



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی تهران
پردیس بین الملل - دانشکده داروسازی

پایان نامه

جهت اخذ درجه دکتری عمومی داروسازی

عنوان

**تهیه و بررسی خصوصیات نانو ذرات ساخته شده از
مشتقات تیوله متیله N (N,N-4 دی متیل آمینو بنزیل)
کایتوزان جهت داروسازی انسولین از طریق خوراکی**

استاد راهنما:

جناب آقای دکتر مرتضی رفیعی تهرانی

استاد همکار

سر کار خانم دکتر الهه مرتضویان

جناب آقای دکتر ناصر استاد

نگارش

پری ناز تبریزی

ماه/سال

مرداد/ ۹۳

چکیده

مقدمه و هدف : در بیماران دیابتی ، ترشح انسولین از غده پانکراس مهار می شود، که سبب نیاز به تزریق روزانه انسولین می گردد. تزریق انسولین باعث ایجاد عفونت، درد و استرس در طولانی مدت می شود. دارو رسانی خوراکی انسولین می تواند جایگزین مناسب تزریقی باشد. اکثر روش های دارو رسانی خوراکی انسولین، دارای فراهم زیستی پایین به دلیل تخریب آنزیمی در دستگاه گوارش، پایداری کم در pH معده و سد های فیزیکی لایه اپیتلیوم روده، می باشند. بنابراین ساخت سیستم های کارآمد حامل مانند نانوذرات یا میکروذرات می تواند راه حل مناسبی برای حفظ دارو های حساس نظیر انسولین باشد.

در این میان نانوذرات کایتوزان دارای خصوصیات بهتری می باشند. کایتوزان به دلیل دارا بودن خواص زیست تخریب پذیر و زیست سازگاری، توجهات زیادی را به خود جلب کرده است. کایتوزان در محیط اسیدی و pH های کمتر از 6 دارای بار مثبت بوده و محلول می باشد اما در محیط قلیایی بار مثبت خود را از دست داده و رسوب می نماید. بنابراین مشتقات چهار ظرفیتی (کوآترنیزه) کایتوزان سنتز شدند که همواره دارای بار مثبت هستند تا در محدوده وسیعی از pH، محلول باشند. یکی دیگر از خصوصیات مثبت کایتوزان که در دارورسانی زیاد استفاده می شود، خاصیت جذب افزایی و چسبندگی به مخاط آن می باشد در واقع ثابت شده است که با تیوله کردن کایتوزان خاصیت جذب افزایی و چسبندگی به مخاط آن چندین برابر افزایش می یابد. یکی از مشتقات کایتوزان، مشتق تیوله متیله N (N, N) دی متیل آمینو بنزیل) کایتوزان است که توسط روش سه مرحله ای از کایتوزان ساخته شد و خصوصیات آن توسط طیف HNMR و معرف Ellman مورد بررسی قرار گرفت. مشتق تیوله متیله N (N, N) دی متیل آمینو بنزیل) برای تهیه نانوذرات حاوی انسولین مورد مطالعه قرار گرفتند. نانوذرات حاوی انسولین توسط روش Poly Electrolyte Complexation(PEC) تهیه شدند. نانوذرات در روش PEC زمانی تشکیل می

شوند که ذرات با بار مخالف در کنار هم قرار می گیرند و توسط نیروی الکترواستاتیکی با یکدیگر تداخل می نمایند.

نانوذراتی که توسط روش Poly Electrolyte Complexation در دما ، pH ، غلظت ، نسبت پلیمر به انسولین و دور مشخص تهیه شدند در آخر دارای سایز ۲۶۶ نانومتر بودند که جهت جذب و دارورسانی خوراکی قابل قبول می باشند. درصد انکپسولاسیون 95.7 ± 2.6 درصد، نشان دهنده ورود مناسب انسولین در نانوذرات می باشد. نتایج عکس SEM نشان می دهد نانوذرات شکل کروی بدون تجمع را دارا می باشند. مطالعات آزاد سازی نشان می دهد آزادسازی دارو به صورت تدریجی می باشد و burst effect کمی را نشان می دهد. و همچنین نتایج سمیت بر روی سلول های CoCa2 بود که هیچ گونه سمیت وابسته به دوزی را نشان نداد.

بنابراین، فرمولاسیون نوین حاوی نانوذرات انسولین به همراه پلیمر تیوله متیله (N, N) دی

متیل آمینو بنزیل) کایتوزان قابلیت بالقوه دارورسانی خوراکی انسولین در افراد دیابتی را دارد.

Abstract

In recent years, polymeric nanoparticles are used as carriers in drug delivery due to their ability to protect protein and peptide from degradation by proteolytic enzymes in the gastrointestinal tract. Comprehensive studies have been done on chitosan and its derivatives due to its mucoadhesive properties, ability to open tight junctions and thus improve oral absorption of hydrophilic drugs such as peptides.

In this study, Thiolated Methylated 4-N, (N,N dimethylamino benzyl) chitosan synthesized by adding 4-N, N dimethyl aminobezaldehyd to chitosan solution in acetic acid and then was reduced (Schiff based reaction) and quaternized. The degree of substitution and quaternization was calculated by $^1\text{H-NMR}$. Nanoparticles containing insulin prepared by polyelectrolyte complexation method (PEC) based on interference between positive charged polymers and negatively charged insulin and particle size, zeta potential and loading rats is determined.

In this study, nanoparticles of different variables in insulin concentration, polymer concentration and pH were synthesized and optimized. Optimal conditions was determined regard to smaller nanoparticles, higher entrapment efficiency and lower poly dispersity index (PDI). Results showed that optimize nanoparticles was related to insulin concentration of 2 mg/ml, polymer concentration of 1 mg/ml and pH= 4 for the polymer.

This study shows that Thiolated derivatives of quaternized chitosan protect insulin from degradation by enzymes in the gut, have mucoadhesive properties and open Intestinal Tight junction.

Key words:

Insulin drug delivery, nanoparticle, Chitosan, Oral drug delivery, Peptide and protein drug delivery.