξύ	21 (Shimizu et al. 2005)
Φαινολικά παράγωγα		+	23 (Conrad et al. 1994)
κιμιναιδεΰδη		+	15 (Kubo & Kinst-Hori 1998)
κουμαρικό οξύ		+	15 (Kubo & Kinst-Hori 1998)
βενζαλδεΰδη		+	15 (Kubo & Kinst-Hori 1998)
π-υδροξυβενζαλδεΰδη		+	15 (Kubo & Kinst-Hori 1998)
ανισαλδεΰδη		+	15 (Kubo & Kinst-Hori 1998)
ανισικό οξύ		+	15 (Kubo & Kinst-Hori 1998)

Βιβλιογραφική ανασκόπηση επί της ανασταλτικής δράσης της τυροσινάσης από φυσικά προϊόντα			
Δραστική ουσία	Χημικός τύπος	Αναστολή δράσης της τυροσινάσης (mushroom tyrosinase)	Βιβλιογραφία
κινναμικό οξύ		+	23 (Lim et al. 1999)
π-μεθοξικινναμικό οξύ		+	23 (Lim et al. 1999)
κινναλδεΐδη		+	23 (Lim et al. 1999)
π-υδροξυβενζυλο-αλκοόλη		+	15 (Kubo & Kinist-Hori 1998)
π-υδροξυανισόλη		+	15 (Kubo & Kinist-Hori 1998)
5-(υδροξυμεθυλο)-2-φουρφουράλη		+	24 .
3-(2-O-β-D-γλυκοπυρανοσυλο-4-υδροξυφαινυλ) προπανοϊκό οξύ		+	25. Hisamoto et al. 2004
2-υδροξυ-4-μεθοξυβενζαλδεΐδη		+	15 (Kubo & Kinist-Hori, 1999)
γλαβριδίνη		+	26 (Yokota et al., 1998)

Βιβλιογραφική ανασκόπηση επί της ανασταλτικής δράσης της τυροσινάσης από φυσικά προϊόντα			
Δραστική ουσία	Χημικός τύπος	Αναστολή δράσης της τυροσινάσης (mushroom tyrosinase)	Βιβλιογραφία
αρβουτίνη		+	27 (Akiu S. et al., 1991)
παράγωγα φλαβονολών		+	16 (Kubo et al., 2000)
2-υδροξυ-4-μεθοξυβενζαλδεΰδη		+	15 (Kubo & Kinst-Hori, 1999)
γλαβριδίνη		+	26 (Yokota et al., 1998)
αρβουτίνη		+	27 (Akiu S. et al., 1991)
παράγωγα φλαβονολών		+	16 (Kubo et al., 2000)
2-υδροξυ-4-μεθοξυβενζαλδεΰδη		+	15 (Kubo & Kinst-Hori, 1999)
γλαβριδίνη		+	26 (Yokota et al., 1998)
αρβουτίνη		+	27 (Akiu S. et al., 1991)

Βιβλιογραφική ανασκόπηση επί της ανασταλτικής δράσης της τυροσινάσης από φυσικά προϊόντα			
Δραστική ουσία	Χημικός τύπος	Αναστολή δράσης της τυροσινάσης (mushroom tyrosinase)	Βιβλιογραφία
παράγωγα φλαβονολών		+	16 (Kubo et al., 2000)
4-χλωρορεσορκινόλη		+ μεγαλύτερη από το κοζικό οξύ	
4-μεθυλορεσορκινόλη		+ μεγαλύτερη από το κοζικό οξύ	
4-(πρενυλο-μεθυλο)ρεσορτσινόλη		+ πολύ μεγαλύτερη από το κοζικό οξύ	
4-εξυλορεσορκινόλη		+ πολύ μεγαλύτερη από το κοζικό οξύ	
4 - δωδεκυλορεσορκινόλη γνετόλη (2,3',5',6-τετραϋδροξυ- trans-στιλβένιο)		+ πολύ μεγαλύτερη από το κοζικό οξύ	19 (Ohguchi et al. 2003)
4-αιθυλορεσορκινόλη (R)-5-φαινυλο-2- οξαζολιδινηθειόνη (βαρβαρίνη)		+ πολύ μεγαλύτερη από το κοζικό οξύ	29 (Seo et al. 1999)
4 - προπυλορεσορκινόλη αισκουλετίνη		+ πολύ μεγαλύτερη από το κοζικό οξύ	1 (Masamoto et al. 2003)
4-χλωρορεσορκινόλη		+ μεγαλύτερη από το κοζικό οξύ	21 (Shimizu et al. 2005)
4-μεθυλορεσορκινόλη		+ μεγαλύτερη από το κοζικό οξύ	
4-(πρενυλο-μεθυλο)ρεσορτσινόλη		4-(πρενυλο-μεθυλο)ρεσορτσινόλη	
4-εξυλορεσορκινόλη		+ πολύ μεγαλύτερη από το κοζικό οξύ	
4-δωδεκυλορεσορκινόλη		+ πολύ μεγαλύτερη από το κοζικό οξύ	
4-αιθυλορεσορκινόλη		+ πολύ μεγαλύτερη από το κοζικό οξύ	
4-προπυλορεσορκινόλη		+	

Βιβλιογραφική ανασκόπηση επί της ανασταλτικής δράσης της τυροσινάσης από φυσικά προϊόντα			
Δραστική ουσία	Χημικός τύπος	Αναστολή δράσης της τυροσινάσης (mushroom tyrosinase)	Βιβλιογραφία
23,24 -διυδροκουρκουβιτακίνη		+	30 (Oh et al. 2002)
τροπολόνη		+	31 (Kahn & Adrawis 1985)
L-μιμοσίνη		+	31 (Kahn & Adrawis 1985)
κερκετίνη R=H		+	32 (Jeong & Shim 2004)
κερκιτρίνη R=		+	32 (Jeong & Shim 2004)
μελβεροσίδης F (μορακίνο M-6, 3'-δι-O-β-D-γλυκοκυρανοσίδης)		+	18 (Lee et al. 2002)
2R,3S-5,7,4',5'',7'',3''',4'''-επταϋδροξυφλαβανόνη [3-8''] φλαβόνη		+	33
5,7,4',5'',7'',3''',4'''-επταϋδροξυ[3-8''] διφλαβανόνη		+	33
Καζινόλη F		+	34

Abstract

One of the causes of hyperpigmentation is the overproduction of melanin. Melanin is biosynthesized from tyrosine due to the action of tyrosinase, converted in the first steps to 3,4- dihydroxyphenylalanine (DOPA) and 4-(2- carboxy-2-aminoethyl)-1,2-benzoquinone (dopaquinone). Consequently, the enzyme tyrosinase plays a very important role in the process of the biosynthesis of melanin and is significantly related to the pigmentation of the skin. This review article refers to the inhibition of tyrosinase by several natural products.

Key words: tyrosinase, inhibitors, natural products, freckles, melasma, melanoma

Βιβλιογραφία

1. Massamoto Y., Lida S., Kubo M., (1980), "Inhibitory effect of Chinese crude drugs on tyrosinase", *Planta medica*, 40, 361-365.
2. Prota G., D'ischia M., Napolitano A., (1998), "The chemistry of melanin and related compounds.", in the "The pigmentary System Physiology and Pathofisiology.", edited by Nordlund G. G., Boissy R., Hearing V. J., King R. A., Ortone J. P., New York Oxford University Press, p. 391.
3. Marrot L., Belaidi J. P., Meunier J. R., Perez P., Agapakis-Causse C., (1999), "The human melanocyte as a particular target for UVA radiation and an endpoint for photoprotection assessment.", *Photochem. Photobiol.* 69 (6), 686-93.
4. Wenczl E., Van der Schans G. P., Roza L., Kolb R. M., Timmerman A.J., Smit N.P., Pavel S., Schothorst A. A., (1998), "(Pheo)melanin photosensitizes UVA-induced DNA damage in cultured human melanocytes.", *J Invest Dermatol.* 111 (4), 678-82.
5. Du Vivier A., Mckee H. P., (1997), "Atlas of clinical Dermatology", Gower Medical Publishing, London-New York (Ed), "Κλινική Δερματολογία" Ιατρικές Εκδόσεις Π. Χ. Πασχαλίδης, Αθήνα, Μετάφραση Δρ. Παναγ. Σταυρόπουλος.
6. Fitzpatrick T. B., (2003), "Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine" Vol.1, Mc.Graw-Hill Editor, New York, Chicago, San Francisco, Lisbon, London, Madrid, Mexico City, Milan, New Delchi, San Juan, Seoul, Singapore, Sydney, Toronto.
7. http://www.melanoma.gr/greek_page.htm, συντελεστές: Καθ. Τσίφτης Δ., Δρ. Μανιός Α., Χαλκιαδάκης Γ. Ν., Αγγελιδάκης Ν., Σμαρδάς Α.
8. Lee J.A.H. & Storer B. E. (1980) "Excess of melanoma in women in the British Isles" *Lancet* 1980, ii 1337-1339.
9. Liu Tiepu, Seng-jaw Soong, (1996). "Epidemiology of malignant melanoma." *The Surgical Clinics of North America*, 76, 1205-1222.
10. Dey M. P. & Harborne B. J., (1991), "Assays related to cancer drug discovery", In "Methods in Plant Biochemistry", Hostettmann K. (ed), London, San Diego, New York, Boston, Sydney, Tokyo, Toronto, Vol. 6, 89.
11. Βασιλόπουλος Π. Π. (1996), "Εισαγωγικές Παρατηρήσεις για το Μελάνωμα Κλινική διάγνωση", "Το Σύνδρομο του Δυσπλαστικού Σπίλου (Σπίλος του Clark)", Σταδιοποίηση των μελανωμάτων Στο "Το Κακόηθες Μελάνωμα" Αποστολίκας Α., Βασιλόπουλος Π. Π., Λιαρίσκος Σ., Φιλόπουλος Ε., Αθήνα, Ιατρικές Εκδόσεις Πασχαλίδη Π.Χ.
12. Swetter S. M. (1996), "Malignant melanoma from the dermatologic perspective", *The surgical Clinics of North America*, 76, 1287-1298.
13. Κατσάμπας Α. Δ., Lotti T. M., (2001), "Μέλασμα" Στο "Θεραπευτική των δερματικών νοσημάτων Ευρωπαϊκός οδηγός", Επιστημονικές εκδόσεις Παρισιάνου Α. Ε., Αθήνα.
14. Τίγκου Χρυσούλα, Νοσοκομείο "Α. Συγγρός", (2002), "Αλλαγές της φυσιολογίας του δέρματος

Βιβλιογραφία

- κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης.", *Infoderma*, 39.
15. Kubo I., & Kinst-Hori I., (1998), "Tyrosinase inhibitors from Cumin.", *J. Agric. Food Chem.*, 46, 5338-5341. Id., "Tyrosinase inhibitors from Anise Oil.", *J. Agric. Food Chem.*, 46, 1268-1271.
 16. Kubo I., Kinst-Hori I., (1999), "2-Hydroxy-4-methoxybenzaldehyde: a potent tyrosinase inhibitor from African medicinal plants.", *Planta Med.*, 65 (1), 19-22.
 17. Kubo I., Kinst-Hori I., Chaudhuri K. S., Kubo Y., Sanchez Y., Ogura T., (2000), "Flavonols from *Heterotheca inuloides*: Tyrosinase inhibitory activity and structural criteria.", *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 8, 1749-1755.
 18. Lee H. S., Choi Y.S., Kim H., Hwang S. J., Lee G. B., Gao J. J., Kim Y. S., (2002), "Mulberroside F isolated from the leaves of *Morus alba* inhibits melanin biosynthesis.", *Biol. Pharm. Bull.* 25 (8), 1045-1048.
 19. Ohguchi K., Tanaka T., Ito T., Iinuma M., Matsumoto K., Akao Y., Nozawa Y., (2003), "Inhibitory effects of Resveratrol derivatives from *Dipterocarpaceae* Plants on tyrosinase activity.", *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 67 (7), 1587-1589.
 20. Ohguchi K., Tanaka T., Ito T., Iinuma M., Matsumoto K., Akao Y., Nozawa Y., (2003), "Gnetol as a potent tyrosinase inhibitor from Genus *Gnetum*.", *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 67 (3), 663-665.
 21. Shimizu K., Kondo R., Sakai K., Lee S. H., Sato H., (1998) "The inhibitory components from *Artocarpus incisus* in melanin biosynthesis.", *Planta Medica*, 64 (5), 408-412.
 22. Shimizu K., Kondo R., Sakai K., (2000), "Inhibition of tyrosinase by flavonoids, stilbenes and related 4-substituted resorcinols: structure-activity investigations", *Planta Medica*, 66, 11-15.
 23. Conrad S J., Dawso R. S., Hubbard R. E., Meyers E. T., Strothkamp G. K., (1994), "Inhibitor binding to the binuclear active site of tyrosinase: temperature, pH, and solvent deuterium isotope effects.", *Biochemistry* 33, 5739-5744.
 24. Lim J., Ishiguro K., Kubo I., (1999), "Tyrosinase inhibitory p-Coumaric Acid from Ginseng Leaves.", *Phytother. Res.* 13, 371-375.
 25. Sharma K. V., Choi J., Sharma N., Choi M., Seo S., (2004), "In vitro anti-tyrosinase activity of 5-(hydroxymethyl)-2-furfural isolated from *Dictyophora indusiata*.", *Phytother. Res.* 18 (10), 841-844.
 26. Hisamoto M., Kikuzaki H., Nakatani N., (2004), "Constituents of the leaves of *Peucedanum japonicum* Thunb.", *J. Agric. Food Chem.*, 52, 445-450.
 27. Yokota T., Nishio H., Kubota Y., Mizoguchi M., (1998), "The inhibitory effect of glabridin from licorice extracts on melanogenesis and inflammation." *Pigment Cell Res.*, Dec., 11 (6), 355-361.
 28. Akiu S., Suzuki Y., Asahara T., Fujinuma Y., Fukunda M., (1991), "Inhibitory effect of arbutin on melanogenesis-biochemical study using cultured B16 melanoma cells", *Nippon Hifuka Gakkai Zasshi*, 101(6), 609-613.
 29. Seo B., Yun J., Lee S., Kim M., Hwang K., Kim J., Min K., Kim Y., Moon D., (1999), "Barbarin as a new tyrosinase inhibitor from *Barbarea orthoceras*.", *Planta Medica* 65 (8), 683-686.
 30. Oh H., Mun Y. J., Lee S. Y., Song H. J., Lee H. S., Woo W. H., (2002), "Curcubitans from *Trichosanthes kirilowii* as the inhibitory components on tyrosinase activity and melanin synthesis of B16/F10 melanoma cells." *Planta Med.*, 68 (9), 832-833.
 31. Kahn V., Andrawis A., "Inhibition of mushroom tyrosinase by tropolone.", *Phytochemistry*, 24 (5), 905-908.
 32. Jeong H. C., Shim H. K., (2004), "Tyrosinase inhibitor isolated from the Leaves of *Zanthoxylum piperitum*", *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 68 (9), 1984-1987.
 33. Masuda T., Yamashita D., Takeda Y., Yonemori S., (2005), "Screening for tyrosinase inhibitors among extracts of Seashore Plants and identification of potent inhibitors from *Garcinia subelliptica*.", *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 69 (1), 197-201.
 34. <http://www.creative-developments.co.uk/>

Δελτίο τύπου ΕΕΚ για τρέχοντα θέματα στην Ευρώπη για τα καλλυντικά

SCCS Opinions

Δεν υπάρχουν Opinions της SCCS ανοιχτές για σχόλια από τους αρμόδιους φορείς αυτή την περίοδο.

Η SCCS έχει λάβει σχόλια τα οποία θα συζητήσει στα επερχόμενα Working Groups για τις παρακάτω ουσίες:

■ **Βαφές μαλλιών:** HC Red No. 18 (B124), HC Yellow No. 16 (B123), Basic Blue 124

■ **Γενικά συστατικά:** UV filter S86 Phenylene bis-diphenyltriazine, Decamethylcyclopentasiloxane (cyclopentasiloxane, D5) in cosmetic products

■ **Αρώματα:** Butylphenyl methylpropional (BMHCA)

■ **Nano - υλικά:** Opinion on Hydroxyapatite (nano)

■ **Άλλο:** The SCCS notes of guidance for the testing of cosmetic ingredients and their safety evaluation - 9th revision

Άλλα τρέχοντα θέματα

Τον Μάρτιο του 2016 έγινε ο διορισμός νέων μελών (17 στο σύνολο) της επιτροπής SCCS για την πενταετία 2016-2021 σύμφωνα με το Ref. Ares(2016)1171173 - 08/03/2016. Περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τα

ονόματα των μελών μπορείτε να βρείτε στον παρακάτω σύνδεσμο: http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/docs/appointment_letter_2016_en.pdf

RAPEX για τα καλλυντικά 2016

Δεν έχει υπάρξει γνωστοποίηση στο RAPEX για κανένα προϊόν που κυκλοφορεί στην Ελληνική Αγορά το 2016. Πανευρωπαϊκά έγιναν 26 Γνωστοποιήσεις οι οποίες αφορούσαν κυρίως συστατικά τα οποία είτε δεν θα έπρεπε να βρίσκονται καθόλου σε καλλυντικά προϊόντα, είτε βρίσκονταν σε συγκεντρώσεις ανώτερες των επιτρεπτών ορίων.

Θέματα για παραπήλσιες νομοθεσίες

Το 2012 ο Νέος Κανονισμός για τα Βιοκτόνα τέθηκε σε εφαρμογή. Τον Μάρτιο του 2016 παρουσιάστηκε μία έκθεση σχετικά με το αντίκτυπο που είχε αυτός ο Κανονισμός στην αγορά. Σύμφωνα με την έκθεση αυτή οι περιορισμοί και οι εγκρίσεις που απαιτούνται πλέον για τις δραστικές ουσίες που χρησιμοποιούνται στα βιοκτόνα συμβάλουν στην πιο ορθολογική χρήση των βιοκτόνων προϊόντων. **K**

Οδηγίες προς τους συγγραφείς

Δομή κεφαλαίου / ανασκόπησης (Chapter / review structure)

Το κεφάλαιο πρέπει να έχει την ακόλουθη δομή:

- A. Περίληψη 150 - 200 λέξεων, άνευ υποδιαιρέσεων (block abstract) και άνευ βιβλιογραφικών αναφορών.
- B. Λέξεις κλειδιά (Keywords) maximum 6 να εμφανίζονται κάτω από την περίληψη.
- Γ. Κυρίως κείμενο, με υποδιαιρέσεις, συνολικός αριθμός λέξεων από 1.800 - 2.000 και μέχρι 4 εικόνες (πίνακες, διαγράμματα, φωτογραφίες).
- Δ. 'Take home messages', 5 - 8 γραμμές (προαιρετικά).
- Ε. Περίληψη 150 - 200 λέξεων στην Αγγλική γλώσσα. Μετάφραση της αρχικής περίληψης είναι αποδεκτή.

Βιβλιογραφία (References)

Ο μέγιστος αριθμός των βιβλιογραφικών αναφορών (references) είναι 30. Η εμφάνιση των βιβλιογραφικών αναφορών στο κείμενο και στην βιβλιογραφική λίστα πρέπει να βασίζεται στο σύστημα Vancouver. Αυτό είναι το 'αριθμημένο σύστημα' όπου οι βιβλιογραφικές αναφορές αριθμούνται διαδοχικά, όπως εμφανίζονται στο κείμενο και ταξινομούνται με αριθμητική αλληλουχία στην βιβλιογραφική λίστα. Δια την διευκόλυνση των συγγραφέων όλες οι λεπτομέρειες (για την βιβλιογραφία) του συστήματος Vancouver επισυνάπτονται στην παρούσα επιστολή. Περισσότερες πληροφορίες για το σύστημα υπάρχουν στο 'Uniform Requirements for Manuscripts submitted to Biomedical Journals' <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3142758/>

Web references

Η πλήρης URL πρέπει να αναγράφεται με τα ονόματα των συγγραφέων και τις ημερομηνίες.

Πληροφορίες στην σελίδα τίτλου (Title page information)

Η αρχική σελίδα του άρθρου πρέπει να περιλαμβάνει τις ακόλουθες πληροφορίες:

- A. Τίτλο του άρθρου, άνευ συντμήσεων.
- B. Ονόματα των συγγραφέων (Όνομα - Επίθετο).
- Γ. Διευθύνσεις των συγγραφέων (κλινικές, νοσοκομεία, ερευνητικά κέντρα). Αμέσως μετά το όνομα του συγγραφέα πρέπει να υπάρχει ένας δείκτης (με μικρά γράμματα) και ο ίδιος δείκτης να εμφανίζεται πριν από την κατάλληλη διεύθυνση.
- Δ. Ταχυδρομική διεύθυνση κάθε κέντρου, τηλέφωνο επικοινωνίας και E - mail address για κάθε συγγραφέα.
- Ε. Συγγραφέας επικοινωνίας (Corresponding author). Ένα άτομο από την συγγραφική ομάδα για επικοινωνία κατά την διάρκεια της προετοιμασίας και μετά την δημοσίευση του άρθρου. Πλήρης ταχυδρομική διεύθυνση, τηλέφωνα επικοινωνίας και E - mail address είναι απαραίτητα.

Συντμήσεις (Abbreviations)

Συντμήσεις επιτρέπονται μόνο στο κυρίως κείμενο και πρέπει να εμφανίζονται ομοιόμορφα σε όλο το κείμενο.

Πίνακες και διαγράμματα

Πρέπει να περιλαμβάνονται στο κυρίως κείμενο του άρθρου, να εμφανίζονται με αριθμητική αλληλουχία και να γίνεται παραπομπή από το κείμενο στον αντίστοιχο πίνακα ή διάγραμμα.

Φωτογραφίες

Πρέπει να υποβάλλονται χωριστά και να είναι σε μορφή jpeg με ανάλυση τουλάχιστον 300 dpi. Κάθε φωτογραφία να έχει μια λεζάντα με σύντομο τίτλο και σύντομη περιγραφή της εικόνας. Η λεζάντα να μην είναι προσκολλημένη στην φωτογραφία.

Υποβολή των άρθρων

Τα άρθρα υποβάλλονται με E - mail, σε αρχείο MS Word, στην ηλεκτρονική διεύθυνση sohatzi@upatras.gr. Τηλέφωνο 2610 962318.

ΔΙΑΤΡΟΦΗ | ΥΓΕΙΑ | ΟΜΟΡΦΙΑ

ΔΥΟ FORUM 2017

Το μεγαλύτερο Διαδραστικό,
Επιστημονικό
και Εκθεσιακό Forum
της χρονιάς

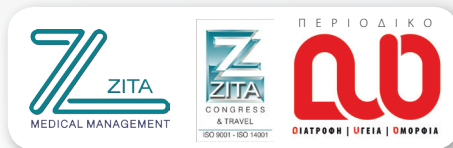
11-12
ΦΕΒΡΟΥΑΡΙΟΥ 2017
ΖΑΠΠΕΙΟΝ ΜΕΓΑΡΟ



Διατροφή Υγεία Ομορφιά

Η συνάντηση χιλιάδων επιστημόνων υγείας, βιομηχανίας και κοινού

ΔΙΟΡΓΑΝΩΣΗ
19 Επιστημονικές Εταιρείες



www.dyoforum.gr

ΜΕ ΤΗΝ ΟΡΓΑΝΩΤΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ
ΤΗΣ ZITA MEDICAL MANAGEMENT



1ο χλμ. Παιανίας - Μαρκοπούλου, Παιανία, www.zita-group.com
Εμπορική Διεύθυνση: Κουλουμπής Γεράσιμος, Τηλ.: +30 211 1001780



From vision to reality...

- Sponsorship
- Website & Digital Marketing
- Graphic Design
- Congress Organization
- Scientific Journals
- Financial Organization
- Media Office
- Travel Services

We've made it a science!

www.zita-management.com

CONTACT

