



Kerman University of Medical Sciences

Faculty of Pharmacy

Pharmaceutics Research Center

For the Certificate of Pharm. D Degree

**Preparation and Physicochemical Evaluation of Cochleate-
based Carriers for Insulin**

By:

Sepideh Karimi-afshar

Supervisors:

Dr. Payam Khazaeli

Dr. Abbas Pardakhty

Dr. Farid Dorkoosh

Thesis No.: 697

Year: 1392



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان
دانشکده داروسازی و علوم دارویی
مرکز تحقیقات فارماسیوتیکس

پایان نامه دکترای عمومی داروسازی

تهیه و بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی کوکلیت های حاوی انسولین

توسط:

سپیده کریمی افشار

اساتیدراهنما:

دکتر پیام خزائی

دکتر عباس پرداختی

دکتر فرید عابدین درکوش

Abstract:

Introduction: Cochleates can form cylindrical lipid structures which are more stable against oxidation and temperature in comparison with liposomes. The aim of this research was to formulate cochleates for oral delivery of insulin as a model protein drug. Protein drugs are undertaken environmental degradation and poor oral absorption; therefore any carrier system for their oral delivery must have protection capability against enzymes and absorption enhancing ability.

Methods: In this study, liposomes with different proportion of lipids (DPPC and DMPC) and cholesterol were prepared by film hydration method and converted to cochleates by hydrogel method with CaCl_2 and MgCl_2 . Microscopically observation of structures was carried out by phase-contrast microscope and Scanning Electron Microscope (SEM). Physicochemical characteristics of these structures were evaluated by measuring size distribution of cochleates using laser light scattering technique, entrapment efficiency percentage, investigation of release profile, and stability of selected cochleates. HPLC instrument was used for analytical evaluation of entrapped and released insulin.

Results: Best formulation of liposomes containing 70% of lipid and 30% of cholesterol were chosen for cochleate preparation. According to microscopic

observations and size distribution, cochleates with CaCl_2 bridges were chosen for further studies. The size of vesicles was less than 6 μm . Insulin entrapment efficiency of cochleates with DPPC was more than DMPC type. Between 60-70% of encochleated insulin released after 2-4 hours in a buffer with pH 6.8. In stability study, drug content was reduced during 3 months but no change in size of cochleates was observed.

Discussion: Cochleate delivery vehicles have been shown to be broadly applicable to a wide range of biologically important molecules.

The results of this study showed that cochleates can be suitable delivery systems for insulin. However, a detailed pharmacokinetic study is necessary to clearly understand the efficacy of the encochleated insulin.

Keywords: Cochleate; Insulin; Oral delivery.

خلاصه:

مقدمه: کوکلیت‌ها ساختارهای سیلندری لیبیدی هستند که در مقایسه با لیپوزوم‌ها پایداری بیشتری در برابر اکسیداسیون و حرارت دارند. هدف از انجام این پایان‌نامه تهیه کوکلیت حاوی انسولین به منظور تهیه فرم خوراکی از آن است.

داروهای پروتئینی به سبب تجزیه آنزیمیاتیک در محیط گوارشی، فراهمی زیستی پایینی دارند. بنابراین استفاده از حامل برای فرمولاسیون‌های خوراکی با جلوگیری و کاهش میزان تخریب آنزیماتیک فراهمی زیستی این دارو‌ها را افزایش می‌دهند.

روش کار: در این مطالعه نسبت‌های مختلفی از لیپید و کلسترول به منظور تهیه لیپوزوم به روش هیدراتاسیون مورد استفاده قرار گرفت. برای تهیه کوکلیت روش هیدروژل همراه با نمک‌های کلسیم و منیزیم استفاده شد.

ساختارهای تهیه شده توسط میکروسکوپ نوری و الکترونی بررسی شد. خصوصیات فیزیکوشیمیایی این ساختارها با بررسی توزیع اندازه ذره‌ای، درصد محبوس‌سازی انسولین توسط کوکلیت، پروفایل آزاد سازی دارو و نهایتاً بررسی پایداری کوکلیت‌های تهیه شده انجام شد. جهت آنالیز انسولین محبوس شده و آزادسازی آن از کوکلیت از دستگاه HPLC استفاده شد.

نتایج: فرمولاسیون های برتر لیپوزومی شامل ۷۰٪ لیپید و ۳۰٪ کلسترول به منظور تهیه کوکلیت های حاوی

انسولین انتخاب شدند. بر مبنای مشاهدات میکروسکوپی و توزیع اندازه ذره ای کوکلیت های دارای پل

کلسیمی برای ادامه مطالعه انتخاب شدند. قطر متوسط کوکلیت های تهیه شده کمتر از ۶ میکرومتر بود.

ساختار های حاوی DPPC محبوس سازی بیشتری نسبت به کوکلیت های حاوی DMPC داشتند. در

بررسی آزادسازی حدود ۶۰-۷۰٪ انسولین محبوس شده طی ۲-۴ ساعت آزاد شد. در بررسی پایداری

کوکلیت های تهیه شده در طی سه ماه میزان داروی محبوس باقیمانده کاهش یافته ولی تغییری در اندازه

کوکلیت ها مشاهده نشد.

بحث و نتیجه گیری: کوکلیت ها به عنوان حامل طیف گسترده ای از داروهای بیولوژیک قابل استفاده اند.

نتایج این مطالعه نشان میدهد که کوکلیت ها میتوانند حامل های مناسبی برای دارورسانی انسولین باشند؛ با

این حال مطالعات فارماکوکینتیک بیشتری برای بررسی و بهبود کارایی این سیستم های دارورسانی نیاز

است.

کلمات کلیدی: کوکلیت، انسولین، دارورسانی خوراکی.