





دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران

پردیس بین الملل، دانشکده داروسازی

پایان نامه جهت دریافت درجه دکتری عمومی داروسازی

عنوان:

بررسی in vitro اثرات ضد HCV نانوپارتیکل مشتقات فولویک اسید استخراج شده

از مومیایی، کنژوگه شده با پلیمر آنیونی دندریمری خطی-کروی نسل دوم.

اساتید راهنما

دکتر حمید رضا منصف اصفهانی

دکتر محمد رضا آقاصادقی

اساتید مشاور

دکتر مهدی شفیعی اردستانی

دکتر سید اسمعیل سادات ابراهیمی

نگارش

نعیم کریم پورفرد

آذر ۱۳۹۶

چکیده

بیماری‌های مزمن کبدی به عنوان تهدیدی برای سلامتی در سراسر دنیا بوده و به نظر می‌رسد HCV، سهم عمده‌ای (حدود ۴۰٪) در این موارد دارد. در حال حاضر درمان بیماران محدود به درمان ترکیبی شامل ترکیبی از اینترفرون تیپ یک و ریبویرین می‌باشد که این رژیم درمانی معایب زیادی دارد. تهیه واکسن نیز برای این ویروس دشوار است. بنابراین شناسایی داروی ضد ویروس جدید اهمیت زیادی در کنترل و درمان بیماری دارد. مومیایی ترکیبی است سیاه مایل به قهوه‌ای که از لابه‌لای سنگ‌ها و صخره‌های موجود در بسیاری از کوه‌های جهان ترشح می‌شود. ماده موثره شاخص مومیایی مشتقات فولویک اسید می‌باشد که طی سال‌های اخیر اثرات آن از جنبه‌های گوناگون به خصوص اثرات ضد ویروسی مورد مطالعه قرار گرفته است. با پیشرفت تکنولوژی و مطرح شدن خواص ویژه نانوپارسیکل‌ها و همچنین پلیمرهایی نظیر دندریمرها، استفاده از آن‌ها در صنعت داروسازی با اهداف مختلف مورد استقبال فراوان قرار گرفته است.

در این پایان‌نامه اثرات ضد HCV نانوپارسیکل مشتقات فولویک اسید استخراج شده از مومیایی، کنژوگه شده با پلیمر آنیونی دندریمری خطی -کروی G2 در شرایط *in vitro* مورد ارزیابی قرار گرفت. ابتدا استخراج مشتقات فولویک اسید از مومیایی صورت گرفت. سپس طی واکنش یک مرحله‌ای، سنتز دندریمر G2 انجام شد. در ادامه، کنژوگه کردن مشتقات فولویک اسید به دندریمر G2 انجام گردید. شناسایی و تایید ساختار هر جسم به کمک FT-IR، UV-Vis، ¹H-NMR، LC-MS، DLS و AFM تایید شد.

درصد زنده ماندن سلول‌های Huh7.5 پس از قرار گرفتن در مجاورت ترکیبات M₁، M₂، F، D و F+D از طریق آزمون XTT تعیین گردید. سپس ویروس HCV با استفاده هریک از ترکیبات در مجاورت سلول‌های Huh7.5 تیمار شد. ترکیب نانوکنژوگه در حدود ۳/۱۳ ± ۷۵/۹۱٪ بیان HCV RNA را مهار کرد. که نسبت به نمونه کنترل اختلاف معناداری داشت (P<0.05).

کلمات کلیدی: مومیایی، فولویک اسید، دندریمر G2، ویروس هپاتیت C، فعالیت ضد ویروسی

Abstract

Chronic liver diseases are a health threat worldwide. which seems to be a major contributor (about 40%) to HCV. Currently, treatment for patients is limited to combination therapy, which includes a combination of type 1 interferon and ribavirin, which has many disadvantages. Vaccine preparation is also difficult for the virus. Therefore, identifying new antiviral drug targets is very important in controlling and treating the disease.

Shilajit is a natural pale-brown to blackish-brown exudation, of variable consistency, exuding from layers of rocks in many mountain ranges of the world. The most active ingredient of shilajit is the fulvic acid derivatives, which has been studied in recent years in various aspects, especially the antiviral effects. Also, with the advancement of technology and Raising the special properties of nanoparticles and also polymers such as dendrimers, their use in pharmaceutical industry has been widely welcomed.

In this thesis, anti-HCV effects of Fulvic acids nanoparticle extracted from Shilajit conjugated with anionic linear-globular dendrimer G₂, were evaluated in vitro conditions.

First, Fulvic acid derivatives from shilajit were extracted. Then, in a one-step reaction, Synthesis of dendrimer G₂ was performed. Fulvic acid derivatives and dendrimer G₂ were mixed and the nano-conjugate was subsequently obtained. The identification and confirmation of the structure of each compounds was confirmed by FT-IR, UV-Vis, ¹H-NMR, LC-MS, DLS and AFM. Percentage of survival of Huh7.5 cells after exposure to M₁, M₂, F, D and F+D were determined according to the XTT test. The HCV virus was then treated with each of the compounds adjacent to Huh7.5 cells. Nano-conjugate of Fulvic acid derivatives with dendrimer G₂ inhibited about 75.91 ± 4% of HCV RNA expression, Which was significantly different from the control sample (P <0.05)

Keywords: Shilajit, Fulvic acids, G₂ dendrimer, HCV, Antiviral activity



Tehran University of Medical Sciences
International Campus-School of Pharmacy

A thesis submitted to the Graduate studies office in partial fulfillment of the
requirement for the degree of Pharmacy

Title:

**Evaluation of fulvic acids nanoparticle extracted from Shilajit
conjugated with anionic linear-globular dendrimer G₂ effects on
HCV in vitro.**

Supervisors:

**Dr. Hamid Reza Monsef Esfahani
Dr. Mohammad Reza Aghasadeghi**

Consultants:

**Dr. Mehdi Shafiee Ardestani
Dr. Seyed Esmaeil Sadat ebrahimi**

By:

Naeim Karimpour-Fard

November.2017