AUMJ Journal Alborz University of Medical Sciences
Alborz University of Medical Sciences Journal, Summer 2026, Vol. 15, No 3: 243-260

Polyaniline-polyacrylic copolymer-loaded nanoliposome: Synthesis, characterization, and apoptosis induction in breast cancer cells (MCF-7)

Ebrahim Balali [1,2]
Rezvan Fallahi [1]
Seyyed Mohammad Esmail Mahboubi Rabbani [3]
Maryam Naseroleslami [4]
Ali Jebali*[5,2]

1. Department of Organic Chemistry, TeM.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Medical Genomics Research Center, Tehran Medical Sciences Islamic Azad University, Tehran, Iran.
3.Department of Medicinal Chemistry, TeM.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran.
4. Department of Molecular Cell Biology, TeM.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran.
5.Department of Nanotechnology, TeM.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran.

*Corresponding author:
alijebal2011@iau.ac.ir
alijebal2011@gmail.com

Abstract

Introduction: Polyaniline–polyacrylic copolymers represent an emerging class of polymeric materials with promising anticancer properties. The development of nanocarrier-based delivery systems may further enhance their biological activity and improve their selective effects on malignant cells. The present study aimed to synthesize and characterize nanoliposomes containing polyaniline–polyacrylic copolymers and to investigate their cytotoxic and apoptotic effects on breast cancer cells (MCF-7) in comparison with normal human cells.

Methods: In this experimental study, polyaniline–polyacrylic copolymers and nanoliposomal formulations containing the synthesized copolymers were initially prepared and characterized. The cellular effects of the free polyaniline–polyacrylic copolymer and its nanoliposomal formulation were subsequently evaluated in MCF-7 breast cancer cells and human foreskin fibroblast (HFF) cells as a normal cell model. Following 48 hours of exposure, cellular viability and cytotoxicity were assessed using the MTT assay. Apoptotic cell death and changes in the distribution of apoptotic cell populations were evaluated by flow cytometry. In addition, the expression levels of apoptosis-related genes, including caspase-3 and caspase-9, were investigated using real-time polymerase chain reaction (real-time PCR). The study was conducted under the ethical approval code IR.IAU.PS.REC.1403.564.

Results: The MTT assay demonstrated that exposure to both the polyaniline–polyacrylic copolymer and its nanoliposomal formulation resulted in concentration-dependent changes in cell viability and cell death in both MCF-7 and HFF cells. The nanoliposomal formulation produced a greater cytotoxic effect against MCF-7 breast cancer cells than the free polyaniline–polyacrylic copolymer ($P < 0.05$). Flow cytometric analysis further demonstrated that both the free copolymer and the nanoliposomal formulation significantly promoted apoptotic cell death in MCF-7 cells, as evidenced by increases in the proportions of cells undergoing early and late apoptosis ($P < 0.05$). Moreover, treatment with the tested formulations resulted in increased expression of the caspase-3 and caspase-9 genes in MCF-7 cells, further supporting the involvement and activation of the intrinsic apoptotic pathway. Overall, these findings indicate that incorporation of the polyaniline–polyacrylic copolymer into nanoliposomes may enhance its anticancer activity and facilitate the induction of apoptosis in breast cancer cells.

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-06]

.Copyright © 2026 The Authors. Published by Alborz University of Medical Sciences
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).
.Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited

AUMJ Journal Alborz University of Medical Sciences
Alborz University of Medical Sciences Journal, Summer 2026, Vol. 15, No 3: 243-260

Ebrahim Balali [1,2]
Rezvan Fallahi [1]
Seyyed Mohammad Esmail Mahboubi Rabbani [3]
Maryam Naseroleslami [4]
Ali Jebali[*5,2]

Conclusion: The findings of this study indicate that the polyaniline–polyacrylic copolymer possesses the potential to induce apoptotic cell death in MCF-7 breast cancer cells. Encapsulation of the copolymer within nanoliposomes appeared to enhance its cytotoxic and pro-apoptotic effects, suggesting that nanoliposomal delivery may represent a promising strategy for improving the anticancer potential of this polymeric compound. Further investigations are warranted to elucidate the underlying molecular mechanisms, optimize the nanoliposomal formulation, and evaluate its selectivity and therapeutic potential in additional in vitro and in vivo models.

Keywords: Polyaniline–polyacrylic copolymer; Nanoliposomes; MCF-7 breast cancer cells; Apoptosis; Caspase-3

1. Department of Organic Chemistry, TeM.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Medical Genomics Research Center, Tehran Medical Sciences Islamic Azad University, Tehran, Iran.
3.Department of Medicinal Chemistry, TeM.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran.
4. Department of Molecular Cell Biology, TeM.C., Islamic Azad University,
Tehran, Iran.
5.Department of Nanotechnology, TeM.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran.

*Corresponding author:
alijebal2011@iau.ac.ir
alijebal2011@gmail.com

How to cite this article: Balali E, Fallahi R, Mahboubi Rabbani S M E, Naser-ol-Eslami M, Jebali A. Polyaniline-polyacrylic copolymer-loaded nanoliposome: Synthesis, characterization, and apoptosis induction in breast cancer cells (MCF-7). Alborz University Medical Journal 2026; 15 (3) : 243-260

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-06]

AUMJ Journal
Alborz University of Medical Sciences
نشریه دانشگاه علوم‌پزشکی البرز، تابستان ۱۴۰۵، دوره ۱۵، شماره ۳، صفحه‌های ۲۶۰-۲۴۳

نانولیپوزوم حاوی کوپلیمر پلی آنیلین - پلی اکریلیک: سنتز، مشخصه‌یابی و بررسی القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی پستان (MCF-7)

ابراهیم بلالی [۲،۱]
ریژوان فلاحی [۲،۱]
سید محمد اسماعیل محبوبی ربانی [۳]
مریم ناصرالاسلامی [٤]
علی جبالی [۵،۲]

چکیده

مقدمه: کوپلیمر پلی آنیلین - پلی اکریلیک نسل جدید از مواد با خاصیت ضد سرطانی هستند. هدف از این مطالعه سنتز و مشخصه‌یابی نانولیپوزوم حاوی کوپلیمر پلی آنیلین - پلی اکریلیک و بررسی اثر مهارکنندگی آن روی رشد سلول‌های سرطانی پستان MCF-7)) در مقایسه با سلول‌های نرمال بود.

روش کار: در این مطالعه نخست سنتز و مشخصه‌یابی کوپلیمر پلی آنیلین - پلی اکریلیک و نانولیپوزوم‌های حاوی کوپلیمر پلی آنیلین - پلی اکریلیک انجام گردید. اثرات سلولی این ترکیبات روی سلول‌های سرطانی (MCF-7) و HFF (به‌عنوان سلول نرمال) بعد از مواجهه ٤٨ ساعته با تست MTT، فلوسایتومتری و Realtime PCR ارزیابی شد.

یافته‌ها: نتایج تست MTT نشان داد درصد مرگ سلول‌های سرطانی MCF-7 و HFF بعد از مواجهه با کوپلیمر پلی آنیلین - پلی اکریلیک و نانولیپوزوم حاوی کوپلیمر پلی آنیلین - پلی اکریلیک به‌صورت وابسته به غلظت عمل کردند. نانولیپوزوم حاوی کوپلیمر پلی آنیلین - پلی اکریلیک نسبت به کوپلیمر پلی آنیلین - پلی اکریلیک بیشتر باعث مرگ سلول‌های سرطانی شدند (**P**<۰/۰۵). نتایج تست آپوپتوز نشان داد که کوپلیمر پلی آنیلین - پلی اکریلیک و نانولیپوزوم حاوی کوپلیمر پلی آنیلین - پلی اکریلیک توانستند به طور معنی‌داری باعث القای آپوپتوز و افزایش سلول‌های آپوپتوزی زودرس و دیررس در سلول‌های سرطانی شوند (**P**<۰/۰۵). افزایش بیان ژن‌های کاسپاز ۳ و ۹ در سلول های MCF-7 نیز فعال سازی مسیر آپوپتوز را تایید کرد.

نتیجه‌گیری: این مطالعه بما نشان داد که کوپلیمر پلی آنیلین - پلی اکریلیک توانایی القای آپوتوز در سلول‌های سرطانی MCF-7 را دارد و این قابلیت با نانولیپوزومه کردن آن تا حدی افزایش می‌یابد.

واژگان کلیدی: نانولیپوزوم، کوپلیمر، خاصیت ضد سرطانی، خاصیت ضدمیکروبی

۱. گروه شیمی آلی، واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲. مرکز تحقیقات ژنومیک پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران
۳. گروه شیمی دارویی، واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
٤. گروه زیست شناسی سلولی مولکولی، واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۵. گروه نانوتکنولوژی، واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

نویسنده مسئول:
alijebal2011@iau.ac.ir
alijebal2011@gmail.com

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-06]

مقدمه

روش‌های سنتی درمان سرطان، به ویژه آن‌هایی که بر علیه اهداف داخل سلولی خاص یا مسیرهای سیگنالینگ هدایت می‌شوند، به اندازه کافی برای غلبه بر ناهمگونی تومور و مقاومت درمانی قدرتمند نیستند. پپتیدهای آنکولیتیک که می‌توانند مرگ سلول سرطانی را به واسطه لیز غشا و متعاقب آن پاسخ‌های ایمنی ضد سرطان القا کنند، الگوی جدیدی را برای درمان سرطان فراهم کرده‌اند. با این حال، کاربرد بالینی پپتیدهای اونکولیتیک همیشه توسط عواملی مانند توزیع زیستی نامطلوب، پایداری ضعیف و سمیت خارج از هدف محدود می‌شود. برای غلبه بر این محدودیت‌ها، پلیمرهای آنکولیتیک به دلیل پایداری بالا، تطبیق پذیری شیمیایی، و ظرفیت تولید مقیاس پذیر که پتانسیل ایجاد انقلاب در درمان سرطان را دارد، به عنوان مواد درمانی بالقوه مطرح هستند. در طول دو دهه گذشته، گروه جدیدی از عوامل ضد تومور، به نام پپتیدهای انکولیتیک، توجه و علاقه زیادی را هم در تحقیقات پایه و هم در کاربردهای بالینی به خود جلب کرده‌است. پپتیدهای آنکولیتیک از پپتیدهای دفاعی طبیعی میزبان (HDPs[1])/ پپتیدهای ضد میکروبی (AMP[2]) که در طیف وسیعی از اشکال زیستی تولید می‌شوند، مشتق می‌شوند یا از آن‌ها الهام می‌گیرند. این پپتیدها فعالیت تخریب غشا پلاسما را نشان می‌دهند که به طور خاص سلول‌های بدخیم را هدف قرار می‌دهند(۱,۲). پپتیدهای اونکولیتیک معمولا از آمینواسیدهای با بار مثبت و آمینواسیدهای آبگریز با ساختار آمفی فیلیک کاتیونی و نفوذ بالا تشکیل شده‌اند(۳). به دلیل بار منفی بسیار زیاد بر روی سطح سلول‌های توموری، پپتیدهای اونکولیتیک ابتدا از طریق برهمکنش الکترواستاتیکی بر روی سطح غشا جذب می‌شوند و در نهایت منجر به ایجاد اختلال در غشا و لیز سلول‌های توموری پس از رسیدن پپتیدهای متصل به غشا به غلظت آستانه می‌شوند. برخلاف عوامل سیتوتوکسیک معمولی، عوامل هدف، داروهای مبتنی بر هورمون و داروهای آنتی‌بادی که در مسیرهای سیگنال دهی مختلف عمل می‌کنند یا با اهداف درون سلولی خاص در تعامل هستند، اهداف پپتیدهای اونکولیتیک اجزای غشایی با بار منفی هستند که به طور منحصر به فرد اما هموژن بر روی تقریبا تمام سلول‌های سرطانی وجود دارند(٤). از آنجا که احتمالا این یک راه‌حل پرهزینه برای بیشتر سلول‌های سرطانی برای برنامه‌ریزی مجدد سازمان و یا ترکیب چربی‌های غشا است، حالت عمل پپتیدهای غیرکولیتیک نه تنها برای دور زدن مقاومت درمان ذاتی تومور بلکه برای کاهش خطر مقاومت اکتسابی نیز به نظر می‌رسد(۷-۵) و این حالت نسبتا غیر اختصاصی ، پپتیدهای غیر کولیتیک با توانایی کشتن سلول‌های تومور در TME های مختلف و حتی سلول‌های تومور خفته یا سلول‌های بنیادی سرطان منجر می‌شود، که آن‌ها را به عوامل امید بخش برای تخریب تومورهای با عدم یکنواختی بالا تبدیل می‌کند (۸,۹).

در بین پلیمرهای ضد سرطانی، مواد پلی کاتیونی به دلیل اختلال در بارهای منفی روی غشای سلولی باکتری که منجر به مرگ سلولی می شود، فعالیت ضد میکروبی موثری را ارائه می دهند. در این پلیمرهای ضد میکروبی، گروه های کاتیونی مانند یون های آمونیوم، فسفونیوم و سولفونیوم با غشای سلولی باکتری برهم کنش دارند. ; به طور همزمان، باقی مانده پلیمری ممکن است به غشای سلولی میکروبی نفوذ کند، که منجر به توزیع اجزای سیتوپلاسمی و در نهایت منجر به مرگ سلول‌های باکتریایی شود. در میان انواع مختلف پلیمرهای کاتیونی ضد باکتری، پلی آنیلین به دلیل پایداری شیمیایی خوب و سنتز راحت آن، مطلوب ترین پلیمر زیست فعال است. علاوه بر این، ثابت شده که به دلیل مساحت سطح بیشتر و برهمکنش‌های بیشتر پلیمر با محیط، پلی آنیلین نانوساختار پراکندگی عالی در آب با سمیت کم برای سیستم‌های زنده نشان می‌دهد(۱۳-۱۰).

کوپلیمر پلی آنیلین – پلی اکریلیک نسل جدید از مواد با خاصیت ضد سرطانی هستند. هدف از این مطالعه سنتز و مشخصه‌یابی نانولیپوزوم حاوی کوپلیمر پلی آنیلین – پلی اکریلیک و بررسی اثر مهارکنندگی آن روی رشد سلول‌های سرطانی پستان MCF-7 در مقایسه با سلول‌های نرمال بود.

روش کار

مواد و کیت‌های مورداستفاده

تمام مواد شیمیایی مورد استفاده در این مطالعه دارای درجه خلوص تحلیلی بودند و بدون خالص‌سازی بیشتر مورداستفاده قرار گرفتند. مونومر آنیلین ($C_6H_5NH_2$، خلوص ۹۹٪)، مونومر اکریلیک اسید ($C_3H_4O_2$، خلوص ۹۹٪)، سدیم فسفات (Na_3PO_4، خلوص ۹۸٪)، دی‌سولفید کربن (CS_2، خلوص ۹۹٪)، بنزیل کلرید ($C_6H_5CH_2Cl$، خلوص ۹۹٪)، تتراهیدروفوران (THF، خلوص ۹۹,۵٪)، آزوبیس ایزوبوتیرونیتریل (AIBN، خلوص ۹۸٪)، پرسولفات آمونیوم ($(NH_4)_2S_2O_8$)، خلوص ۹۸٪) و نرمال سالین (۰,۹ NaCl٪) همگی از

1 Host Defense Peptides
2 Antimicrobial Peptides

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-06]

شرکت مرک (Merck، آلمان) تهیه شدند. CTA (عامل انتقال زنجیر) و CTA–PAA (پلی اکریلیک اسید–عامل انتقال زنجیر) از شرکت سیگما آلدریچ (Sigma–Aldrich، آمریکا) خریداری شدند. کیت نانولیپوزوم حاوی سورفکتانت‌های کاتیونی (DOSPA:DOPE با نسبت مولی ۱:۱) از شرکت اینویتروژن (Bioscience، آمریکا) تهیه گردید. محیط کشت DMEM High Glucose، سرم جنین گاوی (FBS)، آنزیم تریپسین–EDTA و پنی سیلین–استرپتومایسین از شرکت گیبکو (Gibco، آمریکا) خریداری شدند. کیت MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)–2,5-diphenyltetrazolium bromide)، کیت Annexin V–FITC/PI برای فلوسایتومتری و کیت Real–time PCR (شامل MasterMix SYBR Green) از شرکت پارس طوس (ایران) تهیه شدند. پرایمرهای مورد استفاده برای ژن‌های کاسپاز ۳، کاسپاز ۹ و ژن مرجع GAPDH توسط شرکت سیناکلون سنتز گردیدند. داروی ۵–فلوروپوراسیل (FU–۵) با خلوص دارویی از شرکت اکسیر (ایران) تهیه شد.

سنتز و مشخصه‌یابی

برای سنتز کوپلیمر پلی آنیلین – پلی اکریلیک، مطابق روش کار Lakouraj و همکاران(۱۳) (شکل ۱)،

سنتز CTA (عامل انتقال زنجیر):

برای سنتز عامل انتقال زنجیر، ابتدا ۵/۰ گرم آنیلین و ۱ گرم سدیم فسفات در یک ارلن ۱۰۰ میلی‌لیتری ریخته شده و ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه گردید. مخلوط به مدت ۵ دقیقه به شدت همگن شد. سپس ۱ گرم دی‌سولفید کربن (CS_2) به ارلن افزوده شده و به مدت ۲ ساعت روی میکسر قرار گرفت. در ادامه، ۱ میلی‌لیتر بنزیل کلرید اضافه گردید و مخلوط به مدت ۳ ساعت دیگر روی شیکر (۱۵۰ دور بر دقیقه) قرار داده شد. سپس مخلوط درون یک پلیت شیشه‌ای ریخته شده و در دمای محیط به مدت ۲۴ ساعت خشک گردید. رسوبات تشکیل شده جمع‌آوری شده و به عنوان CTA در مرحله بعد مورد استفاده قرار گرفت.

سنتز CTA–PAA (پلی اکریلیک اسید متصل به عامل انتقال زنجیر):

در این مرحله، به رسوبات حاصل از مرحله قبل (۵ ،CTA گرم مونومر اکریلیک اسید و ۱ میلی‌لیتر تتراهیدروفوران (THF) اضافه گردید. مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق با همزن مغناطیسی همزده شد. سپس ۱ گرم آغازگر AIBN اضافه شده و مخلوط در انکوباتور با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردید. محصول حاصل که همان CTA–PAA بود، بدون خالص‌سازی بیشتر در مرحله سنتز کوپلیمر نهایی استفاده شد.

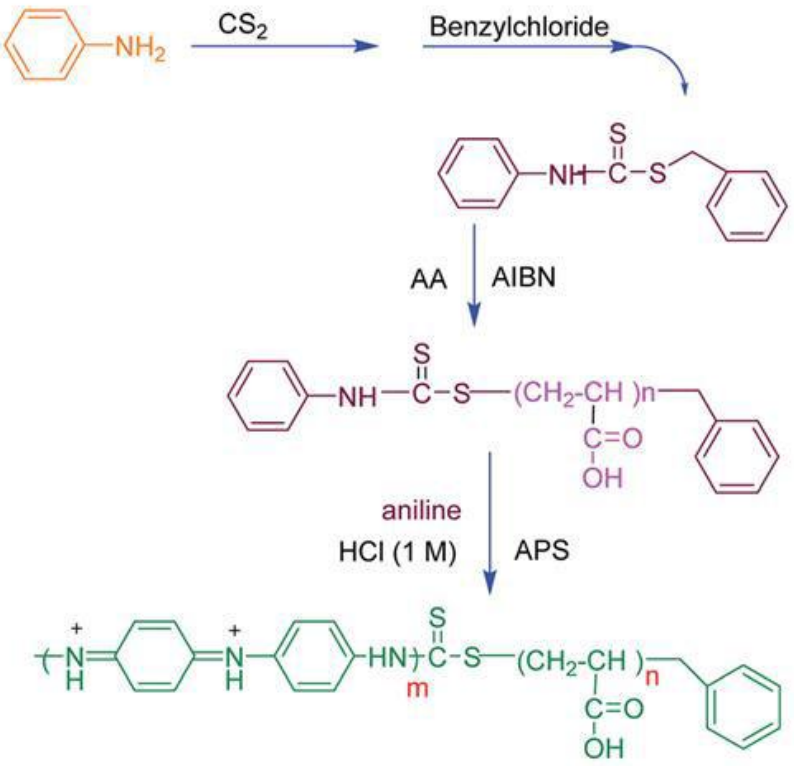
سنتز کوپلیمر پلی آنیلین – پلی اکریلیک (PANI–b–PAA):

به مخلوط واکنش حاوی ۱ ،CTA–PAA گرم پرسولفات آمونیوم اضافه شده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق میکس گردید. سپس ۵/۰ گرم مونومر آنیلین به آن افزوده شده و مخلوط به مدت ۴ ساعت به شدت هم زده شد. در پایان، برای جداسازی کوپلیمر سنتز شده، مخلوط به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفوژ گردید. ته‌نشین به دست آمده که همان کوپلیمر پلی آنیلین–پلی اکریلیک (PANI–b–PAA) بود، برای انجام طیف‌سنجی FTIR و همچنین برای تهیه نانولیپوزوم‌های حاوی کوپلیمر مورد استفاده قرار گرفت.

در نهایت، ۱ گرم ته‌نشین به ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد تا یک محلول ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از محصول تهیه گردد. در مرحله بعد سنتز نانولیپوزوم حاوی کوپلیمر پلی آنیلین–پلی اکریلیک انجام شد. مطابق روش کار Lakouraj و همکاران(۱۳)، یک میلی‌لیتر از محلول ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از کوپلیمر پلی آنیلین–پلی اکریلیک تهیه شد و با یک میلی‌لیتر از کیت مخصوص نانولیپوزوم حاوی سوفاکتانت‌های کاتیونی (DOSPA:DOPE) مخلوط شد و به مدت ۵ دقیقه بشدت میکس شد. سپس مخلوط به‌دست‌آمده با سرعت ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ شد. با توزین میزان ته‌نشین‌شده، مقداری نرمال سالین اضافه شد تا غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از نانولیپوزوم‌های حاوی کوپلیمر پلی آنیلین–پلی اکریلیک به‌دست آید. دو میکروتیوب ۲ میلی‌لیتری برداشته و داخل آن‌ها نانولیپوزوم‌های سنتز شده ریخته شد و برای مشخصه‌یابی با میکروسکوپ TEM و DLS شکل و توزیع سایز نانولیپوزوم‌ها بررسی شد.

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-06]

شکل ۱. فرایند سنتز کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک مطابق روش کار Lakouraj و همکاران (۱۳).



تست MTT

برای این تست، ابتدا رده سلول سرطانی پستان MCF-۷ و رده سلول فیبروبلاست نرمال انسانی (Human Foreskin Fibroblast) HFF به‌عنوان سلول نرمال، از بانک سلولی انستیتو پاستور به‌اندازه یک فلاسک ۲۵ سانتی‌متر مربع در محیط کشت DMEM High Glucose غنی شده با سرم جنین گاوی (۱۰ (FBS درصد تهیه شد. سلول‌ها پس از رسیدن به تراکم ۷۰-۸۰ درصد، با استفاده از تریپسین-۰,۲۵ EDTA درصد از کف فلاسک جدا گردیدند. پس از شمارش سلول‌ها با استفاده از لام نئوبار و میکروسکوپ اینورت، سلول‌ها در پلیت ۹۶ چاهکی (Flat-bottom) با تراکم ۱ × ۱۰^٤ سلول در هر چاهک و حجم نهایی ۲۰۰ میکرولیتر محیط کشت حاوی سرم ۱۰ درصد کشت داده شدند. پلیت‌ها به مدت ۲٤ ساعت در انکوباتور (۳۷ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۹۵ درصد و ۵ درصد CO_2) پیش‌انکوبه شدند تا سلول‌ها به چاهک بچسبند. سپس محیط کشت قدیمی حذف شده و غلظت‌های مختلف (۰/۰۱، ۰/۱ و ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر) از کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک و نانولیپوزوم حاوی کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک به چاهک‌ها اضافه گردید. پس از ٤۸ ساعت انکوباسیون، ۳۵ میکرولیتر از محلول MTT (غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به هر چاهک اضافه شد و پلیت به مدت ۳ ساعت دیگر در انکوباتور قرار گرفت. سپس محیط کشت حاوی MTT حذف شده و به هر چاهک ۱۵۰ میکرولیتر DMSO اضافه گردید تا کریستال‌های فرمازان حل شوند. نهایتاً جذب نوری (دانسیته نوری) در طول موج ۵۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه الایزا ریدر قرائت گردید. درصد مهار رشد سلولی نسبت به گروه کنترل منفی (سلول‌های تیمار شده با نرمال سالین) با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

درصد مهار رشد = (۱ - (جذب نمونه / جذب کنترل)) × ۱۰۰.

در این مطالعه، سلول‌های MCF-۷ و HFF در معرض داروی ۵-فلورویوراسیل (۵-FU) با غلظت ۵۰ میکرومولار به عنوان کنترل مثبت (مهارکننده آپوپتوز) و بافر نرمال سالین (PBS) به عنوان کنترل منفی (عدم مهارکنندگی) در نظر گرفته شدند.

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-06]

تست القای آپوپتوز

برای ارزیابی آپوپتوز، سلول‌های سرطانی پستان MCF-۷ و سلول‌های HFF در پلیت‌های ٦ چاهکی با تراکم ۵ × ۱۰^۵ سلول در هر چاهک و حجم نهایی ۲ میلی‌لیتر محیط کشت DMEM High Glucose حاوی ۱۰ درصد FBS کشت داده شدند. پس از ٢٤ ساعت پیش‌انکوباسیون (۳۷ درجه سانتی‌گراد ۵٪ CO_2)، محیط کشت قدیمی حذف شده و سلول‌ها به مدت ٤٨ ساعت در معرض غلظت ۰/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر از کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک و نانولیپوزوم حاوی آن قرار گرفتند. سلول‌های تیمار شده با ۵-فلورویوراسیل (FU-۵، غلظت ۵۰ میکرومولار) به عنوان کنترل مثبت و سلول‌های تیمار شده با نرمال سالین به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شدند. پس از اتمام زمان انکوباسیون، سلول‌ها با استفاده از آنزیم تریپسین-۰,۲۵ EDTA درصد از کف پلیت جدا شده و دو بار با بافر PBS شستشو داده شدند. سپس به هر نمونه، ۵ میکرولیتر از رنگ Annexin V-FITC و ۵ میکرولیتر از رنگ پروپیدیوم یدید (PI) اضافه گردید و نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق در تاریکی مطلق انکوبه شدند. پس از اتمام زمان انکوباسیون، به هر نمونه ٤۰۰ میکرولیتر بافر اتصال (Binding Buffer) اضافه شد. نهایتاً نمونه‌ها ظرف حداکثر ۱. ساعت توسط دستگاه فلوسایتومتر (BD FACS Calibur، آمریکا) با استفاده از نرم‌افزار CellQuest Pro آنالیز گردید. برای هر نمونه، حداقل ۱۰,۰۰۰ رویداد (Event) شمارش شد و درصد سلول‌های زنده (Annexin V-/PI-)، آپوپتوتیک اولیه (Annexin V+/PI-)، آپوپتوتیک ثانویه (Annexin V+/PI+) و نکروتیک (Annexin V-/PI+) برای هر گروه تعیین گردید.

در این قسمت مطالعه نیز سلول‌های MCF-۷ و HFF در معرض داروی ۵-فلورویوراسیل (FU-۵) با غلظت ۵۰ میکرومولار به عنوان کنترل مثبت و PBS به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شدند.

تست بیان ژن کاسپاز ۳ و کاسپاز ۹

برای ارزیابی بیان ژن‌های کاسپاز ۳ و کاسپاز ۹، سلول‌های سرطانی پستان MCF-۷ و سلول‌های فیبروبلاست نرمال انسانی (Human Foreskin Fibroblast) HFF در **پلیت‌های ٦ چاهکی با تراکم ۵ × ۱۰^۵ سلول در هر چاهک و حجم نهایی ۲ میلی‌لیتر** محیط کشت DMEM High Glucose حاوی ۱۰ درصد FBS کشت داده شدند. پس از ٢٤ ساعت پیش‌انکوباسیون (۳۷ درجه سانتی‌گراد، CO_2 ۵٪)، محیط کشت قدیمی حذف شده و سلول‌ها به مدت ٤٨ ساعت در معرض غلظت ۱/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک و نانولیپوزوم حاوی آن قرار گرفتند. سلول‌های تیمار شده با ۵-فلورویوراسیل (FU-۵، غلظت ۵۰ میکرومولار) به عنوان کنترل مثبت و سلول‌های تیمار شده با نرمال سالین به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شدند.

پس از اتمام زمان انکوباسیون، środowisko کشت حذف شده و سلول‌ها با استفاده از تریپسین -۰,۲۵ EDTA درصد از کف پلیت جدا شدند.

برای این تست مواجهه ٤٨ ساعته سلول های سرطان پستان-۷ MCF و HFF (بعنوان رده سلولی نرمال) با کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک و نانولیپوزوم حاوی کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک در غلظت ۱/۰ میکروگرم بر میلی لیتر انجام شد. همچنین این سلول ها در معرض داروی ۵-فلورویوراسیل (FU-۵) با غلظت ۵۰ میکرومولار به عنوان کنترل مثبت و PBS به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شدند. سپس ۷۵۰ میکرولیتر از محلول RL (بافر لیزکننده RNA) اضافه و به مدت ۵ دقیقه پیپتاژ گردید. سپس ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم اضافه و ۳ دقیقه در دمای محیط انکوبه و به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۳۰۰۰ در دمای ٤ درجه سانتیگراد سانتریفوژ شد. سپس ٤۰۰ میکرولیتر از فاز بالایی برداشته و ٤۰۰ میکرولیتر اتانول ۷۰٪ اضافه کرده و به مدت یک دقیقه در دور ۱۳۰۰۰ سانتریفوژ گردید. سپس ۷۰۰ میکرولیتر pw (بافر شستشو) اضافه و نهایتا ۵۰ میکرولیتر DEPC اضافه گردید. برای تعیین غلظت و خلوص RNA استخراج شده از نانودراپ در طول موج‌های ۲۳۰ و ۲٦۰ و ۲۸۰ نانومتر استفاده گردید. در مرحله بعد برای سنتز cDNA ، RNA الگو (۵ میکرولیتر) - مخلوط بافر (۵ میکرولیتر) - مخلوط آنزیمی (۵ میکرولیتر) باهم مخلوط و ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه و سپس ٦۰ دقیقه در دمای ٤۷ درجه انکوبه گردید و نهایتا در دمای ۸۵ درجه به مدت ۵ دقیقه واکنش متوقف شد. برای Realtime PCR، طبق دستورالعمل کیت پارس طوس در هر یک از میکروتیوب‌ها ۳ میکرولیتراز CDNA سنتز شده، ۲ میکرولیتر پرایمر میکس(شامل فوروارد و ریورس)،۱۰میکرولیتر Realtime-MasterMix و ۵ میکرولیتر آب DEPS اضافه گردید. سپس نمونه ها داخل دستگاه ترموسایکلرمخصوص Real-time PCR قرار داده شد و طبق برنامه دستگاه Run شد. برنامه استفاده شده شامل ۱۰دقیقه در ۹٤ درجه یکبار، ۱۵ ثانیه در ۹۵ درجه ٤۰ بار، ۳۰ ثانیه در ٦۰ درجه ٤۰

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-06]

بار، ۳۰ ثانیه در ۷۲ درجه ۴۰ بار و ۵ دقیقه در ۷۲ درجه یکبار بود. بعد از اتمام سیکل ها نمونه از دستگاه بیرون آورده شده و مقدار CT هر نمونه یادداشت گردید. برای اطمینان از تکثیر ژن های مورد نظر منحنی ذوب نیز گرفته شد. پرایمر های مورد استفاده مطابق با جدول ۱ بودند:

جدول ۱. پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه

	توالی فوروارد	توالی ریورس
Caspase ۳	GGAAGCGAATCAATGGACTCTGG	GCATCGACATCTGTACCAGACC
Caspase۹	GTTTGAGGACCTTCGACCAGCT	CAACGTACCAGGAGCCACTCTT
GAPDH	GTCTCCTCTGACTTCAACAGCG	ACCACCCTGTTGCTGTAGCCAA

یافته‌ها

آنالیزهای مشخصه‌یابی

شکل ۲ الف تصویری از کوپلیمر سنتز شده با میکروسکوپ SEM را نشان می دهد. همانطور که مشاهده می شود ذراتی کوچک در سایز حدودی ۵۰ نانومتر به شکل کروی و جدا از هم دیده می شود. همچنین شکل ۲ب تصویری از نانولیپوزوم های حاوی کوپلیمر سنتز شده با میکروسکوپ TEM را نشان می دهد. در این شکل نانوکپسولهای کوچک در سایز حدودی بین ۵۰ تا ۲۵۰ نانومتر به شکل کروی و جدا از هم دیده می شود. آنالیز DLS کوپلیمر سنتز شده (شکل ۲ج) و نانولیپوزوم های حاوی کوپلیمر سنتز شده (شکل ۲د)، نیز نشان داد گستره سایزی کوپلیمرهای سنتز شده در بازه ۱۰ تا ۵۰ نانومتر و با میانگین سایزی ۳۰ نانومتر با PDI ۲/۰ بوده و نانولیپوزوم های سنتز شده نیز گستره سایزی ۵۰ تا ۲۵۰ نانومتر با میانگین سایزی ۱۵۰ نانومتر با PDI ۲/۰ را داشتند. با توجه به فرایند سنتز کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک (شکل ۳،(۱ ماده CTA و CTA–PAA و PANI–b–PAA برای تست FTIR بررسی گردید (شکل ۲ه). لازم به ذکر است که در طیف‌های ارائه شده، محور عمودی بر اساس درصد عبور (Transmittance, ٪) تنظیم گردید و دامنه آن بین ۰ تا ۱۰۰ درصد در نظر گرفته شد تا کلیه پیک‌ها به وضوح قابل مشاهده باشند.

الف) طیف FTIR مربوط به CTA (عامل انتقال زنجیر):

در طیف مربوط به CTA، چهار باند جذبی شارپ شناسایی گردید. باند در عدد موج ۱۰۲۶ سانتی‌متر$^{-1}$ مربوط به ارتعاش کششی C–S (پیوند کربن-گوگرد) می‌باشد. باند در ۱۳۲۶ سانتی‌متر$^{-1}$ به ارتعاش کششی C=S (کربونیل تیواتی) نسبت داده شد. پیک مشاهده شده در ۱۵۰۳ سانتی‌متر$^{-1}$ نشان‌دهنده ارتعاش کششی C=N (ایمین) است. همچنین باند پهن و مشخص در ۳۱۱۸ سانتی‌متر$^{-1}$ مربوط به ارتعاش کششی N–H (گروه آمین) می‌باشد. وجود این پیک‌ها بیانگر موفقیت آمیز بودن سنتز CTA است.

ب) طیف FTIR مربوط به CTA–PAA (پلی اکریلیک اسید متصل به عامل انتقال زنجیر):

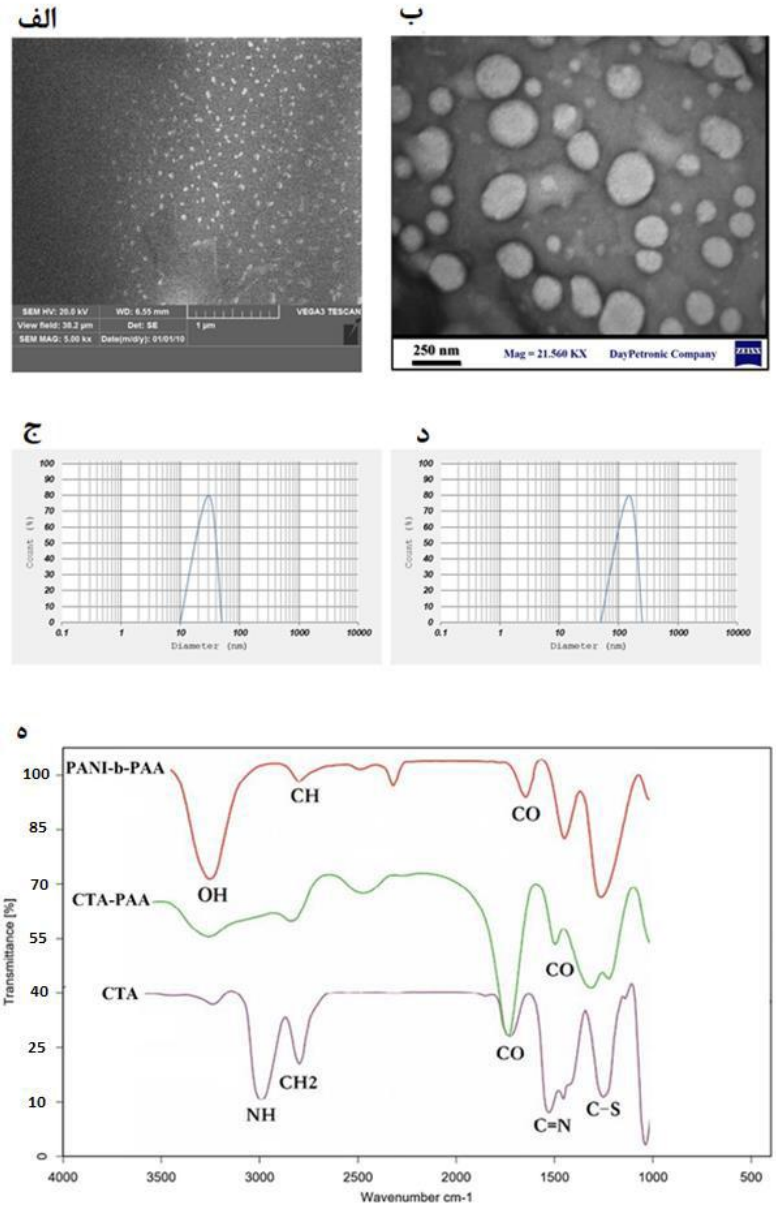
در طیف CTA–PAA، ظهور دو باند جدید مهم مشاهده گردید. نخست، یک باند پهن و قوی در محدوده ۳۴۰۰ سانتی‌متر$^{-1}$ که مشخصه ارتعاش کششی O–H (گروه هیدروکسیل) مربوط به گروه کربوکسیلیک اسید در پلی اکریلیک اسید می‌باشد. دوم، یک باند شارپ در ۱۶۰۰ سانتی‌متر$^{-1}$ که به ارتعاش کششی C=O (گروه کربونیل) در اسید کربوکسیلیک نسبت داده شد. حضور این پیک‌ها به همراه پیک‌های مربوط به CTA، تأیید کننده اتصال موفقیت آمیز پلی اکریلیک اسید به عامل انتقال زنجیر می‌باشد.

ج) طیف FTIR مربوط به کوپلیمر نهایی PANI–b–PAA (پلی آنیلین - بلاک - پلی اکریلیک):

در طیف کوپلیمر نهایی، سه باند اصلی قابل‌تشخیص است. باند پهن در ۳۴۰۰ سانتی‌متر$^{-1}$ مربوط به ارتعاش کششی O–H (از بخش پلی اکریلیک) می‌باشد. باند در ۲۷۵۰ سانتی‌متر$^{-1}$ به ارتعاش کششی C–H (گروه‌های متیلن و متین در زنجیر پلیمری) اختصاص دارد. همچنین باند شارپ در ۱۶۰۰ سانتی‌متر$^{-1}$ مربوط به ارتعاش کششی C=O (از بخش پلی اکریلیک) است. لازم به ذکر است که پیک‌های مربوط به حلقه آروماتیک پلی آنیلین نیز در محدوده ۱۶۰۰-۱۴۵۰ سانتی‌متر$^{-1}$ با پیک کربونیل همپوشانی دارند. تطابق پیک‌های بدست آمده با گزارشات مقالات

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-06]

مشابه (مانند کار Lakouraj و همکاران) صحت سنتز کوپلیمر سه‌بلوکی PANI–b–PAA را تأیید می‌کند.



شکل ۲–تصویری از کوپلیمر سنتز شده با میکروسکوپ SEM (الف) ، تصویری از نانولیپوزوم های حاوی کوپلیمر سنتز شده با میکروسکوپ TEM (ب)، آنالیز DLS برای کوپلیمر (ج) و نانولیپوزوم های حاوی کوپلیمر سنتز شده (د) و آنالیز FTIR جهت اثبات سنتز کوپلیمر (ه). منطبق با تصویر SEM ذراتی کوچک در سایز حدودی ۵۰ نانومتر به شکل کروی و جدا از هم دیده می شود. همچنین تصویر نانولیپوزوم های حاوی کوپلیمر سنتز شده با میکروسکوپ TEM نیز نانوکپسولهای کوچک در سایز حدودی بین ۵۰ تا ۲۵۰ نانومتر به شکل کروی و جدا از هم را نشان داد. آنالیز DLS نیز نشان داد گستره سایزی کوپلیمرهای سنتز شده در بازه ۱۰ تا ۵۰ نانومتر و با میانگین سایزی ۳۰ نانومتر با PDI ۲/۰ بوده و نانولیپوزوم های سنتز شده نیز گستره سایزی ۵۰ تا ۲۵۰ نانومتر با میانگین سایزی ۱۵۰ نانومتر با PDI ۲/۰ بودند. تست FTIR نشان داد در CTA چهار باند شارپ مربوط به باند های (۱۰۲۶) C–S) و (۱۳۲۶) C=S) و (۱۵۰۳) C=N) و (۳۱۱۸) N–H) دیده شد. همچنین در CTA–PAA نیز باندها مربوط به (۳۴۰۰) O–H) و (۱۶۰۰) C=O) و در PANI–b–PAA نیز باندهای مربوط به به (۲۷۵۰) C–H ،(۳۴۰۰) O–H) و (۱۶۰۰) C=O) وجود داشت.

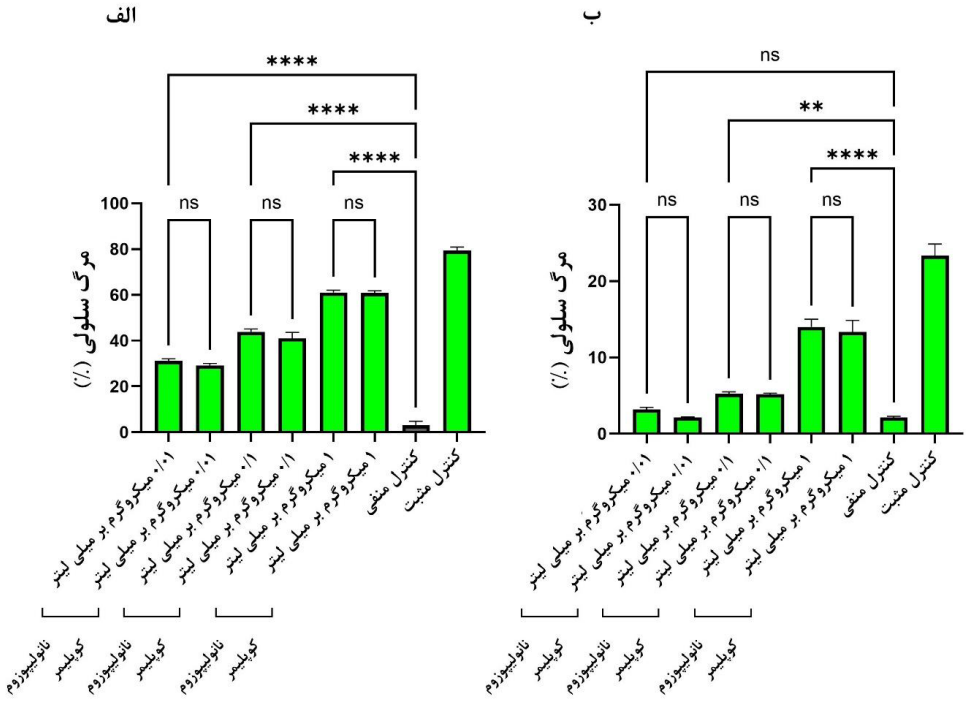
[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-06]

نتایج تست MTT

نتایج تست MTT برای بررسی مهار رشد سلول‌های سرطانی MCF-۷ بعد از مواجهه با کوپلیمر پلی آنیلین - پلی اکریلیک و نانولیپوزوم حاوی کوپلیمر پلی آنیلین - پلی اکریلیک به مدت ٤٨ ساعته (شکل ۳الف) را نشان می دهد. مرگ سلول های سرطانی MCF-۷ بعد از مواجهه با کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک و نانولیپوزوم حاوی کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک بصورت وابسته به غلظت عمل کردند و بیشترین غلظت (۱ میکروگرم بر میلی لیتر)، بیشترین مرگ (حدودا ۵۸ درصد) را بدنبال داشت. نانولیپوزوم حاوی کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک نسبت به کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک بیشتر باعث مرگ سلول‌های سرطانی شدند (P<۰/۰۵). نتایج تست MTT برای بررسی مهار رشد سلول های HFF (بعنوان سلول های نرمال) بعد از مواجهه با کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک و نانولیپوزوم حاوی کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک بمدت ٤٨ ساعته (شکل ۳ب) را نشان می دهد. در اینجا نیز درصد مرگ سلول‌های HFF بعد از مواجهه با کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک و نانولیپوزوم حاوی کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک بصورت وابسته به غلظت عمل کردند و بیشترین غلظت (۱ میکروگرم بر میلی لیتر)، حدودا ۱۱ درصد مرگ سلولی را بدنبال داشت. نانولیپوزوم حاوی کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک نسبت به کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک بیشتر باعث مرگ سلول های HFF شدند (P<۰/۰۵). همچنین توانایی کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک و نانولیپوزوم حاوی کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک در القای مرگ سلولی در سلولهای HFF بطور معنی داری بسیار کمتر از توانایی آنها بر القای مرگ در سلول های سرطانی بود (P<۰/۰۵).

در کنترل منفی مرگ سلولی واضحی دیده نشد و در کنترل مثبت (۵-فلوروییوراسیل با غلظت ۵۰ میکرومولار) باعث کاهش زنده‌مانی سلول‌های سرطانی MCF-۷ پس از ٤٨ ساعت گردید (P<۰/۰۵). درصد مهار رشد سلولی در کنترل مثبت معادل ۵/۲ ± ۷۸ درصد بود. در مقابل، تأثیر کنترل مثبت بر روی سلول‌های نرمال HFF به مراتب کمتر (± ۳/۵ ۲۲ درصد مهار رشد) و این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود (P<۰/۰۵).

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-06]



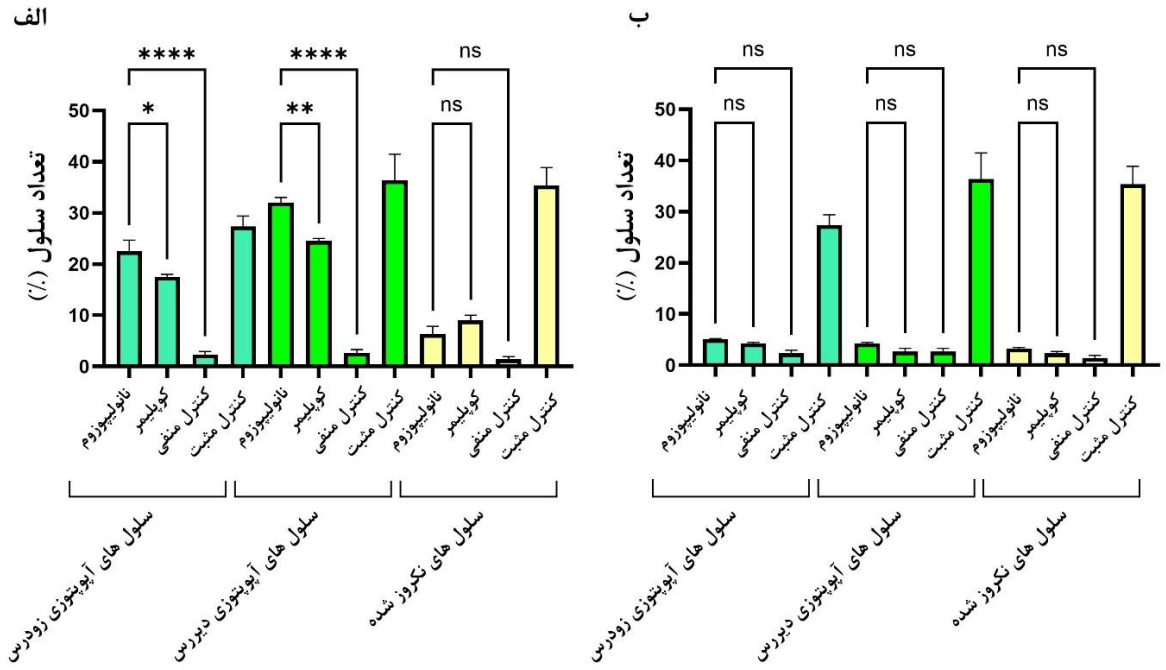
شکل ۳- نتایج تست MTT جهت بررسی مهار رشد سلول های سرطانی MCF-۷ (الف) و سلول های HFF (ب) بعد از مواجهه با کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک و نانولیپوزوم حاوی کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک بمدت ٤٨ ساعت. این تست نشان داد مرگ سلول های سرطانی MCF-۷ بعد از مواجهه با کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک و نانولیپوزوم حاوی کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک بصورت وابسته به غلظت عمل کردند و بیشترین غلظت (۱ میکروگرم بر میلی لیتر)، بیشترین مرگ (حدودا ۵۸ درصد) را بدنبال داشت. نانولیپوزوم حاوی کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک نسبت به کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک بیشتر باعث مرگ سلول های سرطانی شدند (P<۰/۰۵). همچنین نتایج تست MTT برای بررسی مهار رشد سلول های HFF (بعنوان سلول های نرمال) بعد از مواجهه با کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک و نانولیپوزوم حاوی کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک بمدت ٤٨ ساعته نیز نشان داد که درصد مرگ سلول های HFF بعد از مواجهه با کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک و نانولیپوزوم حاوی کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک بصورت وابسته به غلظت عمل کردند و بیشترین غلظت (۱ میکروگرم بر میلی لیتر)، حدودا ۱۱ درصد مرگ سلولی را بدنبال داشت. (P<۰/۰۵) و (P<۰/۰۱) و (P<۰/۰۰۱) و (P<۰/۰۰۰۱) در مقایسه با کنترل

نتایج تست آپوپتوز

نتایج تست آپوپتوز در سلول‌های سرطانی MCF-۷ و HFF بعد از مواجهه با کوپلیمر پلی آنیلین - پلی اکریلیک و نانولیپوزوم حاوی کوپلیمر پلی آنیلین - پلی اکریلیک به مدت ٤٨ ساعته (شکل ٤) نشان داد که کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک و نانولیپوزوم حاوی کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک توانستند بطور معنی داری باعث القای آپوپتوز و افزایش تعداد سلول های آپوپتوزی زودرس و دیررس شوند. از طرفی کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک و نانولیپوزوم حاوی کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک نتوانستند باعث القای آپوپتوز در سلول های HFF شوند (P<۰/۰۵).

تجزیه‌وتحلیل فلوسایتومتری آپوپتوز نشان داد که تیمار سلول‌های MCF-7 با کنترل مثبت (5-FU) با غلظت ۵۰ میکرومولار به مدت ٤٨ ساعت، به طور چشمگیری باعث افزایش جمعیت سلول‌های آپوپتوزی زودرس و دیررس نسبت به گروه کنترل منفی گردید (P<۰/۰۵). به طوری که درصد کل سلول‌های آپوپتوتیک در گروه کنترل مثبت برابر با ۲/٤ ± ۸۵ درصد بود. در حالی که این میزان در سلول‌های نرمال HFF تیمار شده با 5-FU، به طور معنی‌داری کمتر (۱/۳ ± ۱۸ درصد) بود (P<۰/۰۵).

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-06]



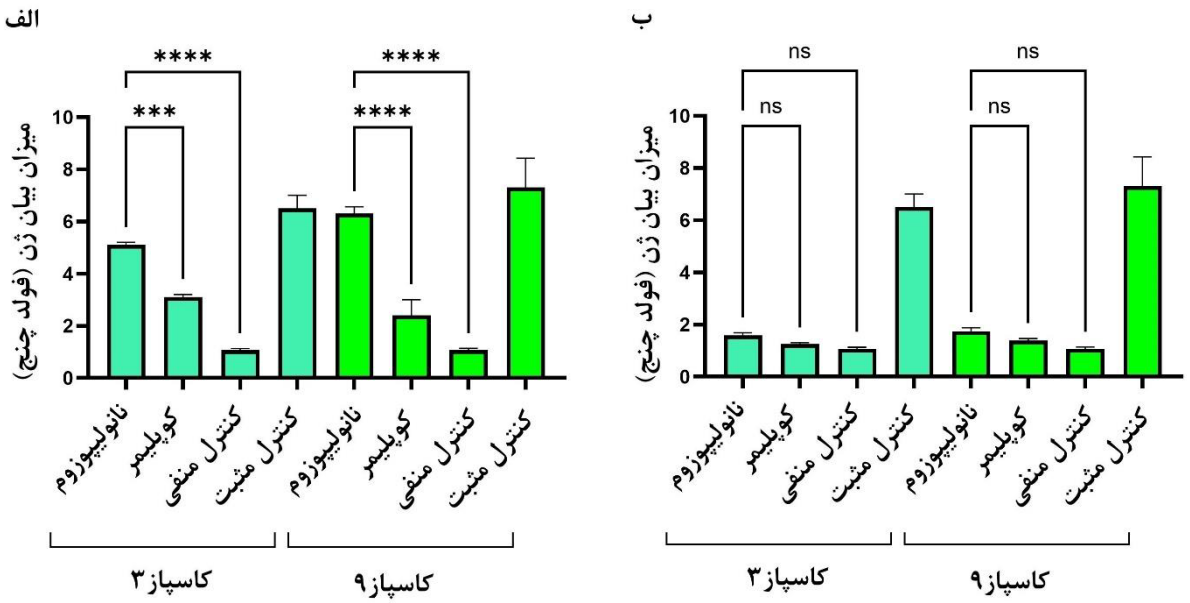
شکل ٤. نتایج تست آپوپتوز در سلول های سرطانیMCF–۷ (الف) و HFF (ب) بعد از مواجهه با کوپلیمر پلی آنیلین–پلی اکریلیک و نانولیپوزوم حاوی کوپلیمر پلی آنیلین–پلی اکریلیک بمدت ٤٨ ساعت. این تست نشان داد که کوپلیمر پلی آنیلین–پلی اکریلیک و نانولیپوزوم حاوی کوپلیمر پلی آنیلین–پلی اکریلیک توانستند بطور معنی داری باعث القای آپوپتوز و افزایش سلول های آپوپتوزی زودرس و دیررس در رده سلولی MCF–۷ شوند. از طرفی کوپلیمر پلی آنیلین–پلی اکریلیک و نانولیپوزوم حاوی کوپلیمر پلی آنیلین–پلی اکریلیک نتوانستند باعث القای آپوپتوز در سلول های HFF شوند. (P<۰/۰۵) و (P<۰/۰۱) و (P<۰/۰۰۱) و (P<۰/۰۰۰۱) در مقایسه با کنترل

تست بیان ژن کاسپاز ۳ و کاسپاز ۹

نتایج تست بیان ژن‌های کاسپاز ۳ و ۹ که از جمله ژن های درگیر در مسیر آپوپتوز است، در سلول های سرطانی MCF–۷ و HFF بعد از مواجهه با کوپلیمر پلی آنیلین–پلی اکریلیک و نانولیپوزوم حاوی کوپلیمر پلی آنیلین–پلی اکریلیک بمدت ٤٨ ساعته (شکل ٥) نشان داد که کوپلیمر پلی آنیلین–پلی اکریلیک و نانولیپوزوم حاوی کوپلیمر پلی آنیلین–پلی اکریلیک توانستند بطور معنی داری باعث افزایش بیان ژن های کاسپاز ۳ و ۹ در سلول های MCF–۷ شوند. اما در سلول های HFF کوپلیمر پلی آنیلین–پلی اکریلیک و نانولیپوزوم حاوی کوپلیمر پلی آنیلین–پلی اکریلیک نتوانستند آنچنان بیان این دو ژن را تحت تاثیر قرار دهند (P<۰/۰۵).

همچنین نتایج Real–time PCR نشان داد که در کنترل مثبت افزایش بیان ژن‌های کاسپاز ۳ و کاسپاز ۹ و در گروه کنترل منفی تغییر آنچانی در بیان این ژنها دیده نشد. در گروه کنترل مثبت و در سلول های MCF–۷ میزان افزایش بیان برای ژن کاسپاز ۳ برابر با ۰/٤٥ ± ٥/٤ و برای ژن کاسپاز ۹ برابر با ۰/۳۸ ± ٦/٥ بود. در سلول‌های نرمال HFF تیمار شده با FU–٥، افزایش بیان معنی‌داری برای این ژنها مشاهده نشد (P<۰/۰٥).

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-06]



شکل ۵. نتایج تست بیان ژن های کاسپاز ۳ و ۹ در سلول های سرطانیMCF-۷ (الف) و HFF (ب) بعد از مواجهه با کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک و نانولیپوزوم حاوی کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک بمدت ٤٨ ساعت. این تست نشان داد که کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک و نانولیپوزوم حاوی کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک توانستند بطور معنی داری باعث افزایش بیان ژن های کاسپاز ۳ و ۹ در سلول هایMCF-۷ شوند. اما در سلول های HFF کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک و نانولیپوزوم حاوی کوپلیمر پلی آنیلین-پلی اکریلیک نتوانستند آنچنان بیان این دو ژن را تحت تاثیر قرار دهند. (P<۰/۰۵) و (P<۰/۰۵) و (P<۰/۰۵) و (P<۰/۰۵) در مقایسه با کنترل

بحث

هدف این مطالعه، سنتز و مشخصه‌یابی نانولیپوزوم حاوی کوپلیمر پلی آنیلین - پلی اکریلیک و بررسی اثر مهارکنندگی آن بر رشد سلول‌های سرطانی پستان MCF-۷ در مقایسه با سلول‌های نرمال HFF بود. نتایج FTIR وجود پیک‌های مربوط به گروه‌های عاملی مواد سنتز شده را تأیید کرد که مطابق با مقالات مشابه (۳٤-۳۸) بود. تصاویر SEM ذرات کروی و جدا از هم با سایز حدود ۵۰ نانومتر و تصاویر TEM نانولیپوزوم‌ها، نانوکپسول‌های کروی با سایز ۲۵۰-۵۰ نانومتر را نشان داد. آنالیز DLS میانگین سایز ۱۵۰ نانومتر با PDI ۲/۰ را تأیید کرد. نتایج تست MTT نشان داد که هر دو ترکیب، مهار رشد وابسته به غلظت را در سلول‌های MCF-۷ اعمال کردند. نانولیپوزوم نسبت به کوپلیمر آزاد اثر کشندگی بیشتری داشت اما این اختلاف معنی‌دار نبود. سمیت هر دو ترکیب بر روی سلول‌های HFF به طور معنی‌داری کمتر از سلول‌های سرطانی بود. نتایج فلوسایتومتری نشان داد که هر دو ترکیب به طور معنی‌داری باعث القای آپوپتوز در سلول‌های MCF-۷ شدند اما تأثیر معنی‌داری بر روی سلول‌های HFF نداشتند. همچنین نتایج Real-time PCR افزایش معنی‌دار بیان ژن‌های کاسپاز ۳ و ۹ را در سلول‌های MCF-۷ تأیید کرد، در حالی که تغییر معنی‌داری در بیان این ژن‌ها در سلول‌های HFF مشاهده نشد.

اگرچه نتایج آزمون MTT در این مطالعه تفاوت معنی‌دار بین گروه تیمار شده با کوپلیمر آزاد پلی آنیلین - پلی اکریلیک و نانولیپوزوم حاوی آن را در مهار رشد سلول‌های سرطانی MCF-۷ نشان نداد، اما این موضوع به‌هیچ‌عنوان به معنای عدم مزیت نانولیپوزومه کردن این ترکیب نمی‌باشد. توجیه اصلی استفاده از سامانه‌های نانولیپوزومی، صرفاً افزایش درصد مرگ سلولی در شرایط in vitro نیست، بلکه دستیابی به اهداف مهم‌تر و کلینیکی‌تری است که در آزمون MTT به‌تنهایی قابل‌ارزیابی نمی‌باشند. نخست آنکه نانولیپوزومه کردن کوپلیمر، امکان هدفمندسازی سامانه دارویی را فراهم می‌آورد. به‌عبارت‌دیگر، با اتصال

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-06]

لیگاندهای اختصاصی مانند آنتی‌بادی‌های ضد گیرنده‌های سطحی سلول سرطانی یا فولات بر سطح نانولیپوزوم‌ها، می‌توان دارو را به طور انتخابی به بافت تومور رساند که این ویژگی در فرم آزاد کوپلیمر وجود ندارد. دوم آنکه نتایج ما نشان داد علی‌رغم نزدیکی اثربخشی دو ترکیب بر روی سلول‌های سرطانی، نانولیپوزوم حاوی کوپلیمر تمایل کمتری برای ایجاد سمیت بر روی سلول‌های نرمال HFF از خود نشان داد که این موضوع حاکی از کاهش عوارض جانبی بالقوه در شرایط in vivo است. سوم آنکه آزمون MTT به‌عنوان یک روش رنگ‌سنجی، صرفاً متابولیسم سلولی را اندازه‌گیری می‌کند و ممکن است توانایی تمایز دقیق میان مکانیسم‌های مختلف مرگ سلولی (آپوپتوز در مقابل نکروز) یا اثرات غیرسمی اما مهارکننده رشد (مانند ایست چرخه سلولی) را به طور کامل نداشته باشد؛ بنابراین، نتایج حاصل از تست فلوسایتومتری آپوپتوز و Real-time PCR در این مطالعه اهمیت بیشتری دارند؛ چرا که نشان دادند نانولیپوزوم حاوی کوپلیمر علی‌رغم نتایج مشابه MTT، توانست آپوپتوز و افزایش بیان ژن‌های کاسپاز ۳ و ۹ را با شدت بیشتری نسبت به کوپلیمر آزاد القا کند. در مجموع، مزایای نانولیپوزومه کردن کوپلیمر پلی آنیلین - پلی اکریلیک را باید در بهبود پروفایل ایمنی، امکان هدفمندسازی و افزایش کارایی در شرایط in vivo جستجو کرد. در این مطالعه دو روش مکمل و استاندارد برای ارزیابی و مقایسه میزان آپوپتوز القا شده توسط کوپلیمر آزاد و نانولیپوزوم حاوی آن در نظر گرفته شد. نخست، آزمون فلوسایتومتری با استفاده از کیت Annexin V-FITC/PI به‌عنوان معیار اصلی کمی‌سازی آپوپتوز مورداستفاده قرار گرفت. این روش قادر است به طور دقیق جمعیت سلول‌های زنده، آپوپتوتیک اولیه (Annexin V+/PI-)، آپوپتوتیک ثانویه (Annexin V+/PI+) و نکروتیک (Annexin V-/PI+) را از یکدیگر تفکیک و درصد هر جمعیت را گزارش نماید. بدین ترتیب، مقایسه بین گروه‌های تیمار کنترل منفی، کوپلیمر آزاد، نانولیپوزوم حاوی کوپلیمر و کنترل مثبت از نظر درصد سلول‌های آپوپتوتیک صورت پذیرفت. دوم، برای تأیید مسیر مولکولی آپوپتوز، بیان ژن‌های کاسپاز ۳ و کاسپاز ۹ با روش Real-time PCR اندازه‌گیری شد. کاسپاز ۹ به‌عنوان شاخص اصلی مسیر میتوکندریایی (داخلی) آپوپتوز و کاسپاز ۳ به‌عنوان کاسپاز اجرایی نهایی مشترک در هر دو مسیر داخلی و خارجی انتخاب گردید. مقایسه تغییرات بیان این ژن‌ها (Fold change) در گروه‌های تیمار نسبت به گروه کنترل منفی، معیار مولکولی دیگری برای سنجش شدت القای آپوپتوز فراهم آورد؛ بنابراین، معیار مقایسه در این مطالعه ترکیبی از داده‌های فلوسایتومتری (درصد آپوپتوز) و داده‌های بیان ژن (افزایش بیان کاسپاز ۳ و ۹) بوده است که به طور هماهنگ، توانایی القای آپوپتوز توسط ترکیبات موردنظر را تأیید می‌کنند.

در این مطالعه سه غلظت مختلف از کوپلیمر آزاد و نانولیپوزوم حاوی آن شامل ۰/۰۱، ۰/۱ و ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای ارزیابی سمیت سلولی با آزمون MTT مورد بررسی قرار گرفت. یافته‌های ما نشان داد که در غلظت ۰/۰۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر، هیچ یک از ترکیبات تأثیر معنی‌داری بر روی زنده‌مانی سلول‌های نرمال HFF نداشتند و در عین حال، همین غلظت باعث کاهش جزئی اما غیرمعنی‌دار در سلول‌های سرطانی MCF-۷ گردید. در غلظت ۰/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر، اثرات مهارکنندگی بر روی سلول‌های سرطانی مشهودتر شد در حالی که سمیت برای سلول‌های نرمال همچنان در سطح پایین باقی ماند. بر همین اساس و با توجه به اصل بهینه‌سازی نسبت اثربخشی به ایمنی (Therapeutic Index)، غلظت ۱/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به عنوان غلظت انتخابی برای آزمون‌های فلوسایتومتری و Real-time PCR در نظر گرفته شد. بنابراین اگرچه هدف اصلی این مطالعه مرحله‌ی پیش‌بالین (In vitro) بوده و یافتن غلظت کاملاً غیرسمی برای سلول‌های نرمال مستلزم انجام مطالعات دوز-یابی گسترده‌تری با غلظت‌های پایین‌تر می‌باشد، اما داده‌های موجود نشان می‌دهد که غلظت ۰/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر از نانولیپوزوم حاوی کوپلیمر، ضمن القای مؤثر آپوپتوز در سلول‌های سرطانی، سمیت قابل توجهی بر سلول‌های نرمال تحمیل نمی‌کند. این یافته، نویدبخش potential کاربرد بالینی این نانوساختار است، هرچند که تأیید نهایی آن نیازمند مطالعات تکمیلی In vivo با طیف وسیع‌تری از غلظت‌ها می‌باشد.

برخی مطالعات مرتبط در اینجا جهت مقایسه آورده می شود. مجموعه‌ای از کوپلیمرهای تصادفی متاکریلات برای تقلید فعالیت‌های زیستی پپتیدهای مونوکولیتیک توسط Taichman و همکاران طراحی شده‌اند که حاوی طول‌های مختلف زنجیره‌های جانبی کاتیونی و نسبت‌های مختلف واحدهای تکراری آبگریز به آبدوست هستند. آن‌ها دریافتند که فعالیت ضد توموری کوپلیمرها، هنگامی که نسبت مونومر EMA۱ افزایش یافت یا زنجیره‌های جانبی کاتیونی گسترش یافتند، روند افزایشی قابل توجهی را نشان داد. با این حال، افزایش نسبت EMA (که به معنی آبگریزی بالاتر

1 Ethylene Methacrylate

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-06]

است)نیز منجر به همولیز شدیدتر می‌شود که ممکن است به دلیل فعل و انفعال غیر اختصاصی آبگریز با غشا گلبول قرمز باشد (۳۵). کوپلیمرها به طور قابل‌توجهی کشتن انتخابی رده‌های سلول سرطان انسانی (BCap37, HepG2, A549, and A431) و حتی رده‌های سلول سرطانی MDR (Bats-۷۲ and Bads-۲۰۰) را نشان دادند و فعالیت ضد سرطان آن با افزایش درجه پلیمریزاسیون بلوک پلی‌کربنات عامل دارشده افزایش می‌یابد. علاوه بر این، تزریق درون توموری کوپلیمرهای L3/D3 بهینه نه تنها توانست رشد تومور را مهار کند، بلکه توانایی جلوگیری از متاستاز تومور را نیز نشان داد (۱۳). بهینه سازی پلیمرها همان زمان فعالیت همولیتیک کم و سمیت سلولی کم را برای سلول‌های پستانداران داشتند(۱٤). مقدار IC۵۰ از این پلیمرهای لیتیکی غشایی در برابر سلول‌های HeLa برای رسیدن به ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بیش از حد بالا بود، که باعث شد آن‌ها به عنوان پلیمرهای آنکولیتیک برای تخریب مستقیم تومورها به میزان قابل‌استفاده‌نباشند(۱۵).

با توجه به معایب موجود در پپتیدهای آنکولیتیک و غیرآنکولیتیک، پلیمرهای آنکولیتیک به عنوان یک جایگزین نوین و مؤثر برای درمان سرطان در حال ظهور هستند. پپتیدهای آنکولیتیک به دلیل پیچیدگی‌های تولید و هزینه‌های بالا، و پپتیدهای غیرآنکولیتیک به خاطر محدودیت‌های هدف‌گیری و عوارض جانبی، نمی‌توانند به طور کامل نیازهای درمانی بیماران سرطانی را برآورده کنند. در این راستا، پلیمرهای آنکولیتیک به عنوان گزینه‌ای امیدوارکننده معرفی می‌شوند(۱۸-۱٦). استفاده از فناوری نانو در ترکیب با پلیمرهای آنکولیتیک می‌تواند به طرز چشمگیری بهبود هدفمندی و کارایی درمان سرطان را فراهم کند. فناوری نانو این امکان را می‌دهد که مواد را در مقیاس نانومتری طراحی و تولید کنیم که می‌تواند ویژگی‌های منحصر به فردی را ارائه دهد. به عنوان مثال، نانوذرات می‌توانند به عنوان حامل‌های دارویی عمل کرده و به داروهای آنکولیتیک اجازه دهند تا به طور مؤثرتری به تومورهای سرطانی برسند. این نانوذرات با قابلیت تنظیم اندازه و شکل، به راحتی در سیستم گردش خون حرکت کرده و به محل‌های هدف خود می‌رسند(۲۰ ,۱۹). علاوه بر این، فناوری نانو امکان ترکیب داروهای مختلف در یک نانوذره را فراهم می‌کند که می‌تواند اثرات سینرژیک را افزایش داده و درمان‌های ترکیبی مؤثرتری را ایجاد کند. نانوذرات همچنین می‌توانند به گونه‌ای طراحی شوند که به تغییرات محیطی در تومور پاسخ دهند و داروها را به طور کنترل‌شده آزاد کنند. این ویژگی به کاهش عوارض جانبی کمک کرده و اثربخشی درمان را افزایش می‌دهد. نانوذرات می‌توانند با استفاده از نشانگرهای خاصی که به سلول‌های سرطانی متصل می‌شوند، به طور مستقیم به تومورها هدف‌گیری کنند. این ویژگی به کاهش آسیب به بافت‌های سالم و کاهش عوارض جانبی کمک می‌کند(۲۰ ,۱۹). نانومواد پلیمری می‌توانند به عنوان ابزار کلیدی در توسعه درمان‌های جدید و مؤثر برای سرطان و عفونت‌ها شناخته شوند. این پیشرفت‌ها نه تنها به بهبود روش‌های درمانی کمک می‌کنند، بلکه می‌توانند به ایجاد استراتژی‌های جدید برای مقابله با چالش‌های موجود در درمان بیماری‌های مزمن منجر شوند(۲۲ ,۲۱). چالش‌هایی نیز در این پروژه وجود دارد که باید به آن‌ها توجه شود. یکی از این چالش‌ها، پیچیدگی فرآیند سنتز کوپلیمر و نانولیپوزوم است که ممکن است زمان‌بر و پیچیده باشد. این پیچیدگی می‌تواند بر روی سرعت تولید و هزینه‌های نهایی تأثیر بگذارد. همچنین، هزینه‌های تولید و آماده‌سازی نانولیپوزوم‌ها ممکن است بالا باشد، که این موضوع می‌تواند مانع از گسترش تجاری و بالینی این روش‌ها شود. بنابراین، توجه به این چالش‌ها و یافتن راه‌حل‌های مناسب برای آن‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است(۲٤ ,۲۳).

محدودیت‌ها و پیشنهادها

علی‌رغم نتایج امیدبخش این مطالعه، پژوهش حاضر با محدودیت‌هایی همراه بود که می‌توانند مسیر را برای تحقیقات آتی هموار سازند. مهم‌ترین محدودیت این تحقیق، انجام‌شدن آن در سطح برون‌تنی (In vitro) است؛ ازاین‌رو نتایج به‌دست‌آمده بدون بررسی در مدل‌های حیوانی، قابلیت تعمیم به شرایط درون‌تنی (In vivo) را ندارند و اثرات فارماکوکینتیک، سمیت سیستمیک و توزیع زیستی نانولیپوزوم‌ها در موجود زنده نیازمند بررسی بیشتر است. همچنین اگرچه افزایش بیان ژن‌های کاسپاز ۳ و ۹ تأییدکننده فعال‌سازی مسیر آپوپتوز بود، اما مطالعه حاضر به بررسی سایر مسیرهای احتمالی دخیل در مرگ سلولی مانند مسیر اتوفاژی، نکروز یا استرس اکسیداتیو نپرداخته است. ازسوی‌دیگر، پایداری بلندمدت نانولیپوزوم‌های سنتز شده و میزان رهایش کوپلیمر در شرایط فیزیولوژیک طی زمان مورد ارزیابی قرار نگرفت. علاوه بر این، اگرچه کوپلیمر پلی آنیلین - پلی اکریلیک خاصیت ضدسرطانی قابل‌قبولی نشان داد، اما مکانیسم دقیق برهم‌کنش این پلیمر با غشا یا اجزای درون‌سلولی به طور کامل روشن نشده است. براین‌اساس، پیشنهاد می‌شود در مطالعات آتی ابتدا پایداری فیزیکوشیمیایی و الگوی رهایش کنترل‌شده این نانولیپوزوم‌ها در

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-06]

شرایط شبیه‌سازی‌شده فیزیولوژیک بررسی شود. سپس کارایی و ایمنی این نانوفرمولاسیون در مدل‌های حیوانی مبتلا به تومور پستان ارزیابی شده و شاخص‌هایی نظیر اندازه تومور، بقای کلی و سمیت بافتی مورد سنجش قرار گیرد. همچنین بررسی هم‌زمان مسیرهای مرگ سلولی شامل آپوپتوز، اتوفاژی و نکروز به همراه سنجش مارکرهای استرس اکسیداتیو می‌تواند تصویر کامل‌تری از مکانیسم اثر ارائه دهد. مطالعات تکمیلی باهدف هدفمندسازی نانولیپوزوم‌ها با استفاده از آنتی‌بادی‌ها یا لیگاندهای اختصاصی علیه گیرنده‌های سطحی سلول‌های سرطانی پستان می‌تواند گامی مؤثر در افزایش اختصاصی‌بودن درمانی و کاهش عوارض جانبی باشد. در نهایت، بررسی اثر هم‌افزایی این نانوفرمولاسیون با داروهای شیمی‌درمانی رایج نظیر دوکسوروبیسین و تاکسول می‌تواند چشم‌انداز جدیدی را در درمان ترکیبی سرطان پستان ترسیم نماید.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که کوپلیمر پلی آنیلین – پلی اکریلیک و نانولیپوزوم حاوی این کوپلیمر، توانایی القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی پستان رده MCF–۷ را دارند. یافته‌های حاصل از آزمون MTT بیانگر آن بود که هر دو ترکیب، اثر سایتوتوکسیک وابسته به غلظت بر سلول‌های سرطانی اعمال می‌کنند، درحالی‌که سلول‌های نرمال HFF در مواجهه با همین ترکیبات، حساسیت کمتری نشان دادند که حاکی از انتخاب‌پذیری نسبی این ترکیبات علیه سلول‌های سرطانی است. بارزترین یافته پژوهش، افزایش معنی‌دار مرگ‌ومیر سلول‌های سرطانی در مواجهه با نانولیپوزوم‌های حاوی کوپلیمر نسبت به فرم آزاد کوپلیمر بود که نشان‌دهنده نقش مؤثر نانوحامل‌ها در بهبود تحویل ترکیب مؤثره به سلول‌های هدف است. بررسی دقیق مکانیسم مرگ سلولی با استفاده از فلوسایتومتری، القای آپوپتوز را به‌عنوان مسیر اصلی مرگ سلولی تأیید کرد؛ به‌گونه‌ای که هر دو ترکیب توانستند جمعیت سلول‌های آپوپتوزی زودرس و دیررس را به طور معنی‌داری افزایش دهند. این یافته با نتایج Real–time PCR که افزایش بیان ژن‌های کاسپاز ۹ و ۳ را نشان داد، همخوانی کامل داشت. فعال‌سازی این دو ژن کلیدی، بیانگر آن است که کوپلیمر پلی آنیلین – پلی اکریلیک از طریق مسیر میتوکندریایی (درون‌ذاتی) آپوپتوز، آبشاشه مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلولی را به راه می‌اندازد. این پژوهش برای نخستین‌بار نشان می‌دهد که نانولیپوزوم‌های حاوی کوپلیمر پلی آنیلین – پلی اکریلیک می‌توانند به‌عنوان نسل جدیدی از ترکیبات با منشأ پلیمری باقابلیت القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی پستان مطرح شوند. بارگذاری این کوپلیمر در نانولیپوزوم‌ها ضمن افزایش کارایی ضدسرطانی، گامی مؤثر در جهت بهبود شاخص درمانی این ترکیب محسوب می‌شود. باتوجه‌به ماهیت پلیمری این ترکیبات و قابلیت اصلاح ساختاری آنها، طراحی نسل بهینه‌تری از این نانوفرمولاسیون‌ها با هدف افزایش اختصاصی‌بودن نسبت به سلول‌های سرطانی و کاهش عوارض جانبی احتمالی، چشم‌انداز امیدبخشی را برای مطالعات آینده ترسیم می‌کند.

اعلان‌ها

تشکر و قدردانی: به طور ویژه از گروه نانوتکنولوژی و آزمایشگاه ژنومیکس پزشکی واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران قدردانی به عمل می‌آید.

حمایت مالی: آقای ریژوان فلاحی و علی جبالی هزینه‌های این پروژه را متقبل شده‌اند.

تعارض منافع: هیچ تعارض منافعی وجود ندارد

ملاحظات اخلاقی: در این مقاله از نمونه حیوانی و انسانی استفاده نشده است و همه کدهای اخلاقی منطبق با کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی آزاد تهران است. این مقاله حاصل از پایان‌نامه آقای ریژوان فلاحی دانشجوی دکتری داروسازی است (کد اخلاق: IR.IAU.PS.REC.۱۴۰۳,۵۶۴).

استفاده از هوش مصنوعی: نویسندگان اعلام می‌دارند که در فرایند نگارش این مقاله از هیچ‌گونه فناوری‌های هوش مصنوعی برای تولید محتوا، ایده، تجزیه‌وتحلیل و سایر موارد استفاده نشده است.

مشارکت نویسندگان: طراحی ایده و روش کار: ابراهیم بلالی و علی جبالی، جمع‌آوری داده‌ها: ریژوان فلاحی و علی جبالی، تجزیه‌وتحلیل داده‌ها: علی جبالی، نظارت: ابراهیم بلالی و علی جبالی، مدیریت پروژه: ابراهیم بلالی و علی جبالی، نگارش – پیش‌نویس: ابراهیم بلالی و علی جبالی، نگارش، بررسی و ویرایش: ابراهیم بلالی و علی جبالی و سید محمد اسماعیل محبوبی ربانی و مریم ناصرالاسلامی

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-06]

References

1. Hancock RE and Sahl H-G Antimicrobial and host-defense peptides as new anti-infective therapeutic strategies. Nature biotechnology 2006; 24(12): 1551-1557. [DOI:10.1038/nbt1267]
2. Vitale I, Yamazaki T, Wennerberg E, Sveinbjørnsson B, Rekdal Ø, Demaria S, et al. Targeting cancer heterogeneity with immune responses driven by oncolytic peptides. Trends in cancer 2021; 7(6): 557-572. [DOI:10.1016/j.trecan.2020.12.012]
3. Chiangjong W, Chutipongtanate S, and Hongeng S Anticancer peptide: Physicochemical property, functional aspect and trend in clinical application. International journal of oncology 2020; 57(3): 678-696. [DOI:10.3892/ijo.2020.5099]
4. Papo N and Shai Y Host defense peptides as new weapons in cancer treatment. Cellular and Molecular Life Sciences CMLS 2005; 62784-790. [DOI:10.1007/s00018-005-4560-2]
5. Melo MN, Ferre R, and Castanho MA Antimicrobial peptides: linking partition, activity and high membrane-bound concentrations. Nature Reviews Microbiology 2009; 7(3): 245-250. [DOI:10.1038/nrmicro2095]
6. Zasloff M Antimicrobial peptides of multicellular organisms. nature 2002; 415(6870): 389-395. [DOI:10.1038/415389a]
7. Schweizer F Cationic amphiphilic peptides with cancer-selective toxicity. European journal of pharmacology 2009; 625(1-3): 190-194. [DOI:10.1016/j.ejphar.2009.08.043]
8. Baxter AA, Lay FT, Poon IK, Kvansakul M, and Hulett MD Tumor cell membrane-targeting cationic antimicrobial peptides: novel insights into mechanisms of action and therapeutic prospects. Cellular and Molecular Life Sciences 2017; 74(20): 3809-3825. [DOI:10.1007/s00018-017-2604-z]
9. Thadi A, Morano WF, Khalili M, Babcock BD, Shaikh MF, Foster DS, et al. Molecular targeting of H/MDM-2 Oncoprotein in Human Colon Cancer Cells and stem-like colonic epithelial-derived progenitor cells. Anticancer research 2021; 41(1): 27-42. [DOI:10.21873/anticanres.14749]
10. Zhang P, Zhang Y, Ding X, Shen W, Li M, Wagner E, et al. A multistage cooperative nanoplatform enables intracellular co-delivery of proteins and chemotherapeutics for cancer therapy. Advanced Materials 2020; 32(46): 2000013. [DOI:10.1002/adma.202000013]
11. Grandič M, Zovko A, Frangež R, Turk T, and Sepčić K Binding and permeabilization of lipid bilayers by natural and synthetic 3-alkylpyridinium polymers. Bioorganic & medicinal chemistry 2012; 20(5): 1659-1664. [DOI:10.1016/j.bmc.2012.01.027]
12. Zhong G, Yang C, Liu S, Zheng Y, Lou W, Teo JY, et al. Polymers with distinctive anticancer mechanism that kills MDR cancer cells and inhibits tumor metastasis. Biomaterials 2019; 19976-87. [DOI:10.1016/j.biomaterials.2019.01.036]
13. Bagheri N, Lakouraj MM, Nabavi SR, Tashakkorian H, and Mohseni M Synthesis of bioactive polyaniline-b-polyacrylic acid copolymer nanofibrils as an effective antibacterial and anticancer agent in cancer therapy, especially for HT29 treatment. RSC advances 2020; 10(42): 25290-25304. [DOI:10.1039/D0RA03779F]
14. Shao N, Yuan L, Ma P, Zhou M, Xiao X, Cong Z, et al. Heterochiral β-peptide polymers combating multidrug-resistant cancers effectively without inducing drug resistance. Journal of the American Chemical Society 2022; 144(16): 7283-7294. [DOI:10.1021/jacs.2c00452]
15. Chen R, Khormaee S, Eccleston ME, and Slater NK The role of hydrophobic amino acid grafts in the enhancement of membrane-disruptive activity of pH-responsive pseudo-peptides. Biomaterials 2009; 30(10): 1954-1961. [DOI:10.1016/j.biomaterials.2008.12.036]
16. Omole AO, Zhao Z, Chang-Liao S, Affonso de

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-06]

Oliveira JF, Boone CE, Sutorus L, et al. Virus nanotechnology for intratumoural immunotherapy. Nature reviews bioengineering 2024; 2(11): 916-929. [DOI:10.1038/s44222-024-00231-z]

17. Meerani S and Yao Y Oncolytic viruses in cancer therapy. European Journal of Scientific Research 2010; 40(1): 156-171.
18. Tähtinen S, Feola S, Capasso C, Laustio N, Groeneveldt C, Ylösmäki EO, et al. Exploiting preexisting immunity to enhance oncolytic cancer immunotherapy. Cancer Research 2020; 80(12): 2575-2585. [DOI:10.1158/0008-5472.CAN-19-2062]
19. Pierce KM, Miklavcic WR, Cook KP, Hennen MS, Bayles KW, Hollingsworth MA, et al. The evolution and future of targeted cancer therapy: from nanoparticles, oncolytic viruses, and oncolytic bacteria to the treatment of solid tumors. Nanomaterials 2021; 11(11): 3018. [DOI:10.3390/nano11113018]
20. Niculescu A-G and Grumezescu AM Novel tumor-targeting nanoparticles for cancer treatment-A review. International Journal of Molecular Sciences 2022; 23(9): 5253. [DOI:10.3390/ijms23095253]
21. Aguilera-Correa JJ, Esteban J, and Vallet-Regí M Inorganic and polymeric nanoparticles for human viral and bacterial infections prevention and treatment. Nanomaterials 2021; 11(1): 137. [DOI:10.3390/nano11010137]
22. Spirescu VA, Chircov C, Grumezescu AM, and Andronescu E Polymeric nanoparticles for antimicrobial therapies: An up-to-date overview. Polymers 2021; 13(5): 724. [DOI:10.3390/polym13050724]
23. Jana D and Zhao Y. Strategies for enhancing cancer chemodynamic therapy performance. in Exploration. 2022. Wiley Online Library. [DOI:10.1002/EXP.20210238]
24. Hu H, Feng W, Qian X, Yu L, Chen Y, and Li Y Emerging nanomedicine-enabled/enhanced nanodynamic therapies beyond traditional photodynamics. Advanced Materials 2021; 33(12): 2005062. [DOI:10.1002/adma.202005062]

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-06]