

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه آزاد اسلامی

واحد تهران مرکزی

دانشکده علوم پایه، گروه شیمی

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد (M.Sc)

گرایش : شیمی تجزیه

عنوان :

جداسازی و اندازه گیری داروی الانزایم با استفاده از پلیمرهای قالب مولکولی

استاد راهنما :

دکتر عاطفه تمدن

استاد مشاور :

دکتر بهروز اکبری

پژوهشگر :

لیلا کریمخانی

زمستان ۱۳۹۰



Islamic Azad University

Central Tehran Branch

Faculty of Science-Department of Chemistry

“M.Sc” Thesis

On Analytical Chemistry

Subject:

Extraction and Determination of Olanzapine using Molecularly Imprinting
polymer

Advisor:

Dr. Atefeh Tamaddon

Consulting- Advisor:

Dr. Behrouz akbari

By:

Leyla Karimkhani

Winter 2012

تشکر و قدردانی :

باسپاس و تشکر فراوان از تمامی کسانی که مرا در به سرانجام رساندن پایان نامه ام یاری رساندند؛ پدر و مادر عزیزم که همیشه حامی من بوده اند، استاد راهنمای عزیزم سرکار خانم دکتر تمدن، جناب آقای دکتر اکبری ، استاد مشاور عزیز و جناب آقای دکتر فیض بخش که داوری این رساله را بر عهده داشته اند و تمامی دوستان عزیزم. برای تمامی این عزیزان آرزوی موفقیت و سرفرازی دارم.

تقدیم به:

پدر و مادر مهربان و فداکارم

فهرست مطالب

صفحه

۱ چکیده

۲ اهمیت و ضرورت انجام تحقیق

فصل اول:

۳ ۱-۱- مقدمه ای بر داروی الانزایین

۳ ۲-۱- روان گسیختگی، اسکیزوفرنی یا شیزوفرنی

۳ ۱-۲-۱- نشانه های مثبت

۳ ۱-۲-۲- نشانه های منفی

۴ ۱-۳- اختلال دو قطبی (شیدایی)

۴ ۱-۴- معرفی دارو

۵ ۱-۴-۱- موارد مصرف

۵ ۱-۴-۱-۱- فرمولاسیون های درمان و نگهدارنده

۵ ۱-۴-۱-۲- فرمولاسیون عضلانی

۵ ۱-۵- تاییدیه ی تجویز

۵ ۱-۶- مصرف دارو برای افراد مسن

۵ ۱-۷- انواع داروی الانزایین موجود در بازار

۶ ۱-۸- تداخلات دارویی

۶ ۱-۹- مشخصات فیزیکی و شیمیایی

۸ ۱-۱۰- پیگیری و بررسی تاثیر دارو

۸ ۱-۱۰-۱- مصرف در دوران شیردهی

- ۸-۱۰-۲- آموزش بیمار/خانواده.....
- ۹-۱۱-۱- روش سنتز دارو.....
- ۱۰-۱۲-۱- تجزیه کیفی.....
- ۱۰-۱۳-۱- تجزیه کمی.....

فصل دوم:

- ۱۲-۱- مفهوم کلی پلیمر.....
- ۱۲-۲- تاریخچه قالب زنی.....
- ۱۳-۳- مفهوم قالب زنی مولکولی.....
- ۱۴-۴- تکنولوژی قالب زنی مولکولی.....
- ۱۶-۵-۲- عوامل موثر برای تهیه ی پلیمر قالب مولکولی.....
- ۱۶-۱-۵-۲- انتخاب آنالیت هدف.....
- ۱۷-۲-۵-۲- مونومر عاملی.....
- ۱۸-۳-۵-۲- شبکه ساز (اتصال دهنده عرضی).....
- ۱۹-۴-۵-۲- حلال.....
- ۲۰-۵-۵-۲- آغازگر.....
- ۲۱-۶-۲- خواص MIPs.....
- ۲۱-۷-۲- انواع برهم کنش ها.....
- ۲۲-۱-۷-۲- معایب برهم کنش های کوالانسی.....
- ۲۲-۲-۷-۲- معایب برهم کنش های غیر کوالانسی.....
- ۲۲-۳-۷-۲- مقایسه ترکیبات قالبی کوالانسی و غیر کوالانسی.....
- ۲۳-۸-۲- سنتز پلیمرهای قالب مولکولی.....
- ۲۵-۹-۲- شبکه پلیمرهای NIP.....

فصل سوم:

- ۲۷-۱-۳- مفهوم کلی کروماتوگرافی ۲۷
- ۲۷-۲-۳- انواع روش های کروماتوگرافی ۲۷
- ۲۸-۱-۲-۳- کروماتوگرافی مایع ۲۸
- ۲۸-۱-۱-۲-۳- کروماتوگرافی مایع-مایع (LLC) ۲۸
- ۲۸-۲-۱-۲-۳- کروماتوگرافی مایع- فاز پیوندی (BP) ۲۸
- ۲۹-۳-۱-۲-۳- کروماتوگرافی جامد-مایع (LSC) ۲۹
- ۲۹-۴-۱-۲-۳- کروماتوگرافی تبادل یونی (IE) ۲۹
- ۲۹-۵-۱-۲-۳- کروماتوگرافی اندازه طردی (غربالی) ۲۹
- ۲۹-۲-۲-۳- کروماتوگرافی گازی (GC) ۲۹
- ۲۹-۱-۲-۲-۳- کروماتوگرافی گاز-مایع (GLC) ۲۹
- ۳۰-۲-۲-۲-۳- کروماتوگرافی گاز- فاز پیوندی (BP) ۳۰
- ۳۰-۳-۲-۳- کروماتوگرافی سیال فوق بحرانی (SFC) ۳۰
- ۳۰-۳-۳- شویش ها در کروماتوگرافی فاز مایع ۳۰
- ۳۰-۱-۳-۳- شستشوی ساده (ایزوکراتیک) ۳۰
- ۳۰-۲-۳-۳- شستشوی تدریجی (گرادیانی) ۳۰
- ۳۱-۴-۳- تئوری کروماتوگرافی ۳۱
- ۳۱-۱-۴-۳- فاکتور بازداری ۳۱
- ۳۱-۲-۴-۳- اندازه گیری کمی کارایی ستون ۳۱
- ۳۲-۳-۴-۳- قدرت تفکیک ستون ۳۲
- ۳۲-۴-۴-۳- کفایت ستون و تعداد صفحات فرضی ۳۲
- ۳۳-۵-۴-۳- اثر طول ستون، فشار و سرعت بر کفایت ستون ۳۳

- ۳۴..... ۶-۴-۳-فاکتور ظرفیت
- ۳۵..... ۷-۴-۳-فاکتور جداکننده
- ۳۵..... ۸-۴-۳-فاز متحرک
- ۳۶..... ۱-۸-۴-۳-خصوصیات فاز متحرک
- ۳۶..... ۲-۸-۴-۳-pH فاز متحرک
- ۳۷..... ۹-۴-۳-انتخاب فاز ساکن مناسب
- ۳۹..... ۱-۹-۴-۳-pH فاز ساکن
- ۴۰..... ۵-۳-تجهیزات کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)
- ۴۰..... ۱-۵-۳-پمپ
- ۴۰..... ۱-۱-۵-۳-پمپ سرنگی
- ۴۰..... ۲-۱-۵-۳-پمپ پیستونی
- ۴۱..... ۲-۵-۳-سیستم تزریق نمونه
- ۴۱..... ۳-۵-۳-ستون ها
- ۴۲..... ۱-۳-۵-۳-مشخصات ستون
- ۴۳..... ۴-۵-۳-آشکار سازی
- ۴۴..... ۶-۳-مزایای روش های کروماتوگرافی
- ۴۵..... ۷-۳-کاربردهای کروماتوگرافی مایع
- ۴۷..... ۸-۳-تعیین ویژگی پلیمر
- ۴۷..... ۱-۸-۳-تعیین ویژگی شیمیایی
- ۴۷..... ۱-۱-۸-۳-میکروآنالیز عنصری (CHN)
- ۴۷..... ۲-۱-۸-۳-طیف سنجی تبدیل فوریه زیر قرمز (FT-IR)
- ۴۸..... ۳-۱-۸-۳-NMR حالت جامد
- ۴۸..... ۲-۸-۳-تعیین ویژگی ظاهری

۴۸ ۱-۲-۸-۳ آزمایش جذب حلال
۴۸ ۲-۲-۸-۳ تعیین حفرات با جذب نیتروژن
۴۹ ۳-۲-۸-۳ تعیین حفرات با وارد کردن جیوه
۴۹ ۳-۸-۳ تعیین ویژگی و شناخت رفتار مولکولی
۴۹ ۱-۳-۸-۳ وزن سنجی حرارتی TGA
۴۹ ۲-۳-۸-۳ میکروسکوپی SEM
۴۹ ۳-۳-۸-۳ میکروسکوپ الکترونی عبوری TEM

فصل چهارم:

۵۱ ۱-۴ مواد و واکنش گرهای استفاده شده در مراحل سنتز و تعیین شرایط بهینه پلیمر قالب مولکولی
۵۱ ۱-۱-۴ متانول
۵۱ ۲-۱-۴ دی سدیم هیدروژن فسفات
۵۱ ۳-۱-۴ دی سدیم هیدروژن فسفات
۵۲ ۴-۱-۴ اتانول
۵۲ ۵-۱-۴ استون
۵۲ ۶-۱-۴ اسید استیک
۵۳ ۷-۱-۴ استونیتریل
۵۳ ۸-۱-۴ تری فلونورواستیک اسید
۵۳ ۹-۱-۴ آغازگر ۲ و ۲ آزوبیس ایزوبوتیل و نیتریل
۵۴ ۱۰-۱-۴ اتیلن گلیکول دی متاکریلات
۵۴ ۱۱-۱-۴ متاکریلیک اسید
۵۴ ۱۲-۱-۴ کلروفرم

۵۴ ۱-۳-۱-تری اتیل آمین
۵۵ ۲-۴-دستگاه های مورد استفاده در آزمایشگاه
۵۵ ۱-۲-۴-سانتریفیوژ
۵۵ ۲-۲-۴-همزن ورتکس
۵۵ ۳-۲-۴-دستگاه اسپکترو فتومتر ماوراء بنفش-مرئی
۵۵ ۴-۲-۴-التراسونیک
۵۶ ۵-۲-۴-دستگاه HPLC
۵۶ ۶-۲-۴-دستگاه FT-IR
۵۶ ۷-۲-۴-دستگاه CHN
۵۶ ۸-۲-۴-دستگاه SEM
۵۶ ۹-۲-۴-دستگاه TGA
۵۷ ۱۰-۲-۴-دستگاه pH متر
۵۷ ۱۱-۲-۴-آون
۵۷ ۱۲-۲-۴-ترازو با دقت ۰,۰۰۰۱ g
۵۷ ۱۳-۲-۴-هیتر مگنت
۵۸ ۳-۴-وسایل آزمایشگاهی مورد استفاده در آزمایش
۵۹ ۴-۴-تست حلالیت
۵۹ ۵-۴-تهیه ی محلول های بافر مورد نیاز
۵۹ ۱-۵-۴-بافر های استاتی (pH=۳-۶)
۵۹ ۲-۵-۴-بافر های فسفات (pH= ۷-۹)
۶۱ ۶-۴-سنتز پلیمر قالب مولکولی
۶۱ ۱-۶-۴-خالص سازی آغازگر
۶۱ ۲-۶-۴-سنتز پلیمر قالب مولکولی با استفاده از حلال کلروفرم

- ۶۲-۳-۶-۴- سنتز پلیمر قالب مولکولی با استفاده از حلال استونیتریل ۶۲
- ۶۲-۴-۶-۴- شستشوی پلیمر قالب مولکولی ۶۲
- ۶۲-۵-۶-۴- سنتز پلیمر شاهد (NIP) ۶۲
- ۶۳-۷-۴- تحلیل نتایج حاصل از طیف های مربوط به پلیمر سنتز شده ۶۳
- ۶۳-۱-۷-۴- نتایج حاصل از آنالیز عنصری پلیمر قالب مولکولی سنتز شده (CHN) ۶۳
- ۶۳-۲-۷-۴- نتایج حاصل از وزن سنجی حرارتی (TGA) ۶۳
- ۶۴-۳-۷-۴- نتایج حاصل از میکروسکوپ الکترونی (SEM) ۶۴
- ۶۵-۸-۴- نحوه تهیه فاز متحرک ۶۵
- ۶۵-۹-۴- محدوده خطی بودن برای داروی الانزایین ۶۵
- ۶۵-۱-۹-۴- محدوده خطی بودن توسط دستگاه HPLC ۶۵
- ۶۶-۲-۹-۴- محدوده خطی توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Vis ۶۶
- ۶۷-۱۰-۴- بهینه کردن شرایط برای جذب داروی الانزایین توسط MIP ۶۷
- ۶۷-۱-۱۰-۴- تعیین نسبت بهینه ی مونومر به مولکول هدف ۶۷
- ۶۸-۲-۱۰-۴- تعیین حلال سنتز بهینه ۶۸
- ۶۹-۳-۱۰-۴- بررسی اثر pH ۶۹
- ۷۰-۴-۱۰-۴- بررسی اثر غلظت بر میزان جذب پلیمر ۷۰
- ۷۱-۵-۱۰-۴- بررسی اثر زمان ۷۱
- ۷۲-۶-۱۰-۴- تعیین حلال واجذب (شوینده بهینه) ۷۲
- ۷۴-۱۱-۴- اندازه گیری غلظت داروی الانزایین در نمونه واقعی ادرار ۷۴
- ۷۵-۱۲-۴- حد تشخیص (LOD) ۷۵
- ۷۶-۱۳-۴- حد اندازه گیری (LOQ) ۷۶
- ۷۷- نتیجه گیری ۷۷
- ۷۷- پیشنهادات ۷۷

پیوست ها ۷۸

منابع ۹۲

چکیده:

در این پژوهش، یک پلیمر قالب مولکولی نوین با استفاده از متاکریلیک اسید (MMA) به عنوان مونومر عاملی، اتیلن گلیکول دی متاکریلات (EGDMA) به عنوان اتصال دهنده عرضی، ۲۲ آزوبیس ایزو بوتیرونیتریل (AIBN) به عنوان آغازگر و الانزایین به عنوان مولکول هدف در حضور حلال های کلروفرم و استونیتریل سنتز شد. سنتز تهیه شده، توسط روش های آنالیز عنصری (CHN)، طیف سنج تبدیل فوریه مادون قرمز (FT-IR) و میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مورد تایید واقع شد. در این کار، پارامترهای مختلفی از قبیل نسبت بهینه مونومر به مولکول هدف، حلال سنتز بهینه، pH، غلظت، ظرفیت رزین، زمان اشباع رزین، گزینش پذیری رزین و حلال و جذب بررسی شد. در نهایت از پلیمر قالب مولکولی به عنوان جاذب جهت استخراج داروی الانزایین از سیالات بیولوژیکی استفاده شد.

اهمیت و ضرورت انجام تحقیق

داروی الانزاپین نقش مهمی در درمان بیماری های شیزوفرنی و اختلالات دوقطبی دارد. امروزه با توجه به شیوع این بیماری ها و افزایش مصرف این دارو، نیاز به گسترش روش های بیوآنالیتیک جهت تعیین کمی داروی الانزاپین به خوبی احساس می شود. در این تحقیق، داروی الانزاپین از طریق استخراج با فاز جامد جداسازی شد و سپس توسط روش HPLC اندازه گیری صورت گرفت.

فصل اول:

داروی الانزایم و موارد مصرف آن

۱-۱ مقدمه ای بر داروی الانزاپین^۱

الانزاپین از جمله داروهایی است که برای درمان بیماری های شیزوفرنی و افسردگی مورد استفاده قرار می گیرد.

۲-۱ روان گسیختگی، اسکیزوفرنی یا شیزوفرنی^۲

یک بیماری روانی با منشأ نامشخص و علائم متغیر می باشد. مشخصه ی این بیماری عدم توانایی درک و یا بیان واقعیت است. این بیماری دارای عوارضی همچون عدم ارتباط منطقی در رفتار و گفتار، انزوا و گوشه نشینی بیش از حد و هذیان و توهم است. تشخیص این بیماری با مصاحبه با بیمار و مشاهده رفتار او میسر می شود و در حال حاضر هیچ تست تشخیصی برای این بیماری وجود ندارد.[1] علائم و نشانه های اسکیزوفرنی شامل مجموعه ای از علائم است؛[2]

۱-۲-۱ نشانه های مثبت: علائم مثبت و یا رفتارهای غریبی که به رفتارهای عادی فرد بیمار افزوده می شوند. هذیان ها، تفکر و گفتار از هم گسیخته، ادراکات تشدید شده و توهم ها و واکنش های نابجا از جمله علائم معمول در این بیماران هستند.[3]

۲-۲-۱ نشانه های منفی: علائم منفی همان کمبودهای آسیب شناسانه شخصیتی هستند که شخص بیمار فاقد آنهاست. فقر در گفتار، واکنش های کند و سطحی، از دست دادن اراده و گریختن از اجتماع نشانه هایی هستند که معمولاً در این بیماران دیده می شوند و هم چنین عدم بروز عواطف، عدم لذت از زندگی از علائم منفی بیماری است[4].

۳-۱ اختلال دو قطبی(شیدایی – افسردگی)^۱

نوعی اختلال خلقی و یک بیماری روانی است. افراد مبتلا به این بیماری دچار تغییرات شدید خلق می شوند. اختلال دو قطبی به صورت معمول در آخر دوره نوجوانی یا اوایل دوره ی بزرگ سالی تظاهر پیدا می کند.

این بیماری انواع مختلفی دارد که مهمترین آن اختلال دو قطبی نوع یک و اختلال دو قطبی نوع دو است. تفاوت این دو اختلال در وجود دوره شیدایی است؛ در نوع یک این حالت اتفاق می افتد ولی در نوع دو، فرم ضعیف تری از آن که نیمه شیدایی است بروز می کند. شروع بیماری معمولاً با دوره ای از افسردگی همراه می باشد و پس از یک یا چند دوره از افسردگی، دوره ی

^۱Olanzapine

^۲Schizophrenia

^۱Bipolar disorder

^۱Food and Drug Administration

شیدایی بارز می شود. در تعداد کمتری از بیماران، شروع بیماری با دوره ی شیدایی یا نیمه شیدایی است. [۵]

۴-۱ معرفی دارو

الانزاپین (با نام های تجاری Zypaddhera, Oferta, Zolafren, Zyprex, Zalasta و یا در ترکیب با فلوکستین Symbyax) یک آنتی سایکوز آتپیک، تأیید شده توسط FDA^۱ برای درمان بیماران مبتلا به اسکیزوفرنی و اختلال دو قطبی است. [6]

الانزاپین ساختاری مشابه کلوزاپین دارد اما به عنوان یک diazeppine thienobenzo طبقه بندی می شود. فرمولاسیون الانزاپین توسط یک شرکت دارویی به نام Lilly Eli تولید و به بازار عرضه می شود که حق ثبت و انحصار آنها در سال ۲۰۱۱ به پایان می رسد. فروش Zyprex در سال ۲۰۰۸ در آمریکا ۲,۲ میلیون و در کل ۴,۷ میلیون دلار به فروش رسید. [7]

۱-۴-۱ موارد مصرف

۱-۴-۱-۱ فرمولاسیون های درمان و نگهدارنده: بیماران مبتلا به اسکیزوفرنی حاد در بزرگسالان ، درمان اپیزودهای مکانیک یا مختلط مرتبط با اختلال دوقطبی (تک درمانی و در ترکیب با لیتیوم یا والپوریت).

۲-۴-۱-۱ فرمولاسیون عضلانی: بی قراری های حاد مرتبط با اسکیزوفرنی و دو قطبی و شیدایی در بزرگسالان. [8]

۵-۱ تاییدیه ی تجویز

- برای درمان اختلالات پیسوتیک در تاریخ ۶ سپتامبر ۱۹۹۶. [9]
- در ترکیب با فلوکستین برای درمان افسردگی مبتلا به اختلال دوقطبی در تاریخ ۲۴ دسامبر ۲۰۰۳. [10]
- برای درمان طولانی مدت اختلال دو قطبی در تاریخ ۱۴ ژانویه ۲۰۰۴. [11]
- در ترکیب با فلوکستین برای افسردگی مقاوم در ۱۹ مارس ۲۰۰۹. [12]

۶-۱ مصرف دارو برای افراد مسن

با توجه به افزایش سگته مغزی در سال ۲۰۰۴ کمیته ایمنی داروها (CSM)^۱ در بریتانیا با صدور یک هشدار تاکید کرد که الانزاپین و ایسپریدون که هر دو از داروهای آنتی سایکوزیک آتیپیک هستند باید به بیماران مسن مبتلا به جنون داده نشود. الانزاپین در ایالات متحده، همراه با هشدار بر روی جعبه برای افزایش خطر مرگ در بیماران مسن است. [13] با این حال در یک تحقیق توسط بی بی سی در ژوئن ۲۰۰۸ دریافتند که این توصیه‌ها توسط پزشکان بریتانیایی به طور گسترده نادیده گرفته می شود. [14]

۷-۱ انواع داروی الانزاپین موجود در بازار

الانزاپین به صورت قرص در مقدار های ۲,۵ ، ۵ ، ۷,۵ ، ۱۰ ، ۱۵ ، ۲۰ میلی گرم در دسترس است. همچنین بصورت یک ویفر خوراکی (به نام disyZ) که بر روی زبان از هم پاشیده می شود در بازار است که بصورت ۲ ، ۱۰ ، ۱۵ ، ۲۰ میلی گرم است.

در ضمن به صورت ویال ۱۰ میلی گرم نیز برای تزریق عضلانی که برای اقدام سریع و استفاده کوتاه مدت در دسترس است.

نکته ای که وجود دارد این است که دوز دارو بسته به پاسخ بیمار تنظیم می شود و همچنین بر روی مشکلات پزشکی که شخص ممکن است داشته باشد بستگی دارد. [15]

۸-۱ تداخلات دارویی

اگر به طور منظم از داروهایی که باعث خواب آلودگی می شوند مانند: داروهای آلرژیک، سرما- خوردگی، نارکوتیک ها، قرص های خواب آور، آرامش دهنده های عضلانی، داروهای ضد صرع، افسردگی و اضطراب استفاده شود، حتما قبل از مصرف الانزاپین به پزشک اطلاع داده شود. در صورت استفاده از هر کدام از داروهای زیر به پزشک اطلاع داده شود:

• داروهای فشار خون بالا یا بیماری های قلبی

• کاربامازپین

• فلوواکسامین

• داروهای بیماری پارکینسون مانند سلژیلین، روپینیرل

این نکته یادآوری می گردد که این لیست کامل نیست و ممکن است داروهای دیگری نیز وجود

داشته باشند که با الانزاپین تداخل پیدا کنند. لذا هیچ داروی جدیدی بدون مشورت با پزشک

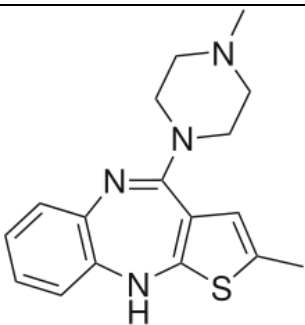
مصرف نگردد. [۱۶]

۹-۱ مشخصات فیزیکی و شیمیایی دارو

^۱Company Safety Medicine

الانزاپین جامد زرد رنگ و بصورت پودری است که در آب به صورت جزئی محلول و در الکل، استون، کلروفرم، اتر و بنزن محلول است. ساختار مولکول و توضیحات کل در مورد الانزاپین در (جدول ۱-۱) مشاهده می‌شود.

(جدول ۱-۱) خصوصیات فیزیکی و شیمیایی الانزاپین

خواص	توضیحات
شکل دارو	
نام ایوپاک	2-methyl-4-(4-methyl-1 piperazinyl)-10H-thieno [2,3-b][1,5]benzodiazepine
فرمول شیمیایی	C17H20N4S
طبقه بندی فارمالوژیک [۱۷]	مشتقات تینو بنزودیازپین
طبقه بندی درمانی شیمیایی تشریحی	ضد سایکوز
جرم مولی (گرم بر مول)	۴۳۹/۳۱۲
دمای ذوب	۱۹۵ درجه سانتی گراد (۳۸۳ درجا فارنهایت)
نیمه عمر	۲۱ تا ۴۵ ساعت
متابولیسم و دفع	کبدی و ۵۷ درصد از راه ادرار و ۳۰ درصد از راه مدفوع دفع می‌شود.
مکانیسم اثر	اثرات آنتاگونیستی بر روی گیرنده‌های دوپامین و سروتونین دارد و همچنین موجب مهار بازجذب