

بررسی تاثیر انسولین خوراکی تهیه شده از پلیمرهای SPHC و SPH در بیماران دیابت نوع ۱ وابسته به انسولین

ناهید خلیلی^۱، فرید عابدین درکوش^۲، باقر لاریجانی^{۳*}، مرتضی رفیعی تهرانی^۲، سید سجاد صالحی منفرد^۲، الهه مرتضویان^۲، کبری امیدفر^۳

چکیده

مقدمه: دیابت شیرین به عنوان شایع ترین بیماری متابولیک، یکی از پر هزینه ترین بیماری هاست. سیستم های خوراکی پپتیدها و پروتئین ها، درد و ناراحتی تزریقات مکرر را به همراه ندارند و ترکیبات سیستم های خوراکی بسیار ارزان تر از اشکال تزریقی است. در این مطالعه اثر درمانی انسولین خوراکی با این سیستم حامل جدید در بیماران دیابتی وابسته به انسولین مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش ها: در یک کارآزمایی بالینی، ۱۴ بیمار دیابتی وابسته به انسولین ۴۵-۱۷ ساله براساس کرایتریای مطالعه انتخاب و در ۵ هفته متوالی هر هفته یک روز تحت درمان با انسولین خوراکی (۸۰۰ IU inside یا ۱۶۰۰ IU outside یا ۸۰۰ IU outside) یا دارونما یا انسولین تزریقی ۰/۱ IU/kg قرار گرفته و در حین مطالعه به فواصل منظم نمونه خون جهت گلوکز، انسولین و c-peptide گرفته شد.

نتایج: ۱۲ بیمار تا پایان مطالعه همکاری کردند. انسولین خوراکی با دوز ۱۶۰۰ واحد در کاهش قند خون مؤثرتر از انسولین تزریقی بود ولی اختلاف معنی داری نداشت. انسولین تزریقی با اختلاف قابل توجهی بالاترین AUC انسولین را داشت (P=۰/۰۰۴). انسولین خوراکی ۸۰۰ واحد outside بیشترین فراهم زیستی (۰/۱۲٪) را داشت.

بحث: داروی انسولین خوراکی به روش پلیمر SPHC و SPH با وجود اینکه توانسته قند خون را بطور مناسبی در مقایسه با انسولین تزریقی پایین بیاورد، اما بعلت فراهم زیستی پایین و تنوع نتیجه در هر بیمار، نمی تواند آرزوی بیماران و محققان در ارائه راه آسان تر استفاده از انسولین برطرف کند و هنوز راه طولانی بر سر راه این هدف وجود دارد.

واژگان کلیدی: پلیمر SPH، انسولین خوراکی، دیابت نوع ۱، سطح گلوکز، درمان

۱- دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله

۲- دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۳- مرکز تحقیقات غدد درون ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران

*نشانی: تهران، خیابان کارگر شمالی، بیمارستان دکتر شریعتی، طبقه پنجم، مرکز تحقیقات غدد درون ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران، کد پستی ۱۴۱۱۴۱۳۱۳۷ تلفن: ۸۸۲۲۰۰۳۷، نمابر: ۸۸۲۲۰۰۵۲، پست الکترونیک: emrc@sina.tums.ac.ir

مقدمه

دیابت شیرین به عنوان شایع‌ترین بیماری متابولیک، یکی از پر هزینه‌ترین بیماری‌هاست. با افزایش وزن و بهبود کیفیت زندگی و افزایش طول عمر جمعیت جهان، این بیماری به شدت رو به افزایش است و یکی از علل اصلی بیماری‌زایی و مرگ و میر می‌باشد [۱]. تنها درمان بیماران دیابت وابسته به انسولین، تجویز انسولین است. اما تجویز انسولین به روش تزریقی در بیماران دیابتی باعث افزایش غلظت انسولین سیستمیک به نسبت انسولین در سیستم پورت می‌شود و در نتیجه هیپرانسولینمی محیطی می‌دهد [۲]. تحقیق و توسعه در مورد سیستم‌های حامل داروهای پپتیدی خوراکی جهت درمان بیماری‌های مزمن از دو دهه گذشته مورد توجه قرار گرفته است.

سیستم‌های خوراکی پپتیدها و پروتئین‌ها، درد و ناراحتی تزریقات مکرر را به همراه ندارند و ترکیبات سیستم‌های خوراکی بسیار ارزان‌تر از اشکال تزریقی است، زیرا جهت تهیه آنها نیاز به شرایط استریلیتی وجود ندارد [۳]. در این راستا استفاده از انسولین خوراکی یکی از روش‌های بهبود کیفیت زندگی و همکاری بیشتر بیماران دیابتی در جهت کاهش بار روانی بیمار و رفع مشکلات تزریق به خصوص در بچه‌ها و سالمندان است. ولی اندازه بزرگ و هیدروفیلیک بودن ملکول انسولین و احتمال تخریب آن توسط آنزیم‌های دستگاه گوارش سبب محدودیت فراهم زیستی آن در حدود ۰/۵٪ شده است. در این مطالعه اثر درمانی انسولین خوراکی با این سیستم حامل جدید در بیماران دیابتی وابسته به انسولین مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین، عوارض کوتاه مدت اشکال خوراکی بررسی شد.

روش‌ها

این مطالعه یک کارآزمایی بالینی تصادفی و دو سوکور بود که بر روی بیماران دیابتی نوع ۱ داوطلب انجام گرفت. جهت اخذ مجوز اخلاقی، پروپوزال طرح در کمیته اخلاق مرکز تحقیقات غدد دانشگاه علوم پزشکی تهران مورد بررسی و تایید قرار گرفت. جهت رعایت ملاحظات اخلاقی، ضمن کسب رضایت‌نامه آگاهانه از داوطلبان،

رایگان بودن تمام مراحل اجرای طرح شامل معاینات، آزمایش‌ها و دارو، پرداخت هزینه‌های رفت و آمد، آگاهی داوطلبان از نحوه اجرای طرح و اثرات و عوارض احتمالی دارو، پرداخت غرامت به داوطلبان و پذیرایی بیماران پس از اتمام آزمایش‌ها مد نظر قرار گرفت و به اجرا در آمد.

جمعیت مورد مطالعه بر اساس یک اعلان عمومی و مراجعه مستقیم آنها به مرکز تحقیقات غدد بیمارستان دکتر شریعتی و همچنین از بین بیماران عضو درمانگاه سرپایی دیابت بیمارستان شریعتی بر اساس معیارهای ورود، وارد مطالعه شدند؛ این معیارها عبارت بودند از: سن ۴۵ تا ۱۷ سال، ابتلا به دیابت نوع ۱، نداشتن سابقه بیماری‌های سیستمیک (به جز دیابت) از جمله بیماری کبدی، کلیوی، قلبی و ریوی، نداشتن سابقه گاستروپارزی دیابتی، عدم داشتن بیماری‌های تیروئید، نداشتن سابقه بیماری گوارشی، نداشتن بیماری‌های روانپزشکی، نداشتن سابقه اهدای خون در ۳ ماه اخیر یا سابقه خون‌ریزی گوارشی، طبیعی بودن تست‌های اوره، کراتینی، قند خون و تست‌های کبدی، نداشتن سابقه حساسیت به پلیمرها، عدم اعتیاد به مواد مخدر و نمایه توده بدنی (BMI) بین ۲۷ الی ۱۹. معیارهای خروج شامل این موارد بود: وجود هرگونه علائم گوارشی شدید، علائم حساسیت شدید به پلی‌مرها (مثل: سرگیجه، افزایش ضربان قلب، تورم صورت یا مشکلات تنفسی)، اختلالات قلبی از قبیل تغییرات ضربان قلب، وجود بیماری حاد تبار و غیر تبار، اجبار بیمار به استفاده از داروهای مداخله‌گر در طی کارآزمایی بالینی و سطح خونی $c-peptide > 0.5$ برای محاسبه حجم نمونه با احتساب خطای نوع اول $\alpha=0.05$ و خطای نوع دوم $\beta=0.02$ ، تعداد جمعیت مورد مطالعه برابر با ۱۵ نفر به دست آمد. این مطالعه از سال ۸۷ شروع گردید که با شروع سنتز پلیمرها در آزمایشگاه داروسازی صنعتی دانشگاه علوم پزشکی تهران و سپس با پذیرش داوطلبان و انجام فاز بالینی در مرکز تحقیقات غدد بیمارستان شریعتی ادامه پیدا کرد. هدف اصلی پژوهش، تعیین کارایی انسولین خوراکی تهیه شده از پلیمرهای سوپروپوروس هیدروژل (Superporous hydrogel: SPH) و نیز سوپروپوروس هیدروژل کامپوزد (Superporous Hydrogel Composite: SPHC) در کنترل

انسولین رگولار استفاده شده نیز از شرکت اکسیر تهیه شد و هر یک میلی گرم ماده موثر در پودر انسولین، حاوی ۲۸/۹ واحد انسولین و هر یک میلی لیتر انسولین در ویال انسولین، حاوی ۱۰۰ واحد انسولین بود. پلیمرهای SPH و SPHC در آزمایشگاه مرکز تحقیقات غدد و آزمایشگاه داروسازی صنعتی دانشگاه علوم پزشکی تهران تهیه گردید [۴]. جهت تهیه و ساخت کپسول‌های پوشش‌دار حاوی پلیمر، در مرحله اول پژوهش که در آزمایشگاه داروسازی صنعتی انجام گردید پلیمرهای مورد نیاز ساخته شد و سپس این اشکال دارویی تهیه گردید.

کپسول‌های حاوی پلیمرهای SPH و SPHC که برای ساخت این کپسول‌ها در مرحله اول پلیمرهای مورد نیاز ساخته شد و در آب جاری قرار گرفت تا بطور کامل دیالیز شود و مونومرهای موجود در پلیمر شسته شود و از آن خارج گردد. سپس در این پلیمرها، توسط مته، حفره‌ای ایجاد شد و از آن، قطعه دیگری از پلیمر به عنوان پوششی برای حفره ایجاد گردید. برای ساخت هسته دارویی انسولین به میزان ۳۰/۷ میلی گرم معادل ۸۰۰ واحد با ۸۶ میلی گرم ماده PEG 6000 ذوب شده (در یک بشر ۱۰ میلی لیتری تا نقطه ذوب حرارت داده شده) در حین سرد شدن کاملاً مخلوط گردید و سریعاً با اسپاتول مخلوط شد تا به طور یکنواخت با PEG: Polyethylene glycol شده مخلوط گردد و کم کم جامد شود. محصول حاصل، توسط هاون خرد شد و از یک الک با مش ۴۰۰ میکرومتر عبور داده شد و از میکرو پارتیکل‌های کوچک‌تر از ۴۰۰ میکرومتر جهت پر کردن حفره داخل پلیمر SPHC استفاده گردید. جهت بررسی کیفیت انسولین تهیه شده، پودر آماده با مخلوط PEG توسط کیت الایزا مورد آزمایش قرار داده شد که پودر معادل ۸۰ واحد توسط کیت الایزا و به همان میزان قرائت شد. جهت گروه دارونما از کپسول‌های ژلاتینی خالی ۰۰۰ استفاده گردید. سعی شد تا کپسول‌ها به فاصله ۲ هفته قبل از شروع مطالعه تهیه شوند و در این فاصله، تا تجویز به بیمار، در یخچال با دمای ۲ الی ۸ درجه سانتیگراد نگهداری شوند. نمونه‌ها چند روز قبل از مطالعه، دارای پوشش روده‌ای (Enteric coated) شدند و مجدداً در حین تجویز از نظر پایداری کپسول‌ها و انسولین چک شدند. اطلاعات

قند خون بیماران دیابتی وابسته به انسولین بود. در عین حال، اثربخشی شکل خوراکی انسولین در برابر تجویز اشکال دارونما و فرم تزریقی آن در بیماران دیابتی وابسته به انسولین نیز مورد بررسی قرار گرفت و عوارض کوتاه مدت شکل خوراکی انسولین تهیه شده از پلی مرهای SPHC و SPH در بیماران دیابتی وابسته به انسولین نیز تعیین گشت.

سطوح سرمی قند خون به روش آنزیماتیک و با کیت Pars Azmoon (Auto Analyzer Hitachi 902) اندازه‌گیری گردید و در طی کارآزمایی از گلوکومتر Acuecheck استفاده گردید. سطوح سرمی انسولین نیز به روش الایزا ELISA و با کیت Diametra اندازه‌گیری گردید که حساسیت این کیت $2 \mu\text{IU/ml}$ بود. سطوح سرمی c-peptid نیز به روش الایزا ELISA و با کیت Diametra اندازه‌گیری گردید که حساسیت این کیت 0.2 ng/ml بود. علائم کاهش قند خون به مجموعه علائم گیجی، تعریق، سردرد، احساس گرسنگی، رنگ پریدگی و فراموشی اطلاق گردید. عوارض ناشی از شکل دارویی نیز شامل سردرد، نفخ، احساس مزه فلزی در دهان، تهوع، استفراغ، درد شکم، اسهال، یبوست محسوب گردید.

در نوع خوراکی از دوزهای ۸۰۰ واحد بیرونی (inside)، ۱۶۰۰ واحد بیرونی (outside) و ۸۰۰ واحد بیرونی (outside) استفاده و تجویز شد و در نوع زیر جلدی ۰/۱ واحد به ازای هر کیلوگرم تجویز گردید. طول مدت بیماری بنا بر گفته بیمار و بر اساس سال ثبت گردید. مقدار مصرف انسولین کل روزانه بیمار طبق شرح حال بر اساس واحد ثبت گردید. وزن بیماران در حین مطالعه با وزنه دیجیتالی ثابت و بر اساس کیلوگرم ثبت گردید. C_{max} حداکثر غلظت انسولین در پلاسما بر اساس T_{max} زمان حداکثر اثر انسولین بر اساس دقیقه و T_{min} زمان حداقل قند خون بر اساس دقیقه و G_{max} حداقل غلظت قند خون بر اساس $AUC, \text{mg/dl}$ یا همان سطح زیر منحنی غلظت انسولین به روش دوزنقه‌ای و AAC سطح بالای منحنی غلظت گلوکز به روش دوزنقه‌ای در نظر گرفته شد.

مواد به کار رفته عبارت بودند از پودر انسولین که پودر انسولین بکار رفته شده در این طرح از شرکت اکسیر و

روز اول مطالعه، در همه بیماران، بعد از اقدامات فوق، انسولین زیرجلدی در ناحیه شکم با دوز 0.1 U/kg تزریق و نیم ساعت بعد، به بیماران صبحانه داده شد. نمونه خون جهت تعیین سطح سرمی گلوکز و انسولین در دقایق صفر، ۵، ۱۵، ۳۰ و سپس در ساعات ۱ الی ۶، هر یک ساعت یک بار، گرفته شد. در روزهای ۲ الی ۵ مطالعه، هر روز صبح، راس ساعت ۷، نمونه خون جهت تعیین انسولین و گلوکز گرفته شد و پلیمر حاوی انسولین (سه گروه: انسولین خوراکی با دوز ۸۰۰ واحد سوار بر پلیمر SPHC و SPH به صورت داخلی (inside)؛ با دوز ۸۰۰ واحد سوار بر پلیمر SPHC و SPH به صورت خارجی (outside)؛ با دوز ۱۶۰۰ واحد سوار بر پلیمر SPHC و SPH به صورت خارجی (outside)؛ و یا دارونما به بیماران داده شد و بیماران، آن را میل کردند. نمونه خون در ساعات صفر، ۳۰ دقیقه، ۱ ساعت، ۲ ساعت، دو و نیم ساعت، ۳ ساعت، سه و نیم ساعت، ۴ ساعت و ۶ ساعت، پس از مصرف خوراکی انسولین یا دارونما، از بیماران گرفته شد. بیماران بعد از ۳ ساعت از شروع مطالعه، جهت اطمینان از جذب کپسول حاوی دارو، صبحانه دریافت کردند. صبحانه استاندارد شامل نان سنگک، پنیر، خیار و شیر کم چرب (حاوی ۶۰ گرم کربوهیدرات معادل ۵۶۵ کالری) بود که توسط متخصص تغذیه تعیین شده بود و همه بیماران به صورت ثابت در هر دوره، این صبحانه را در عرض ۱۵ الی ۲۰ دقیقه دریافت کردند.

نمونه‌های خون بیماران، بلافاصله پس از گرفتن از بیمار، سانتریفوژ شد و سرم‌های جدا شده در دمای 20°C نگهداری گردید. هر نمونه سرم، از نظر انسولین و گلوکز دو بار توسط یک نفر و یک کیت الیزا در آزمایشگاه مرکز تحقیقات بیمارستان شریعتی مورد سنجش قرار گرفت. نمونه سومی هم از هر بار خون‌گیری تهیه شد تا اگر نسبت به نتایج به دست آمده در آزمایشگاه شکمی وجود داشت، در آزمایشگاه معتبر دیگری چک مجدد شود.

در طی انجام پژوهش، شرکت کنندگان در طی ساعات خون‌گیری در بیمارستان بستری بودند؛ همچنین، شرکت کنندگان در طی مطالعه می‌توانستند به فعالیت معمولی بپردازند، ولی از نزدیک تحت مراقبت کامل پزشکی از نظر

بیماران با کمک فرم جمع‌آوری اطلاعات بیماران و وسایل اندازه‌گیری برای تست‌های بیوشیمیایی (در آزمایشگاه مرکز تحقیقات غد) جمع‌آوری گردید. فرم جمع‌آوری اطلاعات بیماران شامل مشخصات و اطلاعات فردی داوطلب، اطلاعات در مورد سابقه بیماری‌های او و مصرف دارو، اعتیاد، مصرف الکل، معاینات کلینیکی و پاراکلینیکی داوطلبان و برگه ثبت نتایج آزمایش‌ها بود.

مراحل اجرای بالینی پژوهش: داوطلبان دارای معیارهای ورود و دارای تشخیص دیابت نوع ۱، بر اساس شرح حال شروع حاد و یا سابقه کتواسیدوز دیابتی، داوطلبانه و پس از رعایت ملاحظات اخلاقی مصوب پژوهش، از جمله تکمیل فرم رضایت‌نامه اخلاقی، تحت معاینه توسط پزشک متخصص قرار گرفتند. پرسشنامه حاوی آزمایش‌های اولیه شامل [کراتینین سرم، اوره-نیترژن خون، پروتئین تام خون، آلکالن فسفاتاز، بیلی‌روبین مستقیم و توتال، هموگلوبین A1C، آنالیز ادرار، شمارش کامل گلبول‌های خون، گاما جی تی (γGT)، آلانین ترانسفراز، آسپاراتات ترانسفراز] و -C-peptide و نیز شکایات بالینی بیمار، معاینه، شامل عوارض دیابت و خصوصاً گاستروپارازی دیابتی تهیه شد. بیماران بدون مشکل، به مدت ۲ هفته تحت رژیم غذایی یکسان و فعالیت متناسب قرار گرفتند. سپس، در یک دوره، انسولین وریدی با دوز 0.1 واحد به ازای هر کیلوگرم وزن و سپس در ۴ دوره مجزا با ترتیب تصادفی انسولین به صورت انسولین خوراکی با دوز ۸۰۰ واحد سوار بر پلیمر SPHC و SPH به صورت داخلی (inside)؛ با دوز ۸۰۰ واحد سوار بر پلیمر SPHC و SPH به صورت خارجی (outside)؛ با دوز ۱۶۰۰ واحد سوار بر پلیمر SPHC و SPH به صورت خارجی (outside)؛ در نهایت، کپسول دارونما بدون انسولین و بدون پلیمر در دوره‌های شستشو (washout) به مدت یک هفته تجویز شد. همه بیماران از ساعت ۱۱ شب قبل ناشتا بودند، دوز شبانه انسولین NPH را دریافت نمی‌کردند و فردا صبح زود، قبل از ساعت ۷، به بیمارستان دکتر شریعتی مراجعه کردند. در ابتدا لاین وریدی مناسب برای بیماران برقرار شد و فرم جمع‌آوری اطلاعات جهت ثبت علائم حیاتی، قند خون با گلوکومتر و نیز، شکایات بالینی بیمار توسط یکی از پزشکان همکار مطالعه تکمیل شد.

آنالیز شد و مقدار P کمتر از ۰/۰۵ معنی دار تلقی گردید. برای بررسی ارتباط خطی بین متغیرها، از مدل همبستگی پیرسون دو دامنه با مقدار P کمتر از ۰/۰۱ معنی دار تلقی گردید و با استفاده از مدل رگرسیون خطی چند گانه، اثر متغیرهای زمان و انسولین و قند بر سطوح و قند خون مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها

۲۰ بیمار وارد مطالعه شد که از بین آن‌ها پس از بررسی اولیه، ۱۴ نفر واجد شرایط لازم برای مطالعه بودند. یک نفر دچار اختلال تست‌های کبدی و ۵ نفر با C-peptide بالا بودند. داوطلبان متشکل از ۱۰ مرد (۷۱/۴٪) و ۴ زن (۲۸/۶٪) با میانگین سنی $26/9 \pm 7/6$ (۱۷-۴۵) سال بودند. این بیماران همگی براساس شرح حال (یا سابقه DKA در ابتدای تشخیص، ۸ نفر و یا شروع حاد دیابت با کاهش وزن و علائم شدید، ۵ نفر) دچار دیابت نوع ۱ بودند و سابقه مصرف داروی مداخله‌گر با انسولین نداشتند. میانگین وزن آن‌ها $70/4 \pm 10/5$ کیلوگرم و میانگین قد آن‌ها $171/6 \pm 7/2$ سانتی‌متر و میانگین BMI $23/9 \pm 3/2$ kg/m^2 و میانگین قند خون ناشتا در بیماران $142/36 \pm 124/5$ mg/dl و میانگین HbA_{1c} $6/97 \pm 2/88$ درصد بود. سابقه ابتلا به بیماری بطور میانگین $8/8 \pm 6$ سال (با رنج ۶ ماه تا ۲۴ سال) و میزان میانگین مصرف انسولین زیرجلدی بطور متوسط بر اساس وزن $0/3 \pm$ واحد روزانه می‌شد.

عوارض

بطور کلی عوارض محدودی در طی مطالعه ثبت شد. شایع‌ترین عارضه در گروه‌های دریافت کننده دارو و دارونما، سردرد (۹ مورد) بود. سایر عوارض شامل ضعف و بی حالی (۸ مورد) و نفخ شکم (۴ مورد) ولی در گروه انسولین تزریقی، تنها یک مورد گاستروانتریت و یک مورد ضعف و بی حالی ثبت شد. در طی مطالعه، در هیچ یک از روزها، c-peptide بیماران افزایش نیافت. ۲ نفر از بیماران در طی مطالعه به علت عدم پیگیری از مطالعه کنار رفتند. در آزمایش‌های هماتولوژیک و بیوشیمیایی بیماران در پایان

علائم حیاتی (فشار خون، نبض، تعداد تنفس) بودند و نیز، در طی ۴۸ ساعت پس از آن، از نظر سایر علائم و عوارض احتمالی، تحت مراقبت بودند. پزشکان و پرستاران، در تمام ساعات انجام پژوهش و پس از آن، بر بالین داوطلب حضور داشتند و تا ۴۸ ساعت بعد، داوطلب در صورت بروز هر گونه علامتی، با داشتن تلفن مستقیم، با پزشک مسؤول پژوهش در ارتباط بود. در هر بار خون‌گیری یا به دفعات بیشتر در صورت نیاز، نمونه خون از نظر سطح گلوکز خون، با گلوکومتر پایش شد.

وجود هر گونه علامت، در برگه ثبت عوارض ثبت گردید. برای تشخیص کتواسیدوز دیابتی، از نوار ادرار جهت کشف کتونوری و امکان تهیه آنالیز گازهای خون وریدی استفاده شد. در صورت نیاز به درمان کتواسیدوز دیابتی، از ترکیب سرم دکستروز ۵ درصد، انسولین وریدی و سرم نرمال سالین استفاده شد و بر حسب نظر پزشک متخصص، درمان آغاز گردید. در مواردی که علائم بیمار شدید بود، بیمار مذکور از مطالعه خارج گردید. پس از اتمام هر دوره، داوطلبان به مدت ۲ ساعت تحت نظر بودند و نمونه خون این بیماران، جهت تعیین سطح سرمی انسولین و گلوکز هم گرفته شد؛ پس از آن، بیمار یک وعده غذایی صرف نموده، در صورت نداشتن عارضه، ترخیص شد. همچنین، پس از هر دوره، پرسشنامه‌ای در اختیار داوطلبان قرار داده شد تا در صورت بروز هر گونه عارضه، در داخل این پرسشنامه، عوارض احتمالی را ثبت نمایند. مجموعه آزمایش‌های نهایی، شامل کراتینین سرم، اوره-نیترون خون، قند خون ناشتا، پروتئین تام خون، آلکالن فسفاتاز، بیلی‌روبین مستقیم و توتال، هموگلوبین A_{1c}، آنالیز ادرار، شمارش کامل گلبول‌های خون، γ GT، آلانین ترانسفراز، آسپاراتات ترانسفراز و نوار قلب در آخرین روز مراجعه، از بیماران گرفته شد.

پارامترهای فارماکوکینتیک T max, Cmax, Gmax Total area under the curve of plasma concentration و انسولین به روش دوزنقه بدست آمد. همچنین Time action profile (شروع و طول مدت اثر و maximal metabolic response) محاسبه گردید. اطلاعات بدست آمده با آنالیز واریانس ANOVA در هر گروه و بین گروه‌ها

دارونما فرقی نداشت ($P=0/44$). کاهش قند خون پس از مصرف انسولین خوراکی با دوز بالا، بالاتر از انسولین تزریقی و سایر انواع انسولین خوراکی و دارونما بود ولی تفاوت آشکاری وجود نداشت.

نمودار ۱ سطح انسولین را در هر کدام از گروه‌های انسولین خوراکی و دارونما مقایسه می‌کند. همانطور که مشخص است انسولین خوراکی با مقدار $U\ outside\ 800$ نسبت به بقیه سطح بالاتری از انسولین سرم را ایجاد کرده است. مقایسه سطح سرمی انسولین و گلوکز در انواع گروه‌های درمانی را در نمودار ۲ (الف-ه) می‌بینید. در گروه دارونما کمترین ارتباط بین سطح سرمی انسولین و گلوکز دیده شد. انسولین خوراکی در هر مقداری اگرچه موفق به کاهش گلوکز سرم نشده ولی توانسته از افزایش آن جلوگیری کند.

مطالعه، نسبت به ابتدای مطالعه تغییر مهم بالینی مشاهده نشد. ۴ بیمار پس از دریافت انسولین خوراکی و یک بیمار پس از انسولین تزریقی دچار افت قند خون علامت‌دار شدند که با سه قطعه بیسکوئیت علایم بر طرف شد. ۲ بیمار هم پس از دریافت انسولین خوراکی و دارونما دچار هیپرگلیسمی شدید شدند که مجبور به ختم مطالعه در آنها شده و با دریافت انسولین تزریقی درمان شدند.

خصوصیات فارماکودینامیک و فارماکوکینتیک

خصوصیات فارماکودینامیک و فارماکوکینتیک در مورد هر کدام از داروها در جدول ۲ و ۱ خلاصه شده است. سطح انسولین سرم پس از مصرف انسولین خوراکی به طور واضحی کمتر از انسولین تزریقی بوده ($P<0/001$) و با

جدول ۱- جدول خصوصیات کینتیک انسولین در اشکال مختلف درمان شده

SD	T max	SD	C max	SD	AUC Insulin	GROUP
۶۳/۰۵	۱۰۷/۱۴	۲۰۴/۶۲	۱۴۷/۷۴۲۹	۳۸۱۳۰/۰۸	۲۵۴۰۸/۳۲	Sq
۵۸/۲۰	۸۴/۵۴	۱۲/۹۴	۱۱/۳۳۴۶	۳۵۳۲/۲۱	۲۹۱۷/۴۵	outside ۱۶۰۰
۱۰۱/۱۲	۱۸۵/۴۵	۶/۲۷	۸/۲۹۸۳	۱۸۹۷/۶۹	۱۹۶۰/۶۷	placebo
۹۱/۱۸	۱۲۸/۵۷	۲۴/۸۴	۱۸/۶۵۴۲	۳۴۰۵/۶۰	۲۹۹۷/۸۵	outside ۸۰۰
۱۱۸/۵۶	۱۹۲/۸۵	۱۹/۸۷	۱۲/۲۵۲۳	۳۱۰۶/۷۴	۲۱۷۳/۰۳	inside ۸۰۰
	۰/۱۰۳		۰/۰۰۱		۰/۰۰۰۴	P*

ANOVA*

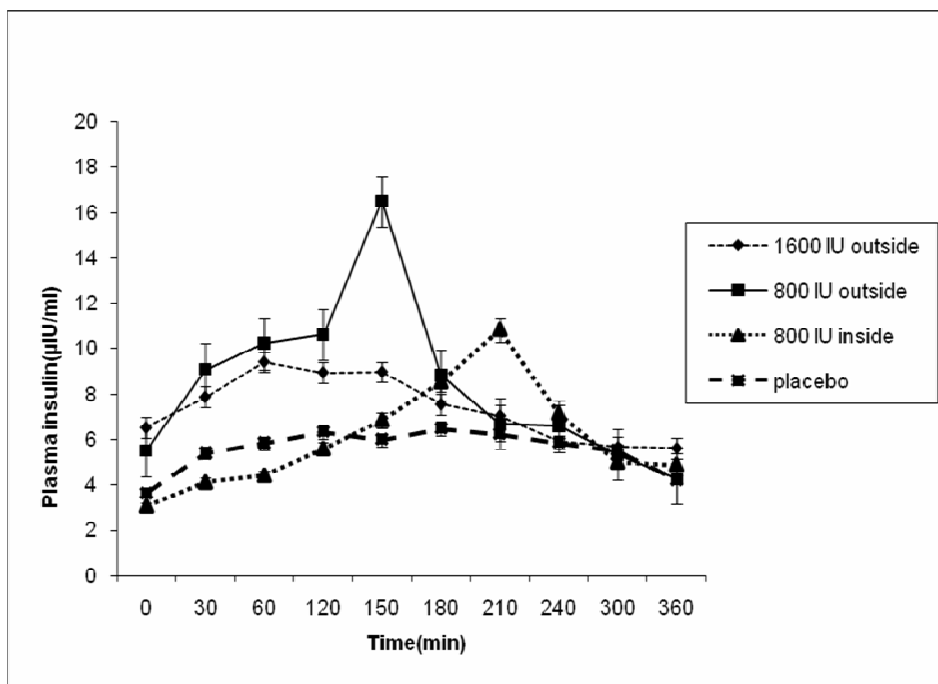
جدول ۲- جدول خصوصیات کینتیک گلوکز در اشکال مختلف درمان شده

SD	T min	SD	C min	SD	AAC glucose	GROUP
۳۵/۹۴	۷۳/۸۴	۱۳۲/۳۱۳۶	۲۲۱/۱۷۸۶	۵۹۴۳/۵۸	۱۸۴۶۸/۸۶۱	Sq
۶۰/۷۴	۱۴۷/۰۰	۱۳۱/۲۱۴۹	۱۸۹/۹۰۰۰	۱۷۴۷۵/۲۵	۴۲۸۰۸/۸۴۶	outside ۱۶۰۰
۷۳/۳۷	۱۰۸/۷۵	۱۰۱/۱۱۳۶	۲۸۱/۳۷۵۰	۱۵۶۷۸/۱۰	۲۸۵۲۹/۵۷۸	placebo
۵۹/۶۴	۱۳۲/۸۵	۱۲۴/۳۷۱۷	۲۰۰/۹۰۰۰	۱۵۱۶۳/۴۶	۴۱۵۲۶/۰۰	outside ۸۰۰
۳۹/۸۷	۸۵/۰۰	۱۲۴/۳۷۱۷	۲۱۳/۸۹۲۳	۱۲۱۲۹/۹۳	۴۲۲۱۵/۵۳۸	inside ۸۰۰
	۰/۰۲۳		۰/۳۷۴		۰/۴۴	P*

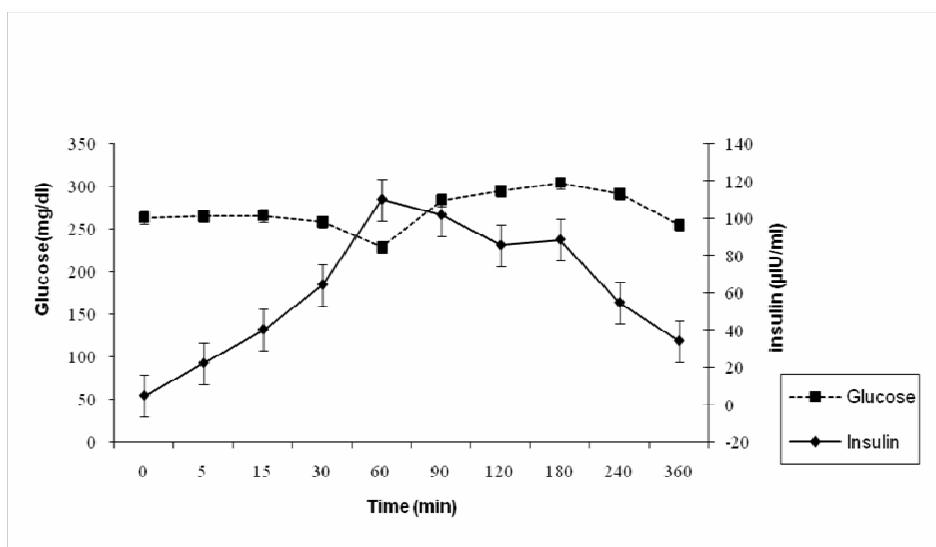
ANOVA*

جدول ۳- مقایسه گروه‌های درمانی از نظر سطح زیر منحنی انسولین

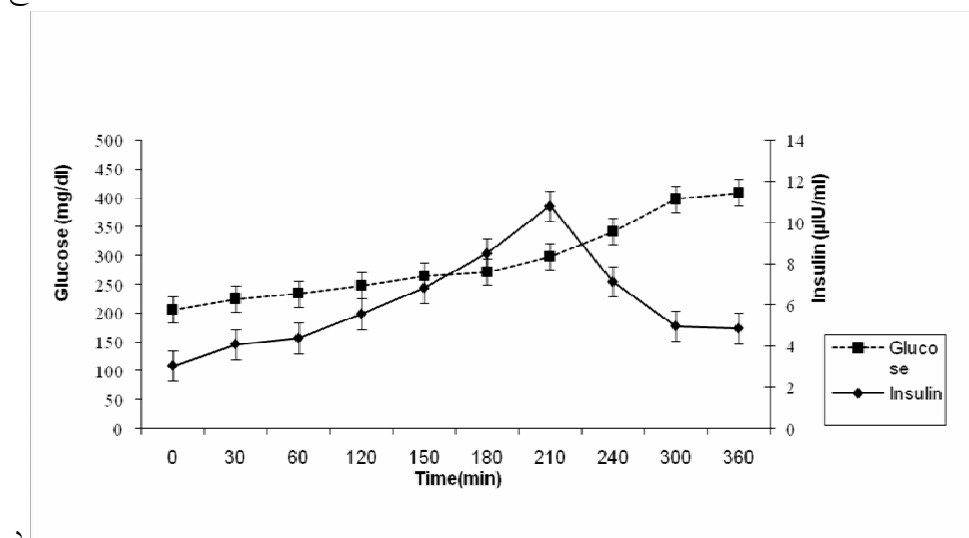
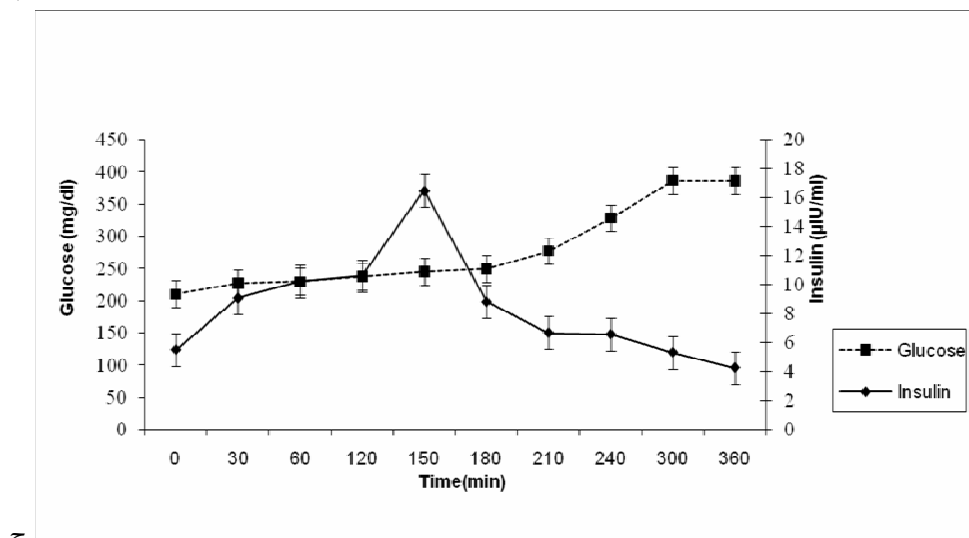
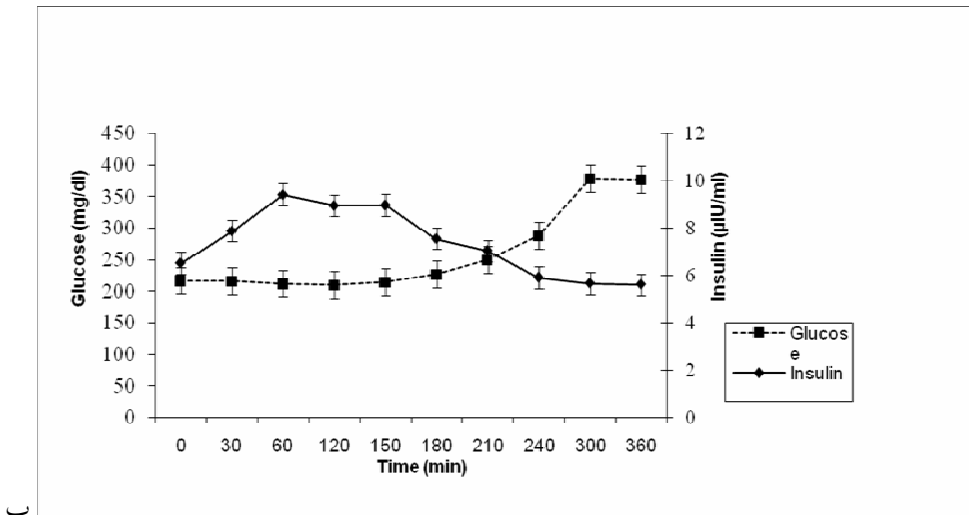
AUC پس از حذف سه نفر	AUC همه بیماران	دارو
۳۰۰۷۰/۸	۲۵۴۰۸/۳	انسولین تزریقی
۴۵۶۶/۶	۲۹۱۷/۴	انسولین ۱۶۰۰ واحد outside
۳۹۹۳/۱	۲۹۹۷/۸	انسولین ۸۰۰ واحد outside
۲۸۲۲	۲۱۷۳	انسولین ۸۰۰ واحد Inside
۱۸۲۷/۱	۱۹۶۰/۶	پلاسیبو

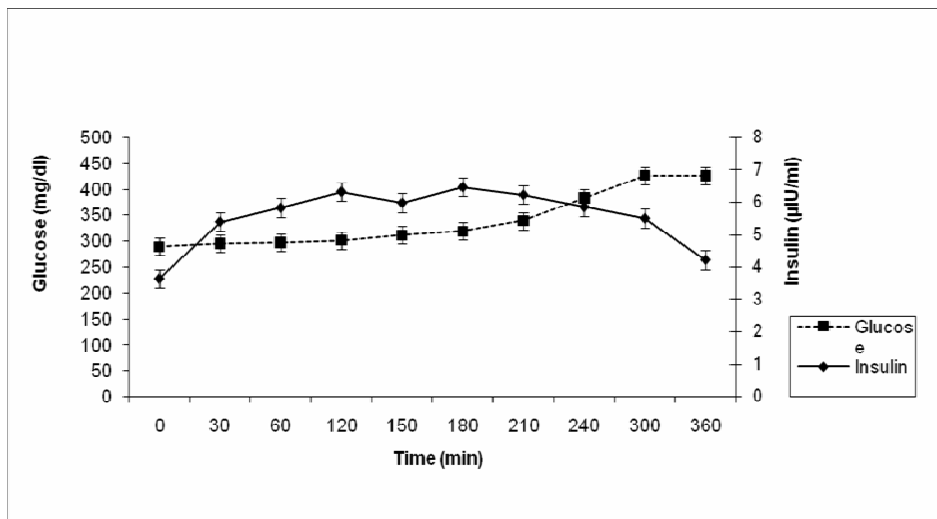


نمودار ۱- سطح متوسط انسولین در گروه‌های درمانی خوراکی بر اساس زمان (Mean ±SE)



الف





نمودار ۲- الف در دقیقه صفر، تزریق زیر جلدی انسولین رگولر به مقدار ۰/۱ واحد در کیلوگرم وزن صورت گرفت و در دقیقه ۳۰ صبحانه استاندارد به مدت ۱۰ دقیقه میل شد ($r = -0/525, P = 0/015$) (Mean \pm SE) نمودار ب- ه: بیماران در دقیقه صفر انسولین خوراکی (ب- انسولین خوراکی ۱۶۰۰ واحد ($r = -0/411, P = 0/01$)) و outside ج- انسولین خوراکی ۸۰۰ واحد ($r = -0/377, P = 0/02$) و انسولین خوراکی ۸۰۰ واحد ($r = -0/321, P = 0/01$) inside ه- پلاسبو ($r = -0/251, P = 0/04$) و در دقیقه ۱۸۰ صبحانه را به مدت ۱۰ دقیقه میل کردند. (Mean \pm SE).

بحث

انسولین خوراکی یکی از روش‌های بهبود کیفیت زندگی و همکاری بیشتر بیماران دیابتی در جهت کاهش بار روانی بیمار و رفع مشکلات تزریق به خصوص در بچه‌ها و سالمندان می‌باشد؛ ولی اندازه بزرگ و هیدروفیلیک بودن ملکول انسولین و احتمال تخریب آن توسط آنزیم‌های دستگاه گوارش، سبب محدودیت فراهم‌زیستی آن در حدود ۰/۰۵٪ شده است. نتایج AUC انسولین تزریقی از آنجا که هیپرانسولینمی ایجاد می‌کند، بطور قابل توجهی از انسولین خوراکی بالاتر است. اما در تأثیر بر روی قند خون گروه انسولین خوراکی با دوز بالا موفق‌تر بوده ولی تفاوت قابل ملاحظه‌ای با انسولین تزریقی و سایر دوزهای انسولین خوراکی هم نداشته است.

یکی از علل عدم موفقیت انسولین خوراکی، مشکل پوشش روده‌ای آن است که در حجم کم با دست انجام می‌شود و امکان دارد همه یکنواخت پوشانده نشده و در بعضی از بیماران پوشش قبل از رسیدن به روده باز شود، چنانچه در آزمایش کپسول‌ها در محیط بافر، همه کپسول‌ها در یک

زمان باز نشدند و چهار نوع کپسول پس از ۲، ۲/۵، ۳، ۳/۵ ساعت باز شدند. به این ترتیب با اینکه در بیمارانی در حد ۷۰-۱۶۱ قند خون در مصرف انسولین خوراکی با دوز بالا پایین آمده ولی در چهار نفر از بیماران سطح انسولین نسبت به پایه هیچ تغییری نکرده و قند خون این افراد هم پایین نیامده است. همچنین در گروه انسولین خوراکی با دوز پایین ولی outside که در بالا بردن سطح انسولین سرم موفق‌تر از بقیه بود، چهار بیمار هیچ تغییری در سطح انسولین پلاسما در حین مصرف نشان ندادند. همچنین غیر از مسئله پوشش دارو که در سطح کارخانه، این مشکل بر طرف شدنی است، احتمال بعدی در عدم تأثیر این دارو در بعضی از بیماران، عوارض نوروپاتی اتونوم و گاستروپارزی این بیماران می‌باشد. البته سعی شد با شرح حال و معاینه چنین بیمارانی به مطالعه وارد نشوند، ولی با توجه به سابقه طولانی بیماری در این گروه از بیماران (۹/۷۵ سال در مقابل ۷/۵ سال)، احتمالاً این عامل به صورت مخفی در نتایج تأثیر گذاشته است. سن بیمارانی که به درمان خوراکی

پاسخ نداده‌اند، بالاتر از گروه دیگر است (۲۹/۷۵ سال در مقابل ۲۳/۱۶ سال).

بالاترین فراهم‌زیستی انسولین خوراکی در مطالعه ما مربوط به انسولین با دوز ۸۰۰ واحد و بروش outside بود که در حد ۰/۱۲٪ درآمد. اگر گروهی از بیمارانی که به هیچ وجه در هیچ کدام از انواع انسولین خوراکی افزایشی در سطح انسولین پلاسما نداشته‌اند را که سه نفر می‌باشند، حذف کنیم به نتایج معقول‌تری می‌رسیم. ولی فراهم‌زیستی چندان تغییری نمی‌کند و در داروی ۸۰۰ واحدی به روش outside به ۰/۱۳٪ می‌رسد (جدول ۳). مجدداً پس از آنالیز آماری با ANOVA فقط بین انسولین خوراکی با سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود دارد.

در مطالعه Carino G P و همکارانش هم ذکر شده است که فراهم‌زیستی انسولین خوراکی با تمام تلاش‌هایی که در این زمینه شده است، کمتر از ۱٪ می‌باشد [۵]. مطالعات مشابه در مورد انسولین خوراکی، در حیوانات به فراهم‌زیستی بالاتری دست یافته‌اند ولی هیچکدام از این مطالعات در انسان فراهم‌زیستی مشخصی اعلام نکرده‌اند. قرص با پوشش پلی‌اورتانز حاوی انسولین در موش، زیست‌دستیابی ۳/۳۸-۱/۰۴٪ داشته است [۶]. کیتوسان که توسط پوششی از گلوکولات سدیم یا اولیئات سدیم پوشانده می‌شود، در موش زیست‌دستیابی ۳/۵٪ داشته است [۷]. انسولین خوراکی با کیتوسان فتالیت و کیتوسان سوکسینات فراهم‌زیستی آن‌ها، به ترتیب ۱۸/۶۶٪ و ۱۶/۲۴٪ بود [۸]. نانو پارسیکل همراه کیتوسان با شارژ مثبت و پلی ۷ گلوتامیک اسید با شارژ منفی که برای انسولین خوراکی تعبیه کردند در مطالعه invitro فراهم‌زیستی بدست آمده، حدود ۱۵/۱٪ شد. دوز زیر جلدی ۵۰ u/kg و دوز نانو پارسیکل ۳۰ u/kg بود. طول مدت اثر انسولین زیر جلدی ۵ ساعت و طول مدت انسولین نانو پارسیکل ۱۰ ساعت بود [۹]. نانو پارسیکل کیتوسان / دکستران سولفات در مطالعه حیوانی، داده شد و انسولین به تنهایی فراهم‌زیستی ۱/۶٪ ولی با نانو پارسیکل با دوز ۵۰ IU/kg، ۵/۶٪ و با نانو پارسیکل با دوز ۱۰۰ IU/kg، ۳/۴٪ داشت [۱۰].

ILP در فرم اولیه فراهم‌زیستی ۴/۲۲٪ ایجاد کرد [۱۱] همچنین ILP با سایز کوچک‌تر، فراهم‌زیستی بالاتری

(۱۲/۸٪) ایجاد کرد [۱۲] Udhumansha Ubaidulla و همکارانش روی میکروسفر کیتوسان فتالات کار کرده‌اند که انسولین را به صورت امولسیون داخل آن قرار داده‌اند. فراهم‌زیستی آن حدود ۴/۵ برابر کیتوسان به تنهایی است (۱۸/۶۶٪ در مقابل ۴/۰۸٪). طول مدت اثر آن هم حدوداً ۱۶ ساعت می‌باشد [۱۳]. Lowman و همکارانش، در ۱۹۹۹ با استفاده از ژل P(MAA-g-EG) به فراهم‌زیستی ۴/۲۲٪ دست یافتند [۱۱].

مطالعات حیوانی انجام شده بر روی جذب انسولین بر پایه پلیمرهای SPH و SPHC نشان‌دهنده فراهم‌زیستی انسولین در روش Core Outside به میزان $0/4 \pm 1/3$ ٪ و در روش Core Inside به میزان $0/7 \pm 1/9$ ٪ در مقایسه با روش تجویز داخل روده‌ای ($0/2 \pm 0/5$ ٪) می‌باشد [۱۴].

از بین همه این ترکیبات تنها ترکیبی که مطالعه انسانی آن منتشر شده است، انسولین HIM 2 است. که در بیماران دیابتی نوع ۱ داده شده و با عوارض ناچیز باعث کاهش قند خون بعد از غذا در حد ۲۶-۱۳٪ با دوز ۱ mg/kg شد [۱۵]. ارتباط معکوسی بین سطح انسولین و قند خون مشاهده شد که نشان دهنده عملکرد HIM 2 در کبد بود ولی سطح پلاسمایی انسولین کمتری نسبت به انسولین زیر جلدی ایجاد شده بود. شروع اثر آن ۲۰ دقیقه بعد از مصرف خوراکی بوده و بعد از ۲ ساعت اثر آن از بین می‌رفت [۱۵].

انسولین خوراکی در مطالعه ما به سه صورت کیتیک خود را نشان داد، انسولین outside با دوز ۱۶۰۰ واحد پس از ۳۰ دقیقه بالا رفته و در ۶۰ دقیقه به پیک می‌رسد و طول اثر آن ۲۱۰ دقیقه می‌باشد. انسولین outside با دوز ۸۰۰ واحد هم در ۱۵۰ دقیقه به پیک می‌رسد و طول اثر آن ۳۰۰ دقیقه می‌باشد. انسولین بروش inside دیرتر از همه به پیک می‌رسد و تا ۴۸۰ دقیقه هنوز تأثیر دارد. در مطالعات حیوانی انواع انسولین خوراکی تنوع زیادی در کیتیک انسولین گزارش شده است. Udhumansha Ubaidulla در مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۷ از سوکسینات کیتوسان به صورت میکروسفر استفاده کرده و داخل آن انسولین گذاشتند و به صورت زیرجلدی به موش‌های دیابتی تزریق کردند. در عرض یک ساعت، ۴۴٪ قند خون را پایین آورد که تا ۶

زمانی خوردن صبحانه نمی‌تواند در مقایسه این دو نوع درمان تداخل کند.

یکی دیگر از یافته‌های مطالعه حاضر، عوارض کوتاه مدت انسولین خوراکی بود. تنها تغییرات مشخص در آزمایش‌های بیماران، کاهش گلبول‌های قرمز، پروتئین تام خون و افزایش قند ناشتا بود که به نظر نمی‌آید حکایت از عارضه مهمی باشد. سردرد و آرمی عوارض مهم در مطالعات قبلی بود [۱۹]. در مطالعه ما هم سردرد، نفخ شکم و احساس سستی و بی‌حالی به عنوان شایع‌ترین عارضه مشاهده شد که بجز نفخ شکم، بقیه عوارض همزمان با افزایش قند خون به حد بالای ۴۰۰ دیده شد. عارضه کلیوی و کبدی هم دیده نشد.

نقاط مثبت این مطالعه دو سوکور بودن و cross over بودن افراد هم از نظر نوع داروی خوراکی و هم از نظر نوبت مصرف آن دانست. نکته دیگر حجم نمونه کافی و عدم پیگیری بیماران در حداقل ممکن بود. سادگی نتیجه‌گیری از مطالعه به این دلیل بود که بیماران از بین بیماران دیابت نوع ۱ انتخاب شده و به هیچ وجه تولید انسولین اندوژن نداشتند. محدودیت مطالعه، تعداد کم دفعات خون‌گیری، عدم هماهنگی قند خون بیماران در ابتدای هر روز مطالعه چه نسبت به یکدیگر و چه نسبت به خودشان در روزهای مطالعه (یوگلیسمیک کلمپ) و عدم هماهنگی زمان صبحانه با زمان تأثیر دارو می‌باشد.

به طور خلاصه داروی انسولین خوراکی بروش پلیمر SPHC و SPH با وجود اینکه توانسته قند خون را بطور مناسبی در مقایسه با انسولین تزریقی پائین بیاورد، اما به علت فراهم‌زیستی پائین و تنوع نتیجه در هر بیمار، نمی‌تواند آرزوی بیماران و محققان در ارائه راه آسانتر استفاده از انسولین را برطرف کند و هنوز راه طولانی تا دستیابی به این هدف وجود دارد.

سپاسگزاری

پژوهش حاضر با حمایت مالی پژوهشکده غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شده است. پژوهشگران مطالعه حاضر از سرکار خانمها شهبازی، وثوق، خوشه چین و تمامی پرسنل پژوهشکده غدد کمال تشکر را دارند.

ساعت اثر آن طول کشید. به صورت خوراکی همین میکروسفر را به موش‌های دیابتی دادند که حداکثر اثر آن در مدت طولانی تری (۶ ساعت) بوده و اثر آن تا ۲۵ ساعت هم طول کشید [۱۶].

Sarmento B و همکارانش از نانو پارسیکل کیتوسان/ دکستران سولفات و انسولین در موش‌های دیابتی استفاده کردند. این نانوپارسیکل، شارژ منفی داشته و به مخاط می‌چسبید و اندازه آن حدود ۵۰۰ نانومتر بود که برای جذب روده‌ای مناسب بود. با دوز ۵۰ IU/kg و ۱۰۰ IU/kg داده شد که در عرض ۲۴ ساعت، باعث کاهش قند خون در حد ۳۵٪ شد [۱۰]. انسولین خوراکی با کیتوسان فتالیت و کیتوسان سوکسینات به ترتیب ۴۰/۴۲٪ و ۴۱/۰۸٪ قند خون را پایین آورد. پیک اثر آن ۴ ساعت و اثر آن ۱۶ ساعت طول کشید [۸]. Xiang Yuanxiong و همکارانش با انسولین خوراکی بر پایه (CMC)، ترکیباتی ساختند. این پلیمر با پیک ۵ ساعت، به مدت ۱۸/۵ ساعت قند خون را در موش پائین نگهداشت و در پیک گلوکز را به ۲۵٪ سطح اولیه رساند [۱۷].

کاهش قند خون در بعضی از بیماران با انسولین خوراکی خصوصاً روش outside قابل توجه بود ولی مجموع بیماران که در نظر گرفته شوند، نتایج مایوس کننده می‌شود. شاید این یکی از عیوب استفاده خوراکی انسولین می‌باشد که در بیماران مختلف قابل پیش‌بینی نمی‌باشد. چون جذب آن از مناطق مختلف روده یکسان نمی‌باشد [۱۸]. در واقع سطح بالای منحنی قند خون در گروه‌های انسولین خوراکی از انسولین تزریقی بالاتر بود ولی نه در حد قابل توجه و حتی این چهار گروه بالاتر از پلاسبو بودند ولی تفاوت معنی‌داری با آن نداشتند.

در تفسیر همه این نتایج بایستی به صبحانه خورده شده در همه گروه‌ها هم توجه کرد با اینکه مقدار و کالری آن در همه روزها ثابت بود، ولی در گروه انسولین تزریقی ۳۰ دقیقه بعد از آن داده شد، که از هیپوگلیسمی بعد از تزریق جلوگیری کند و در گروه‌های انسولین خوراکی بعد از ۳ ساعت داده می‌شد که در جذب دارو تداخل نکند. به هر حال تا پایان مطالعه در هر دو گروه ما پیک قند خون را بعد از ۲-۲/۵ ساعت داشته و گذرانیدیم و این تفاوت

مأخذ

- 1- Cernea S, Raz I. Noninjectable methods of Insulin administration. *Drug of Today* 2006; 42(6): 405-424.
- 2- Saudek C.D. Novel forms of Insulin delivery. *Endocrinol metab clin north AM* 1997; 26: 599-610.
- 3- Hosny EA, Bagory EL, Al-jenoobi FI. Enteric coated Insulin capsules: a combination with or a replacement of oral hypoglycemic drugs. *Boll Chim Farm* 2002; 141(5): 379-84.
- 4- Dorkoosh FA, Verhoef JC, Rafiee-Tehrani G, et al. Peroral drug delivery systems for peptides and proteins. *STP Pharma Sci* 2002; 12(4): 213-221.
- 5- Carino GP, Mathiowitz E. Oral insulin delivery. *Advanced Drug Delivery Rev* 1999; 35: 249-257.
- 6- Tozaki H, Nishioka J, Komoike J, et al. Enhanced absorption of insulin and (Asu (1,7)) eel-calcitonin using novel azopolymer-coated pellets for colon-specific drug delivery. *J Pharm sci* 2001; 90:89-97.
- 7- Tozaki H, Komoike J, Tada C, et al. Chitosan capsules for colon-specific drug delivery: Improvement of insulin absorption from the rat colon. *J Pharm Sci* 1997; 86:1016-21.
- 8- Ubaidulla U, Khar RK, Ahmad FJ. Optimization of chitosan succinate and chitosan phthalate microspheres for oral delivery of insulin using response surface methodology. *Pharmaceutical Devel Technol* 2008; 1:1-10.
- 9- Sonaje K, Lin Y. H. Juang JH, et al. In vivo evaluation of safety and efficacy of self-assembled nanoparticles for oral insulin delivery. *Biomaterial* 2009; 30:2329-39.
- 10- Sarmiento B, Ribeiro A, Veiga F, et al. Oral bioavailability of insulin contained in polysaccharide nanoparticles. *Biomacromolecules* 2007; 8 (10): 3054-60.
- 11- Lowman AM, Morishita M, Kajita M, et al. Oral delivery of insulin using pH-responsive complexation gels. *J Pharm Sci* 1999; 88(9): 933-937.
- 12- Morishita M, Goto T, Nakamura K, et al. Novel oral insulin delivery systems based on complexation polymer hydrogels: Single and multiple administration studies in type 1 and type 2 diabetic rats. *J Cont Release* 2006; 110: 587-594.
- 13- Ubaidulla U, Khar PK, Ahmed FJ and Panda AK. Development and in-vivo evaluation of insulin-loaded chitosan phthalate microspheres for oral delivery. *J Pharm Pharmacol* 2007; 59 (10): 1345-51.
- 14- Dorkoosh FA, Verhoef JC, Borchard G, et al. Intestinal absorption of human Insulin in pigs using delivery system based on superporous hydrogely polymers. *Int J Pharma* 2002; 247: 47-55.
- 15- Clement S, Dandona P, Still JG and Kosutic G. Oral modified insulin (HIM2) in patient with type 1 diabetes mellitus: Results from a phase I/II clinical trial. *Metabolism* 2004; 53(1):54-58.
- 16- Ubaidulla U, Khar RK, Ahmad FJ, et al. Development and characterization of chitosan succinate microspheres for the improved oral bioavailability of insulin. *J Pharm Sci* 2007; 96 (11): 3010-22.
- 17- Xiong XY, Li YP, Li ZL, et al. Vesicles from pluronic/poly (lactic acid) block copolymers as new carriers for oral insulin delivery. *J Cont Rel* 2007; 120:11-17.
- 18- Gowthamarajan K, Kulkarni G T. Oral insulin-fact or fiction? : Possibilities of achieving oral delivery for insulin. *Resonance* 2003 May; 38-46.
- 19- Mohseni F, Hesam M, Dorkoosh FA, Mahmoudy M, Bastan hagh MH, Rafiee-Tehrani M, Larijani B. The effect of oral insulin based on SPH and SP on serum levels of glucose, insulin and c-peptide in healthy volunteer. *Iranian J Diabetes Lipid disorders* 2005; 5(2): 89-98