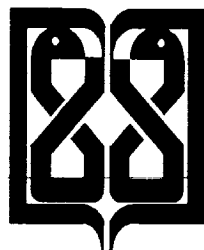


سید



۱۳۷۱

مرکز اطلاعات پزشکی علمی ایران  
تهیه مدارک



۱۳۸۰ / ۱۰ / ۱۱

**دانشگاه علوم پزشکی تهران**

**دانشکده داروسازی**

**پایان نامه**

**جهت دریافت درجه دکتری عمومی در رشته داروسازی**

015428

**موضوع**

**بررسی توزیع انانتیومرهای مفلوکین در گلبولهای قرمز**

**استاد راهنما**

سرکار خانم دکتر عفت سوری

**اساتید مشاور**

جناب آقای دکتر حسن فرسام

سرکار خانم دکتر مهدیه فقیهی

**نگارش**

حمیدرضا اکبریور

شماره پایان نامه: ۴۲۴۵

سال تحصیلی: ۸۱-۱۳۸۰

۳۸۹۱۰

## «تقدیر نامه»

این رساله را اگر قدری باشد جز به علت راهنمایی‌ها و زحمات استاد لرحمندیم سرکار خانم دکتر سوری نمی‌باشد. پس با رخصت ازایشان ، خاضعانه آنرا تقدیم می‌دارم به اولین معلم های زندگیم کسانی که همه هستی من از آنهاست و چه فرصت کوتاهی است برای ستودن آنان و پاس داشتن ذره‌ای از مهرشان و خاضعانه به پای بوس آنها رفتن.....

🌸 تقدیم به پدر مهربانم ستاره درخشان زندگیم که وجود پر مهرش تکیه گاهم و تلالو چشمانش نور امیدم است عزیزی که محبت به من آموخت و اولین مربی و باغبان وجودم شد و نهال وفاداری ، اخلاص و گذشت را در دلم کاشت.

🌸 به نازنین وجودی که بیکران واژه هایی چون عشق، استقامت ، عطوفت، محبت و فداکاری را در قالب کلمهٔ مادر در خود متجلی ساخت و از حلاوت این همه، مرا نافل.

🌸 تقدیم به همسرم معنی واقعی عشق و ایثار او که در تمامی لحظات با صدق و صفا و محبت مشوق من بود. و من همیشه سپاسگذار خوبیهایش هستم.

🌸 به پدر و مادر گرامی همسرم و خانواده محترم بیگی و تازیکه که از محبت های بی دریغشان صمیمانه سپاسگزارم.

🌸 به برادران با محبتم ، عزیزانی که یاری و یاوریشان در هر مرحله از زندگیم ستودنیست و من در حسرت جبران.

## تقدیم به تمام معلمین عرصه فکر و فرهنگ

🌸 به استاد عالم ولرجمند سرکار خانم دکترسوری که علاوه بر راهنمایی های ارزشمندشان، آزادگی علمی شان راهی ستایم وبعنوان درسی به یادماندنی، همواره به خاطرخواهم داشت.

🌸 به اساتید محترم جناب آقای دکتر فرسام و جناب آقای دکتر لمانلو که از راهنمایی هایشان در به انجام رسیدن این مطالعه بهره مند گشتم.

🌸 با تشکر از سرکار خانم دکتر برارزنده که با همراهی اساتید دیگر قضاوت این پایان نامه را عهده دار شدند.

🌸 با سپاس و تشکر از جناب آقای دکتر جلالی زاده که هیچگاه موهبت همفکری و راهنمایی هایشان را دریغ نداشتند.

🌸 با تشکر از کلیه پرسنل گروه شیمی عمومی جناب آقای شهبازی، سرکار خانم مهدی نژاد، و سرکار خانم کارگر نژاد و با سپاس فرولان از زحمات سرکار خانم حاکمی.

🌸 و تقدیم به همه هم شاگردی هایم در ورودی ۷۴

و این پایان نیست بلکه آغازی است بر تلاشی دیگر

چرا که

ما زنده به آنیم که آرام نگیریم

هوجیم که آسودگی ما عدم ما است

## خلاصه

مفلوکین یک داروی ضد مالاریا از دسته کینولین متانولها است که به صورت تک دوز در درمان و پیشگیری مالاریای فالسیپارم مقاوم به درمان بکار می‌رود. این دارو به صورت مخلوط راسمیک دو انانتیومر (+) و (-) استفاده می‌شود. بررسی‌های صورت گرفته نشان داده اند که انانتیومرهای مفلوکین در خصوصیات فارماکوکینتیک و فارماکودینامیک با یکدیگر تفاوت‌هایی نشان می‌دهند. بطور مثال نشان داده شد که غلظت پلاسمایی و خونی انانتیومر (-) در یک داوطلب سالم بیشتر از انانتیومر (+) است همچنین نشان داده شده که نیمه عمر انانتیومر (-) بیشتر است. و یا اینکه انانتیومر SR (-) تمایل بیشتری برای مهار استیل کولین استراز دارد.

طبق بررسی‌های انجام شده تاکنون مطالعه ای در رابطه با توزیع انانتیومرها در سلولهای خونی و بخصوص گلبول قرمز که محل اصلی زندگی انگل مالاریا است انجام نشده است. در مطالعه حاضر با استفاده از روش HPLC و دکتور فلورسانس توزیع انانتیومرهای مفلوکین در داخل گلبولهای قرمز در شش فرد سالم و بالغ (سه زن و سه مرد) با محدوده سنی ۲۰-۴۰ سال و هماتوکریت خون تام در محدوده ۴۳-۵۱ درصد بررسی شد. نتایج نشان دهنده تجمع بیشتر انانتیومر (+) در داخل گلبولهای قرمز بود. در یک آزمایش دیگر تجمع انانتیومرهای مفلوکین در گلبولهای قرمز جدا شده از عوامل خونی دیگر مورد بررسی قرار گرفت که نتایج نشان دهنده تجمع غیر استریوسلکتیو انانتیومرها در گلبولها بود با توجه به نتایج بدست آمده از این مطالعه به نظر می‌رسد تجمع مفلوکین در گلبولهای قرمز به خودی خود استریوسلکتیو نبوده و در اثر عوامل دیگر موجود در خون از جمله سلولهای خونی دیگر و یا اتصال پروتئینی، تجمع استریوسلکتیو دیده می‌شود.

## **Abstract**

*Mefloquin is a chiral drug which is used orally as a racemic mixture for prophylaxis and treatment of drug resistant Plasmodium Falciparum.*

*Previous studies has shown that MFQ enantiomers have some different pharmacokinetic and pharmacodynamic characteristics .*

*Our bibliographical sur vey showed that no report has been sofar given on the distribution of MFQ enantiomers in blood cell especially in red blood cells.*

*In this study distribution of these enantiomers in the RBC was studied using HPLC technique with a fluorescence detector. Distribution of enantiomers in 6 adult individuasl (3man an 3 women) with an age rang 20-40 years was studied the results of this investigation showed the accumulaton of (+) enantiomer of MFQ in RBC. Repeating the same test on isolated RBC showed that accumolation of MFQ enantiomers in RBC is non steriosective. It was concluded that this accumulation of MFQ in RBC is not stereoselective by it self, but it may happen by the effects of other factors within the blood such as protein binding or the effect of other blood cells.*

---

فهرست مطالب

---

صفحه	عنوان
۱	مقدمه.....
۳	۱- جداسازی ترکیبات کایرال.....
۳	۱-۱- تفاوت فارماکودینامیک انانتیومرهای یک دارو در انسان.....
۳	۱-۱-۱- وراپامیل.....
۴	۱-۱-۲- تیمولول.....
۴	۱-۱-۳- پروپوکسی فن.....
۴	۱-۱-۴- سوتالول.....
۵	۱-۱-۵- کینیدین وکینین.....
۵	۱-۲- تفاوت فارماکوکینتیک انانتیومرهای داروها در انسان.....
۵	۱-۲-۱- جذب.....
۶	۱-۲-۲- توزیع.....
۶	۱-۲-۲-۱- اتصال پلاسمایی.....
۷	۱-۲-۲-۲- اتصال بافتی.....
۷	۱-۲-۳- متابولیسم.....
۸	۱-۲-۳-۱- Substrate stereoselectivity.....
۹	۱-۲-۳-۲- product stereoselectivity.....

---

فهرست مطالب

---

صفحه	عنوان
۹	۱-۲-۳-۳-substrate/ product stereoselectivity
۱۰	۱-۲-۳-۴-فارماکوژنتیک و متابولیسم استریوسلکتیو
۱۰	۱-۲-۴-Excretion
۱۰	۱-۲-۴-۱-دفع کلیوی
۱۰	۱-۲-۴-۲-دفع صفراوی
۱۱	۱-۲-۵-استریوسلکتیویتی در حیوانات مختلف
۱۲	۱-۲-۶-عوامل موثر بر فارماکوکینتیک داروها
۱۳	۲-روشهای مختلف جداسازی کایرال
۱۴	۲-۱-۲-روشهای Non-chromatographic
۱۴	۲-۱-۱-دسته بندی فیزیکی کریستالها
۱۴	۲-۱-۲-هسته گذاری انتخابی
۱۴	۲-۱-۳-کریستالیزه کردن در حلالهای کایرال
۱۴	۲-۱-۴-کریستالیزه کردن جزء به جزء نمک های دیاسترومر
۱۵	۲-۱-۵-استفاده از ترکیبات تشکیل دهنده Inclusion complex
۱۵	۲-۱-۶-روش های کینتیک یا بیوشیمیایی
۱۵	۲-۲-روشهای chromatographic



---

فهرست مطالب

---

صفحه	عنوان
۱۶	۱-۲-۲- کروماتوگرافی لایه نازک.....
۱۶	۲-۲-۲- کروماتوگرافی گاز- مایع.....
۱۷	۳-۲-۲- کروماتوگرافی فوق بحرانی مایع (SFC).....
۱۷	۴-۲-۲- روش های capillary Electrophoresis.....
۱۷	۵-۲-۲- HPLC.....
۱۸	۱-۲-۲-۵- روش مستقیم.....
۱۸	۱-۱-۲-۲-۵- استفاده از فازهای ثابت کایرال در HPLC.....
۲۳	۲-۱-۲-۲-۵- مزایا و معایب استفاده از فازهای ثابت کایرال.....
۲۳	۳-۱-۲-۲-۵- استفاده از فاز متحرک کایرال.....
۲۵	۴-۱-۲-۲-۵- مزایا و معایب استفاده از فازهای متحرک کایرال.....
۲۵	۲-۲-۲-۵- روش های غیرمستقیم.....
۲۶	۱-۲-۲-۵- انتخاب معرف کایرال جهت جداسازی.....
۲۸	۲-۲-۲-۵- معرف های کایرال مورد استفاده در جداسازی.....
۳۳	۳-۲-۲-۵- مزایا و معایب استفاده از روش غیرمستقیم.....
۳۵	۳- مفلوکین.....
۳۵	۱-۳- تاریخچه.....

---

فهرست مطالب

---

عنوان	صفحه
۲-۳- ساختمان شیمیایی.....	۳۶
۳-۳- مکانیسم عمل مفلوکین.....	۳۷
۳-۴- کارآیی.....	۴۱
۳-۵- اثر ضد پارازیت انانتیومرهای مفلوکین.....	۴۴
۳-۶- اشکال دارویی مفلوکین.....	۴۵
۳-۷- سمیت.....	۴۶
۳-۷-۱- سمیت در حیوان.....	۴۶
۳-۷-۲- عوارض جانبی.....	۴۷
۳-۸- روش های تعیین مقدار مفلوکین.....	۴۸
۳-۸-۱- روش های تعیین مقدار مفلوکین راسمیک.....	۴۸
۳-۸-۲- روش های تعیین مقدار ایزومرهای مفلوکین.....	۴۹
۳-۹- ویژگی های فارماکوکینتیک.....	۵۱
۳-۹-۱- فارماکوکینتیک دوز واحد در افراد سالم.....	۵۱
۳-۹-۱-۱- جذب.....	۵۲
۳-۹-۱-۲- توزیع.....	۵۲
۳-۹-۱-۳- متابولیسم.....	۵۳

---

## فهرست مطالب

---

صفحه	عنوان
۵۴	۴-۱-۹-۳- دفع
۵۵	۲-۹-۳- فارماکوکینتیک چند دوز در افراد سالم
۵۵	۱-۲-۹-۳- بزرگسالان
۵۵	۲-۲-۹-۳- زنان باردار
۵۶	۲-۲-۹-۳- مادران شیرده
۵۶	۳-۹-۳- فارماکوکینتیک در بیماران مبتلا به مالاریای فالسیپارم
۵۶	۴-۹-۳- تداخل دارویی
۵۷	۵-۹-۳- فارماکوکینتیک استریوسلکتیو
۵۹	۴- بخش تجربی
۵۹	۱-۴- مقدمه
۶۰	۲-۴- مواد شیمیایی و معرف‌ها
۶۰	۳-۴- تهیه محلولهای استاندارد
۶۰	۱-۲-۴- محلولهای استاندارد مفلوکین
۶۱	۲-۲-۴- محلول معرف
۶۱	۳-۲-۴- تهیه بافر بورات
۶۱	۴-۲-۴- تهیه بافر HEPES

---

## فهرست مطالب

---

صفحه	عنوان
۶۱	۴-۴- دستگاہ‌های مورد استفاده .....
۶۲	۴-۵- شرایط کروماتوگرافی .....
۶۲	۴-۶- نمونه های خونی .....
۶۳	۴-۷- مجاورت کردن دارو با نمونه های خونی .....
۶۳	۴-۸- جداسازی فراکسیون های خون و تهیه نمونه ها .....
۶۳	۴-۸-۱- تهیه نمونه خونی .....
۶۳	۴-۸-۲- تهیه P.R.P (Platelet Rich Plasma) .....
۶۴	۴-۸-۳- تهیه P.P.P (Platelet Poor Plasma) .....
۶۴	۴-۸-۴- تهیه سوسپانسیون گلبولهای قرمز .....
۶۴	۴-۸-۵- اندازه گیری هماتوکریت .....
۶۴	۴-۸-۶- تهیه نمونه گلبولهای قرمز .....
۶۵	۴-۹- تهیه گلبولهای قرمز .....
۶۵	۴-۱۰- مجاور کردن گلبولهای جدا شده با مفلوکین .....
۶۵	۴-۱۱- استخراج مفلوکین از نمونه های خونی .....
۶۶	۴-۱۲- اندازه گیری غلظت انانتیومرهای مفلوکین .....
۶۶	۴-۱۳- محاسبه .....

---

## فهرست مطالب

---

عنوان	صفحه
۵- نتایج و بحث .....	۶۷
۵-۱- روش اندازه گیری انانتیومرهای مفلوکین .....	۶۷
۵-۲- غلظت انانتیومرهای مفلوکین در اجزای خونی جدا شده پس از مجاور کردن خون تام با دارو.....	۶۷
۵-۲-۱- غلظت انانتیومرهای مفلوکین در گلبولهای قرمز .....	۶۹
۵-۲-۲- غلظت انانتیومرهای مفلوکین در PRP .....	۷۱
۵-۲-۳- غلظت انانتیومرهای مفلوکین در PPP .....	۷۱
۵-۲-۴- مقایسه غلظت انانتیومرهای مفلوکین در اجزای مختلف خون. ۷۱	
۵-۲-۵- غلظت انانتیومرهای مفلوکین در گلبولهای قرمز جدا شده ....	۷۴
۵-۲-۶- مقایسه غلظت انانتیومرهای مفلوکین در گلبولهای قرمز جدا شده بعد از مجاورت با دارو و گلبولهای قرمز مجاور شده با دارو.....	۷۵
۵-۳- نتیجه نهایی.....	۷۹
منابع.....	۸۱

## مقدمه

نزدیک به حدود ۶۰ درصد ترکیبات مورد استفاده در درمان ، کایرال هستند و حدود ۹۰ درصد از این ترکیبات به صورت راسمیک مورد استفاده قرار می گیرند . مطالعات نشان داده است که یکی از انانتیومرها دارای اثر بیولوژیک خاص است ولی انانتیومر دیگر می تواند دارای همان اثر یا اثری کاملاً متفاوت و یا کاملاً بی اثر باشد . همچنین انانتیومرهای یک مخلوط راسمیک در بسیاری از موارد در ویژگی های فارماکوکینتیک نیز با یکدیگر تفاوت دارند در مطالعه حاضر بر اساس یک روش جدا سازی ، نحوه توزیع انانتیومرهای داروی مفلوکین در اجزای مختلف خون مورد بررسی قرار گرفته است .

مفلوکین یک داروی ضد مالاریا از دسته Quinolinemethanol ها است که در پیشگیری و درمان مالاریای ناشی از پلاسمودیوم فالسیپارم که Multi Drug Resistant است به کار می رود ( ۱ ) .

چندین روش مختلف برای بررسی فارماکوکینتیک این دارو مورد مطالعه قرار گرفته است اما روش HPLC بیشتر از بقیه مورد استفاده بوده است ( ۱ ) .

ویژگیهای فارماکوکینتیک و فارماکودینامیک انانتیومرهای مفلوکین با یکدیگر متفاوت است . در این مطالعه برای بررسی نحوه توزیع انانتیومرهای مفلوکین در خون و اجزای آن از روش طراحی شده توسط Yngve Bergvist

و همکاران استفاده شده است . در این روش از ( - ) - ۱ - ( ۹- فلوئورنیل ) اتیل کلروفرمات به عنوان معرف برای تشکیل مشتقات دیاسترومر با مفلوکین استفاده شده است . جدا سازی دیاسترومرها در سیستم HPLC بر روی ستونی از Novapak C18 و مخلوطی از استونیتریل ، آب و استیک اسید به عنوان فاز متحرک انجام گرفت ( ۲ ) .

استخراج انانتیومرهای مفلوکین از مایعات بیولوژیک و شرایط انجام واکنش برای تشکیل دیاسترومرها مورد بررسی قرار گرفت . روش کار بدین صورت بود که بعد از مجاورت دارو با خون انسان ، غلظت انانتیومرهای مفلوکین در گلبولهای قرمز ، PRP و PPP اندازه گیری شد . نتایج حاصل نشان دهنده توزیع استریوسلکتیو مفلوکین در اجزای مختلف خون است .

غلظت انانتیومر ( + ) در داخل گلبولهای قرمز که محل اصلی زندگی انگل مالاریا می باشد بیشتر از غلظت انانتیومر ( - ) بود .