بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

دانشکده داروسازی

پایان نامه برای دریافت درجه دکترای داروسازی

عنوان

بررسی فیزیکوشیمیایی نانوذرات لیپیدی جامد پوشش دار شده با کیتوزان و بارگزاری شده با تاکرولیموس

استاد راهنما

دکتر حسینعلی ابراهیمی

نگارش

مریم اکبریان

۱۳۹۹

شماره پایان نامه: ۳۱

تشکر و قدردانی:

تشکر و سپاس از خداوند منان که در همهٔ مراحل زندگی و در همهٔ امور به خصوص در انجام این تحقیق، سایبان لطف و عنایت خویش را از من دریغ نفرمود و در لحظه لحظه زندگی یاریم فرمود.

لازم می‌دانم برای انجام وظیفه از استاد راهنمای گرامی، داوران عزیز و بزرگوار و همچنین از کلیهٔ اساتید محترم که در جهت ارتقای علمی اینجانب تلاش نمودند، کمال تقدیر و تشکر را داشته باشم.

تقدیم به:

چکیده

سابقه و زمینه: تاکرولیموس یک عامل مهارکننده قوی سیستم ایمنی می‌باشد که برای پیشگیری از پس زدن ارگان بعد از پیوند عضو استفاده می‌شود. جهت دارورسانی تاکرولیموس روش خوراکی به دلیل راحت بودن و داشتن پذیرش بهتر برای بیماران که به صورت مکرر به این دارو نیاز دارند، استفاده می شود. این روش با یکسری محدودیت هایی همراه می‌باشد مثل: فراهمی زیستی اندک و متغیر، اثر گذر اول کبدی، پنجره درمانی باریک، تغییرات زیاد در خصوصیات فارماکوکینتیکی در بدن بیماران و محلولیت کم. یکی از بهترین راهکارها جهت غلبه بر این محدودیت ها استفاده از نانوذرات برای دارورسانی تاکرولیموس می باشد. هدف ما در این مطالعه استفاده از نانوذرات لیپیدی جامد با پوشش کیتوزانی برای بهبود دارورسانی خوراکی تاکرولیموس و بررسی اثرات آن بود.

مواد و روش‌ها: جهت تعیین مقدار تاکرولیموس با استفاده از رقیق سازی، غلظت های مختلفی از دارو تهیه شده و جذب آن ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر uv-vis در طول موج ۲٤٥ نانومتر اندازه گرفته شد. نمودار کالیبراسیون جذب فرابنفش دارو تهیه شده و سپس این نمودار جهت تعیین مقدار نمونه های مجهول استفاده گردید. سپس نانوذرات جامد لیپیدی حاوی تاکرولیموس با استفاده از روش انتشار حلال تهیه شدند. در نهایت جذب نمونه ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر uv-vis در طول موج ۲٤٥ نانومتر اندازه گیری گردید. سپس برای ارزیابی نانوذرات جامد لیپیدی SLNs ، محاسبه شاخص های بارگزاری دارو در نانوذرات، الگوی رهش تاکرولیموس از SLNs، طیف FTIR (Fourier Transform Infrared Spectrometer) ، بررسی اندازه، شکل، ویژگی های مورفولوژیک ذرات و آنالیز حرارتی SLNs انجام گرفت.

نتایج و بحث : نانوذرات تهیه شده در این مطالعه با میانگین اندازه ۵۰-۱۰۰ نانومتر و به شکل کروی بودند. میزان احتباس دارو ۹۷.۲۹٪ و میزان بارگزاری دارو در SLN ها ۱۳.۳۳٪ بود. نتایج حاصل از عکسبرداری به وسیله میکروسکوپ الکترونی تایید کننده ماهیت کروی و نانوذره ای بودن حامل به دست آمده می باشد. ارزیابی نانوذرات به دست آمده توسط آنالیز FTIR و TGA نشان دهنده عدم تداخل شیمیایی میان حامل استفاده شده و داروی بکار گرفته شده می باشد. به علاوه ساختار پوششی کیتوزان روی سطح نانوذرات SLN و تشکیل پیوند آمیدی میان کیتوزان و استئاریک اسید توسط این آنالیزها تایید می گردد. الگوی رهش دارو دوفازی بوده و SLN های پوشش دار با کیتوزان دارای رهش آهسته تر و کنترل شده تری بود.

نتیجه گیری: . بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش، SLN های پوشش دار با کیتوزان دارای رهش آهسته تر و کنترل شده تری بود. بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش، نانو ذرات لیپیدی جامد متشکل از لیپید اسید استئاریک حامل مناسبی برای داروی تاکرولیموس است.

کلمات کلیدی: تاکرولیموس، نانوفن آوری ، نانوذرات جامد لیپیدیSLN ،کیتوزان، دارورسانی خوراکی،انتشارحلال

فهرست مطالب

فصل ۱: مقدمه ۱

۱-۱- مقدمه و بیان ضرورت انجام پژوهش ۲

۱-۱- تاکرولیموس ۳

۱-۱-۲- فارماکودینامیک تاکرولیموس ۳

۱-۱-۳- فارماکوکینتیک تاکرولیموس ۶

۱-۱-۴- تداخلات دارویی ۶

۱-۱-۵- سمیت ۸

۱-۱-۶- محدودیت های تاکرولیموس ۸

۱-۱-۶-۱- محدودیت های بیوفارماسیوتیکال ۹

۱-۱-۶-۲- تنوع رفتار فارماکوکینتیکی دارو در بیماران ۹

۱-۱-۶-۳- سمیت ۹

۱-۱-۶-۴- سرکوب سیستم ایمنی ۹

۱-۱-۶-۵- سایر عوارض ۹

۱-۱-۷- سیستم های دارورسانی نوین برای تاکرولیموس ۱۰

۱-۱-۸- دارورسانی ۱۱

۱-۱-۹- اطلاعات بالینی در مورد تاکرولیموس ۱۱

۱-۲- دارورسانی کنترل شده ۱۲

۱-۳- انواع سامانه های نانوذره ای ۱۴

۱-۳-۱- میسل ها ۱۴

۱-۳-۲- لیپوزومها ۱۵

۱-۳-۳- دندریمرها ۱۷

۱-۳-۴- پلیمرزوم ها ۱۸

۱-۳-۵- کریستال‌های مایع ۱۹

-1-3-6 نانوسفرها و نانوکپسول ها..... ۲۰

-1-3-7 نانوژل ها ۲۲

۱-۳-۸- هیدروژلها..... ۲۳

۱-۳-۹- نانوذرات جامد لیپیدی (SLN) ۲۵

۱-۴- روش‌های بارگزاری دارو در نانوذرات پلیمری..... ۲۶

۱-۴-۱- جذب سطحی..... ۲۶

-1-4-2 به دام انداختن دارو به وسیله‌ی ذره..... ۲۶

۱-۴-۳- کونژوگه کردن دارو با پلیمر..... ۲۶

۱-۵- رهایش دارو از نانوذرات..... ۲۶

۱-۶- بررسی متون..... ۳۰

۱-۷- اهداف پژوهش..... ۳۳

۱-۷-۱- هدف کلی طرح ۳۳

۲-۴-۱-اهداف اختصاصی طرح ۳۴

۳-۴-۱-اهداف کاربردی طرح ۳۴

۴-۴-۱-فرضیات طرح..... ۳۴

۵-۴-۱-تعریف واژه های کلیدی..... ۳۵

فصل ۲: مواد و روش کار **۳٦**

۲-۱- مواد مورد استفاده ۳۷

۲-۲- دستگاه های مورد استفاده ۳۸

۲-۳- روش کار ۳۸

۲-۳-۱- ساخت نانوذرات جامد لیپیدی (SLN)..... ۳۸

-2-3-1-1 تهیه نانوذرات جامد لیپیدی حاوی تاکرولیموس..... ۳۸

۲-۳-۱-۲- پوشش دار کردن SLNs با کیتوزان..... ۳۹

۲-۱- بهینهسازی اندازه نانوذرات SLN در روش انتشار حلال..... ۴۰

-2-1-2 تعیین مقدار تاکرولیموس..... ۴۱

۲-۱-۳- ارزیابی نانوذرات تهیه شده..... ۴۲

۲-۱-۳-۱- تعیین درصد احتباس دارو در نانوذرات (Entrapment Efficiency, EE%)..... ۴۲

۲-۱-۳-۲- تعیین درصد بارگیری دارو (Drug Loading)..... ۴۲

۲-۱-۴- ارزیابی ویژگیهای فیزیکو شیمیایی نانوذرات جامد لیپیدی..... ۴۳

۲-۱-۴-۱- تعیین اندازه ذره ای نانوذرات SLN..... ۴۳

۲-۱-۴-۲- تعیین پتانسیل زتای نانوذرات SLN..... ۴۳

۲-۱-۴-۳- اسپکتروسکوپی FT-IR..... ۴۳

۲-۱-۴-۴- آنالیز حرارتی SLNs..... ۴۴

۲-۱-۴-۵- میکروسکوپ الکترونی روبشی..... ۴۴

-2-1-4-6 تعیین الگوی رهش تاکرولیموس از SLNs..... ۴۵

۲-۱-۵- روش تجزیه و تحلیل اطلاعات..... ۴۶

فصل ۳: نتایج و بحث **٤٧**

۳-۱- نتایج بهینه سازی اندازه ذرات..... ۴۸

۳-۱-۱- تعیین روابط بین پارامترها در روش انتشار حلال..... ۴۸

۳-۱-۲- رابطه بین غلظت SA و اندازه نانوذرات در روش انتشار حلال..... ۴۹

۳-۱-۳- رابطه بین غلظت GMS و اندازه نانوذرات در روش انتشار حلال..... ۵۰

۳-۱-۴- رابطه بین غلظت توین ۸۰ و اندازه نانوذرات در روش انتشار حلال..... ۵۱

۳-۱-۵- رابطه بین غلظت کیتوزان و اندازه نانوذرات در روش انتشار حلال..... ۵۲

۳-۱-۶- رابطه بین غلظت توین و GMS در روش انتقال حلال ۵۳

۳-۱-۷- رابطه بین غلظت SA و GMS در روش انتقال حلال..... ۵۴

۳-۱-۸- رابطه بین غلظت کیتوزان و سورفکتانت توین در روش انتقال حلال ۵۵

۳-۱-۹- رابطه بین غلظت کیتوزان و SA در روش انتقال حلال..... ۵۷

-3-1-10 نتایج آماری روش انتقال حلال..... ۵۸

۳-۱-۱۱- مقدار بهینه اندازه نانوذرات در روش انتقال حلال توسط نرمافزار..... ۶۰

۳-۲- نتایج DLS..... ۶۱

۳-۳- پتانسیل زتا ۶۲

۳-۴- تصاویر SEM..... ۶۴

۳-۵- نمودار کالیبراسیون جذب فرابنفش تاکرولیموس..... ۶۶

۳-۶- تعیین شاخص های بارگزاری دارو در نانوذرات..... ۶۶

3-7- FTIR..... ۶۷

۳-۸-TGA/DTA ۷۲

۳-۱- تعیین الگوی رهش تاکرولیموس از SLNs..... ۷۸

۳-۶-بحث..... ۷۹

فصل ٤: نتیجه‌گیری **٨٦**

۴-۱- نتیجه گیری..... ۸۷

۴-۲- پیشنهادات..... ۸۸

مراجع **۸۹**

فهرست اشکال

شکل ۱-۱ ساختار شیمیایی تاکرولیموس و متابولیت های احتمالی آن(۳) ۳

شکل ۱-۲ لنفوسیت T و مهار کلسینورین ۵

شکل ۱-۳ سیستم های دارورسانی مختلف برای تاکرولیموس ۱۰

شکل ۱-۴ شکل شماتیک میسل ۱۵

شکل ۱-۵ شکل شماتیک لیپوزوم ۱۷

شکل ۱-۶ دندریمر ۱۸

شکل ۱-۷ شکل شماتیک پلیمرزوم ۱۹

شکل ۱-۸ شکل شماتیک کریستال مایع ۲۰

شکل ۱-۹ شکل شماتیک نانوسفر و نانوکپسول ۲۲

شکل ۱-۱۰ نانوژل ۲۳

شکل ۱-۱۱ شکل شماتیک هیدروژل ۲۵

شکل ۱-۱۲ شکل شماتیک SLN ۲۵

شکل ۱-۱۳ انتشارسطحی همگن از بستر پلیمر(A)، انتشار سطحی ناهمگن (B)، انتشار توده‌ای (C) ۲۹

شکل ۲-۱ پوشش دار کردن نانوذرات با کیتوزان ۳۹

شکل ۳-۱ رابطه بین غلظت SA و اندازه نانوذرات در روش انتقال حلال ۵۰

شکل ۳-۲ رابطه بین غلظت GMS و اندازه نانوذرات در روش انتقال حلال ۵۱

شکل ۳-۳ رابطه بین غلظت توین ۸۰ و اندازه نانوذرات در روش انتقال حلال ۵۲

شکل ۳-۴ رابطه بین غلظت کیتوزان و اندازه نانوذرات در روش انتقال حلال ۵۳

شکل ۳-۵ تأثیر غلظت GMS و سورفکتانت توین روی اندازه ذرات در روش انتقال حلال ۵۴

شکل ۳-۶ تأثیر غلظت GMS و S.A روی اندازه ذرات در روش انتقال حلال ۵۵

شکل ۳-۷ تأثیر غلظت کیتوزان و سورفکتانت توین روی اندازه ذرات در روش انتقال حلال ۵۶

شکل ۳-۸ تأثیر غلظت کیتوزان و SA روی اندازه ذرات در روش انتقال حلال ۵۷

شکل ۳-۹ نمودار پرشیدگی در روش انتقال حلال ۶۰
شکل ۳-۱۰ نتایج DLS مربوط به SLN بدون پوشش ۶۲
شکل ۳-۱۱ نتایج DLS مربوط به SLN پوشش دار ۶۲
شکل ۳-۱۲ پتانسیل زتای SLN بدون پوشش کیتوزانی ۶۳
شکل ۳-۱۳ پتانسیل زتای SLN با پوشش کیتوزانی ۶۴
شکل ۳-۱۴ تصاویر SEM مربوط به SLN ۶۴
شکل ۳-۱۵ تصاویر SEM مربوط به SLN کیتوزان دار ۶۵
شکل ۳-۱۶ منحنی استاندارد تعیین مقدار تاکرولیموس ۶۶
شکل ۳-۱۷ طیف FTIR مربوط به SLN با تاکرولیموس ۶۸
شکل ۳-۱۸ طیف FTIR مربوط به تاکرولیموس خالص ۶۹
شکل ۳-۱۹ طیف FTIR مربوط به SLN کیتوزان دار بدون دارو و سانتریفیوژشده ۶۹
شکل ۳-۲۰ طیف FTIR مربوط به SLN کیتوزان دار با دارو ۷۰
شکل ۳-۲۱ طیف FTIR مربوط به SLN کیتوزان دار با دارو و سانتریفیوژ شده ۷۰
شکل ۳-۲۲ طیف FTIR مربوط به استئاریک اسید ۷۱
شکل ۳-۲۳ طیف FTIR مربوط به کیتوزان ۷۱
شکل ۳-۲۴ نمودار TGA/DTA مربوط به کیتوزان ۷۳
شکل ۳-۲۵ نمودار TGA/DTA مربوط به SLN ۷۴
شکل ۳-۲۶ نمودار TGA/DTA مربوط به استئاریک اسید ۷۵
شکل ۳-۲۷ نمودار TGA/DTA مربوط به SLN همراه دارو ۷۷
شکل ۳-۲۸ نمودار TGA/DTA مربوط به SLN کیتوزان دار همراه با دارو ۷۷
شکل ۳-۲۹ الگوی رهش تاکرولیموس از SLN کیتوزان دار و غیرکیتوزان دار ۷۸

فهرست جداول

جدول ۱-۱ مهار کننده ها و محرک های CYP3A4 ..... ۷

جدول ۲-۱ متغیرهای مستقل و سطوح آنها برای طراحی مرکب مرکزی در روش انتشار حلال ۴۰

جدول ۲-۲ آزمایشات طراحی شده با روش طرح مرکب مرکزی در روش انتشار حلال ۴۰

جدول ۳-۱Anova برای روش سطح پاسخ روش انتقال حلال ۵۸

جدول ۳-۲ نتایج آماری نرمافزار در روش انتقال حلال ۵۸

جدول ۳-۳ مقادیر مربوط به محاسبه درصد بارگیری دارو ۶۷