

## بررسی رهائش داروهای ضد سرطان متوتروکسات و ۵-فلوئوروراسیل از ساختار چندلایه نانولیفی پلی کاپرولاکتون: کیتوسان

نازنین پورشریفی<sup>۱</sup>، داریوش سمنانی<sup>۱</sup>، پرهام سلطانی<sup>۱\*</sup> و سعید امانپور<sup>۲</sup>

۱- دانشکده مهندسی نساجی، دانشگاه صنعتی اصفهان، ایران، اصفهان ۸۳۱۱۱-۸۴۱۵۶

۲- دانشگاه علوم پزشکی تهران، مرکز تحقیقات سرطان، ایران، تهران ۵۳۷۶۱-۱۴۱۷۶

(دریافت مقاله: ۱۳۹۸/۲/۱۳- دریافت نسخه نهایی: ۱۳۹۸/۶/۳۱)

**چکیده-** در این پژوهش، ساختارهای هفت لایه نانولیفی از پلیمرهای پلی کاپرولاکتون: کیتوسان حاوی دو داروی ضدسرطان متوتروکسات و ۵-فلوئوروراسیل، به منظور رهائش کنترل شده دارو، تولید و ارزیابی شد. برای این منظور، لایه‌های دوم، چهارم و ششم حاوی دارو مابین لایه‌های فاقد دارو قرار گرفتند. مورفولوژی سطح و ساختار شیمیایی نانوالیاف فاقد دارو و حاوی دارو به ترتیب به کمک میکروسکوپ الکترونی روبشی و طیف‌سنجی مادون قرمز ارزیابی شد. نرخ رهائش دارو در محلول بافر فسفات سالین (pH=۷/۴) و غلظت داروی آزاد شده با استفاده از روش اسپکتروفتومتری محاسبه شد. خواص مکانیکی نمونه‌های تک و چندلایه نیز اندازه‌گیری شد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی تولید الیاف یکنواخت و بدون دانه را نشان داد. طیف مادون قرمز نمونه‌ها حضور دارو در مخلوط پلیمری بدون هیچ نوع برهم‌کنشی را تأیید کرد. نتایج حاکی از آن بود که با افزایش مقدار کیتوسان، ساختاری شکننده تشکیل شده و درصد ازدیاد طول کاهش می‌یابد. رهائش دو داروی متوتروکسات و ۵-فلوئوروراسیل در محیط خنثی به مدت ۲۶ روز بررسی شد و نتایج بیانگر یک رهائش آرام و پایدار بود.

واژه‌های کلیدی: رهائش دارو، نانوالیاف، پلی کاپرولاکتون، کیتوسان، ۵-فلوئوروراسیل، متوتروکسات

### Investigating the Release of Methotrexate and 5-Fluorouracil Anticancer Drugs from Multi-Layered Nanofiber Structure of Polycaprolactone/Chitosan

N. Poursharifi<sup>1</sup>, D. Semnani<sup>1</sup>, P. Soltani<sup>1\*</sup> and S. Amanpour<sup>2</sup>

1- Department of Textile Engineering, Isfahan University of Technology, Isfahan 84156-83111, Iran.

2- Cancer Biology Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran 14176-53761, Iran.

**Abstract:** In this study, seven-layer nanofiber structures consisting of polycaprolactone/ chitosan polymers loaded with methotrexate and 5-fluorouracil anti-cancer drugs, for controlled drug delivery, were produced and evaluated. For this purpose, the second, fourth and sixth layers were loaded with drug and placed between the drug-free layers. The surface morphology of

\* : مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: pa.soltani@cc.iut.ac.ir

*drug-free and drug-loaded nanofibers was investigated by scanning electron microscopy (SEM) and Fourier transform infrared spectrometry (FTIR) was used to study their chemical structure. The drug release rate in phosphate buffered saline (pH=7.4) and the released drug concentration were measured by spectrophotometry. Mechanical properties of single- and multi-layered samples were also investigated. SEM images showed formation of uniform and beadless fibers. FTIR spectrum confirmed presence of the drugs in the polymer mixture with no interaction. It was found that by increasing the chitosan content, a brittle structure with decreased elongation is formed. The release behavior of methotrexate and 5-Fluorouracil drugs in neutral pH environment for 26 days was evaluated and the results exhibited a slow and sustained release.*

**Keywords:** Drug delivery, Nanofibers, Polycaprolactone, Chitosan, 5-Fluorouracil, Methotrexate.

## ۱ - مقدمه

سامانه رهائش دارو، فرمولاسیون و ابزارری است که توانایی کنترل نرخ، زمان و محل رهائش دارو را داشته باشد [۱]. این سامانه یکی از حوزه‌هایی است که برای کمک به سلامتی انسان به سرعت در حال پیشرفت است. در این روش با قرار دادن مستقیم دارو در محل آسیب‌دیده، عوارض جانبی و مقدار داروی مصرفی کاهش می‌یابد. برای رهائش دارو می‌توان از حامل‌های مختلفی همچون نانوذرات [۲]، میسل [۳]، دندریمر [۴]، لیپوزوم [۵]، هیدروژل [۶] و نانوالیاف [۷] برای بارگذاری دارو استفاده کرد. در این میان ساختارهای نانولیفی به دلیل داشتن خصوصیتی از قبیل سطح مخصوص بالا، متخلخل بودن و انعطاف‌پذیری دارای کاربرد بیشتری هستند. در میان کلیه روش‌های تولید نانوالیاف، روش الکتروریسی به دلیل کنترل قطر نانوالیاف، مورفولوژی و تخلخل لایه نانولیفی نسبت به روش‌های دیگر ارجح است [۸].

پلیمرهای طبیعی و مصنوعی فراوانی در زمینه پزشکی از جمله رهائش دارو کاربرد دارند. در میان پلیمرهای طبیعی کیتوسان<sup>۱</sup> مشتقی از گلوکان با واحدهای تکرارشونده کیتین، دارای ساختار طبیعی شبیه سلولز است و پس از سلولز فراوان‌ترین پلیمر موجود در طبیعت به‌شمار می‌آید. منابع عمده تولید کیتوسان دیواره سلولی قارچ‌ها و پوست خارجی سخت پوستان، بی‌مهرگان دریایی، باکتری‌ها، گیاهان، جلبک‌ها، ساختار نرم تنان، مخمرها و حشرات است. کیتوسان دارای خواصی همچون زیست‌سازگاری، ضدباکتری، ضدویروس، غیرسمی بودن، عدم ایجاد حساسیت و قابلیت تشکیل فیلم است [۹]. همچنین در میان پلیمرهای مصنوعی،

پلی‌کاپرولاکتون<sup>۲</sup> یک پلی‌استر آلیفاتیک خطی است که زیست‌سازگاری، زیست‌تخریب‌پذیری، غیرسمی بودن، خواص مکانیکی مطلوب و قیمت پایین از ویژگی‌های این پلیمر محسوب می‌شود [۱۰].

امروزه از سامانه‌های پلیمری حاوی دارو برای رهائش انواع داروها برای بیماری‌های مختلفی استفاده می‌شود. یکی از مهم‌ترین بیماری‌های غیرواگیردار سرطان است که سالانه هزینه‌های سنگینی را به جامعه تحمیل می‌کند. روش‌های رایج برای درمان سرطان شامل جراحی، شیمی‌درمانی و پرتودرمانی است که با توجه به سطح پیشرفت بیماری ترکیب دو یا چند روش درمانی برای بهترین نتیجه توصیه می‌شود [۱۱]. برای درمان سرطان به روش شیمی‌درمانی از داروهای مختلف اعم از اگزالی پلاتین<sup>۳</sup>، ۵-فلوئوروراسیل<sup>۴</sup>، متوتروکسات<sup>۵</sup> و پاکلیتاکسل<sup>۶</sup> استفاده می‌شود. داروی ۵-فلوئوروراسیل با نام تجاری آدروسیل متعلق به گروهی از داروهای شناخته‌شده به‌عنوان آنتی‌بیوتیک‌ها است و جزء اولین داروهای ضدسرطان به‌شمار می‌آید. این دارو دارای خصوصیات آبدوستی است و همانند بسیاری از داروهای ضدویروسی، اغلب به‌صورت وریدی تزریق می‌شود. سرطان سینه، معده، پانکراس و روده بزرگ از جمله سرطان‌هایی هستند که با این دارو درمان می‌شوند. با این حال رسیدن غلظت دارو به بیشینه مقدار در روده به دلیل نیمه‌عمر کوتاه این دارو (۱۰ تا ۲۵ دقیقه) بسیار دشوار است [۱۲]. متوتروکسات با نام تجاری ترکسال<sup>۷</sup> یکی دیگر از داروهای ضدسرطان است که با رشد سلول‌های خاصی از بدن مانند سلول‌های سرطانی که در بدن تداخل ایجاد می‌کنند، مبارزه می‌کند. حلالیت پایین، نیمه‌عمر کوتاه در جریان

خون، انتشار سریع در داخل بدن و مقاومت دارویی توسط سلول‌های هدف از جمله مواردی است که شاخص درمانی این دارو را کاهش می‌دهند. متوتروکسات با عوارض جانبی متعدد و در برخی موارد تهدیدکننده حیات همراه است. عوارض گوارشی به‌طور شایع با متوتروکسات اتفاق می‌افتد و سمیت کلیوی ناشی از رسوب دارو ممکن است اتفاق بیفتد [۱۳].

تاکنون محققین متعددی از دو داروی متوتروکسات و ۵-فلوئوروراسیل در حامل‌های متفاوت به‌منظور درمان سرطان استفاده کردند. در سال ۲۰۱۵ میلادی، صدر ارحامی و همکاران [۱۴] ترکیب نانولیفی پلی‌اکریلونیتریل و آگار حاوی متوتروکسات را به‌منظور کنترل رهایش دارو برای درمان سرطان تهیه کردند. نتایج حاصل از بررسی پروفایل رهایش دارو حاکی از آن بود که با افزایش درصد دارو، نرخ رهایش افزایش می‌یابد و افزایش درصد پلیمر آگار به‌دلیل آبدوستی منجر به افزایش نرخ رهایش می‌شود. آنها بیان کردند که افزایش خاصیت آبدوستی منجر به تخریب سریع‌تر و آزاد شدن دارو با سرعت بالاتر می‌شود. در سال ۲۰۱۳ میلادی، گوپتا و همکاران [۱۵] با استفاده از روش الکترورسی سامانه نانولیفی هیبریدی پلی‌کاپرولاکتون و پلی‌لاکتید اسید حاوی داروی ۵-فلوئوروراسیل را تولید کردند. نتایج حاصل از بررسی پروفایل رهایش نشان داد که ساختار نانولیفی هیبریدی در مقایسه با ساختار نانولیفی خالص هریک از پلیمرها رهایش سریع‌تری داشته و توانسته برای مدت هشت روز دارو را به‌صورت تدریجی آزاد کند.

در دهه اخیر استفاده از سامانه‌های رهایش دارو با ساختار ساندویچی یا چندلایه توجه بسیاری از محققین را به‌خود جلب کرده است. ساختار چندلایه به‌علت محبوس کردن چند دارو و همچنین طولانی‌تر کردن مدت رهایش، می‌تواند نقش بسزایی در رهایش کنترل‌شده ایفا کند [۱۶-۱۸]. در سال ۲۰۱۷ میلادی، لاهها و همکاران [۱۷] از ساختار سه‌لایه ژلاتین برای دستیابی به رهایش کنترل‌شده و طولانی مدت داروی آبنگریز پایپیرین<sup>۸</sup> استفاده کردند. از پلیمر ژلاتین برای تولید هر سه‌لایه استفاده شد. لایه میانی حاوی درصد‌های متفاوتی از دارو بود و دو لایه مجاور در نقش مانع عمل می‌کردند. بررسی پروفایل رهایش حاکی از آن بود که با

افزایش ضخامت لایه مانع، میزان رهایش تهاجمی اولیه در طول پنج ساعت نخست کاهش می‌یافت؛ زیرا این لایه، مانع از حرکت و خروج سریع مولکول‌های دارو به‌سمت بیرون می‌شد. در سال ۲۰۱۸ میلادی، اکودا و همکاران [۱۸] با استفاده از روش الکترورسی پی‌درپی یک ساختار نانولیفی چهارلایه زیست‌تخریب‌پذیر حاوی دو داروی متفاوت را برای رهایش زمان‌بندی‌شده تولید کردند. در ساختار تولیدشده لایه‌های اول و سوم به‌عنوان لایه‌های حاوی دارو، لایه دوم به‌عنوان لایه مانع و لایه چهارم به‌عنوان لایه پایه در نظر گرفته شد. سرعت و مدت زمان رهایش دارو با تغییر عوامل ساختاری لایه همچون قطر الیاف و ضخامت لایه پلیمری کنترل شد. همچنین مدت زمان رهایش داروی دوم با طراحی مناسب ضخامت لایه مانع قابل کنترل است.

با این حال، همان‌گونه که تحقیقات فوق نشان داد آزادسازی دارو در مدت زمان‌های کوتاهی صورت گرفته و در ساختارهایی با تعداد سه‌لایه میزان رهایش تهاجمی اولیه همچنان زیاد است. در این مطالعه به‌منظور جلوگیری از رهایش تهاجمی، کنترل نرخ و مدت زمان رهایش از ساختارهای هفت‌لایه نانولیفی متشکل از ترکیب دو پلیمر زیست‌سازگار و زیست‌تخریب‌پذیر پلی‌کاپرولاکتون و کیتوسان استفاده شد. ترکیب دو پلیمر طبیعی و مصنوعی امکان بهره‌مندی از خواص منحصر به‌فرد هریک از دو پلیمر در ساختار نهایی را فراهم خواهد کرد. در این ساختار، سه لایه حاوی دارو است و دو لایه مابین لایه‌های حاوی دارو به‌عنوان لایه مانع عمل می‌کنند. لایه‌های ابتدایی و انتهایی نقش آب‌بند کردن ساختار را بر عهده دارند. به این منظور از دو داروی ضدسرطان ۵-فلوئوروراسیل و متوتروکسات برای بارگذاری در نانوالیاف و بررسی نرخ رهایش استفاده شد. علت استفاده از چنین ساختار ساندویچی، محبوس کردن دو داروی متداول برای درمان سرطان، طولانی‌تر کردن بازه زمانی رهایش و کاهش رهایش تهاجمی اولیه است. همچنین انتظار می‌رود دارویی که در وسط این ساختار ساندویچی بارگذاری شده رهایش تأخیری نسبت به داروی دیگر داشته باشد. بدین معنا که پس از گذشت یک بازه زمانی از رهایش داروی بارگذاری شده در لایه‌های بیرونی، داروی میانی آزاد شود.

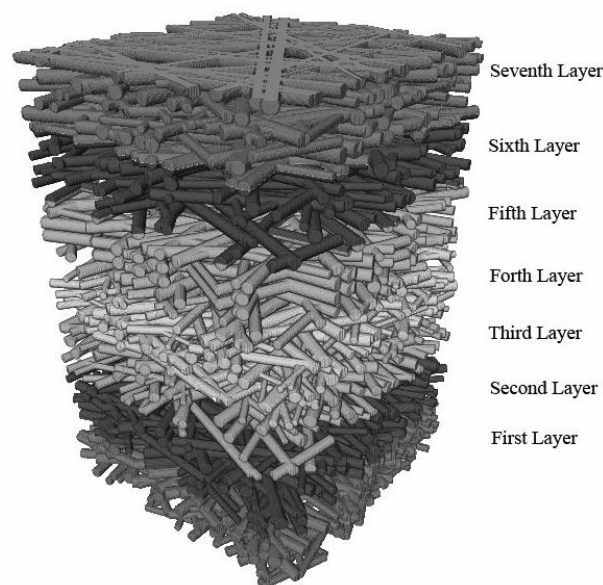
جدول ۱- مشخصات نمونه‌های نانولیفی هفت‌لایه فاقد دارو

نمونه فاقد دارو	لایه اول (PCL:CS)	لایه دوم (PCL:CS)	لایه سوم (PCL)	لایه چهارم (PCL:CS)	لایه پنجم (PCL)	لایه ششم (PCL:CS)	لایه هفتم (PCL:CS)
S <sub>1</sub>	۱:۲	۱:۱	۱۲ درصد	۱:۲	۱۲ درصد	۱:۱	۱:۲
S <sub>2</sub>	۱:۲	۱:۲	۱۲ درصد	۱:۱	۱۲ درصد	۱:۲	۱:۲

به مدت دو ساعت روی همزن مغناطیسی قرار داده شد. از اسید استیک و اسید فرمیک با نسبت ترکیب (۷:۳) به‌عنوان حلال استفاده شد. در نهایت محلول‌ها با نسبت (کیتوسان: پلی‌کاپرولاکتون) ۱:۱ و ۱:۲ به صورت حجمی/حجمی با یکدیگر ترکیب شدند. به منظور همگن سازی محلول‌ها برای انجام فرایند الکتروریسی، محلول‌های تهیه شده به مدت ۳۰ دقیقه روی استیرر با یکدیگر مخلوط شدند. مشخصات دو نمونه تولیدشده در جدول (۱) گزارش شده است. برای الکتروریسی هریک از لایه‌ها، ولتاژ ۱۵ کیلوولت، نرخ تغذیه ۰/۰۸ میلی‌لیتر بر ساعت و فاصله ۱۵ سانتی‌متر روی دستگاه تنظیم شد. برای تولید ساختار هفت‌لایه مطابق شکل (۱) جنس و ترکیب درصد در لایه اول و هفتم، لایه دوم و ششم و همچنین لایه سوم و پنجم به صورت زوجی یکسان در نظر گرفته شد. این مشخصات برای لایه چهارم در نمونه S<sub>1</sub> و S<sub>2</sub> به ترتیب ۱:۲ و ۱:۱ از کیتوسان: پلی‌کاپرولاکتون است. شکل نمادین ساختار نانولیفی در شکل (۱) نشان داده شده است.

### ۲-۳- تهیه نمونه‌های نانولیفی حاوی دارو

مخلوط کردن دارو با محلول پلیمری یک روش رایج ذخیره‌سازی دارو در نانوالیاف الکتروریسی شده است. برای تولید نمونه‌های حاوی دارو لایه‌های دوم، چهارم و ششم برای بارگذاری دارو انتخاب شد. همچنین در فاصله بین لایه‌های حاوی دارو (لایه‌های سوم و پنجم) به منظور ایجاد مانع و طولانی‌تر کردن مدت زمان رهایش، یک لایه نانولیفی از جنس پلی‌کاپرولاکتون با غلظت ۱۲ درصد وزنی/وزنی با شرایط ریسندگی ذکر شده به‌عنوان لایه مانع الکتروریسی شد. همچنین



شکل ۱- نمادین ساختار نمونه‌های هفت‌لایه

### ۲- مواد و روش تحقیق

#### ۲-۱- مواد

کیتوسان با وزن مولکولی متوسط و پلی‌کاپرولاکتون و متوتروکسات به ترتیب با وزن مولکولی ۸۰۰۰۰ و ۴۵۴/۴۴ دالتون از شرکت سیگما خریداری شد. ۵-فلوئوروراسیل با وزن مولکولی ۱۳۰/۰۸ دالتون و اسید فرمیک و اسید استیک با خلوص ۹۸-۱۰۰ درصد از شرکت مرک تهیه شد. همچنین محلول فسفات بافر سالین<sup>۹</sup> (pH=۷/۴) از شرکت سیتومتین‌ژن تأمین شد.

#### ۲-۲- تهیه نمونه‌های نانولیفی فاقد دارو

به منظور تولید نانوالیاف بدون دانه پلی‌کاپرولاکتون/کیتوسان، ابتدا محلول‌های پلیمری پلی‌کاپرولاکتون و کیتوسان به صورت مجزا و به ترتیب با غلظت ۱۲ و دو درصد وزنی/وزنی تهیه و

جدول ۲- مشخصات نمونه‌های نانولیفی هفت‌لایه حاوی دارو

نمونه حاوی دارو	لایه اول (PCL:CS)	لایه دوم (PCL:CS)	لایه سوم (PCL)	لایه چهارم (PCL:CS)	لایه پنجم (PCL)	لایه ششم (PCL:CS)	لایه هفتم (PCL:CS)
Sd <sub>1</sub>	۱:۲	۱:۱ (MTX)	۱۲ درصد	۱:۲ (5FU)	۱۲ درصد	۱:۱	۱:۲
Sd <sub>2</sub>	۱:۲	۱:۲ (5FU)	۱۲ درصد	۱:۱ (MTX)	۱۲ درصد	۱:۲	۱:۲

لایه اول و هفتم به منظور آب‌بندی ساختار حاوی دارو الکترورسی شدند. دارو در هر کدام از لایه‌ها به میزان یک درصد نسبت به وزن پلیمر بارگذاری شد. در نمونه Sd<sub>1</sub> داروی متوتروکسات در لایه‌های دوم و ششم و داروی ۵-فلوئوروراسیل در لایه چهارم قرار گرفت. همچنین در نمونه Sd<sub>2</sub> داروی ۵-فلوئوروراسیل در لایه‌های دوم و ششم و داروی متوتروکسات در لایه چهارم ذخیره شد. برای به دست آوردن نتیجه مطلوب در رهائش دارو، خواص شیمی فیزیکی پلیمرها و اثر متقابل آنها با مولکول دارو باید در نظر گرفته شود. به عبارت دیگر خواص آبدوستی و آبگریزی دارو و پلیمر می‌بایست هماهنگ باشد، به نحوی که داروهای آبدوست با پلیمرهای آبدوست و داروهای چربی‌دوست با پلیمرهای چربی‌دوست به منظور بارگذاری کامل دارو در پلیمر ترکیب شوند [۱۹]. لازم به ذکر است که داروی متوتروکسات و ۵-فلوئوروراسیل به ترتیب داروی آبگریز و آبدوست هستند. به همین دلیل داروی متوتروکسات در لایه با نسبت ترکیب ۱:۱ به علت دارا بودن درصد بیشتری از پلی‌کاپرولاکتون (پلیمر آبگریز) و داروی ۵-فلوئوروراسیل در لایه با نسبت ترکیب ۱:۲ به علت بالا بودن درصد کیتوسان (پلیمر آبدوست) قرار گرفت. جدول (۲) مشخصات دو نمونه تولیدشده حاوی دارو را نشان می‌دهد.

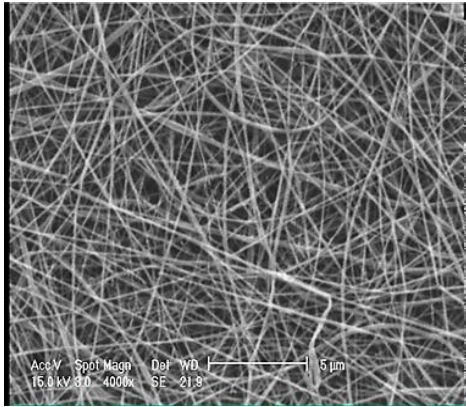
#### ۲-۴- اندازه‌گیری‌ها

تصاویر میکروسکوپی الکترونی روشی<sup>۱</sup> با استفاده از دستگاه (SEM, HITACHI S-4160) تهیه شد. برای بررسی مورفولوژی سطحی نمونه‌های هفت‌لایه، از هر لایه به صورت جداگانه تصویربرداری صورت گرفت. همچنین برای بررسی

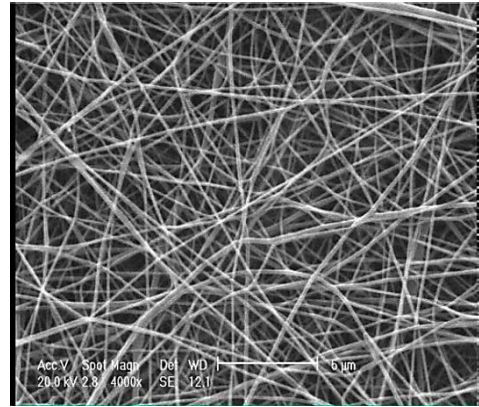
ساختار هفت‌لایه در راستای ضخامت، پس از مقطع‌زنی با نیتروژن مایع تصویربرداری از سطح مقطع عرضی انجام گرفت. به منظور اندازه‌گیری قطر نانوالیاف از نرم‌افزار دیجی‌مایزر استفاده شد. طیف مادون قرمز با تبدیل فوریه<sup>۱۱</sup> تمامی نمونه‌ها (پلیمرها، داروها و ترکیب دارو با پلیمر) در محدوده (۴۰۰۰-۴۰۰ بر سانتی‌متر) با دستگاه طیف‌سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریه (BOMEM-MB100) (FTIR) تهیه شد. همچنین استحکام کششی ساختارهای نانولیفی در راستای طولی به ابعاد ۵×۲۰ میلی‌متر با نیروی ۲۰ نیوتن و سرعت ۱۰ میلی‌متر بر دقیقه با استفاده از دستگاه ZWICK 1446-60 مورد آزمایش قرار گرفت. به منظور تعیین پروفایل رهائش دارو، پس از قرارگیری نمونه‌های حاوی دارو در غشای دیالیز حاوی ۱۰ میلی‌لیتر فسفات بافر سالین درب آنها با پارافیلیم بسته شد و سپس در ظرف‌های حاوی ۴۰ میلی‌لیتر محلول فسفات بافر سالین (pH=۷/۴) قرار داده شد. در نهایت رهائش دارو با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر<sup>۱۲</sup> (Shimadzu, UV mini 1240) اندازه‌گیری شد. به منظور محاسبه غلظت داروی آزاد شده پس از رسم منحنی‌های کالیبراسیون برای هر یک از داروها با استفاده از رابطه (۱)، در بازه‌های زمانی مختلف تا ۲۶ روز پروفایل رهائش دارو مورد بررسی قرار گرفت:

$$\text{درصد داروی آزاد شده} = \left( \frac{A}{B \times C \times D} \right) \times 100$$

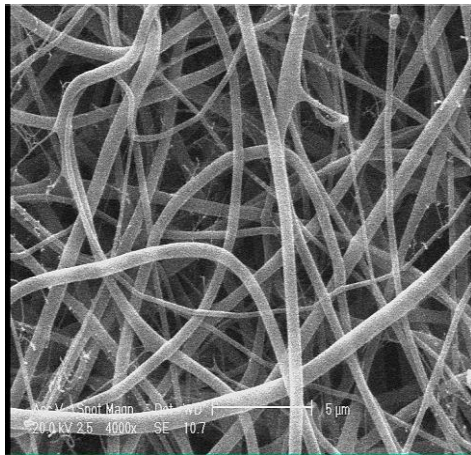
در این رابطه A مقدار داروی آزاد شده در محیط رهائش برحسب گرم، B درصد بارگذاری دارو، C درصد داروی اضافه‌شده و D وزن اولیه سامانه نانولیفی برحسب گرم است.



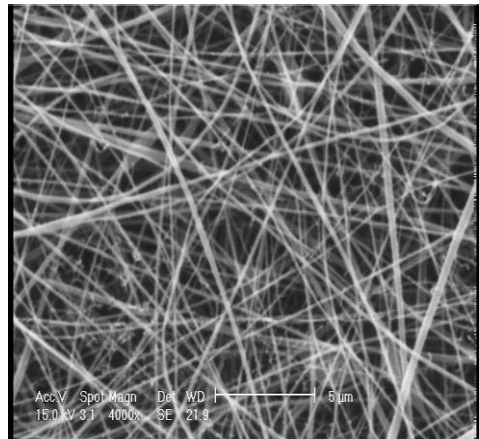
پ (ب) PCL:CS 1:1



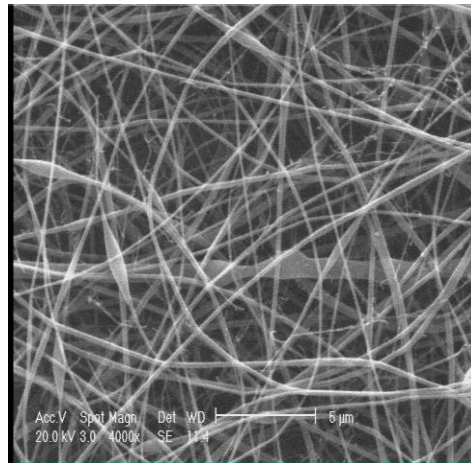
الف (الف) Pure PCL



د (د) PCL:CS 1:1+1% 5FU



ج (ج) PCL:CS 1:2



ه (ه) PCL:CS 1:1+1% MTX

شکل ۲- تصاویر میکروسکوپی الکترونی روبشی نمونه‌های تک‌لایه نانولیفی: الف) Pure PCL، ب) PCL:CS 1:1، ج) PCL:CS 1:2.

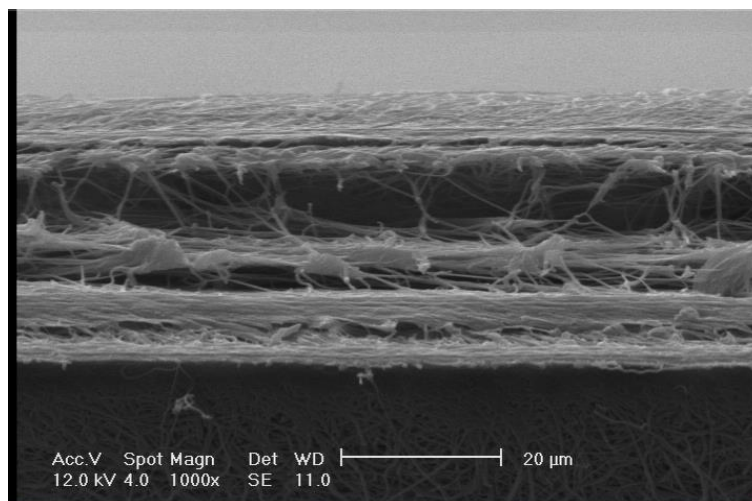
د) PCL:CS 1:1+1% 5FU، ه) PCL:CS 1:1+1% MTX.

### ۳- بحث و نتایج

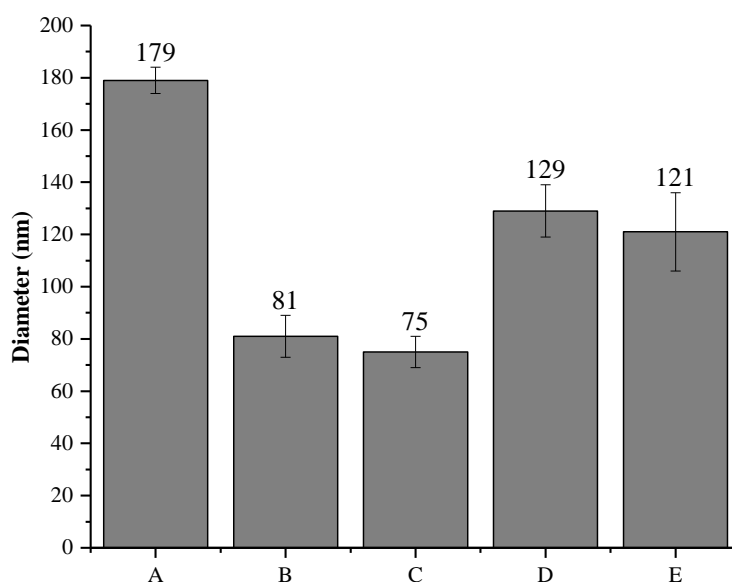
#### ۳-۱- بررسی مورفولوژی نانوالیاف

برای بررسی مورفولوژی نانوالیاف فاقد دارو، نانوالیاف حاوی

دارو و همچنین سطح مقطع عرضی ساختار هفت‌لایه تصاویر میکروسکوپی الکترونی روبشی تهیه شد. تصاویر در شکل‌های (۲ و ۳) قابل مشاهده است. همچنین نتایج اندازه‌گیری قطر



شکل ۳- تصویر سطح مقطع عرضی نمونه نانولیفی هفت لایه



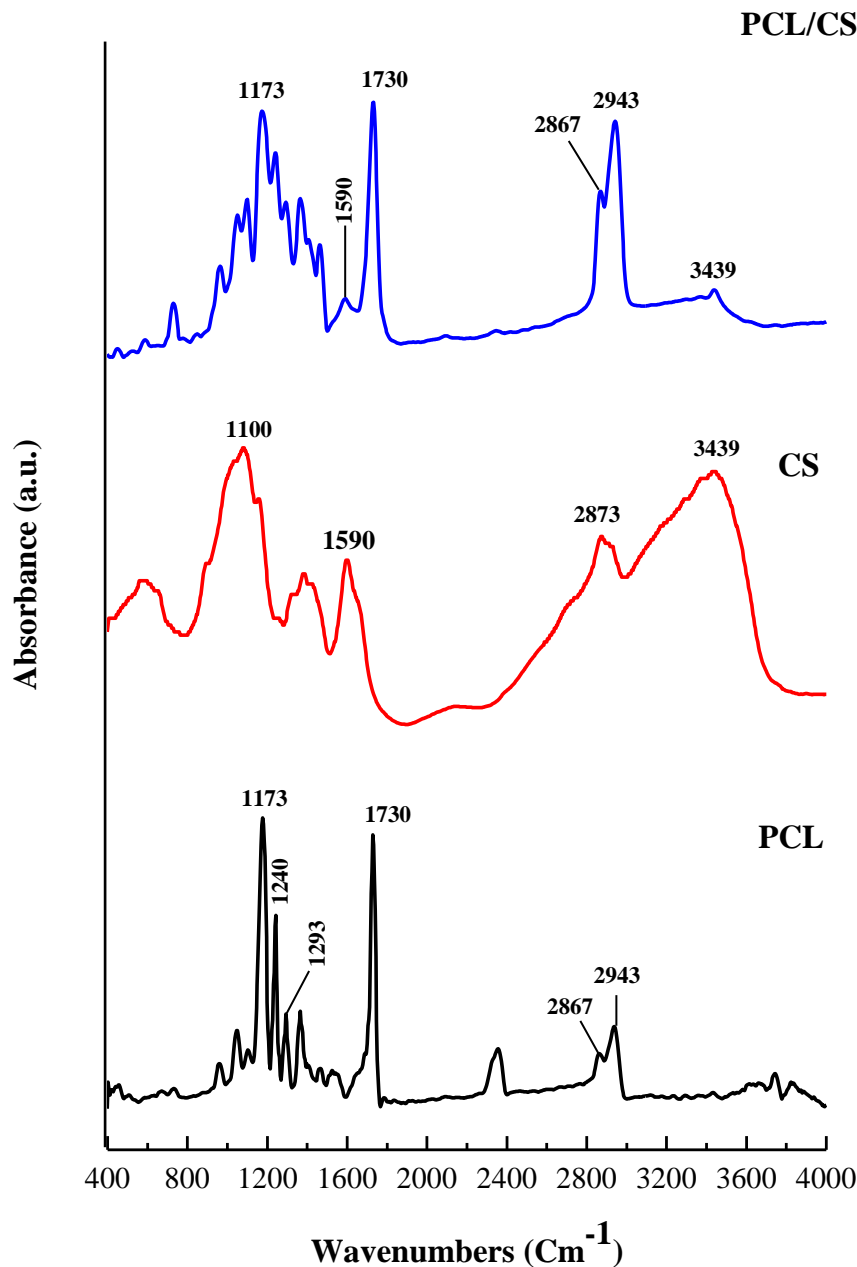
شکل ۴- قطر نانولیف

افزایش گرانشی محلول، برای حصول نانولیف با قطر کمتر باید شرایط الکترورسی به گونه‌ای باشد که جت پلیمری در میدان بیشتر مورد کشش قرار داده شود؛ اما از آنجایی که همه شرایط الکترورسی ثابت است و فقط گرانشی افزایش پیدا کرده است، قطر الیف افزایش می‌یابد.

### ۳-۲- بررسی طیف مادون قرمز

در شکل (۵) طیف مادون قرمز پلی‌کاپرولاکتون، کیتوسان و ترکیب پلی‌کاپرولاکتون: کیتوسان قابل مشاهده است. در طیف

الیف در شکل (۴) گزارش شده است. همان‌گونه که در شکل‌های (۲ و ۴) مشاهده می‌شود، با افزایش درصد کیتوسان قطر الیف کاهش می‌یابد. با افزایش درصد این پلیمر در محلول، هدایت الکتریکی افزایش پیدا کرده و در نتیجه بار الکتریکی در سطح جت پلیمری افزایش می‌یابد. بنابراین الیف در میدان الکتریکی کشش بیشتری متحمل می‌شوند و در نتیجه قطر الیف کاهش می‌یابد [۲۰]. نتایج نشان می‌دهند که در نمونه‌های پلی‌کاپرولاکتون خالص با افزایش غلظت محلول، قطر الیف افزایش می‌یابد که به دلیل افزایش گرانشی محلول در اثر افزایش غلظت محلول است. با

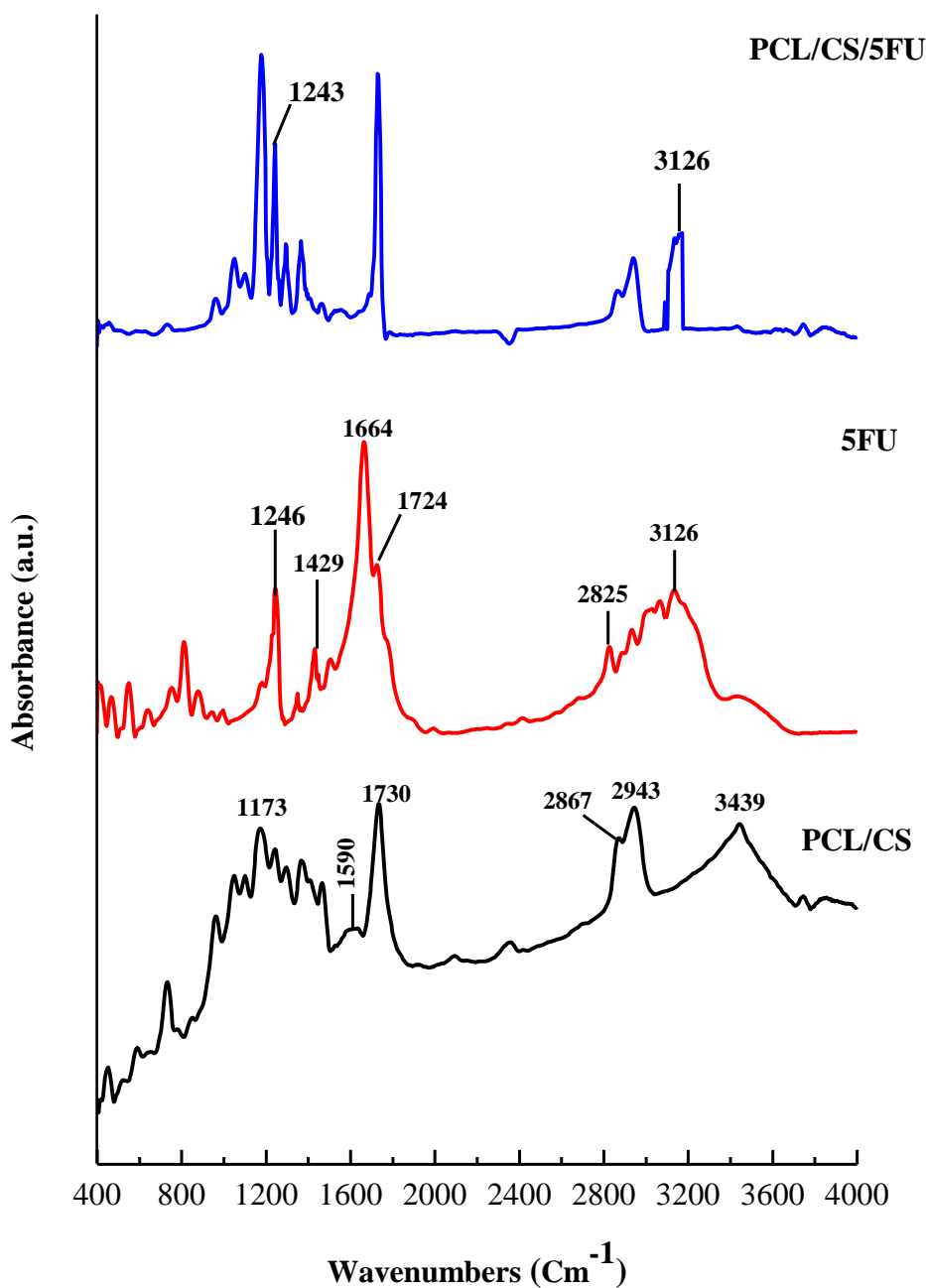


شکل ۵- طیف مادون قرمز پلی کاپرولاکتون، کیتوسان و پلی کاپرولاکتون: کیتوسان

C-O است که با پیوند دوگانه C=O در گروه عاملی استری متصل شده است. در طیف مربوط به پلیمر کیتوسان، پیک قوی و وسیع ۳۴۳۹ بر سانتی متر مربوط به ارتعاشات کششی پیوند O-H و N-H است. پیک ۱۵۹۰ بر سانتی متر به ارتعاش خمشی گروه N-H امید نوع دوم اشاره دارد. پیک در عدد موجی ۲۸۷۳ بر سانتی متر مربوط به کشش C-H و پیک موجود در ناحیه ۱۱۰۰ بر سانتی متر مربوط به کشش گروه‌های C-N و

پلی کاپرولاکتون عدد موجی ۱۷۳۰ بر سانتی متر مربوط به پیوند قوی گروه کربونیل (C=O) است. باند کششی متقارن و نامتقارن گروه CH<sub>2</sub> به ترتیب در عدد موجی‌های ۲۸۶۷ و ۲۹۴۳ بر سانتی متر قرار گرفته‌اند. پیک در عدد موجی ۱۲۹۳ بر سانتی متر مربوط به کشش نامتقارن C-C است. کشش نامتقارن C-O-C در عدد موجی ۱۲۴۰ بر سانتی متر ظاهر شده است. همچنین پیک ظاهر شده در عدد موجی ۱۱۷۳ بر سانتی متر مربوط به پیوند یگانه





شکل ۶- طیف مادون قرمز پلی کاپرولاکتون: کیتوسان، ۵- فلوئوروراسیل، پلی کاپرولاکتون: کیتوسان / ۵- فلوئوروراسیل

گروه عاملی استر موجود در پلی کاپرولاکتون دارد همچنین پیک موجود در ناحیه ۲۹۴۳ و ۲۸۶۷ بر سانتی متر مربوط به کشش متقارن و نامتقارن گروه  $\text{CH}_2$  است [۲۱ و ۲۲]. همچنین طیف مربوط به ترکیب این دو پلیمر هیچ برهم کنشی را نشان نمی دهد. شکل (۶) طیف مادون قرمز داروی ۵- فلوئوروراسیل و ترکیب این دارو با دو پلیمر پلی کاپرولاکتون و کیتوسان را

در طیف مربوط به ترکیب پلیمرهای کیتوسان و پلی کاپرولاکتون، پیک موجود در عددهای موجی ۳۴۳۹ و ۱۵۹۰ بر سانتی متر نشان دهنده حضور گروه N-H است که تأییدکننده حضور کیتوسان است. همچنین پیک قوی در عدد موجی ۱۷۳۰ بر سانتی متر و پیک متوسط در ناحیه ۱۱۷۳ بر سانتی متر به ترتیب مربوط به پیوند دوگانه  $\text{C}=\text{O}$  و پیوند یگانه C-O است که اشاره به

جدول ۴- استحکام کششی نمونه‌های نانولیفی تک‌لایه و هفت‌لایه

نمونه	تنش (مگاپاسکال)	کرنش (درصد)	مدول (مگاپاسکال)
A	۹/۲۲±۳/۲۱	۱۴۸/۶۸±۱۱/۵۲	۳۰/۷۸±۵/۲۵
B	۶/۱۵±۱/۳۴	۲۶/۵۰±۹/۸۹	۴۴/۶۰±۶/۶۹
C	۶/۲۶±۱/۹۵	۱۶/۱۰±۱۰/۵۵	۵۵/۵۴±۳/۵۱
S <sub>1</sub>	۵/۸۰±۱/۸۵	۳۱/۹۹±۶/۹۵	۲۹/۷۱±۴/۶۳
S <sub>2</sub>	۵/۳۲±۴/۰۱	۳۰/۵۱±۸/۶۶	۳۰/۰۱±۶/۵۲

محدوده عدد موجی ۱۲۶۰-۱۰۳۴ بر سانتی‌متر پیک‌هایی ایجاد کرده است. همچنین پیک موجود در عدد موجی ۳۵۲۸ بر سانتی‌متر مربوط به ارتعاشات کششی و خمشی باند O-H است [۱۴]. در طیف مربوط به دو پلیمر پلی‌کاپرولاکتون: کیتوسان و داروی متوتروکسات، پیک موجود در عدد موجی ۱۱۷۲ بر سانتی‌متر مربوط به گروه C-O و پیک در عدد موجی ۱۷۳۴ بر سانتی‌متر مربوط به گروه کربونیل است که هر دو اشاره به حضور پلی‌کاپرولاکتون در نمونه دارند. همچنین کشش متقارن و نامتقارن CH<sub>2</sub> در عدددهای موجی ۲۸۶۷ و ۲۹۴۳ بر سانتی‌متر ظاهر شده است. پیک جذبی در عدد موجی ۳۴۳۸ بر سانتی‌متر مربوط به همپوشانی گروه N-H و O-H است که در کیتوسان و متوتروکسات قرار دارد. علاوه بر این در ناحیه ۱۵۹۰ بر سانتی‌متر پیک جذبی مشاهده شده که مربوط به گروه N-H است و در هر دو ماده کیتوسان و متوتروکسات قرار دارد. به عبارتی حضور داروی متوتروکسات در نمونه فوق اثبات شده و برهم‌کشش و یا شیفیت پیک مبنی بر پیوند بین دارو و پلیمرها مشاهده نشد.

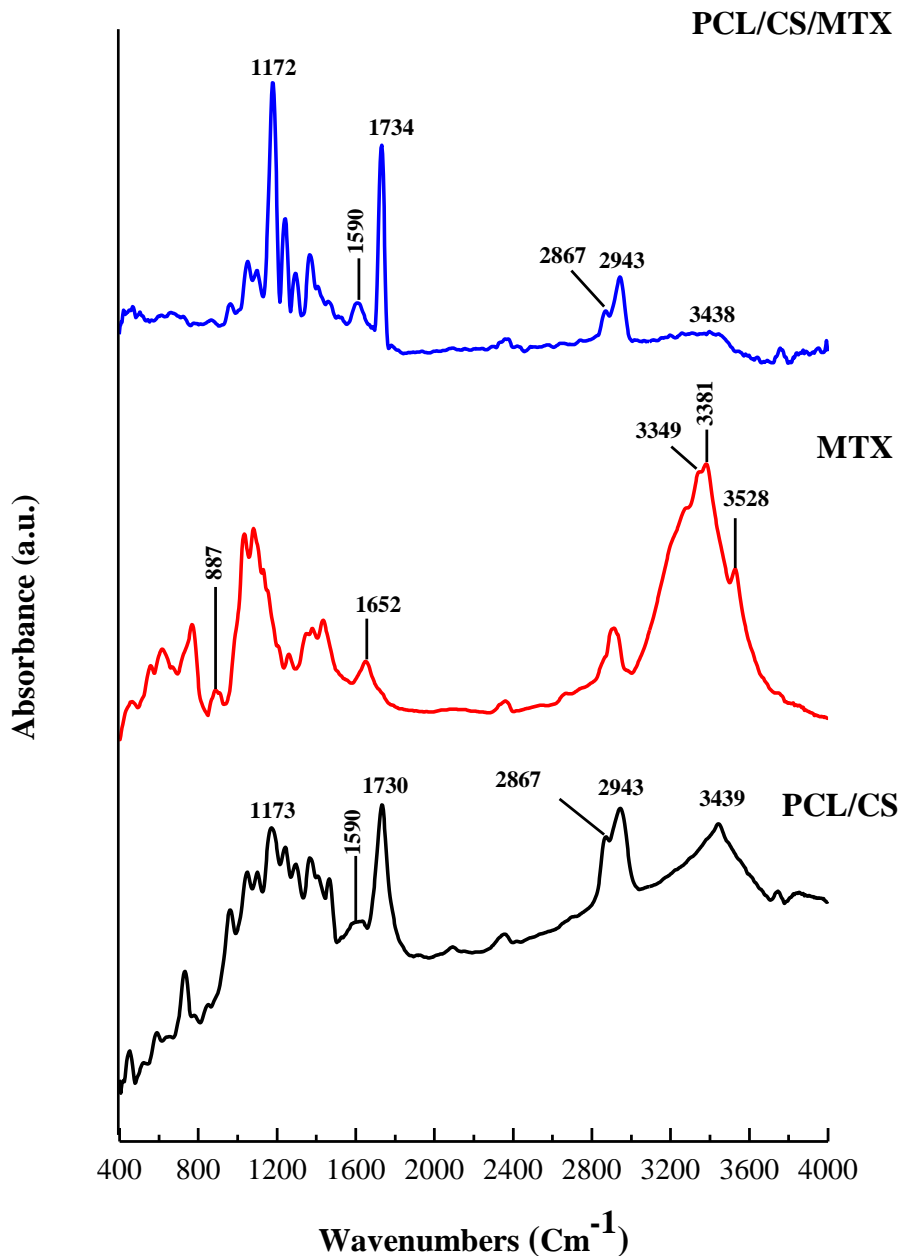
### ۳-۳- بررسی استحکام کششی

ساختارهای نانولیفی برای ارائه عملکرد مناسب خود در طول درمان برای قرارگیری در داخل محیط‌های مهاجم بدن باید دارای استحکام مطلوبی بوده تا دچار فروپاشی نشوند. از این رو استحکام کششی نمونه‌های نانولیفی تولیدی مورد بررسی قرار گرفت. داده‌های مربوط به نمونه‌های هفت‌لایه و تک‌لایه در جدول (۴) ارائه شده است. همچنین نمودار تنش-کرنش نمونه‌ها در شکل (۸) قابل مشاهده است. حضور گروه‌های

نشان می‌دهد. طیف مربوط به داروی خالص ۵-فلوئوروراسیل در عدددهای موجی ۱۶۶۴ و ۱۷۲۴ بر سانتی‌متر مربوط به ارتعاش ساختاری و همپوشانی گروه‌های C=O و C=C است. پیوند C-F و C-N که وجه تمایز اصلی دارو با این دو پلیمر است، در عدد موجی ۱۴۲۹ و ۱۲۴۶ بر سانتی‌متر ظاهر شده است. همچنین پیک موجود در عدد موجی ۲۸۲۵ و ۳۱۲۶ بر سانتی‌متر مربوط به حلقه آروماتیک C-H= و ارتعاش کششی NH<sub>2</sub> است. [۲۳]. در طیف ترکیب داروی ۵-فلوئوروراسیل در نانو الیاف پلی‌کاپرولاکتون / کیتوسان پیک ظاهر شده در عدد موجی ۱۲۴۳ و ۳۱۳۶ بر سانتی‌متر تأیید کننده حضور دارو در نانو الیاف است. دو پیک قوی در عدددهای موجی ۱۷۲۴ و ۱۱۷۷ بر سانتی‌متر مربوط به گروه C=O و C-O است که نشان‌دهنده گروه عاملی استر و نشان از تأیید حضور پلی‌کاپرولاکتون در نمونه دارد.

همچنین پیک موجود در ناحیه‌های ۲۸۶۵ و ۲۹۴۰ بر سانتی‌متر مربوط به کشش متقارن و نامتقارن گروه CH<sub>2</sub> است. پیک در عدد موجی ۳۴۳۱ بر سانتی‌متر مربوط به کشش N-H است. همچنین پیک جدید و یا شیفیت پیک به معنای ایجاد برهم‌کشش بین دارو و پلیمرها مشاهده نشد.

طیف داروی متوتروکسات و نانوالیاف پلی‌کاپرولاکتون: کیتوسان حاوی داروی متوتروکسات در شکل (۷) قابل مشاهده است. در طیف مربوط به داروی خالص متوتروکسات پیک موجود در ناحیه ۸۸۷ بر سانتی‌متر مربوط به خمش آروماتیک پیوند C-H در حلقه بنزن و پیک موجود در ناحیه ۱۶۵۲ بر سانتی‌متر مربوط به پیک شاخص آمیدی است. جفت پیک آمین در عدددهای موجی ۳۳۴۹ و ۳۳۸۱ بر سانتی‌متر قابل مشاهده است. پیوند C-N در



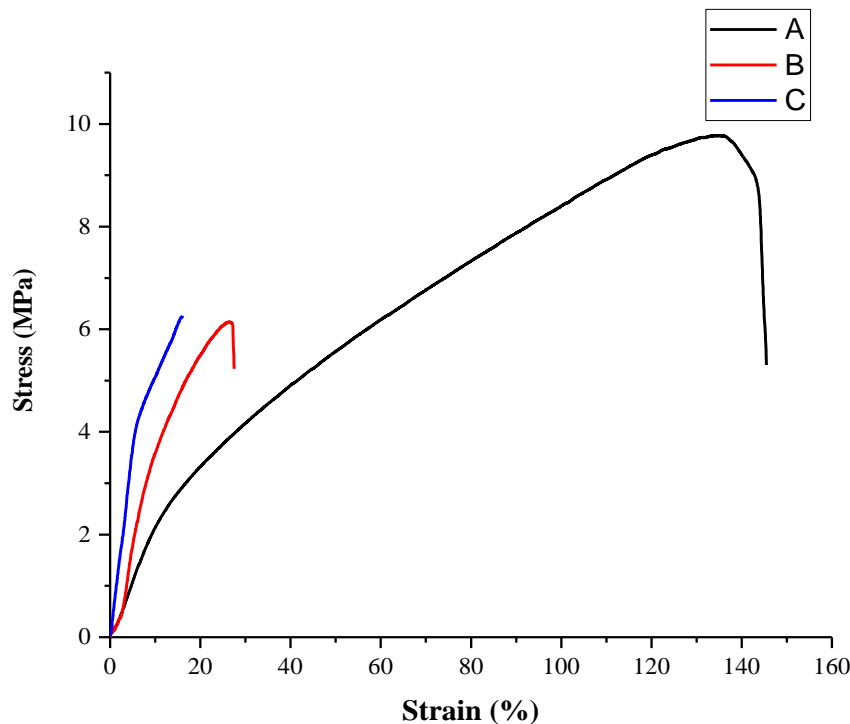
شکل ۷- طیف مادون قرمز پلی کاپرولاکتون: کیتوسان، متوتروکسات، پلی کاپرولاکتون: کیتوسان/ متوتروکسات

تک‌لایه، استحکام کششی ساختارهای هفت‌لایه نیز مورد بررسی قرار گرفتند.

### ۳-۴- بررسی نرخ رهایش دارو

در این تحقیق برای تعیین غلظت داروی آزاد شده در محیط رهایش در زمان معین، از روش اسپکتروفتومتری جذبی در ناحیه مادون قرمز استفاده شد. لازمه استفاده از این روش وجود رابطه

هیدروکسیل روی زنجیره پلیمری کیتوسان باعث ایجاد پیوند هیدروژنی بین زنجیره‌های پلیمری شده و به همین دلیل مدول نمونه‌ها افزایش یافته است. همچنین با افزایش درصد کیتوسان، ساختار ترد و شکننده شده که این مسئله باعث کاهش کرنش شده است [۲۴]. هر واحد پلیمر کاپرولاکتون از پنج گروه متیل تشکیل شده، از این رو انعطاف‌پذیری و ازدیاد طول نمونه‌های پلی‌کاپرولاکتون خالص بالاتر است [۲۵]. علاوه بر نمونه‌های

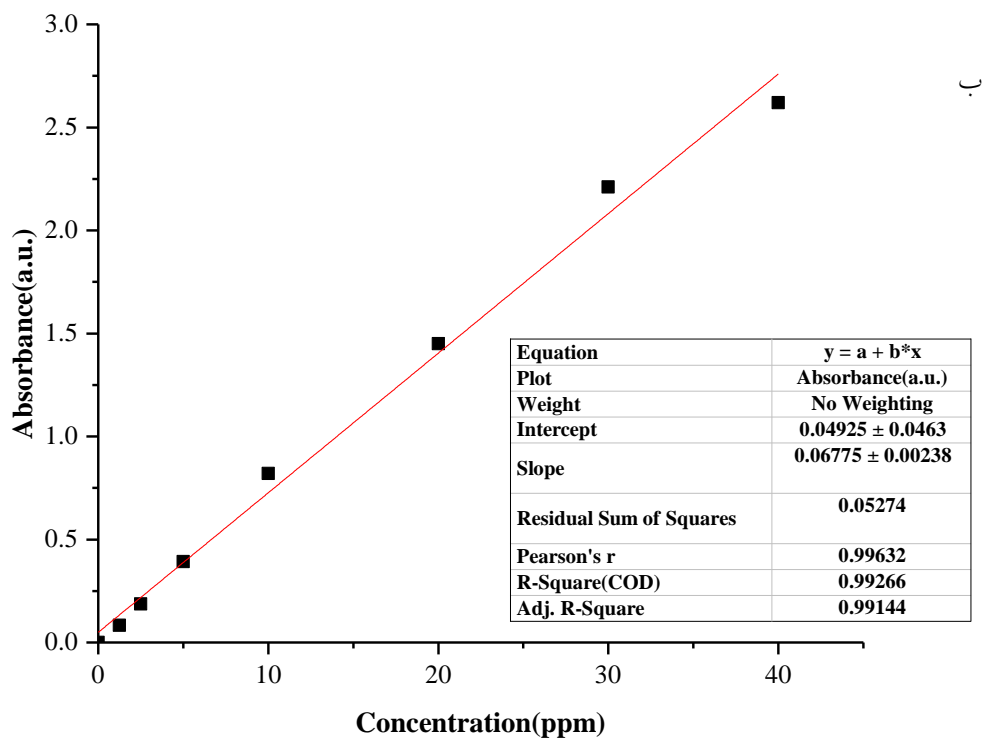
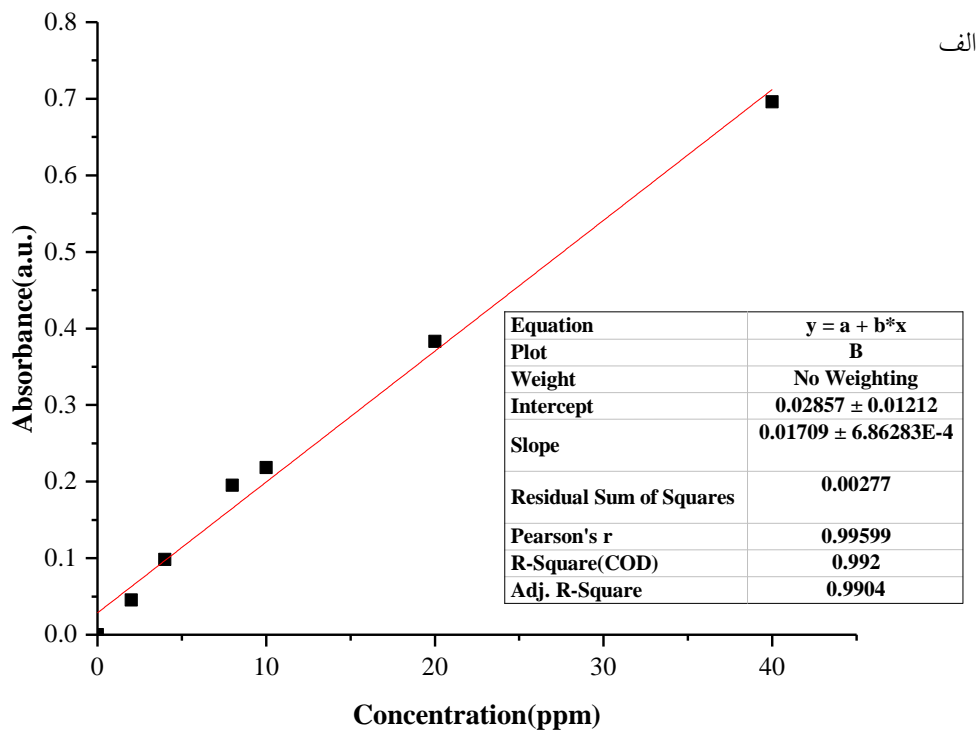


شکل ۸- نمودار تنش - کرنش نمونه‌های نانولیفی (رنگی در نسخه الکترونیکی)

در نمونه  $Sd_1$ ، لایه چهارم و در نمونه  $Sd_2$ ، لایه‌های دوم و ششم حاوی یک درصد داروی ۵- فلئوروراسیل است. به عبارت دیگر مقدار داروی ۵- فلئوروراسیل در نمونه  $Sd_2$  دو برابر نمونه  $Sd_1$  است. هدف از قرارگیری این داروها به عنوان داروی خارجی (بارگذاری شده در لایه دوم و ششم) و داروی میانی (بارگذاری شده در لایه چهارم) در نمونه‌های  $Sd_1$  و  $Sd_2$ ، آزادسازی دارو به صورت زمان‌بندی شده است. بدین معنا که براساس نوع بیماری و نظر پزشک ابتدا داروی متوتروکسات و یا داروی ۵- فلئوروراسیل رها شود.

همان‌طور که در شکل (۱۰- الف) مشاهده می‌شود، میزان رهایش تهاجمی اولیه در دو ساعت اول رهایش، برای نمونه‌های  $Sd_1$  و  $Sd_2$  به ترتیب ۱۲/۵ درصد و ۷/۲۵ درصد است. در نمونه  $Sd_2$  با قرارگیری داروی متوتروکسات در لایه میانی (لایه چهارم) میزان رهایش تهاجمی اولیه کاهش پیدا کرده که این امر می‌تواند به علت حضور لایه‌های مانع باشد. همچنین پس از ۶۲۴ ساعت مقدار رهایش برای نمونه‌های  $Sd_1$  و  $Sd_2$  به ترتیب برابر ۲۴/۹۵ درصد و ۲۰/۹۹ درصد است.

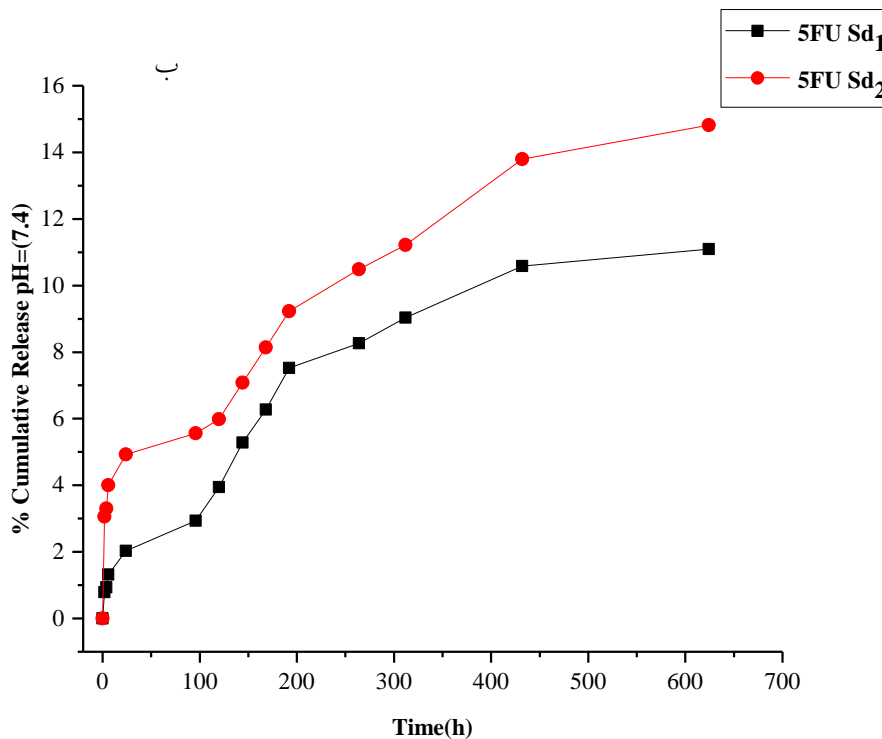
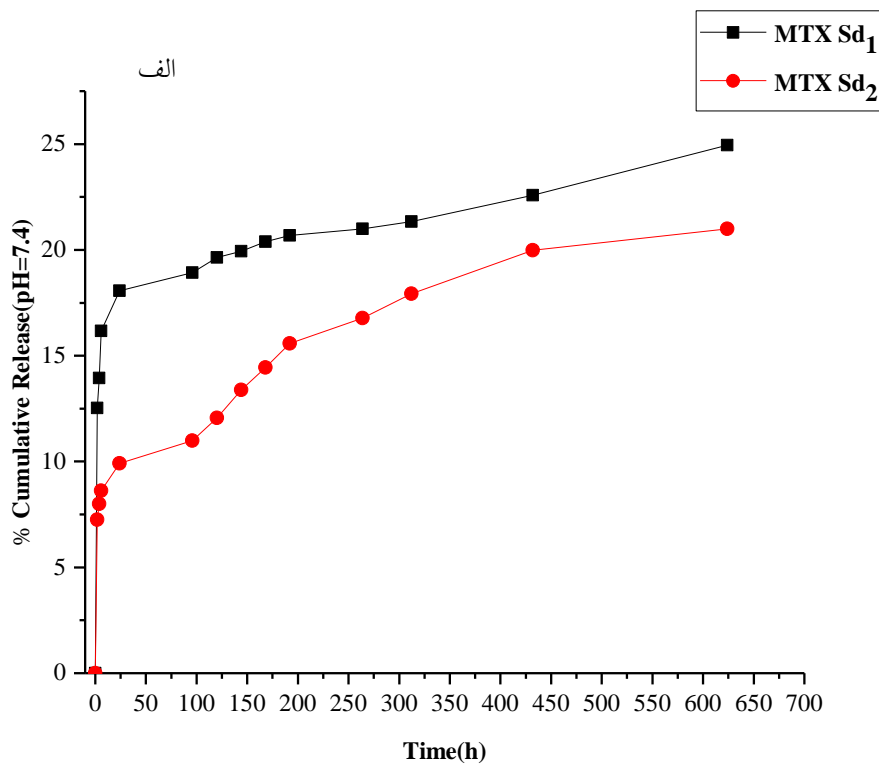
خطی بین غلظت ماده و جذب است. به عبارتی در اسپکتروفتومتری، مقدار نور جذب شده توسط محلول، تابع قانون بیر- لامبرت است. بعد از تشخیص طول موج بیشینه هر کدام از داروها در محلول فسفات بافر سالین، میزان جذب در محدوده طول موج ۲۰۰-۴۰۰ نانومتر مشخص شد. در نهایت نمودار غلظت محلول‌ها برحسب میزان جذب در طول موج بیشینه رسم شد. طول موج بیشینه در محلول فسفات بافر سالین برای داروی متوتروکسات ۲۴۹ نانومتر و برای داروی ۵- فلئوروراسیل ۲۶۶ نانومتر است. شکل‌های (۹- الف و ۹- ب) به ترتیب نشان‌دهنده منحنی‌های کالیبراسیون برای داروی ۵- فلئوروراسیل و متوتروکسات است. همچنین در شکل‌های (۱۰- الف و ۱۰- ب) پروفایل رهایش داروی متوتروکسات و داروی ۵- فلئوروراسیل برای دو نمونه حاوی دارو در محیط خنثی (pH=۷/۴) قابل مشاهده است. در نمونه  $Sd_1$ ، لایه‌های دوم و ششم و در نمونه  $Sd_2$ ، لایه چهارم حاوی یک درصد داروی متوتروکسات است. به عبارت دیگر مقدار داروی متوتروکسات در نمونه  $Sd_1$  دو برابر نمونه  $Sd_2$  است. همچنین



شکل ۹- منحنی کالیبراسیون در محیط خشتی: الف) متوتروکسات و ب) ۵- فلوتوروراسیل

رهایش تهاجمی اولیه را کنترل کنند. شکل (۱۰-ب) نشان دهنده پروفایل رهایش داروی ۵- فلوتوروراسیل موجود در نمونه‌های  $Sd_1$  و  $Sd_2$  در محیط خشتی است. همان‌گونه که

به عبارتی ساختار چندلایه باعث کاهش رهایش تهاجمی اولیه و طولانی تر شدن بازه زمانی رهایش دارو شده است. لاهها و همکاران [۱۷] نیز با تولید ساختار چندلایه ژلاتین توانستند



شکل ۱۰- پروفایل رهایش داروی: الف) متوتروکسات و ب) ۵- فلونوروراسیل

مشاهده می‌شود، میزان رهایش اولیه پس از گذشت دو ساعت برای نمونه‌های Sd<sub>1</sub> و Sd<sub>2</sub> به ترتیب ۰/۷۹ درصد و ۳/۰۵ درصد است. همچنین پس از گذشت ۶۲۴ ساعت میزان رهایش به ۱۱/۰۹ درصد و ۱۴/۸ درصد به ترتیب برای نمونه‌های Sd<sub>1</sub> و Sd<sub>2</sub> مشاهده می‌شود.

مشاهده می‌شود، میزان رهایش اولیه پس از گذشت دو ساعت برای نمونه‌های Sd<sub>1</sub> و Sd<sub>2</sub> به ترتیب ۰/۷۹ درصد و ۳/۰۵ درصد است. همچنین پس از گذشت ۶۲۴ ساعت میزان رهایش به ۱۱/۰۹ درصد و ۱۴/۸ درصد به ترتیب برای نمونه‌های Sd<sub>1</sub> و Sd<sub>2</sub> مشاهده می‌شود.

روی سایر بافت‌های بدن به حداقل میزان خود می‌رسد. گفتنی است که آزادسازی دو داروی ضدسرطان به‌صورت همزمان در داخل محیط می‌تواند فرایند بهبود را تسریع ببخشد.

#### ۴- نتیجه‌گیری

در این تحقیق، از ترکیب دو پلیمر طبیعی (کیتوسان) و مصنوعی (پلی‌کاپرولاکتون) برای ره‌ایش دو داروی ضدسرطان استفاده شد.

۱- نتایج حاصل از تصاویر میکروسکوپی الکترونی روبشی حاکی از آن بود که با افزایش درصد کیتوسان به محلول پلیمری قطر الیاف کاهش می‌یابد.

۲- بررسی طیف مادون قرمز نمونه فاقد دارو و نمونه حاوی دارو نشان‌دهنده حضور دو دارو در داخل نمونه‌ها بدون برهم‌کنش این مواد با یکدیگر است.

۳- خواص مکانیکی نمونه‌ها نشان داد که با افزایش درصد کیتوسان، ساختار نمونه شکننده شده و کرنش کاهش و مدول افزایش می‌یابد. به‌علاوه انعطاف‌پذیری و ازدیاد طول نمونه‌های پلی‌کاپرولاکتون خالص از همه بیشتر است.

۴- نتایج ارزیابی ره‌ایش دارو حاکی از آن بود که با محبوس کردن دارو در لایه‌های مختلف این ساختار هفت‌لایه، میزان ره‌ایش تهاجمی اولیه بسیار ناچیز بود و همچنین در طول زمان یک ره‌ایش آهسته و پایدار اتفاق می‌افتد. به‌علاوه آزادسازی دو دارو به‌صورت همزمان امکان تسریع فرایند درمان را فراهم می‌سازد.

Sd<sub>2</sub> می‌رسد. به‌عبارتی همانند نتایج گفته شده برای داروی متوتروکسات، با قرارگیری داروی ۵- فلوتوروراسیل در لایه میانی نسبت به لایه‌های خارجی (لایه دوم و ششم) ره‌ایش تهاجمی اولیه کاهش می‌یابد. همان‌طور که در نمودارهای شکل (۱۰) مشخص است، ره‌ایش این دو دارو به‌علت پدیده انتشار به‌صورت همزمان صورت می‌گیرد که می‌توان آن را با افزایش ضخامت لایه‌های مانع به‌صورت زمان‌بندی شده کنترل کرد.

صدر ارحامی و همکاران [۱۴] با بارگذاری داروی متوتروکسات در بستر نانولیفی تک‌لایه پلی‌اکریلونیتریل / آگار در حالت مخلوط نشان دادند که ره‌ایش تهاجمی اولیه در مدت ۳۰ دقیقه ابتدایی برای نمونه حاوی شش درصد دارو، حدود ۲۰/۰۴ درصد است که با افزایش میزان داروی بارگذاری شده این مقدار افزایش می‌یابد. همچنین بازه زمانی کل برای ره‌ایش داروی متوتروکسات از این لایه نانولیفی که به‌صورت مخلوط دارو و پلیمر ترکیب شده بود در حدود چهار ساعت است. نتایج مطالعه آکودا و همکاران [۱۸] نشان می‌دهد که مدت زمان ره‌ایش دو داروی بارگذاری شده در ساختار چهارلایه نانولیفی پلی (ال-لاکتید-کو-کاپرولاکتون) برای هر دو دارو در حدود هشت ساعت است و میزان ره‌ایش اولیه نزدیک به صفر است. از این‌رو نتایج این مطالعه نشان می‌دهد با بارگذاری داروها در داخل این سامانه نانولیفی، به‌دلیل ساختار چندلایه و حضور لایه‌های مانع ره‌ایش تهاجمی اولیه برای هر دو نمونه بسیار ناچیز است که نسبت به ساختارهای تک‌لایه بسیار بهتر بوده و این ساختار می‌تواند یک ره‌ایش آرام و پایدار در طول بازه زمانی ۲۶ روزه داشته باشد. با کاهش ره‌ایش تهاجمی اولیه، اثرات جانبی منفی

#### واژه‌نامه

1. chitosan (CS)
2. polycaprolactone (PCL)
3. oxaliplatin
4. 5- fluorouracil
5. methotrexate
6. paclitaxel

7. trexall
8. piperine
9. phosphate buffered saline (PBS)
10. scanning electron microscopy (SEM)
11. Fourier transform infrared spectrometry (FTIR)
12. UV-spectrophotometry

1. Brouwers, J., "Advanced and Controlled Drug Delivery Systems in Clinical Disease Management", *Pharmacy World and Science*, Vol. 18, pp. 153-162, 1996.
2. Soppimath, K. S., Aminabhavi, T. M., Kulkarni, A. R., and Rudzinski, W. E., "Biodegradable Polymeric Nanoparticles as Drug Delivery Devices", *Journal of Controlled Release*, Vol. 70, pp. 1-20, 2001.
3. Yoo, H. S., and Park, T. G., "Folate Receptor Targeted Biodegradable Polymeric Doxorubicin Micelles", *Journal of Controlled Release*, Vol. 96, pp. 273-283, 2004.
4. Newkome, G. R., Moorefield, C. N., and Vögtle, F., *Dendrimers and Dendrons: Concepts, Syntheses, Applications*, Wiley-VCH Verlag GmbH, 2001.
5. Zasadzinski, J. A., Wong, B., Forbes, N., Braun, G., and Wu, G., "Novel Methods of Enhanced Retention in and Rapid, Targeted Release from Liposomes", *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, Vol. 16, pp. 203-214, 2011.
6. Hoare, T. R., and Kohane, D. S., "Hydrogels in Drug Delivery: Progress and Challenges", *Polymer*, Vol. 49, pp. 1993-2007, 2008.
7. Cui, W., Li, X., Zhu, X., Yu, G., Zhou, S., and Weng, J., "Investigation of Drug Release and Matrix Degradation of Electrospun Poly (DL-lactide) Fibers with Paracetamol Inoculation", *Biomacromolecules*, Vol. 7, pp. 1623-1629, 2006.
8. Kowalewski, T., NSKI, S., and Barral, S., "Experiments and Modelling of Electrospinning Process", *Technical Sciences*, Vol. 53, pp. 385-394, 2005.
9. Shahidi, F., and Abuzaytoun, R., "Chitin, Chitosan, and Co-Products: Chemistry, Production, Applications, and Health Effects", *Advances in Food and Nutrition Research*, Vol. 49, pp. 93-137, 2005.
10. Cipitria, A., Skelton, A., Dargaville, T., Dalton, P., and Huttmacher, D., "Design, Fabrication and Characterization of PCL Electrospun Scaffolds-A Review", *Journal of Materials Chemistry*, Vol. 21, pp. 9419-9453, 2011.
11. Winocur, G., Vardy, J., Binns, M. A., Kerr, L., and Tannock, I., "The Effects of the Anti-Cancer Drugs, Methotrexate and 5-Fluorouracil, on Cognitive Function in Mice", *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, Vol. 85, pp. 66-75, 2006.
12. Zhang, N., Yin, Y., Xu, S. -J., and Chen, W. -S., "5-Fluorouracil: Mechanisms of Resistance and Reversal Strategies", *Molecules*, Vol. 13, pp. 1551-1569, 2008.
13. Allen, T. M., and Cullis, P. R., "Drug Delivery Systems: Entering the Mainstream", *Science*, Vol. 303, pp. 1818-1822, 2004.
14. Sadrearhami, Z., Morshed, M., and Varshosaz, J., "Production and evaluation of polyblend of agar and polyacrylonitrile Nanofibers for in Vitro Release of Methotrexate in Cancer Therapy", *Fibers and Polymers*, Vol. 16, pp. 254-262, 2015.
15. Gupta, K. K., Pal, N., Mishra, P. K., Srivastava, P., Mohanty, S., and Maiti, P., "5-Fluorouracil-Loaded Poly (Lactic Acid)-Poly (Caprolactone) Hybrid Scaffold: Potential Chemotherapeutic Implant", *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, Vol. 102, pp. 2600-2612, 2014.
16. Fathi-Azarbayjani, A., and Chan, S. Y., "Single and Multi-Layered Nanofibers for Rapid and Controlled Drug Delivery", *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, Vol. 58, pp. 143-146, 2010.
17. Laha, A., Sharma, C. S., and Majumdar, S., "Sustained Drug Release from Multi-Layered Sequentially Crosslinked Electrospun Gelatin Nanofiber Mesh", *Materials Science and Engineering: C*, Vol. 76, pp. 782-786, 2017.
18. Okuda, T., Tominaga, K., and Kidoaki, S., "Time-Programmed Dual Release Formulation by Multilayered Drug-Loaded Nanofiber Meshes", *Journal of Controlled Release*, Vol. 143, pp. 258-264, 2010.
19. Zeng, J., Yang, L., Liang, Q., Zhang, X., Guan, H., Xu, X., Chen, X., and Jing, X., "Influence of the Drug Compatibility with Polymer Solution on the Release Kinetics of Electrospun Fiber Formulation", *Journal of Controlled Release*, Vol. 105, pp. 43-51, 2005.
20. Van der Schueren, L., Steyaert, I., De Schoenmaker, B., and De Clerck, K., "Polycaprolactone/Chitosan Blend Nanofibres Electrospun from an Acetic Acid/Formic Acid Solvent System", *Carbohydrate Polymers*, Vol. 88, pp. 1221-1226, 2012.
21. Semnani, D., Naghashzargar, E., Hadjianfar, M., Dehghan Manshadi, F., Mohammadi, S., Karbasi, S., and Effaty, F., "Evaluation of PCL/Chitosan Electrospun Nanofibers for Liver Tissue Engineering", *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, Vol. 66, pp. 149-157, 2017.
22. Semnani, D., Nasari, M., and Fakhrali, A., "PCL Nanofibers Loaded with Beta-Carotene: A Novel Treatment for Eczema", *Polymer Bulletin*, Vol. 75, pp. 1-12, 2018.
23. Bi, Y., Cao, X., Liu, M., Meng, X., and Zhai, H., "A Smart Drug Delivery System in Response to Time, pH and Enzyme for Colorectal Cancer Therapy and Its Targeted Release Performance in Vitro", *Materials Letters*, Vol. 137, pp. 354-357, 2014.
24. Hadjianfar, M., Semnani, D., and Varshosaz, J., "Polycaprolactone/Chitosan Blend Nanofibers Loaded by 5-Fluorouracil: An Approach to



Anticancer Drug Delivery System”, *Polymers for Advanced Technologies*, Vol. 29, pp. 2972-2981, 2018.

25. Qian, Y., Zhang, Z., Zheng, L., Song, R., and Zhao, Y., “Fabrication and Characterization of

Electrospun Polycaprolactone Blended with Chitosan-Gelatin Complex Nanofibrous Mats”, *Journal of Nanomaterials*, Vol. 2014, p. 1, 2014.