

Original Article

Preparation of chitosan/gelatin nanofibers containing triamcinolone by electrospinning and investigation of drug release

Leila Behbood¹, Elham Arkan^{1*}, Poursan Moradipour¹

Nano Drug Delivery Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

*Corresponding author; E-mail: elhamarkan@yahoo.com

Received: 2 August 2018 Accepted: 29 August 2018 First Published online: 19 May 2020

Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2020 June- July; 42(2):135-142

Abstract

Background: In the present study, a biocompatible drug delivery system was prepared by using chitosan-gelatin nanofibers based on electrospinning method.

Methods: The nanofibers were prepared by electrospinning and cross-linked by glutaraldehyde to stabilize in aqueous medium. The surface morphology and approximate size of nanofibers were investigated by the scanning electron microscopy and optical microscope.

Results: The nanofibers were characterized and the interaction types of drug-nanofiber matrix were evaluated by using FT-IR spectrum. The swelling of nanofibers was about 3.88% and the stability of nanofibers about 3 days was estimated.

Conclusion: The drug release experiment in phosphate buffer (PBS pH=7.4) showed that quick release occurred in early hours and then release rate was decrease and controlled release was continued for three more days. The results showed that the triamcinolone drug delivery system was well implemented and could be used as a functional patch in the future.

Keyword: Nanofibers, Drug Delivery System, Swelling, Drug Release, Controlled Release

How to cite this article: Behbood L, Arkan E, Moradipour P. [Preparation of chitosan/gelatin nanofibers containing triamcinolone by electrospinning and investigation of drug release]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2020 June-July; 42(2):135-142. Persian.

مقاله پژوهشی

تهیه نانوالیاف کیتوسان/ژلاتین حاوی داروی تریامسینولون به روش الکتروریسندگی و بررسی آزادسازی دارو

لیلا بهبود^۱، پوران مرادی پور^۱، الهام ارکان^{۲*}مرکز تحقیقات دارورسانی نانو، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
* نویسنده مسؤل: ایمیل: elhamarkan@yahoo.comدریافت: ۱۳۹۷/۵/۱۱ پذیرش: ۱۳۹۷/۶/۷ انتشار برخط: ۱۳۹۹/۲/۳۰
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز: خرداد و تیر ۱۳۹۹؛ ۴۲(۲): ۱۳۵-۱۴۲

چکیده

زمینه: در مطالعه حاضر، یک سیستم زیست سازگار انتقال دارو با استفاده از نانوالیاف کیتوسان-ژلاتین بر پایه روش الکتروریسندگی تهیه شد. **روش کار:** نانوالیاف به روش الکتروریسندگی تهیه شد و به منظور پایداری در محیط آبی بوسیله گلوتر آلدهید اتصال عرضی داده شد. مورفولوژی سطح و ساینز تقریبی نانوالیاف توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی و میکروسکوپ نوری ارزیابی شد. **یافته‌ها:** نانوالیاف توصیف ویژگی شده و انواع برهمکنش های دارو و نانوالیاف توسط طیف سنجی مادون قرمز ارزیابی شد. تورم پذیری نانوفیبرها در حدود ۳/۸۸٪ و پایداری نانوالیاف در محیط آبی حدوداً ۳ روز تخمین زده شد. **نتیجه گیری:** آزمایشات رهایش دارو در بافر فسفات (PBS pH=7.4) نشان داد که رهش دارو در ساعات اولیه به صورت تهاجمی اتفاق افتاده و سپس کاهش یافته و رهاش کنترل شده به مدت سه روز دیگر ادامه یافت. نتایج بدست آمده نشان داد که طراحی سیستم انتقال داروی تریامسینولون به خوبی انجام شده و میتواند به صورت یک پیچ کاربردی در آینده مورد استفاده قرار گیرد.

کلید واژه‌ها: نانو الیاف، سیستم انتقال دارو، تورم پذیری، نانوالیاف، رهایش کنترل شده

نحوه استناد به این مقاله: بهبود ل، مرادی پور پ، ارکان ا. تهیه نانوالیاف کیتوسان/ژلاتین حاوی داروی تریامسینولون به روش الکتروریسندگی و بررسی آزادسازی دارو. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۹؛ ۴۲(۲): ۱۳۵-۱۴۲

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کرییتیو کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

از آنجایی که علوم پزشکی با مشکلات بسیاری در زمینه پیشگیری، تشخیص و درمان بیماری‌های مختلف مواجه است، فناوری‌های جدید به عنوان یکی از شاخص‌ترین راه‌حل‌ها برای رفع یا کاهش این مشکلات می‌تواند مفید باشد. فناوری نانو امروزه گام بزرگی در جهت کاهش این مشکلات برداشته است. جهت رسانش دوز مناسب دارو به محل اثر و اجتناب از عوارض جانبی داروها، دنیای داروسازی به حامل‌ها و فرمولاسیون‌های مناسبی نیاز دارد. در این راستا، استفاده از حامل‌های کلونیدی نظیر لیپوزوم‌ها و نانوذرات و نانوالیاف پلیمری و لیپیدی از روش‌های بسیار مناسب جهت دستیابی به هدف مذکور است. سیستم‌های دارورسانی که براساس فناوری نانو طراحی می‌شوند، اثر درمانی بیشتر، سمیت کمتر، راحتی و رضایت بیشتر بیمار از شرایط درمان و نیز تجمع بیشتر دارو در محل اثر را به دنبال خواهند داشت (۱). پیچ‌های پوستی تولید شده از نانوالیاف به عنوان سیستم‌های دو بعدی در دارورسانی پوستی با نسبت سطح به حجم بالا مورد استفاده قرار می‌گیرند. روش‌های متفاوتی برای ساخت نانوالیاف وجود دارد که در این میان الکترویسپندگی به عنوان روشی ساده و منحصر بفرد برای ساخت نانوالیاف معرفی شده است، به طوری که محصول نهایی سطح ویژه بسیار بالایی دارد و با توجه به نوع مواد مورد استفاده کاربردهای متنوعی در زمینه‌های مختلف مخصوصاً ساخت سیستم‌های دارورسانی بازی می‌کند. از مزایای عمده سیستم‌های دارورسانی پوستی می‌توان به موارد زیر اشاره کرد: فراهم آوردن سطح تماس وسیع که منجر به تر شدن سریعتر بافت می‌شود. دوز تجویز شده در آن‌ها در مقایسه با شربت و قطره‌های دارویی قابل اطمینان‌تر است. انعطاف ذاتی نانوالیاف پلیمری نسبت به دیگر اشکال دارویی، ماندگاری قبل از مصرف آن‌ها (در حین نگهداری) را افزایش می‌دهد. به دلیل عدم نیاز به آب برای بیماران با مشکلات عقب ماندگی، بلع، تهوع و غیره مواجه نبوده و مصرف آن‌ها برای بیماران در هر زمان و مکانی راحت است. داروی مورد استفاده در لایه نانوالیافی بدون عبور اول کبدی وارد چرخه سیستمیک می‌شود و برای داروهای دارای عبور اول کبدی بسیار مطلوب است چون باعث کاهش دوز مصرفی و کاهش عوارض جانبی می‌گردد (۲). Jahangiri و همکاران در مطالعه‌ای به روش الکترواسپری نانوالیاف حاوی تریامسینولون را از پلیمر پلی‌لاکتیک کولیکولیک اسید تهیه کردند. نانوالیاف تولید شده توسط روش XRD و DSC تعیین ویژگی شده و قطر و مورفولوژی الیاف توسط SEM بررسی شده است. نتایج نشان داد الیاف دارای گره بوده و دارو ساختار بارگذاری شده است (۳). در سال ۲۰۰۵ پلیمر کایتوزان در حلال استیک اسید بوسیله الکترویسپندگی نانوالیاف تهیه شده است. در این مطالعه مشاهده شد تنها کایتوزان با وزن مولکولی بالا قابلیت تولید نانوالیاف را داشتند و کایتوزان با وزن

مولکولی متوسط و پایین قابلیت الکترویسپندگی نداشتند. قطر نانوالیاف تولید شده در میدان الکتریکی ۷ کیلوولت/سانتیمتر در حدود ۱۳۰ نانومتر می‌باشد (۴).

نانوالیاف از پلیمرهای سنتزی و طبیعی بسیاری با استفاده از الکترویسپندگی تهیه شده‌اند. یکی از رایج‌ترین پلیمرهای مورد استفاده کیتوسان است که ویژگی‌های مطلوبی چون زیست سازگاری، سمیت پایین، زیست فعالی، آبدوستی و غیره آنرا به گزینه‌ای مناسب برای سیستم‌های دارورسانی تبدیل کرده است (۵). کیتوسان پلیمری با ساختار صلب D-گلوکزآمین است. از ویژگی‌های بارز آن می‌توان به کریستالینیتی بالا و رفتار پلی‌کاتیونی در محلول و توانایی تشکیل پیوند هیدروژنی بین مولکولی و تشکیل ساختار شبکه‌ای سه بعدی بین زنجیره‌های پلیمری اشاره کرد که همین امر حرکت زنجیره‌های پلیمری را کاهش می‌دهد و حلالیت و الکترویسپندگی محلول را کاهش می‌دهد. معمولاً برای بهبود الکترویسپندگی از حلال غیرقطبی یا پلیمری آمورف استفاده می‌شود. پلی‌اتیلن اکساید و ژلاتین دو نمونه از پلیمرهایی هستند که در مراجع متعددی به منظور بهبود الکترویسپندگی کیتوسان گزارش شده‌اند (۶). ژلاتین پلیمری غیر ایموزونیک، طبیعی و زیست سازگار است که از هیدرولیز جزئی کلاژن به دست می‌آید و اصلی‌ترین ساختار پروتئینی موجود در ماتریکس خارج سلولی بدن را تشکیل می‌دهد. این پلیمر معمولاً برای پوشش دادن سطوح آبدوست پلیمری استفاده می‌شود، با این هدف که در داربست‌ها بر فقدان مکان‌های تشخیص سلول‌های تشخیص دهنده غلبه کند، که در این راه برهمکنش بین مواد مورد نظر و سلول را افزایش می‌دهد. از داربست‌های ژلاتینی برای بازسازی بافت‌های گوناگون مانند استخوان، پوست، ماهیچه و سلول‌های عصبی استفاده شده که نتایج حاکی از افزایش ماندگاری و طول عمر سلول‌ها با مورفولوژی نرمال و سازمان یافته بوده است (۷). ژلاتین در دمای حدود یا بیشتر از 37°C - 38°C در آب حل می‌شود و محلول کلونیدی را تشکیل می‌دهد. به همین دلیل بدون فرآوری‌های بعدی (برای مثال کراس لینک کردن) به عنوان داربست در مهندسی بافت قابل استفاده نیست. از طرفی ژلاتین یک زیست پلیمر ارزان قیمت است، پس با استفاده از فرایندهای پس پردازش نانوالیاف و یا با ترکیب ژلاتین با پلیمری زیست تخریب‌پذیر طبیعی یا سنتزی می‌توان داربست مورد نظر را تهیه کرد (۸). ترکیب کیتوسان و ژلاتین منجر به ساخت کمپلکس پلی‌الکترولیت از طریق برهمکنش و ایجاد پیوند هیدروژنی بین یون‌های آمونیم (NH_3^+) کیتوسان و یون‌های کربوکسیلات (COO^-) ژلاتین می‌شود که ساختار کمپلکسی دارد. این برهمکنش‌ها باعث تضعیف نیروهای سخت و محکم بین گروه‌های قابل یونیزه شدن در دو پلیمر می‌شود که به حلالیت بیشتر پلیمر کمک می‌کند و

محلولی کاملاً یکنواخت با ویسکوزیته مناسب حاصل شود. در نهایت تریامسینولون به صورت پودر به نسبت ۵ درصد وزن خشک پلیمر به محلول اضافه شده و پس از سه ساعت هم خوردن در شرایط گفته شده محلول آماده الکترورسی گردید. برای الکترورسی محلول از سیستم الکترورسی تک نازل شامل پمپ سرنگی با توان (ml/h) ۱۵۰-۰، مبدل برای افزایش ولتاژ ورودی و تبدیل جریان متناوب به جریان مستقیم با محدوده ولتاژ ۲۲kV-۰، سرنگ با حجم ۱ml، سوزن الکترورسی با قطر خارجی ۰/۷mm و کالکتور ثابت و صفحه‌ای استفاده شد. فاصله نازل و جمع کننده صفحه‌ای در تمام آزمایش‌ها ثابت و برابر ۱۲cm در نظر گرفته شد. همچنین پمپاژ محلول قابل الکترورسی با سرعت بهینه (ml/h) ۰/۷ انجام شد. در غلظت‌های مختلف کیتوسان و ژلاتین ولتاژهای متفاوت شامل (۷، ۱۲، ۱۷ و ۲۲ کیلوولت) مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به اینکه نانوالیاف حاصل در محیط آبی ناپایدار است، برای افزایش استحکام مکانیکی و پایداری بافت تولید شده در محیط آبی از واکنش‌های کراس لینک کردن شیمیایی استفاده شد (۱۴). برای این کار از بخار گلوترآلدئید (GTA) به منظور ایجاد پیوندهای عرضی کوالانسی استفاده شد. ابتدا یک مربع با اندازه ۱۰×۱۰ سانتی‌متر از نانوالیاف جدا شد و به مدت دو ساعت در دیسیکاتور تحت خلا در مجاورت بخار گلوتر آلدئید (GTA) قرار گرفت. سپس به مدت ۲۴ ساعت در آن خلا قرار گرفت تا بخارات اضافی ناشی از حضور گلوتر آلدئید موجود بر سطح نانوالیاف کاملاً تبخیر شود. پایداری بافت کراس لینک شده در آب با غوطه‌ور سازی بافت به مدت ۷۲ ساعت در آب مقطر بررسی شد. برای اندازه‌گیری درصد تورم پذیری لایه‌های نانو الیاف پس از اندازه‌گیری وزن اولیه (W₀)، نمونه‌ها به مدت ۶۰ ثانیه در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. سپس نانو الیاف به مدت ۱۰ دقیقه بر روی کاغذ صافی قرار گرفتند تا آب اضافی سطحی آن کاملاً جدا شود. سپس لایه‌های متورم شده دوباره وزن شدند (W_t) و درصد تورم پذیری با فرمول زیر محاسبه شد.

$$\text{تورم پذیری درصد} = [(W_t - W_0) / W_0] \times 100$$

رهایش داروی تریامسینولون از نانوالیاف با استفاده از روش غوطه‌وری بررسی شد. حدود ۵۰ میلی‌گرم از نانوالیاف در کیسه دیالیز (SERVA, MWC, ۱۲۰۰۰ Da) قرار گرفت و سپس ۲ میلی‌لیتر از بافر فسفات (PBS) ۰/۲ مولار به عنوان محلول دهنده به هر کیسه اضافه شد. کیسه در ۵۰ میلی‌لیتر از PBS به عنوان محیط گیرنده و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد بر روی همزن مغناطیسی قرار گرفت. در هر زمان مشخص، ۱ میلی‌لیتر از محیط گیرنده با همان حجم از بافر تازه جایگزین شد. غلظت نمونه‌ها در طول موج ۲۸۳ nm بررسی شد (۱۵).

تسهیل چشمگیری در فرایند تریامسینولون با تاثیر بر رونویسی DNA در هسته یا با اثر بر رسپتورهای غشایی مانند سایر گلوکوکورتیکوئیدها عمل می‌کند. این داروها با مهار آزادسازی فسفولیپیدها اثرات ضدالتهابی دارد. تریامسینولون جزو رده داروهای کورتیکواستروئید است که در اشکال مختلفی از جمله آمپول، پماد و اسپری تولید و تجویز می‌شود. تریامسینولون یک ترکیب گلوکوکورتیکوئید مصنوعی است که به دلیل آثار ضدالتهابی در بیماری‌های مختلفی مانند آگزما، آلرژی، لوپوس، پسوریازیس، آلوپسی، آسم و آرتريت خود ایمنی استفاده می‌شود (۱۰-۱۳). هدف این پژوهش، ساخت سیستم داروسازی موضعی از پلیمرهای زیست سازگار و زیست تخریب‌پذیر برای بررسی رهایش داروی ضدالتهاب تریامسینولون است.

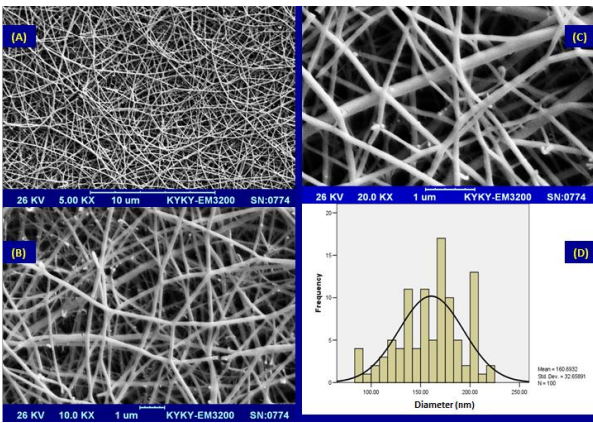
روش کار

در این تحقیق، ابتدا نانوالیاف از پلیمر کایتوزان/ژلاتین حاوی داروی تریامسینولون با روش الکترورسی تولید شد و سپس مهمترین پارامترهای موثر بر فرایند الکترورسی مانند غلظت پلیمر، نسبت دارو به پلیمر، نرخ تغذیه محلول، فاصله نازل تا کالکتور، ولتاژ و دما بررسی قرار گرفت. همچنین اثر این پارامترها بر قطر و مورفولوژی نانوالیاف ارزیابی گردید. خصوصیات سطحی نانوفیبرهای الکترورسی شده توسط SEM مورد ارزیابی قرار گرفت. در مرحله بعد جهت بررسی تطابق دارو و پلیمر و همچنین تداخلات احتمالی، آزمون FTIR و DSC گرفته شد. سپس با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر UV-vis میزان بارگیری دارو و رهایش دارو ارزیابی شد. در نهایت با مطالعه از زمان حل شدن نانوفیبرها خصوصیات حل شونده‌گی سریع آنها نیز بررسی شد. در این کار از کیتوسان، ژلاتین و استیک اسید ساخت شرکت Sigma Aldrich کشور آمریکا استفاده شد. همچنین پلی‌اتیلن اکساید با وزن مولکولی ۶۰۰KD از شرکت Across کشور آمریکا تهیه شد. تریامسینولون شرکت جابرابن حیان ساخت ایران مورد استفاده قرار گرفت. سایر مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده در این مطالعه با خلوص بالا و از شرکت مرک خریداری شده است. به منظور تهیه محلول اولیه قابل الکترورسی، سه محلول مختلف با درصد‌های متفاوت ژلاتین و کیتوسان شامل نسبت‌های (کیتوسان/ژلاتین): ۵۰/۵۰، ۷۰/۳۰، ۸۰/۲۰ درصد وزنی/وزنی تهیه شد. برای این منظور محلول اولیه‌ای شامل کیتوسان: پلی‌اتیلن اکساید: آب مقطر: استیک اسید با درصد ۱/۵۷: ۴/۲۳: ۱۵/۷: ۷۸/۴۹ تهیه گردید و سپس محلول به مدت ۲۴ ساعت با استفاده از همزن مغناطیسی شرکت DRAGON LAB، ساخت کشور چین مخلوط شد. محلول ۱۵ درصد وزنی- وزنی ژلاتین در آب مقطر مطابق با نسبت‌های گفته شده به محلول اولیه اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق توسط همزن مغناطیسی مخلوط شده تا

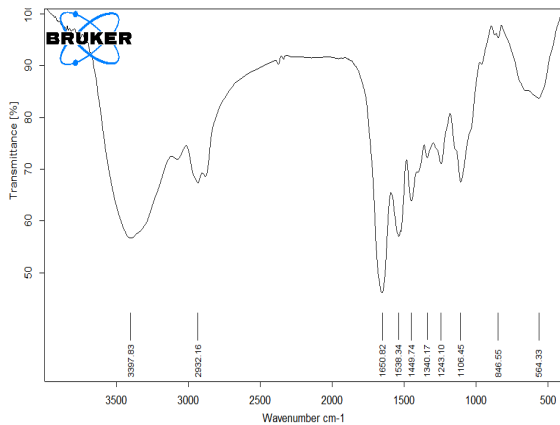
یافته‌ها

شکل ۱ تصاویر حاصل از نانوالیاف با میکروسکوپ نوری (شرکت EUROMEX ساخت کشور هلند) با بزرگنمایی $400\times$ را نشان می‌دهد. همانطور که به خوبی مشخص است با افزایش نسبت ژلاتین در محلول پلیمری اولیه، توانایی الکترویسپینگی بهبود می‌یابد. ترکیب کیتوسان و ژلاتین منجر به ساخت کمپلکس پلی‌الکترولیت از طریق برهمکنش و ایجاد پیوند هیدروژنی بین یون‌های آمونیوم ($+NH_3$) کیتوسان و یون‌های کربوکسیلات ($-COO^-$) ژلاتین می‌شود. این برهمکنش‌ها باعث تضعیف نیروهای سخت و محکم بین گروه‌های قابل یونیزه شدن در دو پلیمر می‌شود که به حلالیت بیشتر پلیمر کمک می‌کند و تسهیل چشمگیری در فرایند الکترویسپینگی کیتوسان مشاهده می‌شود (۷). در تمام نسبت‌ها با افزایش ولتاژ اعمالی از ۷ تا ۲۲ کیلوولت پس از ولتاژ بهینه شاهد کاهش تراکم الیاف تولید شده هستیم که ناشی از افزایش بار سطحی و دافعه حاصل از بار مثبت است. در نسبت‌های ۵۰/۵۰، ۷۰/۳۰ و ۸۰/۲۰ ژلاتین/کیتوسان به ترتیب ولتاژهای ۷، ۱۲، ۱۷ و ۲۲ کیلوولت به عنوان بهینه انتخاب شدند. در این میان نمونه با نسبت ۷۰/۳۰ کیتوسان به ژلاتین در ولتاژ ۱۷ کیلوولت برای ادامه بررسی‌ها انتخاب شد. نتایج نشان داد که کاهش غلظت پلیمر، شدت جریان محلول و همچنین افزایش ولتاژ اعمالی به محلول پلیمری تا میزان کافی، امکان دستیابی به نانوفیبرهایی با قطر کمتر را فراهم کرده است (شکل ۱). شکل ۲ تصاویر SEM از نمونه بهینه (ولتاژ ۱۷ کیلوولت) را قبل و بعد از اضافه کردن دارو نشان می‌دهد. پیش از افزایش دارو میانگین قطر الیاف برابر ۱۸۴ نانومتر است. با افزایش دارو به بافت نانوالیاف، شاهد افزایش میانگین قطر نانوالیاف به ۳۸۴ نانومتر هستیم. همچنین در تصاویر A و B شاهد مسطح شدن تقریبی الیاف هستیم که به هدایت الکتریکی محلول اولیه مرتبط است. در این حالت سطح عرضی الیاف از حالت دایره‌ای به حالت هذلولی تغییر می‌کند، به طوری که محیط آنها همانند جت تشکیل شده اولیه خواهد بود. همانطور که در تصویر SEM مشخص است، در بافت پلیمری شاهد پدیده تشکیل شبکه عنکبوتی هستیم (شکل ۲). پدیده تشکیل شبکه عنکبوتی معمولاً ناشی از یونیزاسیون محلول پلیمری است. با توجه به اینکه پس از افزودن دارو شاهد این پدیده هستیم می‌توان به افزایش یون‌های موجود در محلول در اثر افزودن دارو اشاره کرد. در واقع افزایش یون‌های موجود در محلول باعث ایجاد یون‌هایی با قطب‌های مثبت و منفی می‌شوند که در حین الکترویسپینگی به دلیل جابجایی ایجاد شده بین یون‌های موجود در هر تک لیف شاهد تشکیل الیاف ظریف‌تری با قطر بسیار کمتر در بین الیاف اصلی هستیم. در ساختار شیمیایی داروی تریامسینولون گروه‌های الکترون دهنده ($-OH$ ، $C=O$) و الکترون کشنده ($-H$) دیده می‌شود. همچنین دیده می‌شود که در

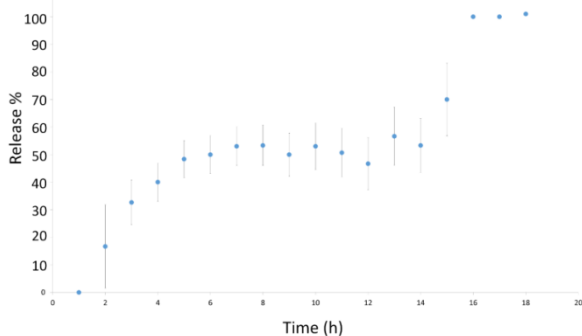
حین یونیزاسیون بار منفی به خود اختصاص می‌دهد. با توجه به تراکم بیشتر گروه‌های الکترون دهنده می‌توان انتظار داشت که پس از حل شدن دارو در محلول پلیمری با محیط استیک اسید (با توجه به اینکه استیک اسید حلالی با ثابت دی الکتریک ۲/۶ است و جز اسیدهای پروتون‌دار و آب دوست طبقه‌بندی می‌شود) باعث افزایش تراکم بار منفی شود (۱۶). شکل ۳ نتایج حاصل از اسپکتروسکوپی مادون قرمز نانوالیاف را نشان می‌دهد. گروه‌های آمین کیتوسان در محدوده $3500-3400\text{ cm}^{-1}$ جذب دارند که با جذب‌های گروه‌های OH در این ناحیه پوشانده می‌شود. همچنین در محدوده 3359 cm^{-1} نیز گروه‌های کربوکسیلک را نشان می‌دهد. در محدوده 2934 cm^{-1} و 2890 cm^{-1} گروه‌های ($-OH$)، ($-CH_2$)، و ($-CH_3$) را نشان می‌دهد. پیک دیده شده در محدوده 3294 cm^{-1} آمیدهای نوع دو ($C-N$ و $N-H$) را مشخص می‌کند. در ناحیه 1635 cm^{-1} یک شانه دیده می‌شود که مربوط به گروه‌های ($C=O$) است که نشان می‌دهد کیتوسان تا حدی دی‌استیل شده است. همچنین ممکن است در 1658 cm^{-1} گروه آمید ($C=O$) دیده شود. در 1563 cm^{-1} و 1414 cm^{-1} گروه‌های آلیفاتیک ($-H$ و $-OH$) مشخص شده‌اند. در محدوده جذبی cm^{-1} 1680 و 1630 نیز پیکی دیده می‌شود که مربوط به گروه $C=O$ است (۱۷). در محدوده جذبی 1550 cm^{-1} نیز پیکی مشخص است که می‌تواند نشان دهنده گروه‌های آلیفاتیک $-NH$ و $-OH$ موجود در ژلاتین باشد و یا شاید نشان دهنده یون‌های آمونیوم باشد. پس از ترکیب کیتوسان و ژلاتین، دو پیک در محدوده cm^{-1} 1680 و 1630 مربوط به $C=O$ کششی در گروه‌های آن-استیل و یک پیک در 1538 cm^{-1} مربوط به یون‌های آمونیوم است. نتایج حاکی از برهم کنش‌های پلی‌آیونی و پلی‌کاتیونی بین ژلاتین و کیتوسان است. چرا که به دلیل تشکیل پیوندهای هیدروژنی بین مولکول‌های کیتوسان و ژلاتین، در واقع پیوندهای هیدروژنی بین گروه‌های قابل یونیزه شدن از پلیمر خالص ایجاد می‌شود، به طوری که یونیزه شدن کمتر اتفاق می‌افتد (۱۴). (شکل ۳) پایداری نانو الیاف کراس لینک شده در محیط آبی بررسی شد. برای پایداری الیاف از اتمسفر اشباع از بخار گلوترآلدئید استفاده شد که شامل واکنش بین گروه‌های آمین آزاد لیزین یا هیدرولیز آمین اسید باقی مانده در زنجیره‌های پلی‌پپتیدی با گروه‌های آلدهید است. در طی کراس لینک شدن بافت الیاف سالم و دست نخورده باقی می‌ماند و نانوالیاف تقریباً زرد رنگ می‌شود و از نظر ابعاد تا حدودی کاهش اندازه دارد که ناشی از استقرار پیوندهای ایمیدی ($N=CH$) بین گروه‌های آمین آزاد پروتئین و گروه‌های آلدهیدی از گلوترآلدئید است. این ماده یکی از پر مصرف‌ترین مواد برای ایجاد ثبات در زمینه بیوپزشکی است. از دلایل آن می‌توان به قیمت پایین، در دسترس بودن، واکنش پذیری سریع و حلالیت در محلول‌های آبی اشاره کرد. گلوترآلدئید شامل



شکل ۲: تصاویر میکروسکوپ الکترونی نانوالیاف و نمودار توزیع قطر نانوفیبرها

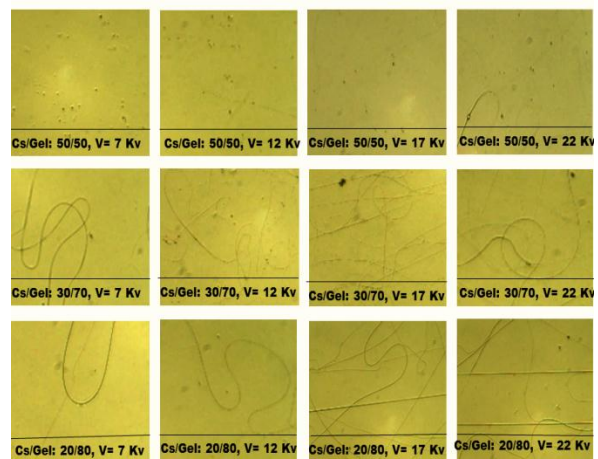


شکل ۳: طیف IR نانوالیاف بهینه حاوی دارو



شکل ۴: نمودار رهایش داروی تریامسینولون از نانوالیاف

دو گروه آلدئیدی فعال است که به کربن سوم زنجیره آلیفاتیک متصل می‌شود. در pH خنثی، گلوترآلدئید و مشتقات آن با آمین‌های اولیه واکنش می‌دهند. در صورتی که این آمین‌ها گروه‌های کناری یک پروتئین باشند کراس لینک اتفاق می‌افتد. علاوه بر آن گلوترآلدئید همچنین با گروه‌های کربوکسی و آمید در پروتئین‌ها واکنش می‌دهد. این واکنش‌ها مکان‌های فعالی برای تشکیل کراس لینک کننده‌های اولیه ایجاد می‌کنند. (۱۸) پس از کراس لینک شدن الیاف، پایداری بسیار مناسبی را در محیط‌های آبی از خود نشان می‌دهند. نتایج حاصل از بررسی تورم پذیری پس از ۵ بار تکرار نشان داد که لایه نانوالیاف دارای توانایی تورم پذیری میانگین ۳/۸۸ درصد می‌باشد. با قرار گرفتن نانوالیاف در محیط آبی که از نظر ترمودینامیکی سازگار هستند مولکول‌های آب به درون بافت پلیمری کیتوسان و ژلاتین نفوذ کرده و باعث تورم آن می‌شود، به طوری که رهایش دارو از بافت را تحت تاثیر قرار می‌دهد. البته میزان تورم پذیری به دلیل کراس لینک شدن کاهش یافت و آزادسازی دارو از بافت را تحت کنترل قرار داده است. بررسی‌های پایداری نانو الیاف در محیط آبی نشان داد پس از مدت ۳ روز نانوالیاف ساختار خود را به خوبی حفظ کرده‌اند. رهایش داروی تریامسینولون از بافت حاصل با روش غوطه‌وری کامل در بافر فسفات با pH بهینه ۷/۴ محاسبه شد. برای اطمینان از نتایج آزمایشات سه مرتبه تکرار شد. نتایج آن در شکل ۴ ارائه شده است. تقریباً ۷۰ درصد از دارو در یک ساعت ابتدایی از بافت نانو الیاف خارج شد. رهایش به مدت ۷۲ ساعت با شیب بسیار کمی به حدود ۹۰ درصد رسید. (شکل ۴)



شکل ۱: تصاویر میکروسکوپ نوری حاصل از نانوالیاف با باولتاژ و درصد مواد اولیه مختلف

بحث

افرادی با مشکل بلع بسیار مورد توجه قرار گرفته است. تریامسینولون بارگذاری شده در بافت نانوالیاف کیتوسان و در مدت ۹۰ دقیقه اولیه حدود ۸۰ درصد رهایش داشت همچنین رهایش به صورت کنترل شده تا مدت سه روز ادامه داشت. نتایج نشان داد با رهایش داور قطر نانو الیاف افزایش قابل توجهی دارد. نتایج FTIR هیچ برهمکنش ناخواسته‌ای از دارو و بافت پلیمری را گزارش نداد. این شکل تجویز دارو می‌تواند جایگزین مناسبی برای روش تزریقی متداول این دارو باشد. الکترویسپینگی یکی از فناوری‌های نسبتاً جدید است که به دلیل سهولت و انعطاف پذیری بالا وارد عرصه تولید صنعتی نیز شده است. لذا می‌توان انتظار تولیدی داروهای با خواص بهبود یافته را با این فناوری داشت.

قدردانی

از معاونت تحقیقات و فناوری دانشکده داروسازی و مرکز رشد دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند، کمال تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

ملاحظات اخلاقی

طرح ملاحظات اخلاقی شامل نمی‌شود.

منابع مالی

منابع مالی ندارد و هزینه‌ها توسط مولفان پرداخت شده است.

منافع متقابل

مولفان اظهار می‌نمایند که منافع متقابلی از تالیف یا انتشار این مقاله ندارند.

مشارکت مولفان

ل ب، پ م و همکاران طراحی، اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را به عهده داشتند. همچنین همه همکاران مقاله را تالیف نموده و نسخه نهایی آن را خوانده و تایید نموده‌اند.

باتوجه به نتایج مشاهده شد که در تمام نسبت‌ها با افزایش ولتاژ تراکم الیاف تولید شده کاهش یافت که ناشی از افزایش بار سطحی است. همچنین کاهش غلظت پلیمر، شدت جریان محلول و همچنین افزایش ولتاژ سبب ایجاد نانوفیبرهایی با قطر کمتر گردید. افزایش دارو به بافت نانوالیاف سبب افزایش میانگین قطر و مسطح شدن نانوالیاف گردید که ناشی از تغییر هدایت الکتریکی محلول اولیه است (۱۹). بعد از افزایش دارو شبکه عنکبوتی تشکیل شد این شبکه ناشی از یونیزاسیون محلول پلیمری است و می‌توان به افزایش یون‌های موجود در محلول در اثر افزودن دارو اشاره کرد. بعد از پایدارسازی الیاف در اتمسفر اشباع از بخار گلوترآلدید مشاهده شد که بعد کراس لینک شدن، بافت الیاف سالم و دست نخورده باقی مانده و نانوالیاف به رنگ زرد شده‌اند.

بعد از قرار گرفتن نانوالیاف در محیط آبی، مولکول‌های آب به درون بافت پلیمری کیتوسان و ژلاتین نفوذ کرده و باعث تورم آن شد و رهایش دارو از بافت را تحت تاثیر قرار داده استبا توجه به کراس لینک شدن نانوالیاف با گلوترآلدید تورم پذیری در نانوالیاف کراس لینک شده کاهش یافته است (۲۰).

سیستم دارورسانی پوستی به خوبی طراحی شده و از دلایل رهایش نسبتاً سریع می‌توان به ارتباط دارو و بافت پلیمری نانوالیاف اشاره کرد، به طوری که تریامسینولون با قرار گرفتن در محیط بافر بیشتر به صورت یون‌های منفی در آن پخش می‌شوند. به عبارت دیگر سریعاً با مولکول‌های آب موجود پیوند هیدروژنی برقرار می‌کند و از بافت الیاف خارج می‌شود. البته باید خاطر نشان کرد که چنین رهایشی می‌تواند دلیلی بر قرار گرفتن دارو در سطح نانوالیاف باشد، زیرا در فرآیند الکترویسپینگی و همزمان با تبخیر استیک اسید دو اتفاق دیده می‌شود:

جدایی فاز تریامسینولون از پلیمر که در آن تریامسینولون در امتداد مسیر تبخیر به سمت سطح فیبر برده می‌شود. مولکول‌های تریامسینولون مجاور به صورت ذرات بزرگتر تجمع پیدا می‌کنند.

نتیجه‌گیری

نانوالیاف مخاط چسب با مزایایی چون سرعت تخریب زیاد، خواص بهبود یافته انحلال، در بیماران به ویژه افراد پیر، کودکان یا

References

1. Kotyla T, Kuo F, Moolchandani V, Wilson T, Nicolosi R. Increased bioavailability of a transdermal application of a nano-sized emulsion preparation. *International journal of pharmaceutics* 2008; **347**(1-2): 144-148. doi: 10.1016/j.ijpharm.2007.06.045
2. Lu H, Oh H H, Kawazoe N, Yamagishi K, Chen G. PLLA-collagen and PLLA-gelatin hybrid scaffolds with funnel-like porous structure for skin tissue engineering. *Sci Technol Adv Mater* 2012; **13**(6): 064210. doi: 10.1088/1468-6996/13/6/064210

3. Jahangiri A, Davaran S, Fayyazi B, Tanhaei A, Payab S, Adibkia K. Application of electrospraying as a one-step method for the fabrication of triamcinolone acetonide-PLGA nanofibers and nanobeads. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 2014; **123**: 219-224. doi: 10.1016/j.colsurfb.2014.09.019.
4. Geng X, Kwon O-H, Jang J. Electrospinning of chitosan dissolved in concentrated acetic acid solution. *Biomaterials* 2005; **26**(27): 5427-5432. doi: 10.1016/j.biomaterials.2005.01.066
5. Subbiah T, Bhat G, Tock R, Parameswaran S, Ramkumar S. Electrospinning of nanofibers. *Journal of applied polymer science* 2005; **96**(2): 556-557. doi: 10.1002/app.21481
6. Righi Th M, Almeida R S, d'Ávila M A. Electrospinning of Gelatin/PEO Blends: Influence of Process Parameters in the Nanofiber Properties. *Macromolecular Symposia* 2012. Wiley Online Library. doi: 10.1002/masy.201100137.
7. Chong E J, Lim C T, Ramakrishna S, Phan T T, Lim I J. *Composite, Method of Producing the Composite and Uses of the Same*. Google Patents; 2009.
8. Gomes S, Rodrigues G, Martins G, Roberto M, Mafra M, Henriques C, et al. In vitro and in vivo evaluation of electrospun nanofibers of PCL, chitosan and gelatin: a comparative study. *Materials Science and Engineering: C* 2015; **46**: 348-358. doi: 10.1016/j.msec.2014.10.051
9. Haider S, Al-Masry W A, Bukhari N, Javid M. Preparation of the chitosan containing nanofibers by electrospinning chitosan-gelatin complexes. *Polymer Engineering & Science* 2010; **50**(9): 1887-1893. doi: 10.1002/pen.21721.
10. McAlindon T E, LaValley M P, Harvey W F, Price L L, Driban J B, Zhang M, et al. Effect of intra-articular triamcinolone vs saline on knee cartilage volume and pain in patients with knee osteoarthritis: a randomized clinical trial. *Jama* 2017; **317**(19): 1967-1975. doi: 10.1001/jama.2017.5283.
11. Akhgari A, Heshmati Z, Garekani H A, Sadeghi F, Sabbagh A, Makhmalzadeh B S, et al. Indomethacin electrospun nanofibers for colonic drug delivery: in vitro dissolution studies. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 2017; **152**: 29-35. doi: 10.1016/j.colsurfb.2016.12.035.
12. Conaghan P G, Hunter D J, Cohen S B, Kraus V B, Berenbaum F, Lieberman J R, et al. Effects of a Single Intra-Articular Injection of a Microsphere Formulation of Triamcinolone Acetonide on Knee Osteoarthritis Pain: A Double-Blinded, Randomized, Placebo-Controlled, Multinational Study. *The Journal of bone and joint surgery American volume* 2018; **100**(8): 666. doi: 10.2106/jbjs.17.00154.
13. Aslam S, Arshad M, Khizar M. Efficacy of Suprataral Injection of Triamcinolone Acetonide (Corticosteroid) for treating severe Vernal Keratoconjunctivitis (VKC) refractory to all Conventional Therapy. *Pakistan Journal of Medical & Health Sciences* 2017; **11**(2): 656-658.
14. Pant H R, Kim H J, Joshi M K, Pant B, Park C H, Kim J I, et al. One-step fabrication of multifunctional composite polyurethane spider-web-like nanofibrous membrane for water purification. *Journal of hazardous materials* 2014; **264**: 25-33. doi: 10.1016/j.jhazmat.2013.10.066.
15. Gu H, Ho P, Tong E, Wang L, Xu B. Presenting vancomycin on nanoparticles to enhance antimicrobial activities. *Nano letters* 2003; **3**(9): 1261-1263. doi: 10.1021/nl034396z.
16. Fullana M J, Wnek G E. Electrospun collagen and its applications in regenerative medicine. *Drug delivery and translational research* 2012; **2**(5): 313-322. doi: 10.1007/s13346-012-0087-x.
17. Min B-M, Lee S W, Lim J N, You Y, Lee T S, Kang P H, et al. Chitin and chitosan nanofibers: electrospinning of chitin and deacetylation of chitin nanofibers. *Polymer* 2004; **45**(21): 7137-7142. doi: 10.1016/j.polymer.2004.08.048
18. He Y, Liu X, Tang X. In vitro study of electrospun polycaprolactone/chitosan nano fiber membrane guided bone regeneration. *Shanghai kou qiang yi xue = Shanghai journal of stomatology* 2015; **24**(2): 129-134.
19. Bhattarai N, Edmondson D, Veisoh O, Matsen F A, Zhang M. Electrospun chitosan-based nanofibers and their cellular compatibility. *Biomaterials* 2005; **26**(31): 6176-6184. doi: 10.1016/j.biomaterials.2005.03.027.
20. Pakravan M, Heuzey M-C, Aiji A. Core-shell structured PEO-chitosan nanofibers by coaxial electrospinning. *Biomacromolecules* 2012; **13**(2): 412-421. doi: 10.1021/bm201444v.