

## Electrospinning of Silk Fibroin/ $\beta$ -Cyclodextrin Nanofibers for Controlled Drug Release

Mahdi Nouri\*, Javad M. Khatami, Leila Salman, and Khatereh Sadeghi

Department of Textile Engineering, Faculty of Engineering, University of Guilan, P.O. Box: 3756, Rasht, Iran

Received May 2015; accepted October 2015

### ABSTRACT

Silk fibroin (SF) as an important natural polymer has been extensively used as a suitable matrix in controlled drug release systems because of its biocompatibility feature, slow degradation rate and its unique mechanical properties. In this study, a new  $\beta$ -cyclodextrin/silk fibroin nanofibrous membrane ( $\beta$ -CD/SF) with the function of molecular capture was successfully prepared by electrospinning of homogeneous solutions of  $\beta$ -CD and SF in formic acid. The effects of cyclodextrin on the nanofibers properties and its drug release properties were investigated. The morphology, microscopic structure, chemical composition and heat treatment of the  $\beta$ -CD/SF nanofibrous membrane were characterized by scanning electron microscopy (SEM), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and differential scanning calorimetry (DSC). Scanning electron microscopy images showed that defect free mats with a uniform structure were generated, and the average diameter of the nanofibers was mainly affected by weight ratio of the blend. The result revealed that increasing the  $\beta$ -CD content in the blends lowered the average fiber diameter. In this report these observations are discussed with respect to the viscosity of the electrospinning solutions which have been decreased with increasing  $\beta$ -cyclodextrin concentration. Differential scanning calorimetry results showed that drug was loaded into the  $\beta$ -cyclodextrin cavities. In vitro drug delivery profile of salicylic acid, as a drug model, was examined by UV spectroscopy at body temperature (37°C) in phosphate buffer saline (pH 7.4). The molecular capturing ability of  $\beta$ -cyclodextrin/silk fibroin composite was improved with the amount of  $\beta$ -cyclodextrin in composite nanofibrous membrane which resulted in lower drug release.

#### Keywords:

electrospinning,  
 $\beta$ -cyclodextrin,  
silk fibroin,  
drug release,  
nanofibers

(\*)To whom correspondence should be addressed.

E-mail: [nouri@guilan.ac.ir](mailto:nouri@guilan.ac.ir)

# الکتروریسی نانوالیاف فیبروئین ابریشم-بتاسیکلودکسترین برای رهایش کنترل شده دارو

مهدی نوری\*، جواد مختاری، لیلا سلمانی، خاطره صادقیه

رشت، دانشگاه گیلان، دانشکده فنی، گروه مهندسی نساجی، صندوق پستی ۳۷۵۶

دریافت: ۱۳۹۴/۲/۱۵، پذیرش: ۱۳۹۴/۷/۲۹

## چکیده

فیبروئین ابریشم، به عنوان پلیمر طبیعی به طور گسترده به شکل ماتریسی مناسب در سامانه‌های رهایش کنترل شده دارو استفاده می‌شود. فیبروئین ابریشم پلیمری زیست‌سازگار با تجزیه‌پذیری آهسته که دارای خواص مکانیکی و فرایندپذیری عالی است. در این پژوهش، داربست نانولیفی جدید از فیبروئین ابریشم حاوی  $\beta$ -سیکلودکسترین با قابلیت گیراندازی مولکولی، از الکتروریسی محلول‌های همگن فیبروئین و  $\beta$ -سیکلودکسترین در حلال فرمیک اسید تهیه و اثر وجود سیکلودکسترین بر خواص نانوالیاف تولید شده و مقدار رهایش دارو بررسی شده است. شکل‌شناسی، ساختار میکروسکوپی، ترکیب شیمیایی و رفتار گرمایی ترکیب این داربست نانولیفی به وسیله میکروسکوپی الکترونی پویشی (SEM)، طیف‌بینی زیرقرمز تبدیل فوریه (FTIR) و گرماسنجی پویشی تفاضلی (DSC) بررسی شد. نتایج تصاویر SEM نشان داد، نانوالیاف بدون دانه و یکنواخت تهیه شده‌اند و میانگین قطری نانوالیاف به طور مشخص تحت تاثیر نسبت مخلوط قرار دارد، به طوری که با افزایش مقدار  $\beta$ -سیکلودکسترین قطر الیاف کاهش یافته است. این مشاهدات با نتایج حاصل از گرانشی بررسی شد. نتایج بررسی‌ها نشان داد، گرانشی محلول‌های فیبروئین- $\beta$ -سیکلودکسترین با افزایش مقدار  $\beta$ -سیکلودکسترین کاهش می‌یابد. نتایج حاصل از DSC نیز وجود دارو را درون حفره سیکلودکسترین تأیید کرد. در ادامه، رهایش سالیسیلیک اسید به عنوان مدل دارویی برای بررسی اثر وجود  $\beta$ -سیکلودکسترین در این داربست در بافر فسفات با pH برابر ۷/۴ در دمای بدن انسان  $37^{\circ}\text{C}$  بررسی شد. نتایج حاصل از بررسی رهایش نشان داد، قابلیت گیراندازی مولکول‌های دارو با افزایش مقدار  $\beta$ -سیکلودکسترین افزایش یافته که به کاهش سرعت آزادسازی دارو منجر شد.

## واژه‌های کلیدی

الکتروریسی،  
 $\beta$ -سیکلودکسترین،  
فیبروئین ابریشم،  
رهایش دارو،  
نانوالیاف

\* مسئول مکاتبات، پیام‌نگار:

## مقدمه

رهایش کنترل شده دارو فرایندی است که برای حصول اطمینان از انتقال کنترل شده دارو در مناطق مورد نیاز بدن استفاده می‌شود [۱]. وقتی دارویی تجویز می‌شود، مقدار آن باید به دقت محاسبه شود تا اینکه بدن بتواند از آن استفاده کند. چالش درمان‌های دارویی جدید، بهینه‌کردن اثرهای دارویی و کاهش دادن سمیت داروهاست. با کنترل دقیق مقدار یا مکان دارو در بدن، عوارض جانبی کاهش می‌یابد. امروزه، بررسی‌ها در حال پیشرفت مداوم برای بهبود عوامل کنترل‌کننده رهایش است، به طوری که بتواند داروهایی را کنترل کند که متابولیسم رهایشی سریعی دارند [۱،۲]. درگسترش سامانه‌های تحویل دارو بیشترین توجه به سامانه‌های رهایش کنترل شده یا آهسته برای دستیابی به اثرهای درمانی بهینه معطوف شده است. طراحی سامانه‌های رهایش معمولاً براساس خواص فیزیکی-شیمیایی و سینتیک دارویی است [۳]. اغلب برای اثربخشی دارو در بدن به حداقل مقدار مصرف درمانی نیاز است. این درحالی است که بیشتر سامانه‌های مرسوم مانند قرص‌ها مقدار مصرف زیادی دارند و نتیجه مصرف آنها می‌تواند اثرهای سمی نامطلوب داشته باشد. برای طراحی پیشرفته سامانه‌های حاوی مقدار معین دارو، انواع مختلف مواد حمل‌کننده برای آزادسازی مقدار لازم دارو در مکان مدنظر در دوره زمانی لازم توسعه یافته‌اند [۳،۴]. همه داروها باید از مقداری انحلال‌پذیری در محیط آبی برخوردار باشند. از سوی دیگر، اغلب آنها باید چربی‌دوست باشند تا بتوانند از غشای زیستی نفوذ کنند. در صنعت داروسازی سیکلودکسترین‌ها به‌عنوان عامل تشکیل‌دهنده کمپلکس به‌طور عمده برای افزایش انحلال‌پذیری داروهای با انحلال‌پذیری کم و افزایش پایداری دارو استفاده می‌شوند.

سیکلودکسترین‌ها اولیگوساکاریدهای حلقوی شامل ۶، ۷ و ۸ واحدهای گلوکوپیرانوز یا بیشتر هستند که به ترتیب  $\alpha$ ،  $\beta$  و  $\gamma$ -سیکلودکسترین نامیده می‌شوند [۴]. سیکلودکسترین‌ها از خانواده اولیگوساکاریدهای حلقوی با سطح خارجی آبدوست و حفره‌ای غیرقطبی و آبگریز هستند که در آنها واحدهای گلوکوپیرانوز با اتصالات ۱ و ۴- $\alpha$  به هم متصل شده‌اند [۴-۶]. این مولکول‌های با ساختار مولکولی بزرگ، قابلیت انجام واکنش‌های شیمیایی را دارند که در آنها میان مولکول‌ها، یون‌ها و رادیکال‌های واکنش‌دهنده پیوند کووالانسی تشکیل نمی‌شود [۴،۵]. اصلی‌ترین این واکنش‌ها نوع میهمان-میزبان است.

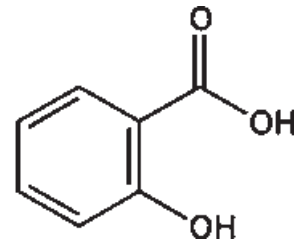
کمپلکس میهمان-میزبان می‌تواند در سامانه حاوی حلال تشکیل شود، به طوری که در هم جاگیری در سیکلودکسترین‌ها اثر عمیقی بر خواص فیزیکی-شیمیایی مولکول‌های میهمان می‌گذارد [۴].

افزایش انحلال‌پذیری میهمان نامحلول، تثبیت مولکول‌های میهمان ناپایدار در برابر اثرهای تجزیه‌ای اکسایشی، نور مرئی و فرابنفش و گرما، کنترل فراریت و تصعید، جداکردن فیزیکی ترکیبات ناسازگار، جداسازی‌های رنگ‌نگاری، اصلاح طعم با پوشاندن مزه، بوهای ناخوشایند و رهایش کنترل شده دارو و بوها برخی از این ویژگی‌ها هستند. بنابراین، سیکلودکسترین‌ها در صنایع غذایی، داروسازی، آرایشی و بهداشتی، حفاظت محیط زیست، تبدیل‌های زیستی، بسته‌بندی و صنعت نساجی قابل استفاده هستند [۴].

از سه نوع سیکلودکسترین بیان شده،  $\beta$ -سیکلودکسترین‌ها، سودمندترین، ارزان‌ترین و در دسترس‌ترین نوع آنهاست.  $\beta$ -سیکلودکسترین‌ها هنگام مصرف برای انسان خواص التهابی کمتر از  $\alpha$ -سیکلودکسترین‌ها و بیشتر از  $\gamma$ -سیکلودکسترین‌ها دارند [۷]. در داروسازی استفاده از  $\beta$ -سیکلودکسترین‌ها متداول‌تر از دو نوع دیگر است. برای انسان‌ها نیز بهترین و مناسب‌ترین نوع،  $\beta$ -سیکلودکسترین‌ها هستند. از این رو، بیشتر مطالعات کاربرد سامانه‌های دارورسانی حاوی سیکلودکسترین، روی  $\beta$ -سیکلودکسترین‌ها متمرکز شده است [۷].

پلیمرهای مختلفی برای استفاده در سامانه‌های رهایش دارو بررسی شدند. درشت‌مولکول‌های مصنوعی مانند پلی‌استرها، پلی‌ارتواسترها، پلی‌انیدریدها، پلی‌فسفاژن‌ها و پلی‌فسفواسترها کاربرد فراوانی یافته‌اند [۸]. پلیمرهای طبیعی مانند آلژینات، کیتوسان، سلولوز، کلاژن، ژلاتین و الاستین به دلیل زیست‌تجزیه‌پذیری، زیست‌سازگاری و مشابهت آن‌ها با درشت‌مولکول‌های زیستی مورد توجه باقی مانده‌اند [۸]. برای دستیابی به این نیازها، پژوهش‌های گسترده‌ای روی فیبروئین ابریشم به‌عنوان ترکیب زیست‌سازگار برای رهایش کنترل شده دارو در چند سال گذشته انجام شده است [۹،۱۰]. لیف ابریشم به دلیل خواص خوبی مانند جرم ویژه کم، استحکام زیاد، مقاومت گرمایی زیاد تا حدود  $250^{\circ}\text{C}$  و زیست‌سازگاری با بدن موجود زنده، نظر پژوهشگران را در زمینه لیاف و پزشکی به خود جلب کرده است [۱۱].

به‌کارگیری نانوالیاف در سامانه‌های رهایش دارو به دلیل نسبت زیاد سطح به حجم و پیشرفت‌های حاصل در به‌کارگیری آن‌ها به‌عنوان داربستی برای رشد سلول‌ها و ترمیم زخم مورد توجه پژوهشگران است [۸]. از میان روش‌های متفاوت تهیه نانوالیاف [۱۲] روش الکتروریسی انعطاف‌پذیری زیادی در انتخاب مواد برای کاربردهای رهایش دارو در اختیار می‌گذارد، به طوری که هم مواد زیست‌تخریب‌پذیر و هم مواد تخریب‌ناپذیر برای رهایش کنترل شده استفاده می‌شوند. امروزه، همه نوع دارو از قبیل آنتی‌بیوتیک‌ها [۱۳]، عوامل ضدسرطان [۱۴]، پروتئین‌ها [۱۵]، DNA و RNA [۱۳] می‌توانند در داخل داربست‌های الکتروریسی شده جای داده شوند. روش‌های مختلفی برای بارگذاری



شکل ۱- ساختار شیمیایی سالیسیلیک اسید [۳۰].

Pm p و پمپ تزریق (USA) Gamma High tag Research (USA) systems New Era انجام شد. برای بررسی اثر  $\beta$ -سیکلودکسترین روی قطر نانوالیاف فیبروئین و شکل‌شناسی سطحی از میکروسکوپ الکترونی پویشی مدل Hitachi S4168 ژاپن استفاده شد. پراکندگی و میانگین قطر نانوالیاف با نرم‌افزار IMAGE J و با اندازه‌گیری قطر ۵۰ نقطه از نمونه الیاف به دست آمد. برای شناسایی سیکلودکسترین و سالیسیلیک اسید در ساختار نانوالیاف و برهم‌کنش آنها با فیبروئین ابریشم، طیف‌سنج زیرقرمز تبدیل فوریه مدل Nicolet Magna 560 ساخت آمریکا استفاده شد که قابلیت پویش در محدوده  $4000-400 \text{ cm}^{-1}$  را دارد. اندازه‌گیری گرانیوی برشی محلول ریسندگی با گرانیوی سنج Brookfield + DVII انجام شد.

طیف‌های گرماسنجی پویشی تفاضلی با استفاده از دستگاه DSC Bahr thermo a ly er ساخت آمریکا در محدوده دمای  $25^\circ\text{C}$  تا  $350^\circ\text{C}$  در جو هوا ثبت شد. تغییرات و جابه‌جایی‌های گرمایی فیبروئین ابریشم و در نهایت منحنی گرمایی فیبروئین ابریشم حاوی داروی مدل (سالیسیلیک اسید) و سیکلودکسترین بررسی شد. طیف‌سنجی UV-Vis برای ارزیابی سرعت رهایش سالیسیلیک اسید به کار گرفته شد. بدین منظور از طیف‌سنج فرابنفش مدل Cin ra 0 استفاده شد که قابلیت پویش در محدوده فرابنفش و مرئی را دارد. بررسی‌ها در محدوده طول موج  $200 \text{ m}$  تا  $400 \text{ m}$  انجام شدند.

### روش‌ها

#### الکتروریسی

فیبروئین ابریشم براساس روش ارائه شده در مقالات استخراج شد [۱۶، ۱۷]. به‌طور خلاصه پبله کرم ابریشم پس از صمغ‌گیری در شوینده و سدیم کربنات، درون سدیم کربنات، الکل و آب با نسبت مولی  $1/2/1$  حل و پس از دیالیز در آب مقطر فیبروئین آن به شکل توده اسفنجی تهیه شد. محلول‌های ریسندگی با غلظت ۱۲٪ وزنی فیبروئین در فرمیک اسید تهیه و سپس مقادیر مدنظر دارو و  $\beta$ -سیکلودکسترین به مقدار ۵٪ دارو و ۱۰، ۱۵ و ۲۰٪ از  $\beta$ -سیکلودکسترین مطابق جدول ۱ به آن اضافه شد. پس از یکنواخت کردن محلول با همزن مغناطیسی، الکتروریسی در ولتاژ ۸V و سرعت تغذیه  $0.2 \mu\text{L}/\text{min}$ ، فاصله  $10 \text{ cm}$  در دمای  $23 \pm 2^\circ\text{C}$  و رطوبت  $5 \pm 60\%$  انجام شد.

#### پایدارسازی نانوالیاف الکتروریسی شده حاوی سالیسیلیک اسید و

#### $\beta$ -سیکلودکسترین

با توجه به ناپایداری ابعادی نانوالیاف ابریشم نوریس در آب برای

دارو در نانوالیاف نظیر پوشش‌دهی [۱۳]، جاسازی دارو [۱۳] و کپسولی‌کردن دارو (الکتروریسی هم‌محوری و امولسیون) [۱۳] مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته‌اند. مزیت اصلی حامل‌های لیفی این است که آن‌ها رهایش داروها را به بدن در مکان ویژه فراهم می‌کنند. همچنین، بیش از یک دارو می‌تواند به‌طور مستقیم داخل الیاف کپسولی شود.

هدف از این پژوهش، تولید نوع جدیدی از نانوالیاف ساخته شده از فیبروئین ابریشم و  $\beta$ -سیکلودکسترین و ارزیابی قابلیت این نانوالیاف در رهایش کنترل شده داروست که تاکنون مطالعه نشده است. از آنجا که معمول‌ترین و آسان‌ترین راه برای انتقال دارو به سامانه رهایش فیبروئینی حل کردن یا مخلوط کردن دارو با محلول فیبروئین پیش از فرایند ساخت است، در پژوهش حاضر نیز از این روش استفاده شد. داروی مدل در این پژوهش سالیسیلیک اسید (SA) (۲-هیدروکسی بنزوئیک اسید) است که شکل ۱ ساختار شیمیایی آن را نشان می‌دهد. سالیسیلیک اسید متعلق به گروه داروهای غیراستروئیدی است و اثر تب‌بری، تسکین‌دهنده درد و ضدالتهاب و عامل جلوگیری‌کننده از حمله قلبی دارد.

### تجربی

#### مواد

پبله کرم ابریشمی که برای آزمون‌ها استفاده شده است، از ابریشم موجود در ایران موسوم به FI (پبله هیبریدی) بود. این پبله از اختلاط پروانه ژاپنی و چینی به دست می‌آید که از شرکت ابریشم گیلان تهیه شد. سدیم کربنات، اتانول ۹۸٪، کلسیم کلرید، فرمیک اسید ۹۸٪ و سالیسیلیک اسید از شرکت Merck آلمان تهیه شدند. شوینده آنیونی از شرکت Heh 1 و کیسه دیالیز D9 و  $\beta$ -سیکلودکسترین از شرکت Sign a-Ald ich خریداری شد.

#### دستگاه‌ها

تهیه نانوالیاف با دستگاه الکتروریسی متشکل از منبع تولید ولتاژ زیاد

بافر فسفات تازه با همان حجم و دما قرار داده شد [۲۳]. مقدار جذب هر یک از محلول‌ها در طول موج بیشینه جذب سالیسیلیک اسید (296 nm) به روش طیف‌سنجی اندازه‌گیری شد. این آزمون سه روز و در هر روز سه مرتبه تکرار شد. در نهایت، مقادیر ماده فعال رها شده در هر مرحله از رابطه جذب و غلظت به دست آمده از روی منحنی کالیبره کردن تهیه شده محاسبه شد.

## نتایج و بحث

### مطالعات میکروسکوپی نانوالیاف

تصاویر میکروسکوپ الکترونی پوششی نانوالیاف حاصل از الکترورسی محلول‌های تهیه شده و میانگین قطری الیاف حاصل به ترتیب در شکل ۲ و جدول ۲ آمده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، نانوالیاف فیبروئین ابریشم پیوسته، بدون دانه و یکنواخت هستند (شکل ۲-الف). همچنین، با افزایش سالیسیلیک اسید و  $\beta$ -سیکلودکسترین الیاف بدون دانه و یکنواختی را حاصل می‌دهد (شکل ۲-ب و ج). جدول ۲ نشان می‌دهد، با افزایش سالیسیلیک اسید به محلول فیبروئین ابریشم قطر الیاف الکترورسی شده افزایش می‌یابد که آن را به افزایش گرانشی محلول ریسندگی می‌توان نسبت داد. مطابق نتایج جدول ۲ با افزایش مقدار سیکلودکسترین میانگین قطری الیاف حاصل در مقایسه با الیاف فیبروئین ابریشم خالص و فیبروئین ابریشم دارای سالیسیلیک اسید کاهش می‌یابد. نتایج حاصل از بررسی گرانشی محلول ریسندگی با افزایش  $\beta$ -CD نشان می‌دهد، گرانشی محلول ریسندگی کاهش می‌یابد (شکل ۳) و در نتیجه کاهش گرانشی به کاهش قطر الیاف حاصل با افزایش مقدار سیکلودکسترین استفاده شده منجر می‌شود. برای الکترورسی مقدار بهینه گرانشی مورد نیاز است که کمتر از این مقدار درگیری میان زنجیرها برای تشکیل جت الکترورسی کافی نخواهد بود و باعث ایجاد قطره و دانه در الیاف می‌شود. همان‌طور که مشاهده می‌شود، میانگین قطری نانوالیاف کاهش چشمگیری را با افزایش  $\beta$ -CD از 289 nm تا 198 nm نشان می‌دهد. از نتایج جدول ۲ به وضوح مشخص است، ترکیب محلول ریسندگی اثر چشمگیری بر میانگین قطری الیاف حاصل دارد.

### بررسی طیف FTIR

طیف‌سنجی FTIR روش مناسبی برای بررسی ساختار پروتئین‌هاست. شکل ۴ طیف FTIR فیبروئین ابریشم را نشان می‌دهد. مطابق این

بررسی فرایند رهائش دارو در بافر فسفات، ابتدا پایدارسازی نانوالیاف الکترورسی شده انجام شد. بدین منظور، نانوالیاف تولید شده به مدت 30 s در اتانول پایدار شده و در نهایت به مدت 2 h (با توجه به دمای محیط) در دمای محیط خشک شد. معمول‌ترین روش برای افزایش ساختار صفحه‌های  $\beta$  در فیبروئین و در نتیجه انحلال‌ناپذیر کردن آن در آب و عمل‌آوری با الکل‌ها گزارش شده است [18, 19]. الکل مولکول‌های آب فیبروئین ابریشم را به دلیل خاصیت قطبی آنها مورد حمله قرار می‌دهد و ایجاد تجمع آبریز آمینواسیدها مانند آلانین و گلايسین می‌کند. از آنجا که این آمینواسیدها مهم‌ترین ترکیبات ناحیه بلوری هستند، الکل سبب ایجاد ورقه‌های متبلور بتا می‌شود [18, 19].

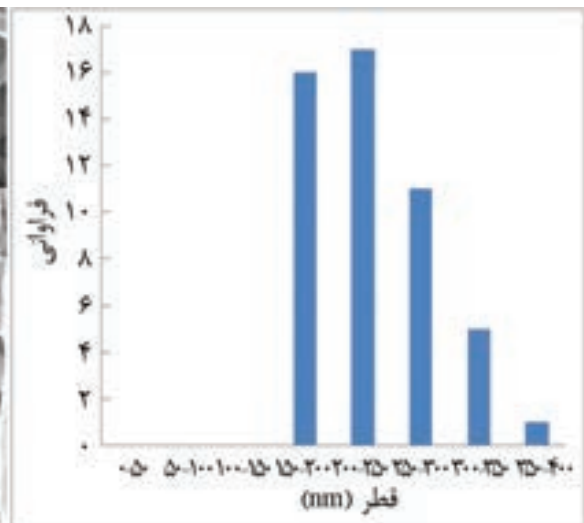
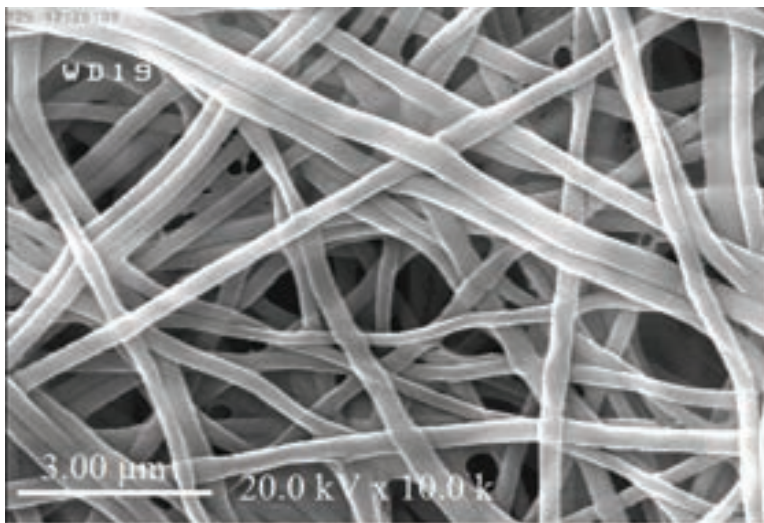
### تهیه بافر فسفات

برای تهیه 1 L بافر فسفات ابتدا به 800 mL آب مقطر 8 g سدیم کلرید، 0.2 g پتاسیم کلرید، 1/44 g دی‌سدیم هیدروژن فسفات و 0.24 g پتاسیم دی‌هیدروژن سولفات اضافه شد. pH محلول با اضافه کردن قطره قطره کلریدریک اسید یک مولار یا سدیم هیدروکسید یک مولار روی مقدار 7/4 تنظیم و سپس حجم محلول به 1000 mL رسانده شد [20].

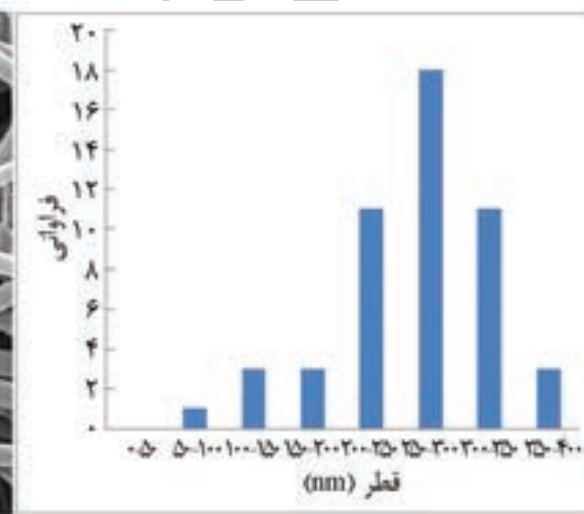
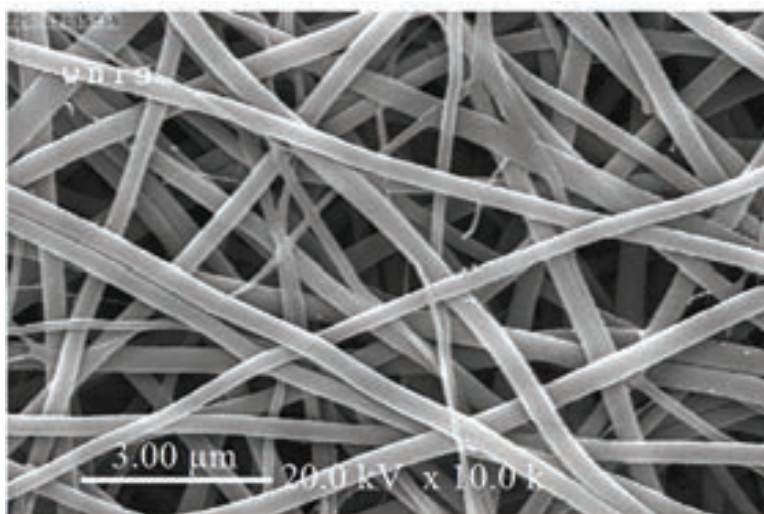
### تعیین غلظت و رهائش سالیسیلیک اسید

برای مطالعه رفتار رهائش سالیسیلیک اسید از نانوالیاف، از بافر فسفات به‌عنوان فاز گیرنده (محیط رهائش) در محیط آزمایشگاهی استفاده شد. در واقع این محلول به نوعی متناسب با محیط داخل بدن است [21, 22]. برای بررسی رهائش سالیسیلیک اسید از نانوالیاف ابریشم حاوی  $\beta$ -سیکلودکسترین و دارو در شرایط فیزیولوژیکی، وزن مشخصی از نانوالیاف پایدار شده در اتانول، در 10 mL بافر فسفات در pH برابر 7/4 در دمای بدن 37°C تحت همزدن مداوم به منظور ساکن نبودن محیط رهائش به کمک همزن مغناطیسی قرار گرفت. در زمان‌های مدنظر برای تعیین مقدار ماده فعال رهائش یافته، نمونه به‌طور کامل از درون محیط رهائش خارج شده و درون محلول جدول ۱- نسبت اختلاط فیبروئین ابریشم/ $\beta$ -سیکلودکسترین-سالیسیلیک اسید در محلول‌های الکترورسی شده.

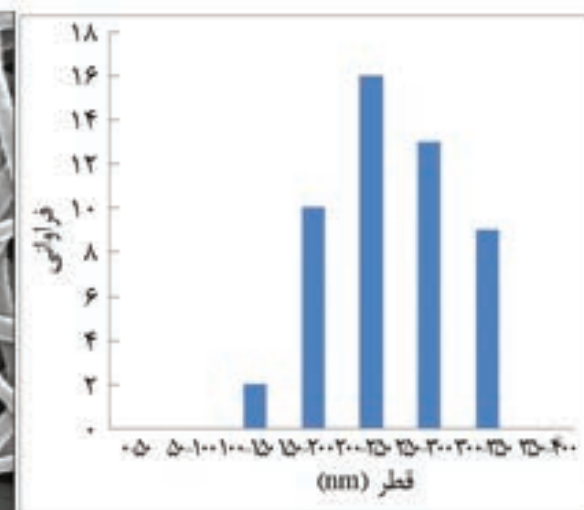
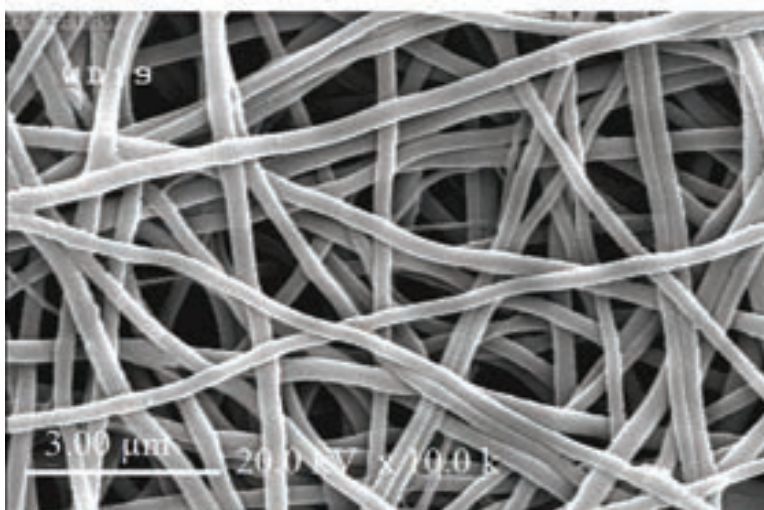
ردیف	SF(%)	$\beta$ -CD (%)	SA(%)
۱	۱۰۰	-	-
۲	۹۵	-	۵
۳	۸۷	۸	۵
۴	۸۳	۱۲	۵
۵	۸۰	۱۵	۵



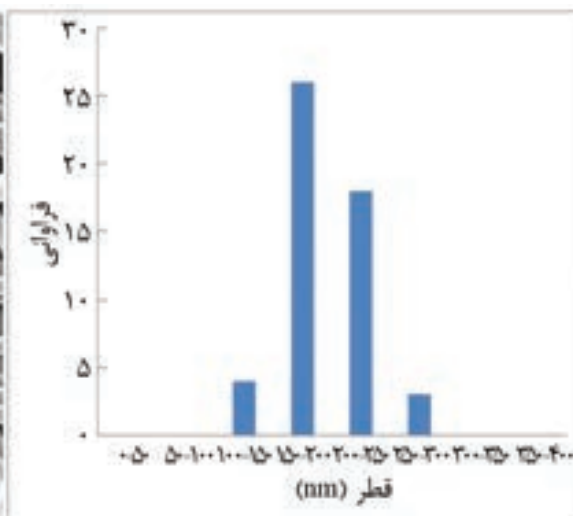
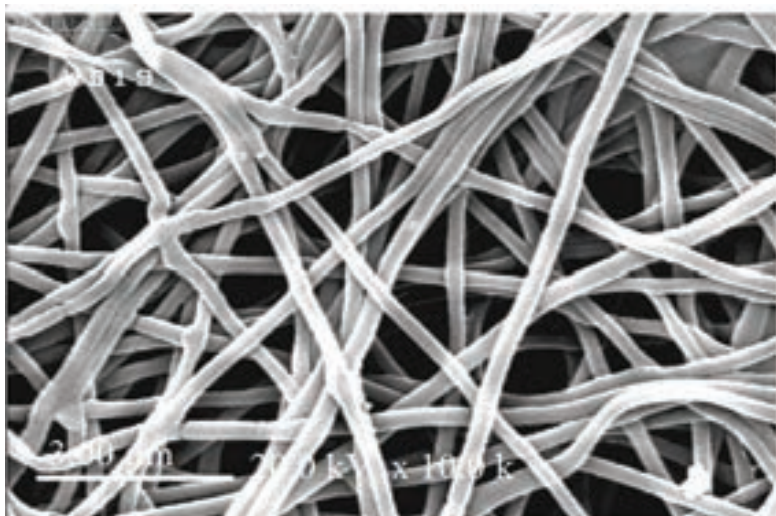
(الف)



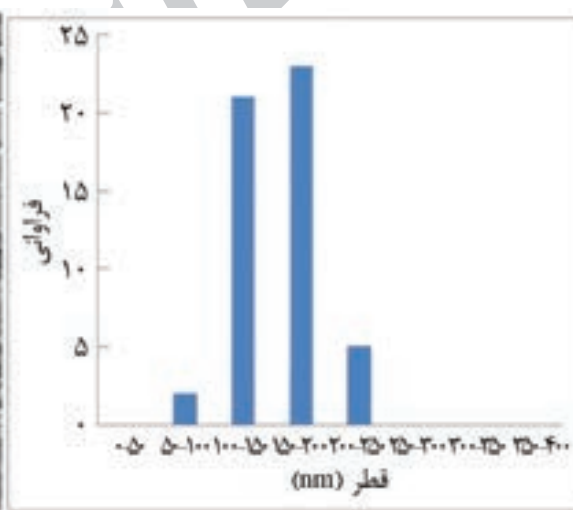
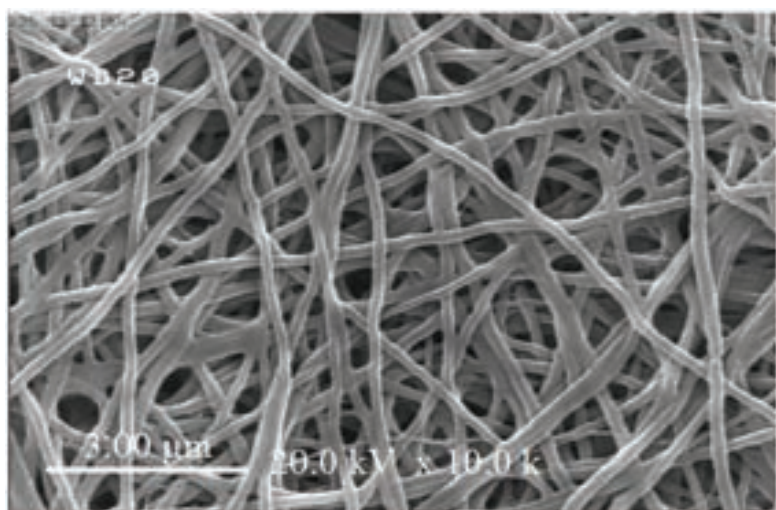
(ب)



(ج)



(د)



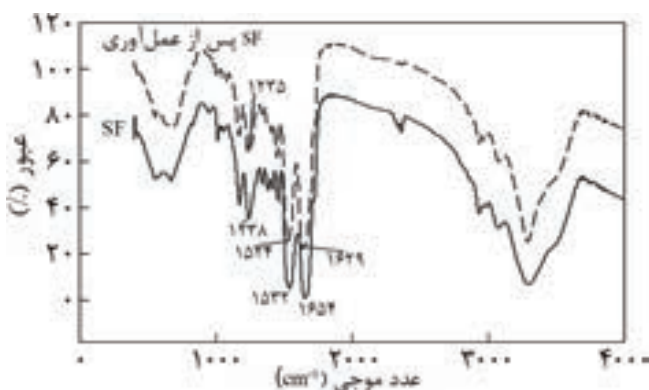
(ه)

شکل ۲- تصاویر SEM نانوالیاف فیبروئین ابریشم،  $\beta$ CD و سالیسیلیک اسید: (الف) نانوالیاف فیبروئین ابریشم، (ب) SF/SA، (ج) SF/SA/0%  $\beta$ -CD، (د) SF/SA/15%  $\beta$ -CD و (ه) SF/SA/0%  $\beta$ -CD.

طیف FTIR سالیسیلیک اسید و  $\beta$ -سیکلودکستین در شکل ۵ آمده است، همان طور که مشاهده می شود، پیک های جذبی مربوط به ارتعاش های کششی O-H فنیل هیدروکسیل  $3237 \text{ cm}^{-1}$  ارتعاش های خمشی  $1298 \text{ cm}^{-1}$ ، مربوط به پیک های C-H حلقه آروماتیک، سه بیشینه در  $1638$ ،  $1682$  و  $1716 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به پیوندهای C=O و  $1472$ ،  $1487$ ،  $1575$  و  $1617 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به پیوندهای حلقه بنزن نشان می دهد [۲۵].

شکل ۵ طیف FTIR ترکیب  $\beta$ -سیکلودکستین را نشان می دهد، پیک جذبی پهنی با مقدار بیشینه در  $3237 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاش های کششی هیدروکسیل های پیوندهای هیدروژنی در گروه هیدروکسیل

شکل طیف FTIR فیبروئین ابریشم پیک هایی در  $1654 \text{ cm}^{-1}$  برای آمید I مربوط به کشش پیوند O=C،  $1517 \text{ cm}^{-1}$  دارای یک شانه در  $1532 \text{ cm}^{-1}$  برای آمید II مربوط به تغییر شکل پیوند N-H و پیکی در طول موج  $1238 \text{ cm}^{-1}$  برای آمید III مربوط به کشش N-C و ارتعاش خمشی O=C را نشان می دهد که مطابق با گزارش های سایر پژوهشگران است [۱۸]. مولکول های ابریشم به سبب تغییر در پیوندهای هیدروژنی پس از قرارگیری در اتانول قابلیت تغییر ساختار و دست یابی به ساختار ورقه های بتا را دارند. همان طور که در شکل ۴ نشان داده شده است، پیک های مربوط به آمید I به سمت عدد موج  $1629 \text{ cm}^{-1}$ ، آمید II به  $1524 \text{ cm}^{-1}$  و آمید III به طول موج  $1235 \text{ cm}^{-1}$  انتقال می یابد [۲۴].

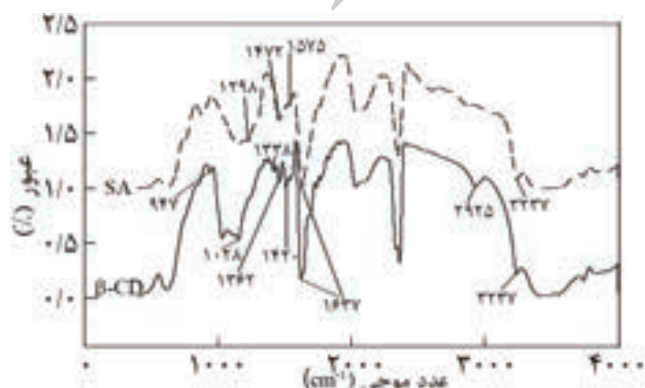


شکل ۴- طیف FTIR فیبروئین ابریشم پیش و پس از عمل آوری با اتانول.

جابه‌جا شده است که به دلیل وجود پیوند هیدروژنی میان فیبروئین و سالیسیلیک اسید است. همچنین پیک ارتعاشی  $938-944\text{ cm}^{-1}$  ناشی از ارتعاش های  $\alpha$ -پیرانیل در  $\beta$ -سیکلودکسترین و پیک ارتعاشی  $1032-1053\text{ cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاش های کششی C-C/C-O جفت شده در  $\beta$ -سیکلودکسترین است که نشان‌دهنده وجود  $\beta$ -سیکلودکسترین در نانوالیاف الکتروریسی شده است. در ضمن مشاهده شد، پیک جذبی  $3285\text{ cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاش OH با افزایش مقدار  $\beta$ -سیکلودکسترین شدت یافته است که به دلیل افزایش مقدار رطوبت جذب شده با افزایش  $\beta$ -سیکلودکسترین است [25].

#### بررسی خواص گرمایی نانوالیاف

گرمانگاشت‌های DSC مربوط به نانوالیاف فیبروئین ابریشم و نانوالیاف حاوی دارو و  $\beta$ -سیکلودکسترین در شکل ۷ آمده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، نانوالیاف فیبروئین (شکل ۷-الف) دو پیک گرماگیر بزرگ در  $75^\circ\text{C}$  و  $297^\circ\text{C}$  دارد که پیک اول مربوط به تبخیر آب یا الکل از ساختار فیبروئین ابریشم و پیک دوم مربوط به تخریب گرمایی زنجیرهای پروتئینی فیبروئین ابریشم است [26].



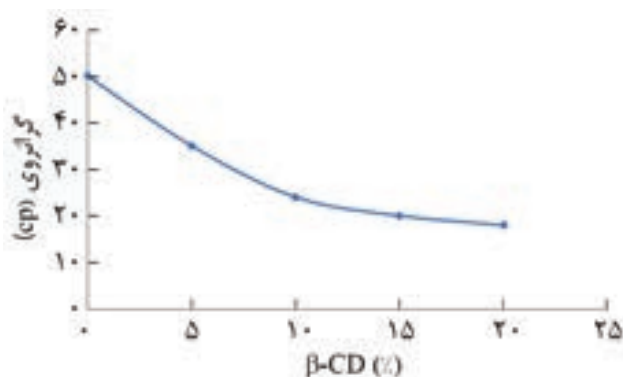
شکل ۵- طیف FTIR سالیسیلیک اسید و  $\beta$ -سیکلودکسترین.

جدول ۲- میانگین قطری نانوالیاف فیبروئین ابریشم و  $\beta$ -سیکلودکسترین حاوی دارو.

قطر یاف (nm)		میانگین قطر حدود اطمینان ۹۵٪	نانوالیاف
کمینه	بیشینه		
۴۲۵	۲۳۰	$298 \pm 5/72$	SF
۴۵۸	۱۱۴	$313 \pm 8/10$	SF/SA
۳۸۸	۱۶۲	$280 \pm 5/91$	SF/SA/10% $\beta$ -CD
۳۳۲	۱۸۰	$248 \pm 3/92$	SF/SA/15% $\beta$ -CD
۲۸۸	۱۲۱	$198 \pm 4/74$	SF/SA/20% $\beta$ -CD

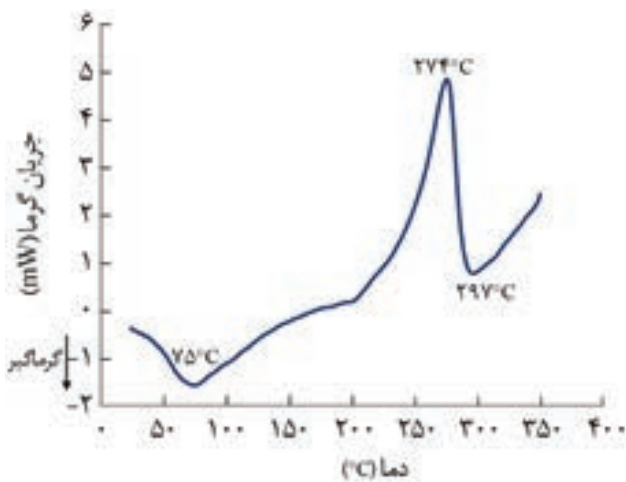
اولیه مرتبط با پیوندهای هیدروژنی بین مولکولی ( $C_6-OH$ ) یا گروه‌های هیدروکسیل ثانویه مرتبط شده به وسیله پیوندهای هیدروژنی درون مولکولی ( $C_2-OH$ ) یک واحد گلوکوپیرانوز و گروه  $C_3-OH$  گلوکوپیرانوز مجاور، پیک جذبی در  $2925\text{ cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاش های کششی پیوندهای C-H در گروه‌های CH و  $CH_2$ ، پیک  $1637\text{ cm}^{-1}$  که ممکن است مربوط به ارتعاش های خمشی پیوندهای O-H در گروه‌های COH باشد و پیک‌های جذبی در  $1338$ ،  $1362$  و  $1420\text{ cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاش های خمشی پیوندهای C-H در گروه‌های  $CH_2OH$  و  $CHOH$  را نشان می‌دهد. همچنین، پیک  $947\text{ cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاش های  $\alpha$ -پیرانیل و پیک جذبی  $1028\text{ cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاش های جفت شدن C-C/C-O است [20، 25].

شکل ۶ طیف FTIR نانوالیاف فیبروئین ابریشم و نانوالیاف فیبروئین ابریشم حاوی  $\beta$ -سیکلودکسترین به همراه سالیسیلیک اسید را نشان می‌دهد. مطابق این شکل، پیک جذبی مربوط به ارتعاش  $C=O$  گروه‌های کربوکسیل مولکول‌های سالیسیلیک اسید در  $1716\text{ cm}^{-1}$  در طیف FTIR کمپلکس به بسامدهای بیشتر در  $1727\text{ cm}^{-1}$

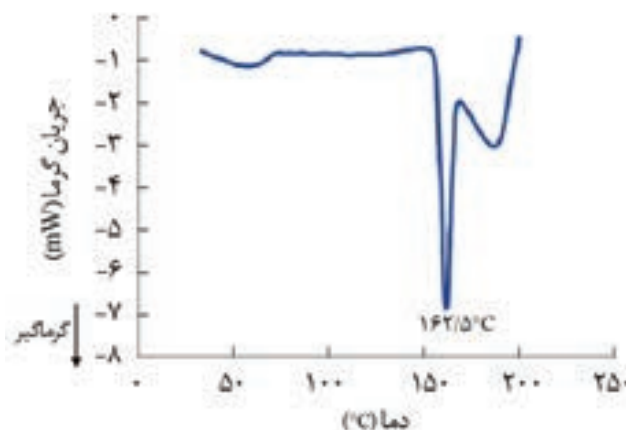


شکل ۳- تغییرگرانروی محلول فیبروئین ابریشم/ $\beta$ -سیکلودکسترین برحسب مقادیر مختلف  $\beta$ -سیکلودکسترین.

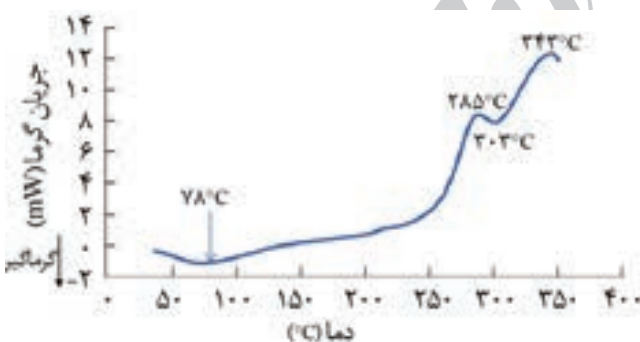




(الف)



(ب)



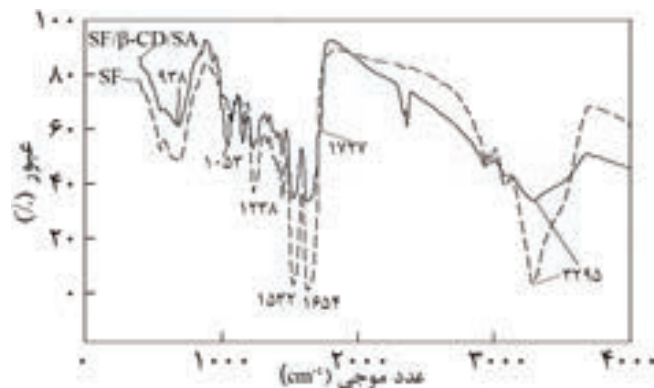
(ج)

شکل ۷- گرمانگاشت نانوالیاف: (الف) SF، (ب) SA، و (ج) SF/SA/β-CD.

۳۴۳°C به از بین رفتن واحدهای گلوکوپیرانوز β-سیکلودکسترین نسبت داده شده است.

#### بررسی رهایش دارو از نانوالیاف الکتروسیسی شده

فرایند آزادسازی دارو از نانوالیاف ابریشم در نبود β-سیکلودکسترین

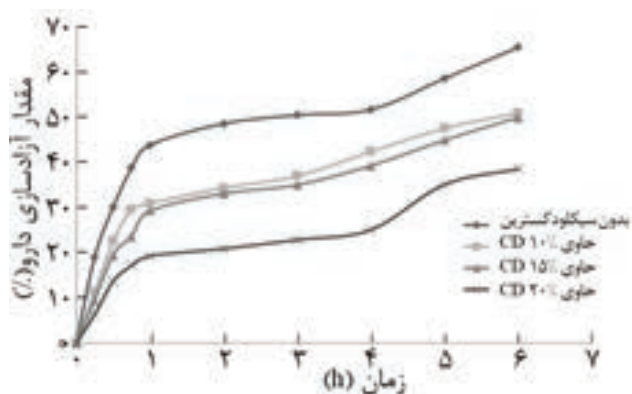


شکل ۶- طیف FTIR نانوالیاف فیبروئین ابریشم و نانوالیاف فیبروئین ابریشم حاوی سالیسیلیک اسید و β-سیکلودکسترین.

گرما مشاهده شده در منحنی در دمای ۲۷۴°C، به دلیل متبلور شدن فیبروئین ابریشم ظاهر شده است. گرچه عمل آوری گرمایی می تواند انتقالات ساختاری را سبب شود، این الیاف پس از عمل آوری با اتانول دمای تخریب بیشتری در مقایسه با الیاف تازه ریسیده شده نشان می دهند. این موضوع بیانگر این است که دمای تجزیه شدن گرمایی بیشتر تحت تاثیر عمل آوری با اتانول قرار می گیرد [۲۷].

DSC مربوط به سالیسیلیک اسید (شکل ۷-ب)، پیک گرماگیر برجسته ای را در دمای ۱۶۲/۵°C نشان می دهد که به دمای ذوب آن مربوط است. رفتار گرمایی نانوالیاف فیبروئین حاوی β-سیکلودکسترین و سالیسیلیک اسید برای تأیید تشکیل کمپلکس مطالعه شد. شکل ۷-ج گرمانگاشت مربوط به نانوالیاف فیبروئین ابریشم حاوی ۲۰٪ β-سیکلودکسترین را نشان می دهد. همان طور که مشاهده می شود، وقتی مولکول های مهمان در حفره سیکلودکسترین جای می گیرند دمای ذوب، جوش و تصعید آنها معمولاً به دماهای متفاوتی جابه جا شده یا ناپدید می شوند. ظاهر نشدن دمای ذوب مولکول مهمان در منحنی مخلوط، اغلب برای نشان دادن جاذبه مهمان-میزبان به کار می رود.

همان طور که در منحنی DSC نانوالیاف حاوی β-سیکلودکسترین و سالیسیلیک اسید مشاهده می شود، پیک مربوط به دمای ذوب مولکول مهمان یعنی سالیسیلیک اسید (۱۶۲/۵°C) در گرمانگاشت مخلوط مشاهده نمی شود. در ضمن، پیک مربوط به آب زدایی پهن تر و پیک گرماگیر مشاهده شده در ۳۰۳°C به دمای تخریب فیبروئین و تخریب گروه های هیدروکسیل β-سیکلودکسترین نسبت داده شد. با توجه به این منحنی مشاهده می شود، اثر گرمادهی مربوط به متبلور شدن فیبروئین به دمای بیشتر ۲۸۵°C انتقال پیدا کرده که به دلیل ساختار سخت سیکلودکسترین است و باعث کاهش انعطاف پذیری زنجیرهای فیبروئین ابریشم می شود. پیک گرما مشاهده شده در



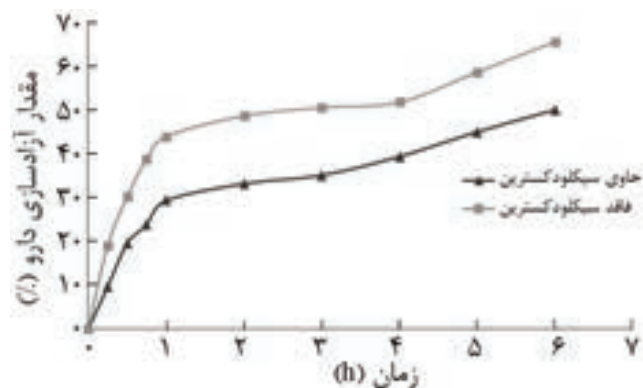
شکل ۹- نمودار رهایش دارو از فیبروئین ابریشم در مقدار ۰، ۱۰، ۱۵ و ۲۰٪ وزنی  $\beta$ -سیکلودکسترین در دمای بدن.

اسید است.

با افزایش مقدار  $\beta$ -CD از ۰ تا ۲۰٪ (شکل ۹) تعداد بیشتری از مولکول‌های سالیسیلیک اسید در حفره آبگریز آن جای می‌گیرد و میان سالیسیلیک اسید و  $\beta$ -سیکلودکسترین جاذبه بیشتری ایجاد می‌شود، در نتیجه باعث آهسته‌تر شدن رهایش دارو در دمای بدن می‌شود [۲۹].

### نتیجه‌گیری

برای تهیه سامانه جدیدی برای رهایش کنترل شده دارو، الکتروریسی نانوالیاف فیبروئین ابریشم حاوی مقادیر مختلف  $\beta$ -سیکلودکسترین مطالعه شد. تصاویر SEM نشان‌دهنده تشکیل نانوالیاف مداوم و بدون نقص از مخلوط سه‌گانه فیبروئین ابریشم/ $\beta$ -سیکلودکسترین و داروی مدل سالیسیلیک اسید است. آزمون‌های گرمایی و طیف‌سنجی FTIR وجود سالیسیلیک اسید را در حفره  $\beta$ -سیکلودکسترین تأیید کردند. چگونگی آزادسازی سالیسیلیک اسید از نانوالیاف فیبروئین ابریشم در بافر فسفات و دمای  $37^{\circ}\text{C}$  مطالعه شد. نتایج بررسی سرعت رهایش داروی مدل نشان داد، با افزایش مقدار  $\beta$ -سیکلودکسترین، تعداد بیشتری از مولکول‌های سالیسیلیک اسید در حفره آبگریز آن جای گرفته است. با قرارگیری داروی مدل سالیسیلیک اسید در حفره آبگریز  $\beta$ -سیکلودکسترین جاذبه بیشتری میان سالیسیلیک اسید و  $\beta$ -سیکلودکسترین ایجاد می‌شود که در نتیجه باعث آهسته‌تر شدن سرعت رهایش دارو می‌شود.



شکل ۸- منحنی رهایش دارو از نانوالیاف فیبروئین ابریشم: (الف) بدون  $\beta$ -CD و (ب) حاوی ۱۵٪ وزنی  $\beta$ -CD.

در دمای  $37^{\circ}\text{C}$  و بافر فسفات بررسی شد. چگونگی رهایش دارو در نانوالیاف بدون سیکلودکسترین و حاوی آن در دمای بدن در شکل ۸ نشان داده شده است. نتایج حاصل نشان می‌دهد، سرعت رهایش در دمای  $37^{\circ}\text{C}$  بدون سیکلودکسترین در یک ساعت اول حدود ۵۰٪ دارو از ماتریس فیبروئین آزاد شده است. به طوری که در ۱۵ دقیقه اول حدود ۱۹٪ از دارو و در ۳۰ دقیقه اول حدود ۳۰٪ از مقدار دارو رهایش یافته است. آزادسازی ناگهانی دارو در یک ساعت اولیه را می‌توان به وجود مولکول‌های آزاد دارو در سطح، بدون برقراری اتصال با ساختار نانوالیاف دانست. همچنین، نمودار آزادسازی دارو از نانوالیاف فیبروئین ابریشم حاوی  $\beta$ -سیکلودکسترین نشان می‌دهد، سرعت رهایش با گذشت زمان آهسته‌تر شده است. مقدار رهایش در ۱۵ و ۳۰ دقیقه اول مقدار ۹/۵۶٪ و ۱۹/۴۶٪ بود.

با مقایسه شکل ۸ مشاهده می‌شود، با افزودن  $\beta$ -سیکلودکسترین رهایش آهسته‌تر انجام شد که این پدیده را می‌توان به قابلیت ویژه سیکلودکسترین‌ها در تشکیل کمپلکس‌های میهمان-میزبان نسبت داد. در این شکل باید توجه کرد، قطر نانوالیاف حاوی سیکلودکسترین نسبت به نانوالیاف فاقد سیکلودکسترین کمتر است که با توجه به سازوکار رهایش دارو می‌تواند به افزایش سرعت رهایش دارو منجر شود. این نوع افزایش در سرعت رهایش با کاهش قطر توسط سایر پژوهشگران مشاهده شده است [۲۸]. اما، سازوکار و مقدار اثر آن به بررسی بیشتر و مطالعات گسترده‌تری نیاز دارد. اما در شکل ۸ مشاهده می‌شود، نانوالیاف حاوی سیکلودکسترین با قطر کمتر سرعت رهایش کمتری دارند که نشان‌دهنده قابلیت مولکول‌های سیکلودکسترین در نگه‌داری مولکول‌های سالیسیلیک

## مراجع

- 1 Dash S., Muthy P.N., Nath L., and Choudhury P., Kinetic Model of Drug Release from Controlled Drug Delivery Systems, *Acta. Polym. Pharm.*, **67**, 1-30.
- 2 Zhang W., Chen M., and Diao G., Electrospinning  $\beta$ -Cyclodextrin/Poly(vinyl alcohol) Nanofibrous Membrane for Molecular Capture, *Carbohydr. Polym.*, **86**, 1-10.
- 3 Machin R., Isasi J.R., and Velaz I.,  $\beta$ -Cyclodextrin Hydrogels as Potential Drug Delivery Systems, *Carbohydr. Polym.*, **87**, 1-10.
- 4 Del Valle E.M., Cyclodextrins and Their Uses: A Review, *Process. Biochem.*, **39**, 1-10.
- 5 Singh M., Sharma R., and Banerjee U., Biotechnological Applications of Cyclodextrin, *Biotechnol. Adv.*, **20**, 3-9.
- 6 Lavoine N., Tabary N., Desloges I., Martel B., and Bras J., Controlled Release of Cholesterol Diglycerate Using  $\beta$ -Cyclodextrin and Microfibrillated Cellulose, *Colloid Surface B.*, **121**, 1-10.
- 7 Uekama K., Hirayama F., and Irie T., Cyclodextrin Drug Carrier Systems, *Chem. Rev.*, **98**, 1-10.
- 8 Bharadwaj N. and Kulkarni S.C., Electrospinning: A Fascinating Fiber Fabrication Technique, *Biotechnol. Adv.*, **28**, 3-7.
- 9 Wek E., Merkle H.P., and Meinel L., Silk Fibron as a Vehicle for Drug Delivery Applications, *J. Control. Rel.*, **150**, 3-14.
- 10 Mahmoodi A. and Nouri M., Wet Spun Blended Fibers of Silk Fibron and Polyglycidol, *Iran. J. Polym. Sci. Technol. (Persian)*, **19**, 1-7.
- 11 Amiralizadeh N., Nouri M., and Kish M.H., Effects of Some Electrospinning Parameters on Morphology of Natural Silk-Based Nanofibers, *J. Appl. Polym. Sci.*, **113**, 1-10.
- 12 Huang Z.M., Zhang Y.Z., Kobayashi M., and Ramakrishna S., A Review on Polymer Nanofibers by Electrospinning and Their Applications in Nanomedicine, *Compos. Sci. Technol.*, **63**, 1-10.
- 13 Sill T.J. and von Recum H.A., Electrospinning: Applications in Drug Delivery and Tissue Engineering, *Biomaterials*, **29**, 1-10.
- 14 Xu X., Chen X., Xu X., Lu T., Wang X., Yang L., and Jing X., BCNU-loaded PEG-PLLA Ultrafine Fibers and Their In Vitro Antitumor Activity Against Glioma C6 Cells, *J. Control. Rel.*, **114**, 1-10.
- 15 Chew S.Y., Wen J., Yim E.K., and Lee K.W., Sustained Release of Protein from Electrospun Biodegradable Fibers, *Biomacromolecules*, **6**, 1-10.
- 16 Min B.M., Lee G., Kim S.H., Nam Y.S., Lee T.S., and Park W.H., Electrospinning of Silk Fibroin Nanofibers and Its Effect on the Adhesion and Spreading of Normal Human Keratinocytes and Fibroblasts In Vitro, *Biomaterials*, **25**, 1-10.
- 17 Amiralizadeh N., Nouri M., and Kish M.H., Electrospinning of Silk Nanofibers. I. An Investigation of Nanofiber Morphology and Process Optimization Using Response Surface Methodology, *Fiber. Polym.*, **10**, 1-10.
- 18 Amiralizadeh N., Nouri M., and Kish M.H., Structural Characterization and Mechanical Properties of Electrospun Silk Fibroin Nanofiber Mats, *Polym. Sci. Ser. A*, **52**, 1-10.
- 19 Chen X., Shao Z., Marinkovic N.S., Miller L.M., Zhou P., and Chance M.R., Conformation Transition Kinetics of Regenerated Bombyx Mori Silk Fibroin Membrane Monitored by Time-resolved FTIR Spectroscopy, *Biophys. Chem.*, **89**, 1-10.
- 20 Bazhban M., Nouri M., and Mobaraki J., Electrospinning of Cyclodextrin Functionalized Chitosan/PVA Nanofibers as a Drug Delivery System, *Chinese. J. Polym. Sci.*, **31**, 3-10.
- 21 Farrokhi H., Mobaraki H., Barzin J., and Pourkazem A., Evaluation of Protein Encapsulation Effect on Drug Release from In Situ Formed System based on Poly(lactide-co-glycolide), *Iran. J. Polym. Sci. Technol. (Persian)*, **22**, 1-10.
- 22 Şamlı M., Bayraktar O., and Korel F., Characterization of Silk Fibroin Based Films Loaded with Rutin- $\beta$ -Cyclodextrin Inclusion Complexes, *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, **80**, 1-10.
- 23 Higashi T., Tajima A., Motoyama K., and Arima H., Cyclodextrin/Poly(ethylene glycol) Polyacetal Oxane Hydrogels as a Promising Sustained-Release System for Lysozyme, *J. Pharm. Sci.*, **101**, 1-10.
- 24 Vasconcelos A., Gomes A.C., and Casco Palao A., Novel Silk

- Fibrous Elastin Wool Dressing, *Acta Biomater.*, **8**, 990-1000.
23. Belykh L., Varvarin A., Lyshchik D.Y., Khodakova O., and Oranskaya E., Complexation in a  $\beta$ -Cyclodextrin-Salicylic Acid System, *Colloid. J.*, **69**, 500-505.
24. Nogueira G.M., Wesk R.F., Vieira W.C., Polakiewicz B., Rodas A.C., Higazi O.Z., and Beppu M.M., A New Method to Prepare Porous Silk Fibroin Membranes Suitable for Tissue Scaffolding Application, *J. Appl. Polym. Sci.*, **114**, 3000-3008.
27. Nogueira G.M., Rodas A.C., Leite C.A., Giles C., Higazi O.Z., Polakiewicz B., and Beppu M.M., Preparation and Characterization of Ethanol-Treated Silk Fibroin Dense Membranes for Biomaterials Application Using Waste Silk Fibers As Raw Material, *Bioresource Technol.*, **101**, 8446-8451, 2010.
28. Lee J., Yoo J.J., Atala A., and Lee S.J., The Effect of Controlled Release of PDGF-BB from Heparin Incorporated Electrospun PCL/Gelatin Scaffolds on Cellular Bioactivity and Infiltration, *Biomaterials*, **33**, 3000-3008.
29. Demir S., Kahraman M.V., Bora N., Kayman Aphan N., and Ognan A., Preparation Characterization and Drug Release Properties of Poly(2-hydroxyethyl methacrylate) Hydrogels Having  $\beta$ -Cyclodextrin Functionality, *J. Appl. Polym. Sci.*, **109**, 1000-1008.
30. Sreenivasan K., Identification of Salicylic Acid Using Surface Modified Polyurethane Film Using an Imprinted Layer of Polyvinylidene, *Anal. Chim. Acta.*, **583**, 300-308.

Archive of SID