





دانشگاه آزاد اسلامی

واحد تهران مرکزی

دانشکده علوم پایه ، گروه شیمی

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

گرایش: شیمی تجزیه

عنوان :

## **تهیه پلیمر قالب مولکولی برای داروی کلوزاپین و استفاده از آن در جداسازی این دارو و اندازه گیری آن**

استاد راهنما :

**دکتر عاطفه تمدن**

استاد مشاور:

**دکتر همایون احمد پناهی**

پژوهشگر :

**سمانه کیوانفر**

زمستان ۹۰



**Islamic Azad University**

**Central Tehran Branch**

**Faculty of basic sciences – Department of chemistry**

**“M.Sc” Thesis**

**On Analytical Chemistry**

**Subject:**

**Synthesis of a Molecularly Imprinted Polymer  
and its Application for Extraction, and  
Determination of Clozapine**

Advisor:

**Dr .Atefeh Tamadon**

Consulting – Advisor:

**Dr. Homayoon Ahmad Panahi**

By:

**Samaneh Keivanfar**

Winter2012

## تشکر و قدردانی:

از اساتید گرانقدر سرکار خانم دکتر تمدن که راهنمایی این رساله را برعهده داشته اند و جناب آقای دکتر احمد پناهی مشاور این رساله که در تمام طول انجام پروژه همراه و پشتیبان من بوده اند کمال تشکر و قدردانی را دارم.

جا دارد از جناب آقای دکتر فیض بخش که داوری این رساله را برعهده داشته اند تشکر نمایم.

در نهایت از همه عزیزانی که در طول این دوره مشوق، یار و همراهم بوده اند قدردانی می نمایم.

**تقدیم به:**

**پدر و مادر عزیز و فداکارم**

**نازنین خواهرم و مهربان برادرانم**

# فهرست مطالب

صفحه

۱- اهمیت و ضرورت انجام تمقیق..... ۱

## فصل اول:

۱-۱- مقدمه ای در مورد کلوزاپین وسافتار ان..... ۳

۲-۱- داروهای ضد جنون..... ۳

۲-۱-۱- تاریخچه..... ۴

۲-۲-۱- طبقه بندی..... ۷

۲-۲-۱-۱- سایر ترکیبات سه ملقه ای..... ۷

۳-۱- تاریخچه کلوزاپین..... ۸

۴-۱- سنتز کلوز اپین..... ۹

۵-۱- مکانیسم اثر..... ۱۰

۶-۱- موارد مصرف..... ۱۰

۷-۱- فارماکوکنتیک..... ۱۰

۸-۱- موارد منع مصرف..... ۱۰

۹-۱- موارد احتیاط..... ۱۱

۱۰-۱- عوارض جانبی..... ۱۱

۱۱-۱- تدافل های دارویی..... ۱۱

۱۱-۱ پیگیری و بررسی اثر دارو..... ۱۱

۱۳-۱ اشکال داروئی..... ۱۲

۱۴-۱ روشهای دیگر جداسازی کلوزاپین..... ۱۲

## فصل دوم:

۱-۲-۱ مقدمه ای بر جداسازیهای کروماتوگرافی..... ۱۴

۲-۲-۲ تعریف کلی کروماتوگرافی ..... ۱۴

۳-۲-۳ دسته بندی روشهای کروماتوگرافی..... ۱۵

۲-۳-۱-۱ کروماتوگرافی مایع..... ۱۶

۲-۳-۱-۱-۱ کروماتوگرافی مایع-مایع..... ۱۶

۲-۳-۱-۲ کروماتوگرافی مایع-فاز پیوندی..... ۱۷

۲-۳-۱-۳ کروماتوگرافی جامد-مایع..... ۱۷

۲-۳-۱-۴ کروماتوگرافی تبادل یونی ..... ۱۷

۲-۳-۱-۵ کروماتوگرافی اندازه طردی(غریالی)..... ۱۷

۲-۳-۲ کروماتوگرافی گازی..... ۱۷

۲-۳-۱-۱ کروماتوگرافی گاز-مایع..... ۱۷

۲-۳-۲-۲ کروماتوگرافی گاز-فاز پیوندی..... ۱۸

۲-۳-۳ کروماتوگرافی سیال فوق بحرانی..... ۱۸

۲-۴-۲ شویش..... ۱۸

۲-۴-۱-۱ شستشوی ساده (ایزوکراتیک)..... ۱۸

۲-۴-۲-۲ شستشوی تدریجی(گرادیانی)..... ۱۸

۲-۵-۲ تئوری کروماتوگرافی..... ۱۹

۱۹	۲-۵-۱- فاکتور بازداری.....
۱۹	۲-۵-۲- فاکتور گزینشی ( $\alpha$ ).....
۲۰	۲-۵-۱- پارامترهای موثر بر $\alpha$ .....
۲۰	۲-۵-۳- اندازه گیری کمی کارائی ستون.....
۲۱	۲-۵-۴- قدرت تفکیک ستون.....
۲۲	۲-۵-۵- فاکتور ظرفیت.....
۲۳	۲-۵-۶- فاکتور میداکننده.....
۲۴	۲-۶-۴- کروماتوگرافی مایع با کارائی بالا.....
۲۴	۲-۶-۷- تجهیزات کروماتوگرافی مایع با کارائی بالا.....
۲۵	۲-۶-۱- دستگاه کروماتوگراف.....
۲۵	۲-۶-۲- ستون.....
۲۶	۲-۶-۳- انتساب فاز ساکن مناسب.....
۲۸	۲-۶-۳-۱- pH فاز ساکن.....
۲۸	۲-۶-۳-۴- فاز متمرک.....
۳۰	۲-۶-۳-۱- pH فاز متمرک.....
۳۱	۲-۶-۵- پمپ.....
۳۱	۲-۶-۵-۱- پمپ سرنگی.....
۳۱	۲-۶-۵-۲- پمپ پیستونی.....
۳۲	۲-۶-۶- سیستم تزریق نمونه.....
۳۲	۲-۶-۷- اشکارسازی.....
۳۳	۲-۸- اثر تغییر دما بر کروماتوگرافی مایع با کارائی بالا.....



۳۲-۹- کاربردهای کوه‌ماتوگرافی مایع..... ۳۲

۳۲-۱۰- مزایای روشهای کروماتوگرافی..... ۳۲

### فصل سوم:

۳۳-۱- مفاهیم عمومی قالب زنی مولکولی..... ۳۶

۳۳-۲- قالب زنی کوه‌الانسی و غیر کوه‌الانسی..... ۳۸

۳۳-۱-۲- قالب زنی کوه‌الانسی..... ۳۸

۳۳-۲-۲- قالب زنی غیر کوه‌الانسی..... ۳۸

۳۳-۲-۳- مزایا و معایب قالب زنی کوه‌الانسی و غیر کوه‌الانسی..... ۳۹

۳۳-۳- تاریخچه..... ۴۱

۳۳-۱- قالب زنی کوه‌الانسی..... ۴۱

۳۳-۲- قالب زنی غیر کوه‌الانسی..... ۴۲

۳۳-۳- ترکیب قالب زنی کوه‌الانسی و غیر کوه‌الانسی..... ۴۳

۳۳-۴- رویه قالب زنی مولکولی..... ۴۴

۳۳-۴-۱- عوامل شیمیایی مورد استفاده در این روش..... ۴۴

۳۳-۴-۱-۱- مونومرهای عاملی..... ۴۴

۳۳-۴-۱-۲- عامل اتصال دهنده عرضی..... ۴۵

۳۳-۴-۱-۳- ملال ها..... ۴۷

۳۳-۴-۱-۴- آغازگرها..... ۴۸

۳-۵- دیگرام یک قالب زنی مولکولی..... ۴۹

۳-۵-۱- انتخاب عوامل..... ۴۹

- ۳-۵-۱-۱- -- مونومر عاملی..... ۴۹
- ۳-۵-۱-۲- ملال پلیمریزاسیون..... ۵۲
- ۳-۵-۱-۳- عامل اتصال دهنده عرضی..... ۵۲
- ۳-۵-۱-۴- پلیمریزاسیون..... ۵۳
- ۳-۵-۲- پکیده آز مایش..... ۵۴
- ۳-۵-۳- پک کردن پلیمر قالب زنی شده در ستون HPLC..... ۵۵
- ۳-۶-۴- کاربرد پلیمرهای قالب زنی شده..... ۵۵
- ۳-۶-۱- جداسازی با فاز جامد..... ۵۵
- ۳-۶-۲- مسگرهای مبتنی بر پلیمرهای قالب مولکولی..... ۵۶
- ۳-۶-۱-۱- مسگر الکتروشیمیایی..... ۵۷
- ۳-۶-۲-۲- مسگرهای نوری..... ۵۷
- ۳-۶-۳- تکنیک های جداسازی و کروماتوگرافی..... ۵۷
- ۳-۶-۴- پلیمرهای سیگنال دهنده..... ۵۸
- ۳-۶-۵- غشاهای قالب زنی شده..... ۵۸
- ۳-۶-۶- کاتالیزورهای قالب زنی شده..... ۵۸
- ۳-۷- روشهای تعیین ویژگی پلیمر..... ۵۸
- ۳-۷-۱- تعیین ویژگی شیمیایی..... ۵۹
- ۳-۷-۱-۱- میکرو آنالیز عنصری CHN..... ۵۹
- ۳-۷-۱-۲- اسپکتروسکوپی تبدیل فوریه- زیر قرمز (FT - IR)..... ۵۹
- ۳-۷-۱-۳- اسپکتروسکوپی نفوذ-انعکاسی (UV-vis)..... ۶۰
- ۳-۷-۲- تعیین ویژگی ظاهری..... ۶۰

- ۳-۷-۲-۱- آزمایش جذب ملال..... ۶۰
- ۳-۷-۲-۲- تفلفل سنجی به روش جذب سطحی نیتروژن..... ۶۰
- ۳-۷-۲-۳- تفلفل سنجی به روش نفوذ میوه..... ۶۱
- ۳-۷-۲-۴- میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)..... ۶۱
- ۳-۷-۲-۴-۱- آنالیز شیمیایی (SEM)..... ۶۱
- ۳-۷-۲-۵- وزن سنجی مرارتی (TGA)..... ۶۲

### فصل چهارم: بخش تجربی

- ۴-۱-۱- مواد و واکنشگرها..... ۶۵
- ۴-۱-۱-۱- متانول..... ۶۵
- ۴-۱-۲- اسید استیک..... ۵۴
- ۴-۱-۳- تری فلئورو استیک اسید..... ۶۶
- ۴-۱-۴- سدیم استات..... ۶۶
- ۴-۱-۵- دی سدیم هیدروژن فسفات..... ۶۷
- ۴-۱-۶- سدیم دی هیدروژن فسفات..... ۶۷
- ۴-۱-۷- آغازگر آمونیوم پراکسی دی سولفات..... ۶۷
- ۴-۱-۸- استونیتریل..... ۶۸
- ۴-۱-۹- آمونیوم استات..... ۶۸
- ۴-۱-۱۰- تری اتیل آمین..... ۶۸
- ۴-۱-۱۱- اسید کلریدریک..... ۶۸
- ۴-۱-۱۲- آنیلین..... ۶۹
- ۴-۱-۱۲-۱- خصوصیات..... ۶۹

- ۶۹-۱-۱۲-۲-۴-۱۴..... کاربرد.....
- ۶۹-۱-۱۲-۳-۴-۱۴..... فطرات.....
- ۷۰-۱-۱۳-۱-۴-۱۴..... فرمالدئید.....
- ۷۰-۱-۱۳-۱-۴-۱۴..... خصوصیات.....
- ۷۰-۱-۱۳-۲-۴-۱۴..... کاربرد.....
- ۷۱-۱-۱۳-۳-۴-۱۴..... فطرات.....
- ۷۱-۲-۴-۱۴..... دستگاه های مورد استفاده در از مایشگاه.....
- ۷۳-۳-۴-۱۴..... تست ملالیت.....
- ۷۳-۴-۴-۱۴..... تهیه محلول های بافر.....
- ۷۴-۵-۴-۱۴..... شرایط دستگاه کروماتوگرافی مایع باکارتی بالا.....
- ۷۵-۶-۴-۱۴..... همدموده قطی داروی کلوزاپین با HPLC.....
- ۷۶-۷-۴-۱۴..... همدموده قطی داروی کلوزاپین با UV-Vis.....
- ۷۷-۸-۴-۱۴..... سنتز پلیمر انیلین-فرمالدئید.....
- ۷۸-۱-۸-۴-۱۴..... بررسی طیف FT-IR پلیمر AFC.....
- ۷۹-۹-۴-۱۴..... سنتز پلیمر قالب مولکولی MIP.....
- ۷۹-۱-۹-۴-۱۴..... مکانیسم واکنشهای انجام شده وسافتار مواد تولید شده طی فرایند سنتز.....
- ۸۱-۲-۹-۴-۱۴..... شستشوی پلیمر قالب مولکولی.....
- ۸۳-۳-۹-۴-۱۴..... بررسی MIP با آنالیز عنصری CHN.....
- ۸۳-۴-۹-۴-۱۴..... بررسی طیف FT-IR پلیمر MIP.....
- ۸۳-۱۰-۴-۱۴..... بررسی آنالیز حرارتی TGA.....
- ۸۴-۱-۱۰-۴-۱۴..... بررسی نمودار آنالیز حرارتی پلیمر AFC.....

۸۵	..... بررسی نمودار اتالیز مرارتی پلیمر MIP
۸۶	..... SEM بررسی طیفهای
۸۷	..... بهینه کردن شرایط برای جذب داروی کلوزاپین توسط MIP
۸۷	..... اثر pH
۹۰	..... ظرفیت پلیمر
۹۱	..... سینتیک جذب
۹۲	..... گزینش پذیری پلیمر
۹۲	..... سنتز پلیمر شاهد NIP
۹۳	..... مقایسه MIP با NIP در میزان جذب انتفابی مولکول هدف در مقایسه با داروی مشابه
۹۴	..... ملال و جذب
۹۶	..... اندازه گیری داروی کلوزاپین در نمونه های حقیقی
۹۶	..... اندازه گیری داروی کلوزاپین در ماتریکس قرص
۹۸	..... اندازه گیری داروی کلوزاپین در ادرار
۹۸	..... اندازه گیری داروی کلوزاپین در پلاسما
۱۰۰	..... LOD دستگاه
۱۰۱	..... LOQ بودن
۱۰۲	..... نتیجه گیری
۱۰۲	..... پیشنهادات
۱۰۳	..... پیوستهها
۱۱۷	..... منابع

## چکیده:

در این پروژه یک پلیمر قالب مولکولی برای پیش تغلیظ و تعیین مقدار داروی کلوزاپین سنتز گردید. در این روش ابتدا یک پلیمر آنیلین-فرمالدئید خطی سنتز می شود سپس با استفاده از آنیلین به عنوان اتصال دهنده عرضی و آنیلین مونیوم پراکسی دی سولفات به عنوان آغازگر و کلوزاپین به عنوان مولکول هدف در محلول اسید کلریدریک سنتز پلیمر قالب مولکولی انجام می شود. سنتز فوق به روشهای آنالیز عنصری (CHN) - طیف سنج تبدیل فوریه مادون قرمز (FT-IR) - میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مورد تایید قرار گرفت. سپس پارامترهای مختلفی مانند pH، ظرفیت پلیمر، گزینش پذیری پلیمر، حلال واجذب و سینتیک جذب با دستگاه های UV و HPLC بررسی شد. تحت این شرایط نمودار کالیبراسیون کلوزاپین رسم شد و رنج خطی، حد تشخیص (LOD)، حد کمی بودن (LOQ) گزارش گردید. در نهایت تحت شرایط بهینه شده پلیمر قالب مولکولی سنتز شده به عنوان جاذب برای استخراج و تعیین مقدار داروی کلوزاپین از ماتریکس قرص و سیالات بیولوژیک مانند پلاسما و ادرار به وسیله کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا با موفقیت و درصد بازیافت بالا انجام شد.

## اهمیت و ضرورت انجام تحقیق

با توجه به اهمیت داروی کلوزاپین به عنوان داروی ضد سایکوز که در درمان بیماران مبتلا به اسکیزوفرنی که نسبت به سایر درمان ها مقاوم می باشند ، استفاده می شود ، ارائه یک روش جدید، آسان و سریع برای اندازه گیری و جداسازی اختصاصی این دارو در ماتریکس های دارویی و نمونه های بیولوژیکی مانند پلاسما و ادرار ضروری می باشد . در این پروژه با استفاده از سنتز پلیمر قالب مولکولی برای داروی کلوزاپین و روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا به این مهم دست یافتیم.

از جمله مزیت های این روش می توان به سادگی-گزینهش پذیری- تکرارپذیری بالا و سریع بودن آن اشاره کرد.

فصل اول:

# داروی کلوزاپین

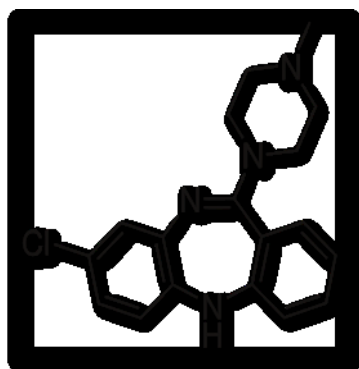


## ۱-۱- مقدمه ای در مورد کلوزاپین و ساختار آن

داروی کلوزاپین<sup>۱</sup> دارای ترکیب

۸-chloro-۱۱-(۴-methylpiperazin-۱-yl)-۵H-dibenzo[b,e][۱,۴] diazepine

می باشد. فرمول بسته آن  $C_{18}H_{19}ClN_4$  جرم مولکولی آن  $326.823 \text{ g/mol}$  است. ساختمان مولکولی آن در شکل ۱-۱ نشان داده شده است.



شکل ۱-۱- ساختار کلوزاپین

نام های تجاری آن Clozan-Clozapex-Clozaril-Tranquizan می باشد.

داروی کلوزاپین از مشتقات دی بنزو دیازپین سه حلقه ای می باشد و در طبقه داروهای ضد جنون قرار می گیرد.[۱]

جامد پودری زردرنگی می باشد که حلالیت آن در آب بسیار کم و مقدار آن  $0.1889 \text{ mg/ml}$  (۲۰°C) می باشد. [۲] در استن، کلروفرم والکل به خوبی حل می شود. نقطه ذوب آن  $183^{\circ}\text{C}$  است.

## ۱-۲- داروهای ضد جنون<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> clozapine

<sup>۲</sup> antipsychotics

داروهای ضد جنون که به عروان داروهای تضعیف عصبی نیز شناخته شده اند و پیش از این آرامبخش یا آرامبخش های قوی نامیده می شدند، نه تنها سبب ایجاد آرامش در بیمارانی که اختلالات روانی شدید دارند، می شوند بلکه علائم بیماری آنها را نیز برطرف می کنند. با این حال بر خلاف اثری که با خواب آورها و مسکن ها ایجاد می شود، سبب ضعف هشیاری یا تضعیف مراکز حیاتی نمی گردند.

این داروها در بیمارانی که دارای عدم سازماندهی ذهنی و رفتاری می باشند و برای برطرف کردن تنشهای هیجانی شدید به کار می روند. به عبارت دیگر، کاربرد اصلی آنها درمان جنون های فعال، بویژه شیزوفرنی است. اما، این ترکیبات درمان کننده نیستند و تا زمانی که عامل مسبب جنون فعال مشخص نشده است، اثر آنها در درجه اول فقط آرامبخش است. اگرچه اعتقاد بر این است که عوامل ژنتیکی یک پیش عامل برای شیزوفرنی است و بر اساس یک نظریه جدید، این بیماری از انتقال عصبی زیاد یا پرفعالیت سیستم دوپامنرژیک ناشی می شود.

اغلب داروهای ضد جنون دارای آثار ضد استفراغ، ضد سمپاتیک می باشند. همگی سبب بسته شدن پلک چشم می شوند. هیچ یک از داشتن عوارض ناخواسته معاف نیستند.

چون بعضی از این داروها اعصاب خودکار را با درجات مختلف مهار می کنند، در صورتی که توقف گردش خون رخ دهد یک داروی تنگ کننده عروق نظیر نوراپی نفرین تجویز می گردد.

دو مساله مهم درباره داروهای ضد جنون مورد تاکید است:

مصرف بیش از حد آن در موارد بسیار نادر در بزرگسالان سبب مرگ می شود و دیگر اینکه این ترکیبات باعث وابستگی بدنی یا فیزیولوژیکی نمی گردند. از آنجائی که داروهای تضعیف اعصاب اثر سایر داروهای تضعیف سیستم اعصاب مرکزی را تقویت می کنند، در صورت نیاز به مصرف توام آنها با الکل، داروهای خواب آوری مثل باربیتورات ها، ضد دردهای مخدر، یا بیهوش کننده های عمومی باید دقت کرد. [۳]

#### ۱-۲-۱- تاریخچه:

جستجو برای یافتن راههایی که تفکر و رفتار انسان را تغییر دهد قدمتی معادل انسان دارد. احتمالاً الکل و تریاک اولین داروهایی بوده اند که به این منظور، مصرف شده اند. متأسفانه این مواد به بیماران روانی کمکی نمی کنند. همان گونه که داروهای مسکن و خواب آور جدید نیز اثری ندارند. نوعی روانکاوی

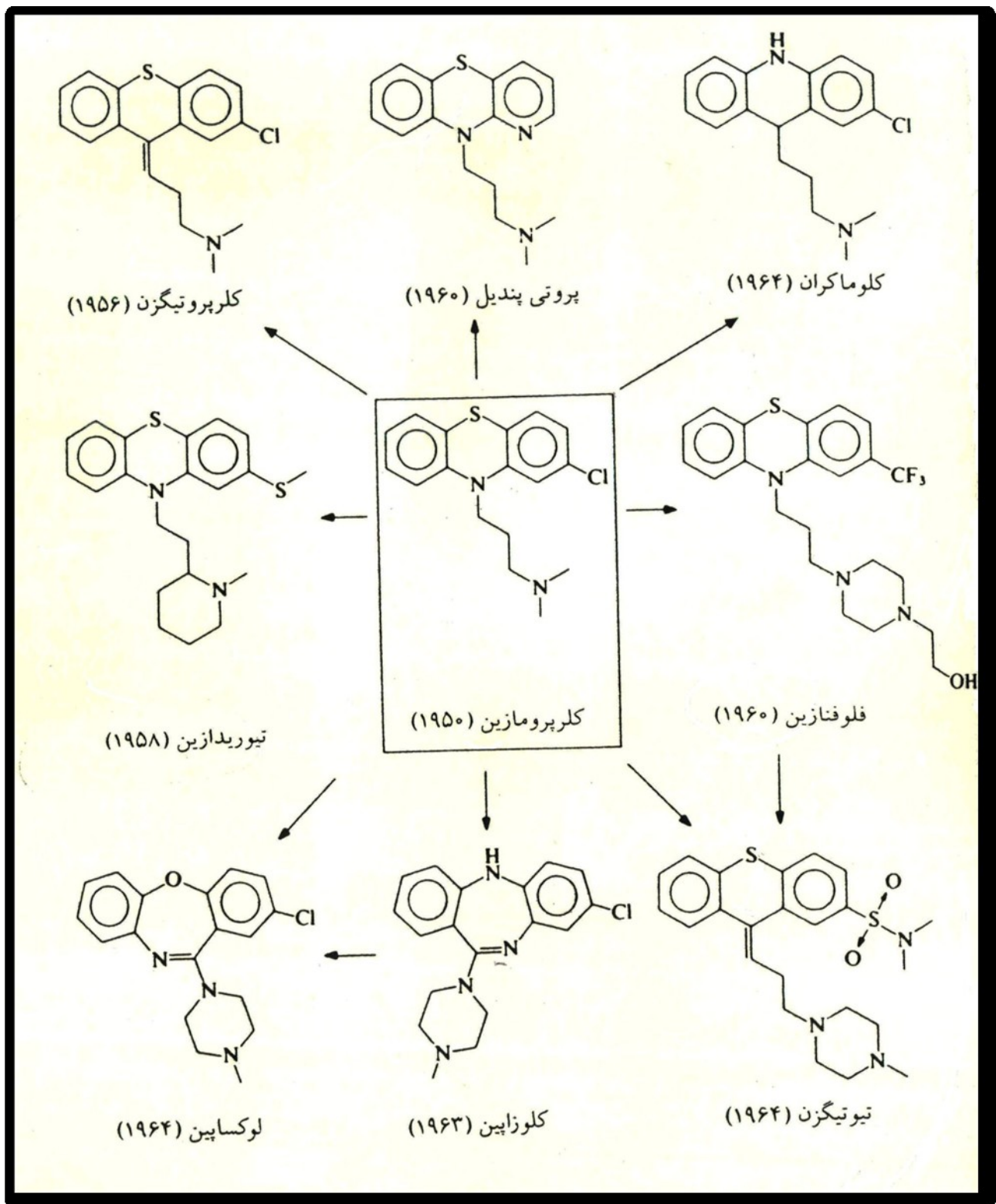
که در آغاز قرن بیستم تکوین یافت برای درمان همه اقشار کافی نیست. به همین دلیل تا همین دوران اخیر تنها راه چاره بیماران روانی جدا کردن و محدود نمودن آنها بود.

درمان با انسولین-کوما الکتروشوک حدود ۶۰ سال پیش آغاز شد و اولین نوع درمان موثر اخ تلاقات روانی است که هنوز هم بکار می رود. این کشف تا ۲۰ سال دیگر تا زمان معرفی کلرپرومازین و رزپین که اولین داروهای ضد جنون هستند ادامه یافت.

کلرپرومازین از تغییرات ساختمانی بنزو دی اکسان و فنوتیازین ناشی شده است و برای اولین بار توسط برن تسن<sup>۱</sup> در ۱۸۸۳ ساخت شد و تا ۱۹۴۳ تنها فعالیت شیمی درمانی فنوتیازینی آن به عنوان ضد کرم در آلودگیهای حیوانی مشاهده شده بود. در ۱۹۴۵ مشتقی از فنوتیازین به نام پرومتازین به عنوان داروی ضد هیستامین معرفی شد که دارای اثر تسکینی قوی نیز بود. در نتیجه کوششهایی که شارپتیه<sup>۲</sup> در ۱۹۵۰ برای افزایش اثر مرکزی این دارو از راه اصلاحات مولکولی انجام داد سرانجام کلرپرومازین تولید شد که اولین بار در ۱۹۵۲ توسط لابوریت<sup>۳</sup> و همکارانش برای ایجاد "خواب زمستانی مصنوعی" و توسط دیلی<sup>۴</sup> در درمان اختلالات ذهنی به کار رفت. با اصلاحات مولکولی بیشتر، بویژه از راه جانشینی ایزوستری<sup>۵</sup>، بیش از ۵۰۰۰ فنوتیازین مختلف تاکنون ساخته شده است که برخی به عنوان ضد جنون و بقیه به عنوان ضد هیستامین یا عوامل ضد خارش بکار می روند (شکل ۱ و ۲). [۳]

---

1 Bernthsen  
2 Charpentier  
3 Laborit  
4 Delay



شکل ۱-۲ ایجاد فنوتیازین، تیوگزانین و سایر مضعف های سه حلقه ای اعصاب از راه اصلاح مولکولی کلرپرومازین