

# نانولوله کربنی اصلاح شده با پپتید جهت رسانش داروی ضدسرطان دوکسوروبیسین:

## مطالعه شبیه‌سازی دینامیک مولکولی

توحیدی‌فر، لیلا<sup>۱</sup>؛ هاشمی‌فر، کبری<sup>۱</sup>؛ کوثری، محمدحسین<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> دانشکده شیمی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی علوم پایه زنجان

<sup>۲</sup> پژوهشکده تغییر اقلیم و گرمایش زمین، دانشگاه تحصیلات تکمیلی علوم پایه زنجان

### چکیده

ترکیب نانولوله کربنی-پپتید به عنوان نانوحامل موثر جهت انتقال موفقیت آمیز عوامل درمانی به سلول‌های هدف شناخته شده است. در تحقیق حاضر، فرآیند بارگذاری داروی دوکسوروبیسین که یکی از متداول‌ترین داروهای ضد سرطان مورد استفاده است، بر بستر نانولوله کربنی حاوی گروه‌های کربوکسیل و نیز اصلاح شده با نوعی پپتید زیست سازگار با نام PW3 به وسیله‌ی شبیه‌سازی دینامیک مولکولی بررسی شد. بر اساس مشاهدات به دست آمده، مولکول‌های دوکسوروبیسین به طور عمده تمایل به قرارگیری در امتداد دیواره نانولوله کربنی از طریق برهم‌کنش‌های واندروالس داشتند. در حالی‌که، پوشش سطح نانولوله کربنی با زنجیرهای پپتید PW3 باعث افزایش سهم الکتروستاتیک در برهم‌کنش‌های دوکسوروبیسین-نانوحامل شد. در این سامانه، به واسطه گروه‌های عاملی متعدد موجود در ساختار پپتید PW3 که منجر به تشکیل پیوندهای هیدروژنی با مولکول‌های دوکسوروبیسین شده است، جذب پایدارتری از عوامل دارویی بر بستر نانوحامل مشاهده شد. انتظار می‌رود یافته‌های شبیه‌سازی فوق بتواند راهکارهایی در زمینه اصلاح سطح نانولوله کربنی توسط پپتید برای طراحی و توسعه سامانه‌هایی جهت رسانش داروی دوکسوروبیسین فراهم نماید.

## Peptide Modified Carbon Nanotube for Doxorubicin Anticancer Drug delivery: A Molecular Dynamics Simulation Study

Tohidifar, Leila<sup>1</sup>; Hashemifar, Kobra<sup>1</sup>; Kowsari, Mohammad Hossein<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Department of Chemistry, Institute for Advanced Studies in Basic Sciences (IASBS), Zanjan

<sup>2</sup> Center for Research in Climate Change and Global Warming (CRCC), Institute for Advanced Studies in Basic Sciences (IASBS), Zanjan

### Abstract

Carbon nanotube (CNT)-peptide complex has been proved as an effective nanocarrier to successfully transferring therapeutic agents into the target cells. In the current research, the loading process of a widely-used anticancer drug, doxorubicin (DOX), on the carboxylated SWCNT as well as that modified with a biologically compatible peptide named PW3 was investigated by means of molecular dynamics (MD) simulations. Based on the obtained observations, the DOX molecules preferred to array along the nanotube sidewall mainly through van der Waals interactions. While, the coverage of SWCNT surface with the PW3 peptide chains caused to the increment of electrostatic contribution in the DOX-nanocarrier interactions. In this system, due to the high number of functional groups of PW3 peptide, and the resulting H-bonds with DOX molecules, the more stable adsorption was observed for drug agents. These simulation findings can be expected to provide peptide SWCNT modification strategies for future designing and development DOX delivery systems.

PACS No. 68.03.Hj

## مقدمه

خونی تومورهای سرطانی، می‌توانند به عنوان نانو ساختارهای زیست سازگار، زمینه رسانش عوامل درمانی به موضع مورد نظر را فراهم آورند، بدون این‌که تاثیر محسوسی بر اندام‌ها و بافت‌های سالم بدن داشته باشند [۳]. در این میان پپتیدی موسوم به PW3 با توالی  $(\text{NH}_2\text{-Trp-Val-Trp-Val-Trp-Val-Lys-Lys-COOH})$  به دلیل برهم‌کنش موثر با نانولوله‌های کربنی می‌تواند به عنوان ماده‌ای مطلوب جهت اصلاح و فعال‌سازی سطح این ترکیبات مورد استفاده قرار گیرد [۴]. در تحقیق پیش‌رو، روند بارگذاری داروی ضدسرطان دوکسوروبیسین بر بستر نانولوله‌های کربنی حاوی گروه‌های کربوکسیل و نیز اصلاح شده با پپتید PW3 با روش شبیه‌سازی دینامیک مولکولی مورد بررسی قرار گرفته است تا به نقش حضور پپتید در بازدهی این فرآیند و طراحی سامانه‌ای مطلوب جهت رسانش موثرتر داروی مورد نظر، پی برده شود.

## روش محاسباتی

نانولوله کربنی از نوع زیگزاگ حاوی گروه‌های کربوکسیل واقع در لبه‌های آن، با قطر و طول به ترتیب  $1\frac{7}{8}$  و ۴۰ آنگستروم انتخاب و با دستور BuildCstruct (دستور اصلاح شده بر پایه پایتون جهت تولید ساختارهای متنوع نانولوله‌های کربنی) [۵] ساخته شد. به منظور به دست آوردن ساختار داروی دوکسوروبیسین، ساختار بلورنگاری مربوط به این دارو همراه با نوروتوکسین بوتولونیوم با کد III E از پایگاه مربوط به بانک داده پروتئین دریافت شد. جهت تهیه ساختار اولیه پپتید PW3 از نرم‌افزار HyperChem 7 [۶] استفاده شد. ساختار نانولوله کربنی اصلاح سطحی شده با این نوع پپتید، از قرارگیری پنج زنجیر PW3 در فاصله مناسبی از نانولوله کربنی به دست آمد. در هر دو سامانه مورد مطالعه، ده مولکول دوکسوروبیسین در فاصله تقریبی ۹ آنگستروم در اطراف نانوحامل طراحی شده قرار گرفتند. میدان نیروی GAFF جهت استخراج پارامترهای پتانسیل برهم‌کنش نانولوله کربنی و داروی دوکسوروبیسین و میدان نیروی AMBER99sb برای پپتید PW3 استفاده شدند. کلیه مراحل شبیه‌سازی دینامیک مولکولی با استفاده از نرم‌افزار گرومکس نسخه (5.0.4) [۷] پیش رفتند. پس از کمینه کردن سامانه‌ها، فرآیند به تعادل‌رسانی نیز طی دو مرحله در مجموعه‌های آماری *NVT* و *NPT*

طراحی سامانه‌های دارورسانی هدفمند و کنترل شده بر پایه نانوذرات، از مقوله‌های بسیار مهم در زمینه داروهای ضد سرطان است. در این رویکرد، هدف اصلی رساندن میزان مشخصی از دارو به بافت مورد نظر بوده که در این صورت، غلظت دارو تنها به یک محل خاص محدود می‌شود و بدین ترتیب اثرات جانبی نامطلوب آن کاهش می‌یابد. نکته قابل تأمل دیگر این است که چنین سامانه‌ای قابلیت استفاده از داروهایی را ممکن می‌سازد که قبلاً به واسطه حلالیت کم و سمیت زیاد (حتی در غلظت‌های پایین) یا عدم پایداری در شرایط فیزیولوژیکی، دارای محدودیت بوده‌اند [۱]. استفاده از داروهای ضد سرطانی مانند دوکسوروبیسین با وجود اثرات درمانی، سبب بروز عوارض جانبی متعددی از جمله سمیت و نارسایی‌هایی در کبد و قلب بیمار می‌گردد. در کنار عوارض جانبی یاد شده، از جمله محدودیت‌های دیگر این دارو قابلیت انحلال-پذیری کم در آب است که این امر زیست سازگاری آن را دچار مشکل می‌کند [۲]. نانولوله‌های کربنی به دلیل دارا بودن خواص فیزیکی و شیمیایی مطلوب، به عنوان یکی از موثرترین نانو ساختارهای مورد استفاده به عنوان حامل‌های دارویی معرفی شده‌اند. بر این اساس، پیش‌بینی می‌شود که داروهای ضد سرطانی نظیر دوکسوروبیسین زمانی که با این نانوحامل‌ها همراه شوند، اثر و فعالیت‌شان در سلول‌های سرطانی بیشتر از زمانی باشد که به تنهایی مورد استفاده قرار می‌گیرند. ذکر این نکته ضروری است که سمیت نانولوله‌های کربنی خالص که به واسطه آزادسازی رادیکال‌های آزادی است که سبب فرآیند اکسایش و تغییراتی در DNA، پروتئین‌ها و لیپیدها در ساختار سلول‌ها شده و در نهایت باعث التهاب در بافت‌های بدن می‌شوند، چالش مهم پژوهشگران در طراحی سامانه‌های دارویی بر پایه آن‌ها بوده است. این ترکیبات به دلیل انحلال‌پذیری پایین و قابلیت تجمع در بافت‌های بدن، سبب بروز آسیب‌هایی به عروق قلب و بافت‌های ریه، کبد و طحال می‌شوند. خوشبختانه مطالعات اخیر در این زمینه نشان داده‌اند که اصلاح سطح این ترکیبات توسط طیف وسیعی از پروتئین‌ها و سورفکتانت‌ها، تاثیر قابل ملاحظه‌ای در افزایش میزان انحلال‌پذیری، پراکندگی و دفع آن‌ها داشته است و با توجه به توانایی بالای آن‌ها در از بین بردن عروق

و با مدت زمان به ترتیب ۴۰۰ و ۲۰۰۰ پیکوثانیه صورت گرفت. ساختارهای به دست آمده به عنوان ورودی اجرای اصلی شبیه‌سازی با مدت زمان ۱۲۰ نانوثانیه، در مجموعه آماری *NPT* و با گام‌های زمانی ۲ فمتوثانیه مورد استفاده قرار گرفتند. دما و فشار سامانه‌ها در ۳۱۰ کلوین و ۱ اتمسفر کنترل شدند. شعاع قطع ۱۲ آنگستروم نیز برای محاسبه برهم‌کنش‌های واندروالسی اختصاص یافت.

## نتایج و بحث

حفاظت از عوامل دارویی و ممانعت از آزادسازی بی‌موقع آن‌ها در بدن حین مسیر رسانش امری ضروری است و توجه به کیفیت بارگذاری دارو بر بستر نانوحامل و قدرت برهم‌کنش میان اجزای سامانه دارورسانی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در این راستا به منظور بررسی کیفیت بارگذاری مولکول‌های دوکسوروبیسین بر بستر نانوحامل‌های مورد مطالعه، قدرت برهم‌کنش دارو-نانوحامل از طریق محاسبه انرژی برهم‌کنش میان اجزای تشکیل‌دهنده سامانه-های دارورسانی موردنظر بررسی شد که نتایج آن در قالب جدول ۱ ارائه شده است. بر این اساس، برهم‌کنش مولکول‌های دارو با نانولوله کربنی از طریق نیروهای واندروالسی و الکتروستاتیک پیش‌رفته است که البته انرژی‌های واندروالسی بیشترین مقادیر را در این بین به خود اختصاص داده و به عنوان برهم‌کنش‌های غالب در برهم‌کنش دارو-نانوحامل عمل کرده‌اند. بر اساس مطالعات صورت گرفته توسط محققان [۸] و نیز مطالعات ساختاری انجام شده در این کار تحقیقاتی، حلقه‌های آروماتیک موجود در ساختار دوکسوروبیسین نقش مهم و اساسی را در فرایند جذب مولکول‌های دارو بر سطح نانولوله کربنی به‌واسطه‌ی برهم‌کنش‌های  $\pi-\pi$  ایفا می‌کنند. گفتنی

جدول ۱: مقادیر انرژی برهم‌کنش (برحسب کیلوژول بر مول) میان اجزای تشکیل‌دهنده سامانه‌های مورد مطالعه.

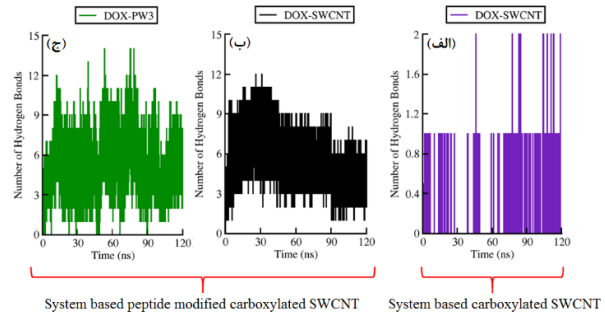
سامانه کربوکسیل‌دار شده و اصلاح سطحی شده با پپتید	سامانه برپایه نانولوله کربنی کربوکسیل‌دار شده		سامانه	
	واندروالسی	الکتروستاتیک	واندروالسی	برهم‌کنش
۵۰۲/۰۹	-۸۶۷/۷۶	-۳۳/۵۱	-۱۲۹۲/۶۸	دارو-نانولوله
۲۴۲/۸۲	-۳۱۰/۲۱	-	-	دارو-پپتید
-۱۹۲۲/۸۸	-	-۱۳۲۶/۱۹	-	برهم‌کنش کل دارو-نانوحامل

است بر اساس مشاهدات به دست آمده، مقدار انرژی واندروالسی مربوط به دارو-نانولوله کربنی با پوشش دادن نانولوله توسط زنجیرهای پپتید، کاهش یافته است. پیش‌بینی می‌شود در حضور پپتید *PW3*، سطح قابل دسترس از نانولوله کربنی برای مولکول‌های دارو کاهش یافته و با توجه به وجود گروه‌های کربوکسیل با بار منفی و هم‌چنین بار مثبت مولکول دوکسوروبیسین، در سامانه نانولوله کربنی اصلاح سطحی شده با پپتید، مولکول‌های دارو تمایل به برهم‌کنش با گروه‌های کربوکسیل واقع در لبه‌های نانوحامل را داشته و بدین ترتیب کاهش برهم‌کنش واندروالسی و افزایش برهم‌کنش الکتروستاتیک میان دارو-نانولوله کربنی را شاهد هستیم. برهم‌کنش‌های میان مولکول‌های دارو و زنجیرهای پپتید نیز شامل نیروهای واندروالسی و الکتروستاتیک است که در این مورد نیز سهم برهم‌کنش‌های واندروالسی بیشتر گزارش شده است. در مجموع با محاسبه انرژی کل برهم‌کنش دارو-نانوحامل، مقادیر حدود ۱۹۲۲/۸۸- و ۱۳۲۶/۱۹- کیلوژول بر مول به ترتیب در حضور و عدم حضور پپتید *PW3* به دست آمدند که حاکی از تقویت فرآیند جذب مولکول‌های دارو بر بستر نانولوله کربنی در حضور زنجیرهای پپتید *PW3* است. به منظور بررسی بیشتر برهم‌کنش دارو-نانوحامل، تعداد پیوندهای هیدروژنی تشکیل شده میان این اجزا بررسی شد که نتایج به دست آمده در شکل ۱ به تصویر کشیده شده است. در توافق با نتایج حاصل از مطالعات انرژی، تعداد پیوندهای هیدروژنی میان مولکول‌های دارو و نانولوله کربنی در سامانه حاوی زنجیرهای *PW3* بر روی نانولوله نسبت به سامانه در غیاب پپتید، با افزایش همراه بوده است که می‌تواند به واسطه کاهش سطح قابل دسترس از نانولوله کربنی برای مولکول‌های دارو و در نتیجه افزایش تمایل آن‌ها به گروه‌های کربوکسیل حاوی بار منفی واقع در لبه‌های نانولوله باشد. از سویی دیگر، زنجیرهای *PW3* به واسطه دارا بودن گروه‌های عاملی متعدد در ساختار خود زمینه مناسبی را جهت برهم‌کنش موثر با مولکول‌های دوکسوروبیسین فراهم می‌کنند. لذا در سامانه بر پایه نانولوله کربنی-پپتید، مولکول‌های دارو علاوه بر نانولوله کربنی با پپتید *PW3* نیز برهم‌کنش داشته که در نهایت به جذب موثرتر و قوی‌تر آن‌ها بر بستر نانوحامل منجر شده است.

حاوی گروه‌های کربوکسیل در حضور و عدم حضور نوعی پپتید زیست‌سازگار موسوم به پپتید PW3 بررسی شد تا به تاثیر پوشش-دهی نانولوله‌کربنی مورد نظر با این نوع پپتید در کیفیت جذب مولکول‌های دارو بر روی نانوحامل پی برده شود. نتایج حاکی از نقش موثر نیروهای واندروالس در برهم‌کنش دارو-نانولوله‌کربنی در سامانه فاقد پپتید بود. در حالی که در حضور زنجیرهای PW3، سهم نسبی برهم‌کنش‌های الکتروستاتیک در فرآیند جذب مولکول‌های دوکسوروبیسین بر بستر نانوحامل افزایش یافت. در سامانه بر پایه ترکیب نانولوله‌کربنی-پپتید، علاوه بر نانولوله‌کربنی، مولکول‌های دارو با زنجیرهای پپتید به وسیله‌ی تشکیل پیوندهای هیدروژنی برهم‌کنش‌های موثری داشتند که این امر منجر به تقویت قدرت برهم‌کنش‌های میان مولکول‌های دارو و نانوحامل شده و در نهایت جذب بهتر و قوی‌تر داروی دوکسوروبیسین در این شرایط، مشاهده شد. بدین ترتیب پیش‌بینی می‌شود، پپتید PW3 بتواند به عنوان عاملی اثرگذار در جهت بهبود کیفیت بارگذاری داروی دوکسوروبیسین بر بستر نانولوله‌های کربنی عمل نماید.

## مرجع‌ها

- [1] J. Gao; J. Karp; R. Langer and N. Joshi; "The future of drug delivery"; *Chem. Mater.*, **35**, (2023) 359-363.
- [2] S. Sritharan and N. Sivalingam; "A comprehensive review on time-tested anticancer drug doxorubicin"; *J. Life Sci.*, **278**, (2021) 119527.
- [3] H. Yan; Z. Xue; J. Xie; Y. Dong; Z. Ma; X. Sun; D. K. Boran; Z. Liu and J. Li; "Toxicity of carbon nanotubes as anti-tumor drug carrier"; *Int. J. Nanomedicine*, **14**, (2019) 10179-10194.
- [4] A. Barzegar; A. Mansouri and J. Azamat; "Molecular dynamics simulation of non-covalent single-walled carbon nanotube functionalization with surfactant peptides"; *J. Mol. Graphics. Model.*, **64**, (2016) 75-84.
- [5] A. Minoia. (2011) BuildCstruct. <http://chembbytes.wikidot.com/buildcstruct>
- [6] M. Froimowitz; "Hyperchem: a software package for computational chemistry and molecular modeling"; *Biotechniques*, **14**, (1993) 1010-1013.
- [7] D. Van Der Spoel; E. Lindahl; B. Hess; G. Groenhof; A. E. Mark and H. J. C. Berendsen; "Gromacs: fast, flexible, and free"; *J. Comput. Chem.*, **26**, (2005) 1701-1718.
- [8] K. R. Karnati and Y. Wang; "Understanding the co-loading and releasing of doxorubicin and paclitaxel using chitosan functionalized single-walled carbon nanotubes by molecular dynamics simulations"; *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2**, (2018) 9389-9400.
- [9] C. Dharmayanti; T. A. Gillam; M. Klingler-Hoffmann and H. Albrecht; "Strategies for the development of pH-responsive synthetic polypeptides and polymer-peptide hybrids: recent advancements"; *Polymers*, **13**, (2021) 624-639.



شکل ۱: تعداد پیوندهای هیدروژنی تشکیل شده میان مولکول‌های دارو و نانولوله‌کربنی کربوکسیل‌دار شده در غیاب پپتید PW3 (الف)، در حضور پپتید (ب) و میان دارو و پپتید (ج) در طول زمان شبیه‌سازی. برای تومورهای سرطانی مقادیر اسیدیته کم‌تری نسبت به سایر سلول‌های بدن گزارش شده است (حدود ۵-۵/۵). لذا دست‌یابی به سامانه‌ای که حساسیت مناسبی را نسبت به pH محیط از خود نشان دهد، به طوری که دارو در pH طبیعی بدن قادر به رهایش نبوده ولی در pH مربوط به سلول‌های سرطانی، فرآیند آزادسازی با درصد خوبی انجام شود، می‌تواند ما را در جهت تحقق اهداف دارورسانی هوشمند یاری دهد. نکته قابل توجه این که، استفاده از پپتیدها و سورفکتانت‌های بر پایه آمینواسید لیزین با قابلیت حساسیت به میزان pH محیط و فعالیت مختل‌کنندگی دیواره‌های غشای سلولی، بهبود فرآیند هدف‌گیری سلول‌های سرطانی و آزادسازی عوامل درمانی در منطقه مورد نظر را سبب می‌شوند [۹]. علاوه بر آن، گروه‌های کربوکسیل موجود در ساختار نانوحامل نیز جز ترکیبات حساس به pH به شمار می‌روند که پیش‌بینی می‌شود در حضور پپتید PW3 که برهم‌کنش‌های دارو-گروه‌های کربوکسیل تقویت شده‌اند، بتوانند به آزادسازی موثرتر مولکول‌های دوکسوروبیسین کمک نمایند. زیرا در شرایط اسیدی، این گروه‌ها با دریافت پروتون بار منفی خود را از دست داده و بدین ترتیب کاهش برهم‌کنش‌های الکتروستاتیک میان دارو و نانوحامل را موجب خواهند شد که می‌توان امیدوار به آزادسازی و رهایش عوامل دارویی موردنظر بود.

## نتیجه‌گیری

پپتیدها به عنوان گونه‌هایی با گروه‌های عاملی موثر در جهت اصلاح سطح نانولوله‌های کربنی، نقش ایفا می‌کنند. در این تحقیق، بارگذاری داروی ضدسرطان دوکسوروبیسین بر بستر نانولوله‌کربنی