

## مقاله تحقیقی

# تهیه مخلوط داروی سیتاگلیپتین در شبکه پلیمری در هم فرو رفته پکتین و پلی وینیل الکل برای رهایش کنترل شده دارو

نگار السادات نقیب<sup>۱</sup>، الهام منیری<sup>۲\*</sup>، مهناز قمی<sup>۳</sup>

۱. دانشکده داروسازی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم دارویی
۲. گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، واحد ورامین \_ پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی .
۳. گروه شیمی تجزیه، دانشکده شیمی دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم دارویی تهران

مسئول مکاتبات: پست الکترونیک: moniri30003000@yahoo.com

محل انجام تحقیق: دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم دارویی تهران

تاریخ دریافت: ۹۶/۴/۱۸

تاریخ پذیرش: ۹۶/۶/۲۳

## چکیده

امروزه با توجه به افزایش گرایش بیماران به مصرف دارو ها در فواصل زمانی بیشتر و همچنین گرفتن اثرات بیشتر و عوارض کمتر، فرمولاسیون های کنترل رهش توجه محققین و شرکت های داروسازی را به خود جلب کرده است. در این تحقیق بر روی فرمولاسیون کنترل رهش داروی سیتاگلیپتین کار شده است. برای رهش کنترل شده، این دارو در شبکه حاصل از دو پلیمر پکتین و پلی وینیل الکل که به صورت عرضی به یکدیگر متصل می شوند، وارد شده است و هدف ساخت نانو جاذب و تعیین شرایط بهینه برای کارکرد نانو جاذب بوده است. برای این منظور پکتین و پلی وینیل الکل با هم مخلوط شده اند و دارو درون شبکه پلیمری حاصل از آن وارد شده است و شرایط pH، pH نقطه بارصفر، زمان، غلظت و ایزوترم جذب سطحی برای آن بهینه سازی شد.

**واژه های کلیدی:** سیتاگلیپتین، پلی وینیل الکل، پکتین، کنترل رهش، نانو جاذب، شبکه پلیمری

## مقدمه

شبکه پلیمری پلی وینیل الکل و پکتین شده است؛ که سابقاً عدم سمیت و سازگاریشان با بدن به اثبات رسیده است (۱،۲). داروی سیتاگلیپتین فسفات، داروی ضد دیابت از دسته مهار کننده های دی پپتیدیل پپتیداز ۴ می باشد (۳). این دارو توسط شرکت مرک تحقیق و توسعه یافت (۴). این دارو به صورت رقابتی آنزیم دی پپتیدیل پپتیداز را مهار می کند (۵). این آنزیم وظیفه شکستن اینکرتین ها که در پاسخ به خوردن غذا حاصل می شود را دارد (۶). اینکرتین باعث ترشح

با توجه به افزایش روز افزون گرایش بیماران به مصرف دارو ها در فواصل زمانی بیشتر و همچنین گرفتن اثرات بسیار بهتر و عوارض کمتر، ساخت دارو ها به صورت کنترل رهش مورد بررسی قرار گرفت. داروی سیتاگلیپتین از دسته مهارکننده های دی پپتیدیل پپتیداز ۴ است، به دست آوردن فرمول کنترل رهش از این دارو منجر به افزایش کارایی دارو در کنترل قندخون و همچنین کاهش عوارض جانبی خواهد شد. جهت دستیابی به این هدف دارو وارد

## مواد و روش ها

### مواد و تجهیزات استفاده شده

مواد استفاده شده در این تحقیق شامل؛ اسید کلریدریک، سود، پلی وینیل الکل، پکتین، سیتاگلیپتین، تویین ۸۰، روغن نارگیل، متانول، گلوکار آلدهید ۲۵٪، که همگی ساخت مرک آلمان هستند. تجهیزات استفاده شده در این تحقیق شامل دستگاه UV-vis اسپکتروفتومتر ساخت شیمادزو ژاپن، سانتریفیوژ ۸ شاخه مدل EBA200 ساخت هتیش آلمان، pH meter مدل ۷۱۱۰ ساخت کمپانی wtw آلمان؛ ترازو دیجیتال مدل TEI53S سارتوریوس ساخت کشور آلمان می باشد.

### سنتز نانو جاذب

برای این کار پکتین و پلی وینیل الکل را مخلوط شدند و سپس به آن از محلول دارو اضافه کرده و روی استیر قرار گرفتند. سپس روغن نارگیل و تویین با حرارت ملایم ذوب شدند و آنرا به ظرفی که حاوی حامل پلیمری و دارو بود، افزوده شد. سپس، مقادیر مختلف از گلوکار آلدهید همراه با اسید هیدروکلریدریک ۰/۱ نرمال به مخلوط قبل اضافه شد و بعد از چند ساعت مخلوط شدن آن را سانتریفیوژ کرده و سپس رسوب حاصله که به صورت ژله ای و سفید رنگ است در آون خشک شد و سپس رسوب خشک شده را با پترولیوم اتر و آب مقطر شسته و در دسیکاتور قرار داده شد تا خشک شود. در آخر از رسوب ها که حاوی مقادیر مختلف گلوکار آلدهید هستند، مقداری وزن کرده و به هرکدام مقداری از محلول دارو اضافه شد و با هم مخلوط شدند و سانتریفیوژ گردید و جذب محلول ها در دستگاه UV-vis به دست آمد تا مقدار لاندا ماکزیمم به دست آید. هر نمونه ای که جذب کمتری در طول موج ماکزیمم داشته باشد، گلوکار آلدهید بهینه است (۱۱،۱۲). اکنون شرایط بهینه برای ایفای نقش جاذب باید به دست آورده شود، لذا طی مراحل ذیل الزامی است:

انسولین شده و همچنین تخلیه معده را کند می کنند که سبب جذب شدن آهسته غذا می شود تا افزایش ناگهانی قند خون دیده نشود (۷). با حفظ اینکرتین ها به کمک داروی سیتاگلیپتین می توان کنترل قند خون بیماران دیابتی را تسهیل کرد (۸،۹،۱۰).

مصرف دارو ها با فرمولاسیون های قدیمی همیشه همراه با مشکلاتی برای پذیرش مصرف کننده بوده، مانند دفعات زیاد مصرف دارو در روز، که باعث فراموش شدن مصرف، می شود و یا عوارض ناشی از تاثیر دارو به صورت ناگهانی و یا تاثیر دارو بر سایر بافت های غیر هدف. در صنعت داروسازی امروز، فرمولاسیون های جدید با هدف بهبود تاثیرگذاری دارو ها و رهش کنترل شده دارو و در نتیجه بهینه کردن شرایط برای مصرف کننده با ایجاد فواصل زمانی کمتر برای مصرف و کاهش عوارض جانبی همراه بوده است. به دنبال این تلاش ها سیستم های رهایش کنترل شده دارو مطرح شد که دارای مزایای بسیاری است. مهمترین توانایی، حفظ غلظت دارو در حدی نسبتا ثابت برای مدتی مشخص، قابلیت تنظیم سرعت آزاد شدن دارو، امکان دارو رسانی به بافت خاص، توانایی رساندن چندین ماده دارویی با یک فرمولاسیون و امکان دارو رسانی در ابعاد نانومتری است.

رهایش کنترل شده دارو فرآیندی است که در آن یک ماده حامل پلیمری به طور دقیق و از پیش تعیین شده با دارو یا عامل فعال ترکیب شود تا در بدن به شکلی از پیش تعیین شده و دلخواه رها شود. که البته استفاده از این سیستم ها محدودیت هایی نیز ایجاد می کند که ممکن است باعث پیدایش مسمومیت هایی در اثر بکار بردن این مواد پلیمری جدید که دارو را محصور کرده اند و همچنین تاخیر در پراکنده شدن دارو ایجاد کرده اند، شود. حال برای پیشگیری از این مسئله به انجام آزمایش های جدید جهت بررسی زیست سازگاری حامل دارویی با بدن نیاز است.

### زمان بهینه جذب

ابتدا ۲۵۰ میلی لیتر محلول ۲۰ ppm از دارو تهیه شد، سپس ۲۵ سی سی بافر بهینه که pH آن ۷ بود به آن افزوده شد و سپس ۹ عدد ارلن برداشته و در هر کدام ۱۰ سی سی از محلولی که ساخته شده بود را ریخته و به هر کدام ۰/۰۰۵ گرم جاذب اضافه کرده و در زمان های مختلف روی ارلن شیکر قرار گرفتند و بلافاصله بعد از اتمام زمان شیک شدن، سانتریفیوژ کرده و در آخر جذب همه محلول های سانتریفیوژ شده توسط UV-vis بررسی شد (۱۱،۱۲).

### ایزوترم های جذب سطحی

برای این منظور، ۲۵ سی سی محلول دارو را با غلظت های ۲، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰، ۱۵۰ ppm ساخته شد و به هر کدام ۲/۵ سی سی بافر بهینه اضافه کرده، سپس از این محلول های ۲۵ سی سی که ساخته شده بود، از هر کدام ۱۰ سی سی به عنوان نمونه و ۱۵ سی سی به عنوان استاندارد نگه داشته و در داخل هر کدام از ۱۰ سی سی نمونه ها ۰/۰۰۵ گرم جاذب اضافه کرده و به مدت یک ساعت روی ارلن شیکر قرار داده و سپس سانتریفیوژ کرده و از محلول ها جذب با دستگاه UV-vis گرفته شد (۱۱،۱۲).

### نتایج

#### سنتز نانو جاذب

#### بررسی لاندا ماکزیمم داروی سینتاکلیپتین

با توجه به شکل ۱؛ جذب نمونه در بازه ۲۰۰ الی ۴۰۰ نانومتر بررسی شد و در ۲۶۷/۵ نانومتر بیشترین جذب را داشت.

#### تعیین گلو تار آلدئید بهینه

با توجه به نقش گلو تار آلدئید که باعث سنتز شبکه پلیمری می شود، طبق شکل ۲ میتوان نتیجه گیری کرد که گلو تار آلدئید به میزان ۲ میلی لیتر مقدار بهینه است زیرا تمام آن صرف ساخت شبکه پلیمری شده و باقی مانده آن در محیط به میزان

### تعیین غلظت بهینه دارو

از دارو محلول هایی با غلظت های ۰/۵، ۱، ۲، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۴۰ ppm ساخته شد و جذب این محلول ها در طول موج حداکثر که ۲۶۷/۵ نانومتر بدست آمده بود، خوانده شد.

### تعیین pH بهینه

در این مرحله به ۸ بشر که در آنها محلول دارو اضافه شده، بافر هایی با pH ۳ الی ۱۰ افزوده شد و سپس از هر کدام از این محلول ها که به حجم ۲۵ رسانده شده بود ۱۰ سی سی به عنوان نمونه جدا شد و ۱۵ سی سی باقیمانده به عنوان استاندارد نگهداری شد. به هر کدام از این ۱۰ سی سی ها مقدار ۰/۰۲ گرم جاذب اضافه شد و یک ساعت روی استیرر قرار گرفت، سپس سانتریفیوژ کرده و جذب محلول ها با UV-vis گرفته شد.

از روی جذب استاندارد و میزان جذب نمونه طبق فرمول زیر Q به دست می آید که از روی آن می توان pH بهینه را حساب کرد و هر pH که مقدار Q آن بالاتر باشد، بهینه است (۱۱،۱۲).

$$Q = \frac{(C_0 - C_e)V}{w}$$

### pH نقطه بار صفر

ابتدا محلول ۰/۰۱ مولار سدیم کلراید و ۰/۱ مولار سود ساخته شد. در مرحله بعد محلول ۰/۱ مولار از HCl ساخته شد؛ سپس ۸ بار به میزان ۲۵ سی سی از محلول NaCl که ساخته شده بود، جدا کرده و pH به وسیله pH متر اندازه گرفته شد، سپس با استفاده از pH متر و مگنت و استیرر و با اضافه کردن سود یا HCl، pH هایی در بازه های ۳ الی ۱۰ ساخته شد. سپس به هر کدام ۰/۰۲ گرم جاذب اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت روی ارلن شیکر قرار گرفت و سپس pH دوباره خوانده شد. با توجه به  $\Delta pH$  های به دست آمده، نقطه بار صفر به دست آمد (۱۱،۱۲).

بالتر از 5ppm داشته باشد. همچنین شکل ۳ نشان گر آن است که جذب از نوع خطی بوده و از قانون بیر لامبرت پیروی می کند.

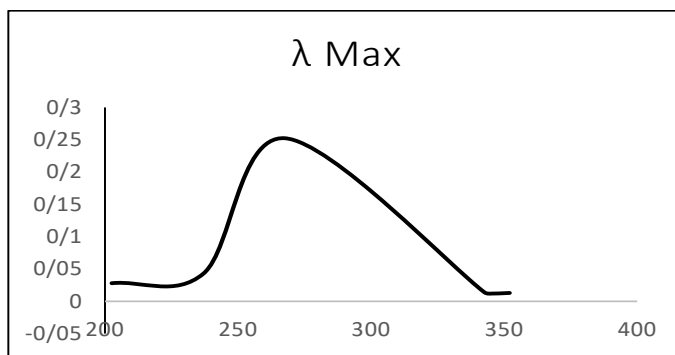
#### تعیین pH بهینه

طبق شکل ۴ و ۵، دارو در pH های مختلف به میزان های مختلفی توسط جاذب، جذب می شود که در pH ۷ بیشترین میزان جذب دارو توسط جاذب دیده شد؛ با توجه به مقدار Q، pH بهینه ۷ است.

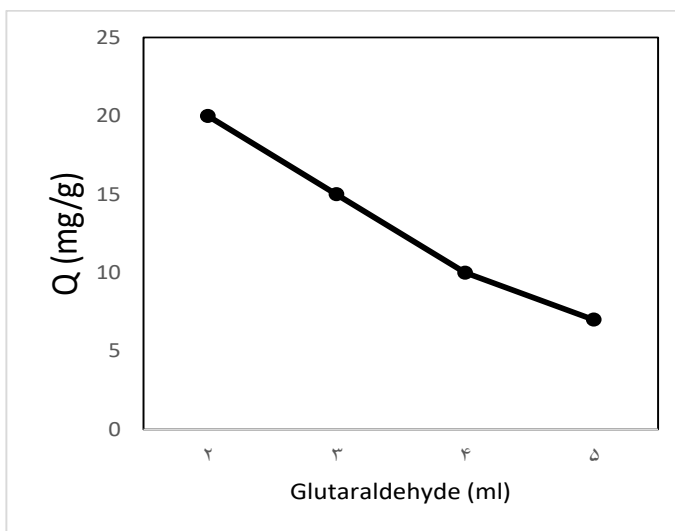
حداقل است. طبق فرمول محاسبه ظرفیت جذب جاذب و همچنین از روی مقادیر به دست آمده از دستگاه UV-vis، میتوان فهمید که در هر نقطه ای که Q بیشتر باشد، آن نقطه گلوکارآلدهید بهینه است که در اینجا در نقطه ۲ میلی لیتر میزان Q بیشتر از سایر نقاط شده است.

#### تعیین غلظت بهینه دارو

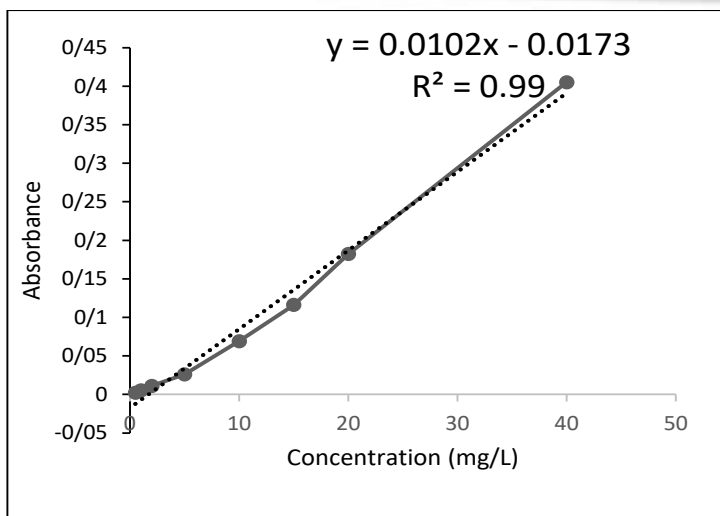
طبق شکل ۳ میتوان نتیجه گیری کرد که حتما برای تهیه جاذب مورد نظر باید محلول دارو غلظتی



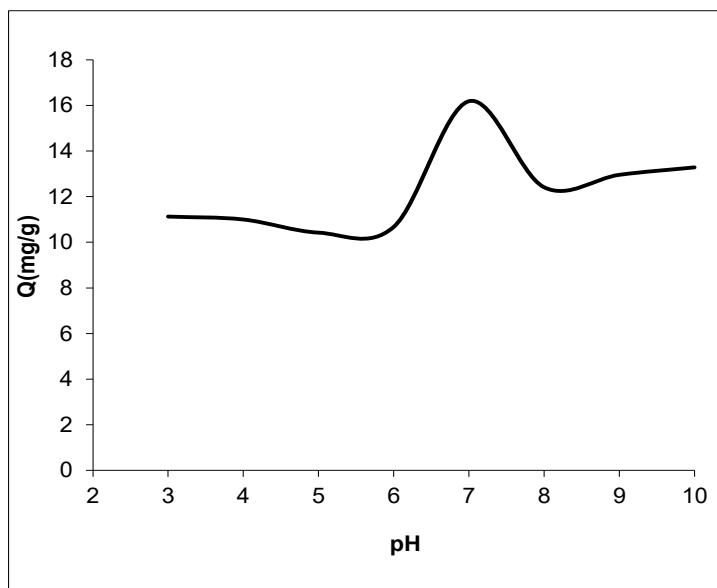
شکل ۱ - بررسی جذب نمونه استاندارد بین طول موج های ۲۰۰ تا ۴۰۰ نانومتر



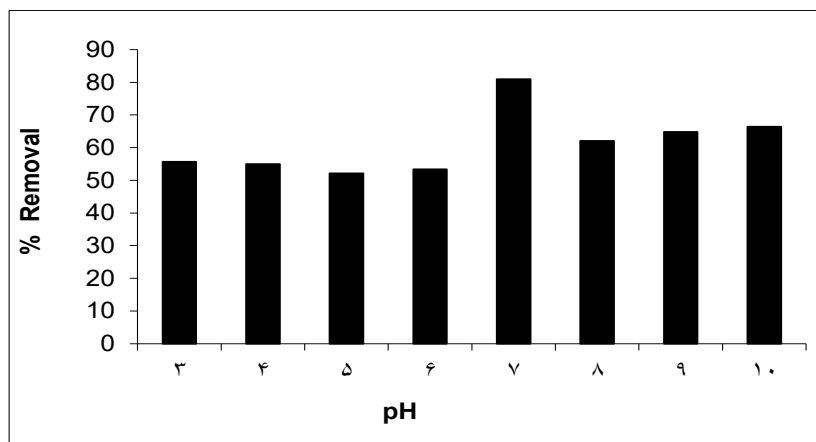
شکل ۲ - بررسی ظرفیت جذب نمونه های گلوکار آلدهید ۲،۳،۴ و ۵ سی سی



شکل ۳ - تعیین غلظت بهینه از محلول دارو



شکل ۴ - میزان Q در pH های ۳ الی ۱۰



شکل ۵ - درصد پاکسازی دارو از محیط توسط جاذب در pH های ۳ الی ۱۰

$R^2$  طبق شکل ۸ برای مدل های مختلف ایزوترم های جذب سطحی محاسبه شد و نتایج نشان داد که مقدار  $R^2$  در مدل ایزوترم جذب سطحی لانگمویر بقیه مدل ها بیشتر است که این نشانگر آن است که مدل ایزوترم جذبی داروی سیتاگلیپتین روی سطح نانو جاذب اصلاح شده از مدل لانگمویر تبعیت می کند ولی به دلیل اینکه  $R^2$  به دست آمده در مدل فرندلیچ هم بسیار به مدل لانگمویر نزدیک است، برای اطمینان بیشتر که از کدام مدل تبعیت می کند ایزوترم جذبی ردلیچ پترسون که سه پارامتری است طبق شکل ۹ رسم می شود.

طبق شکل ۸ الف معادله خط برای ایزوترم جذب سطحی لانگمویر  $y = 0.2863x + 4.2118$  است ضریب همبستگی آن برابر  $R^2 = 0.9972$  است. طبق شکل ۸ ب، معادله خط برای ایزوترم جذب فرندلیچ برابر  $y = 0.3955x - 0.6074$  و ضریب همبستگی برابر  $R^2 = 0.9666$  است و طبق محاسبات انجام شده ثابت فرندلیچ برابر با  $K_f = 0.5462$  است و همچنین فاکتور ناهمگنی برابر  $1/n = 0.3955$  است. که مقدار بین صفر و یک آن نشانگر این است که جذب مطلوب بوده است. طبق شکل ۸ ج، معادله خط برای ایزوترم جذبی دوینین رادشکوویچ برابر  $y = -3E-05x + 1.0782$  است و ضریب همبستگی آن  $R^2 = 0.9064$

#### تعیین pH نقطه بار صفر

از شکل ۶ این بر می آید که نقطه بار صفر در pH ۷ است. در pH های کمتر از ۷ و یا بالاتر از ۷ سطح جاذب دارای بار است. پس چون pH بهینه با pH PZC یکسان است، می توان نتیجه گرفت که تنها عاملی که باعث جذب دارو روی سطح نانو جاذب اصلاح شده، می شود نیروهای هیدروژنی هستند.

#### تعیین زمان بهینه جذب

همانطور که در شکل ۷ دیده شد، جذب در ۳۰ دقیقه اول بیشترین جذب از دارو را داشته و با افزایش زمان میزان جذب روند ثابتی را نشان می دهد. در واقع جاذب قادر است در زمان اندکی حداکثر جذب دارو را داشته باشد که نشان از سینیتیک بالای این واکنش است لذا نیازی به مدت زمانی طولانی برای در تماس بودن جاذب با دارو جهت جذب دارو نیست.

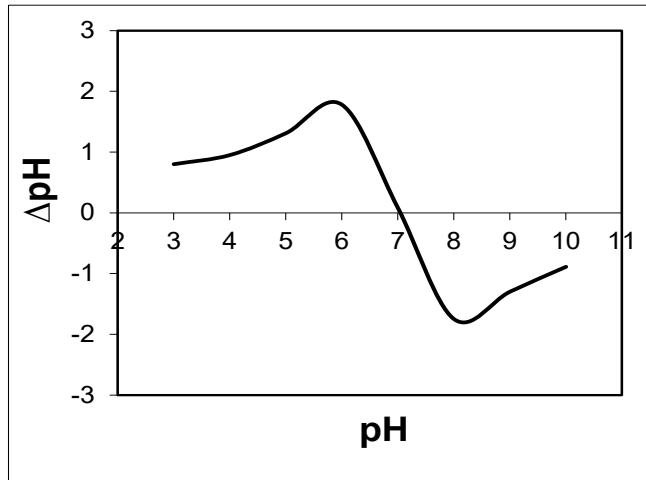
#### ایزوترم های جذب سطحی

ایزوترم جذب سطحی به بررسی خصوصیات سطح جاذب و تعداد لایه های مولکولی جذب شده روی سطح جاذب می پردازد و دارای مدل های مختلفی است.

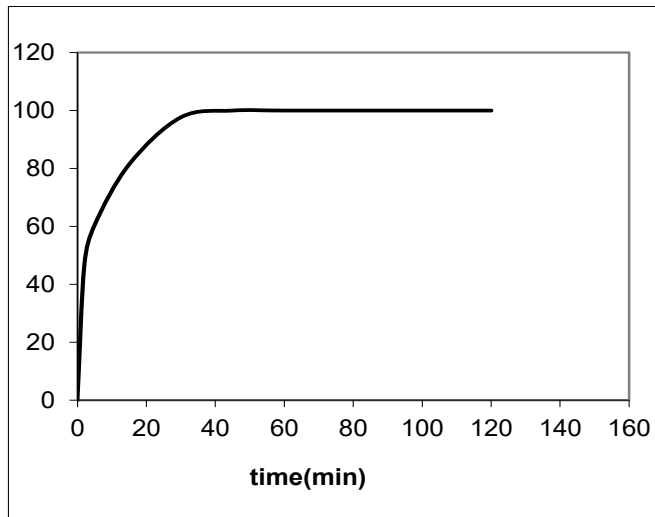
ایزوترم جذب سطحی دارو روی نانو جاذب از مدل لانگمویر تبعیت می کند و اگر  $g$  مساوی صفر باشد ایزوترم جذب سطحی دارو روی نانو جاذب از مدل فرنرلیچ تبعیت می کند، که در شکل ۹،  $g=1$  شد و نشان داد که ایزوترم جذب سطحی داروی سیتاگلیپتین روی سطح نانو جاذب اصلاح شده، به قطعیت از مدل لانگمویر پیروی می کند.

است. طبق شکل ۸ د، معادله خط برای ایزوترم جذب سطحی تمکین برابر  $y = 0.7767x - 0.3574$  است و ضریب همبستگی آن  $R^2 = 0.9796$  است.

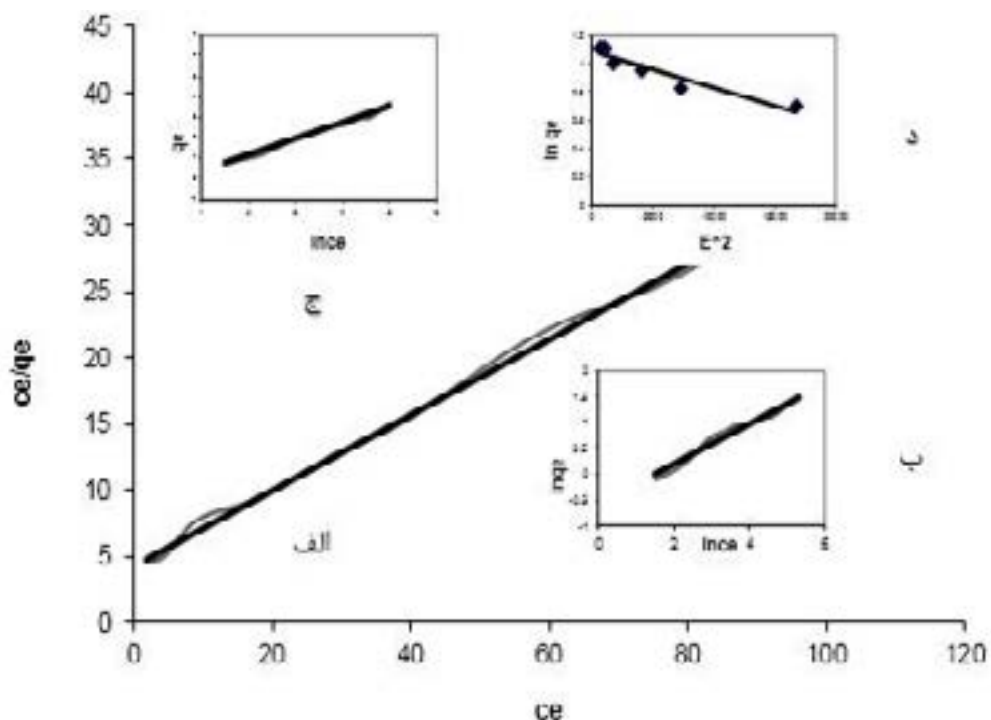
معادله ۱:  $\ln(K_R \frac{C_e}{q_e} - 1) = g \cdot \ln(C_e) + \ln(\alpha_R)$   
طبق معادله ۱، که معادله ایزوترم جذب سطحی ردلیچ پترسون است، فاکتوری به نام  $g$  قابل محاسبه است که نشان می دهد، اگر  $g$  مساوی ۱ باشد مدل



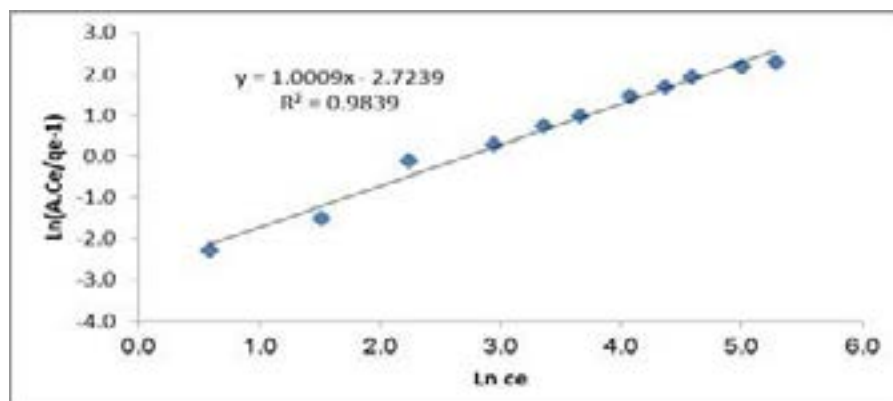
شکل ۶ - تعیین نقطه بار صفر.



شکل ۷ - زمان بهینه جذب.



شکل ۸ - نمودار ایزو ترم جذب سطحی لانگمویر (الف)، فرنرلیچ (ب)، تمکین (ج) و دوبینین رادشکوویچ (د)



شکل ۹ - نمودار ایزوترم جذب سطحی ردلیچ پترسون

### بحث و نتیجه گیری

خوبی دارو را در خود جای دهد و به هنگام نیاز آزاد کند. تا به حال هیچ گونه بررسی مشابهی در متو برای داروی سیتاگلیپتین وجود نداشته است و این تحقیق برای این دارو کاملاً جدید است ولی مشابه این شبکه پلیمری برای داروی آمی تریپتیلین استفاده

طی مطالعات و آزمایشات انجام شده، جذب مناسبی به دست آمد و در قدم بعدی انواع شرایط برای جذب، بهینه سازی شد و نهایتاً جاذبی به دست آمد که در شرایطی که بهینه شده بود توانست به



جذب UV در طول موج ۲۶۷ نانومتر است که دقت بالایی داشته و با تحقیق چاوهان و همکاران (۱۶) مطابقت دارد.

پکتین و پلی وینیل الکل به دلیل مقرون به صرفه بودن و حفظ پایداری اندازه ذره ای شبکه پلیمری و زیست سازگاری و زیست تخریب پذیری و عدم تاثیر بر دارو و عدم سمیت پلیمر های مناسبی برای ساخت نانوجاذب بودند. در تحقیق مارتینز و همکاران (۱۸) نیز از پکتین و پلی وینیل الکل به دلایل مذکور استفاده شده است.

استفاده همزمان از مخلوطی از ۲ نوع پلیمر پکتین و پلی وینیل الکل که به صورت عرضی به هم متصل شده اند. فضا هایی ایجاد می کند تا مقدار بهینه شده ای از دارو توسط ساختار شبکه ای پلیمر ها جذب و کپسوله گردد. نتایج حاصل از استفاده این دو پلیمر با موارد تحقیق بهار دوست و همکاران (۱۱) و مارتینز و همکاران (۱۸) مطابقت داشت. در تحقیق مارتینز داروی انروفلوکساسین با استفاده از این دو پلیمر رهش کنترل شده پیدا کرد که با نتایج حاصل از این تحقیق مشابهت دارد.

#### تقدیر و تشکر

این مقاله بخشی از پایان نامه دکتری بوده است. نویسندگان از کلیه پرسنل آزمایشگاه صنعتی در دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم دارویی تشکر ویژه دارند.

شده است (۱۱) و نتایج به دست آمده در این تحقیق با نتایج بهار دوست و همکاران تطابق دارد.

نانوجاذب ساخته شده در pH ۷ و دمای ۲۹۸ درجه کلون و غلظت محلول دارویی بالای ۵ میلی گرم بر لیتر و زمان تعادلی زیر یک ساعت، به خوبی می تواند تا بالای ۸۰ درصد داروی موجود در محیط را در خود جذب کند. که با مقادیر مطرح شده در تحقیق بهار دوست و همکاران (۱۱) مطابقت دارد.

نتایج تست های بهینه سازی pH با تحقیق سیری و همکاران (۱۲) مشابهت داشت.

در بررسی ایزوترم های جذب سطحی، مدل های رسم شده با مدل های مقاله شینچین و همکاران (۱۳)، لیشا و همکاران (۱۴) از لحاظ خطی بودن مشابهت داشت. مدل ایزوترم جذب سطحی لانگمویر می تواند به خوبی جذب سطحی سیتاگلیپتین را پیش بینی کند که عملکردی همانند ایزوترم لانگمویر مطرح در مورد مطالعه استرلینگ و همکاران (۱۵) دارد که به خوبی می تواند جذب سطحی فسفر را در خاک پیش بینی کند. در این تحقیق استفاده از نتایج حاصل از ایزوترم ردلیچ پترسون با تحقیق سیری و همکاران (۱۲) مشابهت دارد، که در آن برای اطمینان از اینکه مورد تحقیق از لانگمویر یا فرندلیچ تبعیت می کند، از ایزوترم ردلیچ پترسون استفاده شده است.

نتایج حاصل از بررسی لاندماکرزیم داروی سیتاگلیپتین از نتایج حاصل از چاوهان و همکاران (۱۶) و تارکاز و همکاران (۱۷) تبعیت می کند. روش محاسبه مقدار سیتاگلیپتین در این تحقیق از طریق

#### منابع مورد استفاده

1. Ghaly, E. S., Sepulveda, S., 2006. In-vitro evaluation of sustained release ibuprofen microspheres. Puerto Rico health sciences journal, 15(2):97-100.
2. Luan, Y., Center, E. M., Rotterdam, N., Gelderblom, E., 2012. Characterizing ultrasound-controlled drug release by high speed fluorescence imaging. Ultrasonic Symposium 12: 1-4.
3. Herman, G. A., Stevens, C., van Dyck, K., Bergman, A., Yi, B., De Smet, M., Snyder, K., Hilliard, D., Tanen, M., Tanaka, W., Wang, A.Q., Zeng, W., Musson, D., Winchell, G., Davies, M. J., Ramael, S., Gottesdiener, K. M., Wagner, J. A., 2005. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of sitagliptin, an inhibitor of dipeptidyl peptidase IV, in healthy subjects: results from two randomized, double-blind, placebo-controlled studies with single oral doses. Clin Pharmacol Ther 78(6): 675-88.
4. St. Peters, J., 2010. National prescribing service; sitagliptin for type 2 Diabetes. NPS 10: 123-5.
5. Aleksey, V., Matveyenko, S., Sarah, D., Heather, I., Moshtaghian, A., Tatyana, G.,

2009. Beneficial endocrine but adverse exocrine effects of sitagliptin in the human islet amyloid polypeptide transgenic rat model of type 2 Diabetes-interactions with metformin. *Diabetes* 58: 1604-1615.
6. Herman, G., Bergman, A., Liu, F., Stevens, C., 2006. Pharmacokinetics and pharmacodynamic effects of the oral DPP-4 inhibitor sitagliptin in middle-aged obese subjects. *J Clin Pharmacol* 46(8): 876-86.
  7. Gadsby, R., 2009. Efficacy and safety of sitagliptin in the treatment of type 2 Diabetes. *Clinical Medicine Therapeutics* (1): 53-62.
  8. Drucker, D. J., Nauck, M. A., 2006. The incretin system: glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes. *Lancet* 368(9548): 1696-705.
  9. Amori, R. E., Lau, J., Pittas, A. G., 2007. Efficacy and safety of incretin therapy in type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis. *JAMA* 298(2): 194-206.
  10. Bayliss, W., Starling, E. H., 1902. The mechanism of pancreatic secretion. *J Physiol London* 28(5): 325-353.
  11. Bahardoust, Sh., 2015. Synthesis of polymeric lattice of pectin and polyvinyl alcohol for obtaining controlled release Amitriptyline. Master's degree thesis, Dept. of Pharmaceutical Chemistry, Islamic Azad University of Tehran, Pharmaceutical Sciences Branch.
  12. Siri, T., 2015. Magnetic modification of graphene oxide and its application for removal of direct yellow 50 from aqueous solution. M.Sc. thesis, University of Varamin.
  13. Shih-Chin, T., Kai-Wei, J., 2004. Comparison of linear and nonlinear forms of isotherm models for strontium sorption on a sodium bentonite. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 243 (3): 236-48.
  14. Lisha, K., Jyoti, M., 2007. Freundlich and langmuir adsorption isotherms and kinetics for the removal of tartrazine from aqueous solutions using hen feathers. *Journal of Hazardous Materials* 146: 243-48.
  15. Sterling, R., Frank, S., 1956. A method to determine a phosphorus adsorption maximum of soils as measured by the langmuir isotherm. *Soil Science Society of America Journal* 21 (2): 144-49.
  16. Chavhan, V., Kadam, A., 2013. UV spectrophotometric method development and validation for estimation of sitagliptin phosphate in bulk and tablet dosage form y absorption ratio. *Biological & scientific opinion* 1 (4): 317-22.
  17. Tarkase K. N., Madhuri B., 2013. Development and validation of UV spectrophotometric method for estimation of sitagliptin phosphate. *Der Pharmacia Lettre* 5 (3):315-18.
  18. Martinez, Y. N., Piñuel, L., Castro, G. R., Breccia, J. D., 2012. Polyvinyl alcohol-pectin cryogel films for controlled release of enrofloxacin. *Appl Biochem Biotechnol* 167(5): 1421-9.