٢٧١٤٩

۱۳۷۸ /۱۱/ ۵

دانشگاه علوم پزشکی تهران

دانشکده داروسازی

مرکز اطلاعات علمی ایران
ثبت مدارک

پایان‌نامه :

برای دریافت درجه دکترای داروسازی

موضوع :

بررسی اثر پلیمرهای مخاط چسب بر روی جذب خوراکی انسولین

اساتید راهنما :

5447

سرکار خانم دکتر طیبه تولیت

سرکار خانم دکتر معصومه جرجانی

نگارش :

انسیه اعظم عباسفر

سال تحصیلی : ۷۸-۱۳۷۷

شماره پایان‌نامه : ٤٠٣٨

۲۷۸۴۹

تقدیم به :

مادر مهربانم

تقدیم به :

پدربزرگوارم

تقدیم به :

خواهر عزیزم

تقدیم به :

برادران خوبم

تقدیم به :

اساتید ارجمندم

سرکار خانم دکتر تولیت

و

سرکار خانم دکتر جرجانی

تقدیم به :

دوست و همکار عزیزم

دکتر مریم سروش

● **باتشکر از**

کارمندان محترم آزمایشگاه داروسازی صنعتی و بخش دارویی بخصوص خانم نصرتی، آقای شکرالهی و آقای امیدی

و

● **باتشکر از**

گروه فارماکولوژی دانشکدهٔ پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی بخصوص آقای صفرعلی غفاری

طرح مسأله و هدف

بیماری دیابت و درمان آن، یکی از مشکلات بزرگ دنیای امروز است. بعد از کشف انسولین توسط Banting و Best در سال ۱۹۲۲، تحولی بزرگ در درمان این بیماری حاصل گردید ولی تنها شکل دارویی مؤثر موجود از این داروی پروتئینی، شکل تزریقی زیرجلدی آن می‌باشد که در راه ساخت و مصرف فراورده‌های تزریقی، مشکلات زیادی وجود دارد از جمله: خطر عفونت در محل تزریق، امکان انتقال آلودگی از طریق سرنگ، دردناک بودن مصرف، فشارهای فیزیولوژیکی، حمل و نقل مشکل دارو، هزینه‌های بالای ساخت دارو بصورت تزریقی، عدم سهولت استفاده از آن برای بیمار و مهمترین مسأله، هزینهٔ بالای اقتصادی که به بیمار تحمیل می‌شود.

تلاشهای زیادی برای تهیهٔ اشکال دیگر انسولین از جمله تجویز داخل بینی (Nasal)، پوستی (Transdermal)، دهانی (Buccal)، داخل مقعدی (Rectal) و خوراکی انجام گرفته و اخیراً شکل آئروسل انسولین که از راه بینی استفاده می‌شود در شرف ورود به بازار دارویی است.

نفوذپذیری کم انسولین از لایهٔ موکوس، تجزیهٔ انسولین بوسیلهٔ پروتئازهای دستگاه گوارش و کلیرانس سریع از محل تجویز، موانعی بر سر راه تهیهٔ فرمولاسیون خوراکی انسولین می‌باشند.

تحقیق حاضر با هدف غلبه بر موانع مذکور و تهیهٔ فرمولاسیون خوراکی انسولین صورت گرفته است و بعضی از اشکال جامد فرمولاسیون خوراکی انسولین مورد بررسی قرار گرفته است.

چکیده

در این مطالعه میزان جذب انسولین از روی درصد کاهش گلوکز خون بعد از قرار دادن کپسولهای حاوی 10^{U} انسولین همراه با مقادیر مختلف از پلیمرهای مخاط چسب (کاربوپول، پلی‌کربوفیل و هیدروکسی پروپیل متیل سلولز) بعنوان میارکننده آنزیمی و افزایش‌دهنده جذب در ایلئوم رودهٔ کوچک موشهای صحرایی نر دیابتی شده با آلوکسان ارزیابی شده است. از اودراژیت S_{100} برای محافظت کپسولهای حاوی انسولین در مقابل شیرهٔ معدی استفاده گردید.

نتایج حاصل از تجویز این کپسولها با نتایج حاصل از تجویز داخل صفاقی انسولین (1^{U}) و همینطور گروههای کنترل مقایسه شده‌اند.

بعد از قرار دادن کپسولهای بدون روکش حاوی انسولین و با مقدار اپتیمم کاربوپول در ایلئوم، قند خون حیوان از ۳۸۷ ± ۳۲ mg/dl در ساعت اول به ۲۲۳ ± ۴۱ mg/dl در ساعت پنجم می‌رسد که نشاندهندهٔ کاهش مشخص ($P<0/05$) در میزان قند خون می‌باشد (۵۰٪).

کپسولهای روکشدار حاوی انسولین و کاربوپول با همان مقادیر، قند خون حیوان را از ۶۱۵ ± ۷۴ mg/dl در ساعت سوم به ۳۵۹ ± ۵۶ mg/dl در ساعت پنجم می‌رساند که نشاندهندهٔ کاهش مشخص ($P< 0/05$) در میزان قند خون می‌باشد (۷۰٪).

کپسولهای حاوی انسولین به همراه پلی‌کربوفیل یا هیدروکسی پروپیل متیل سلولز و همینطور گروههای کنترل، هیچگونه کاهشی در قند خون ایجاد نمی‌کنند.

میزان غلظت کاربوپول در اثر بخشی آن بعنوان افزایش‌دهندهٔ جذب انسولین از روده بسیار مهم می‌باشد.

فهرست مندرجات

عنوان **صفحه**

فصل اول ـ انسولین

۱ـ۱ـ مقدمه ۱

۱ـ۲ـ ساختمان شیمیایی انسولین ۱

۱ـ۳ـ تجزیه انسولین در بدن ۳

۱ـ۴ـ رسپتورهای انسولینی و اثر بر سلول هدف ۳

۱ـ۵ـ کنترل ترشح انسولین و تنظیم غلظت گلوکز خون ۵

۱ـ۵ـ۱ـ تحریک ترشح انسولین بوسیله گلوکز خون ۵

۱ـ۵ـ۲ـ رابطه فیدبکی (feed back) بین گلوکز خون و میزان ترشح انسولین ۵

۱ـ۵ـ۳ـ تنظیم غلظت گلوکز خون ۶

۱ـ۶ـ اثر انسولین بر متابولیسم گلوکز در اعضای مختلف بدن ۸

۱ـ۶ـ۱ـ اثر انسولین بر کبد ۸

۱ـ۶ـ۲ـ اثر بر عضله ۸

۱ـ۶ـ۳ـ اثر بر بافت چربی ۹

۱ـ۶ـ۴ـ اثر بر مغز ۹

۱ـ۷ـ اثر بر متابولیسم چربی ۹

۱ـ۸ـ اثر بر متابولیسم پروتئین ۹

۱ـ۹ـ دیابت قندی (Diabetes Mellitus) ۹

۱ـ۱۰ـ انسولین درمانی دیابت ۱۰

۱ـ۱۱ـ انواع انسولین موجود در بازار دارویی ۱۱

۱ـ۱۲ـ منابع تهیهٔ انسولین ۱۲

۱ـ۱۳ـ عوارض انسولین درمانی ۱۲

۱ـ۱۴ـ هیپرانسولینیسم (hyperinsulinism) ۱۲

۱ـ۱۵ـ مدلهای آزمایشگاهی ایجاد دیابت شیرین ۱۳

۱ـ۱۵ـ۱ـ برداشتن پانکراس (Pancreatectomy) ۱۳

۱ـ۱۵ـ۲ـ تزریق استرپتوزوسین ۱۳

۱ـ۱۵ـ۳ـ ترکیبات ایجاد کنندهٔ دیابت ۱۴

۱ـ۱۵ـ۴ـ هورمونهای ایجاد کنندهٔ دیابت ۱۴

۱ـ۱۵ـ۵ـ فقر انسولین ناشی از آنتی بادی ضدانسولین ۱۴

۱-۵-۱۶-ویروس‌های ایجاد کننده دیابت ۱۵
۱-۵-۱۷-ایجاد دیابت تجربی در حیوان آزمایشگاهی با تزریق آلوکسان ۱۵

فصل دوم - جذب خوراکی پروتئین‌ها

۲-۱-عوامل مؤثر بر جذب داروهای خوراکی ۱۷
۲-۱-۱-حلالیت دارو ۱۷
۲-۱-۲-پایداری در دستگاه گوارش ۱۷
۲-۱-۳-عبور از غشاء روده ۱۸
۲-۱-۳-۱-بررسی غشاء سلولهای اپی تلیال ۱۸
۲-۱-۳-۲-بررسی سد اپی تلیال روده ۲۱
۲-۱-۳-۳-لایه موکوس ۲۲
۲-۲-راههای انتقال پپتیدها و پروتئین‌ها در روده ۲۴
۲-۲-۱-اندوسیتوز ۲۴
۲-۲-۲-انتشار ساده غیرفعال ۲۴
۲-۲-۳-انتقال فعال ۲۵
۲-۳-راههای افزایش جذب پروتئین‌ها ۲۵
۲-۳-۱-افزایش دهنده‌های جذب (absorption enhancers) ۲۵
۲-۳-۱-۱-خصوصیات افزایش دهندهٔ جذب مناسب ۲۵
۲-۳-۱-۲-انواع افزایش دهنده‌های جذب ۲۶
۲-۳-۲-مهارکننده‌های آنزیمی (enzyme inhibitors) ۲۹
۲-۴-بررسی میزان جذب انسولین از مناطق مختلف روده ۳۰

فصل سوم - پلیمرهای مخاط چسب

۳-۱-تعریف مخاط چسبی ۳۱
۳-۲-مزایای سیستم‌های مخاط چسب ۳۱
۳-۳-عوامل مؤثر در مخاط چسبی پلیمر ۳۱
۳-۴-خصوصیات یک پلیمر مخاط چسب ایده‌آل ۳۳
۳-۵-اثر پیمرهای مخاط چسب در افزایش جذب پپتیدها و پروتئین‌ها از رودهٔ کوچک ۳۸
۳-۵-۱-انسولین ۳۹
۳-۵-۲-DGAVP (9-desglycinamide, 8-arginine vasopressin) ۳۹
۳-۵-۳-متکنامید (Metkephamid) ۴۰
۳-۵-۴-بوسرلین (Buserelin) ۴۰

فصل چهارم ـ سیستم‌های دارورسانی جدید

۴ـ۱ـ کپسولهای دارای روکش (Enteric Coated Capsules) ۴۲
۴ـ۲ـ لیپوزوم (Liposome) ۵۰
۴ـ۳ـ میکروسفر (Microspher) ۵۳
۴ـ۴ـ نانوکپسول ۵۴
۴ـ۵ـ امولسیونهای ساده و مرکب ۵۶

فصل پنجم ـ بخش تجربی

۵ـ۱ـ حیوانات ، مواد و دستگاههای بکار برده شده ۵۷
۵ـ۱ـ۱ـ مواد و دستگاههای بکار برده شده در مطالعات in vitro ۵۷
۵ـ۱ـ۱ـ۱ـ مواد ۵۷
۵ـ۱ـ۱ـ۲ـ دستگاهها ۵۸
۵ـ۱ـ۲ـ مواد و دستگاهها و حیوانات بکار برده شده در مطالعات فارماکولوژیک (in vivo) ۵۸
۵ـ۱ـ۲ـ۱ـ حیوانات ۵۸
۵ـ۱ـ۲ـ۲ـ مواد ۵۸
۵ـ۱ـ۲ـ۳ـ دستگاهها ۵۹
۵ـ۲ـ روش کار تجربی ۶۰
۵ـ۲ـ۱ـ مطالعات in vitro ۶۰
۵ـ۲ـ۱ـ۱ـ منحنی استاندارد انسولین ۶۰
۵ـ۲ـ۱ـ۲ـ روش کار ۶۱
۵ـ۲ـ۱ـ۳ـ تعیین مقدار انسولین ۶۱
۵ـ۲ـ۲ـ مطالعات فارماکولوژیکی (in vivo) ۶۱
۵ـ۲ـ۲ـ۱ـ روش کار و تکنیک‌های مورد استفاده ۶۱
۵ـ۲ـ۲ـ۱ـ۱ـ جمع‌آوری نمونهٔ خونی ۶۲
۵ـ۲ـ۲ـ۱ـ۲ـ تعیین میزان قند خون با روش ارتوتولوئیدین ۶۳
۵ـ۲ـ۲ـ۱ـ۳ـ دیابتی کردن حیوانات با تزریق آلوکسان ۶۴
۵ـ۲ـ۲ـ۲ـ گروههای آزمایشی ۶۴
۵ـ۲ـ۲ـ۳ـ بررسی‌های آماری ۶۵

فصل ششم ـ نتایج

۶ـ۱ـ نتایج مطالعات in vitro ۶۶
۶ـ۲ـ نتایج مطالعات فارماکولوژیک ۶۶

فصل هفتم ـ بحث و نتیجه‌گیری

بحث ۸۲

Abstract ۸۵

منابع ۸۶

فصل اول :

انسولین (Insulin)

۱ـ۱ـمقدمه

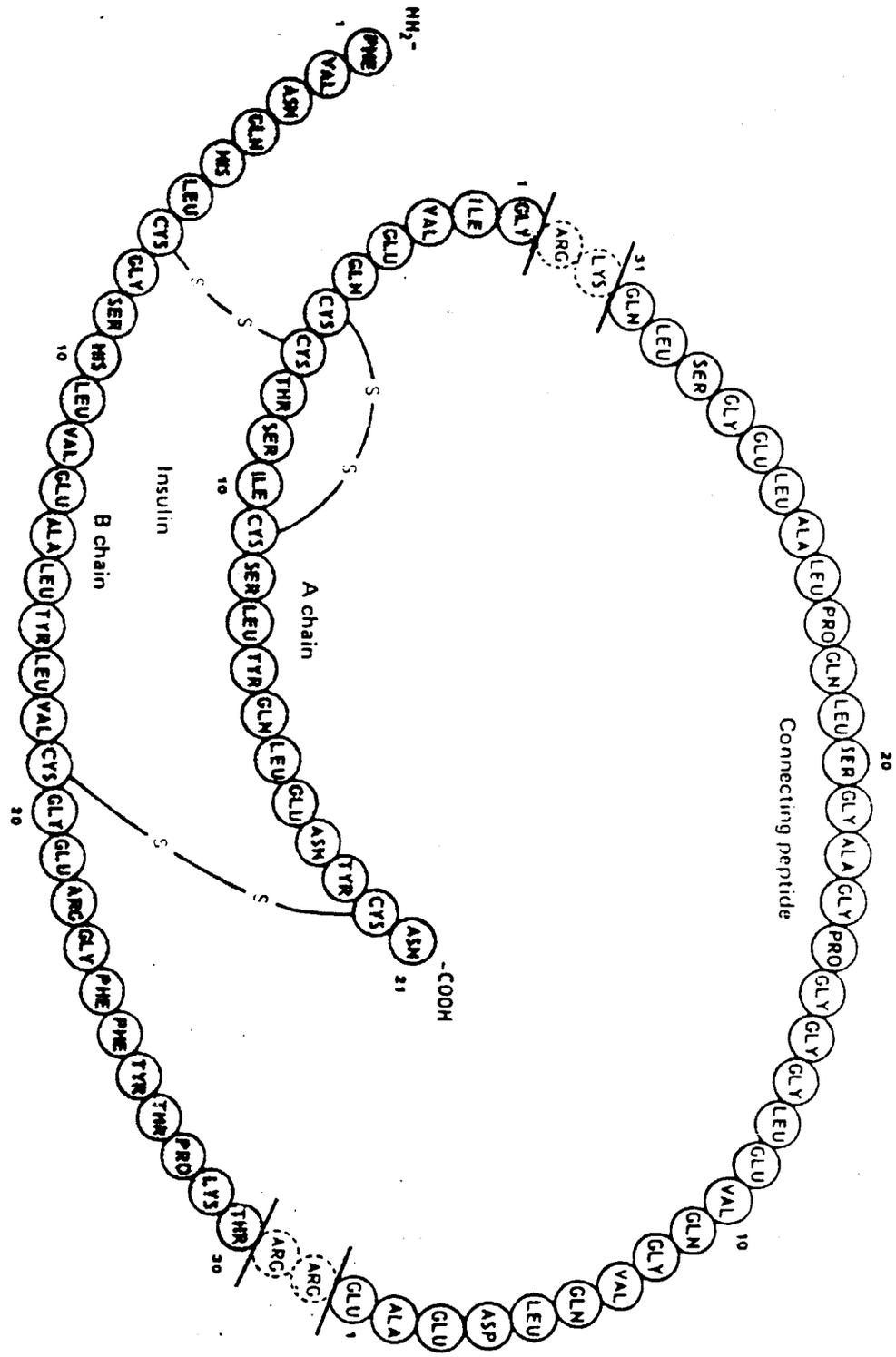
انسولین نخستین بار توسط Banting و Best در سال ۱۹۲۲ از لوزالمعده مجزّا شد و وضعیت یک بیمار مبتلا به دیابت شدید را از وخامت سریع و مرگ به یک شخص تقریباً طبیعی تغییر داد.

از نظر تاریخی، انسولین همیشه به قند خون ارتباط داده شده و در واقع اثرات عمیقی بر روی متابولیسم کربوهیدرات دارد. انسولین بر روی متابولیسم چربیها و پروتئینها تقریباً به همان اندازه متابولیسم کربوهیدراتها تأثیر دارد[۱].

۱ـ۲ـساختمان شیمیایی انسولین

انسولین یک پروتئین کوچک بوده ودر انسان وزن مولکولی آن ۵۸۰۸ دالتون و حاوی ۵۱ اسید آمینه است. انسولین از دو زنجیره اسید آمینه تشکیل شده که توسط دو اتصال دی‌سولفیدی به یکدیگر متصل شده‌اند. درصورتیکه این دو زنجیره اسید آمینه از یکدیگر جدا شوند فعالیت مولکولی انسولین از بین می‌رود(تصویر ۱-۱).

انسولین در سلولهای بتای جزایر لانگرهانس در پانکراس توسط ماشین سلولی معمولی برای سنتز پروتئین سنتز می‌شود و این عمل با حرکت دادن RNA مربوط به انسولین توسط ریبوزومهای چسبیده به رتیکلوم آندوپلاسمیک شروع شده و یک پره پروهورمون انسولین تشکیل می‌دهد. این پره‌پروهورمون ابتدائی دارای وزن مولکولی حدود ۱۱۵۰۰ دالتون بوده اما در رتیکولوم آندوپلاسمیک، قطعه‌ای از آن کنده شده و یک پروانسولین با وزن مولکولی حدود ۹۰۰۰ دالتون تشکیل می‌شود قسمت اعظم پروانسولین قبل از اینکه درگرانولهای ترشحی بسته بندی می‌شود در دستگاه گلژی باز هم کوتاهتر شده و انسولین تشکیل می‌دهد. اما باید دانست که حدود یک ششم فرآورده ترشح شده نهایی کماکان به شکل پرو انسولین است. پروانسولین عملاً فاقد فعالیت انسولینی است[۱].



تصویر ۱ـ۱ـ ساختمان شیمیایی انسولین

۱ـ۳ـ تجزیه انسولین در بدن

کبد و کلیه مهمترین اعضایی هستند که انسولین موجود درگردش خون را احتمالاً با هیدرولیز پل های دی‌سولفیدی بین زنجیره‌های A و B بوسیله گلوتاتیون انسولین ترانس هیدروژناز از میان برمی دارند. پس از این شکست مولکولی، تجزیه بعدی با عمل پروتئولیز انجام می‌شود.

کبد حدود ۶۰٪ انسولین لوزالمعده را پاک می‌کند و این امر تا حدودی مربوط به موقعیت کبد است که خون ورید باب حاوی انسولین را تماما دریافت می‌کند.

حدود ۳۵ تا ۴۰٪ انسولین مترشح از لوزالمعده نیز بوسیله کلیه از بین می‌رود. با اینهمه انسولین تزریقی از راه زیر جلدی در بیماران دیابتیک، وضعی معکوس پیدا می‌کند یعنی ۶۰٪ این انسولین بوسیله کلیه پاک می‌شود و کبد بیش از ۳۰ تا ۴۰٪ آن را پاک نمی‌کند. نیمه عمر انسولین در گردش خون ۵-۳ دقیقه است. غلظت پایه‌ای انسولین در افراد طبیعی ۱۵-۵ میکرویونیت/میلی‌لیتر ($\mu u/ml$) است که در جریان هضم غذا این مقدار به $\mu u/ml$ ۹۰-۶۰ افزایش می‌یابد.[۲]

۱ـ۴ـ رسپتورهای انسولینی و اثر بر سلول هدف

انسولین برای شروع کردن اثرات خود بر روی سلولهای هدف ابتدا به یک رسپتور پروتئینی غشا با وزن مولکولی حدود ۳۰۰۰۰۰ دالتون می‌چسبد و آنرا فعال می‌کند. این رسپتور فعال شده است و نه انسولین که موجب اثرات بعدی می‌گردد. رسپتور انسولینی مجموعه‌ای از ۴ زیر واحد است که توسط اتصالات دی‌سولفیدی به یکدیگر متصل می‌شوند و عبارتند از دو زیرواحد آلفا که کاملا در خارج از غشا سلول قرار دارند و دو زیر واحد بتا که در عرض غشا نفوذ کرده و به داخل سیتوپلاسم برآمدگی دارند. انسولین به زیر واحدهای آلفا در خارج سلول متصل شده اما بعلت اتصالات با زیر واحدهای بتا، قسمتهایی از زیرواحدهای بتا که بداخل سلول برآمدگی دارند اتوفسفریلاسیون پیدا می‌کنند که باعث می‌شوند این قسمتها بصورت یک آنزیم فعال یعنی یک پروتئین کیناز موضعی درآیند که به نوبه خود موجب فسفریلاسیون آنزیم‌های متعدد دیگر سیتوسلی می‌شوند. اثر خالص این عمل فعال کردن بعضی از این آنزیمها در عین حال غیرفعال کردن بعضی دیگر است. به این ترتیب انسولین، ماشین متابولیک داخل سلولی را هدایت می‌کند تا اثرات مطلوب