مجله علوم پزشکی رازی دوره ۲۶، شماره ۲، اردیبهشت ۱۳۹۸ http://rjms.iums.ac.ir

مقاله مروری

پپتیدهای نفوذ کننده به سلول و ترانسیتوزیز: استراتژی‌های قدرتمندی جهت انتقال خوراکی انسولین

الهام سادات مصطفوی: دانشجوی دکتری بیوشیمی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

احمد آسوده: استاد، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران (* نویسنده مسئول) asoodeh@um.ac.ir

چکیده

انسولین برای دیابت نوع یک و دیابت پیشرفته‌ی نوع دو، جهت تنظیم گلوکز خون و افزایش طول عمر بیماران ضروری می‌باشد. تزریق مکرر زیرجلدی انسولین معمولاً همراه با درد، نکروز موضعی بافت، عفونت و آسیب عصب می‌باشد. اخیراً جهت غلبه بر این محدودیت‌ها و افزایش رضایتمندی بیماران، تعدادی از روش‌های جدید انتقال مانند انتقال خوراکی انسولین گسترش یافته‌اند. انتقال خوراکی انسولین و سایر پروتئین‌ها/ پپتیدهای درمانی همراه با جذب روده‌ای ضعیف و تجزیه آنزیمی آن‌ها در دستگاه گوارش می‌باشد. با این حال، پپتیدهای نفوذ کننده به سلول (CPPs, Cell Penetrating Peptides) و پپتیدهای ترانسیتوزیز، پتانسیل امیدبخشی را به عنوان حامل‌هایی که به انسولین کونژوگه شده و قادرند از اپیتلیوم روده عبور کنند، به نمایش گذاشته‌اند. مطالعات متعددی نشان داده‌اند که پس از کونژوگه کردن انسولین با CPP ها و پپتیدهای ترانسیتوزیز، این بیومولکول‌ها می‌توانند فعالیت زیستی خود را حفظ کنند و همچنین پایدار هستند و نسبت به تجزیه پروتئازی مقاوم می‌باشند. در این مقاله مروری، پس از معرفی انواع مختلف پپتیدهای نفوذ کننده به سلول و همچنین پپتیدهای ترانسیتوزیز، ما بر روی مطالعات صورت گرفته در مورد کاربرد این پپتیدها به عنوان تکنولوژی قدرتمندی برای انتقال خوراکی انسولین از طریق دهان تمرکز کرده‌ایم. براساس نتایج این مطالعات، انسولین خوراکی نه تنها کاندید مناسبی برای تزریقات دردآور در بیماران دیابتی خواهد بود، بلکه همچنین روند فیزیولوژی تولید انسولین داخلی را توسط پانکراس شبیه سازی می‌کند.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت کننده: حامی مالی نداشته است.

کلیدواژه‌ها

دیابت، انسولین،

پپتیدهای نفوذ کننده به سلول،

پپتیدهای ترانسیتوزیز

تاریخ دریافت: ۹۷/۹/۲۵

تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۲/۱۲

شیوه استناد به این مقاله:

Sadat-Mostafavi E, Asoodeh A. Cell penetrating and transytosing peptides: Powerful strategies for oral insulin delivery. Razi J Med Sci. 2019;26(2):10-29.

*انتشار این مقاله به‌صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 1.0 صورت گرفته است.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-01-30]

[DOR: 20.1001.1.22287043.1398.26.2.5.7]

Razi Journal of Medical Sciences.2019;26(2):10-29. http://rjms.iums.ac.ir

Review Article

Cell penetrating and transytosing peptides: Powerful strategies for oral insulin delivery

Elham Sadat-Mostafavi, PhD Student of Biochemistry, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
Ahmad Asoodeh, PhD, Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran (*Corresponding author) asoodeh@um.ac.ir

Abstract

Insulin is essential for type 1 and advanced type 2 diabetes to maintain blood glucose levels and increase the patient's longevity. Frequent subcutaneous insulin injections are usually associated with pain, local tissue necrosis, infection and nerve damage. Recently, a number of new delivery methods such as oral insulin delivery have been developed to overcome these limitations and increase patient's satisfaction. Oral delivery of insulin and other therapeutic peptides/ proteins are associated with poor intestinal absorption and enzymatic degradation in the gastrointestinal tract. However, Cell Penetrating (CPPs) and transytosing peptides have exhibited promising potential as carriers that conjugated to insulin and capable to across the intestinal epithelium. Numerous studies have shown that after conjugation of insulin with CPPs and transytosis peptides these biomolecules can retain their biological activity and also are stable and resistant to proteolytic degradation. In this review, following the introduction of different types of CPPs and also transytosis peptides, we have focused on the studies that they use these peptides as a powerful technology for oral insulin delivery. Based on the results of these studies, oral insulin will not only be a good candidate for painful injections in diabetic patients, but also mimics the physiology of endogenous insulin secreted by pancreas.

Conflicts of interest: None
Funding: None

Keywords
Dabetes,
Insulin,
Cell penetrating peptides,
Transytosis peptides

Received: 16/12/2018
Accepted: 03/03/2019

Cite this article as:
Sadat-Mostafavi E, Asoodeh A. Cell penetrating and transytosing peptides: Powerful strategies for oral insulin delivery. Razi J Med Sci. 2019;26(2):10-29.

This work is published under CC BY-NC-SA 1.0 licence.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-01-30]

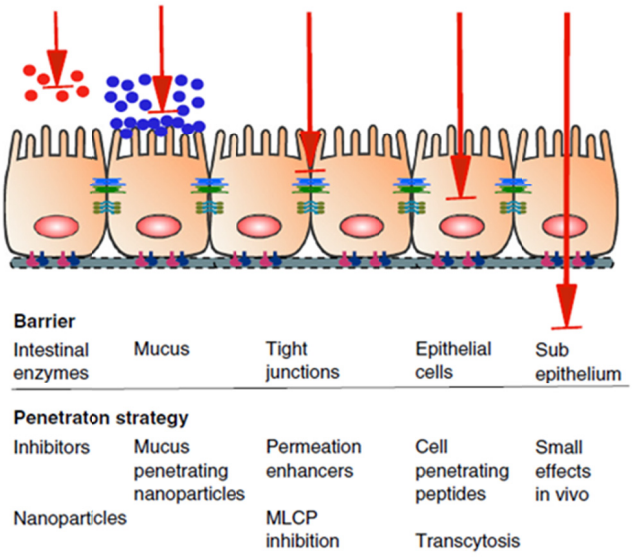
[DOR: 20.1001.1.22287043.1398.26.2.5.7]

مقدمه

انسولین تراپی (Insulin therapy) برای درمان بیماران مبتلا به دیابت وابسته به انسولین (نوع یک) و بسیاری از بیماران مبتلا به دیابت غیر وابسته به انسولین (نوع دو) ضروری می‌باشد؛ که طی آن بیماران بایستی روزانه یک یا چندبار انسولین را بصورت زیرپوستی تزریق کنند. تزریقات مکرر زیرپوستی منجر به درد، نکروز موضعی بافت، آلودگی میکروبی و آسیب عصب می‌شود (۱). اخیراً جهت غلبه بر این محدودیت‌ها، تعدادی از روش‌های نوین انتقال انسولین مانند انتقال خوراکی آن و استفاده از نانوتکنولوژی گسترش یافته‌اند. با این حال، از موانع مهم انتقال خوراکی مولکول‌های بر پایه پروتیئن مانند انسولین می‌توان به پایداری پایین، جذب ضعیف و عدم لیپوفیلیسیتی آن‌ها اشاره کرد، که منجر به نفوذ ضعیف این ترکیبات از بافت‌های روده و بینابینی می‌شود. از آن‌جایی که ترکیبات پروتئینی توسط آنزیم‌های دستگاه گوارش خیلی سریع تجزیه یا غیر فعال می‌شوند، زیست دسترسی پذیری و اثر بخشی چنین درمان‌هایی به شدت تحت تاثیر قرار می‌گیرد (۲ و ۳).

موانعی که برای جذب خوراکی داروها در دستگاه گوارش وجود دارند، شامل موانع فیزیکی، شیمیایی و آنزیمی می‌باشند. موانع فیزیکی شامل الف) عبور از لایه موکوسی که برای غلبه بر آن می‌توان از نانوپارتیکل‌های نفوذکننده در لایه موکوسی استفاده کرد؛ ب) وجود اتصالات محکم (tight junction) بین سلول‌های اپیتلیال که برای عبور دارو به صورت پاراسلولار از میان آن‌ها می‌توان از مهارکننده‌های MLCP و تقویت‌کننده‌های نفوذ یا جذب، مخصوصاً سیستم‌های حامل مانند لیپوزوم‌ها استفاده کرد؛ ج) اپیتلیوم روده که برای ورود پروتئین‌های درمانی به درون سلول‌های اپیتلیال یا همان مسیر ترانس‌سلولار، می‌توان از پپتیدهای نفوذ کننده به سلول (Cell -CPPs Penetrating Peptides) و همچنین پپتیدهای ترانسیتوزیز استفاده نمود و د) ورود به بافت ساب‌اپیتلیال که در *in vivo* اثرات ناچیزی دارد (شکل ۱) (۴ و ۵).

مانع شیمیایی موجود بر سر راه جذب داروهایی مانند انسولین، pH متفاوت لومن (۳-۱/۲در معده و ۸-۶/۵ در روده) که باعث اکسیداسیون وابسته به pH و همچنین دآمیناسیون انسولین می‌گردد، می‌باشد. نهایتاً مانع آنزیمی، غیر فعال شدن و تجزیه‌ی داروهای



شکل ۱– موانع سیستم گوارش برای انتقال خوراکی پپتیدها و پروتئین‌های درمانی از جمله انسولین (۵)

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-01-30]
[DOR: 20.1001.1.22287043.1398.26.2.5.7]

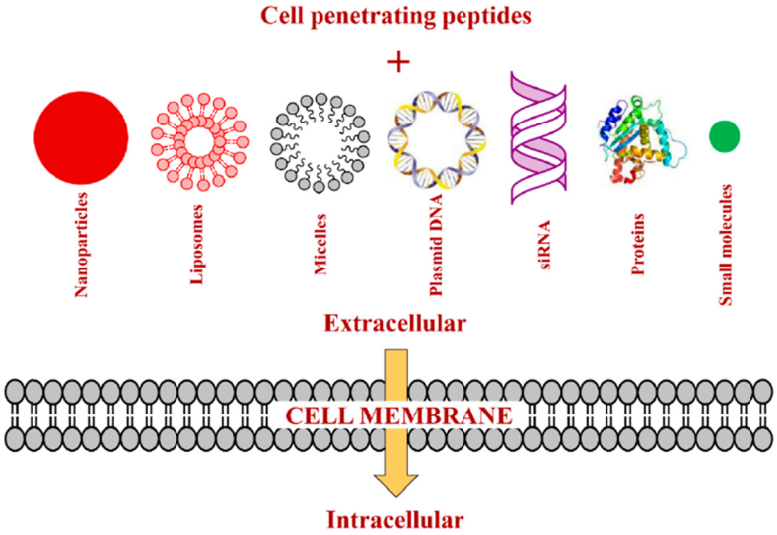
پروتئینی توسط آنزیم‌های پپسین معده و کیموتریپسین، الاستاز و کربوکسی‌پپتیدازها در روده می‌باشد که برای غلبه بر آن می‌توان از مهارکننده‌های پروتئازی و نانوپارتیکل‌ها استفاده کرد (شکل ۱) (۴).

بنابراین تمرکز اصلی این روش درمانی افزایش نفوذپذیری ترکیبات بر پایه پروتئین از موانع سیستم گوارش بوده به طوری که نقش مهم آن‌ها که ایجاد یک سد در برابر باکتری‌ها و ویروس‌ها می‌باشد، را تحت تاثیر قرار ندهند. در این مقاله مروری، پس از معرفی پپتیدهای نفوذ کننده به سلول و همچنین پپتیدهای ترانسیتوزیز، به بیان مطالعات صورت گرفته در مورد کاربرد این پپتیدها به عنوان تکنولوژی قدرتمندی برای انتقال خوراکی انسولین از طریق دهان پرداخته شده است. براساس نتایج مطالعات صورت گرفته، انسولین خوراکی نه تنها جایگزین مناسبی برای تزریقات مکرر و رنج آور در بیماران دیابتی خواهد بود، بلکه همچنین روند طبیعی تولید و رسیدن مستقیم انسولین به کبد را شبیه سازی می‌کند.

۲- پپتیدهای نفوذ کننده به سلول (CPPs)

در طول دو دهه گذشته، پپتیدهای نفوذ کننده به سلول (cell penetrating peptides, CPPs) که همچنین با نام‌های دمین‌های انتقال پروتئین (protein transduction domains, PTDs) یا توالی‌های غشاگذر (translocation sequences membrane) و یا پپتیدهای تروجان (trojan peptides) نیز شناخته می‌شوند، به عنوان وکتورهای ترانس‌اپیتلیال قدرتمندی که قادر به انتقال مولکول‌های کارگو از غشاهای بیولوژی هستند، پدید آمده‌اند (۶ و ۷). CPP ها معمولاً پپتیدهایی کاتیونیک و یا آمفی‌پاتیک با طول ۳۰-۵ اسید آمینه و محلول در آب بوده که می‌توانند از منابع طبیعی استخراج شده و یا به صورت *de novo* طراحی شوند (۸). در مقایسه با روش‌های سنتی مانند میکرواینجکشن و الکتروپوریشن، CPP ها به شیوه غیر تهاجمی و بدون از بین بردن یکپارچگی غشای سلول توانایی ورود به سلول‌های زنده را داشته و بنابراین ایمن و بسیار کارآمد هستند (۹). مطالعات اخیر نشان داده‌اند که CPP ها دامنه وسیعی از مولکول‌های فعال دارویی، نانوپارتیکل‌ها، لیپوزوم‌ها، میسل‌ها، نوکلئیک اسیدها، پروتئین‌ها و پپتیدها (شکل ۲) را با بازدهی بالا از غشای سلول‌های گیاهان، باکتری‌ها و پستانداران عبور می‌دهند (۱۰).

در سال ۱۹۸۸، CPP مشتق‌شده از پروتئین Tat ویروس HIV-1، با توالی آمینواسیدی RKKRRQRRR برای اولین بار کشف و معرفی شد. مطالعات مربوطه نشان دادند که Tat بصورت موثری از غشای سلولی سلول‌های کشت‌داده شده پستانداران عبور و در هسته تجمع می‌یابد (۱۱ و ۱۲). پس از آن، CPP های دیگری با منشا طبیعی مانند VP22 مشتق



شکل ۲- کاربردهای پپتیدهای نفوذ کننده به سلول (CPPs) برای انتقال انواع مختلف مولکول‌های کارگو (۱۰)

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-01-30]
[DOR: 20.1001.1.22287043.1398.26.2.5.7]

شده از ویروس هرپس سیمپلکس (HSV) و antennapedia (یا با نام دیگر penetratin) مشتق شده از دروزوفیلا ملانوگاستر و یا با منشا سنتزی مانند ترانسپورتان (transportan)، که همگی قادر به عبور از غشای سلولی چه به صورت منفرد و چه متصل به مولکول‌های کارگو بودند، شناسایی شدند (۱۳و ۱۴).

CPP ها حتی در غلظت‌های کم‌تر از میکرومولار قادرند به گلیکوزآمینوگلیکان‌های سطح سلول متصل شده و توسط مسیر اندوسیتیک، بدون اینکه ساختار غشا را تخریب کنند، وارد سلول شوند (۱۵). البته مکانیسم دقیق ورود CPP ها از غشا به درون سلول، هنوز مورد بحث است. با این حال، در طول دهه‌ی گذشته شواهد زیادی برای ورود آن‌ها از طریق مکانیسم‌های اندوسیتیک و مخصوصا اندوسیتوز بواسطه رسپتور و ماکروپینوسیتوز ارائه شده است (۱۶).

۲-۱- طبقه‌بندی CPP ها

CPP ها را می‌توان بر اساس منشا، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، نوع اتصال بین CPP و مولکول کارگو و نوع روشی که جذب سلول می‌شوند، در گروه‌های مختلفی طبقه‌بندی کرد.

۲-۱-۱- طبقه‌بندی CPP ها براساس ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی

بر اساس ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی (بار خالص کلی) می‌توان CPP ها را در سه گروه کاتیونیک، هیدروفوبیک و آمفی‌پاتیک قرار داد. CPP های آنیونیک در گروه جداگانه‌ای قرار نگرفته و براساس ویژگی‌هایی که دارند، در گروه CPP های آمفی‌پاتیک و هیدروفوبیک قرار می‌گیرند.

CPP های کاتیونیک توالی آمینواسیدی کوتاهی داشته و معمولاً از اسیدهای آمینه‌ی لیزین، هیستیدین و آرژنین ساخته شده و هیچ‌گونه هلیکس آمفی‌پاتیکی در ساختار سه بعدی خود ندارند. بار مثبت اسیدهای آمینه در این CPP ها، موجب اینترکشن پپتید با موتیف‌های آنیونی/ اسیدی غشای سلولی، به شیوه مستقل از رسپتور، می‌شود (۸).

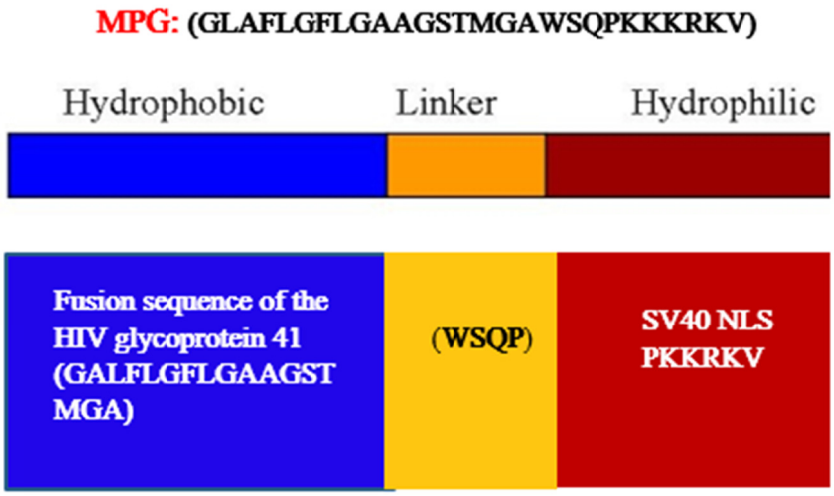
همان طور که در بالا عنوان شد، اولین CPP کاتیونیک کشف شده، پپتید Tat می‌باشد. همچنین، مطالعات مختلف بر روی پپتیدهای براساس تعداد اسیدهای آمینه‌ی آرژنین (از R3 تا R12) نشان داده‌اند که حداقل توالی مورد نیاز برای جذب سلولی این پپتیدها، اُکتا-آرژنین (R8) می‌باشد؛ به طوری که افزایش تعداد آرژنین‌ها میزان جذب سلولی را افزایش می‌دهد (۱۷). براساس مطالعات صورت گرفته وجود حداقل هشت اسید آمینه بازی برای جذب کارآمد CCP های کاتیونیک لازم است (۱۸). اگرچه رزیدوهای با بار مثبت نقش مهمی برای جذب CPP های کاتیونیک ایفا می‌کنند، سایر رزیدوها هم مهم می‌باشند. به عنوان مثال، موتاسیون W14F در penetratin با توالی آمینواسیدی RQIKIWFQNRRMKWKK، جذب این پپتید به درون سلول را مختل می‌کند (۱۹).

نوع خاصی از CPP های کاتیونیک توالی‌های هدف-گذاری شده به سمت هسته (Nuclear Localization Sequences, NLSs) می‌باشند. NLS ها پپتیدهای کوتاهی براساس موتیف‌های غنی از لیزین، آرژنین یا پرولین هستند که قادرند از طریق کمپلکس منفذ هسته‌ای، وارد هسته شوند. NLS ها را می‌توان به دو گروه سیگنال‌های یک بخشی (monopartite signals) و سیگنال‌های دو بخشی (bipartite signals) که به ترتیب از یک یا دو کلاستر از چهار یا تعداد بیش‌تر اسید آمینه بازی تشکیل شده‌اند، تقسیم‌بندی کرد. برای مثال، نوکلئوپلاسمین یک bipartite NLS با توالی آمینو اسیدی KRPAATKKAGQAKKKL بوده، در حالی‌که NLS مشتق شده از سیمیان ویروس ۴۰ (SV40) با توالی PKKKRKV یک monopartite NLS می‌باشد. از NLS ها می‌توان به NF-Kb با توالی VQRKRQKLMP، TFIIE-beta با توالی SKKKKTKV و Oct-6 با توالی GRKRKKRT اشاره کرد. به علت اینکه شمار اسیدهای آمینه باردار در اکثر NLS ها کمتر از هشت عدد می‌باشد؛ اکثر آن‌ها برای استفاده به عنوان CPP مناسب نیستند؛ با این حال می‌توان آن‌ها را به صورت کوالان به توالی‌های پپتیدی هیدروفوبیک جهت تولید CPP های هیدروفوبیک با قابلیت جذب سلولی بالا متصل کرد (۲۰).

CPP های آمفی‌پاتیک از هر دو گروه پپتیدهای کاتیونیک و آنیونیک تشکیل شده‌اند و به چهار گروه پپتیدهای آمفی‌پاتیک اولیه (primary amphipathic CPPs)، پپتیدهای آلفا-هلیکس آمفی‌پاتیک ثانویه (Secondary amphipathic α-helical CPPs)،

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-01-30]

[DOR: 20.1001.1.22287043.1398.26.2.5.7]



شکل ۳- تولید CPP کایمر MPG از اتصال کوالان NLS به دمین هیدروفوبیک

پپتیدهای آمفی‌پاتیک بتا-شیت (β-Sheet amphipathic CPPs) و پپتیدهای آمفی‌پاتیک غنی از پرولین (proline rich amphipathic CPPs) تقسیم‌بندی می‌شوند (۸).

چندین نوع از پپتیدهای آمفی‌پاتیک اولیه، بصورت پپتیدهای کایمر از اتصال کوالان NLS به یک دمین هیدروفوبیک به دست می‌آیند. به عنوان مثال، از ادغام توالی NLS ویروس SV40 (بخش هیدروفیلیک، PKKRKV) به توالی فیوژن گلیکوپروتئین ۴۱ ویروس HIV-1 (بخش هیدروفوبیک، GALFLGFLGAAGSTMGA) توسط لینکر WSQP، CPP کایمر و آمفی‌پاتیک MPG با توالی GLAFLGFLGAAGSTMGAWSQPKKKRKV بدست می‌آید (شکل ۳). سایر پپتیدهای آمفی‌پاتیک اولیه به صورت کامل از پروتئین‌های طبیعی مشتق می‌شوند. برای مثال، pVEC از VE-کادهرین و ARF(1-22) از دمین N-ترمینال پروتئین سرکوب کننده تومور P14ARF، مشتق شده‌اند (۲۱).

در پپتیدهای آلفا-هلیکس آمفی‌پاتیک ثانویه، اسید آمینه‌های هیدروفیلیک و هیدروفوبیک در دو طرف هلیکس قرار دارند، به طوری‌که طرف هیدروفیلیک از اسیدهای آمینه‌ی کاتیونیک، آنیونیک و یا قطبی تشکیل و با غشای سلولی اینترکشن می‌دهد؛ در حالی‌که طرف هیدروفوبیک مسئول اختلال و نفوذ در عرض غشا می‌باشد (۲۲).

از دسته‌ی پپتیدهای آمفی‌پاتیک بتا-شیت می‌توان به VT5 با توالی DPKGDPKGVTVTV TVTVTGKGDPK اشاره کرد، که ساختار بتا-شیت را به خود گرفته و جذب سلول می‌شود. آنالوگ VT5 که در آن دو اسید آمینه به نوع D تبدیل شده‌اند (D-Val[13] و D-Thr[14])، قادر به تشکیل کونفورماسیون بتا-شیت نبوده و جذب سلولی ضعیفی دارد (۲۳).

در صورتی که تعداد اسیدهای آمینه‌ی پرولین در ساختار یک پپتید افزایش یابد، آن پپتید در آب خالص تولید ساختار ثانویه‌ی مشخصی به‌نام پلی‌پرولین II (PPII) می‌کند، که هلیکسی چپ‌گرد با ۳ رزیدو در هر دور می‌باشد. بنابراین، CCP های آمفی‌پاتیک غنی از پرولین، ساختار PPII به خود گرفته و از آن‌ها می‌توان به باکتنسین-۷ (Bactenecin-7, Bac-7) (۲۴)، پپتیدهای مشتق شده سنتزی بر اساس $(PPR)_n$ و $(PRR)_n$ (که n می‌تواند ۳، ۴، ۵ و ۶ باشد) (۲۵) و SAP (۲۶) اشاره کرد.

CPP های هیدروفوبیک یا عمدتاً از اسیدهای آمینه‌ی غیر قطبی تشکیل شده و بار خالص پایینی دارند و یا حاوی یک موتیف هیدروفوبیک و یا یک گروه شیمیایی خاصی در ساختار خود هستند که صرف نظر از مابقی توالی برای جذب سلولی ضروری می‌باشد. در مقایسه با CPP های کاتیونیک و آمفی‌پاتیک، تعداد کمی از این پپتیدها کشف و شناسایی شده‌اند. CPP های هیدروفوبیک می‌توانند به پپتیدهای براساس

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-01-30]
[DOR: 20.1001.1.22287043.1398.26.2.5.7]

آمینواسیدهای طبیعی و پپتیدهای مدیفای شده‌ی شیمیایی که خود شامل پپتیدهای Pepducin، Stapled و Prenylated هستند، تقسیم‌بندی شوند.

pepducin ها از اتصال پالیمتوئیل یا سایر اسیدهای چرب و یا گروه استروئیدی به انتهای آمین پپتیدها تولید می‌شوند. این نوع از پپتیدها قادرند از غشای پلاسمایی عبور و به بخش سیتوزولی شمار زیادی از پروتئین‌های ترانس‌ممبران مانند رسپتورهای متصل‌شونده به پروتئین G (GPCRs) و گیرنده آدرنرژیک (ADRA1B) متصل و فعالیت سیگنالینگ آن‌ها را تنظیم کنند (۲۷). از Pepducin ها برای کنترل فرآیندهای فیزیولوژی متنوعی مانند هومئوستاز وابسته به پلاکت و ترومبوزیز (۲۸)، رشد تومور، تهاجم و رگ‌زایی (۲۹) می‌توان استفاده کرد.

پایدارکردن پپتید در کونفورماسیون آلفا-هلیکس توسط اتصال کوالان دو ترن مجاور با یک لینکر شیمیایی هیدروفوبیک، پایداری پروتئولیتیک پپتید را بهبود می‌بخشد (۳۰و ۳۱). بایستی به این نکته توجه کرد که با stapled کردن پپتید، هیچ تضمینی برای آن‌که به یک CPP تبدیل شود وجود نخواهد داشت؛ با این حال اکثر پپتیدها این قابلیت را دارند. به طور قابل توجه‌ای، نه تنها پپتیدهای stapled آلفا-هلیکس کاتیونیک بلکه همچنین انواع بدون بار و آنیونیک تبدیل به CPP شده و برخی از پپتیدهای آنیونیک نفوذ ناپذیر توانایی ورود به سلول را پس از جانشینی آمینواسیدهای با بار منفی توسط انواع خنثی و کاتیونیک به دست می‌آورند. از این دسته از پپتیدها، می‌توان SAH-8 (۳۰) و sMTide (۳۲) که قادرند پروتئین سرکوب گر تومور P53 را با مهار Mdm2 فعال کنند، نام برد.

براساس مطالعات صورت گرفته، پرنیله کردن پپتیدها با افزودن بخش فارنسیل (C_{15}) یا ژرانیل ژرانیل (C_{20})، توانایی نفوذ به سلول به شیوه غیر وابسته به ATP و اندوسیتیک را به آن‌ها می‌دهد (۳۳و ۳۴).

۲-۱-۲- طبقه‌بندی CPP ها براساس منشا

CPP ها را می‌توان براساس منشا، به سه گروه CPP های مشتق شده از پروتئین‌ها/ پپتیدهای طبیعی، CPP های طراحی‌شده/ سنتزی و CPP های کایمر دسته بندی کرد. CPP های مشتق شده از پروتئین‌ها/ پپتیدهای طبیعی با داشتن موتیف‌های متنوع، قادرند به سلول‌ها وارد شده و براساس پروتئینی که از آن مشتق شده‌اند به چندین گروه دسته‌بندی می‌شوند. CPP های مشتق شده از پروتیئن‌های متصل شونده به هپارین، به گلیکوزآمینوگلیکان‌های سطح سلول متصل و همانند CPP های کاتیونیک اندوسیتوز می‌شوند. به عنوان مثال، DPV3 و DPV3/10 از سوپراکسید دسموتاز، DPV6 از فاکتور رشد مشتق شده از پلاکت، DPV7 از فاکتورهای رشد شبه اپیدرمال، DPV10 و DPV10/6 از موسین روده‌ای مشتق شده‌اند (۳۵).

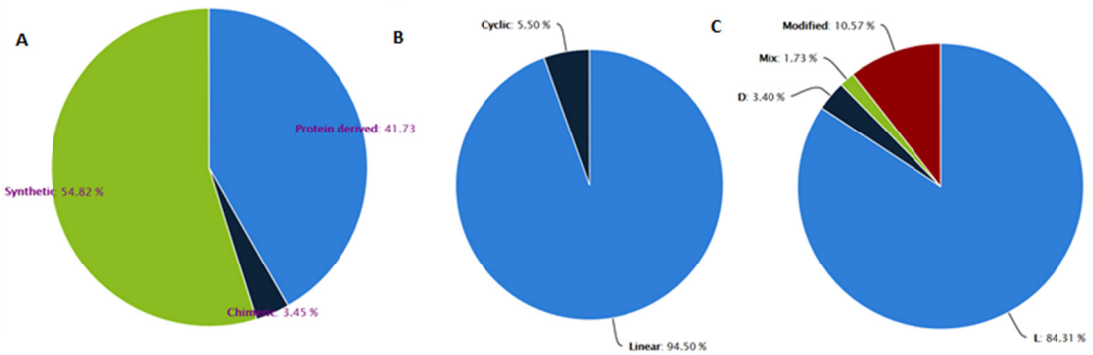
CPP های مشتق شده از پروتئین‌های متصل شونده به DNA/ RNA حاوی موتیف‌های به‌شدت کاتیونیک بوده، به طوری که پس از ورود به هسته، به اسیدهای نوکلئیک متصل می‌شوند. از CPP های مشتق شده از پروتئین‌های متصل‌شونده به RNA می‌توان به HIV-1 Tat، HIV-1 Rev (TRQARRNRRRRWRERQR) و FHV coat (RRRRNRTRRNRRRVR) اشاره کرد. از CPP های مشتق شده از پروتئین‌های متصل‌شونده به DNA می‌توان به cJun و cFos انسانی و همچنین فاکتور رونویسی GCN4 در مخمر اشاره کرد (۳۶).

هومئوپروتئین‌ها کلاس خاصی از پروتئین‌های متصل شونده به DNA هستند که دارای موتیف حفاظت شده هومئودمین، جهت اتصال به DNA می‌باشند (۳۷). از این کلاس علاوه بر cJun و cFos انسانی و همچنین GCN4 در مخمر، می‌توان penetratin و PDX-1 را نام برد.

گروه دیگری از CPP های مشتق شده از پروتئین‌های طبیعی، آن‌هایی هستند که از سیگنال پپتیدها مشتق شده‌اند. سیگنال پپتیدها، پپتیدهای کوتاهی از ۳۰-۵ اسید آمینه در انتهای آمین پروتئین‌های ترشحی بوده و پروتئین‌های تازه سنتز شده را برای ترشح و یا به سمت اندامک خاصی در درون سلول هدف‌گذاری می‌کنند. به محض این‌که پروتئین حاوی سیگنال پپتید به مقصد مناسب خود برسد، این توالی سیگنالی حذف و تجزیه خواهد شد. نشان داده شده است که اکثر سیگنال پپتیدها، حاوی ناحیه هیدروفوب مرکزی بوده، به طوری‌که باعث تمایل آن‌ها به غشای پلاسمایی و در نتیجه استفاده‌ی آن‌ها به عنوان CPP شده است. پپتید هیدروفوبیک K-FGF از سیگنال پپتید مشتق شده

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-01-30]

[DOR: 20.1001.1.22287043.1398.26.2.5.7]



شکل ۴- توزیع CPP های وارد شده در پایگاه داده CPPsite 2.0 براساس A) منشا پپتیدها؛ B) پپتیدهای خطی و حلقوی؛ C) کایرالیتی/ مدیفیکیشن

است. با این‌حال، پپتیدهای آمفی‌پاتیک Ig (v)، BPrPp (1-30) و MPrPp (1-28) (۳۸)، نمونه‌هایی از CPPهای مشتق شده از سیگنال پپتید که با NLS همراه شده اند، می‌باشند.

پپتیدهای آنتی میکروبیال (Anti Microbial Peptide-AMP) هم می‌توانند به عنوان CPP استفاده شوند. تعداد کمی از AMP ها مانند Bac7 و pyrrhocoricin غنی از پرولین بوده، در حالی‌که اکثر آن‌ها مانند LL-37، L-2، SynB1 و لاکتوفرین انسانی (۴۰-۱۹) پپتیدهای آمفی‌پاتیک، با بار خالص مثبت و چندین رزیدوی هیدروفوبیک هستند (۳۹). آخرین گروه از CPP های مشتق شده از پروتئین‌های طبیعی، از پروتیئن‌های ویروسی مشتق می‌شوند. بسیاری از پروتئین‌های ویروسی می‌توانند وارد سلول شده و در نتیجه، از آن‌ها می‌توان به عنوان CPP استفاده نمود. به عنوان مثال E^{rns} از گلیکوپروتئین پوشش pestivirus (۴۰) و PreS2-TLM از ویروس syncytial تنفسی انسان، مشتق شده‌اند (۴۱).

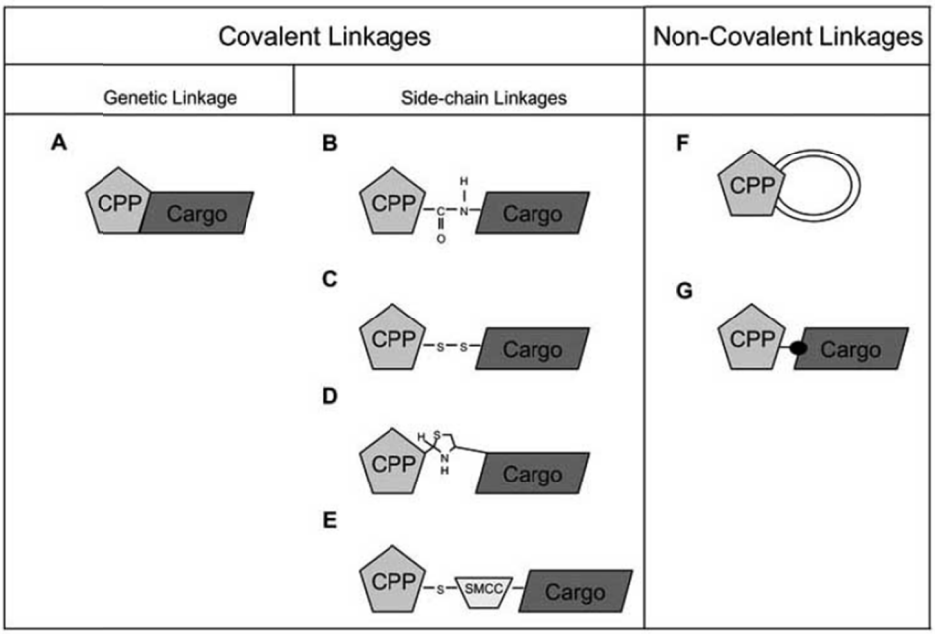
پپتیدهای سنتزی و یا طراحی شده، بر اساس ساختار CPP های مشتق شده از پروتئین‌های طبیعی توسط جانشینی اسیدهای آمینه ایجاد می‌شوند. از مهم‌ترین CPP های سنتزی می‌توان به MAP، 8R، CADY، POD و پلی‌لیزین اشاره کرد (۹). همچنین پپتیدهای کایمر از اتصال دو دمین هیدروفیلیک و هیدروفوبیک متعلق به دو منشا متفاوت ایجاد می‌شوند که از این گروه می‌توان MPG و galanin اشاره کرد (۴۲).

لازم به ذکر است که پایگاه داده مربوط به پپتیدهای نفوذ کننده به سلول در سال ۲۰۱۲ تاسیس، و هم اکنون ورژن جدید آن (CPP version 2.0) به آدرس http://crdd.osdd.net/raghava/cppsite/، حاوی اطلاعات مربوط به ۱۸۵۵ پپتید می‌باشد. براساس اطلاعات قسمت آماری این پایگاه داده، ٪ ۵۴/۸۲ پپتیدهای موجود بصورت سنتزی بوده، ٪ ۴۱/۷۳ پپتیدها از پروتئین‌های طبیعی مشتق شده و ٪ ۳/۴۵ پپتیدها بصورت کایمر می‌باشند (شکل ۴، قسمت A). در بین پپتیدهای موجود ٪ ۹۴/۵ بصورت خطی و تنها ٪ ۵/۵ به صورت حلقوی هستند (شکل ۴، قسمت B). از نظر کایرالیتی، ٪ ۴۸/۳۱ نوع L، ٪ ۱۰/۵۷ مدیفای شده، ٪ ۳/۴ نوع D و ٪ ۱/۷۳ نوع mix می‌باشند (شکل ۴، قسمت C). علاوه براین، براساس اطلاعات این پایگاه داده، فلوروفورها با ٪ ۵۸/۴۱ بیشترین مولکول کارگوی متصل شده به CPP ها در میان سایر کارگوها شامل نوکلئیک اسید (٪ ۱۶/۰۲)، پروتئین‌ها (٪ ۹/۸)، نانوپارتیکل‌ها (٪ ۷/۸۳)، پپتیدها (٪ ۴/۷۴)، داروها (٪ ۱/۹۱) و PNA (٪ ۱/۲۹) می‌باشند.

۲-۲- انواع اتصال کارگو به CPP

نحوه‌ی اتصال بین CPP و کارگو معمولاً به صورت کوالانسی می‌باشد که در این نوع اتصال بایستی جهت اتصال CPP و کارگو در نظر گرفته شود. روش رایج اتصال کوالانسی استفاده از زنجیره جانبی اسیدهای آمینه مانند گروه آمین لیزین و گروه سولفیدریل سیستئین می‌باشد. پیوندهای دی‌سولفیدی به‌علت اینکه در محیط داخل سلول سریعاً احیا شده و کارگو را آزاد می‌کنند از اهمیت بالاتری برخوردار هستند. از اتصالات کوالان دیگر می‌توان به اتصالات آمیدی، تیواتر، تیول‌مالمئید، تیازولیدین، آمین، هیدرازین و

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-01-30]
[DOR: 20.1001.1.22287043.1398.26.2.5.7]



شکل ۵- روش‌های معمول اتصال کارگو به CPP شامل اتصال کوالان توسط A) تولید پروتئین‌های فیوژن در باکتری؛ B) تشکیل باندهای پپتیدی؛ C) تشکیل باندهای دی سولفیدی؛ D) تشکیل حلقه تیازولین؛ E) استفاده از لینکرهای با دو گروه عاملی فعال مانند SMCC و روش‌های اتصال غیر کوالان شامل F) اینترکشن‌های الکتروستاتیک بین کارگو (معمولا در مورد اسیدهای نوکلئیک) و CPP؛ G) اتصال "piggy-back": اتصال غیر کوالان مولکول کارگوی بزرگ به کارگوی کوچک (دایره تیره) که بصورت کوالان به CPP متصل شده است، می‌باشند (۴۳).

مولکول‌های لینکر حاوی دو گروه واکنش‌پذیر مانند SMCC (Succinimidyl 4-(N-maleimidomethyl) cyclohexane-1-carboxylate) اشاره کرد. همچنین، اگر کارگو پروتئین یا پپتید باشد، می‌توان CPP و کارگو را به صورت یک پروتئین کایمر در باکتری تولید کرد (شکل ۵) (۴۳). پپتیدهای متنوعی مانند Tat، ترانسپورتان، پنتراتین، SAP، VP22 بصورت کوالان به کارگو متصل و آن‌ها را به درون سلول‌های پستانداران منتقل کرده‌اند (۴۴).

علاوه بر این، از اتصالات غیر کوالان مخصوصاً برای انتقال نوکلئیک اسیدها، می‌توان استفاده کرد. در این مورد، اینترکشن الکتروستاتیک بین CPP با بار مثبت وگروه‌های با بار منفی فسفات در نوکلئیک اسیدها آن‌ها را به یکدیگر متصل می‌کند. همچنین، می‌توان CPP و کارگو را به صورت مستقل به بیوتین و استرپت‌آویدین متصل و سپس آن‌ها را توسط اینترکشن استرپت-آویدین-بیوتین به یکدیگر متصل کرد (شکل ۵) (۴۳). Pep-1 و MPG به صورت موفقیت‌آمیزی برای انتقال پروتئین‌ها و پپتیدها، به شیوه اتصال غیر کوالان یعنی از طریق اینترکشن‌های الکتروستاتیک و هیدروفوبیک، استفاده شده‌اند (۴۵و ۴۶).

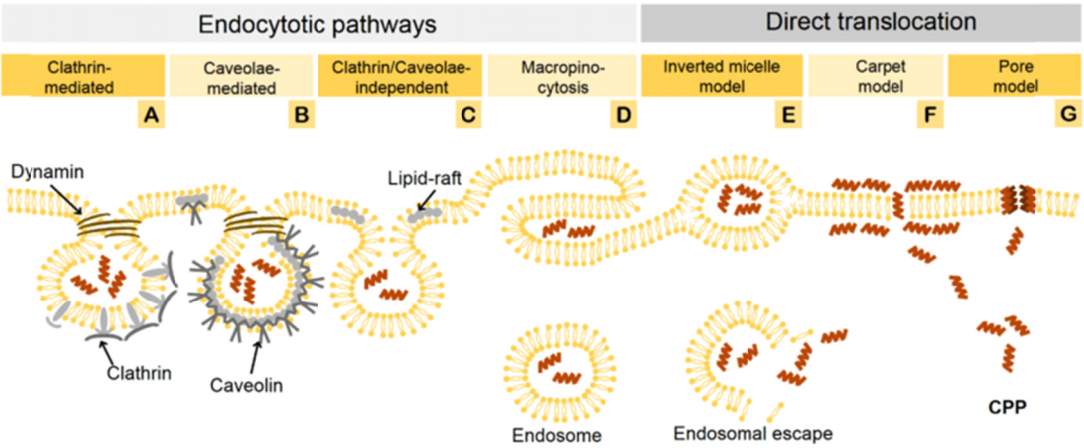
۲-۳- مکانیسم‌های جذب CPP-کارگو

درک مکانیسم جذب و ترافیک داخل سلولی حامل‌های دارویی مانند CPP، برای بهینه‌سازی این سیستم‌ها جهت حصول ماکزیمم انتقال کارگو ضروری می‌باشد. اگرچه CPP ها به صورت گسترده برای انتقال مولکول‌های کارگو به درون سلول استفاده می‌شوند، مکانیسم جذب دقیق این پپتیدها و این‌که آیا ورود آن‌ها به رسپتورهای خاصی احتیاج دارد یا نه در هاله‌ای از ابهام قرار دارد (۴۷). با این وجود، با توجه به ویژگی‌های خود CPP، مولکولی که به آن متصل است، نوع سلول و ترکیب لیپیدی غشا، دو مکانیسم اصلی جذب سلولی CPP ها شامل مسیر غیر وابسته به انرژی (یا مسیر نفوذ مستقیم) و مسیر انتقال وزیکولی وابسته به انرژی یا مسیر اندوسیتیک می‌باشد (۴۸).

۲-۳-۱- مسیرهای نفوذ مستقیم

انتقال مستقیم CPP، به سه روش pore formation (۴۹)، invert micelle model (۵۰) و carpet-like model (۵۱) صورت می‌گیرد (شکل ۶). مرحله اول انتقال مستقیم، شکل‌گیری اینترکشن‌های

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-01-30]
[DOR: 20.1001.1.22287043.1398.26.2.5.7]



شکل ۶– مسیرهای اندوسیتیک و نفوذ مستقیم، مسیرهای احتمالی برای ورود CPP به درون سلول می‌باشند (۹۷)

الکترواستاتیک بین CPP های کاتیونیک و ترکیبات آنیونیک غشاهای سلولی مانند سولفات پروتئوگلیکان‌ها و فسفولیپیدها می‌باشد.

بر اساس مدل pore formation، شکل‌گیری منفذهای گذرا در غشای سلولی موجب انتقال CPP و کارگوهای متصل به آن‌ها می‌شود. پپتیدهای آمفی‌پاتیک اولیه مانند MPG، ترانسپورتان و Pep-1 از طریق این مکانیسم جذب سلول می‌شوند (۵۲). در مدل invert micelle، رزیدوهای کاتیونیک CPP با فسفولیپیدهای غشا برهمکنش می‌دهد و موجب اینترکشن رزیدوهای هیدروفوبیک با membrane core، و در نتیجه ناپایداری و تورفتگی غشا می‌شود (۵۳). بازآرایی سریع لیپیدهای مجاور، منجر به شکل‌گیری invert micelle حاوی CPP می‌شود (۵۴). این مدل برای penetration، که در آن رزیدوهای تریپتوفان با غشای سلولی اینترکشن می‌دهد، مشاهده شده است (۱۴). با این حال، این مدل برای جذب CPP های به شدت کاتیونیک مانند پلی آرژنین و Tat و کارگوهای با وزن مولکولی بالا، مناسب نمی‌باشد (۵۵). طبق مدل carpet، جذب سلولی CPP-کارگو در نتیجه آشفتگی گذرای غشای سلولی که از اینترکشن‌های گسترده رزیدوهای هیدروفوبیک CPP و لیپیدهای غشایی و متعاقبا بازآرایی فسفولیپیدها حاصل می‌شود، اتفاق می‌افتد (۵۶).

۲-۳-۲- اندوسیتوز

مسیر اندوسیتوز شامل دو مرحله ورود اندوسیتیک و در ادامه رهایی از اندوزوم (endosomal escape) بوده که به شیوه‌ی اندوسیتوز وابسته به کلاترین، اندوسیتوز وابسته به کاوآلا، اندوسیتوز غیر وابسته به کلاترین/کاوآلا و همچنین ماکروپینوسیتوز قابل انجام است (شکل ۶) (۵۷). جذب کارگوهای بزرگ (1 میکرومتر<) متصل به کارگو، توسط ماکروپینوسیتوز که طی آن سطح خارجی غشای سلولی بصورتی فولد می‌شود که وزیکولی اطراف CPP-کارگو به‌نام ماکروپینوزوم شکل می‌گیرد، انجام می‌شود. سپس ماکروپینوزوم از غشا جدا و در سیتوپلاسم حرکت کرده تا با اندوزوم ادغام شود (۵۸). پروتیئن‌های کلاترین و کاوآلین در اندوسیتوز بواسطه رسپتور CPP-کارگو، به ترتیب در اندوسیتوز وابسته به کلاترین، اندوسیتوز وابسته به کاوآلا نقش دارند (۵۹و ۶۰). قطر وزیکول‌های تشکیل شده با کلاترین در حدود چند صد نانومتر می‌باشد؛ در حالی که حفرات تشکیل شده از پروتئین‌های کاوآلین حدود ۸۰-۵۰ نانومتر قطر دارند .

رهایی از اندوزوم، یکی از مراحل ضروری اندوسیتوز CPP-کارگو بوده، به طوری‌که از تجزیه کارگو در درون لیزوزوم‌ها جلوگیری کرده و آن‌ها را قادر می‌سازد تا به اندامک مورد نظر، بجز اندوزوم، رسیده و فعالیت بیولوژیکی خود را انجام دهند. استراتژی‌های متفاوتی برای بهبود endosomal escape گزارش شده‌اند که می‌توان از پیوندهای ناپایدار در شرایط اسیدی، که کارگو را در شرایط اسیدی اندوزوم از CPP رها می‌کنند، پپتیدهایی که غشای اندوزوم را بهم می‌ریزند (مانند پپتید HA2 از پروتئین هماگلوتینین ویروس ویروس آنفولانزا که غشای لیپیدی را در pH پایین

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-01-30]
[DOR: 20.1001.1.22287043.1398.26.2.5.7]

ناپایدار می‌کند) و از هم پاشیدن غشاهای اندوزومی توسط لیزر، استفاده نمود (۶۱). علاوه بر این اضافه کردن گروه استئاریک اسید هم در مقایسه با پپتیدهای مدیفای نشده، endosomal escape را تقویت می‌نماید (۶۲). با الهام از توانایی ویروس‌ها که قادرند با الحاق موتیف‌های حاوی زنجیره‌های جانبی اسیدهای آمینه هیدروفوب، غشای دولایه‌ی لیپیدی اندوزوم را ناپایدار کنند، محققان از دمین‌های رهایش اندوزومی (endosomal escape domains, EEDs) استفاده کرده‌اند (۶۳و ۶۴). Dowdy و همکاران این دمین‌ها را با ترکیب آمینواسیدهای تریپتوفان و فنیل‌آلانین تولید و بررسی کرده‌اند (۶۴).

مطالعات اخیر نشان می‌دهند که جذب سلولی CPP-کارگو بیشتر از طریق اندوسیتوز اتفاق می‌افتد؛ با این‌حال، اینکه دقیقاً با چه مکانیسمی اندوسیتوز می‌شوند، هنوز مورد بحث می‌باشد. عوامل متعددی مانند ویژگی‌های مولکول کارگو (اندازه، بار و نوع مولکول)، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی CPP (طول، بار و هیدروفوبیسیتی)، شرایط آزمایش (غلظت CPP، مدت زمان انکوباسیون، دما و بافر) و ویژگی‌های سلولی (ترکیب غشا، اندازه) نوع جذب سلولی CPP-کارگو را تحت تاثیر قرار می‌دهند (۲۰، ۶۵، ۶۶). به عنوان مثال، اگر کارگوی متصل به Tat بزرگ باشد (پروتئین و quantum dots) اندوسیتوز به شیوه‌ی وابسته به کاوآلا و ماکروپینوسیتوز اتفاق می‌افتد؛ در حالی که اگر یک فلوروفور به آن متصل شود، اندوسیتوز بواسطه کلاترین صورت می‌گیرد (۶۷). علاوه بر این، غلظت CPP هم روی مکانسیم جذب اثرگذار می‌باشد. به عنوان مثال، اگر از غلظت‌های بالای Tat (۱۰ میکرومولار) استفاده شود، مکانسیم جذب به صورت اندوسیتوز و نفوذ مستقیم صورت می‌گیرد؛ در حالی‌که در غلظت‌های کمتر از ۱۰ میکرومولار، جذب به صورت اندوسیتوز وابسته به کاوآلا و ماکروپینوسیتوز خواهد بود (۶۸). با استفاده از توموگرافی الکترونی سه‌بعدی مشخص شده است که Tat متصل به نانوپارتیکل‌های superparamagnetic ion oxide (Tat-SPIONs) برای کاربردهای انتقال دارو، به‌شیوه اندوسیتوز (۶۹) و Tat متصل به نانوپارتیکل‌های nanostars به شیوه ماکروپینوسیتوز وابسته به اکتین (۷۰) جذب سلول می‌شوند.

همچنین در مطالعه‌ای غلظت پپتید نفوذ کننده به سلول R8 روی سطح کارگو (لیپوزوم‌ها) بررسی شده است. لیپوزوم‌های مدیفای شده با غلظت پایین R8 از طریق اندوسیتوز وابسته به کلاترین جذب می‌شوند و تجزیه لیزوزومی زیادی را نشان می‌دهند؛ در حالی‌که آن‌هایی که با غلظت بالای R8 مدیفای می‌شوند، عمدتاً از طریق ماکروپینوسیتوز جذب شده و کمتر در معرض تجزیه لیزوزومی قرار می‌گیرند (۷۱). در مطالعه‌ای دیگر مشخص شده است که لیپوزوم‌های متصل به R8، از طریق انتقال وزیکولی جذب می‌شوند (۷۲). پپتیدهایی مانند NrTP1 و آنالوگ‌هایش که هستک را هدف‌گذاری می‌کنند، ۱۵-۱۴ رزیدو طول داشته و از توکسین مار گرفته می‌شوند. این پپتیدها غالباً به شیوه وابسته به کلاترین جذب می‌شوند (۷۳). علاوه بر این موارد، پنتراتین با توالی آمینو اسیدی RQIKIWFQNRRMKWKK، هنگامی که به دکستران متصل شود مکانیسم ماکروپینوسیتوز را در سلول‌های مورد مطالعه‌ی CHO-K1 نشان می‌دهد (۷۴). همچنین پنتراتین متصل به نانوپارتیکل‌های پلی (اتیلن-گلیکول)- پلی (لاکتیک اسید) (PEG-PLA) را می‌توان برای انتقال دارو در مغز استفاده کرد. با استفاده از مدل سلولی MDCK-MDR، مشخص‌شده است که نانوپارتیکل‌های متصل به پنتراتین از هر دو مکانیسم اندوسیتوز وابسته به lipid raft و همچنین انتقال مستقیم استفاده می‌کنند (۷۵).

اگرچه CPP های متعددی به همراه مکانیسم‌های جذب آن‌ها تاکنون معرفی شده‌اند، اما نکته مهم دیگر یافتن CPP هایی می‌باشد که علاوه بر کارآمدی مناسب، در غلظت‌های بالا برای سلول سمی نباشند. در مطالعه‌ای پپتید نفوذ کننده به سلول M918 با توالی آمینواسیدی MVTVLFRRLRIRRACGPPRVRV مشتق شده از پروتئین سرکوب کننده تومور p14ARF معرفی شده است که عمدتاً از طریق اندوسیتوز و بویژه ماکروپینوسیتوز غیر وابسته به گلیکوزآمینوگلیکان‌های سطح سلول، جذب می‌شود. با استفاده از تست تراوش آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH) مشخص شده است که M918 در غلظت‌های 25-5میکرومول بر لیتر روی تمامیت غشا تاثیر منفی نمی‌گذارد. پپتیدهای نفوذ

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-01-30]

[DOR: 20.1001.1.22287043.1398.26.2.5.7]

جدول ۱ – مکانیسم‌های احتمالی جذب برای برخی از CPP ها (۸)

Peptide	Sequence	Cargo	Proposed uptake mechanisms
NrTP1	YKQCHKKGGKKGSG	–	Clathrin-dependent route
Penetratin	RQIKIWFQNRRMKWKK	Dextran	Macropinocytosis
		PLA-PEG	Lipid raft-mediated endocytosis and direct translocation
TAT	GRKKRRQRRRPPQ	QDs	Macropinocytosis
		Liposomes	Endocytic uptake through binding to HSPGs
		Liposomes	Endocytic uptake
		SPIONs	Endocytosis
		Gold nanostars	Actin-driven lipid raft-mediated macropinocytosis
M918	MVTVLFRRLRIRRACGPPRVRV	PNA	Macropinocytosis independently of glycosaminoglycans
ARF (1–22)	MVRRFLVTLRIRRACGPPRVRV	–	Clathrin-mediated endocytosis
R8	RRRRRRRR	Liposomes	Vesicular transport
			Macropinocytosis

کننده به سلول علاوه بر این که نباید روی تمامیت غشا ی سلول تاثیر بگذارند، باید اثرات جانبی سمی روی سلول‌ها نداشته باشند. برای بررسی این اثر، در این پژوهش با استفاده از تست wst-1 مشخص شده است که M19 در غلظت‌های بالا روی تکثیر سلولی اثر منفی ندارد. از این CPP می‌توان برای انتقال PNA (peptide nucleic acidantisense) استفاده کرد (۷۶). همچنین جذب سلولی ARF (1-22) که از انتهای آمین پروتئین p14ARF مشتق شده است به صورت اندوسیتوز وابسته به کلاترین می‌باشد (۷۷). در جدول ۱ مکانیسم‌های جذب این CPP ها به صورت خلاصه ذکر شده است.

۳- انتقال انسولین توسط CPP

کونژوگه کردن انواع مختلف CPP با انسولین رویکرد موثری برای بهبود انتقال داخل سلولی آن و جلوگیری از تجزیه انسولین در سیستم گوارش می‌باشد. طبق مطالعه‌ی صورت گرفته در سال ۲۰۰۵ توسط لیانگ و همکاران، هیبرید تشکیل شده از Tat-انسولین نسبت به انسولین نرمال در caco-2 cell جذب بالاتری دارد. هیبرید انسولین با Tat پس از عبور از این سلول‌ها، به صورت کامل ساختار خود را حفظ می‌کند. این مطالعه، سرنخی جدید برای توسعه انتقال خوراکی انسولین فراهم کرد (۷۸).

در مطالعه‌ی دیگر توسط کامئی و همکاران، در اثر تزریق همزمان انسولین همراه با penetratin، pVEC، هلیکس RRL و پپتید 8R، جذب انسولین به صورت قابل توجه‌ای افزایش می‌یابد. علاوه براین، CPP های تشکیل شده از فرم L اسیدهای آمینه نسبت به ترکیب مربوطه‌ی حاوی فرم D، بجز در مورد 8R، جذب انسولین را به صورت موثرتری در ایلئوم موش، افزایش می‌دهند (۷۹).

پلی آرژنین‌ها (R_x) به علت داشتن گروه گوآنیدینیوم، توانایی ایجاد پیوندهای هیدروژنی با پروتئوگلیکان‌های سطح سلول مانند گلیکوز آمینوگلیکان‌ها با بار منفی را داشته و بنابراین، CPP های موثری برای انتقال انواع مختلف مولکول‌های کارگو می‌باشند. با این حال، طول پپتیدهای تشکیل شده از آرژنین، روی جذب موثر آن‌ها به درون سلول اثر می‌گذارد. در مطاله‌ای که به همین منظور، با پپتیدهای غنی از آرژنین با طول متفاوت (R4-R16)، روی غشاهای ماکروفاژ موش (سلول‌های RAW264.7) انجام شده است، مشخص شده که توالی تشکیل شده از حداقل ۸ آرژنین، برای انتقال کارآمد پروتئین‌ها و پپتیدهای درمانی به درون سلول لازم است (۱۸). موریشیتا و همکاران، انواع D- و L- پلی آرژنین با طول متفاوت (R6, R8, R10) را به انسولین کونژوگه و جذب آن را روی loop روده ای موش بررسی کردند. در میان ترکیبات مختلف، D-R8 موثرترین CPP برای جذب انسولین از طریق روده بوده و اثرات هیپوگلایسمیک قوی به شیوه وابسته به دوز و بدون اینکه روی integrity سلولی اثر بگذارد، دارد (۸۰).

جهت افزایش پتانسیل پپتید R8 برای انتقال موثر انسولین در عرض موکوس روده‌ای موش، زانگ و همکاران ابتدا آنالوگ R6EW را از آن تهیه و سپس N-ترمینال این آنالوگ را به استئاریک اسید کونژوگه (SA-R6EW) کرده‌اند. کمپلکس لیپوپپتید آمفی‌پاتیک SAR6EW-انسولین نسبت به سایر آنالوگ‌ها نفوذ پذیری انسولین را در *in vitro* و در *in vivo* افزایش می‌دهد. علاوه براین، انسولین در کمپلکس SAR6EW-انسولین از اثر آنزیم‌های پروتئولیتیک محافظت و باعث کاهش قند خون به مدت زمان بیشتر

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-01-30]

[DOR: 20.1001.1.22287043.1398.26.2.5.7]

از ۶ ساعت در موش‌های دیابتی می‌شود (۸۱).

کامئی و همکاران، ۲۶ آنالوگ penetratin که از نظر طول زنجیره، هیدروفوبیسیتی، خاصیت بازی و آمفی‌پاتیسیتی با یکدیگر متفاوت هستند، روی جذب روده‌ای انسولین بررسی کرده‌اند. اگر رزیدوهای هیدروفوبیک توالی penetration تغییر یابند، توالی پپتیدی آن کوتاه‌تر شود، به انتهای کربوکسی یا آمین آن تترا-آرژنین (R4) اضافه شود و رزیدوهای آرژنین و لیزین آن با لوسین تعویض شوند، همگی باعث کاهش جذب انسولین توسط این پتید می‌شود. توسط shuffling تمام اسیدهای آمینه‌ی توالی penetration، جذب این پپتید یا به صورت کامل حذف و یا به صورت جزئی کم می‌شود، اما آنالوگ RK-fix shuffle جذب انسولین را نسبت به penetration نرمال به صورت موثرتری افزایش می‌دهد (۸۲).

۳-۱- استفاده از فناوری نانو برای انتقال موثر کونژوگه‌های CPP-انسولین

تلاش‌های متعددی برای انتقال موثر پروتئین‌ها/ پپتیدهای درمانی توسط انواع تغییر یافته CPP انجام شده است. به عنوان مثال، با تغییر توالی آمینواسیدی CPP و استفاده از ایزوفرم‌های D و L اسیدهای آمینه در ساختار آن، CPP های کارآمد و با پتانسیلی تولید شده‌اند. با این حال اخیراً، برای بهبود پتانسیل CPP-کارگو از روش‌های فناوری نانو استفاده شده است.

در مطالعه‌ای که توسط لیو و همکاران صورت گرفته است، انسولین به نانوپارتیکل‌های زیست تجزیه‌پذیر PLGA (poly(lactide-co-glycolide acid)) که توسط پل‌های PEG به R8 متصل هستند (L-R8-insulin-PLGA و D-R8-insulin-PLGA)، الحاق شده است. مطالعات *in vitro* بر روی caco-2 cell monolayer، نشان‌دهنده افزایش قابل توجه جذب و انتقال سلولی، توسط نانوپارتیکل‌های مدیفای شده با R8 می‌باشد. علاوه بر این، مطالعات *in vivo* توسط تزریق روده‌ای نانوپارتیکل‌های مدیفای شده با D-R8 و L-R8 در موش، نشان دهنده افزایش نسبی زیست دسترسی پذیری انسولین همراه با بهبود اثرات هیپوگلایسمیک آن می‌باشند. همچنین، براساس نتایج این تحقیق انانتیومر D-R8 جذب انسولین را به صورت موثرتری در ایلئوم موش، در مقایسه با ایزوفرم L مربوطه بهبود می‌دهد (۸۳).

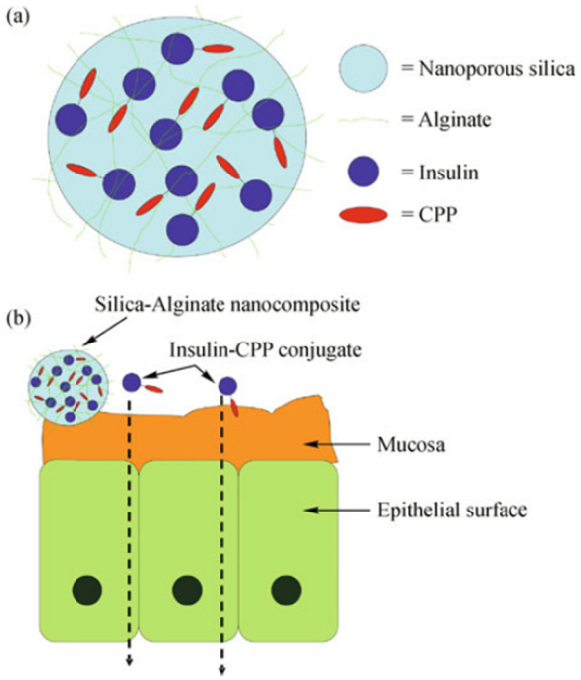
زانگ و همکاران، فرمولاسیون جدیدی از طریق کونژوگه کردن پپتید R8 به HP-β-CD (hydroxypropyl-β-cyclodextrin) معرفی کرده‌اند. مطالعات *in vitro* بر روی caco-2 cell، نشان‌دهنده افزایش جذب HP-β-CD -R8-انسولین نسبت به انسولین نرمال بوده که به صورت قابل توجه‌ای باعث کاهش قند خون به مدت زمان بیشتر از ۴ ساعت در موش‌های دیابتی می‌شود (۸۴).

در مطالعه‌ای دیگر اثر نانوپارتیکل‌های کومدیفای شده با Sec (engrailed secretin peptide) و انواع مختلف CPP، به عنوان استراتژی مفیدی برای انتقال خوراکی انسولین استفاده شده است. در این مطالعه از CPP های پرکاربرد و کاتیونیک Tat، R8 و penetratin استفاده شده و انتهای آمین آن‌ها و همچنین Sec به استئاریک اسید کونژوگه شده است. بر اساس نتایج مطالعات *in vitro*، پارتیکل‌های کومدیفای شده با Sec و penetratin (Sec-pen-NPs) دو برابر نفوذپذیری بیشتری در مقایسه با پارتیکل‌های مدیفای شده با penetratin (pen-NPs) دارند؛ در حالی‌که انتقال داخل سلولی نانوپارتیکل‌های مدیفای شده با Sec و R8 (Sec-R8-NPs) و یا Sec و Tat (Sec-Tat-NPs) در مقایسه با نانوپارتیکل‌های مدیفای شده با R8 (R8-NPs) یا Tat (Tat- NPs) تفاوت قابل توجه ای ندارد. همچنین، مطالعات *in vivo* صورت گرفته بر روی موش‌های دیابتی نشان دهنده‌ی افزایش زیست دسترسی پذیری Sec-Pen-NP در مقایسه با Pen-NP بوده که می تواند اثرات هیپوگلایسمیک قوی‌تری ایجاد کند. بنابراین، نانوپارتیکل‌های کومدیفای شده با Sec و penetratin حامل جالب توجه‌ای برای انتقال خوراکی انسولین می‌باشند (۸۵).

استراتژی‌های متعددی برای افزایش چسبندگی و نفوذپذیری موکوسی ترکیب CPP-انسولین برای افزایش زیست دسترسی پذیری و افزایش مدت عمل آن به کار گرفته شده است. در مطالعه‌ای که به همین منظور انجام شده است، از فرمولاسیون mucoadhesive مانند نانوپارتیکل‌های آلژینات/ سیلیکا برای انتقال خوراکی کونژوگه‌های CPP-انسولین استفاده شده است (شکل ۷). آلژینات پلیمری آنیونیک می‌باشد و وابسته

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-01-30]

[DOR: 20.1001.1.22287043.1398.26.2.5.7]



شکل ۷- دیاگرام‌های شماتیکی از a) نانوکامپوزیت mucoadhesive براساس سیلیکا/ آلژینات لود شده با کونژوگه‌های انسولین-CPP؛ b) مکانیسم فرضی برای انتقال خوراکی انسولین از موکوس روده و ورود آن به درون سلول‌های اپیتلیال (۸۶).

به pH در رهایش دارو نقش ایفا می‌کند. در pH اسیدی معده، نانوپارتیکل‌های آلژینات/ سیلیکا منقبض شده و مانع از رهایش کمپلکس‌های CPP-انسولین می‌شود؛ در حالی‌که در pH بالاتر روده، نانوپارتیکل‌ها متورم شده و منجر به رهایش کمپلکس‌های CPP-انسولین، برای انتقال کارآمد آنها در عرض اپیتلیوم روده می‌شوند (۸۶).

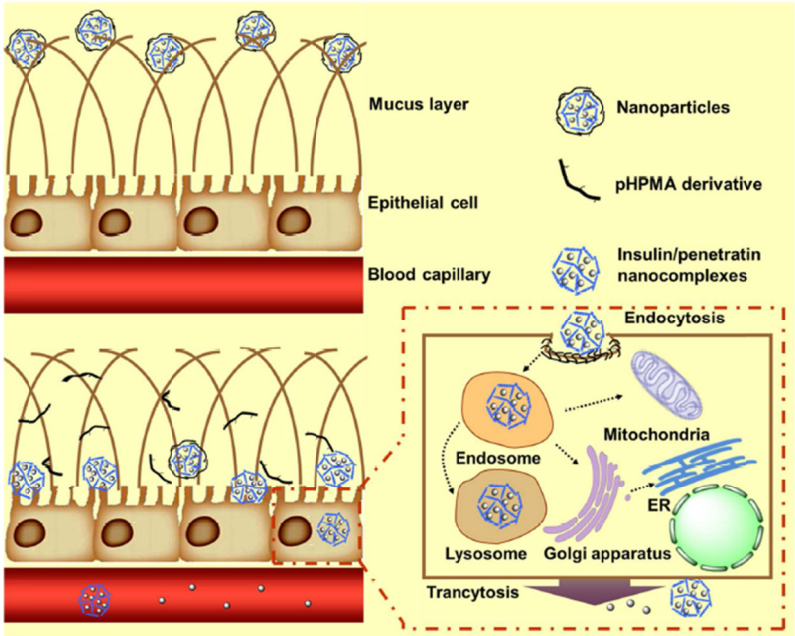
اخیراً شان و همکاران، نانوپارتیکل‌های انسولین-penetratin (تحت عنوان nanocomplex core) که با مشتقات پلیمر هیدروفیلیک تفکیک‌پذیر pHPMA (N-(2-hydroxypropylr) methacrylamide) پوشش داده شده، را معرفی کرده‌اند. نانوپارتیکل‌های تولید شده بدلیل اثر "mucus insert" پوشش pHPMA، خیلی خوب در موکوس نفوذ کرده، و پس از جدا شدن پوشش پلیمری nanocomplex core وارد سلول‌های اپیتلیوم و نهایتا جریان خون می‌شوند (شکل ۸). تزریق خوراکی این نانوپارتیکل‌های خود تجمع‌پذیر، ۲۰ برابر جذب بالاتری نسبت به انسولین نرمال داشته و پاسخ هیپوگلایسمیک چشمگیری همراه با افزایش غلظت سرمی انسولین در موش‌های دیابتی ایجاد می‌کنند (۸۷).

همچنین پژوهشی در سال ۲۰۱۸ توسط بربری و همکارن در ایران برای انتقال خوراکی انسولین به صورت *in vitro* و *in vivo* صورت گرفته است. در این مطالعه تجویز خوراکی نانوپارتیکل‌های همراه با انسولین به موش‌های دیابتی، زیست دسترسی ۱۹/۶٪ را نشان داده و همچنین اثر هیپوگلایسمیک آن به مدت ۱۰ ساعت باقی مانده که پتانسیل امیدبخشی را برای انتقال خوراکی انسولین و سایر پروتئین‌ها و پپتیدهای درمانی به نمایش گذاشته است. در این مطالعه کیتوسان به آنالوگی از پنتراتین به نام penetraMax متصل شده (CPP-g-chitosan) و به صورت قابل توجه‌ای جذب انسولین را در اپیتلیوم، در مقایسه با نانوپارتیکل‌های فاقد کیتوسان افزایش می‌دهد (۸۸).

۴- ترانسیتوزیز و پپتیدهای ترانسیتوزیز

ترانسیتوزیز مکانیسمی است که طی آن سلول‌های قطبی مواد را از یک طرف سلول به طرف دیگر، یا از غشای راسی به غشای بازولترال، منتقل می‌کنند. براساس مطالعات صورت گرفته می‌توان از این مکانیسم، برای انتقال پروتئین‌ها/ پپتیدهای درمانی بهره جست. مرحله اول ترانسیتوزیز، اندوسیتوز می‌باشد؛ به طوری‌که پروتئین‌های غشایی و مواد خارج سلولی در وزیکول‌های

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-01-30]
[DOR: 20.1001.1.22287043.1398.26.2.5.7]



شکل ۸– تصویری شماتیک از فرآیند نفوذ نانوپارتیکل‌ها در عرض لایه موکوسی و انتقال داخل سلولی آن در درون سلول‌های اپیتلیال (۸۷).

غشایی به درون سلول وارد می‌شوند (۸۹و ۹۰). در سلول‌های یوکاریوتی، بیشتر از ۵۰ ایزوفورم Rab در اپی‌تلیوم روده شناسایی شده، که در میان آن‌ها Rab11، Rab17 و Rab25 نقش مهمی در فرآیند ترانسیتوزیز دارند (۹۱و ۹۲). برخی از مثال‌های معمول مکانیسم‌های ترانسیتوزیز که در عرض سلول‌های اپیتلیوم روده شناسایی شده است شامل: الف) رسپتورهایی مانند رسپتور neonatal Fc (FcRn, FCGRT)، رسپتور لاکتوفرین (ITLN-1)، رسپتور فاکتور ذاتی ویتامین B12 (GUBN, AMN)، ب) ترانسپورترهایی مانند GLUT2 (SLG2A2)، ج) توکسین‌های باکتریایی مانند کلرآ و توکسین‌های Shiga، د) لیپیدها مانند اسفنگولیپیدها و سرآمیدها و ه) سایر پروتیئن‌ها مانند لکتین‌ها (جدول ۲) می‌باشند (۵).

در میان مکانیسم‌های مختلف ترانسیتوزیز، هدف قرار دادن رسپتورهای ترانسیتوزیز و مخصوصاً FcRn، متداول‌تر می‌باشد. پروتئین IgG از لومن روده توسط این رسپتور، ترانسیتوزیز می‌شود (۹۳). پپتیدهای حاوی بخش Fc ایمونوگلوبین G قادر هستند به FcRn متصل شده (در pH=6.5)، و پس از وارد شدن آن به درون سلول، طی مکانیسم ترانسیتوزیز پپتید مورد نظر در pH خنثی بافت ساب‌اتلیال آزاد می‌شود. در تحقیقی که توسط پریدجن و همکاران انجام شده است، نانوپارتیکل‌های همراه با انسولین را جهت انتقال خوراکی انسولین به بخش Fc ایمونوگلوبین G متصل کرده‌اند. براساس نتایج این تحقیق، در موش‌های نرمال ۴۵٪ کاهش گلوگز خون پس از مصرف خوراکی فرمولاسیون جدید انسولین دیده می‌شود؛ در حالی که در موش‌هایی که فاقد رسپتور IgG می‌باشند، کاهشی

جدول ۲– مثال‌هایی از مکانیسم ترانسیتوزیز در اپیتلیال روده. برخی از مکانیسم‌ها برای انتقال پپتید و برخی برای انتقال نانوپارتیکل‌ها استفاده می‌شوند (۵).

Class	Transcytosed entity	Ligand	Utilized for peptide delivery	Utilized for nanoparticle delivery
Receptors	Neonatal Fc receptor (FcRn, FCGRT)	IgG	Yes	Yes
	Polymeric immunoglobulin receptor (PIGR)	pIgA	No	No
	Lactoferrin receptor (ITLN-1)	Lactoferrin	Yes	Yes
	Vitamin B12 – intrinsic factor receptor (CUBN, AMN)	Vitamin B12	Yes	Yes
Transporters	GLUT2 (SLC2A2)	–	No	No
Bacterial toxins	Some cholera toxins	–	Yes	No
	Shiga toxin	–	Yes	No
Lipids	Sphingolipids	–	Yes	No
	Ceramides	–	Yes	Yes
Other membrane proteins	Lectins	–	Yes	Yes

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-01-30]
[DOR: 20.1001.1.22287043.1398.26.2.5.7]

در سطح گلوکز خون مشاهده نمی‌شود، که نشان دهنده اختصاصیت مکانسیم جذب ترانسیتوزیز می‌باشد (۹۴).

مثال دیگری از ترانسیتوزیز به واسطه رسپتور، جذب ویتامین B12 توسط انتروسیت‌های روده می‌باشد. ویتامین B12 در کمپلکس با فاکتور ذاتی (IF) در ایلئوم روده جذب می‌شود. پس از اتصال این کمپلکس به رسپتور مربوطه، CUBN یا AMN، رسپتور به همراه لیگاند اندوسیتوز می‌شود. رسپتور به سطح سلول برگشت داده شده، در حالی که کمپلکس ویتامین IF-B12 با لیزوزم ادغام می‌شود (۹۵). در لیزوزوم IF شکسته شده و ویتامین B12 وارد خون و در اتصال با پروتئین ترانس‌کوبالامین II انتقال می‌یابد. در مطالعه‌ای، نانوپارتیکل‌های کیتوسان (Chi) و کلسیم فسفات (CP) همراه با ویتامین B12 متصل به انسولین، باعث افزایش ۴ برابری زیست‌دسترسی پذیری انسولین و حفظ اثرات هیپوگلایسمیک به مدت زمان بیش‌تر از ۱۲ ساعت در موش‌های دیابتی نسبت به نانوپارتیکل‌های متصل شده به انسولین (فاقد ویتامین B12) می‌شوند (۹۶).

نتیجه‌گیری

در این مقاله مروری به کاربرد پپتیدهای نفوذ کننده به سلول (CPP) و ترانسیتوزیز به عنوان عوامل با پتانسیلی برای انتقال غیر تهاجمی و خوراکی انسولین اشاره شد. براساس مطالعات صورت گرفته، انسولین پس از کونژوگه کردن با انواع مختلف CPP، فعالیت زیستی خود را حفظ کرده، پایدار بوده و نسبت به تجزیه پروتئازی مقاوم می‌باشد. فرمولاسیون انسولین همراه با پپتیدهای نفوذکننده به سلول و ترانسیتوزیز می‌تواند نوید بخش روشی نوین در تجویز خوراکی انسولین برای بیماران مبتلا به دیابت و رهایی آن‌ها از رنج تحمل تزریق مکرر انسولین و هزینه‌های زیاد آن باشد. با این وجود، این فیلد تحقیقاتی هنوز نیاز به مطالعات بیشتری داشته و قبل از اینکه از این پپتیدها برای حامل‌هایی برای تحویل خوراکی انسولین به بیماران دیابتی استفاده شود بایستی به سوالات متعددی در این زمینه پاسخ داده شود.

References

1. Mo R, Jiang T, Di J, Tai W, Gu Z. Emerging micro-and nanotechnology based synthetic approaches for insulin delivery. Chem Soc Rev; 2014.43(10):3595-629.
2. Chin J, Mahmud KF, Kim SE, Park K, Byun Y. Insight of current technologies for oral delivery of proteins and peptides. Drug Discov Today Technol; 2012.9(2):e105-e112.
3. Park K, Kwon IC, Park K. Oral protein delivery: Current status and future prospect. React Funct Polym; 2011.71(3):280-7.
4. Gedawy A, Martinez J, Al-Salami H, Dass CR. Oral insulin delivery: existing barriers and current counter-strategies. J Pharm Pharmacol; 2018.70(2):197-213.
5. Lundquist, P. and P. Artursson, Oral absorption of peptides and nanoparticles across the human intestine: Opportunities, limitations and studies in human tissues. Adv Drug Del Rev; 2016.106:256-76.
6. Dissanayake S, Denny WA, Gamage S, Sarojini V. Recent developments in anticancer drug delivery using cell penetrating and tumor targeting peptides. J Control Release; 2017.250:62-76.
7. Gupta S, Jain A, Chakraborty M, Sahni JK, Ali J, Dang S. Oral delivery of therapeutic proteins and peptides: a review on recent developments. Drug Deliv; 2013.20(6):237-46.
8. Farkhani SM, Valizadeh A, Karami H, Mohammadi S, Sohrabi N, Badrzadeh F. Cell penetrating peptides: efficient vectors for delivery of nanoparticles, nanocarriers, therapeutic and diagnostic molecules. Peptides; 2014.57:78-94.
9. Zhang D, Wang J, Xu D. Cell-penetrating peptides as noninvasive transmembrane vectors for the development of novel multifunctional drug-delivery systems. J Control Release; 2016.229:130-9.
10. Layek B, Lipp L, Singh J. Cell penetrating peptide conjugated chitosan for enhanced delivery of nucleic acid. Int J Mol Sci; 2015.16(12):28912-30.
11. Frankel AD, Pabo CO. Cellular uptake of the tat protein from human immunodeficiency virus. Cell; 1988.55(6):1189-93.
12. Green, M, Loewenstein PM. Autonomous functional domains of chemically synthesized human immunodeficiency virus tat trans-activator protein. Cell; 1988.55(6):1179-88.
13. Bolhassani A. Potential efficacy of cell-penetrating peptides for nucleic acid and drug delivery in cancer. Biochim. Biophys. Acta Rev Cancer; 2011.1816(2):232-46.
14. Derossi D, Chassaing G, Prochiantz A. Trojan peptides: the penetratin system for intracellular delivery. Trends Cell Biol; 1998.8(2):84-7.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-01-30]

[DOR: 20.1001.1.22287043.1398.26.2.5.7]

15. Nakase I, Niwa M, Takeuchi T, Sonomura K, Kawabata N, Koike Y, et al. Cellular uptake of arginine-rich peptides: roles for macropinocytosis and actin rearrangement. Mol Ther; 2004.10(6):1011-22.
16. Bruno BJ, Miller GD, Lim CS. Basics and recent advances in peptide and protein drug delivery. Ther Deliv; 2013.4(11):1443-67.
17. Tünnemann G, Ter-Avetisyan G, Martin RM, Stöckl M, Herrmann A, Cardoso MC. Live-cell analysis of cell penetration ability and toxicity of oligo-arginines. J Peptide Sci; 2008.14(4):469-76.
18. Futaki S, Suzuki T, Ohashi W, Yagami T, Tanaka S, Ueda K, et al. Arginine-rich peptides An abundant source of membrane-permeable peptides having potential as carriers for intracellular protein delivery. J Biol Chem; 2001.276(8):5836-40.
19. Prochiantz A. Getting hydrophilic compounds into cells: lessons from homeopeptides. Curr Opin Neurobiol; 1996.6(5):629-34.
20. Mueller J, Kretzschmar I, Volkmer R, Boisguerin P. Comparison of cellular uptake using 22 CPPs in 4 different cell lines. Bioconjug Chem; 2008.19(12):2363-74.
21. Oglęcka K, Lundberg P, Magzoub M, Eriksson LG, Langel Ü, Gräslund A. Relevance of the N-terminal NLS-like sequence of the prion protein for membrane perturbation effects. Biochim Biophys Acta Biomembr; 2008.1778(1):206-13.
22. Gautam A, Singh H, Tyagi A, Chaudhary K, Kumar R, Kapoor P, et al. CPPsite: a curated database of cell penetrating peptides. Database; 2012.
23. Oehlke J, Krause E, Wiesner B, Beyermann M, Bienert M. Extensive cellular uptake into endothelial cells of an amphipathic β-sheet forming peptide. FEBS Lett; 1997.415(2): 196-9.
24. Sadler K, Eom KD, Yang JL, Dimitrova Y, Tam JP. Translocating proline-rich peptides from the antimicrobial peptide bactenecin 7. Biochemistry; 2002.41(48):14150-7.
25. Daniels DS, Schepartz A. Intrinsically cell-permeable miniature proteins based on a minimal cationic PPII motif. J Am Chem Soc; 2007.129(47):14578-9.
26. Martín I, Teixidó M, Giralt E. Design, synthesis and characterization of a new anionic cell-penetrating peptide: SAP (E). Chem Bio Chem; 2011.12(6):896-903.
27. Covic L, Gresser AL, Talavera J, Swift S, Kuliopulos A. Activation and inhibition of G protein-coupled receptors by cell-penetrating membrane-tethered peptides. Proc Natl Acad Sci; 2002.99(2):643-8.
28. Leger AJ, Jacques SL, Badar J, Kaneider NC, Derian CK, Andrade-Gordon P, et al. Blocking the protease-activated receptor 1-4 heterodimer in platelet-mediated thrombosis. Circulation; 2006.113(9):1244-54.
29. Boire A, Covic L, Agarwal A, Jacques S, Sherifi S, Kuliopulos A. PAR1 is a matrix metalloprotease-1 receptor that promotes invasion and tumorigenesis of breast cancer cells. Cell; 2005.120(3):303-13.
30. Bernal F, Tyler AF, Korsmeyer SJ, Walensky LD, Verdine GL. Reactivation of the p53 tumor suppressor pathway by a stapled p53 peptide. J Am Chem Soc; 2007.129(9):2456-7.
31. Walensky LD, Kung AL, Escher I, Malia TJ, Barbuto S, Wright RD, et al. Activation of apoptosis in vivo by a hydrocarbon-stapled BH3 helix. Science; 2004.305(5689):1466-70.
32. Brown CJ, Quah ST, Jong J, Goh AM, Chiam PC, Khoo KH, et al. Stapled peptides with improved potency and specificity that activate p53. ACS Chem Biol; 2012.8(3):506-12.
33. Ochocki JD, Mullen DG, Wattenberg EV, Distefano MD. Evaluation of a cell penetrating prenylated peptide lacking an intrinsic fluorophore via in situ click reaction. Bioorg Med Chem Lett; 2011.21(17):4998-5001.
34. Wollack JW, Zeliadt NA, Ochocki JD, Mullen DG, Barany G, Wattenberg EV, et al. Investigation of the sequence and length dependence for cell-penetrating prenylated peptides. Bioorg Med Chem Lett; 2010.20(1):161-3.
35. Milletti F. Cell-penetrating peptides: classes, origin, and current landscape. Drug Discov Today; 2012.17(15-16):850-60.
36. Ziegler A, Seelig J. High affinity of the cell-penetrating peptide HIV-1 Tat-PTD for DNA. Biochemistry; 2007.46(27):8138-45.
37. Gehring WJ, Affolter M, Burglin T. Homeodomain proteins. Annu Rev Biochem; 1994.63(1):487-526.
38. Chaloin L, Vidal P, Heitz A, Van Mau N, Méry J, Divita G, et al. Conformations of primary amphipathic carrier peptides in membrane mimicking environments. Biochemistry; 1997.36(37):11179-87.
39. Splith K, Neundorf I. Antimicrobial peptides with cell-penetrating peptide properties and vice versa. Eur Biophys J; 2011.40(4):387-97.
40. Langedijk JP. Translocation activity of C-terminal domain of pestivirus Erns and ribotoxin L3 loop. J Biol Chem; 2002.277(7):5308-14.
41. Langedijk J, Olijhoek T, Meloen R. Application, efficiency and cargo-dependence of transport peptides. in International Congress Series. 2005.
42. Sawant R, Torchilin V. Intracellular transduction using cell-penetrating peptides. Mol Biosyst; 2010.6(4):628-40.
43. Wagstaff KM, Jans DA. Protein transduction: cell penetrating peptides and their therapeutic applications. Curr Med Chem; 2006.13(12):1371-87.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-01-30]
[DOR: 20.1001.1.22287043.1398.26.2.5.7]

44. Heitz F, Morris MC, Divita G. Twenty years of cell-penetrating peptides: from molecular mechanisms to therapeutics. Br J Pharmacol; 2009.157(2):195-206.
45. Munoz-Morris MA, Heitz F, Divita G, Morris MC. The peptide carrier Pep-1 forms biologically efficient nanoparticle complexes. Biochem Biophys Res Commun; 2007.355(4): 877-82.
46. Simeoni F, Morris MC, Heitz F, Divita G. Insight into the mechanism of the peptide-based gene delivery system MPG: implications for delivery of siRNA into mammalian cells. Nucleic Acids Res; 2003.31(11):2717-24.
47. Cardoso AM, Trabulo S, Cardoso AL, Lorents A, Morais CM, Gomes P, et al. S4 (13)-PV cell-penetrating peptide induces physical and morphological changes in membrane-mimetic lipid systems and cell membranes: implications for cell internalization. Biochim Biophys Acta Biomembr; 2012.1818(3):877-88.
48. Trabulo S, Cardoso AL, Mano M, De Lima MCP. Cell-penetrating peptides—mechanisms of cellular uptake and generation of delivery systems. Pharmaceuticals; 2010.3(4):961-93.
49. Matsuzaki K, Yoneyama S, Murase O, Miyajima K. Transbilayer transport of ions and lipids coupled with mastoparan X translocation. Biochemistry; 1996.35(25):8450-6.
50. Derossi D, Calvet S, Trembleau A, Brunissen A, Chassaing G, Prochiantz A. Cell internalization of the third helix of the Antennapedia homeodomain is receptor-independent. J Biol Chem; 1996.271(30):18188-93.
51. Pouny Y, Rapaport D, Mor A, Nicolas P, Shai Y. Interaction of antimicrobial dermaseptin and its fluorescently labeled analogs with phospholipid membranes. Biochemistry; 1992.31(49):12416-23.
52. Deshayes S, Morris MC, Divita G, Heitz F. Interactions of primary amphipathic cell penetrating peptides with model membranes :consequences on the mechanisms of intracellular delivery of therapeutics. Curr Pharm Des; 2005.11(28):3629-38.
53. Alves ID, Goasdoué N, Correia I, Aubry S, Galanth C, Sagan S, et al. Membrane interaction and perturbation mechanisms induced by two cationic cell penetrating peptides with distinct charge distribution. Biochim Biophys Acta Gen Subj; 2008. 1780(7-8):948-59.
54. Joanne P, Galanth C, Goasdoué N, Nicolas P, Sagan S, Lavielle S, et al. Lipid reorganization induced by membrane-active peptides probed using differential scanning calorimetry. Biochim Biophys Acta Biomembr; 2009.1788(9):1772-81.
55. Copolovici DM, Langel K, Eriste E, Langel U. Cell-penetrating peptides: design, synthesis, and applications. ACS Nano; 2014.8(3):1972-94.
56. Lundberg P, Langel Ü. A brief introduction to cell-penetrating peptides. J Mol Recognit; 2003.16(5):227-33.
57. Mayor S, Pagano RE. Pathways of clathrin-independent endocytosis. Nat Rev Mol Cell Biol; 2007.8(8):603.
58. Falcone S, Cocucci E, Podini P, Kirchhausen T, Clementi E, Meldolesi J. Macropinocytosis: regulated coordination of endocytic and exocytic membrane traffic events. J Cell Sci; 2006.119(22):4758-69.
59. Kaksonen M, Roux A. Mechanisms of clathrin-mediated endocytosis. Nat Rev Mol Cell Biol; 2018.
60. Pelkmans L, Helenius A. Endocytosis via caveolae. Traffic; 2002.3(5):311-20.
61. Pujals S, Fernández-Carneado J, López-Iglesias C, Kogan MJ, Giralt E. Mechanistic aspects of CPP-mediated intracellular drug delivery: relevance of CPP self-assembly. Biochim Biophys Acta Biomembr; 2006.1758(3):264-79.
62. Mäe M, Andaloussi SE, Lundin P, Oskolkov N, Johansson HJ, Guterstam P, et al. A stearylated CPP for delivery of splice correcting oligonucleotides using a non-covalent co-incubation strategy. J Control Release; 2009.134(3):221-7.
63. Han X, Bushweller JH, Cafiso DS, Tamm LK. Membrane structure and fusion-triggering conformational change of the fusion domain from influenza hemagglutinin. Nat Struct Mol Biol; 2001.8(8):715.
64. Lönn P, Kacsinta AD, Cui XS, Hamil AS, Kaulich M, Gogoi K, et al. Enhancing endosomal escape for intracellular delivery of macromolecular biologic therapeutics. Sci Rep; 2016.6:32301.
65. Jones AT, Sayers EJ. Cell entry of cell penetrating peptides: tales of tails wagging dogs. J Control Release; 2012.161(2):582-91.
66. Madani F, Lindberg S, Langel Ü, Futaki S, Gräslund A. Mechanisms of cellular uptake of cell-penetrating peptides. J Biophys; 2011.
67. Walrant A, Bechara C, Alves ID, Sagan S. Molecular partners for interaction and cell internalization of cell-penetrating peptides: how identical are they? Nanomedicine; 2012.7(1):133-43.
68. Duchardt F, Fotin-Mleczek M, Schwarz H, Fischer R, Brock R. A comprehensive model for the cellular uptake of cationic cell-penetrating peptides. Traffic; 2007.8(7):848-66.
69. Nair BG, Fukuda T, Mizuki T, Hanajiri T, Maekawa T. Intracellular trafficking of superparamagnetic iron oxide nanoparticles conjugated with TAT peptide: 3-dimensional electron tomography analysis. Biochem Biophys Res Commun; 2012.421(4):763-7.
70. Yuan H, Fales AM, Vo-Dinh T. TAT peptide-functionalized gold nanostars: enhanced intracellular delivery and efficient NIR photothermal therapy using ultralow irradiance. J Am Chem Soc; 2012.134(28):11358-61.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-01-30]
[DOR: 20.1001.1.22287043.1398.26.2.5.7]

71. Khalil IA, Kogure K, Futaki S, Harashima H. High density of octaarginine stimulates macropinocytosis leading to efficient intracellular trafficking for gene expression. J Biol Chem; 2006.281(6): 3544-51.
72. Iwasa A, Akita H, Khalil I, Kogure K, Futaki S, Harashima H. Cellular uptake and subsequent intracellular trafficking of R8-liposomes introduced at low temperature. Biochim Biophys Acta Biomembr; 2006.1758(6):713-20.
73. Rádis-Baptista G, de la Torre BG, Andreu D. Insights into the uptake mechanism of NrTP, a cell-penetrating peptide preferentially targeting the nucleolus of tumour cells. Chem Biol Drug Des; 2012.79(6):907-15.
74. Åmand HL, Fant K, Nordén B, Esbjörner EK. Stimulated endocytosis in penetratin uptake: effect of arginine and lysine. Biochem Biophys Res Commun; 2008.371(4):621-5.
75. Xia H, Gao X, Gu G, Liu Z, Hu Q, Tu Y, et al. Penetratin-functionalized PEG–PLA nanoparticles for brain drug delivery. Int J Pharm; 2012.436(1-2):840-50.
76. El-Andaloussi S, Johansson HJ, Holm T, Langel Ü. A novel cell-penetrating peptide, M918, for efficient delivery of proteins and peptide nucleic acids. Mol Ther; 2007.15(10): 1820-6.
77. Johansson HJ, El-Andaloussi S, Holm T, Mäe M, Jänes J, Maimets T, et al. Characterization of a novel Cytotoxic cell-penetrating Peptide Derived from p14ARF protein. Mol Ther; 2008.16(1):115-23.
78. Liang JF, Yang VC. Insulin-cell penetrating peptide hybrids with improved intestinal absorption efficiency. Biochem Biophys Res Commun; 2005.335(3):734-8.
79. Kamei N, Morishita M, Eda Y, Ida N, Nishio R, Takayama K. Usefulness of cell-penetrating peptides to improve intestinal insulin absorption. J Control Release; 2008.132(1): 21-5.
80. Morishita M, Kamei N, J. Ehara, K. Isowa, and K. Takayama, A novel approach using functional peptides for efficient intestinal absorption of insulin. J Control Release; 2007.118(2):177-84.
81. Zhang Y, Li L, Han M, Hu J, Zhang L. Amphiphilic lipopeptide-mediated transport of insulin and cell membrane penetration mechanism. Molecules; 2015.20(12):21569-83.
82. Kamei N, Kikuchi S, Takeda-Morishita M, Terasawa Y, Yasuda A, Yamamoto S, et al. Determination of the optimal cell-penetrating peptide sequence for intestinal insulin delivery based on molecular orbital analysis with self-organizing maps. J Pharm Sci; 2013.102(2): 469-79.
83. Liu X, Liu C, Zhang W, Xie C, Wei G, Lu W. Oligoarginine-modified biodegradable nanoparticles improve the intestinal absorption of insulin. Int J Pharm; 2013.448(1):159-67.
84. Zhang L, Song L, Zhang C, Ren Y. Improving intestinal insulin absorption efficiency through coadministration of cell-penetrating peptide and hydroxypropyl-β-cyclodextrin. Carbohydr Polym; 2012.87 (2):1822-7.
85. Zhu S, Chen S, Gao Y, Guo F, Li F, Xie B, et al. Enhanced oral bioavailability of insulin using PLGA nanoparticles co-modified with cell-penetrating peptides and Engrailed secretion peptide (Sec). Drug Deliv; 2016.23(6):1980-91.
86. He H, Ye J, Sheng J, Wang J, Huang Y, Chen G, et al. Overcoming oral insulin delivery barriers: application of cell penetrating peptide and silica-based nanoporous composites. Front Chem Sci Eng; 2013.7(1):9-19.
87. Shan W, Zhu X, Liu M, Li L, Zhong J, Sun W, et al. Overcoming the diffusion barrier of mucus and absorption barrier of epithelium by self-assembled nanoparticles for oral delivery of insulin. ACS Nano; 2015.9(3):2345-56.
88. Barbari GR, Dorkoosh F, Amini M, Javan NB, Sharifzadeh M, Atyabi F, et al. synthesis and characterization of a novel peptide-grafted cs and evaluation of its nanoparticles for the oral delivery of insulin, in vitro, and in vivo study. Int J Nanomed; 2018.13:5127.
89. Doherty GJ, McMahon HT. Mechanisms of endocytosis. Annu Rev Biochem; 2009.78:857-902.
90. Preston JE, Abbott NJ, Begley DJ. Transcytosis of macromolecules at the blood–brain barrier. Adv Pharmacol; 2014.147-63.
91. Stenmark H. Rab GTPases as coordinators of vesicle traffic. Nat Rev Mol Cell Biol; 2009. 10(8):513.
92. Wiśniewski JR, Ostasiewicz P, Duś K, Zielińska DF, Gnad F, Mann M. Extensive quantitative remodeling of the proteome between normal colon tissue and adenocarcinoma. Mol Syst Biol; 2012.8(1):611.
93. Tzaban S, Massol RH, Yen E, Hamman W, Frank SR, Lapierre LA, et al. The recycling and transcytotic pathways for IgG transport by FcRn are distinct and display an inherent polarity. J Cell Biol; 2009.185(4):673-84.
94. Pridgen EM, Alexis F, Kuo TT, Levy-Nissenbaum E, Karnik R, Blumberg RS, et al. Transepithelial transport of Fc-targeted nanoparticles by the neonatal fc receptor for oral delivery. Sci Transl Med; 2013.5(213):213ra167-213ra167.
95. Fyfe JC, Madsen M, Højrup P, Christensen EI, Tanner SM, de la Chapelle A, et al. The functional cobalamin (vitamin B12)–intrinsic factor receptor is a novel complex of cubilin and amnionless. Blood; 2004.103(5):1573-9.
96. Verma A, Sharma S, Gupta PK, Singh A, Teja BV, Dwivedi P, et al. Vitamin B12 functionalized

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-01-30]
[DOR: 20.1001.1.22287043.1398.26.2.5.7]

layer by layer calcium phosphate nanoparticles: A mucoadhesive and pH responsive carrier for improved oral delivery of insulin. Acta Biomater; 2016.31:288-300.

97. Mickan A, Sarko D, Haberkorn U, Mier W. Rational design of CPP-based drug delivery systems: considerations from pharmacokinetics. Curr Pharm Biotechnol; 2014.15(3): 200-9.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-01-30]

[DOR: 20.1001.1.22287043.1398.26.2.5.7]