

الله أكبر  
الحمد لله  
الكرين



دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

دانشکده داروسازی

پایان نامه برای دریافت درجه دکترای داروسازی

عنوان

فرمولاسیون و ارزیابی آزمایشگاهی لیپوزوم های موضعی دوکسپین جهت درمان آگزما

اساتید راهنما

دکتر لیلا رضایی شیرمرد

دکتر شهاب بهلولی

نگارش

آیناز دیده‌ور اصل

## ماحصل آموخته هایم را تقدیم می کنم به:

- \_ مادرم ، سنگ صبوری که الفبای زندگی به من آموخت.
- \_ پدرم ، کوهی استوار و حامی من در طول تمام زندگی.
- \_ خواهرم حدیثه ، دوست مهربان زندگیم که وجودش شادی بخش و صفایش مایه آرامش من است.
- \_ به استادان فرزانه و فرهیخته ای که در راه کسب علم و معرفت مرا یاری نمودند.
- \_ آن صنوبرهای سرخی که چون لاله زاده شدند و چون شقایق ایستاده جان دادند.
- \_ دانشمندان، بزرگان، و جوانمردانی که جان و مال خود را در حفظ و اعتلای این مرز و بوم فدا نموده و می نمایند.
- \_ و تمام آزاد مردانی که نیک می اندیشند و عقل و منطق را پیشه خود نموده و جز رضای الهی و پیشرفت و سعادت جامعه، هدفی ندارند.

## تشکر و قدردانی:

سپاس مخصوص خداوند مهربان که به انسان توانایی و دانایی بخشید تا به بندگان شفق و دردتورز، مهربانی کند و در حل مشکلاتشان یاری شان نماید. از راحت خویش بگذرد و آسایش هم نوعان را مقدم دارد، با او معامله کند و در این خلوص انباز نگیرد و خوش باشد که پروردگار سمیع و بصیر است. سپاس او را که مرا یاری رساند تا بتوانم این مقطع تحصیلی را به پایان رسانده و گامی در راستای اعتلای علم بردارم.

بر خود واجب می‌دانم از اساتید فرزانه سرکارخانم لیلا رضایی شیرمرد و جناب آقای دکتر شهاب بهلولی که به عنوان استاد راهنما در مراحل مختلف این پایان‌نامه همواره با سعه صدر و گشاده رویی در کنار من بودند و در طول مدت تحصیل از راهنمایی‌های اخلاقی و علمی ایشان بهره‌جسته‌ام تشکر و قدردانی نمایم.

همچنین تشکر و سپاس ویژه از آقای دکتر امیرشاه‌رخی، خانم دکتر دادخواه، آقای مهندس عالی‌فرد، دوستان خوبم آقای علی‌رضا رضایی و خانم سلوا افشاری که در مراحل عملی این پروژه مرا یاری نمودند، دارم.

## چکیده

مقدمه: داروی ضد افسردگی سه حلقه ای دوکسپین، یک آنتاگونیست قوی برای گیرنده‌های H1 و H2 است. همچنین اثرات آنتی موسکارینی قابل توجهی دارد که برای درمان درماتیت آتوپیک (AD) استفاده می شود. فرمولاسیون دوکسپین موضعی، اثرات آنتی هیستامینی قابل مقایسه‌ای نسبت به دوکسپین خوراکی دارد. با این حال، همچنان جذب سیستمیک دارد و باعث عوارض جانبی مانند تاری دید، خشکی دهان و احتباس ادرار می-شود. بنابراین، یک فرمولاسیون جدید لیپوزومی از داروی دوکسپین، برای طولانی تر شدن رهش دارو و کاهش جذب آن در خون مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار: لیپوزوم‌های متشکل از فسفاتیدیل کولین و کلسترول با نسبت وزنی ۱:۵، به روش Thin film hydration تهیه شدند و از نظر اندازه ذرات، مورفولوژی و میزان بارگذاری دارو مورد بررسی قرار گرفتند. یافته ها: اندازه ذرات لیپوزوم‌های آماده شده  $208 \pm 5/6$  nm و شاخص ناهمگونی (PDI) تقریباً ۰.۱۸۷ بود. درصد داروی بارگذاری شده در لیپوزوم‌ها (EE%)  $79 \pm 1/3\%$  به دست آمد. برای ارزیابی میزان جذب و رهش دارو از طریق پوست موش، یک مطالعه ex vivo طی یک دوره ۳۰ ساعته با استفاده از فرنز دیفیوژن سل انجام شد. نتایج نشان می‌دهد که تجمع دوکسپین به دام افتاده در فرمولاسیون لیپوزومی در پوست،  $6/3$  برابر بیشتر از دوکسپین موجود در کرم ساده بود. مطالعات در رابطه با نفوذ و جذب دارو نشان داد که جذب دوکسپین در فرمولاسیون معمولی ( $1412 \pm 65/7 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) مقدار قابل توجهی بالاتر از کرم لیپوزومی این دارو ( $338/6 \pm 17/2 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) است.

نتیجه گیری: نتایج حاصل شاهدهی براین است که کرم لیپوزومی دوکسپین به عنوان یک فرمولاسیون مؤثر و آسان برای استفاده است که می‌تواند با تجمع دوکسپین در لایه‌های پوست، به جای جذب به گردش خون سیستمیک که باعث عوارض جانبی و کاهش اثرگذاری موضعی دارو بوده، باعث بهبود درمان خارش مزمن شود.

کلمات کلیدی: دوکسپین ، اگزما، لیپوزوم موضعی، فرنز سل

۱	<b>فصل ۱: مقدمه</b>
۲	۱-۱- بیان مسئله و اهمیت موضوع .....
۳	۲-۱- کلیات.....
۳	۱-۲-۱- پوست .....
۴	۲-۱-۲-۱- استراتوم کورنئوم .....
۶	۳-۱-۲-۱- مسیرهای نفوذ دارو .....
۸	۲-۲-۱- دارورسانی پوستی .....
۱۱	۲-۲-۲-۱- لیپوزوم‌های موضعی .....
۱۲	۳-۲-۲-۱- مزایای استفاده از دارورسانی پوستی لیپوزومی .....
۱۳	۴-۲-۲-۱- مکانیسم‌های نفوذ دارو توسط لیپوزوم به پوست .....
۱۵	۳-۲-۱- خارش .....
۱۶	۴-۲-۱- درمانیت آتوپیک .....
۱۹	۲-۴-۲-۱- هیستامین .....
۱۹	۳-۴-۲-۱- درمان درمانیت آتوپیک.....
۲۰	۱-۳-۴-۲-۱- کورتیکواستروئیدها .....
۲۰	۵-۲-۱- دوکسپین .....
۲۳	۳-۱- بررسی متون .....
۲۵	۴-۱- اهداف پژوهش .....
۲۵	۱-۴-۱- هدف کلی طرح .....
۲۵	۲-۴-۱- اهداف اختصاصی طرح .....
۲۵	۳-۴-۱- اهداف کاربردی طرح .....
۲۵	۴-۴-۱- فرضیات طرح .....
۲۶	۵-۴-۱- تعریف واژه های کلیدی .....

۲۷	<b>فصل ۲: مواد، دستگاه ها و روش ها</b>
۲۸	۱-۲- مواد و روش کار .....
۳۸	۲-۱-۲- تهیه لیپوزوم .....
۴۲	۳-۱-۲- تهیه منحنی کالیراسیون .....
۴۳	۴-۱-۲- بارگذاری دارو .....
۴۴	۵-۱-۲- پتانسیل زتا، اندازه و شکل لیپوزوم ها .....
۴۴	۶-۱-۲- تهیه بافر فسفات سالین .....
۴۵	۷-۱-۲- تهیه کرم موضعی دوکسپین ۵٪ .....
۴۵	۸-۱-۲- تهیه کرم موضعی لیپوزوم‌های دوکسپین .....
۴۵	۹-۱-۲- بررسی رهش دارو و مطالعات Ex_vivo .....
۴۷	۱۰-۱-۲- پایداری لیپوزوم‌ها .....
۴۷	۲-۲- روش تجزیه و تحلیل آماری .....

### فصل ۳: نتایج و بحث

۴۸

- ۳-۱- پتانسیل زتا ، اندازه و شکل لیپوزوم ها..... ۴۹
- ۳-۱-۱- تصاویر میکروسکوپ نوری..... ۴۹
- ۳-۱-۲- تصاویر SEM..... ۵۱
- ۳-۱-۳- تصاویر TEM..... ۵۲
- ۳-۱-۴- نتایج DLS..... ۵۴
- ۳-۱-۵- بارگذاری دارو..... ۵۵
- ۳-۲- میزان آزادسازی دارو از لیپوزومها و عبور و جذب دارو از پوست..... ۵۶
- ۳-۳- پایداری لیپوزومها..... ۵۸
- ۳-۴- بحث..... ۵۹

### فصل ۴: نتیجه گیری و پیشنهادات

۶۳

- ۴-۱- نتیجه گیری..... ۶۴
- ۴-۲- پیشنهادات..... ۶۴

مراجع..... ۶۵

## فهرست اختصارات

اختصار	لغت
<b>N</b>	نرمال
<b>SC</b>	استراتوم کورنئوم
<b>PBS</b>	بافر فسفات سالین
<b>mg</b>	میلی گرم
<b>ml</b>	میلی لیتر
<b>g</b>	گرم
<b>cc</b>	سانتی متر مکعب
<b>TTD</b>	دارورسانی پوستی
<b>H<sub>1</sub></b>	گیرنده هیستامین نوع ۱
<b>H<sub>2</sub></b>	گیرنده هیستامین نوع ۲
<b>AD</b>	Atopic Dermatitis
<b>EE</b>	Entrapment Efficiency
<b>TEM</b>	Transmission electron microscope
<b>SEM</b>	Scanning electron microscope
<b>DLS</b>	Dynamic Light Scattering
<b>PI</b>	polydispersity index
<b>HPLC</b>	High Performance Liquid Chromatography



## فهرست جداول

۲۸	جدول ۱-۲ مواد مورد استفاده.....
۲۹	جدول ۲-۲ دستگاه های مورد استفاده.....
۵۹	جدول ۱-۳ تغییرات %EE در طول شش هفته.....

## فهرست اشکال

- شکل ۱-۱ لایه های مختلف پوست ..... ۴
- شکل ۲-۱ ساختار اپیدرم ..... ۵
- شکل ۳-۱ شکل شماتیک لایه استراتوم کورنئوم ..... ۶
- شکل ۴-۱ مسیرهای انتقال دارو ..... ۸
- شکل ۵-۱ شکل شماتیک آزادسازی دارو از فرمولاسیون تا جذب از طریق مویرگ های پوستی ..... ۹
- شکل ۶-۱ ساختار لیپوزوم ..... ۱۲
- شکل ۷-۱ مکانیسم های احتمالی عمل لیپوزوم ها به عنوان سیستم دارورسانی پوستی ..... ۱۴
- شکل ۸-۱ پوست دچار اگزما ..... ۱۶
- شکل ۹-۱ پاتوفیزیولوژی درماتیت آتوپیک ..... ۱۸
- شکل ۱۰-۱ ساختار شیمیایی دوکسپین هیدروکلراید ..... ۲۱
- شکل ۱۱-۱ کرم موضعی دوکسپین هیدروکلراید ..... ۲۲
- شکل ۱-۲ Heater Stirrer ..... ۳۰
- شکل ۲-۲ Franz Diffusion Cell ..... ۳۰
- شکل ۳-۲ Rotary Evaporator ..... ۳۱
- شکل ۴-۲ Desiccator ..... ۳۲
- شکل ۵-۲ Light Microscope ..... ۳۲
- شکل ۶-۲ Homogenizer ..... ۳۳
- شکل ۷-۲ centrifuge ..... ۳۴
- شکل ۸-۲ HPLC ..... ۳۴
- شکل ۹-۲ Lab Scale ..... ۳۵
- شکل ۱۰-۲ Freeze dryer ..... ۳۵
- شکل ۱۱-۲ Lab Dancer ..... ۳۶
- شکل ۱۲-۲ Water Bath ..... ۳۶
- شکل ۱۳-۲ N<sub>2</sub> Gas ..... ۳۷
- شکل ۱۴-۲ Circulator ..... ۳۷
- شکل ۱۵-۲ تهیه سوسپانسیون لیپوزومی ..... ۳۸
- شکل ۱۶-۲ پراندن حلال توسط روتاری ..... ۳۹
- شکل ۱۷-۲ هموژنایز کردن سوسپانسیون لیپوزومی ..... ۴۰
- شکل ۱۸-۲ نمونه های حاصل از سانتریفیوژ 5000 rpm ..... ۴۱

- شکل ۲-۱۹ خشک کردن رسوب حاصل از سانتریفیوژ در فریزدرایر..... ۴۲
- شکل ۲-۲۰ اصلاح موهای ناحیه شکمی موش..... ۴۶
- شکل ۲-۲۱ جاگذاری پوست در دستگاه فرنز..... ۴۶
- شکل ۳-۱ تصاویر حاصل از میکروسکوپ نوری (الف، ب، ج، د)..... ۵۰
- شکل ۳-۲ تصاویر حاصل از میکروسکوپ SEM (الف، ب، ج)..... ۵۲
- شکل ۳-۳ تصاویر حاصل از میکروسکوپ TEM (الف، ب، ج)..... ۵۴
- شکل ۳-۴ اندازه ذرات بدست آمده از زتاسایزر..... ۵۵
- شکل ۳-۵ منحنی کالیبراسیون..... ۵۶
- شکل ۳-۶ مقدار تجمعی دوکسپین موجود در فرمولاسیون‌ها که از پوست عبور کرده است..... ۵۷
- شکل ۳-۷ منحنی دوز تجمعی دوکسپین موجود در فرمولاسیون‌ها در لایه‌های پوست..... ۵۷
- شکل ۳-۸ قطر لیپوزوم‌های حاوی دوکسپین به عنوان تابعی از زمان..... ۵۸