



دانشگاه علوم پزشکی اردبیل
دانشکده داروسازی

پایان نامه ی رساله ی دکتری عمومی داروسازی

عنوان:

ارزیابی میزان افزایش جذب رپاگلینید پس از بارگذاری آن در نانوذرات
لیپیدی در مدل‌های مختلف برون تن

اساتید راهنما:

دکتر حسینعلی ابراهیمی
دکتر کیوان امیرشاهرخی

نگارش:

میلاذ معتمدی

شماره پایان نامه:

مرداد ماه ۱۴۰۱

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

تقدیم به پدر و مادرم

"جناب آقای علی اصغر معتمدی" و "سرکار خانم تهمینه غیبی"

این دوتکیه گاه بزرگ زندگیم ، که هر چه دارم مدیون همراهی و زحمات بی دریغ آنهاست.

تقدیم به همسرم

"سرکار خانم کیمیا حاجی عرب"

به پاس قدردانی از قلبی آکنده از عشق و معرفت که محیطی سرشار از آرامش برایم فراهم آورده است.

تقدیم به اساتید فرزانه و فرهیخته

"جناب آقای دکتر حسینعلی ابراهیمی" و "جناب آقای دکتر کیوان امیر شاهرخی"

که در راه کسب علم و معرفت مرا یاری نمودند و همواره با چراغ علمشان روشنی بخش تاریکی جهل بوده اند

سپاسگزاری

سپاس خدای را که سخنوران، در ستودن او بمانند و شمارندگان، شمردن نعمت های او ندانند و کوشندگان، حق او را گزاردن نتوانند. اکنون که باید آغازی بر یک پایان بنگارم، بر خود لازم می دانم که از اساتید عزیزم جناب آقای دکتر حسینعلی ابراهیمی و جناب آقای دکتر کیوان امیرشاهرخی به خاطر راهنماییهای ارزشمند نهایت تشکر و قدردانی را نمایم.

همچنین مراتب سپاسگزاری را بجا می آورم از:

سرکار خانم دکتر ندا ایزد پناه

سرکار خانم دکتر افسون سیف برقی

جناب آقای دکتر وحید اکرامی

جناب آقای عطا خوش لحنی

که بدون یاری این عزیزان به انجام رساندن این مطالعه برای من میسر نبود.

چکیده

مقدمه: رپاگلینید (RPG) یک داروی ضد دیابت است که قبل از غذا برای کاهش سطح گلوکز ناشتا با تحریک ترشح انسولین از سلول‌های بتای پانکراس تجویز می‌شود و نیمه عمر کوتاهی در حدود ۶۰ دقیقه دارد. بنابراین، درمان طولانی مدت با این دارو نیاز به تجویز مکرر قبل از غذا دارد که منجر به عدم پذیرش بیمار می‌شود. به دلیل محدودیتهای ذکر شده، تلاش‌های زیادی برای توسعه فرمول‌های رهش پایدار و کنترل‌شده از RPG انجام شده است. هدف از این پژوهش، بررسی الگوی رهش دارو در محیط‌های مختلف اسیدی و بازی موجود در دستگاه گوارش و نیز میزان تغییر جذب رپاگلینید پس از بارگذاری آن در نانوذرات لیپیدی جامد (SLN) پوشش دار شده با کیتوزان، در مدل‌های روده جدا شده از حیوان در محیط برون تن می‌باشد.

روش کار: بعد از ساخت نانوذرات SLN، میزان رهش دارو توسط روش کیسه دیالیز در محیط اسیدی و بازی اندازه گیری شد و مقدار غلظت داروی آزاد شده رپاگلینید توسط روش اسپکتروفتومتری (طیف‌سنجی فرابنفش-مرئی) انجام شد. هم چنین آزمایش‌های برون تنی رهش از روده ی رت و گوسفند برای بررسی میزان جذب دارو در روده ی حیوان از نانوذرات SLN با پوشش کیتوزان در مقایسه با محلول داروی خالص انجام گردید.

یافته‌ها و نتیجه‌گیری: نتایج آزمایش رهش رپاگلینید در محیط اسیدی و بازی نشان داد که حداکثر میزان جذب ساختارهای SLN با پوشش کیتوزان بیشتر از داروی خالص است. نتایج آزمایش جذب رپاگلینید در روده رت و گوسفند نشان داد که میزان جذب داروی حامل SLN کیتوزان دار بیشتر از داروی خوراکی ساده است و این تفاوت در روده ی گوسفند از نظر آماری معنی دار بود. این نتایج بیانگر آن است که رهش رپاگلینید از نانوذرات دارای پوشش کیتوزان کنترل شده تر از داروی خوراکی می‌باشد بطوریکه رهش دارو در این نانوذرات مدت زمان طولانی تری در پلاتو باقی می‌ماند و حداکثر میزان آزادسازی دارو در نانوذرات دارای پوشش کیتوزانی بیشتر است.

واژه‌های کلیدی: نانوذرات لیپیدی جامد (SLN)، رپاگلینید، مدل جذب روده ای، آزمایش رهش دارو، دیابت نوع ۲.

فهرست مطالب

فصل اول:	۱
مقدمه	۱
۱-۱-دیابت یا بیماری قند (DM)	۱
۱-۱-۱ ریسک فاکتورها و غربالگری	۳
۱-۱-۲ داروهای ضد دیابت پرمصرف	۴
۱-۲ حامله‌های دارویی نانومقیاس	۵
۱-۲-۱ نانوذرات	۶
۱-۳ روش‌های بررسی تحویل خوراکی دارو	۶
۱-۳-۱ موانع تحویل خوراکی دارو	۷
۱-۳-۲ عوامل مساعد برای تحویل خوراکی دارو	۸
۱-۳-۳ تکنیک‌های آزمایشگاهی	۹
۱-۳-۳-۱ مایعات شبیه ساز معده	۱۰
۱-۳-۳-۲ مطالعات آزادسازی دارو با استفاده از غشاء	۱۱
۱-۳-۳-۳ مطالعات آزادسازی دارو با استفاده از سلول انتشار فرانز	۱۲
۱-۳-۳-۴ تک لایه CACO-2	۱۳
۱-۳-۳-۵ CACO-2 و HT29 COCULTURE	۱۴
۱-۳-۳-۶ کشت همزمان برای تشکیل سلول M	۱۵
۱-۳-۳-۷ روده ی روی تراشه	۱۶
۱-۳-۴ تکنیک‌های Ex vivo	۱۷
۱-۳-۴-۱ کیسه روده ی برآمده	۱۷
۱-۳-۵ تکنیک‌های درجا	۱۸
۱-۵-۳-۱ مدل حلقه ی روده	۱۸
۱-۳-۶ تکنیک‌های in vivo	۱۹
۱-۴-اهمیت موضوع	۱۹
۱-۵-سابقه انجام طرح و بررسی متون	۲۱
۱-۶-دلایل انتخاب موضوع پژوهش	۲۲
۱-۷-اهداف، فرضیات و سوالات پژوهش	۲۳
۱-۷-۱-اهداف طرح	۲۳
۱-۷-۱-۱-هدف کلی طرح	۲۳
۱-۷-۱-۲-اهداف اختصاصی طرح	۲۳
۱-۷-۱-۳-اهداف کاربردی طرح	۲۳
۱-۷-۲-فرضیات یا سوالات پژوهش	۲۳
فصل دوم:	۳۴
مواد، دستگاهها و روشها	۳۴

۳۵	۲-۱-مواد شیمیایی و حلالهای مورد استفاده
۳۵	۲-۲-دستگاههای مورد استفاده
۳۶	۲-۳-روشها
۳۶	۲-۳-۱-تهیه محلول استوک و رسم منحنی کالیبراسیون برای اندازهگیری غلظت رپاگلینید
۳۷	۲-۳-۲-تهیه و ساختن نانوذرات لیپیدی جامد (SLN)
۳۸	۲-۳-۳-تعیین اندازه نانوذرات SLN
۳۸	۲-۳-۴-تعیین پتانسیل زتا نانوذرات SLN
۳۸	۲-۳-۵-بارگذاری داروی رپاگلینید در نانوذرات لیپیدی
۳۹	۲-۳-۶-ساخت نانوذرات لیپیدی جامد (SLN) پوشش داده شده با کیتوزان
۴۰	۲-۴-۱-آمادهسازی کیسه دیالیز
۴۱	۲-۴-۲-آزمایش رهش با استفاده از کیسه دیالیز در شرایط اسیدی و بازی
	۲-۴-۳-آزمایش های برون تنی جذب از روده ی رت و گوسفند برای بررسی میزان جذب دارو در روده
۴۳	ی حیوان از نانوذرات SLN با پوشش کیتوزان در مقایسه با محلول داروی خالص
۴۷	فصل سوم:
۴۷	نتایج
۴۸	۳-۱-تعیین غلظت رپاگلینید با استفاده از منحنی کالیبراسیون (درجه بندی)
۴۸	۳-۲-ساخت حاملهای لیپیدی نانوساختار SLN با پوشش کیتوزان و ویژگی های آن
	۳-۳-آزمایش رهش رپاگلینید از نانوذرات SLN با پوشش کیتوزانی در مقایسه با محلول داروی خالص
۴۹	رپاگلینید با روش کیسه ی دیالیز در محیط شبیه سازی شده معده
	۳-۴-آزمایش رهش رپاگلینید از نانوذرات SLN با پوشش کیتوزانی در مقایسه با محلول داروی خالص
۵۱	رپاگلینید با استفاده از کیسه ی دیالیز در محیط شبیه ساز روده
	۳-۵-آزمایش نفوذ رپاگلینید از نانوذرات SLN با پوشش کیتوزانی در مقایسه با محلول داروی خالص
۵۲	رپاگلینید از روده ی رت
	۳-۶-آزمایش نفوذ رپاگلینید از نانوذرات SLN با پوشش کیتوزانی در مقایسه با محلول داروی خالص
۵۴	رپاگلینید از روده ی گوسفند
۵۶	فصل چهارم:
۵۶	بحث، نتیجه گیری و پیشنهادات
۵۷	۴-۱-بحث
۵۷	۴-۱-۱-تعیین غلظت رپاگلینید با استفاده از منحنی کالیبراسیون (درجه بندی)
	۴-۱-۲-آزمایش رهش رپاگلینید از نانوذرات SLN با پوشش کیتوزانی در مقایسه با محلول داروی خالص
۵۷	رپاگلینید با روش کیسه ی دیالیز و آزمایش نفوذ این ذرات در روده ی رت و روده ی گوسفند
۶۳	۴-۲-نتیجه گیری و پیشنهادات
۶۳	۴-۲-نتیجه گیری
۶۳	۴-۲-۲-پیشنهادات
۶۷	منابع و ماخذ

فهرست علائم، نشانه ها و اختصارات

DM	Diabetes Mellitus
NDDG	National Diabetes Data Group
PCOS	Poly Cystic Ovary Syndrome
TZD	Thiazolidinedione
ATP	Adenosine Tri Phosphate
QID	Quarter in die
TDS	Ter die sumendun
SLN	Solid Lipid Nanoparticles
CaCo ₂	Calcium-cobalt
LP	Lamina Propia
GI	GastroIntestinal
NLC	Nanostructure Lipid Carier
AUMC	Area Under the Moment Curve
AUC	Area Under curve
PCS	Photon Correlation Spectroscopy
SEM	Scanning Electron Microscopy
XRD	X-Ray Diffraction
FTIR	Fourier Transform Infrared
DSC	Differential Scanning Calorimetry
TGA	Thermo gravimetric analysis
DTA	Differential Thermal Analysis
GALT	Gut Associated Lymphoid Tissue
DTG	Differential Thermal Gravimetric
FR	Frog Ringer
NP	Nano Particle
PH	Potential Hydrogen
NSCLC	Non-Small Cell Lung Cancer
GMS	Glyceryl mono stearate

SGF	Simulated Gastric Fluid
SA	Stearic Acid
HCl	Hydrogen Chloride
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
PVP	Poly vinyl pyrrolidon
NaCl	Sodium chloride
KCl	Potassium chloride
KH ₂ PO ₄	Potassium dihydrogen phosphate
EE	Entrapment Efficiency
DLE	Drug Loading Efficiency
PBS	Phosphate Buffer Saline
DLS	Dynamic Light Scattering
PDI	Poly Dispersity Index
ACAG	Accu Check Active Glucometer

فهرست جداول

جدول ۱-۲- لیست مواد شیمیایی و حلالهای مورد استفاده.....	۳۵
جدول ۲-۲- لیست تجهیزات و دستگاههای مورد استفاده.....	۳۶
جدول ۲-۳- اجزاء تشکیل دهنده محلول بافر PBS.....	۴۲
جدول ۱-۳- رهش داروی خالص (پایین) و داروی بارگذاری شده در نانوذرات با پوشش کیتوزانی (بالا) در محیط شبیه ساز معده.....	۵۰
جدول ۲-۳- رهش داروی خالص (پایین) و داروی بارگذاری شده در نانوذرات با پوشش کیتوزانی (بالا) در محیط شبیه ساز روده.....	۵۱
جدول ۳-۳- نفوذ داروی خالص (پایین) و داروی بارگذاری شده در نانوذرات با پوشش کیتوزانی (بالا) از روده ی رت.....	۵۳
جدول ۴-۳- نفوذ داروی خالص (پایین) و داروی بارگذاری شده در نانوذرات با پوشش کیتوزانی (بالا) از روده ی گوسفند.....	۵۵

فهرست اشکال و نمودارها

- شکل ۲-۱: تهیه ی نانوذره..... ۴۰
- شکل ۲-۲- نحوه انجام آزمایشات رهش دارو توسط کیسه دیالیز ۴۲
- شکل ۲-۳- آزمایش ارزیابی جذب دارو از روده رت ۴۵
- شکل ۲-۴- آزمایش ارزیابی جذب دارو از روده گوسفند ۴۶
- شکل ۲-۵: لود دارو داخل روده ی گوسفند..... ۴۶
- شکل ۳-۱- منحنی درجه بندی نوعی بدست آمده برای تعیین غلظت دارو..... ۴۸
- شکل ۳-۲- نمودار اندازه نانوذرات SLN با پوشش کیتوزانی ۴۹
- شکل ۳-۳- نمودار رهش داروی رپاگلینید از نانوذرات SLN کیتوزان دار در محیط شبیه ساز معده..... ۵۰
- شکل ۳-۴- نمودار رهش داروی رپاگلینید از نانوذرات SLN کیتوزان دار در محیط شبیه ساز روده ۵۲
- شکل ۳-۵- نمودار نفوذ داروی رپاگلینید از نانوذرات SLN کیتوزان دار در روده ی رت..... ۵۳
- شکل ۳-۶- نمودار نفوذ داروی رپاگلینید از نانوذرات SLN کیتوزان دار در روده ی گوسفند ۵۵