

آماده‌سازی و مشخصه‌یابی نانوالیاف پلی‌اتیلن اکسید، پلی‌اتیلن اکسید-صمغ عربی و پلی‌اتیلن اکسید-صمغ عربی-منتول و بررسی سمیت آن روی سلول‌های سرطان ملانوما و سالم پوست انسان

الهام زارع نژاد^۱، سوسن رئیسی^۲، محمود اوسانلو^{۱*}

^۱دانشگاه علوم پزشکی فسا، فسا، ایران

^۲دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

*نویسنده‌ی مسئول: دانشگاه علوم پزشکی فسا، فسا، ایران. پست الکترونیک: osanloo_mahmood@yahoo.com

دریافت: ۱۴۰۲/۰۶/۰۶ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۲۲

چکیده

مقدمه: به‌عنوان بزرگ‌ترین عضو بدن، پوست در معرض آسیب‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی قرار دارد و سرطان پوست یکی از شایع‌ترین انواع سرطان‌ها است. به دلیل عوارض جانبی و مقاومت در برابر دارو، توسعه داروهای گیاهی با استفاده از نانوفناوری مورد توجه زیادی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه سه نوع نانوالیاف به روش الکترونیسی آماده‌سازی شد. با آنالیزهای میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) و طیف‌سنجی مادون قرمز (FTIR) ارزیابی شد، در ادامه سمیت این نانوالیاف بر روی سلول‌های سرطان ملانوما (A-375) و سلول‌های سالم (HFFF2) پوست انسان بررسی شد.

نتایج: نانوالیاف پلی‌اتیلن اکسید با قطر متوسط 9 ± 187 نانومتر، نانوالیاف پلی‌اتیلن اکسید-صمغ عربی با قطر متوسط 27 ± 200 نانومتر و پلی‌اتیلن اکسید-صمغ عربی-منتول با قطر 46 ± 338 نانومتر آماده‌سازی شدند. مورفولوژی این نانوالیاف به کمک میکروسکوپ الکترونی نگاره بررسی شد. نتایج نشان دادند که نانوالیاف پلی‌اتیلن اکسید-صمغ عربی-منتول بیشترین اثر سمیت را بر روی سلول‌های سرطانی را داشتند که این اثر بر روی سلول‌های سالم پوست به طور معناداری کمتر است.

نتیجه‌گیری: باتوجه به عدم سمیت نانوالیاف پلی‌اتیلن اکسید-صمغ عربی-منتول روی سلول‌های سالم پوست، پس از انجام کامل مطالعات درون تنی می‌توان از آن به‌عنوان یک زخم‌پوش بدون سمیت استفاده کرد.

واژگان کلیدی: نانوفناوری پزشکی، داروهای گیاهی، سرطان پوست، الکترونیسی

۱. مقدمه

سلولی (A-375) به داروهای شیمی درمانی سنتی نظیر سیس پلاتین بسیار مقاوم هستند (۸، ۹). علاوه بر این، عوامل شیمی درمانی بسیار سمی هستند که هم سلول‌های بدخیم و هم سلول‌های سالم را می‌کشند (۱۰، ۱۱).

استفاده از نانوفناوری در تشخیص و درمان سرطان مورد توجه زیادی قرار گرفته است (۱۴-۱۲). نانوساختارهای یک بعدی (یک بعد آن‌ها فراتر از مقیاس نانومتری است)، مانند نانوالیاف‌ها، گزینه مناسبی برای درمان بیماری‌های پوستی نظیر ملانوما هستند (۱۷-۱۵). پوشش‌های نانوفیبری دارای، منافذ نانوفیبر به حدی کوچک هستند که از ورود عوامل بیماری‌زای محیطی به محل ملانوما جلوگیری می‌کنند. از طرف دیگر، منافذ به حدی بزرگ هستند که هوا می‌تواند به راحتی با محیط در تبادل باشد (۱۸، ۱۹).

به‌عنوان بزرگ‌ترین عضو بدن، پوست در معرض همه آسیب‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی قرار دارد (۱). سرطان یک مشکل عمده بهداشت عمومی در سراسر جهان می‌باشد و دومین عامل مرگ و میر در ایالات متحده تخمین زده می‌شود. (۲). سرطان پوست پنجمین سرطان شایع دنیا است و ملانوما کشنده‌ترین نوع آن محسوب می‌شود. در سال ۲۰۲۰ حدود ۳۲۵ هزار بیمار جدید با سرطان ملانوما تشخیص داده شد و حدود ۵۷ هزار نفر از این بیماری جان خود را از دست دادند (۳). ملانوما از ملانوسیت‌های تغییر یافته تکامل می‌یابد و سرطان پوست بدخیم است. این بیماری به خاطر رفتار بالای متاستاتیک شناخته شده است (۴، ۵). نتایج روش‌های درمانی رایج، مانند شیمی درمانی، پرتودرمانی، درمان هدفمند و ایمونوتراپی، رضایت بخش نیستند (۶، ۷). برای مثال، سلول‌های ملانوما بدخیم (رده

۳. مواد و روش‌ها

مقاله حاضر اقتباس از طرح تحقیقاتی دانشگاه علوم پزشکی فسا با شماره گرنت ۱۳۶۶۴۰ و دارای تاییده کمیته اخلاق این دانشگاه به شماره IR.FUMS.REC.1401.238 می باشد.

۱.۳. مواد

منتول، صمغ عربی، و پلی اتیلن اکسید از شرکت سیگما-آلد ریچ (آمریکا) تهیه شد. سلول‌های (ATCC® CRL-1619) A 573TM و (NCBI Code: C163) HFFF2 از انستیتو پاستور ایران تهیه شدند.

۲.۳. آماده‌سازی و مشخصه‌یابی نانوالیاف‌های الکتروریسی شده

محلول‌های آبی برای فرایند الکتروریسی شامل پلی اتیلن اکسید (۱۵ درصد وزنی/حجمی)، پلی اتیلن اکسید-صمغ عربی (۱۰/۵۰ درصد وزنی/حجمی) و پلی اتیلن اکسید-صمغ عربی-منتول (۱۰ - ۵/۲۰۰) در صمغ عربی (حجمی) در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تحت شرایط هم‌زنی (۲۰۰ دور در دقیقه) به مدت ۲۴ ساعت آماده شدند. سپس آن‌ها را در سرنگ‌های ۱۰ میلی لیتری با سوزن سرتخت (G 21) پر کرده و در دستگاه الکتروریسی (فناوران نانومقیاس، ایران) قرار داده شدند. نانوفیبرها حاصل بهینه‌سازی فاکتورهای دستگاهی شامل سرعت تزریق محلول پلیمری (میلی لیتر/ساعت)، ولتاژ اعمالی (کیلوولت)، فاصله بین نازل و جمع‌کننده (میلی متر) و سرعت چرخش جمع‌کننده (دور/دقیقه) هستند. فاکتورهای بهینه برای هر محلول در جدول ۱ خلاصه شده‌اند. لازم به ذکر است، یک لایه نازک از فویل آلومینیومی بر روی جمع‌کننده کشیده شد تا جداسازی نانوالیاف‌ها از جمع‌کننده را آسان‌تر کند. در نهایت، نانوالیاف آماده شده با قطر (۵/۰ سانتی‌متر) برش خورده و با استفاده از تابش ماورای بنفش به مدت ۳۰ دقیقه در هود جریان لایه‌ای کلاس ۲، استریل شده و برای آزمون‌های بعدی، از جمله تجزیه و تحلیل‌های میکروسکوپ الکترونی نگاره، آنالیز شیمیایی و آزمون سمیت استفاده شدند.

بسیاری می‌توان ساخت. صمغ عربی یک ماده طبیعی شاخه‌ای است که از گلیکوپروتئین‌ها و پلی ساکاریدهایی مانند گالاکتوز و آرابینوز تشکیل شده است (۲۰). صمغ عربی دارای خواص آنتی اکسیدان و ضد التهاب است (۲۱، ۲۲). اما به دلیل رفتار ژل شدن برای بهتر شدن قابلیت ریسیده شدن باید با پلیمرهایی مانند پلی اتیلن اکسید برای تهیه نانوفیبر ترکیب شود (۲۳). پلی اتیلن اکسید یک پلیمر هیدروفیل، خطی غیر یونی و بدون پیوند عرضی است که برای تولید بسیاری از نانوفیبرهای پلیمری یکنواخت لازم است (۲۴، ۲۵). در تحقیقاتی که اخیراً از سوی دانشمندان گزارش شده است، نشان می‌دهد که پلی اتیلن اکسید الکتروریسی شده در تولید پانسمن‌های زخم با رهش سریع بسیار کاربرد دارند (۲۶). در سال‌های اخیر با بارگذاری مواد موثره گیاهی درون نانوفیبرها، پوشش‌هایی با خاصیت درمانی مورد توجه قرار گرفته است به طوری که پوشش‌های سبب سازگار با محیط زیست و تخریب‌پذیر می‌توانند به عنوان داربست پلیمری برای التیام زخم استفاده شود (۲۷). یکی از مواد موثره گیاهی پرکاربرد منتول است. منتول یک الکل منوترین حلقوی است که به‌عنوان یک مؤلفه اصلی در روغن‌های اسانسی نعناع فلفلی و نعناع هندی یافت می‌شود (۲۸، ۲۹). این ترکیب اثرات زیستی زیادی دارد، مانند خاصیت ضد التهاب، ضد اکسیدان، ضد باکتری و ضد عفونی‌کننده پوست (۳۰، ۳۱). علاوه بر این، منتول باعث مهار تکثیر سلول‌های سرطان پروستات DU145 در فاز G0/G1 و افزایش حرکت آن‌ها می‌شود (۳۲). همچنین، فعالیت ضد سرطان منتول روی خطوط سلول سرطان مثانه انسان T24 نیز گزارش شده است (۲۹). با توجه به خاصیت ضد سرطانی منتول (۳۳) هنوز اثرات ضد سرطانی و سمیت نانو فیبر پلی اتیلن اکسید-صمغ عربی حاوی منتول مورد ارزیابی قرار نگرفته است.

۲. اهداف

در این مطالعه ابتدا نانوفیبرهای الکتروریسی شده پلی اتیلن اکسید، پلی اتیلن اکسید-صمغ عربی و پلی اتیلن اکسید-صمغ عربی حاوی منتول به روش الکتروریسی آماده‌سازی شدند. سپس اثرات سمیت آن‌ها بر روی سلول‌های سرطانی A-375 و یک رده سلولی سالم پوست (HFFF2) بررسی شد.

جدول ۱: فاکتورهای بهینه‌سازی شده برای آماده‌سازی نانوالیاف

سرعت تزریق (میلی لیتر/ساعت)	ولتاژ (کیلوولت)	فاصله بین نازل و جمع‌کننده (میلی متر)	سرعت چرخش جمع‌کننده (دور/دقیقه)	محلول پلیمری
۰/۵	۱۹/۵	۱۰۰	۹۰	پلی اتیلن اکسید
۰/۵	۱۹	۱۰۵	۱۰۰	پلی اتیلن اکسید-صمغ عربی
۰/۴۵	۱۹/۵	۱۰۰	۹۵	پلی اتیلن اکسید-صمغ عربی-منتول

شدند. تصاویر نانوالیاف‌ها با استفاده از نرم‌افزار تجزیه و تحلیل تصویر دیجیمایزر (نسخه رایگان، Digimazer, MedCalc Software Ltd) تجزیه و تحلیل شدند.

دستگاه میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM, Vega3- Tescan) برای بررسی اندازه و شکل مورفولوژیکی نانوالیاف الکتروریسی شده استفاده شد. نانوالیاف برش خورده، با استفاده از دستگاه پوشش‌دهنده پاششی با بخار طلا پوشش داده

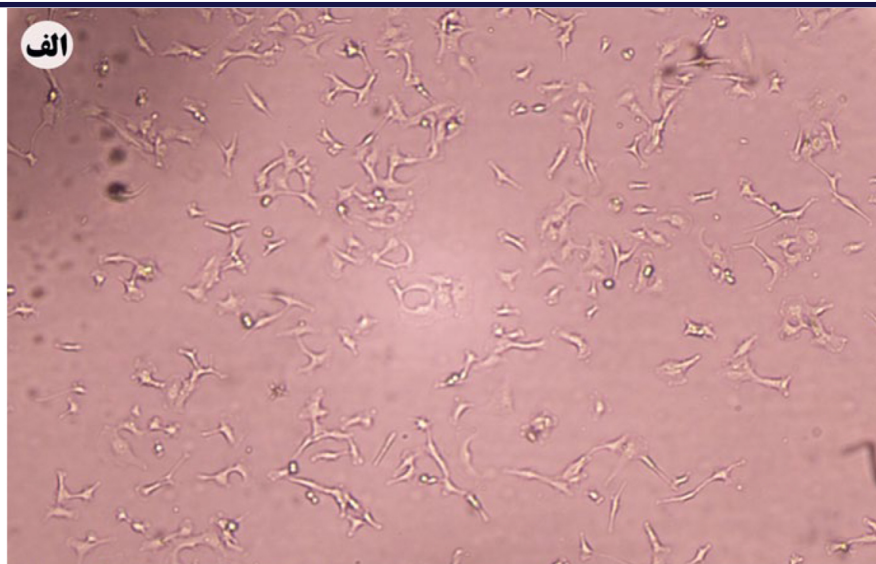
۳.۳. آنالیز شیمیایی نانوفیبرها با آزمون تبدیل فوریه طیفسنجی مادون قرمز

جهت آنالیز شیمیایی نانوالیاف آماده‌سازی شده و همچنین اثبات بارگیری منتول درون نانوالیاف از آنالیز تبدیل فوریه طیفسنجی مادون قرمز (FTIR) استفاده شد. بدین منظور طیف‌های کریستال منتول، پودر صمغ عربی، نانوالیاف پلی اتیلن اکسید، نانوالیاف پلی اتیلن اکسید-صمغ عربی و نانوالیاف پلی اتیلن اکسید-صمغ عربی منتول در محدوده ۴۰۰-۳۵۰۰ سانتی متر متقابل (cm⁻¹) ثبت شدند.

۴.۳. بررسی اثر سمیت نانوالیاف بر سلول‌های سرطانی و سالم

تصویر سلول‌های A-375 و HFFF2 در تصویر ۱ نشان داده شده است. این سلول‌ها در محیط کشت (RPMI) حاوی ۱۲ درصد سرم جنین گاوی (FBS) و ۱ درصد پنی سیلین استریپتومایسین کشت

شدند. در ادامه ۱۰,۰۰۰ سلول از هر کدام از سوسپانسیون‌های سلولی به طور مجزا به هر چاهک از پلیت ۹۶-چاهک اضافه شدند و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد (هوای حاوی ۵ درصد دی‌اکسید کربن) انکوبه شدند. بعد از پر شدن تقریباً ۸۰٪ کف هر چاهک، محیط مایع با ۵۰ میکرولیتر محیط تازه جایگزین شد. سپس در هر چاهک یک قطعه نانوفیبر ۰/۵ سانتی متری انداخته شد و پلیت به مدت ۲۴ ساعت دیگر انکوبه گردید. در ادامه محیط مایع با ۵۰ میکرولیتر محلول شناساگر (MTT) با غلظت ۰/۵ میلی گرم/میلی لیتر جایگزین شد و به مدت ۴ ساعت دیگر انکوبه شدند. کریستال‌های فورمازان با اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر دی متیل سولفو کسید به هر چاهک حل شدند. جذب نوری چاهک‌ها با استفاده از دستگاه مخصوص (Synergy, HTX Multi-Mode Reader, USA) خوانده شد. درصد سلول‌های زنده در هر نمونه با تقسیم چگالی نوری نمونه بر گروه کنترل محاسبه شد. آزمایش در سه تکرار انجام شد و نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شدند (۳۴).

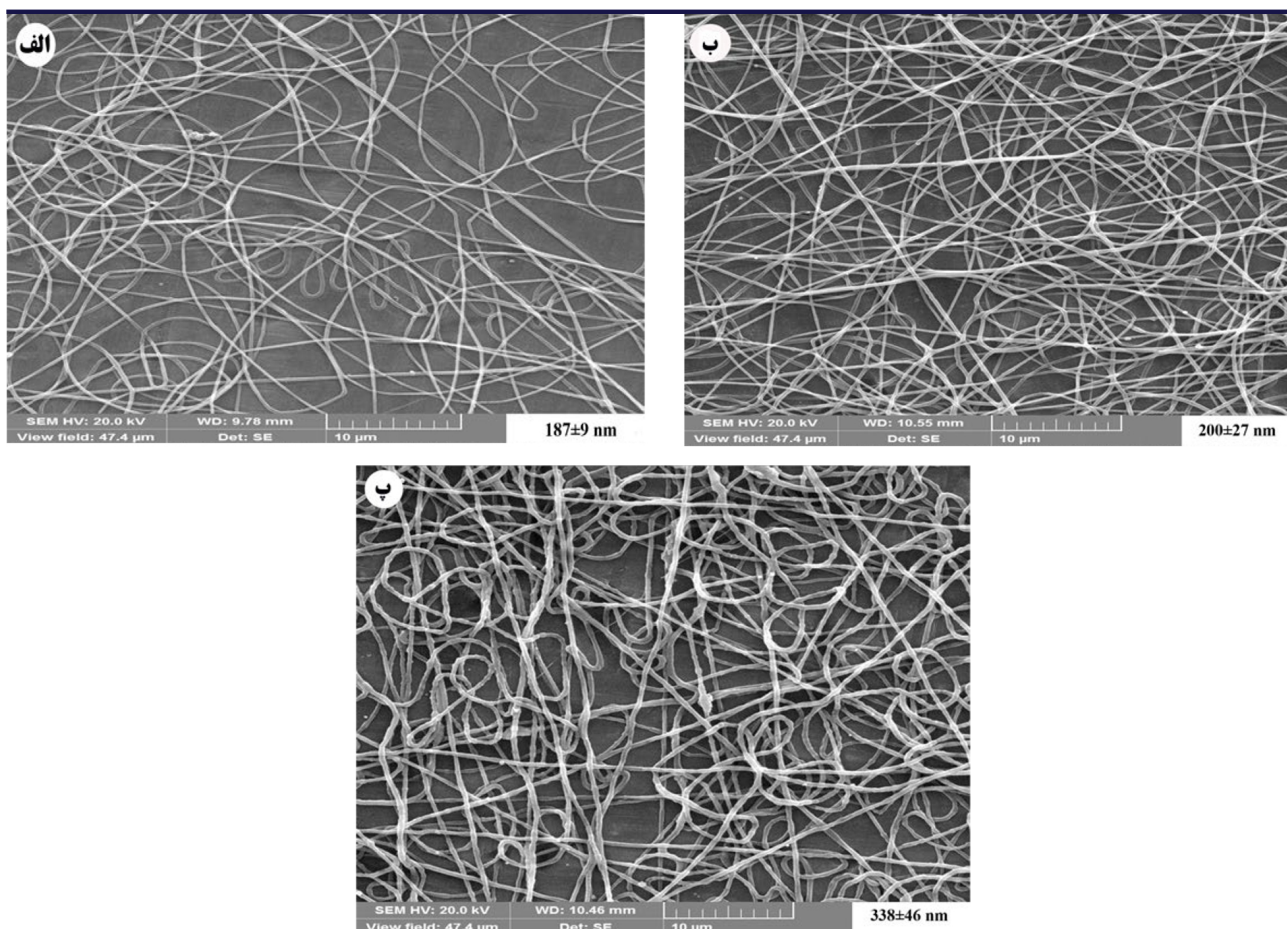


تصویر ۱. الف، سلول‌های سرطان ملانوما A-375؛ و ب، سلول‌های سالم HFFF2

۴. نتایج

نسبت به پلی اتیلن اکسید کمی ضخیم تر بودند (تصویر ۲-ب). با بارگیری منتول در پلی اتیلن اکسید-صمغ عربی قطر آن ها به 46 ± 338 نانومتر افزایش یافت و همچنین تعداد زیادی دانه در نانوالیاف مشاهده شد که نشان دهنده بارگذاری منتول در نانوالیاف است (تصویر ۲-پ).

تصویر نانوالیاف های پلی اتیلن اکسید بدون دانه و با جهت گیری تصادفی و قطر متوسط 9 ± 187 نانومتر در تصویر ۲-الف نشان داده شده است. تصویر نانوالیاف های پلی اتیلن اکسید-صمغ عربی با قطر متوسط 27 ± 200 نانومتر



تصویر ۲. الف، نانوالیاف پلی اتیلن اکسید؛ ب، پلی اتیلن اکسید-صمغ عربی و پ، پلی اتیلن اکسید-صمغ عربی-منتول

۱.۴. نتایج آزمون تبدیل فوریه طی فسنجی مادون قرمز نانوالیاف الکتروریسی شده

در طیف تبدیل فوریه طیف فسنجی مادون قرمز منتول (تصویر ۳-الف) پیک های گسترده ای در 3241 سانتی متر متقابل مشاهده شد که به گروه هیدروکسیل نسبت داده می شود. علاوه بر این، پیک های 2953 ، 2925 ، 2869 و 2846 سانتی متر متقابل می توانند به گروه متیل مربوط شوند و باند در 1368 سانتی متر متقابل با گروه ایزوپروپیل مطابقت دارد. باند قوی در حدود 1025 و 1044 سانتی متر متقابل می تواند به پیوند C-O مربوط باشد. در طیف صمغ عربی (تصویر ۳-ب) پیک در 3349 سانتی متر متقابل نشان دهنده گروه آمینو بود که ممکن است توسط پیک گسترده جذب گروه OH پنهان شده باشد. پیک در 2890 سانتی متر متقابل که حضور گالاکتوز، قندها، رامنوز و آرابینوز را نشان می داد، حضور آلکان C-H کشیده و آلدید را نشان داد.

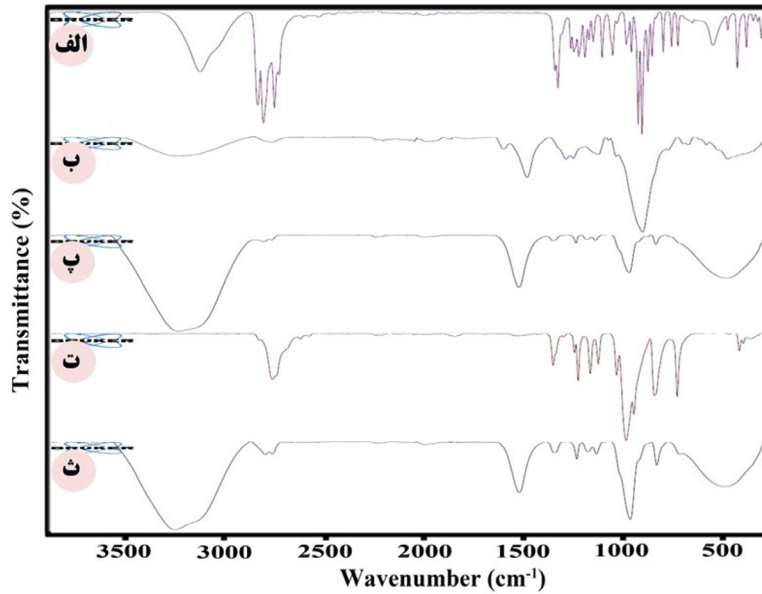
علاوه بر این، باند مشخص در 1601 سانتی متر متقابل می تواند به $C=C$ ، NO_2 از گالاکتوپروتئین های آلیفاتیک و آروماتیک، NH آمید و اسیدهای آمینه نسبت داده شود.

علاوه بر این، پیک در 1369 سانتی متر متقابل مطابقت داشت با اتحنای CH_3 ، C-O از اسید کربوکسیلیک و انبساط C-C از کتون. باند قوی در حدود 1022 سانتی متر متقابل نشان دهنده C-O از انیدرید بود. باند در $1200-900$ سانتی متر متقابل با اثر انگشتی قندها مطابقت داشت.

در طیف نانوالیاف پلی اتیلن اکسید (تصویر ۳-پ) باند گسترده در 3353 سانتی متر متقابل نشان دهنده حضور گروه هیدروکسیل بود. باند در 2921 سانتی متر متقابل به پیوند C-H نسبت داده شد و باندهای در 1458 و 1350 سانتی متر متقابل می توانند به C-H نسبت داده شوند. باندهای در 1299 و 1062 سانتی متر متقابل با OH الکی و پیوند اتری C-O-C مطابقت داشتند.

۳-ث) پیک گسترده بین ۳۶۰۰-۳۲۰۰ مربوط به گروه‌های هیدروکسیل به دلیل پیوند هیدروژنی است و باندهای در ۲۹۱۱ و ۲۸۸۱ سانتی‌متر متقابل به پیوند C-H نسبت داده شد. علاوه بر این، باند در ۱۶۴۰ سانتی‌متر متقابل می‌تواند به پیوند C=O مربوط شود. باند در ۱۳۶۰ با گروه ایزوپروپیل در منتول مطابقت دارد. پیک قوی در ۱۰۸۱ سانتی‌متر متقابل به پیوند C-O در پلی‌اتیلن‌اکسید، صمغ‌عربی و منتول مربوط است.

در طیف نانوالیاف پلی‌اتیلن‌اکسید-صمغ‌عربی (تصویر ۳-ت)، پیک‌های در ۲۷۳۶ و ۲۸۸۰ سانتی‌متر متقابل می‌توانند به پیوند C-H مربوط شوند و باندهای در ۲۳۵۹ و ۲۱۶۶ سانتی‌متر متقابل می‌توانند با CO₂ مطابقت داشته باشند. علاوه بر این، باند قوی در حدود ۱۰۲۵ و ۱۰۴۴ سانتی‌متر متقابل می‌تواند به پیوند C-O در صمغ‌عربی و پلی‌اتیلن‌اکسید مربوط باشد. در طیف نانوالیاف پلی‌اتیلن‌اکسید-صمغ‌عربی-منتول (تصویر

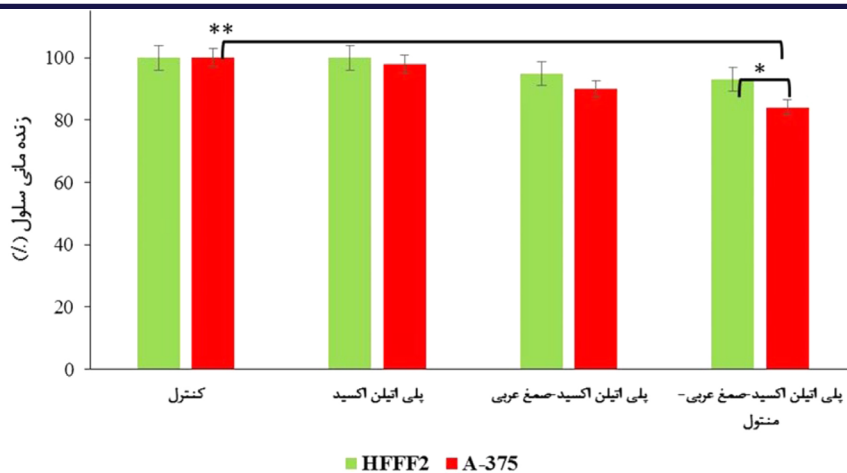


تصویر ۳. طیف‌های تبدیل فوریه طیف‌سنجی مادون قرمز الف، منتول؛ ب، صمغ‌عربی؛ پ، نانوالیاف پلی‌اتیلن‌اکسید؛ ت، نانوالیاف پلی‌اتیلن‌اکسید-صمغ‌عربی و ث، نانوالیاف پلی‌اتیلن‌اکسید-صمغ‌عربی-منتول

یافت، این اثر به طور معناداری ($P=0/025$) بیشتر از اثر سمیت آن روی HFFF2 است. همچنین این سمیت نسبت به گروه کنترل (تیمار نشده) به طور معناداری بیشتر است ($P=0/002$). بین کارایی سایر نمونه‌ها تفاوت معناداری مشاهده نشد. با توجه به اینکه این نانوالیاف اثر سمیتی بر روی سلول‌های سالم پوست نشان نداد می‌توان از آن به‌عنوان زخم‌پوش بدون سمیت استفاده کرد.

۲.۴. اثر سمیت نانوالیاف

اثرات سمیت نانوالیاف پلی‌اتیلن‌اکسید، پلی‌اتیلن‌اکسید-صمغ‌عربی و پلی‌اتیلن‌اکسید-صمغ‌عربی-منتول بر روی سلول‌های سرطانی A-375 و سالم HFFF2 در تصویر ۴ نشان داده شده است. بیشترین سمیت مربوط به نانوالیاف پلی‌اتیلن‌اکسید-صمغ‌عربی-منتول است که زنده‌مانی سلول‌های A-375 به ۸۴٪ کاهش



تصویر ۴. اثرات سمیت نانوالیاف بر روی سلول‌های سرطانی A-375 و سالم HFFF2 پوست انسان. * $P < 0/05$ و ** $P < 0/01$

۵. بحث

در سال‌های اخیر، توسعه پانسمان‌های زخم با نانوالیاف مورد توجه زیادی قرار گرفته است (۱۹). روش‌های مختلفی برای تهیه نانوالیاف، مانند جداسازی فاز، فرآیند هم‌محور تک/دو سیال، پلیمر شدن رابطه‌ای و سنتز قالب، توسعه یافته‌اند (۳۵، ۳۶). با این حال، الکتروریسی هنوز به دلیل تنوع مواد اولیه، تکرار پذیری روش و امکان تولید انبوه، بسیار مورد استفاده قرار می‌گیرد (۳۴، ۳۷). داربست‌های الکتروریسی به دو روش به‌عنوان پانسمان زخم استفاده می‌شوند: پوشاندن زخم بعد از درمان دارویی و نانوالیاف حاوی دارو. برای مثال، نانوفیبرهای الکتروریسی از پلی‌کاپرولاکتون-هیدروکسی پروپیل متیل سلولز با قطر متوسط ۴۶۴ نانومتر به‌عنوان پانسمان زخم بعد از درمان با نانوزل حاوی روغن اسانسی نعناع فلفلی پیشنهاد شده است. نتایج نشان داد که این نانوالیاف هیچ خاصیت ضد باکتریایی یا ضد سرطانی نداشت (۳۸). علاوه بر این، نانوفیبرهای الکتروریسی از پلی‌اتیلن‌اکسید-ژلاتین با قطر متوسط ۳۵۹ نانومتر به‌عنوان پانسمان زخم پیشنهاد شده بودند؛ با این حال، این فیبرها خاصیت ضد باکتریایی یا ضد سرطانی نداشتند (۳۹).

در زیر به گزارش‌هایی درباره توسعه نانوفیبرهای حاوی دارو اشاره می‌شود. نانوالیاف الکتروریسی شده از پلی‌کاپرولاکتون/کیتوزان-پلی‌وینیل الکل که حاوی عصاره آرنبیا اوکروما در مهندسی بافت پوست، پیشنهاد شد؛ این داربست باعث افزایش تکثیر سلولی در مطالعات آزمایشگاهی شد (۴۰). نانوفیبرهای الکتروریسی از پلی‌کاپرولاکتون/پلی‌وینیل الکل/کلاژن که حاوی عصاره مومردیکا چارانتیا بود، در گزارش دیگری به‌عنوان پانسمان زخم موثر پیشنهاد شد (۴۱). در نهایت، مطالعه دیگری نانوفیبرهای پلی‌اتیلن‌اکسید-کیتوزان حاوی نانوذرات نقره را به‌عنوان ضد باکتریایی موثر علیه باکتری‌های هوازی و بی‌هوازی پیشنهاد شد (۴۲).

علاوه بر این، برخی از نانوفیبرهای الکتروریسی شده حاوی منتول گزارش شده‌اند. در برخی از گزارش‌ها، منتول به طور مستقیم برای الکتروریسی استفاده شده است، مثلاً پلی‌متیل وینیل اتر-مالئیک آنهیدرید حاوی منتول (۴۳). در گزارش‌های دیگر، منتول ابتدا در یک حامل (مثلاً سیکلودکسترین) بارگذاری شده است. سپس، پس از مخلوط کردن با پلیمر مورد استفاده، الکتروریسی شد. به‌عنوان مثال، الکتروریسی نانوفیبرهای پلی‌متیل متاکریلات حاوی کمپلکس‌های سیکلودکسترین-منتول تهیه شد (۴۴). در مطالعه دیگر نانوفیبرهای الکتروریسی شده از پلی‌وینیل الکل و کمپلکس‌های شامل منتول/یتا-سیکلودکسترین را بررسی کرد (۴۵).

صمغ عربی یک پلی‌ساکارید پیچیده است که فعالیت‌های زیستی مختلفی مانند آنتی‌اکسیدانی و ظرفیت مهار رادیکال‌ها را دارد (۴۶). علاوه بر این، در یک آزمایش بالینی، پماد صمغ عربی تجربه کاهش قابل توجه التهاب پوست پری‌استوما نسبت به گروه کنترل داشت (۴۷). همچنین، نانوذرات طلا-صمغ عربی

ویژگی‌های مناسبی را به‌عنوان جایگزینی برای درمان ملانوما نشان دادند (۴۸). همچنین گزارشات موجود اثبات‌کننده این هستند که در بسیاری از پژوهش‌ها ترکیبات طبیعی به‌عنوان محرک‌های التیام زخم مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۴۹). در یک مطالعه، نانوالیاف هیالورونیک اسید/پلی (اتیلن) اکسید با اجزای طبیعی نظیر عسل و آرژنین، ویژگی‌های مطلوبی را برای استفاده بالینی به‌عنوان پانسمان زخم نشان دادند (۵۰). بر اساس آنچه بیان شد در این مطالعه، نانوالیاف پلی‌اتیلن‌اکسید، نانوالیاف پلی‌اتیلن‌اکسید-صمغ عربی-منتول آماده‌سازی شدند. پس از تأیید مورفولوژی این نانوالیاف به کمک میکروسکوپ الکترونی نگاره سپس، مشخصه یابی نانوالیاف با روش طیف‌سنجی زیر قرمز تبدیل فوریه انجام شد. در ادامه اثر سمیت آن‌ها بر روی سلول‌های ملانوما و سالم مورد بررسی قرار گرفت. این نانوالیاف بر روی سلول‌های ملانوما اثر سمیت نشان دادند که با مطالعات قبلی سازگار است. منتول با فعال کردن Transient receptor potential melastatin) TRPM8 (8)، یک گیرنده غشایی اصلی که در ورود یون کلسیم و انتقال سیگنال سلولی دخیل است، رشد ملانوما را مهار می‌کند (۵۱). بنابراین، پیشنهاد شد که منتول با فعال کردن TRPM8 سطح کلسیم سیتوزولی را افزایش می‌دهد که منجر به نامتوازن شدن کلسیم سیتوزولی و بروز مرگ سلولی می‌شود (۵۲، ۵۳). نتایج نشان دادند که نانوالیاف پلی‌اتیلن‌اکسید-صمغ‌عربی-منتول بیشترین اثر سمیت را بر روی سلول‌های سرطانی را داشتند که این اثر بر روی سلول‌های سالم پوست به طور معناداری کمتر است. علی‌رغم اینکه نتایج امیدوارکننده‌ای در این مطالعه به دست آمد اما بایستی نانوالیاف پلی‌اتیلن‌اکسید-صمغ‌عربی-منتول در مطالعات حیوانی مورد بررسی قرار گیرند تا کارایی آن به‌عنوان پوشش فعال با خاصیت ضدسرطانی سنجیده شود.

۱.۵. نتیجه‌گیری

نانوالیاف پلی‌اتیلن‌اکسید، پلی‌اتیلن‌اکسید-صمغ‌عربی و پلی‌اتیلن‌اکسید-صمغ‌عربی-منتول به روش الکتروریسی آماده‌سازی و مشخصه‌یابی شد. با توجه به سمیت نانوالیاف پلی‌اتیلن‌اکسید-صمغ‌عربی-منتول بر روی سلول‌های سرطانی می‌توان از آن به‌عنوان یک پوشش فعال در کنار درمان‌های رایج به کار گرفته شود.

تشکر و قدردانی:

دانشگاه علوم پزشکی فسا این مطالعه را حمایت مالی کرده است: شماره گرنت ۴۰۱۳۶۶ و همچنین این مطالعه به تأیید کمیته اخلاق این دانشگاه رسیده است. IR.FUMS.REC.1401.238

مشارکت نویسندگان:

الف. ز. و م. الف.: اجرای آزمایش‌ها و تفسیر داده؛ س. ر. و م. الف.: نگارش و ویرایش مقاله.

References

- Bickers DR, Athar M. Oxidative stress in the pathogenesis of skin disease. *J Invest Dermatol*. 2006;**126**(12):2565-75. [PubMed ID:17108903]. <https://doi.org/10.1038/sj.jid.5700340>.
- Siegel RL, Miller KD, Wagle NS, Jemal A. Cancer statistics, 2023. *CA Cancer J Clin*. 2023;**73**(1):17-48. [PubMed ID:36633525]. <https://doi.org/10.3322/caac.21763>.
- World Health Organization. Melanoma Awareness Month 2022. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2022. [Cited:2023]. Available from: <https://www.iarc.who.int/news-events/melanoma-awareness-month-2022/>.
- Crawford AB, Nessim C, Weaver J, van Walraven C. Wait Times for Melanoma Surgery: Is There an Association with Overall Survival? *Ann Surg Oncol*. 2018;**25**(1):265-70. [PubMed ID:29101504]. <https://doi.org/10.1245/s10434-017-6146-2>.
- Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer*. 2010;**127**(12):2893-917. [PubMed ID:21351269]. <https://doi.org/10.1002/ijc.25516>.
- Boyle GM. Therapy for metastatic melanoma: an overview and update. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2011;**11**(5):725-37. [PubMed ID:21554048]. <https://doi.org/10.1586/era.11.25>.
- Katipamula R, Markovic SN. Emerging therapies for melanoma. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2008;**8**(4):553-60. [PubMed ID:18402522]. <https://doi.org/10.1586/14737140.8.4.553>.
- Vanneman M, Dranoff G. Combining immunotherapy and targeted therapies in cancer treatment. *Nat Rev Cancer*. 2012;**12**(4):237-51. [PubMed ID:22437869]. [PubMed Central ID:PMC3967236]. <https://doi.org/10.1038/nrc3237>.
- He Y, Li W, Zhang J, Yang Y, Qian Y, Zhou D. The Curcumin Analog EF24 is Highly Active Against Chemotherapy-Resistant Melanoma Cells. *Curr Cancer Drug Targets*. 2021;**21**(7):608-18. [PubMed ID:33655859]. <https://doi.org/10.2174/1568009621666210303092921>.
- Massi D, Brusa D, Merelli B, Ciano M, Audrito V, Serra S, et al. PD-L1 marks a subset of melanomas with a shorter overall survival and distinct genetic and morphological characteristics. *Ann Oncol*. 2014;**25**(12):2433-42. [PubMed ID:25223485]. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdu452>.
- Vincent KM, Postovit LM. Investigating the utility of human melanoma cell lines as tumour models. *Oncotarget*. 2017;**8**(6):10498-509. [PubMed ID:28060736]. [PubMed Central ID:PMC5354675]. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.14443>.
- Pacheco I, Buzea C, Tron V. Towards new therapeutic approaches for malignant melanoma. *Expert Rev Mol Med*. 2011;**13**:e33. [PubMed ID:22044938]. <https://doi.org/10.1080/14737140.2011.614622>.

تضاد منافع:

نویسندگان اظهار داشتند که فاقد هرگونه تضاد منافع هستند.

بازيابی داده‌ها:

داده با درخواست منطقی از نویسندگان مسئول قابل ارایه است.

کد اخلاق:

این مطالعه به تأیید کمیته اخلاق دانشگاه دانشکاه علوم پزشکی فسا رسیده است. IR.FUMS.REC.1401.238

حمایت مالی /معنوی:

دانشگاه علوم پزشکی فسا این مطالعه را حمایت مالی کرده است: شماره گرنت ۴۰۱۳۶۶ و همچنین این مطالعه به تأیید کمیته اخلاق این دانشگاه رسیده است.

[org/10.1017/S146239941100202X](https://doi.org/10.1017/S146239941100202X).

- Tran MA, Watts RJ, Robertson GP. Use of liposomes as drug delivery vehicles for treatment of melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res*. 2009;**22**(4):388-99. [PubMed ID:19493316]. [PubMed Central ID:PMC2770731]. <https://doi.org/10.1111/j.1755-148X.2009.00581.x>.
- Shishesaz P, Mahdavi-Ourtakand M, Bakhti M, Baghbani-Arani F. [Evaluation of Cytotoxic and Apoptotic Effects of Green Synthesized Zn Oxide Nanoparticles on the MCF-7 breast cancer Cell Line]. *Koomesh J*. 2023;**25**(2):270-8. Persian.
- Bei D, Meng J, Youan BB. Engineering nanomedicines for improved melanoma therapy: progress and promises. *Nanomed (Lond)*. 2010;**5**(9):1385-99. [PubMed ID:21128721]. [PubMed Central ID:PMC3685319]. <https://doi.org/10.2217/nnm.10.117>.
- Liao J, Wang C, Wang Y, Luo F, Qian Z. Recent advances in formation, properties, and applications of polymersomes. *Curr Pharm Des*. 2012;**18**(23):3432-41. [PubMed ID:22632981]. <https://doi.org/10.2174/138161212801227050>.
- Sharifi S, Behzadi S, Laurent S, Forrest ML, Stroeve P, Mahmoudi M. Toxicity of nanomaterials. *Chem Soc Rev*. 2012;**41**(6):2323-43. [PubMed ID:22170510]. [PubMed Central ID:PMC4703119]. <https://doi.org/10.1039/c1cs15188f>.
- Ambekar RS, Kandasubramanian B. Advancements in nanofibers for wound dressing: A review. *Europ Polym J*. 2019;**117**:304-36. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2019.05.020>.
- Homaeigohar S, Boccaccini AR. Antibacterial biohybrid nanofibers for wound dressings. *Acta Biomater*. 2020;**107**:25-49. [PubMed ID:32084600]. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.02.022>.
- Verma C, Quraishi MA. Gum Arabic as an environmentally sustainable polymeric anticorrosive material: Recent

- progresses and future opportunities. *Int J Biol Macromol*. 2021;**184**:118-34. [PubMed ID:34119540]. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.06.050>.
21. Ali BH, Ziada A, Blunden G. Biological effects of gum arabic: a review of some recent research. *Food Chem Toxicol*. 2009;**47**(1):1-8. [PubMed ID:18672018]. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.07.001>.
 22. Gamal el-din AM, Mostafa AM, Al-Shabanah OA, Al-Bekairi AM, Nagi MN. Protective effect of arabic gum against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Pharmacol Res*. 2003;**48**(6):631-5. [PubMed ID:14527829]. [https://doi.org/10.1016/s1043-6618\(03\)00226-3](https://doi.org/10.1016/s1043-6618(03)00226-3).
 23. Rihova M, Lepcio P, Cicmancova V, Frumarova B, Hromadko L, Bures F, et al. The centrifugal spinning of vitamin doped natural gum fibers for skin regeneration. *Carbohydr Polym*. 2022;**294**:119792. [PubMed ID:35868761]. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119792>.
 24. Ma L, Deng L, Chen J. Applications of poly(ethylene oxide) in controlled release tablet systems: a review. *Drug Dev Ind Pharm*. 2014;**40**(7):845-51. [PubMed ID:24001212]. <https://doi.org/10.3109/03639045.2013.831438>.
 25. Kianfar P, Vitale A, Dalle Vacche S, Bongiovanni R. Photo-crosslinking of chitosan/poly(ethylene oxide) electrospun nanofibers. *Carbohydr Polym*. 2019;**217**:144-51. [PubMed ID:31079670]. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.04.062>.
 26. Lin SH, Ou SL, Hsu HM, Wu JY. Preparation and Characteristics of Polyethylene Oxide/Curdlan Nanofiber Films by Electrospinning for Biomedical Applications. *Materials (Basel)*. 2023;**16**(10). [PubMed ID:37241490]. [PubMed Central ID:PMC10220793]. <https://doi.org/10.3390/ma16103863>.
 27. Isopenicu GO, Covaliu-Mierla CI, Deleanu IM. From Plants to Wound Dressing and Transdermal Delivery of Bioactive Compounds. *Plants (Basel)*. 2023;**12**(14). [PubMed ID:37514275]. [PubMed Central ID:PMC10386126]. <https://doi.org/10.3390/plants12142661>.
 28. Blot WJ, Cohen SS, Aldrich M, McLaughlin JK, Hargreaves MK, Signorello LB. Lung cancer risk among smokers of menthol cigarettes. *J Natl Cancer Inst*. 2011;**103**(10):810-6. [PubMed ID:21436064]. [PubMed Central ID:PMC3096798]. <https://doi.org/10.1093/jnci/djr102>.
 29. Kamatou GP, Vermaak I, Viljoen AM, Lawrence BM. Menthol: a simple monoterpene with remarkable biological properties. *Phytochemistry*. 2013;**96**:15-25. [PubMed ID:24054028]. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2013.08.005>.
 30. Yosipovitch G, Szolar C, Hui XY, Maibach H. Effect of topically applied menthol on thermal, pain and itch sensations and biophysical properties of the skin. *Arch Dermatol Res*. 1996;**288**(5-6):245-8. [PubMed ID:8738567]. <https://doi.org/10.1007/BF02530092>.
 31. Rozza AL, Beserra FP, Vieira AJ, Oliveira de Souza E, Hussni CA, Martinez ERM, et al. The Use of Menthol in Skin Wound Healing-Anti-Inflammatory Potential, Antioxidant Defense System Stimulation and Increased Epithelialization. *Pharmaceutics*. 2021;**13**(11). [PubMed ID:34834317]. [PubMed Central ID:PMC8620938]. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13111902>.
 32. Wang Y, Wang X, Yang Z, Zhu G, Chen D, Meng Z. Menthol inhibits the proliferation and motility of prostate cancer DU145 cells. *Pathol Oncol Res*. 2012;**18**(4):903-10. [PubMed ID:22437241]. <https://doi.org/10.1007/s12253-012-9520-1>.
 33. Zhao Y, Pan H, Liu W, Liu E, Pang Y, Gao H, et al. Menthol: An underestimated anticancer agent. *Front Pharmacol*. 2023;**14**:1148790. [PubMed ID:37007039]. [PubMed Central ID:PMC10063798]. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1148790>.
 34. Qasemi H, Fereidouni Z, Karimi J, Abdollahi A, Zarenezhad E, Rasti F, et al. Promising antibacterial effect of impregnated nanofiber mats with a green nanogel against clinical and standard strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *J Drug Delivery Sci Technol*. 2021;**66**:102844. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2021.102844>.
 35. Espinosa-Andrews H, Baez-Gonzalez JG, Cruz-Sosa F, Vernon-Carter EJ. Gum arabic-chitosan complex coacervation. *Biomacromolecules*. 2007;**8**(4):1313-8. [PubMed ID:17375951]. <https://doi.org/10.1021/bm0611634>.
 36. Zarenezhad E, Abdollahi A, Esmaeili F, Satvati S, Osanloo M. A Fast-Degradable Nano-dressing with Potent Antibacterial Effect. *Bio Nano Sci*. 2020;**10**(4):983-90. <https://doi.org/10.1007/s12668-020-00790-6>.
 37. Osanloo M, Arish J, Sereshti H. Developed methods for the preparation of electrospun nanofibers containing plant-derived oil or essential oil: a systematic review. *Polymer Bulletin*. 2019;**77**(11):6085-104. <https://doi.org/10.1007/s00289-019-03042-0>.
 38. Rasti F, Yousefpoor Y, Abdollahi A, Safari M, Roozitalab G, Osanloo M. Antioxidative, anticancer, and antibacterial activities of a nanogel containing *Mentha spicata* L. essential oil and electrospun nanofibers of polycaprolactone-hydroxypropyl methylcellulose. *BMC Complement Med Ther*. 2022;**22**(1):261. [PubMed ID:36207726]. [PubMed Central ID:PMC9540714]. <https://doi.org/10.1186/s12906-022-03741-8>.
 39. Roozitalab G, Yousefpoor Y, Abdollahi A, Safari M, Rasti F, Osanloo M. Antioxidative, anticancer, and antibacterial activities of a nanoemulsion-based gel containing *Myrtus communis* L. essential oil. *Chemical Papers*. 2022;**76**(7):4261-71. <https://doi.org/10.1007/s11696-022-02185-1>.
 40. Asghari F, Rabiei Faradonbeh D, Malekshahi ZV, Nekounam H, Ghaemi B, Yousefpoor Y, et al. Hybrid PCL/chitosan-PEO nanofibrous scaffolds incorporated with *A. euchroma* extract for skin tissue engineering application. *Carbohydr Polym*. 2022;**278**:118926. [PubMed ID:34973744]. <https://doi.org/10.1016/j>

- carbpol.2021.118926.
41. Salami MS, Bahrami G, Arkan E, Izadi Z, Miraghaee S, Samadian H. Co-electrospun nanofibrous mats loaded with bitter melon (*Momordica charantia*) extract as the wound dressing materials: in vitro and in vivo study. *BMC Complement Med Ther.* 2021;**21**(1):111. [PubMed ID:33827547]. [PubMed Central ID:PMC8028699]. <https://doi.org/10.1186/s12906-021-03284-4>.
 42. Fereydouni N, Zangouei M, Darroudi M, Hosseinpour M, Gholoobi A. Antibacterial activity of chitosan-polyethylene oxide nanofibers containing silver nanoparticles against aerobic and anaerobic bacteria. *J Mol Structure.* 2023;**1274**:134304. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.134304>.
 43. Mira A, Rubio-Camacho M, Alarcon D, Rodriguez-Canas E, Fernandez-Carvajal A, Falco A, et al. L-Menthol-Loadable Electrospun Fibers of PMVEMA Anhydride for Topical Administration. *Pharmaceutics.* 2021;**13**(11). [PubMed ID:34834260]. [PubMed Central ID:PMC8618103]. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13111845>.
 44. Uyar T, Nur Y, Hacaloglu J, Besenbacher F. Electrospinning of functional poly(methyl methacrylate) nanofibers containing cyclodextrin-menthol inclusion complexes. *Nanotechnol.* 2009;**20**(12):125703. [PubMed ID:19420480]. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/20/12/125703>.
 45. Wu X, Li P, Cong L, Yu H, Zhang D, Yue Y, et al. Electrospun poly(vinyl alcohol) nanofiber films containing menthol/ β -cyclodextrin inclusion complexes for smoke filtration and flavor retention. *Colloids Surfaces : Physicochemical Engineer Aspects.* 2020;**605**:125378. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2020.125378>.
 46. Park EY, Murakami H, Matsumura Y. Effects of the addition of amino acids and peptides on lipid oxidation in a powdery model system. *J Agric Food Chem.* 2005;**53**(21):8334-41. [PubMed ID:16218685]. <https://doi.org/10.1021/jf058063u>.
 47. Al-Jubori Y, Ahmed NTB, Albusaidi R, Madden J, Das S, Sirasanagandla SR. The Efficacy of Gum Arabic in Managing Diseases: A Systematic Review of Evidence-Based Clinical Trials. *Biomol.* 2023;**13**(1). [PubMed ID:36671523]. [PubMed Central ID:PMC9855968]. <https://doi.org/10.3390/biom13010138>.
 48. Kattumuri V, Katti K, Bhaskaran S, Boote EJ, Casteel SW, Fent GM, et al. Gum arabic as a phytochemical construct for the stabilization of gold nanoparticles: in vivo pharmacokinetics and X-ray-contrast-imaging studies. *Small.* 2007;**3**(2):333-41. [PubMed ID:17262759]. <https://doi.org/10.1002/sml.200600427>.
 49. Talebpour Amiri F, Mirzaee F, Fadaee Heydarabadi P, Enayatifard R, Goli H, Shahani S. [The effect of a topical ointment containing methanol extract of *Buxus hyrcana* Pojark. leaves on cutaneous wound healing in rats]. *Koomesh J.* 2023;**25**(1):48-56. Persian.
 50. Ionescu OM, Mignon A, Iacob AT, Simionescu N, Confederat LG, Tuchilus C, et al. New Hyaluronic Acid/ Polyethylene Oxide-Based Electrospun Nanofibers: Design, Characterization and In Vitro Biological Evaluation. *Polymers (Basel).* 2021;**13**(8). [PubMed ID:33920998]. [PubMed Central ID:PMC8071366]. <https://doi.org/10.3390/polym13081291>.
 51. McKemy DD, Neuhauser WM, Julius D. Identification of a cold receptor reveals a general role for TRP channels in thermosensation. *Nature.* 2002;**416**(6876):52-8. [PubMed ID:11882888]. <https://doi.org/10.1038/nature719>.
 52. Kijpornyongpan T, Sereemasapun A, Chanchao C. Dose-dependent cytotoxic effects of menthol on human malignant melanoma A-375 cells: correlation with TRPM8 transcript expression. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014;**15**(4):1551-6. [PubMed ID:24641366]. <https://doi.org/10.7314/apjcp.2014.15.4.1551>.
 53. Yamamura H, Ugawa S, Ueda T, Morita A, Shimada S. TRPM8 activation suppresses cellular viability in human melanoma. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2008;**295**(2):C296-301. [PubMed ID:18524940]. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00499.2007>.

Research Article

Preparation and Characterization of Polyethylene Oxide, Polyethylene Oxide-Gum Arabic, and Polyethylene Oxide-Gum Arabic-Menthol Nanofibers and Their Toxicity on Melanoma Cancer Cells and Healthy Human Skin

Elaham Zarenezhad¹, Sosan Raisi², Mahmoud Osanloo^{1,*}

¹Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Iran

²Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

*Corresponding author: Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Iran. Email: osanloo_mahmood@yahoo.com

Received 28/08/2023; Accepted 11/06/2024

Abstract

Introduction: As the largest organ of the body, the skin is exposed to physical, chemical and biological damage, and skin cancer is one of the most common types of cancer. Due to side effects and drug resistance, the development of herbal medicines using nanotechnology has received much attention.

Materials and methods: In this study, three types of nanofibers were prepared by electrospinning method, and prepared nanofiber were evaluated by SEM and FTIR analyses. Next, the toxicity of these nanofibers was investigated on melanoma cancer cells (A-375) and healthy cells (HFFF2) of human skin.

Results: Polyethylene oxide nanofibers with an average diameter of 9 ± 187 nm, polyethylene oxide-gum arabic nanofibers with an average diameter of 27 ± 200 nm, and polyethylene oxide-gum arabic-menthol with a diameter of 46 ± 338 nm were prepared. The morphology of these nanofibers was investigated with the help of scanning electron microscope. The results showed that polyethylene oxide-gum arabic-menthol nanofibers had the most toxic effect on cancer cells, which is significantly less on healthy skin cells.

Conclusion: Due to the non-toxicity of polyethylene oxide-gum arabic-menthol nanofibers on healthy skin cells, it can be used as a non-toxic wound dressing after complete in-vivo studies.

Keywords: Medical Nanotechnology; Herbal Medicine; Skin Cancer; Electrospinning Running Title; Polyethylene Oxide-Gum Arabic-Menthol Nanofibers