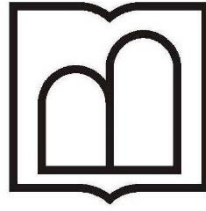


- به نام خداوند جان و خرد -



دانشگاه علوم پزشکی اردبیل
دانشکده داروسازی

پایان‌نامه‌ی رساله‌ی دکتری عمومی داروسازی

عنوان:

**بارگذاری کورکومین در نانوذرات کیتوزان و بررسی اثر آن در پیشگیری از سمیت
قلبی سلکوکسیب**

استادان راهنما
دکتر حسینعلی ابراهیمی
دکتر احمد سلیمی

نگارش
سمیرا اسماعیلی

شماره پایان‌نامه: د-۷۸-۱۹/۲/۱۴۰۰

اردیبهشت ۱۴۰۰

تقدیم به

پدر و مادر بی‌همتا

و

همسر یگانه‌ام

با سپاس از

اساتید راهنمای گرامی ام
دکتر حسینعلی ابراهیمی و دکتر احمد سلیمی
که در تکمیل این پژوهش
از هیچ کوششی دریغ نکردند.

چکیده

مقدمه: اثرات سمیت سلولی سلوکوسیپ گزارش شده و مصرف آن به نسبت افزایش دوز، رابطه مستقیمی با مرگ ناشی از علل قلبی عروقی، انفارکتوس میوکارد، سکتة مغزی، نارسایی قلبی دارد. از سوی دیگر اثرات ضد سمیت سلولی و محافظتی از سلول‌های قلبی-عروقی کورکومین به اثبات رسیده است اما محدودیت آن حلالیت پایین و در نتیجه فراهمی زیستی و پایداری کم آن در بدن است از این رو برای افزایش فراهمی زیستی آن از نانو ذرات لیپیدی جامد (SLN) پوشش دار شده کیتوزان استفاده می‌گردد. این ماده به علت دارا بودن بار مثبت و قدرت اتصال به سطوح دارای بار منفی جهت انتقال دارو به سلول‌های هدف به کار می‌رود. بنابراین به نظر می‌رسد بتوان از بارگذاری کورکومین در نانو ذرات لیپیدی جامد پوشش دار شده با کیتوزان در پیشگیری از سمیت قلبی سلوکوسیپ استفاده نمود.

روش کار: با استفاده از روش رقیق سازی، نمودار کالیبراسیون رسم گردید و در نهایت از معادله این نمودار برای تعیین مقدار نمونه‌های مجهول استفاده گردید. ارزیابی خصوصیات نانو ذرات با تکنیک‌هایی مانند پراکندگی نور دینامیکی، طیف بینی مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR) و میکروسکوپ الکترونی روبشی انجام شد. همچنین میزان احتباس دارو و میزان بارگذاری دارو محاسبه گردید. الگوی رهش دارو با استفاده از کیسه دیالیز بررسی و غلظت داروی آزاد شده با روش طیفسنجی فرابنفش مرئی انجام گردید. مطالعه برون تنی دارو بر روی تعدادی موش با مواجهه سلولی و اندازه گیری سمیت سلولی و پراکسیداسیون لیپید، میزان زنده مانده سلول‌های قلبی و میزان مالون دی آلدئید (MDA) و تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، آسیب‌های میتوکندری و بی‌ثباتی غشای لیزوزومی، گلوتاتیون احیاء (GSH) و گلوتاتیون اکسید شده (GSSG) و تورم میتوکندریایی مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: اندازه نانو ذرات SLN با فرمولاسیون بهینه ۱۳۷ نانومتر در محدوده مورد قبول برای نانو ذرات SLN قرار گرفت. طبق نتایج حاصل از تأثیر پارامترهای مختلف بر اندازه نانو ذرات، افزایش غلظت استتاریک اسید و کیتوزان باعث افزایش اندازه نانو ذرات و افزایش غلظت توئین ۸۰ و گلیسرول مونو استتارات باعث کاهش اندازه نانو ذرات می‌گردد. میزان احتباس دارو و میزان بارگذاری دارو به ترتیب، ۹۰ و ۱۱ درصد محاسبه گردید. نتایج حاصل از FTIR نشان دهنده عدم تداخل شیمیایی بین حامل و دارو می‌باشد. همچنین طبق نتایج حاصل از FTIR و وجود پیوندهای آمیدی بین استتاریک اسید و کیتوزان صحت ساختار اثبات گردید. نتایج حاصل از میکروسکوپ الکترونی روبشی نشان دهنده ساختار کروی نانو ذرات است. الگوی رهش دارو در نانو ذرات با پوشش کیتوزان آهسته تر از نانو ذرات بدون پوشش کیتوزان می‌باشد. مطالعه برون تنی دارو به موش‌ها نشان داد که نانو ذرات با پوشش کیتوزانی کارایی بهتری از نظر میزان زنده مانده سلول‌ها، سمیت سلولی، تشکیل ROS، آسیب‌های میتوکندری، بی‌ثباتی غشای لیزوزومی، گلوتاتیون، فعالیت SDH و تورم میتوکندریایی نسبت به نانو ذرات بدون پوشش نشان داد.

نتیجه گیری: باتوجه به یافته‌های مطالعه می‌توان گفت بارگذاری کورکومین در نانو ذرات جامد پوشش دار شده با کیتوزان می‌تواند در پیشگیری از سمیت قلبی سلوکوسیپ موثر باشد.

کلمات کلیدی: فراهمی زیستی، کیتوزان، نانوفناوری، نانو ذرات لیپیدی جامد، کورکومین، سمیت قلبی، سلوکوسیپ.

فهرست مطالب

صفحه

عنوان

۱	فصل اول: مقدمه	۱
۲	۱-۱- بیان مسئله	۲
۴	۲-۱- اهمیت موضوع	۴
۴	۳-۱- سابقه انجام طرح و بررسی متون	۴
۷	۴-۱- دلایل انتخاب موضوع	۷
۸	۵-۱- اهداف پژوهش	۸
۸	۱-۵-۱- هدف اصلی	۸
۸	۲-۵-۱- هدف‌های فرعی	۸
۹	۳-۵-۱- هدف کاربردی	۹
۹	۶-۱- پرسش‌های پژوهش	۹
۱۰	۷-۱- داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی	۱۰
۱۰	۱-۷-۱- مهارکننده‌های انتخابی COXII	۱۰
۱۱	۸-۱- سلکوکسیب	۱۱
۱۲	۱-۸-۱- مزیت مکانیسم اثر سلکوکسیب نسبت به سایر داروهای غیر استروئیدی ضدالتهابی	۱۲
۱۲	۲-۸-۱- عوارض سلکوکسیب	۱۲
۱۲	۳-۸-۱- خواص ضد سرطان سلکوکسیب	۱۲
۱۳	۴-۸-۱- حلالیت سلکوکسیب	۱۳
۱۳	۵-۸-۱- راه‌حلهایی که تاکنون بر روی افزایش حلالیت سلکوکسیب انجام شد	۱۳
۱۴	۶-۸-۱- علت گرایش به نانو حامل‌ها در آزادسازی سلکوکسیب	۱۴
۱۵	۹-۱- کورکومین	۱۵
۱۷	۱-۹-۱- خواص درمانی و اثرات بیولوژیک کورکومین	۱۷
۱۷	۱-۱-۹-۱- خواص ضدالتهابی	۱۷
۱۸	۲-۱-۹-۱- خواص آنتی‌اکسیدانی	۱۸
۱۸	۳-۱-۹-۱- خواص آپوپتوتیک و ضد سرطان	۱۸
۱۹	۴-۱-۹-۱- خاصیت ضد میکروبی	۱۹
۱۹	۵-۱-۹-۱- اثرات کبدی	۱۹
۱۹	۶-۱-۹-۱- تسریع روند بهبود زخم	۱۹
۲۰	۷-۱-۹-۱- تأثیر کورکومین بر سیستم عصبی	۲۰
۲۰	۸-۱-۹-۱- اثرات قلبی-عروقی	۲۰
۲۱	۱۰-۱- فراهمی زیستی کورکومین	۲۱
۲۲	۱۱-۱- روش‌های افزایش حلالیت کورکومین	۲۲
۲۲	۱۲-۱- توسعه نانو فناوری برای افزایش فراهمی زیستی کورکومین	۲۲

۲۲	۱-۱۲-۱- سیستم ره‌ایش داروی خود امولسیون شونده.....
۲۳	۱-۱۲-۲- نانو ذرات پلی لاکتیک کو گلیکولیک اسید (PLGA).....
۲۴	۱-۱۲-۳- نانوذره دندروزوم.....
۲۴	۱-۱۲-۴- نانو ذرات لیپوزومی.....
۲۵	۱-۱۲-۵- ترکیب با کمپلکس فسفولیپیدی.....
۲۵	۱-۱۲-۶- استفاده از ارگانوژل‌ها.....
۲۵	۱-۱۲-۷- نانو ذرات کیتوزان.....
۲۶	۱-۱۳-۱۳- استرس اکسیداتیو و آسیب قلبی عروقی.....
۲۸	۱-۱۳-۱- پیامدهای بیوشیمیایی تولید ROS تولید در دیواره مجاری.....
۳۰	۱-۱۴-۱- مهارکننده‌های سیکلواکسیژناز و ارتباط آن با ریسک‌های قلبی عروقی.....
۳۱	۱-۱۴-۱- مهارکننده‌ی COX و ارتباط آن با ریسک بیماری قلبی عروقی.....
۳۵	۱-۱۴-۲- مهار COX و بافت قلبی: مطالعات پیش بالینی.....
۳۵	۱-۱۴-۳- پروستاگلندین و سلول‌های T.....
۴۲	فصل دوم: مواد، دستگاه‌ها و روش‌ها.....
۴۳	۱-۲- مواد مورد استفاده.....
۴۴	۲-۲- دستگاه‌های مورد استفاده.....
۴۴	۲-۳- روش کار.....
۴۴	۲-۳-۱- ساخت نانو ذرات لیپیدی جامد (SLN).....
۴۴	۲-۳-۱-۱- ساخت نانو ذرات لیپیدی جامد و بارگذاری داروی کورکومین در آن.....
۴۵	۲-۳-۱-۲- ساخت کیتوزان ۰/۵ درصد.....
۴۵	۲-۳-۱-۳- پوشش‌دار کردن نانو ذرات لیپیدی جامد (SLN) حامل کورکومین با کیتوزان.....
۴۵	۲-۳-۲- تعیین مقدار کورکومین به روش اسپکتروسکوپی.....
۴۶	۲-۳-۳- ارزیابی SLN.....
۴۶	۲-۳-۳-۱- تعیین درصد احتباس دارو در نانو ذرات (Entrapment efficiency).....
۴۷	۲-۳-۳-۲- تعیین درصد بارگذاری داروی کورکومین (Drug Loading Efficiency).....
۴۷	۲-۳-۴- ارزیابی فیزیکوشیمیایی نانو ذرات لیپیدی جامد حاوی کورکومین.....
۴۷	۲-۴-۳-۱- تعیین اندازه ذره‌ای نانو ذرات SLN.....
۴۷	۲-۴-۳-۲- تعیین پتانسیل زتا نانو ذرات SLN.....
۴۸	۲-۴-۳-۳- اسپکتروسکوپی FTIR.....
۴۸	۲-۴-۴- بررسی مورفولوژی سطحی نانو ذرات با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی SEM.....
۴۸	۲-۳-۵- آزمایش رهش کورکومین از نانو ذرات SLN.....
۴۸	۲-۳-۵-۱- آماده سازی کیسه دیالیز.....
۴۹	۲-۳-۵-۲- آزمایش رهش با استفاده از کیسه دیالیز.....

۴۹	۲-۳-۶- آزمایشات برون تنی داروی کورکومین
۵۰	۲-۳-۶-۱- مواد شیمیایی و معرفها
۵۰	۲-۳-۶-۲- جداسازی کاردیومیوسیت موش صحرایی بالغ
۵۳	۲-۳-۶-۳- مواجهه‌های سلولی
۵۳	۲-۳-۶-۴- بررسی زنده‌مانی سلول در سلول‌های ایزوله شده ماهیچه قلبی
۵۴	۲-۳-۶-۵- بررسی گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) در سلول‌های ایزوله شده قلبی
۵۴	۲-۳-۶-۶- بررسی سقوط پتانسیل غشای میتوکندری در سلول‌های ایزوله شده قلبی
۵۵	۲-۳-۶-۷- بررسی ثبات غشای لیزوزومی در سلول‌های ایزوله شده ماهیچه قلبی
۵۵	۲-۳-۶-۸- بررسی محتوای GSH, GSSG در سلول‌های ایزوله شده ماهیچه قلبی
۵۶	۲-۳-۶-۹- بررسی محتوای مالون دی آلدهید در سلول‌های ایزوله شده ماهیچه قلبی
۵۶	۲-۳-۶-۱۰- تفکیک و ایزوله‌سازی میتوکندری
۵۷	۲-۳-۶-۱۱- مواجهه‌های میتوکندری
۵۸	۲-۳-۶-۱۲- بررسی فعالیت سوکسینات دهیدروژناز در میتوکندری ایزوله شده سلول قلبی
۵۸	۲-۳-۶-۱۳- بررسی تورم میتوکندری در میتوکندری ایزوله شده سلول قلبی
۵۹	۲-۴- تحلیل آماری

فصل سوم: نتایج و بحث

۶۰	۳-۱- نتایج تعیین اندازه ذره‌های نانو ذرات SLN
۶۱	۳-۲- نتایج پتانسیل زتا
۶۳	۳-۳- منحنی استاندارد تعیین مقدار کورکومین با استفاده از دستگاه اسپکتروسکوپی
۶۵	۳-۴- تعیین درصد احتباس دارو در نانو ذرات (Entrapment Efficiency (EE))
۶۶	۳-۶- تعیین درصد بارگیری دارو (Drug Loading Efficiency)
۶۶	۳-۵- نتایج طیف FTIR
۶۷	۳-۶- نتایج میکروسکوپ الکترونی روبشی SEM
۶۹	۳-۸- الگوی رهایش سلوکسیب از نانو ذرات SLN
۷۰	۳-۹- نتایج آزمایش برون تنی داروی سلوکسیب
۷۰	۳-۹-۱- بررسی تأثیر کورکومین بارگذاری شده در نانو ذرات لیپیدی جامد پوشش‌دار شده با کیتوزان بر سمیت سلولی و پراکسیداسیون لیپید ناشی از سلوکسیب
۷۰	۳-۹-۲- بررسی تأثیر کورکومین بارگذاری شده در نانو ذرات لیپیدی جامد پوشش‌دار شده با کیتوزان بر تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) ناشی از سلوکسیب
۷۱	۳-۹-۳- بررسی تأثیر کورکومین بارگذاری شده در نانو ذرات لیپیدی جامد پوشش‌دار شده با کیتوزان بر آسیب‌های میتوکندری ناشی از سلوکسیب
۷۲	۳-۹-۴- بررسی تأثیر کورکومین بارگذاری شده در نانو ذرات لیپیدی جامد پوشش‌دار شده با کیتوزان بر بی‌ثباتی غشای لیزوزومی ناشی از سلوکسیب
۷۳	۳-۹-۴- بررسی تأثیر کورکومین بارگذاری شده در نانو ذرات لیپیدی جامد پوشش‌دار شده با کیتوزان بر بی‌ثباتی غشای لیزوزومی ناشی از سلوکسیب

۳-۹-۵- بررسی تأثیر کورکومین بارگذاری شده در نانو ذرات لیپیدی جامد پوشش دار شده با کیتوزان بر گلوکاتیون ناشی از سلکوسیب.....	۷۴
۳-۹-۶- عملکرد میتوکندری در میتوکندری جداشده.....	۷۶
۳-۱۰- بحث.....	۷۷
فصل چهارم: نتیجه گیری و پیشنهادها.....	
۴-۱- نتیجه گیری.....	۸۳
۴-۲- پیشنهادها.....	۸۴
منابع.....	۸۶
	۸۷

فهرست شکل‌ها

صفحه

عنوان

۱۱	شکل (۱-۱) ساختمان مولکولی سلوکوسیب (۲۶)
۱۶	شکل (۲-۱) هدف‌های مولکولی کورکومین و مشابه‌های آن (۴۹)
۱۷	شکل (۳-۱) ساختمان مولکولی کورکومین (۴۸)
۲۶	شکل (۴-۱) کمپلکس کیتوسان/ کورکومین
۲۷	شکل (۵-۱) مهم‌ترین ROS در سلول‌های عروقی (۹۳)
۲۷	شکل (۶-۱) منابع بالقوه ROS (۹۳)
	شکل (۵-۱) مهار COX باعث کاهش و یا افزایش فشارخون (BP) از طریق مهار به ترتیب COXI و COXII کلیوی می‌شود. (۹۸)
۳۱	شکل (۱-۲) جداسازی کاردیومیوسیت موش صحرایی بالغ
۵۲	شکل (۲-۲) تفکیک و ایزوله‌سازی میتوکندری
۵۷	شکل (۱-۳) اندازه نانو ذرات SLN حامل دارو بدون پوشش کیتوزان
۶۱	شکل (۲-۳) اندازه نانو ذرات SLN حامل دارو با پوشش کیتوزان
۶۲	شکل (۳-۳) پتانسیل زتا نانو ذرات SLN حامل دارو بدون پوشش کیتوزان
۶۳	شکل (۴-۳) پتانسیل زتا نانو ذرات SLN حامل دارو با پوشش کیتوزان
۶۴	شکل (۵-۳) نمودار کالیبراسیون کورکومین
۶۵	شکل (۶-۳) طیف FTIR نانو ذرات SLN، SLN حامل دارو با پوشش کیتوزان، استئاریک اسید، گلیسرول مونو استئارات و کیتوزان
۶۷	شکل (۷-۳) تصویر SEM نانو ذرات SLN حامل دارو بدون پوشش کیتوزان
۶۸	شکل (۸-۳) تصویر SEM نانو ذرات SLN حامل دارو با پوشش کیتوزان
۶۹	شکل (۹-۳) نمودار رهش سلوکوسیب از نانو ذرات SLN
۷۰	شکل (۱۰-۳) مقایسه زنده مانی سلول‌ها در کاردیومیوسیت‌های جداشده در گروه‌ها
۷۱	شکل (۱۱-۲) مقایسه تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) ناشی از سلوکوسیب در گروه‌ها
۷۲	شکل (۱۲-۳) مقایسه آسیب‌های میتوکندری ناشی از سلوکوسیب در گروه‌ها
۷۳	شکل (۱۳-۳) مقایسه بی‌ثباتی غشای لیزوزومی ناشی از سلوکوسیب در بین گروه‌ها
۷۴	شکل (۱۴-۳) مقایسه گلوکاتایون ناشی از سلوکوسیب در گروه‌ها
۷۶	شکل (۱۵-۳) مقایسه فعالیت SDH و تورم میتوکندریایی در بین گروه‌ها

فهرست جدول‌ها

صفحه	عنوان
۴۳	جدول (۱-۲) مواد مورد استفاده.....
۴۴	جدول (۲-۲) دستگاه‌های مورد استفاده.....
۴۶	جدول (۳-۲) ترکیب بافر PBS.....