DOR: 20.1001.1.23832738.1401.35.2.1.7

به کارگیری پپتیدهای ضدسرطانی و نفوذپذیر سلولی در درمان سرطان

یاسمین خوارزمی خراسانی[۱] و احمد آسوده[۱،۲]*

[۱] **ایران، مشهد، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده علوم، گروه شیمی**

[۲] **ایران، مشهد، دانشگاه فردوسی مشهد، پژوهشکده فناوری زیستی**

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۲/۰۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۳/۲۴

چکیده

امروزه سرطان یکی از عوامل اصلی مرگ و میر در جهان درنظرگرفته می‌شود. استفاده از روشهای رایج برای درمان سرطان از جمله شیمی درمانی به دلیل ایجاد مقاومت دارویی و عدم اختصاصی بودن برای تومورها دارای محدودیتهایی شده‌اند. بنابراین، شناسایی روشهای جدید حائز اهمیت می‌باشد. پپتیدها به دلیل عواملی نظیر اندازه کوچک، سنتز راحت، فعالیت و ویژگی بالا و تنوع بیولوژیکی توجه دانشمندان را به خود جلب کرده است. از جمله پپتیدهای درمانی که در سالهای اخیر به منظور درمان سرطان مورد توجه قرارگرفته‌اند، می‌توان پپتیدهای کاتیونی ضدسرطانی و پپتیدهای نفوذپذیر سلولی را نام برد. در این پژوهش، تعدادی از مطالعات موجود در زمینه پپتیدهای ضدسرطانی و پپتیدهای نفوذپذیر مورد نقد و بررسی قرار گرفتند. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که پپتیدهای ضدمیکروبی با خاصیت ضدسرطانی از طریق سازوکارهای غشایی و غیرغشایی بر علیه سلولهای سرطانی و تومورها عمل می‌کنند. همچنین پپتیدهای نفوذپذیر سلولی کونژوگه شده به عوامل درمانی از طریق غلبه بر مقاومت دارویی به عنوان یک سازوکار مؤثر در درمان سرطان درنظرگرفته می‌شوند. علاوه بر این، پپتیدهای ضدسرطانی و نفوذپذیر سلولی به دلیل عواملی همچون سمیت اندک، نحوه عمل و توانایی نفوذ در غشای سلولی می‌توانند به عنوان یک کاندیدا در درمان سرطان پیشنهاد شوند. با این وجود، مطالعات بیشتری به منظور درک سازوکار عمل این پپتیدهای با پتانسیل درمانی مورد نیاز است.

واژه های کلیدی: سرطان؛ پپتیدهای ضدمیکروبی؛ پپتیدهای ضدسرطانی؛ پپتیدهای نفوذپذیر سلولی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۵۱۳۸۸۰۵۵۲۵، پست الکترونیکی: asoodeh@um.ac.ir

مقدمه

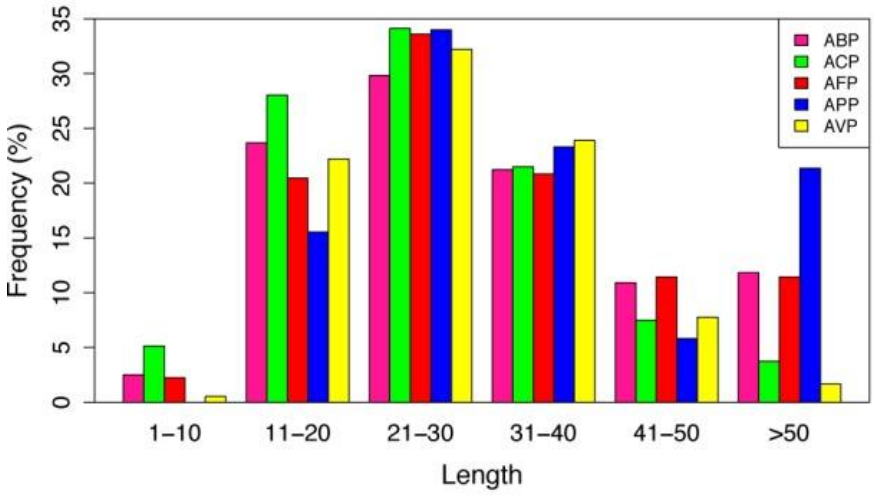
سرطان پس از بیماری قلبی–عروقی به عنوان دومین عامل مرگ و میر در جهان شناخته شده است. این بیماری در سال ۲۰۱۸ مسئول بیش از ۹/۲ میلیون مرگ و میر تخمین زده شد (۱۵). در سالهای اخیر روشهای درمانی مختلفی از جمله شیمی درمانی، رادیوتراپی و جراحی در درمان سرطان به کار برده می‌شوند (۶۹). از معایب این روشها می‌توان به هزینه بالا، اختصاصی نبودن برای تومورها و عوارض جانبی ناشی از آنها اشاره نمود (۶۹). به عنوان مثال داروی Doxorubicin اگرچه در حال حاضر به عنوان یک ترکیب شیمی درمانی برای درمان بسیاری از تومورها استفاده می‌شود اما به دلیل ایجاد آسیبهای اکسیداتیو در اندامهای مختلف دارای اثرات جانبی می‌باشد (۷۰). همچنین گزارش شده است که برخی از عوامل شیمی درمانی نظیر سیکلوفسفامید منجر به ایجاد بدخیمیهای ثانویه می‌شوند (۱۹). بنابراین شناسایی روشهای درمانی جدید با اثرات جانبی کمتر حائز اهمیت می‌باشد.

پپتیدها توالی آمینواسیدی کوچکی با تنوع بیولوژیکی گسترده‌ای می‌باشند. ساختار پروتئین و پپتیدها بسیار مشابه هستند. فاکتورهای متمایزکننده اصلی پپتیدها از پروتئینها

DOR: 20.1001.1.23832738.1401.35.2.1.7

اندازه و ساختار آنها است. در واقع پپتیدها به عنوان مولکولهایی در نظر گرفته می‌شوند که دارای ۲ الی ۵۰ آمینواسید هستند، درحالی‌که پروتئینها شامل بیش از ۵۰ آمینواسید می‌باشند (۱۱۵). پپتیدها در تمام سلولها و بافتهای انسانی یافت می‌شوند و بسیاری از اعمال حیاتی مهم را برعهده دارند. انواع بسیاری از پپتیدها شناخته شده است که براساس منبع و عملکردشان طبقه بندی می‌شوند. از جمله گروههای پپتیدی می‌توان به پپتیدهای گیاهی، پپتیدهای باکتریایی، پپتیدهای قارچی و پپتیدهای آندوکرین اشاره نمود (۱۱۵). امروزه سنتز پپتیدها با روشهای گوناگونی مانند Solid-phase synthesis، Peptide coupling reagents، Solid supports، Microwave-assisted peptide synthesis، Green peptide و نیز Protecting groups schemes صورت می‌گیرد (۸۱). پپتیدها به دلیل فعالیت و ویژگی بالا، سنتز راحت، تنوع بیوشمیایی وبیولوژیکی و نیز توانایی عبور از غشای سلولی به عنوان یک کاندیدا درمانی مناسب پیشنهاد می‌شوند (۷۰). همچنین اندازه کوچک این ترکیبات منجر به دفع سریع آنها از گردش خون از طریق فیلتراسیون کلیه می‌شود. علاوه براین، پپتیدها در اندامهایی همچون کبد تجمع پیدا نمی کنند که در نتیجه منجر به کاهش اثر جانبی آنها می‌گردد (۷۰). امروزه پپتیدها می‌توانند به روشهایی همچون حمل داروهای سیتوتوکسیک، واکسن و هورمون‌ها در درمان سرطان مورد استفاده قرار گیرند (۹۸). با وجود مزایای فراوان، پپتیدها دارای نقضهایی از جمله نیمه عمر کوتاه و مقاومت اندک در برابر انهدام توسط پروتئازها می‌باشند که استفاده از آنها را دچار محدودیت کرده است (۷۰). اکثر پپتیدهای ضدسرطانی دارای توالی آمینواسیدی کوتاه می‌باشند به گونه‌ای که نتایج مطالعات نشان می‌دهد که پپتیدهایی با توالی آمینواسیدی کوتاه‌تر به دلیل تحرک و انتشار مولکولی بیشتر به طور مؤثرتری با فسفولیپیدهای غشای سلولهای سرطانی برهمکنش برقرار می‌کند (۱۷ و ۸۳). Ren و همکاران دریافتند که پپتید کوتاه شده FK-16 (۱۶ اسیدآمینه) مشتق شده از LL-37 (۳۷ اسیدآمینه) دارای اثرات قوی‌تری بر روی سلولهای سرطانی کولون در مقایسه با پپتید LL-37 می‌باشد (۸۳). در مطالعه‌ای دیگر نشان داده شد که پپتیدهای aurein، citropin، maculatin و caerin اگرچه دارای توالی مشابه می‌باشند، یکپارچگی لایه‌های غشایی را از طریق سازوکارهای مختلف تحت تاثیر قرار می‌دهند. در واقع پپتیدهای کوتاه‌تر aurein و citropin یک مکانیسم تعامل سطحی را نشان می‌دهند در حالی‌که پپتیدهای طویل‌تر maculatin و caerin ممکن است منافذی در غشاها تشکیل دهند (۲۸). گزارشات نشان می‌دهد که از ۲۱۴، پپتیدهای ضدمیکروبی با خاصیت ضدسرطانی (ACP) در بانک اطلاعاتی ۳۴/۱۱ درصد از پپتیدها دارای توالی ۳۰-۲۱ اسیدآمینه و ۲۸/۰۴ درصد دارای توالی ۲۰-۱۱ اسید آمینه هستند. با توجه به **شکل ۱** می‌توان دریافت که بهینه ترین طول برای پپتیدهای ACP در محدوده ۳۰-۲۱ اسیدآمینه است و با افزایش طول اسیدآمینه‌ها تعداد پپتیدهای دارای فعالیت ضدسرطانی کاهش می‌یابد (۹۲). همچنین در مطالعه‌ای دیگر نشان داده شد که ۴۴ درصد از پپتیدهای ضدسرطانی گیاهی بررسی شده دارای توالی ۳۰-۲۵ اسیدآمینه می‌باشند و اسیدهای آمینه سرین، گلسین و سیستئین بیشترین فراوانی را دارند (۱). در سال‌های اخیر، مطالعات وسیعی به بررسی کاربرد پپتیدها در درمان بیماریهای مختلف از جمله انواع سرطانها پرداخته‌اند (۴۷ و ۷۰). به کارگیری پپتیدهای درمانی به عنوان یک رویکرد جدید و امیدوارکننده به منظور توسعه عوامل ضد سرطانی پیشنهاد می‌شوند. در حال حاضر، پپتیدهای درمانی برای درمان سرطان به گروههای مختلفی شامل پپتیدهای ضدمیکروبی و پپتیدهای نفوذ پذیر سلولی تقسیم می‌شوند (۱۴). در این مطالعه، به بررسی اثر پپتیدهای درمانی به عنوان عوامل ضد سرطانی پرداخته شد.

DOR: 20.1001.1.23832738.1401.35.2.1.7



شکل ۱- نمودار درصد توزیع پپتیدها بر اساس طول اسیدآمینه (۹۲)

Antibacterial Peptides (ABP), Anticancer peptides (ACP), Antifungal peptides (AFP), Antiparasitic peptides (APP) and Antiviral peptides (AVP)

مواد و روشها

پپتیدهای ضدمیکروبی با خاصیت ضدسرطانی (ACPs):

پپتیدهای ضدمیکروبی، توالیهای کوتاه و کاتیونیک (دارای بار مثبت +۲ تا ۹) می‌باشند که به طور طبیعی در اکثر موجودات زنده وجود دارند (۴۱). این پپتیدها برای پاسخ ایمنی ذاتی ارگانیسمها ضروری می‌باشند و فعالیت گسترده‌ای علیه طیف وسیعی از عوامل بیماریزا ازجمله باکتریها و ویروسها را نشان می‌دهند (۲، ۷، ۸ و ۳۵). اهداف اصلی پپتیدهای ضدمیکروبی باکتریهای گرم مثبت و منفی می‌باشند با این وجود، این پپتیدها بر علیه ویروسها و قارچها نیز فعال می‌شوند (۳۴ و ۱۱۴). در حال حاضر، طیف گسترده‌ای از پپتیدهای ضدمیکروبی با منشاء طبیعی و سنتزی شناخته شده است (۴۱). پپتیدهای ضدمیکروبی دیواره‌ی سلولی باکتریها را مورد هدف قرار می‌دهند و از طریق ایجاد برهمکنش الکترواستاتیک موجب از بین رفتن عملکرد و در نهایت مرگ باکتریها می‌شوند (۲۶). چگالی بالای ترکیبات دارای بار منفی نظیر فسفاتیدیل کولین، فسفاتیدیل سرین و کاردیولیپین در سطح غشای باکتریها سبب تقویت اتصال این پپتیدها با غشاء می‌شود (۴۱). در واقع پپتیدهای ضدمیکروبی از حالتهای مختلف منجر به نفوذپذیری و از هم پاشیدگی غشاء می‌شوند. از جمله این روشها می‌توان به تشکیل منافذ در غشای لیپیدی (barrel-stave و toroidal)، مدل (carpet) و نازک شدن دو لایه غشایی اشاره نمود (۶، ۷۲ و ۷۶). شواهد نشان می‌دهد که خاصیت تخریب و ورود این پپتیدهای ضدمیکروبی به سلولها به عوامل مختلفی از جمله ساختار ثانویه پپتید، توالی آمینواسیدی، آبگریز بودن و بار خالص کلی بستگی دارد (۸۸). از دیگر فعالیتهای پپتیدهای ضدمیکروبی می‌توان به دخالت در تنظیم سیستم ایمنی از جمله تحریک تولید سیتوکینها و توانایی خنثی‌کننده لیپوپلی‌ساکارید (LPS) اشاره نمود (۸۵). امروزه چندین پپتید ضدمیکروبی برای درمان بیماریهایی نظیر سیستیک‌فیبروزیس و آکنه وارد فاز بالینی شده‌اند (۳۲ و ۴۸).

در سالهای اخیر، فعالیتهای ضدسرطانی برای پپتیدهای ضدمیکروبی گزارش شده است که در این صورت با نام پپتیدهای ضدسرطانی(ACPs) شناخته می‌شوند. امروزه پپتیدهای ضدمیکروبی فراوانی با فعالیت ضدسرطانی شناخته شده است **(جدول ۱)**.

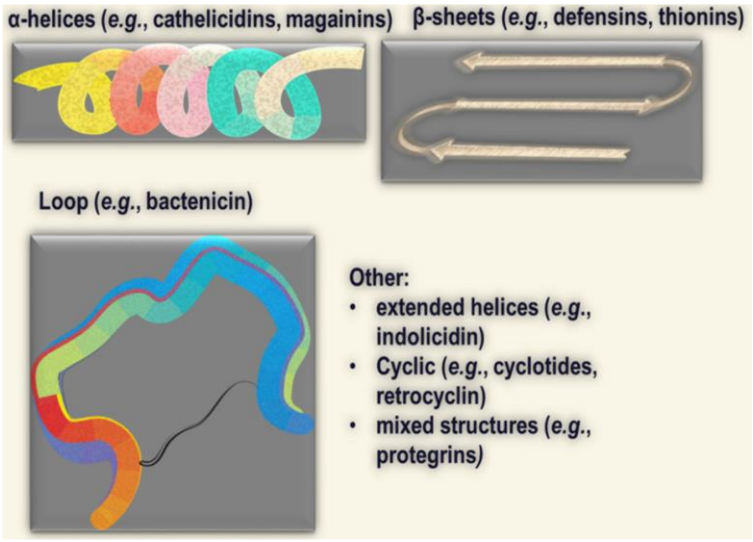
DOR: 20.1001.1.23832738.1401.35.2.1.7

جدول ۱- مثالهایی از ACPها و سازوکار اثر آنها در درمان سرطان

پپتید	توالی	بافت هدف	سازوکار	رفرنس
BMAP-28	GGLRSLGRKILRAWKKYGPIIVPII RI	لوسمی	نفوذپذیری غشاء/ هجوم کلسیم	(۸۴)
FK-16	FKRIVQRIKDFLRNLV	کولون	کاسپاز مستقل از آپوپتوز و اتوفاژی	(۸۳)
D-K6L9	LKLLKKLLKKLLKLL	پروستات	نکروز از طریق دپلاریزاسیون غشاء	(۷۹)
Cecropin B-LHRH	KWKVFKKIEKMGRNIRNGIVKAG PA–IAVLGEAKALSYGLRPG	سرطان تخمدان و آندومتریال	آپوپتوز	(۵۸)
BPC96	LKLKKFKKLQ	سرویکس	آپوپتوز	(۲۷)
MG2A	GIGKFLHSAKKFGKAFVGEIMNS GG-QRLGNQWAVGHLM		آپوپتوز و نکروز	(۶۳)
		ریه، سرویکس و ملانوما	ارتباط با گانگلیوزیدها و القاء آپوپتوز	
Buforin IIb	RAGLQFPVG[RLLR]3		القاء آپوپتوز	(۵۲)
Melittin	GIGAVLKVLTTGLPALISWIKRKR QQ	لوسمی و دهانه رحم	القاء آپوپتوز	(۱۰۳)
Pardaxin	GFFALIPKIISSPLFKTLLSAVGSAL SSSG-GQE	کارسینوما هپاتوسلولار	القاء آپوپتوز از طریق مسیر سیگنالینگ کاسپاز-۳	(۳۳)
K4R2-Nal2-S1	Ac-KKKKRR- β -naphthylalanine- β -naphthylalanine-KKWRKWLAKK-NH2	سرطان سلول سنگفرشی دهان	آپوپتوز	(۲۰)
KT2 , RT2	NGVQPKYKWWKWWKKWW-NH2, NGVQPKYRWWRW WRRWW-NH2	ریه	رهاسازی کلسیم و تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)	(۹۷)
Temporin-1CEa	FVDLKKIANIINSIF	دهانه رحم	آسیب به غشای سلولی	
human β-defensin-3	GIINTLQKYYCRVRGGRCAVLSC	پستان	القاء نکروز از طریق برهمکنش با فسفاتیدیل سرین	(۱۰۴)
CopA3	LPKEE–QIGKCSTRGRKCCRRKK	ریه		(۳۶)
Tilapia piscidin (TP) 4	مشخص نیست		اختلال در میکروتوبول	(۵۳)
LF11-322	FIHHIIGGLFSAGKAIHRLIRRRRR PFWRIRI	سلول های سرطانی معده	نکروز، اختلال در غشای سلولی و تنظیم کلسیم داخل سلولی	(۹۹)
Temporin-Ra	FLKPLFNAALKLLP	ریه	افزایش بیان IL-1β و IL-8 در سلولهای سرطانی	(۶۶)
Laterosporulin10	ACVNQCPDAIDRFIVKDKGCHGV EKKY-YKQVYVACMNGQHLYCRTEWG GPCQL	لوسمی	القاء آپوپتوز، تجزیه غشاء با آزادسازی لاکتات دهیدروژن	(۵)
myristoyl-CM4	GRWKIFKKIEKVGQNIRDGIVKA GPAVA–VVGQAATI-NH2	ریه	اختلال در میتوکندری، القاء آپوپتوز	(۱۰)
ChMAP-28		دهانه رحم و پستان پستان	نکروز	(۵۶)
Brevinin-2R	GRFKRFRKKLKRLWHKVGPFVGP ILHY KLKNFAKGVAQSLLNKASCKLSG QC	کلیه، پستان، ملانوما، لوسمی پستان	کاهش پتانسیل غشاء میتوکندری و فعال‌سازی مسیر مرگ لیزوزومی میتوکندریایی	(۲۴) (۳۱)

DOR: 20.1001.1.23832738.1401.35.2.1.7

از جمله ACPs می‌توان به Aurein 1.2 اشاره نمود که علاوه بر فعالیت علیه باکتریها دارای خاصیت ضدسرطانی علیه رده‌های مختلف سلولهای سرطانی می‌باشد (۴۱ و ۸۶). ACPs براساس ساختار به دو دسته اصلی α-helical و β-sheet تقسیم می‌شوند **(شکل ۲)**. این ساختارها، که از نظر طبیعت کاملاً آمفیپاتیک هستند، معمولاً از یک سمت غالباً کاتیونی تشکیل شده‌اند (۳۸). از سایر ساختارهای ACPsمی‌توان مارپیچ گسترده، حلقوی و ساختارهای ترکیبی را نام برد (۲۱). از ساختارهای α-helical می‌توان به BMAP و Cecropinها اشاره نمود و پپتیدهای β-sheet شامل Defensins، Lactoferricin و Tachyplesin I می‌شوند (۴۱).



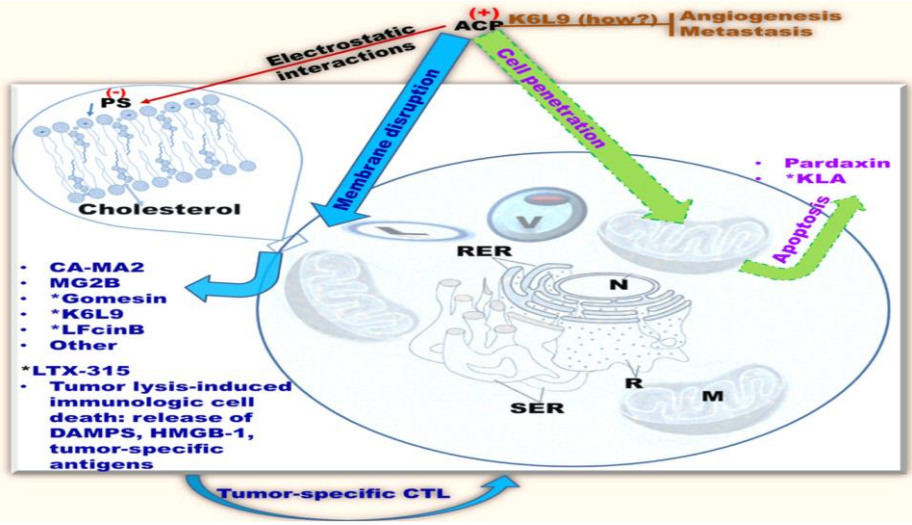
شکل ۲- ساختارهای مختلف پپتیدهای ACP (۲۱)

در دسته‌بندی دیگر ACPs براساس هدف خود به دو گروه اصلی تقسیم می‌شوند. در گروه اول هدف پپتیدهای ضدسرطانی، سلولهای سرطانی و میکروبها می‌باشند درحالی‌که اثری بر سلولهای سالم ندارند (Magaininها) (۴۱). دسته دوم شامل پپتیدهایی هستند که سلولهای سرطانی، میکروبها و سلولهای طبیعی را مورد هدف قرار می‌دهند (HNP-1:Human Neutrophil Defensins) (۴۱).

ACPsعلاوه بر ساختار و هدف موردنظر بر اساس سازوکار عمل به دو دسته اصلی غشایی و غیرغشایی تقسیم می‌شوند. مشابه مدلهای carpet و barrel-stave که به منظور برهمکنش پپتیدهای ضدمیکروبی با غشاء باکتریها و تخریب غشاء تعریف شده است در ارتباط با ACPs نیز صورت می‌گیرد (۸۷). در مکانیسم غشایی پپتیدهای ضدمیکروبی با غشای سلولهای سرطانی برهمکنش برقرار می‌کنند و منجر به تحریک مرگ سلولی از طریق ایجاد نکروز و یا آپوپتوز می‌شوند (۳۰). در حالت نکروز این پپتیدها با مولکولهای دارای بار منفی در سطح غشای سلولهای سرطانی برهمکنش ایجاد می‌کنند و سبب تخریب سلولی می‌شوند، در واقع ACPs پس از ایجاد اتصال با غشای سلولهای سرطانی به فضای داخل سلول نفوذ می‌کنند و منجر به اختلال غشای سلولی همراه با ایجاد حفره می‌شوند. درحالی‌که در سازوکار غشایی دیگر پپتیدهای ضدمیکروبی منجر به تخریب و از بین رفتن غشای میتوکندری، آزادسازی سیتوکروم c و درنهایت آپوپتوز می‌شوند (۳۰) **(شکل ۳)**. جدول ۱ به بررسی تعدادی از ACPs و سازوکارهای عمل آنها در درمان سرطان پرداخته است. پپتید Tilapia piscidin (TP) 4 اثر سمیت سلولی بر روی سلولهای A549 ریه از طریق اختلال در ساختار میکروتوبول‌ها نشان داد. در واقع به نظر می‌رسد سازوکار این پپتید به برهمکنش بین Tilapia piscidin (TP) 4 و α-Tubulin ارتباط دارد (۹۹). Li و همکاران نشان دادند افزایش هیدروفوبیسیته از طریق

DOR: 20.1001.1.23832738.1401.35.2.1.7

میریستیلاسیون پپتید می‌توانند به عنوان گزینه‌ای برای استفاده از ACPها در درمان سرطان پیشنهاد شود. آنها نشان دادند که پپتید CM4 میریستیله شده منجر به مورد هدف قرار دادن و تخریب میتوکندری از طریق سازوکارهایی همچون تغییرات پتانسیل غشای میتوکندری، آزادسازی سیتوکروم c و نیز افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌گردد. علاوه‌براین، پپتید ذکرشده سبب فعال سازی کاسپاز ۹ و۳ و درنتیجه تحریک آپوپتوز می‌شود (۵۶).



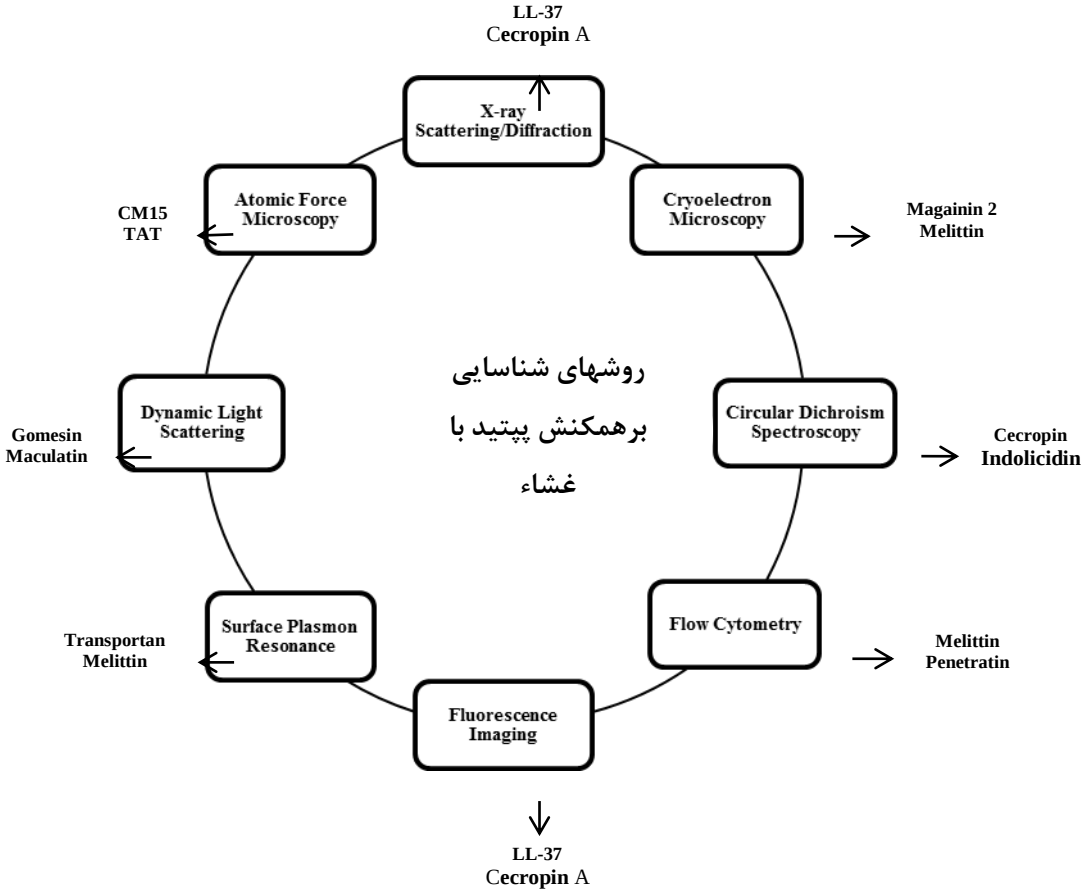
شکل ۳- سازوکارهای غشایی پپتیدهای ACP شامل آپوپتوز و نکروز (۲۱)

همچنین پپتید Paradaxin شناسایی شده از marine fish از طریق فعال‌سازی کاسپاز ۳ و نیز توقف چرخه سلولی در فاز G2/M و در نتیجه مهار تکثیر سلولی در سلولهای SCC-4 عمل می‌کند (۳۳). در مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۸ نشان داده شد که پپتید Brevinin-2R منجر به کاهش پتانسیل غشای میتوکندری و میزان ATP سلولی و نیز افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود. علاوه‌براین، مرگ سلولی ناشی از Brevinin-2R مستقل از فعال سازی کاسپاز می‌باشد و ممکن است که توسط اعضای خانواده Bcl2 تعدیل گردد (۳۱). پپتید Melittin منجر به فعال سازی آپوپتوز از طریق فعال‌سازی پروتئین کیناز Ca^{2+} /calmodulin ، transforming growth factor β-activated kinase و نیز مسیر JNK/p38 MAPK می‌گردد. نتایج نشان داده است که در حضور شلاتور کلسیم به دلیل عواملی همچون مهار پروتئین کیناز Ca^{2+} /calmodulin، JNK و P38 منجر به مهار اثر آپوپتوزی Melittin می‌گردد (۱۰۳). تعدادی از پپتیدهای ضدسرطانی از طریق مرگ سلولی نکروز عمل می‌کنند. Lu و همکاران دریافتند که تیمار سلولهای لوسمی با پپتید LF11-322 منجر به نکروز از طریق اختلال غشاء و نیز افزایش غلظت کلسیم می‌گردد (۶۶). درحالی‌که نشانه‌های آپوپتوز همچون تراکم کروماتین و افزایش پروتئینهای پروآپوپتوز پس از تیمار مشاهده نشده است (۶۶). همچنین نتایج نشان داده است که اثر سمیت پپتید ChMAP-28 با توجه به نفوذپذیری غشای سیتوپلاسمی به دلیل بروز نکروز می‌باشد و اثری بر روی آپوپتوز ایجاد نمی‌کند (۲۴).

امروزه روشهای بیوفیزیکی گوناگونی به منظور شناسایی و درک تعامل پپتیدها با غشای سلولی شناخته شده است (۹ و ۱۰۰). در **شکل ۴** تعدادی از روشهای شناخته شده برهمکنش پپتیدها با غشاء و نیز نمونه‌ای از پپتیدهای شناخته شده با این روشها نشان داده شده است. به عنوان مثال در روش fluorescence spectroscopy می‌توان اطلاعات مربوط به میل ترکیبی غشاء با پپتید مورد نظر،

DOR: 20.1001.1.23832738.1401.35.2.1.7

عمق پپتید و ثبات غشایی در اثر تعامل پپتید با غشاء را بررسی کرد. در روشAtomic force microscopy اطلاعاتی در ارتباط با بی‌ثبات‌سازی غشاء و تغییرات ساختاری آن در حضور پپتیدها کسب می‌شود. با استفاده از Circular dichroism spectroscopy، می‌توان ساختار ثانویه پپتیدها و تغییرات در ساختار ثانویه بر اثر تماس با غشاء در شرایط مختلف محیطی را مطالعه کرد (۹ و ۱۰۰) که از این روش برای پپتیدهایی از جمله Indolicidin و Cecropin استفاده شده است (۹).



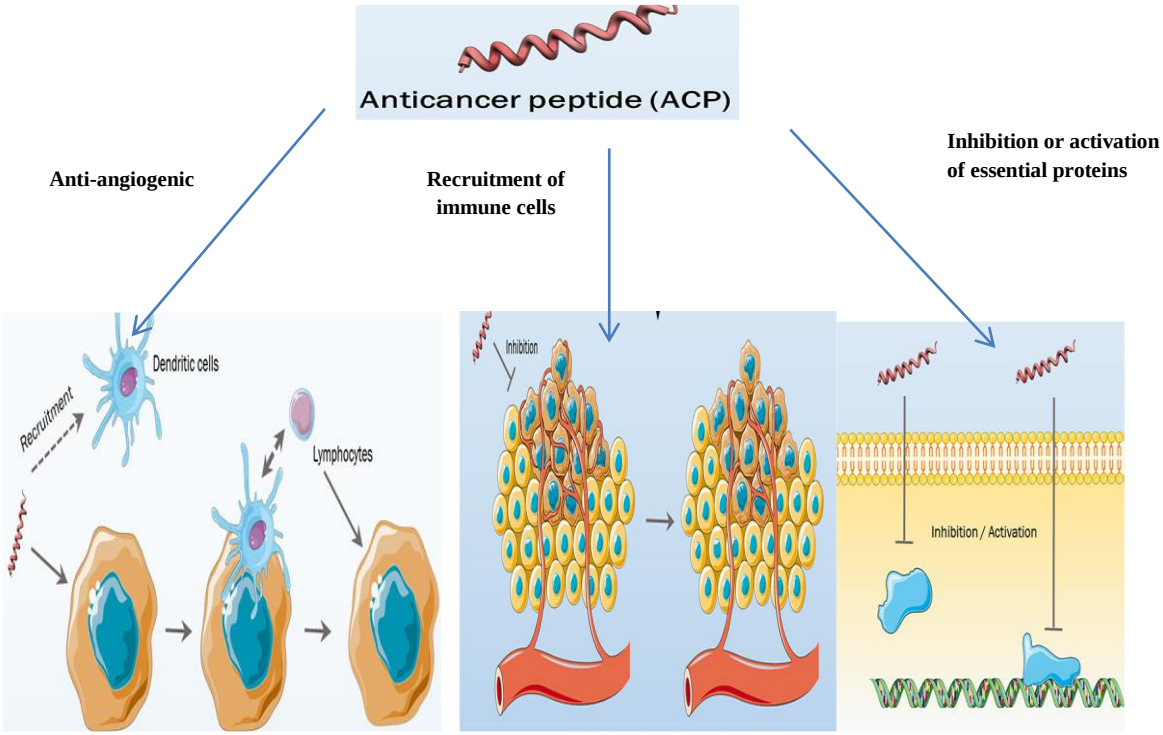
شکل ۴- روشهای بررسی برهمکنش پپتید با غشاء و نمونه‌ای از پپتیدهای شناخته شده با این روشها

فعالیتهای غیرغشایی ACPs : فعالیتهای ACPs تنها به اختلال در غشاء و تخریب میتوکندری محدود نمی‌شود و علاوه بر سازوکارهای غشایی دارای چندین فعالیت غیرغشایی از جمله مهار آنژیوژنز، دخالت در تنظیم سیستم ایمنی و مهار/تحریک پروتئینها می‌باشند **(شکل ۵)** (۱۰۸).

امروزه فعال سازی سیستم ایمنی به عنوان یک روش امیدوارکننده در درمان سرطان مطرح است. مطالعات اخیر به بررسی کاربرد واکسنها به منظور ایجاد ایمنی علیه سرطان پرداخته‌اند. در سطح سلولهای تومور، آنتی‌ژنهایی به نام آنتی‌ژنهای مرتبط با تومور (TAA) بیان می‌گردد که توسط سیستم ایمنی میزبان قابل تشخیص هستند. این TAAها به منظور القای پاسخ ایمنی سیستمیک به بیماران سرطانی تزریق می‌شود که ممکن است منجر به از بین رفتن سرطان در حال رشد در بافتهای مختلف بدن گردد (۹۸). سازوکار واکسن به گونه‌ای است که پس از تزریق، محصولات آنتی‌ژنی از طریق سلولهای ارائه دهنده آنتی‌ژن (APC) آندوسیتوز می‌شوند و به غدد لنفاوی مهاجرت

DOR: 20.1001.1.23832738.1401.35.2.1.7

می‌کنند. در نتیجه، منجر به فعال‌سازی سلولهای CD8 + T (لنفوسیتهای سمی T (CTL)) و CD4 + T می‌شوند. گیرنده آنتی‌ژن T بر روی سلولهای T، آنتی‌ژن کوچک واقع در شیار اتصال آنتی‌ژن مولکول MHC را تشخیص می‌دهند. در واقع APC منجر به ارائه آنتی‌ژن اتصال یافته به MHC به سلولهای T و سبب فعال سازی سلول T می‌گردد. در نهایت، تولید CTL ویژه تومور، سبب لیز سلولهای توموری می‌شود (۱۱، ۹۶ و ۹۸). سلولهای CD4 + T آنتی‌ژنهای متصل به مولکولهای MHC کلاس II را تشخیص می‌دهند. سلولهای CD4 + T به عنوان سلولهای کمکی عمل می‌کنند و منجر به ترشح سیتوکینها برای جذب بیشتر CTL می‌شود (۱۱، ۹۶ و ۹۸).



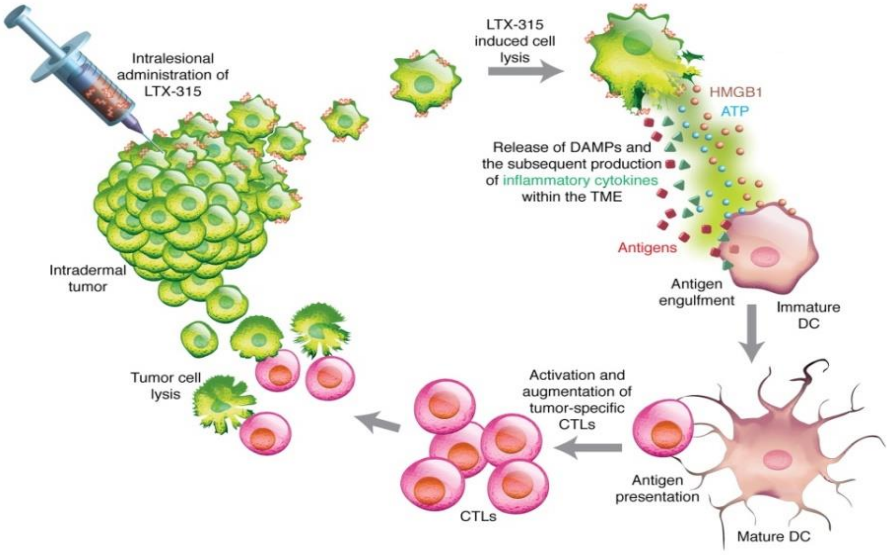
شکل ۵- سازوکارهای مختلف غیرغشایی پپتیدهای ACP (۲۶)

مکملهای ادجونت یک گروه از ترکیبات هستند که ممکن است پاسخ ایمنی را از طریق سازوکارهای مختلف افزایش دهند. مطالعات نشان می دهند پپتیدهای ضدمیکروبی با خاصیت ضدسرطانی می‌توانند به عنوان مکملهای واکسن در نظرگرفته شوند(۱۱ و ۹۸) . به عنوان مثال، Huang و همکاران به مطالعه واکسنی با استفاده از پپتید Shrimp anti-lipopolysaccharide factor (SALF) و عصاره غیرفعال سلولی کارسینوما مثانه موش (MBT-2) پرداختند. آنها دریافتند که این واکسن سبب افزایش فاکتورهای التهابی همچون IL-1β، IL-6 و IL-12 و نیز منجر به تحریک بیشتر ایجاد آنتی‌ژنهای توموری اختصاصی MBT-2 و بیان سلولهای سیتوتوکسیک T در مدل موشها می‌گردد (۴۳). در مطالعه‌ای دیگر، اثر پپتید ضدسرطانی pardaxin درترکیب با MBT-2 به عنوان واکسن سرطانی ارزیابی شد. نتایج نشان داد که به کارگیری pardaxin با MBT-2 منجر به کاهش رشد تومور در موشها می‌شود. علاوه براین، بیان رسپتورهای سلولهای T، سلولهای سمی T و سلولهای کشنده طبیعی (NK) افزایش می‌یابد (۴۴).

در مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۹ نشان داده شد که پپتید ضدسرطانی HNP-1 منجر به ایجاد پاسخ ایمنی به تومور در مدل موشهای سرطان پستان و کولون از طریق فعال‌سازی سلولهای دنتریتیک (DCs) گردید (۱۰۶). Camilio و همکاران دریافتند که برخی از ACPs منجر به

DOR: 20.1001.1.23832738.1401.35.2.1.7

ایجاد پاسخ ایمنی در برابر آنتی‌ژن‌های توموری از طریق آزادسازی مولکولهای (DAMPs) Danger-Associated Molecular Patterns نظیر ATP و پروتئین HMGB1 از سلولهای سرطانی می‌شوند (۱۶ و ۳۸). تزریق داخل توموری پپتید ضدسرطانی LTX-315 سبب القاء لیز سلولی از طریق بی‌ثبات‌سازی غشاها و آزادسازی DAMPs می‌گردد. این رهاسازی منجر به تحریک جذب آنتی‌ژنهای توموری توسط سلولهای DC و در نهایت بالغ‌سازی این سلولها می‌شود سپس ارائه بعدی آنتی‌ژنهای تومور به سلولهای T رخ می‌دهد (۱۶). در نهایت لنفوسیتهای T سیتوتوکسیک اختصاصی تومور (CTL) تولید می‌شود که منجر به نابودی سلولهای توموری می‌گردد **(شکل ۶)** (۱۶ و ۳۸).



شکل ۶- فعالیت تنظیمی سیستم ایمنی پپتید ضدسرطانی LTX-315 از طریق فعال سازی لنفوسیتهای T سیتوتوکسیک (CTLs) (۱۶)

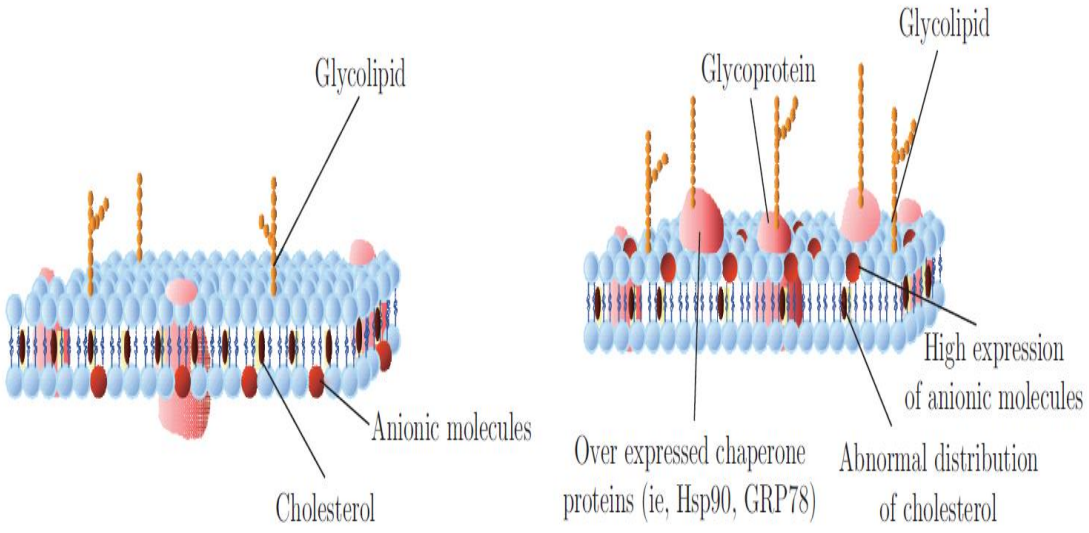
Yamazaki و همکاران در سال ۲۰۱۶ نشان دادند که پپتید ضدسرطانی LTX-315 در بسترهای توموری منجر به افزایش معناداری در سطح لوکوسیتهای +CD3 ازجمله لنفوسیتهای T، +CD4 و +CD8 می‌شود. درحالی‌که سطح سلولهای تنظیم کننده T +CD4 با عنوان +CD25 FoxP3+ و یا +CTLA4 +OX40 در اثر تماس با LTX-315 کاهش یافت (۱۱۰). ACPs همچنین ممکن است سبب ایجاد پاسخ ایمنی سیستمیک شوند که منجر به نابودی تمام سلولهای نئوپلاستیک، که این پاسخ ایمنی در اثر القاء آزادسازی DAMPها ناشی از ACP فعال می‌شود، می گردد (۳۸). Mader و همکاران دریافتند که پپتید LL-37 متعلق به خانواده Cathelicidin (۱۸) منجر به نابودی سلولهای تنظیمی T (Treg)، +CD4+CD25+FoxP3 از طریق آپوپتوز و ایجاد پاسخ ایمنی ضد توموری گردید (۶۷). علاوه بر این، نتایج مطالعات نشان داد پپتید ضدمیکروبی Brevinin-2R منجر به تحریک بیان فاکتورهای IL-1b، IL-6، IL-1β و IL-8 در سلولهای سرطانی HepG2 و A549 می‌گردد و دارای نقش مؤثری در تنظیم سیستم ایمنی می‌باشند (۶ و ۴۰).

از دیگر فعالیتهای غیرغشایی ACPs می‌توان مهار آنژیوژنز را نام برد. Koskimaki و همکاران در سال ۲۰۰۹ دریافتند که تجویز داخل صفاقی پپتیدهای Pentastatin-1، Chemokinostatin-1و Properdistatin در مدل سرطان پستان MDA-MB-231 منجر به سرکوب قابل توجهی از رشد تومور و مهار آنژیوژنز می‌گردد (۴۹). همچنین Wang و همکاران نشان دادند که پپتید HNP-1 منجر به مهار آنژیوژنز و افزایش آپوپتوز در مدل موشها گردید (۱۰۶).

DOR: 20.1001.1.23832738.1401.35.2.1.7

در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۱ نشان داده شد که پپتید ساختاری از N-myristoylated-peptide از طریق مهار همانندسازی و سنتز DNA بر روی چندین رده از سلولهای سرطانی از جمله ریه، پستان و کولون سازوکار ضدسرطانی غیرغشایی خود را ارائه می‌دهد (۷۷). به طور کلی نتایج نشان داد که ACPs علاوه بر سازوکارهای غشایی شامل آپوپتوز و نکروز از طریق فعالیتهای غیرغشایی اثر ضدسرطانی خود را به نمایش می‌گذارند.

تفاوت غشای سلولهای سالم و سرطانی: شواهد نشان می‌دهد که تفاوتهای گسترده‌ای بین غشای سلولهای سرطانی و سلولهای طبیعی وجود دارد که سبب شناسایی و برهمکنش ACPs با سلولهای بدخیم می‌گردد **(شکل ۷)**. به نظر می‌رسد، برهمکنش‌های الکترواستاتیک بین ACPsو ترکیبات دارای بار منفی روی سطح غشای سلولی به عنوان یک سازوکار اصلی در کشتار انتخابی سلولهای سرطانی توسط پپتیدهای ضدسرطانی در نظر گرفته می‌شود (۶۵). به عنوان مثال ترکیب فسفاتیدیل سرین در سلولهای سالم در لایه داخلی غشای پلاسمایی وجود دارد درحالی‌که در سلولهای سرطانی این تقارن میان غشاء داخلی و خارجی وجود ندارد و در نتیجه فسفاتیدیل سرین در لایه خارجی بیان می‌شود و سبب ایجاد بار منفی در سطح غشاء می‌گردد (۱۲).



شکل ۷- تفاوت غشای سلولهای سرطانی و سالم (۶۵)

علاوه براین، وجود ترکیباتی دیگری نظیر سیالیک اسید، موسینهای O گلیکوزیله شده و پروتئینهای چاپرون HSP90 و GRP78 در سطح سلولهای سرطانی منجر به ایجاد بار منفی می‌گردد (۸۷). به عنوان مثال پپتیدهایی کاتیونی همچون D-K6L9 و CopA3 با ترکیب فسفاتیدیل سرین در لایه خارجی غشای سلولهای سرطانی برهمکنش برقرار می‌کند و سبب نکروز در سلولها می‌شوند (۵۳ و ۷۹). در پپتید BMAP-28، زنجیره‌های اسید سیالیک دارای بار منفی در سطح غشای رده سلولی U937 به عنوان مکان‌هایی جهت تعامل اولیه با پپتید درنظرگرفته می‌شوند (۸۴). در مطالعه‌ای دیگر، نشان داده شد که ترکیباتی مانند: موسینهای O گلیکوزیله شده و فسفاتیدیل سرین منجر به برهمکنش الکترواستاتیک پپتید temporin-1CEa با غشای سلولهای MCF-7 می‌شوند (۱۰۴). همچنین پپتید کاتیونی Buforin IIb مشتق شده از هیستون H2A اثر سمیت سلولی خود را از طریق تعامل با گانگلیوزیدها (دارای اسید سیالیک) در سطح غشای سلولهای سرطانی اعمال می‌کند (۵۲). از ویژگیهای دیگر می‌توان به سطح پایین کلسترول در سلولهای سرطانی اشاره نمود که در نتیجه منجر به افزایش سیالیت می‌شود. به طور کلی غشای سلولهای

DOR: 20.1001.1.23832738.1401.35.2.1.7

سرطانی در مقایسه با سلولهای طبیعی دارای سیالیت بیشتری می‌باشد که در نتیجه از طریق تسهیل بی‌ثبات‌سازی غشاء، فعالیت لیتیک ACPs را تقویت می‌کند (۹۴). با این وجود گزارش شده است که در تعدادی از رده‌های سلولهای سرطانی از جمله پروستات وجود کلسترول منجر به کاهش اثر ACPs بر روی سلولهای سرطانی می‌گردد (۵۷). علاوه‌براین، افزایش سطح از طریق افزایش تعداد میکروویلیها از دیگر ویژگیهایی می‌باشد که منجر به افزایش تماس ACPs با سلولهای بدخیم می‌گردد. حضور ترکیبات دارای بار منفی در ترکیب با افزایش سطح و سیالیت غشاء منجر به القای فعالیت ACPs بر علیه سلولهای سرطانی می‌گردد (۲۲).

محدودیت استفاده از ACPs: در سالهای اخیر ACPs به دلیل توانایی کشتن سلولهای سرطانی و تومورها بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. در حال حاضر طیف وسیعی از پپتیدهای ضدسرطانی شناخته شده است، با این وجود فقط تعداد اندکی از آنها وارد فاز بالینی شده‌اند. از دلایل محدودیت استفاده از این پپتیدها در فاز بالینی هزینه بالا تولید آنها است که بیشتر از سنتز مولکولهای آنتی‌بیوتیک می‌باشد (۳۸). از دیگر معایب روشهای درمانی مبتنی بر پپتیدهای ضدسرطانی، می‌توان به ایجاد سمیت آنها علیه سلولهای طبیعی در غلظتهای بالای پپتید اشاره نمود. به کارگیری توالیهای هدف متصل شده به پپتید انتخابی موردنظر یکی از روشهای غلبه بر این مشکل می‌باشد (۳۸). این توالیهای هدفمند کوچک که با مولکول‌های سطح سلولی خاص در سلولهای سرطانی، برهمکنش برقرار می‌کنند، به طور معمول از طریق یک اتصال دهنده گلیسین-گلیسین به پپتید مورد نظر اضافه می‌شوند. پپتید Bombesin نمونه‌ای از توالیهای هدف می‌باشد که با بسیاری از گیرنده‌های سطح سلولهای سرطانی برهمکنش برقرار می‌کند. استفاده از Bombesin متصل شده به Magainin 2 منجر به کاهش حدود ۱۰ برابری میزان IC_{50} بر روی سلولهای سرطانی گردید به گونه‌ای که به طور قابل توجهی از میزان IC_{50} سلولهای طبیعی کمتر تخمین زده شد (۶۴).

از روشهای دیگر می‌توان به جانشینی اسیدهای‌آمینه برای کاهش سمیت برعلیه سلولهای طبیعی اشاره نمود. این روش شامل ایجاد تغییرات ساده در ویژگیهای پپتید از جمله تغییر بار آنها می‌باشد (۳۸). از ویژگیهای تومور جامد محیط اسیدی اطراف آن در مقایسه با سلولهای طبیعی می‌باشد. در مطالعه‌ای اسیدآمینه‌های لیزین پپتید [D]-K6L9 با pKa، ۱۰/۵ با سه و شش اسیدآمینه هیستیدین جایگزین شد. نتایج نشان داد که این جایگزینی منجر به کاهش pKa پپتید به ۶/۱ گردید. در واقع هیستیدین‌ها در پپتید [D]-H6L9 در pHهای اسیدی پروتونه می‌شوند و به صورت فعال درمی‌آید درحالی‌که در pH خنثی غیرفعال می‌باشد. پپتید [D]-K6L9 اگرچه دارای سمیت سلولی بر علیه در مدل سرطان پروستات می‌گردد اما با وجود پتانسیل درمانی، این پپتید دارای سمیت سیستمیک قابل توجهی در غلظت‌های کمی بالاتر از روش درمانی است. در این پژوهش پپتیدهای [D]-$K3H3L_9$ و [D]-H6L9 هر دو سبب کاهش رشد تومور پروستات شدند و اثر سمیت سیستمیک بسیار کم‌تری در مقایسه با پپتید [D]-K6L9 از خود نشان دادند (۷۱).

از دیگر معایب ACPs عدم پایداری و حساسیت آنها به پروتئولیزها می‌باشد. ACPs به سرعت به تمام بافتهای بدن توزیع می‌شوند و دارای نیمه عمر تقریباً ۲-دقیقه در خون هستند (۳۹). این محدودیت برای ACPs که با سرعت بالایی عمل می‌کند درنظرگرفته نمی‌شود. محققان برای رفع این مشکل روشهایی برای بسته بندی این پپتیدها به منظور رسیدن به محیط تومور شامل استفاده از نانوذرات پیشنهاد کرده‌اند. نانوذرات‌های پایدار و غیرسمی به منظور انتقال دارو به مکان درست به کار برده می‌شوند. از جمله این نانوذرات می‌توان به Perfluorocarbon اشاره نمود که توانایی انتقال طیف وسیعی از داروها را دارد. ACPs به

DOR: 20.1001.1.23832738.1401.35.2.1.7

دلیل اندازه کوچک به راحتی در نانوذرات Perfluorocarbon به منظور افزایش انتقال آنها به محل تومور قرار می‌گیرند (۱۰۷). نتایج نشان داد که پپتید Melittin، سوار شده در نانوذره Perfluorocarbon منجر به کاهش حجم تومور ملانوما B16 می‌گردد (۷۸).

پپتیدهای نفوذپذیر سلولی (CPPs): پپتیدهای نفوذپذیر سلولی (Cell-penetrating peptides: CPP) گروهی از پپتیدها می‌باشند که توانایی عبور از غشای سلولی و انتقال مولکولهایی از جمله DNA ، پروتئین، siRNA و پلاسمید را دارند (۸۲). توانایی CPPs در عبور دادن مولکولها سبب شده است تا این دسته از پپتیدها به عنوان یک کاندید امیدوارکننده در انتقال دارو استفاده شوند. CPPs آبگریز هستند و معمولاً توالیهای حاوی ۵ تا ۳۰ آمینواسید درنظرگرفته می‌شوند. وجود عوامل مختلفی همچون دما، نوع سلول، اندازه ماده حمل کننده و غلظت پپتید در ورود CPPs به سلول نقش مهمی را ایفاء می‌کنند (۷۰). اغلب این پپتیدها کاتیونی و حاوی ۵ بار مثبت می‌باشند. نفوذ مستقیم و آندوسیتوز دو سازوکار اصلی جهت ورود پپتیدهای CPP به سلولها هستند که این دو سازوکار در نحوه استفاده از انرژی متفاوت می‌باشند. در مدل نفوذ مستقیم CPPs از میان لیپید دو لایه به صورت مستقل از انرژی و بدون دخالت گیرنده‌ها عبور می‌کنند. درحالی‌که در فرآیند آندوسیتوز CPPs به همراه مولکول درمانی خود با مصرف انرژی وارد آندوزوم و یا لیزوزوم می‌شوند (۱۰۲). CPPs بر اساس منشاء در سه دسته اصلی کروی، طبیعی و مصنوعی قرار می‌گیرند (۷۴). همچنین CPPs براساس ویژگیهای ساختاری به دو دسته اصلی شامل CPPs غنی از آرژینین و آمفی پاتیک تقسیم می شوند. فرانکل و پابو در سال ۱۹۸۸ دریافتند که پروتئین در حال رونویسی (TAT) حاصل از ویروس HIV توانایی نفوذ در غشای سلولی را دارد (۲۹). این کشف مقدمه‌ای برای شناسایی و توصیف پپتیدهای مختلفCPP بود. پپتید TAT توانایی حمل مولکولهایی با وزن مولکولی متفاوت از جمله siRNA، الیگونوکلئوتیدهای آنتی‌سنس و عوامل درمانی را دارد (۷۰).

پپتیدهای نفوذپذیر سلولی با خاصیت ضدسرطانی: مطالعات اخیر نشان می‌دهد که CPPs می‌توانند به عنوان یک کاندیدا برای درمان سرطان درنظر گرفته شوند. به عنوان مثال در سال ۲۰۱۳، Lim و همکاران پپتید CPP جدیدی با نام BR2 معرفی کردند که توانایی برهمکنش با گانگلیوزیدهای غشای سلولی تومورها را از خود نشان داد و دارای اثر سمیت سلولی بر روی سلولهای سرطانی HeLa، HCT116 و B16-F10 بود (۶۰). یکی از کاربردهای مهم CPPs، استفاده از آنها به عنوان حاملهایی برای انتقال داروهای ضدسرطانی می‌باشد. اگرچه شیمی درمانی به عنوان یک روش درمانی برای اکثر سرطان در نظر گرفته می‌شود با این وجود مقاومت دارویی از مشکلات اصلی این روش درمانی می‌باشد. یکی سازوکارهای مهم مقاومت دارویی، کاهش نفوذ پذیری غشاها و متابولیسم دارو است (۱۳). مشاهدات نشان می‌دهد که الحاق داروهای ضدسرطانی با CPPs سبب کاهش این مقاومت دارویی می‌شود (۲۵). در سالهای اخیر انتقال دارو با استفاده از CPPs برای بسیاری از بیماریها از جمله سرطان مورد توجه قرار گرفته است. شواهد نشان می‌دهد که CPPs داروهای سیتوتوکسیک را به راحتی در سلولهای توموری منتقل می‌کنند و سبب القاء آپوپتوز می‌شوند. همچنین نشان داده شد که استفاده از CPPs در ترکیب با نانوذره نقره دارای اثرات قوی‌تری در کشتن سلولهای سرطانی MCF-7 از طریق افزایش نفوذ نانوذره نقره در سلولهای سرطانی در مقایسه با نانوذره نقره به تنهایی می‌گردد (۷۵). CPPs را براساس برهمکنش میان دارو و CPP می‌توان به دو دسته اصلی طبقه بندی کرد، دسته اول نیاز به پیوند شیمیایی با دارو دارد و گروه دوم شامل تشکیل کمپلکسهای پایدار، غیرکووالانسی با دارو می‌باشد (۸۲). در سالهای اخیر، مطالعات فراوانی به بررسیCPPهای کونژوگه شده به مولکولهای کوچک و

DOR: 20.1001.1.23832738.1401.35.2.1.7

درشت مولکولها، به منظور درمان سرطان پرداخته‌اند **(جدول ۲)**.

جدول ۲- مثالهایی از CPPهای کونژوگه شده و کاربرد آن در درمان سرطان

نام CPP	توالی CPP	کارگو	کاربرد	رفرنس
YTA4	IAWVKAFIRKLR KGPLG	Fluorescein و MTX	سلولهای سرطانی پستان MDA-MB-231	(۶۸)
SCPP-PS	RLWMRWYSPRT RAYGC	MTX	سلولهای سرطانی ریه A549	(۱۱۲)
CPP6		MTX	سلولهای سرطانی پستان MCF-7	(۱۱۱)
R9PLGLAGD-GGDGGDGGDG	WVPTLK	DOX	تومورهایی با بیان بالایی از MMP-2/9	(۸۹)
CB5005	R9PLGLAGD-GGDGGDGGDG	DOX	سلولهای سرطانی گلیوبلاستوما U87	(۱۱۶)
dNP2	KLKLALALALA VQRKRQKL-MP	DOX	سلولهای سرطانی دهانه رحم HeLa	(۱۰۹)
R8	CKIKKVKKKGR KKIKKVKK-KGRK	Taxol	سلولهای سرطان تخمدان OVCA-429T	(۲۳)
R9	Octa-arginine	TALEN	سلولهای سرطانی دهانه رحم HeLa	(۶۲)
Penetratin	Poly-Arg	p16		(۴۲)
CPP2		p16MIS	مدلهای حیوانی تومور پانکراس	(۱۰۵)
LKH-stEK	RQIKIWFQNRR MKWKK	siRNA	سلولهای سرطان کولورکتال	(۴۵)
BR2	DSLKSYWYLQK FSWR	siVEGF	سلولهای سرطانی دهانه رحم HeLa	(۵۵)
LDP12	$LKHLLHLR_8KHL LKLS_5G$	EGFP		(۵۰)
	RAGLQFPVGRLL RRLLR		سلولهای سرطانی دهانه رحم HeLa	
	TAPKRKRTKTK K		سلولهای سرطانی دهانه رحم HeLa	

استفاده از CPPs برای انتقال مولکولهای کوچک: داروهای ضدسرطانی مولکولهای کوچک، به دلیل اندازه کوچک به طور مؤثری در تومور پخش می‌شوند. با این وجود، یکی از مشکلات اساسی آنها ایجاد مقاومت تومورها نسبت به دارو می‌باشد (۹۰). به این منظور دانشمندان به بررسی اثر داروهای کونژوگه شده به CPPs پرداخته‌اند. به عنوان مثال گزارش شده است که مولکول DOX کونژوگه شده به CPPs به عنوان روش درمانی مؤثری در درمان تومورها در مقایسه با DOX به تنهایی می‌باشد. Aroui و همکاران در سال ۲۰۰۹ نشان دادند که پپتید CPP، Maurocalcine کونژوگه شده به DOX سبب تقویت ورود این دارو به سلولهای MCF-7 و MDA-MB-231 و نیز منجر به غلبه مقاومت DOX بر سلولهای MDA-MB-231 می‌شود (۴). گزارش شده است

DOR: 20.1001.1.23832738.1401.35.2.1.7

که حساسیت شیمیایی مختلف رده‌های سلولی MDA-MB 231 و MCF7 به دلیل بیان مختلف پروتئین Rad51 می‌باشد که در سلولهای MDA-MB 231 بیان بالایی دارد درحالی‌که در سلولهای MCF7 این پروتئین به صورت کاهشی بیان می‌گردد. Aroui و همکاران همچنین به بررسی اثر پپتیدهای TAT و penetratin کونژوگه شده به DOX بر روی رده‌های سلولی مختلف پرداختند. نتایج نشان داد که پپتید penetratin دارای اثر قوی‌تری در ورود DOX نسبت به TAT دارد. همچنین DOX- penetratin سبب افزایش سمیت DOX حدود ۷/۱۹، ۱۱/۵۳ و ۴/۸۷ برابر بترتیب در سلولهای CHO، HUVEC و MDA-MB 231 در مقابل با DOX به تنهایی می‌گردد (۳). کونژوگه کردن پپتید TAT به Chitosan/DOX منجر به افزایش ورود به سلولهای CT-26 در مقابل با DOX آزاد گردید. در واقع ترکیب DOX آزاد به مقدار اندکی وارد سلول می‌گردد و تنها جزئی از آنها وارد هسته سلولها می‌شوند، درحالی‌که Chitosan/DOX/TAT به مقدار قابل توجهی در سیتوپلاسم متمرکز می‌شوند. علاوه براین، Chitosan/DOX/TAT اثری قوی‌تری در نابودی سلولهای CT-26 را از خود نشان داده است (۵۴).

Morshed و همکاران در سال ۲۰۱۶ دریافتند که پپتید TATتغییریافته با نانوذرات طلا، کونژوگه شده به DOX منجر به افزایش سمیت DOX در سلولهای متاستاز مغزی سرطان پستان می‌گردد. علاوه براین، تیمار با ۲۰۰ نانومولار TAT-Au-Dox سبب افزایش میزان جذب DOX (۹۱/۵ درصد) در مقابل تیمار با DOX (۱۸/۴ درصد) آزاد گردید (۷۳). متوترکسات (MTX)، یک ماده ضدسرطانی با استفاده محدود به دلیل مشکلات مقاومت، مانع از تکثیر تومور با اختلال در نوکلئوتیدهای پورین، از طریق مهار آنزیم دی هیدروفولات ردوکتاز در سیتوپلاسم می‌شود (۸۲). در مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۶ اثر پپتید YTA2 کونژوگه شده به Methotrexate (MTX) بر روی سلولهای سرطانی پستان مقاوم ارزیابی شد. نتایج آنها نشان داد که میزان EC_{50}، MTX-YTA2 حدود ۵ برابر کم تر از داروی MTX به تنهایی می‌باشد. علاوه براین، MTX-YTA2 سبب از بین رفتن مقاومت سلولهای سرطانی در برابر MTX می‌شود (۶۱). گزارش شده است که اختلال در polyglutamation که یک مرحله اصلی در سازوکار عمل متوترکسات است، اغلب یکی از دلایل اصلی مقاومت به این دارو است. Szabó و همکاران به مطالعه اثر MTX به همراه آنالوگهای pentaglutamylated الحاق شده به پپتیدهای CPP، penetratin و Octa–arginine بر روی سلولهای سرطانی پستان پرداختند. نتایج آنها نشان داد که به کارگیری MTX-Glu5-GFLG-Penetratin منجر به کاهش میزان IC_{50} در سلولهای سرطانی پستان نسبت به MTX آزاد گردید (۹۵).

استفاده از CPPها برای انتقال درشت مولکولها: شواهد نشان می‌دهد که اتصال کوالانسی CPPها به پپتید می‌تواند سبب ایجاد تداخل با عملکرد مولکولهای بیولوژیکی فعال و نیز منجر به ممانعت فضایی در رسیدن دارو به هدف شوند (۸۲). بنابراین، برای حمل درشت مولکولها تشکیل کمپلکسهای CPP غیرکوالانسی به عنوان روش مؤثرتری در انتقال دارو در نظر گرفته می‌شود. مطالعات گسترده‌ای به بررسی خاصیت ضدسرطانی CPPهای الحاق شده به درشت مولکولها پرداخته‌اند. فرآیند آپوپتوز در طی استرسهای مختلف سلولی القاء می‌گردد و این فرآیند به وسیله‌ی پروتئینهای سرکوبگر تومور از جمله p53 و p16 کنترل می‌شود. شواهد نشان می‌دهد که در ۵۰ درصد از سرطانهای انسانی جهش در این ژنهای سرکوبگر تومور مشاهده می‌شود (۵۹). مطالعات مختلفی به بررسی اثر پروتئین p53 و مشتقات آن به صورت کونژوگه شده با CPPها به منظور بهبود عملکرد p53 پرداخته‌اند.

در مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۶ نشان داده شد که الحاق انتهای N ترمینال پروتئین p53 به پپتید TAT منجر به القاء آپوپتوز می‌گردد (۳۷). Snyder و همکاران نشان دادند که تزریق

DOR: 20.1001.1.23832738.1401.35.2.1.7

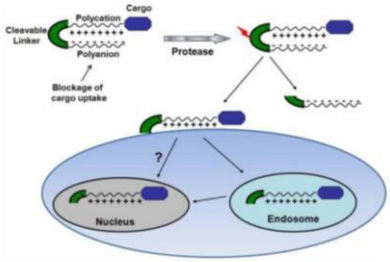
داخل صفاقی پپتید TAT فیوز شده به all-D retro-inverso (ri)-p53 به مدل موش کارسینوماتوز صفاقی منجر به تحریک آپوپتوز در سلولهای سرطانی و افزایش بقاء در مدل موشها می‌گردد (۹۳). استفاده از CPP، FHV در ترکیب با توالی تسهیل کننده نفوذ سلولی (penetration accelerating sequence) و انتهای C ترمینال p53 به صورت وابسته به غلظت، منجر به مهار رشد تومور و نیز القای مرگ سلولی اتوفاژی در glioma-initiating cells می‌گردد (۱۰۱). نمونه‌ای دیگر از CPPها می‌توان به p28 اشاره نمود که از تخریب پروتئین p53 در سلولهای توموری جلوگیری می‌کند. p28 همچنین ورود پروتئینهای اگزوژن GFP و GST را به درون سلولهای کشت داده شده تسهیل می‌کند (۱۳). تزریق داخل صفاقی کمپلکس غیرکوالانسی Antp-p16 سبب مهار رشد سلولهای سرطانی لوزالمعده در مدلهای موش می‌گردد (۸۰). در مطالعه‌ای دیگر از پروتئین تنظیم کننده آپوپتوز میتوکندری به نام SMAC استفاده شد. نتایج نشان داد SMAC-TATp منجر به القای محرکهای آپوپتوز از جمله TRAIL و CD95 می‌گردد. انتقال ترکیبی SMAC-TATp به همراه ۰/۶ و ۲ میکروگرم از TRAIL سبب ریشه‌کنی کامل تومور در یک مدل موش گردید (۹۰). به طور کلی نتایج نشان داد که کونژوگه کردن CPPها با مولکولهای کوچک و درشت مولکولها به عنوان یک سازوکار مناسب در درمان سرطان در نظرگرفته می‌شود.

محدودیت استفاده از CPPها در درمان سرطان: شواهد نشان می‌دهد که از CPPها می‌توان به عنوان یک روش انتقال دارو استفاده کرد. مشکل عمده استفاده از این پپتیدها عدم وجود خاصیت انتخابی و اختصاصی بودن علیه سلولهای سرطانی و تومورها می‌باشد. بدین منظور محققان به دنبال روشهایی برای حل این مشکل می‌باشند **(شکل ۸)** (۱۳ و ۹۰).

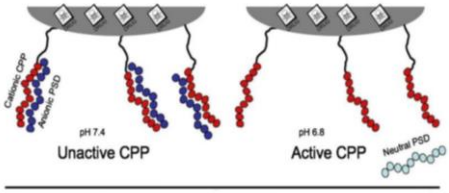
استراژی تولید CPP فعال (ACPP) (به کارگیری متالوپروتئازهای ماتریکس): در این روش از یک CPP پلی‌کاتیونی که به صورت هموپلیمر آرژینین (nine D-r9; form arginine residues) و حاوی مولکول انتقال دهنده (دارو) می‌باشد، استفاده می‌شود. r9 با استفاده از برهمکنش‌های یونی با یک توالی پلی‌آنیونی (eight D-e8; form glutamate residues) جفت می‌شود. در نتیجه بارهای مثبت CPP به طور موقت غیرفعال می‌شود. همچنین در این روش دو قسمت یونی از طریق یک اتصال‌دهنده که دارای توالی برش متالوپروتئاز ماتریکس (MMP-2 or 9) در سلولهای توموری می‌باشند به هم متصل می‌شوند. زمانی‌که این سیستم دارو وارد جریان خون شود به دلیل کم بودن میزان MMP در گردش خون، محل توالی برش توسط این آنزیمها بر روی CPP شناسایی نمی‌شود و در نتیجه سبب جلوگیری از برهمکنش‌های ناخواسته CPP با سطوح دارای بار منفی سلولهای درونی عروق می‌شود و در نهایت مانع از انتقال دارو به سلولهای سالم می‌گردد. درحالی‌که، در سلولهای سرطانی و تومورها MMP در اطراف تومورها به مقدار زیادی وجود دارد. این آنزیم محل توالی برش MMP را شناسایی و باعث جدا شدن دو بخش یونی می‌گردد که این عمل سبب فعال شدن CPP حاوی مولکول انتقال‌دهنده (دارو) می‌شود و در نتیجه سبب برهمکنش CPP با سطح سلولهای سرطانی دارای بار منفی می‌گردد. در نهایت مولکولهای دارویی که به صورت کوالان به CPP متصل هستند به سلول موردنظر وارد می‌شوند (۴۶). در مطالعه‌ای، محققان دریافتند که r9 می‌تواند سمیت سیستمیک شدید را در دوزهای بالاتر از ۵ میکرومول بر کیلوگرم ایجاد کند، که در نهایت منجر به مرگ موشها به دلیل نارسایی تنفسی می‌شود. درحالی‌که، تزریق ACPP حتی با ۴ برابر دز قابل تحمل، سمیت بسیار ملایمی ایجاد کرده است **(شکل ۸ الف)** (۹۰).

DOR: 20.1001.1.23832738.1401.35.2.1.7

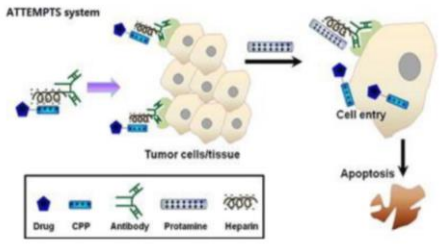
الف



ب



ج



شکل ۸- روشهایی به منظور برطرف کردن محدودیت استفاده از CPPها . الف) استراژی تولید CPP فعال (ACPP) (۹۰) ب) استفاده از pH اسیدی اطراف تومورها (۱۰۲) ج) به کارگیری CPPهای تغییریافته ATTEMPTS (۱۱۳)

استفاده از pH اسیدی: وجود برخی از شرایط پاتولوژیک نظیر سرطان منجر به ایجاد محیط اسیدی می‌گردد. به طور کلی در اطراف تومورها pH در حدود ۶/۸ و اسیدی درحالی‌که در شرایط طبیعی در حدود ۷/۲۰ می‌باشد. گزارش شده است که با استفاده از pH اسیدی اطراف تومورها می‌توان به طور اختصاصی مولکول دارویی مورد نظر را به سلولهای توموری منتقل کرد. در این روش بار مثبت پپتید CPP توسط یک پلی آنیون به نام PSD پوشانده و بار آن خنثی می‌شود، در نتیجه CPP تا زمان رسیدن به محل تومور غیرفعال باقی می‌ماند. گروه سولفونامیدی در ترکیب PSD حساسیت بالایی دربرابر pH اسیدی دارد. با توجه به اسیدی بودن محیط اطراف تومورها با رسیدن این سیستم به محل تومور گروه سولفونامیدی پروتونه شده و از بخش کاتیونی جدا می‌شود. در نتیجه CPP فعال و با سلولهای سرطانی دارای بار منفی برهمکنش برقرار می‌کند و منجر به انتقال انتخابی دارو به سلولهای سرطانی می‌شود **(شکل ۸ ب)** (۱۰۲).

استفاده از CPPهای تغییریافته ATTEMPTS : استراژی Antibody Targeted Triggered (ATTEMPTS) Electrically Modified Prodrug Type Strategy به منظور انتقال اختصاصی دارو به مکان تومور به کار برده می‌شود. این روش از ۲ جز اصلی تشکیل شده است: آنتی‌بادی کونژوگه شده به هپارین و بخش افکتور آنیونی که از CPP الحاق شده به دارو تشکیل شده است. در واقع این سیستم انتقال دارو از طریق تشکیل کمپلکس الکترواستاتیک میان آنتی‌بادی کونژوگه شده به هپارین و CPP–دارو صورت می‌گیرد و بار مثبت CPP از طریق بار منفی هپارین خنثی می‌شود. در مرحله اول، سیستم انتقال دارو وارد می‌گردد و از طریق هدف قرار دادن آنتی‌بادی در محل تومور تجمع می‌یابد. در مرحله بعد پروتامین (پروتئین کاتیونی کوچک است که از نظر بالینی به عنوان پادزهر هپارین مورد استفاده قرار می‌گیرد) تزریق می‌گردد. در واقع پروتامین به دلیل تمایل برهمکنش قوی‌تر هپارین با پروتامین در مقایسه با هپارین با CPP سبب آزاد شدن CPP–دارو از سیستم انتقال دارو می‌شود، و در نهایت CPP–دارو قادر به نفوذ در غشای سلول توموری می‌شود (۵۱ و ۱۱۳) . اخیراً یک استراتژی ATTEMPTS جدید به منظور درمان سرطان کولورکتال گزارش شده است. در این مطالعه بخش هدف‌گیری آنیونی شامل آنتی‌بادی T84.66 کونژوگه شده به هپارین و بخش CPP–دارو متشکل از CPP، TAT فیوز شده به دارو gelonin می‌باشد. نتایج نشان داد که کمپلکس ایجاد شده TAT-gelonin/T84.66- Hep قادر به اتصال به سلولهای سرطان کولورکتال LS174T با بیان بیش از حد CEA می‌باشد. علاوه بر این انتقال TAT-gelonin به تومور هدف با استفاده از این

DOR: 20.1001.1.23832738.1401.35.2.1.7

سیستم حدود ۵۸ برابر نسبت به TAT-gelonin به تنهایی تقویت شده است (۹۱) **(شکل ۸ ج)**.

نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر به بررسی اثر پپتیدهای درمانی شامل پپتیدهای کاتیونی ضدمیکروبی با خاصیت ضدسرطانی (ACPs) و پپتیدهای نفوذپذیر سلولی (CPPs) به منظور درمان سرطان پرداخته شد. پپتیدها به دلیل عواملی همچون اندازه کوچک، سنتز راحت و توانایی نفوذ در غشاء به عنوان کاندیدایی مناسب برای بیماریهای عفونی و سرطان در نظرگرفته می‌شوند. از جمله پپتیدهای درمانی می‌توان به ACPs اشاره نمود که با ترکیبات دارای بارمنفی در سطح غشاء برهمکنش برقرار می‌کنند. این دسته از پپتیدها منجر به از هم پاشیدگی غشاء از طریق لیز سلولی و یا تخریب میتوکندری از طریق آپوپتوز می‌شوند. ACPs همچنین بواسطه چندین فعالیت غیرغشایی خاصیت ضدسرطانی خود را به نمایش می‌گذارند. دسته دیگر از پپتیدهای درمانی CPPs می‌باشند که از طریق اتصال کوالانسی و یا غیرکوالانسی با مولکولهای کوچک و درشت مولکول‌ها، و ورود به سلولها در درمان سرطان به کارگرفته می‌شوند. اگرچه ACPs و CPPs دارای مزیتهای فراوانی می‌باشند، محدودیتهایی نظیر هزینه بالا و عدم اختصاصیت برای آنها توصیف شده است. با این وجود، دانشمندان روشهای مختلفی به منظور غلبه بر این مشکلات ارائه داده‌اند. بنابراین، استفاده از پپتیدهای ACPs و CPPs به عنوان یک روش امیدوارکننده در درمان سرطان پیشنهاد می‌شود. بااین‌حال، مطالعات گسترده‌تری به منظور کاربرد این پپتیدهای درمانی در فاز بالینی و درک سازوکار آنها نیاز می‌باشد.

منابع

۱. زرندی میاندوآب، ل. و زاده حسینقلی، الف. ۱۳۹۷. تجزیه و تحلیل آماری پپتیدهای ضدسرطان گیاهی با استفاده از محیطR. مجله پژوهش‌های سلولی مولکولی (زیست شناسی ایران). دوره ۳۱. شماره ۳. ص ۴۳۶-۴۴۸

۲. مرتضوی، م. صفار، ب. میرآخورلی، ن. و مبینی دهکردی، م. ۱۳۹۵. طراحی، سنتز، همسانه سازی، ارزیابی بیان و بررسی خاصیت ضدمیکروبی پروتئین دفنزین گندم (*Triticum aestivum*) در میزبان *E.coli*. مجله پژوهش‌های سلولی مولکولی (زیست شناسی ایران). دوره ۲۹. شماره ۱. ص ۱۱۴-۱۲۵

3. Aroui, S., Brahim, S., De, Waard, M. and Kenani, A. 2010. Cytotoxicity, intracellular distribution and uptake of doxorubicin and doxorubicin coupled to cell-penetrating peptides in different cell lines: a comparative study. Biochemical and biophysical research communications, 391(1): 419-25

4. Aroui, S., Ram, N., Appaix, F., Ronjat, M., Kenani, A., Pirollet, F. and De, Waard, M. 2009. Maurocalcine as a non-toxic drug carrier overcomes doxorubicin resistance in the cancer cell line MDA-MB 231. Pharmaceutical research, 26(4): 836-45.

5. Asadi, F., Asoodeh, A., Kashef, R., Housaindokht, M.R., Haghparast, A. and Chamani, J. 2013. The effect of antimicrobial peptide Temporin-Ra on cell viability and gene expression of pro-inflammatory factors in A549 cell line. International Journal of Peptide Research and Therapeutics, 19(4): 373-80.

6. Asoodeh, A., Haghparast, A., Kashef, R. and Chamani, J. 2013. Pro-inflammatory cytokine responses of A549 epithelial cells to antimicrobial peptide Brevinin-2R. International Journal of Peptide Research and Therapeutics, 19(2): 157-62.

7. Asoodeh, A., Sepahi, S. and Ghorani-Azam, A. 2014. Purification and Modeling Amphipathic Alpha Helical Antimicrobial Peptides from Skin Secretions of *Euphlyctis cyanophlyctis*. Chemical biology & drug design, 83(4): 411-7.

8. Asoodeh, A., Zardini, H.Z. and Chamani, J. 2012. Identification and characterization of two novel antimicrobial peptides, temporin-Ra and temporin-Rb, from skin secretions of the marsh frog (*Rana ridibunda*). Journal of Peptide Science, 18(1): 10-6.

9. Avci, F.G., Sariyar, Akbulut, B. and Ozkirimli, E. 2018. Membrane active peptides and their

DOR: 20.1001.1.23832738.1401.35.2.1.7

biophysical characterization. Biomolecules, 8(3): 77

10. Baindara, P., Singh, N., Ranjan, M., Nallabelli, N., Chaudhry, V., Pathania, G.L., Sharma, N., Kumar, A., Patil, P.B. and Korpole, S. 2016. Laterosporulin10: a novel defensin like class IId bacteriocin from *Brevibacillus* sp. strain SKDU10 with inhibitory activity against microbial pathogens. Microbiology, 162(8): 1286-99.

11. Bartnik, A., Nirmal, A.J. and Yang, S.Y. 2013. Peptide vaccine therapy in colorectal cancer. Vaccines, 1(1): 1.

12. Bevers, E.M., Comfurius, P. and Zwaal, R.F. 1996. Regulatory mechanisms in maintenance and modulation of transmembrane lipid asymmetry: pathopHysiological implications. Lupus, 5(5): 480-7.

13. Bolhassani, A., Jafarzade, B.S. and Mardani, G. 2017. In vitro and in vivo delivery of therapeutic proteins using cell penetrating peptides. Peptides, 87: 50-63.

14. Boohaker, R.J., Lee, M.W., Vishnubhotla, P., Perez, J.M. and Khaled, A.R. 2012. The use of therapeutic peptides to target and to kill cancer cells. Current medicinal chemistry, 19(22): 3794-804.

15.Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R.L., Torre, L.A. and Jemal, A. 2018. Global cancer statistics 2018: Globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. 2018. CA: a cancer journal for clinicians, 68(6): 394-424.

16. Camilio, K.A., Rekdal, Ø. and Sveinbjörnsson, B. 2014. LTX-315 (Oncopore™) a short synthetic anticancer peptide and novel immunotherapeutic agent. Oncoimmunology, 3(6): e29181.

17. Chalamaiah M, Yu W, Wu J. 2018. Immunomodulatory and anticancer protein hydrolysates (peptides) from food proteins: A review. Food chemistry, 245: 205-22.

18. Chen, X., Zou, X., Qi, G., Tang, Y., Guo, Y., Si, J. and Liang, L. 2018. Roles and mechanisms of human cathelicidin LL-37 in cancer. Cellular Physiology and Biochemistry, 47(3): 1060-73.

19. Choi, D.K., Helenowski, I. and Hijiya, N. 2014. Secondary malignancies in pediatric cancer survivors: perspectives and review of the literature. International journal of cancer, 135(8): 1764-73.

20. Chu, H.L., Yip, B.S., Chen, K.H., Yu, H.Y., Chih, Y.H., Cheng, H.T., Chou, Y.T. and Cheng, J.W. 2015. Novel antimicrobial peptides with high anticancer activity and selectivity. PLoS One, 10(5).

21. Deslouches, B. and Di, Y.P. 2017. Antimicrobial peptides with selective antitumor mechanisms: prospect for anticancer applications. Oncotarget, 8(28): 46635.

22. Domagala, W. and Koss, L.G. 1980. Surface configuration of human tumor cells obtained by fine needle aspiration biopsy. Scan Electron Microsc, 1: 101-8.

23. Dubikovskaya, E.A., Thorne, S.H., Pillow, T.H., Contag, C.H. and Wender, P.A. 2008. Overcoming multidrug resistance of small-molecule therapeutics through conjugation with releasable octaarginine transporters. Proceedings of the National Academy of Sciences, 105(34): 12128-33.

24. Emelianova, A.A., Kuzmin, D.V., Panteleev, P.V., Sorokin, M.I., Buzdin, A.A. and Ovchinnikova, T.V. 2018. Anticancer Activity of the Goat Antimicrobial Peptide ChMAP-28. Frontiers in pharmacology, 9: 1501.

25. Farkhani, S.M., Valizadeh, A., Karami, H., Mohammadi, S., Sohrabi, N. and Badrzadeh, F. Cell penetrating peptides: efficient vectors for delivery of nanoparticles, nanocarriers, therapeutic and diagnostic molecules. 2014. Peptides, 57: 78-94.

26. Felício, M.R., Silva, O.N., Gonçalves, S., Santos, N.C. and Franco, O.L. 2017. Peptides with dual antimicrobial and anticancer activities. Frontiers in chemistry, 5:5.

27. Feliu, L., Oliveras, G., Cirac, A.D., Besalú, E., Rosés, C., Colomer, R., Bardají, E., Planas, M. and Puig, T. 2010. Antimicrobial cyclic decapeptides with anticancer activity. Peptides, 31(11): 2017-26.

28. Fernandez, D.I., Gehman, J.D., and Separovic, F. 2009. Membrane interactions of antimicrobial peptides from Australian frogs. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes, 1788(8):1630-8.

29. Frankel, A.D. and Pabo CO. Cellular uptake of the tat protein from human immunodeficiency virus.

30. Gaspar, D., Veiga, A.S. and Castanho, M.A. 2013. From antimicrobial to anticancer peptides. A review. Frontiers in microbiology, 4: 294.

DOR: 20.1001.1.23832738.1401.35.2.1.7

31. Ghavami, S., Asoodeh, A., Klonisch, T., Halayko, A.J., Kadkhoda, K., Kroczak, T.J., Gibson, S.B., Booy, E.P., Naderi-Manesh, H. and Los, M. 2008. Brevinin-2R1 semi-selectively kills cancer cells by a distinct mechanism, which involves the lysosomal-mitochondrial death pathway. Journal of cellular and molecular medicine, 12(3): 1005-22.

32. Giuliani, A., Pirri, G. and Nicoletto, S. 2007. Antimicrobial peptides: an overview of a promising class of therapeutics. Open Life Sciences, 2(1): 1-33.

33. Han, Y., Cui, Z., Li, Y.H., Hsu, W.H. and Lee, B.H. 2016. In vitro and in vivo anticancer activity of pardaxin against proliferation and growth of oral squamous cell carcinoma. Marine drugs, 14(1): 2.

34. Hancock, R.E. and Diamond, G. 2000. The role of cationic antimicrobial peptides in innate host defences. Trends in microbiology, 8(9): 402-10.

35. Hancock, R.E., Haney, E.F. and Gill, E.E. 2016. The immunology of host defence peptides: beyond antimicrobial activity. Nature Reviews Immunology, 16(5): 321.

36. Hanaoka, Y., Yamaguchi, Y., Yamamoto, H., Ishii, M., Nagase, T., Kurihara, H., Akishita, M. and Ouchi, Y. 2016. In vitro and In vivo anticancer activity of human β-Defensin-3 and its mouse homolog. Anticancer research, 36(11): 5999-6004.

37. Harada, H., Kizaka-Kondoh, S. and Hiraoka, M. 2006. Antitumor protein therapy; application of the protein transduction domain to the development of a protein drug for cancer treatment. Breast Cancer, 13(1): 16-26.

38. Hilchie, A.L., Hoskin, D.W. and Coombs, M.P. 2019. Anticancer Activities of Natural and Synthetic Peptides. In Antimicrobial Peptides, (pp. 131-147). Springer, Singapore.

39. Hilchie, A.L., Wuerth, K. and Hancock, R.E. 2013. Immune modulation by multifaceted cationic host defense (antimicrobial) peptides. Nature chemical biology, 9(12): 761.

40. Homayouni-Tabrizi, M., Asoodeh, A., Soltani, M. and Forghanifard, M.M. 2015. Antimicrobial peptide Brevinin-2R induces the secretion of a pro-inflammatory cytokine in HepG2 cells, Journal of Basic Research in Medical Sciences. 2(2): 23-9

41. Hoskin, D.W. and Ramamoorthy, A. 2008. Studies on anticancer activities of antimicrobial peptides. BBA-Biomembranes, 1778(2): 357-75.

42. Hosotani, R., Miyamoto, Y., Fujimoto, K., Doi, R., Otaka, A., Fujii, N. and Imamura, M. 2002. Trojan p16 peptide suppresses pancreatic cancer growth and prolongs survival in mice. Clinical cancer research, 8(4): 1271-6.

43. Huang, H.N., Rajanbabu, V., Pan, C.Y., Chan, Y.L., Chen, J.Y. and Wu, C.J. 2015. Enhanced control of bladder-associated tumors using shrimp anti-lipopolysaccharide factor (SALF) antimicrobial peptide as a cancer vaccine adjuvant in mice. Marine drugs, 13(5): 3241-58.

44. Huang, H.N., Rajanbabu, V., Pan, C.Y., Chan, Y.L., Wu, C.J. and Chen, J.Y. 2013. A cancer vaccine based on the marine antimicrobial peptide pardaxin (GE33) for control of bladder-associated tumors. Biomaterials, 34(38): 10151-9.

45. Hyun, S., Choi, Y., Lee, H.N., Lee, C., Oh, D., Lee, D.K., Lee, C., Lee, Y. and Yu, J. 2018. Construction of histidine-containing hydrocarbon stapled cell penetrating peptides for in vitro and in vivo delivery of siRNAs. Chemical science, 9(15): 3820-7.

46. Jiang, T., Olson, E.S., Nguyen, Q.T., Roy, M., Jennings, P.A. and Tsien, R.Y. 2004. Tumor imaging by means of proteolytic activation of cell-penetrating peptides. Proceedings of the National Academy of Sciences, 101(51): 17867-72.

47. Kharazmi-Khorassani, J. and Asoodeh, A. 2019. Thymosin alpha-1; a natural peptide inhibits cellular proliferation, cell migration, the level of reactive oxygen species and promotes the activity of antioxidant enzymes in human lung epithelial adenocarcinoma cell line (A549). Environmental toxicology, 34(8): 941-9.

48. Koczulla, A.R. and Bals, R. 2003. Antimicrobial peptides. Drugs, 63(4): 389-406.

49. Koskimaki, J.E., Karagiannis, E.D., Rosca, E.V., Vesuna, F., Winnard, Jr, P.T., Raman, V., Bhujwalla, Z.M. and Popel, A.S. 2009. Peptides derived from type IV collagen, CXC chemokines, and thrombospondin-1 domain-containing proteins inhibit neovascularization and suppress tumor growth in MDA-MB-231 breast cancer xenografts. Neoplasia, (12): 1285-91.

50. Kwon, S., Kwak, A., Shin, H., Choi, S., Kim, S. and Lim, H.J. 2013. Application of a novel cell-permeable peptide-driven protein delivery in mouse blastocysts. Reproduction , 146(2): 145-53.

DOR: 20.1001.1.23832738.1401.35.2.1.7

51. Kwon, Y.M., Li, Y.T., Liang, J.F., Park, Y.J., Chang, L.C. and Yang, V.C. 2008. PTD-modified ATTEMPTS system for enhanced asparaginase therapy: a proof-of-concept investigation. Journal of controlled release, 130(3): 252-8.

52. Lee, H.S., Park, C.B., Kim, J.M., Jang, S.A., Park, I.Y., Kim, M.S., Cho, J.H. and Kim, S.C. 2008. Mechanism of anticancer activity of buforin IIb, a histone H2A-derived peptide. Cancer letters, 271(1): 47-55

53. Lee, J.H., Kim, I.W., Kim, S.H., Yun, E.Y., Nam, S.H., Ahn, M.Y., Kang, D.C. and Hwang, J.S. 2015. Anticancer activity of CopA3 dimer peptide in human gastric cancer cells. BMB reports, 48(6): 324.

54. Lee, J.Y., Choi, Y.S., Suh, J.S., Kwon, Y.M., Yang, V.C., Lee, S.J., Chung, C.P. and Park, Y.J. 2011. Cell-penetrating chitosan/doxorubicin/TAT conjugates for efficient cancer therapy. International journal of cancer, 128(10): 2470-80.

55. Lee, Y.W., Hwang, Y.E., Lee, J.Y., Sohn, J.H., Sung, B.H. and Kim, S.C. 2018. VEGF siRNA delivery by a cancer-specific cell-penetrating peptide. Journal of Microbiology and Biotechnology, 28(3): 367-74

56. Li, C., Liu, H., Yang, Y., Xu, X., Lv, T., Zhang, H., Liu, K., Zhang, S. and Chen, Y. 2018. N-myristoylation of antimicrobial peptide CM4 enhances its anticancer activity by interacting with cell membrane and targeting mitochondria in breast cancer cells. Frontiers in pharmacology, 9: 1297.

57. Li, Y.C., Park, M.J., Ye, S.K., Kim, C.W. and Kim, Y.N. 2006. Elevated levels of cholesterol-rich lipid rafts in cancer cells are correlated with apoptosis sensitivity induced by cholesterol-depleting agents. The American journal of pathology, 168(4): 1107-18.

58. Li, X., Shen, B., Chen, Q., Zhang, X., Ye, Y., Wang, F. and Zhang, X. 2016. Antitumor effects of cecropin B-LHRH'on drug-resistant ovarian and endometrial cancer cells. BMC cancer, 16(1): 251.

59. Liggett, Jr, W.H. and Sidransky, D. 1998. Role of the p16 tumor suppressor gene in cancer. Journal of clinical oncology, 16(3): 1197-206.

60. Lim, K.J., Sung, B.H., Shin, J.R., Lee, Y.W., Yang, K.S. and Kim, S.C. 2013. A cancer specific cell-penetrating peptide, BR2, Cell. 1988; 55(6):1189-93.for the efficient delivery of a scFv into cancer cells. PloS one, 8(6): e66084

61. Lindgren, M., Rosenthal-Aizman, K., Saar, K., Eiríksdóttir, E., Jiang, Y., Sassian, M., Östlund, P., Hällbrink, M. and Langel, Ü. 2006. Overcoming methotrexate resistance in breast cancer tumour cells by the use of a new cell-penetrating peptide. Biochemical pharmacology, 71(4): 416-25.

62. Liu, J., Gaj, T., Patterson, J.T., Sirk, S.J. and Barbas III, C.F. 2014. Cell-penetrating peptide-mediated delivery of TALEN proteins via bioconjugation for genome engineering. PloS one, 9(1): e85755.

63. Liu, S., Yang, H., Wan, L., Cheng, J. and Lu, X. 2013. Penetratin-mediated delivery enhances the antitumor activity of the cationic antimicrobial peptide magainin II. Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals, 28(4): 289-97.

64.Liu, S., Yang, H., Wan, L., Cai, H.W., Li, S.F., Li, Y.P., Cheng, J.Q. and Lu, X.F. 2011. Enhancement of cytotoxicity of antimicrobial peptide magainin II in tumor cells by bombesin-targeted delivery. Acta Pharmacologica Sinica, 32(1): 79-88.

65. Liu, X., Li, Y., Li, Z., Lan, X., Leung, P.H., Li, J., Yang, M., Ko, F. and Qin, L. 2015. Mechanism of anticancer effects of antimicrobial peptides. Journal of fiber bioengineering and informatics, 8(1):25-36.

66. Lu, Y., Zhang, T.F., Shi, Y., Zhou, H.W., Chen, Q., Wei, B.Y., Wang, X., Yang, T.X., Chinn, Y.E., Kang, J. and Fu, C.Y. 2016. PFR peptide, one of the antimicrobial peptides identified from the derivatives of lactoferrin, induces necrosis in leukemia cells. Scientific reports, 6: 20823.

67. Mader, J.S., Ewen, C., Hancock, R.E. and Bleackley, R.C. 2011. The human cathelicidin, LL-37, induces granzyme-mediated apoptosis in regulatory T cells. Journal of Immunotherapy, 34(3): 229-35.

68. Mäe, M., Rautsi, O., Enbäck, J., Hällbrink, M., Aizman, K.R., Lindgren, M., Laakkonen, P. and Langel, Ü. 2012. Tumour targeting with rationally modified cell-penetrating peptides. International Journal of Peptide Research and Therapeutics, 18(4): 361-71.

69. Mahassni, S.H. and Al-Reemi, R.M. 2013. Apoptosis and necrosis of human breast cancer cells by an aqueous extract of garden cress (*Lepidium sativum*) seeds. Saudi journal of biological sciences, 20(2): 1319.

70. Marqus, S., Pirogova, E. and Piva, T.J. 2017. Evaluation of the use of therapeutic peptides for

DOR: 20.1001.1.23832738.1401.35.2.1.7

cancer treatment. Journal of biomedical science, 24(1): 21.

71. Makovitzki, A., Fink, A. and Shai, Y. 2009. Suppression of human solid tumor growth in mice by intratumor and systemic inoculation of histidine-rich and pH-dependent host defense–like lytic peptides. Cancer research, 69(8): 3458-63.

72. Matsuzaki, K., Murase, O., Fujii, N. and Miyajima, K. 1996. An antimicrobial peptide, magainin 2, induced rapid flip-flop of pHospHolipids coupled with pore formation and peptide translocation. Biochemistry, 35(35): 11361-8.

73. Morshed, R.A., Muroski, M.E., Dai, Q., Wegscheid, M.L., Auffinger, B., Yu, D., Han, Y., Zhang, L., Wu, M., Cheng, Y. and Lesniak, M.S. 2016 . Cell-penetrating peptide-modified gold nanoparticles for the delivery of doxorubicin to brain metastatic breast cancer. Molecular pharmaceutics, 13(6): 1843-54.

74. Mostafavi, E.S. and Asoodeh, A. 2019. Cell penetrating and transytosing peptides: powerful strategies for oral insulin delivery. Razi Journal of Medical Sciences, 26(2): 10-29.

75. Mussa, Farkhani S, Asoudeh Fard A, Zakeri-Milani P, Shahbazi Mojarrad J, Valizadeh H. 2017. Enhancing antitumor activity of silver nanoparticles by modification with cell-penetrating peptides. Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology, 45(5): 1029-35.

76. Oren, Z. and Shai, Y. 1998. Mode of action of linear amphipathic α-helical antimicrobial peptides. Peptide Science, 47(6): 451-63.

77. Ourth, D.D. 2011. Antitumor cell activity in vitro by myristoylated-peptide. Biomedicine & Pharmacotherapy, 65(4): 271-4.

78. Pan, H., Soman, N.R., Schlesinger, P.H., Lanza, G.M. and Wickline, S.A. 2011. Cytolytic peptide nanoparticles (‘NanoBees’) for cancer therapy. Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology, 3(3): 318-27.

79. Papo, N., Seger, D., Makovitzki, A., Kalchenko, V., Eshhar, Z., Degani, H. and Shai, Y. 2006. Inhibition of tumor growth and elimination of multiple metastases in human prostate and breast xenografts by systemic inoculation of a host defense–like lytic peptide. Cancer research, 66(10): 5371-8.

80. Patel, L.N., Zaro, J.L. and Shen, W.C. 2007. Cell penetrating peptides: intracellular pathways and pHarmaceutical perspectives. Pharmaceutical research, 24(11): 1977-92.

81. Petrou, C. and Sarigiannis, Y. Peptide synthesis: 2018. Methods, trends, and challenges. InPeptide Applications in Biomedicine, Biotechnology and Bioengineering, (pp. 1-21). Woodhead Publishing.

82. Regberg, J., Srimanee, A. and Langel Ü. 2012. Applications of cell-penetrating peptides for tumor targeting and future cancer therapies. Pharmaceuticals, 5(9): 991-1007

83. Ren, S.X., Shen, J., Cheng, A.S., Lu, L., Chan, R.L., Li, Z.J., Wang, X.J., Wong, C.C., Zhang, L., Ng, S.S. and Chan, F.L. 2013. FK-16 derived from the anticancer peptide LL-37 induces caspase-independent apoptosis and autophagic cell death in colon cancer cells. PLoS One, 8(5).

84. Risso, A., Zanetti, M. and Gennaro, R. 1998. Cytotoxicity and apoptosis mediated by two peptides of innate immunity. Cellular immunology, 189(2): 107-15.

85. Rosenfeld, Y. and Shai, Y. 2006. Lipopolysaccharide (Endotoxin)-host defense antibacterial peptides interactions: role in bacterial resistance and prevention of sepsis. BBA-Biomembranes, 1758(9): 1513-22.

86. Rozek, T., Wegener, K.L., Bowie, J.H., Olver, I.N., Carver, J.A., Wallace, J.C. and Tyler, M.J. 2000.The antibiotic and anticancer active aurein peptides from the Australian bell frogs *Litoria aurea* and *Litoria raniformis*: the solution structure of aurein 1.2. European Journal of Biochemistry, 267(17): 5330-41.

87. Schweizer, F. 2009. Cationic ampHipHilic peptides with cancer-selective toxicity. European journal of pharmacology, 625(1-3): 190-4.

88. Shai, Y. 1999. Mechanism of the binding, insertion and destabilization of pHospHolipid bilayer membranes by α-helical antimicrobial and cell non-selective membrane-lytic peptides. BBA-Biomembranes, 1462(1-2): 55-70.

89. Shi, N.Q., Gao, W., Xiang, B. and Qi, X.R. 2012. Enhancing cellular uptake of activable cell-penetrating peptide–doxorubicin conjugate by enzymatic cleavage. International journal of nanomedicine, 7: 1613.

90. Shin, M.C., Zhang, J., Min, K.A., Lee, K., Byun, Y., David, A.E., He, H. and Yang, V.C. 2014. Cell-penetrating peptides: Achievements and challenges in application for cancer treatment. Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for

DOR: 20.1001.1.23832738.1401.35.2.1.7

Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials, 102(2): 575-87.

91. Shin, M.C., Zhang, J., Min, K.A., Lee, K., Moon, C., Balthasar, J.P. and Yang, V.C. 2014. Combination of antibody targeting and PTD-mediated intracellular toxin delivery for colorectal cancer therapy. Journal of controlled release, 194: 197-210.

92. Shoombuatong, W., Schaduangrat, N., and Nantasenamat, C. 2018. Unraveling the bioactivity of anticancer peptides as deduced from machine learning. EXCLI journal, 17:734.

93. Snyder, E.L., Meade, B.R., Saenz, C.C. and Dowdy, S.F. 2004. Treatment of terminal peritoneal carcinomatosis by a transducible p53-activating peptide. PLoS biology, 2(2): e36.

94. Sok, M., Šentjurc, M. and Schara, M. 1999. Membrane fluidity characteristics of human lung cancer. Cancer letters, 139(2): 215-20.

95. Szabó, I., Orbán, E., Schlosser, G., Hudecz, F. and Bánóczi, Z. 2016. Cell-penetrating conjugates of pentaglutamylated methotrexate as potential anticancer drugs against resistant tumor cells. European journal of medicinal chemistry, 115: 361-8.

96. Tardón, M.C., Allard, M., Dutoit, V., Dietrich, P.Y. and Walker, P.R. 2019. Peptides as cancer vaccines. Current opinion in pharmacology, 47: 20-6.

97. Theansungnoen, T., Maijaroen, S., Jangpromma, N., Yaraksa, N., Daduang, S., Temsiripong, T., Daduang, J. and Klaynongsruang, S. 2016. Cationic antimicrobial peptides derived from *Crocodylus siamensis* leukocyte extract, revealing anticancer activity and apoptotic induction on human cervical cancer cells. The protein journal, 35(3): 202-11.

98. Thundimadathil, J. 2012. Cancer treatment using peptides: current therapies and future prospects. Journal of amino acids, 2012: Article ID 967347.

99. Ting, C.H., Liu, Y.C., Lyu, P.C. and Chen, J.Y. 2018. Nile tilapia derived antimicrobial peptide TP4 exerts antineoplastic activity through microtubule disruption. Marine drugs, 16(12): 462.

100. Torcato, I.M., Castanho, M.A. and Henriques, S.T. 2012. The application of biophysical techniques to study antimicrobial peptides. Journal of Spectroscopy, 27(5-6):541-9.

101. Ueda, Y., Wei, F.Y., Hide, T.I., Michiue, H., Takayama, K., Kaitsuka, T., Nakamura, H., Makino, K., Kuratsu, J.I., Futaki, S. and Tomizawa, K. 2012. Induction of autophagic cell death of glioma-initiating cells by cell-penetrating D-isomer peptides consisting of Pas and the p53 C-terminus. Biomaterials, 33(35): 9061-9.

102. Vivès, E., Schmidt, J. and Pèlegrin, A. 2008. Cell-penetrating and cell-targeting peptides in drug delivery. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer, 1786(2): 126-38.

103. Wang, C., Chen, T., Zhang, N., Yang, M., Li, B., Lü, X., Cao, X. and Ling, C. 2009. Melittin, a major component of bee venom, sensitizes human hepatocellular carcinoma cells to tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)-induced apoptosis by activating CaMKII-TAK1-JNK/p38 and inhibiting IκBα kinase-NFκB. Journal of Biological Chemistry, 284(6): 3804-13.

104. Wang, C., Tian, L.L., Li, S., Li, H.B., Zhou, Y., Wang, H., Yang, Q.Z., Ma, L.J. and Shang, D.J. 2013. Rapid cytotoxicity of antimicrobial peptide tempoprin-1CEa in breast cancer cells through membrane destruction and intracellular calcium mechanism. PloS one, 8(4): e60462.

105. Wang, L., Chen, H., Yu, J., Lin, X., Qi, J., Cui, C., Xie, L. and Huang, S. 2016. CPP2-p16MIS treatment–induced colon carcinoma cell death in vitro and prolonged lifespan of tumor-bearing mice. BMC cancer, 16(1): 571.

106.Wang ,Y.S., Li, D., Shi, H.S., Wen, Y.J., Yang, L., Xu, N., Chen, X.C., Chen, X., Chen, P., Li, J. and Deng, H.X. 2009. Intratumoral expression of mature human neutrophil peptide-1 mediates antitumor immunity in mice. Clinical Cancer Research, 15(22): 6901-11.

107. Winter, P.M. 2014. Perfluorocarbon nanoparticles: evolution of a multimodality and multifunctional imaging agent. Scientifica, 2014.

108. Wu, D., Gao, Y., Qi, Y., Chen, L., Ma, Y. and Li, Y. 2014. Peptide-based cancer therapy: opportunity and challenge. Cancer letters, 351(1): 13-22.

109. Xiang, Y., Shan, W. and Huang, Y. 2018. Improved anticancer efficacy of doxorubicin mediated by human-derived cell-penetrating peptide dNP2. International journal of pharmaceutics, 551(1-2): 14-22.

110. Yamazaki, T., Pitt, J.M., Vetizou, M., Marabelle, A., Flores, C., Rekdal, Ø., Kroemer,

DOR: 20.1001.1.23832738.1401.35.2.1.7

G. and Zitvogel, L. 2016. The oncolytic peptide LTX-315 overcomes resistance of cancers to immunotherapy with CTLA4 checkpoint blockade. Cell Death & Differentiation, 23(6): 1004-15.

111. Yang, V., Pedrosa, S.S., Fernandes, R., Maurício, A.C., Koksch, B., Gärtner, F., Amorim, I. and Vale, N. 2019. Synthesis of PEGylated methotrexate conjugated with a novel CPP6, in sillico structural insights and activity in MCF-7 cells. Journal of Molecular Structure, 1192: 201-7.

112. Yang, W., Xia, Y., Fang, Y., Meng, F., Zhang, J., Cheng, R., Deng, C. and Zhong, Z. 2018. Selective cell penetrating peptide-functionalized polymersomes mediate efficient and targeted delivery of methotrexate disodium to human lung Cancer In vivo. Advanced healthcare materials, 7(7): 1701135.

113. Ye, J., Shin, M.C., Liang, Q., He, H. and Yang, V.C. 2015. 15 years of ATTEMPTS: A macromolecular drug delivery system based on the CPP-mediated intracellular drug delivery and antibody targeting. Journal of controlled release, 205: 58-69.

114. Zasloff, M. 2002. Antimicrobial peptides of multicellular organisms. Nature, 415(6870):389.

115. Zealand PHarma, A.S.(25 April). What are Peptides.

116. Zhang, L., Zhang, Y., Tai, L., Jiang, K., Xie, C., Li, Z., Lin, Y.Z., Wei, G., Lu, W and Pan, W. 2016. Functionalized cell nucleus-penetrating peptide combined with doxorubicin for synergistic treatment of glioma. Acta biomaterialia, 42: 90-101.

The use of anticancer and cell-penetrating peptides in the treatment of cancer

Kharazmi-khorassani J.[1] and Asoodeh A.[1,2]*

[1] **Dept. of Chemistry, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, I.R. of Iran**

[2] **The Research Institute of Biotechnology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, I.R. of Iran,**

Abstract

Cancer is considered as one of the leading causes of death globally. Conventional methods for cancer treatment, such as chemotherapy has been limited their use due to lack of tumor specificity and high drug resistance. Thus, there is a need to develop new therapeutic drugs. Peptides are promising agents for cancer treatment and have attracted the attention of scientists because of some factors such as small size, convenient synthesis, high activity and specificity and biological diversity. In the field of cancer treatment, antimicrobial peptides with anticancer properties and cell-penetrating peptides have been used in the recent years. The current study was carried out to summarize findings from anticancer and cell-penetrating peptides for the treatment of cancer. The results of the current study showed that antimicrobial peptides with anticancer properties act against cancer cells and tumors through membrane and non-membrane mechanisms. Conjugated cell-penetrating peptides are also considered as therapeutic agents by overcoming the drug resistance as an effective mechanism in the cancer treatment. In addition, anticancer and cell penetrating peptides due to some factors such as low toxicity, mode of action and ability to penetrate the cell membrane could be suggested as attractive candidates for cancer treatment. However, further studies are needed to understand the mechanism of action of these therapeutic agents.

Key words: Cancer; Antimicrobial peptide; Anticancer peptide; Cell penetrating peptide