پژوهش های شیمی
C
R

بررسی محاسباتی برهم‌کنش‌های مولکولی بین آمیوداروون و β-سیکلودکسترین و استیل-β-سیکلودکسترین: رویکرد داکینگ و شبیه‌سازی دینامیک مولکولی

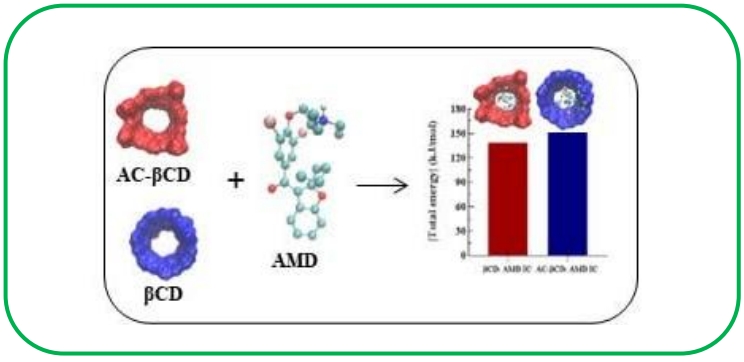
فاطمه سادات فاطمی نسب* و عفت کیانپور

گروه شیمی فیزیک، دانشکده شیمی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

تاریخ دریافت: ۲۷ تیر ۱۴۰۴ **تاریخ پذیرش: ۱۰ شهریور ۱۴۰۴**

چکیده: آمیوداروون (AMD) یکی از داروهای مؤثر در درمان آریتمی‌های قلبی است، اما به دلیل بروز عوارض جانبی، استفاده طولانی‌مدت از آن با محدودیت‌هایی همراه است. نظر به اهمیت سامانه‌های نوین دارورسانی به‌منظور افزایش اثربخشی و کاهش عوارض جانبی سیستمیک این دارو، در این پژوهش تشکیل کمپلکس‌های درهم‌جای (IC) میان دارو و دو نوع سیکلودکسترین، βCD طبیعی و مشتق‌شده با گروه استیل (AC-βCD)، با استفاده از روش‌های محاسباتی داکینگ مولکولی و شبیه‌سازی دینامیک مولکولی بررسی شد. نتایج نشان داد که کمپلکس درهم‌جای AC-βCD:AMD نسبت به کمپلکس درهم‌جای βCD:AMD دارای انرژی اتصال منفی‌تر، تعداد پیوندهای هیدروژنی بیشتر و پایداری بالاتر در محیط آبی است. تحلیل تابع توزیع شعاعی، فاصله مرکز جرم، و انرژی برهم‌کنش‌ها نیز بر مزیت مشتق‌سازی βCD برای طراحی حامل‌های دارورسانی مؤثرتر تاکید دارد. در مجموع، این نانوحامل‌ها به ویژه AC-βCD، پتانسیل بالایی برای طراحی سامانه‌های دارورسانی هدفمند داشته و می‌توانند اثربخشی درمانی AMD را افزایش داده و عوارض جانبی آن را کاهش دهند.

کلید واژه: داکینگ مولکولی، شبیه‌سازی دینامیک مولکولی، دارورسانی، آمیوداروون، سیکلودکسترین



۱- مقدمه

آریتمی‌های قلبی به عنوان بی‌نظمی در ضربان یا ریتم قلب تعریف می‌شوند که می‌توانند به صورت ضربان قلب سریع، آهسته یا نامنظم به دلیل نقص سیستم الکتریکی قلب، که به طور بالقوه ناشی از شرایطی مانند حمله قلبی یا نارسایی قلبی است، خود را نشان دهند [۱]. آمیوداروون (AMD)، که به‌عنوان یک بنزوفوران یددار تعریف می‌شود، یک داروی ضد آریتمی است که برای انواع مختلف آریتمی‌های قلبی دهلیزی و بطنی استفاده می‌شود. این ترکیب با مهار کانال‌های سلولی، از جمله کانال‌های سدیم و پتاسیم و گیرنده‌های بتا، اثر ضد آریتمی قابل توجهی دارد [۲]. با این‌حال، استفاده از AMD با بروز عوارضی چون اختلالات تیروئید، آسیب کبدی و ریوی

همراه است که منجر به قطع درمان در حدود ۴۰٪ از بیماران طی دو سال می‌شود [۵-۳]. در سال‌های اخیر، سامانه‌های نوین دارورسانی همچون هیدروژل‌های آزادکننده‌ی AMD، به‌منظور افزایش اثربخشی و کاهش عوارض جانبی سیستمیک این دارو مورد توجه قرار گرفته‌اند [۳ و ۴ و ۶].

سیکلودکسترین‌ها (CD) الیگوساکاریدهای حلقوی دونات شکلی هستند که از اتصال واحدهای آلفا-دی-گلوکوپیرانوز از طریق پیوندهای α(1,4) تشکیل می‌شوند این ترکیبات به دو دسته طبیعی و اصلاح‌شده تقسیم می‌شوند [۷ و ۸]. سه نوع از متداولترین CDهای طبیعی شامل شش، هفت و هشت واحد گلوکوپیرانوزی بوده و به‌ترتیب، آلفا، بتا و گاما-سیکلودکسترین (α, β, γCD) نامیده می‌شوند. سطح خارجی CDها آب‌دوست و حفره داخلی آن‌ها به‌دلیل وجود گروه‌های غیرقطبی، آب‌گریز است. این ویژگی باعث می‌شود CDها بتوانند به‌عنوان محیط‌های میکروهمگن، مولکول‌های مختلف را به‌دام اندازند یا ان‌کپسوله کنند [۷ و ۹]. علاوه بر کاربردهای CDها در رهایش هدفمند چاشنی‌ها، کاتالیز، حفظ پایداری مواد در برابر عوامل مخرب و استفاده در صنایعی مانند آرایشی‌بهداشتی، کشاورزی، پلیمری و کاربردهای محیط‌زیستی [۷, ۹]، همچنین این ترکیبات به طور گسترده در صنعت داروسازی به‌عنوان حامل دارو برای افزایش حلالیت، پایداری و زیست‌دسترس‌پذیری مولکول‌های زیست فعال مورد استفاده قرار می‌گیرند [۹].

فاطمی‌نسب و همکاران در سال ۲۰۱۸ با استفاده از روش‌های تجربی و محاسباتی (داکینگ مولکولی و شبیه‌سازی دینامیک مولکولی ۵۰ نانوثانیه‌ای) تشکیل کمپلکس‌های درهم‌جای دایدزئین با CDهای طبیعی (α, β, γCD) را مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد کمپلکس حاصل از βCD به دلیل اندازه مناسب حفره این CD و برهم‌کنش‌های واندروالسی و پیوند هیدروژنی مطلوب‌تر، نسبت به کمپلکس‌های حاصل از αCD و γCD، پایداری بیشتری دارد [۸]. علی‌رغم کاربردهای گسترده بتاسیکلودکسترین (βCD)، این ترکیب حلالیت نسبتاً کمی در آب دارد، که این ویژگی استفاده از آن به‌عنوان حامل دارویی را محدود می‌سازد. به همین دلیل، اصلاحات شیمیایی نظیر مشتق‌سازی با گروه‌های عاملی مختلف با هدف بهبود ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی این ترکیب صورت گرفته است. اصلاح شیمیایی CDها، همچنین توانایی کمپلکس‌شدن آن‌ها با سایر ترکیبات را نیز افزایش می‌دهد [۷ و ۹]. پادورا (۲۰۱۳)، کرتیانو (۲۰۱۹)، گیسیوگ (۲۰۲۱) βCD را به‌صورت هیدروکسی‌پروپیل-بتا-سیکلودکسترین (HP-βCD) اصلاح شیمیای کردند. آنها دریافتند کپسوله‌کردن AMD در HP-βCD به‌عنوان حامل منجر به بهبود حلالیت و رهایش این دارو می‌شود [۱۲-۱۰]. وانگ و همکارانش (۲۰۱۷) نشان دادند که عامل‌دارکردن βCD به‌صورت سولفوبوتیل اتر-بتا-سیکلودکسترین (SBE-βCD)، حلالیت AMD را ۱۹۶ مرتبه افزایش داده و همچنین منجر به افزایش میزان فراهمی زیستی دارو در حالت ناشتا شده‌است [۱۳]. روبیم و همکارانش در سال ۲۰۱۷، کمپلکس‌شدن AMD با βCD، Methyl-βCD و HP-βCD به‌صورت تجربی و در سال ۲۰۲۴، به‌صورت تجربی و تئوری (نظریه تابعی چگالی) بررسی کردند. نتایج نشان داد که سامانه AMD با Methyl-βCD عملکرد بهتری در افزایش حلالیت و رهایش این دارو دارد [۱۴ و ۱۵]. در مطالعه‌ای جدید، فاطمی نسب و همکارانش (۲۰۲۲)، استیل-بتا-سیکلودکسترین (AC-βCD) را سنتز و از آن به‌عنوان حامل رزمارینیک اسید استفاده کردند. بررسی‌ها نشان داد کمپلکس درهم‌جای حاصل نه تنها فعالیت آنتی‌اکسیدانی رزمارینیک اسید را حفظ کرده بلکه می‌تواند مشکلات طعم نامطلوب و پایداری پایین این ترکیب را نیز بهبود بخشد [۱۶]. در این مطالعه، مشابه با پژوهشی که در سال ۲۰۱۸ پیرامون تشکیل کمپلکس‌های درهم‌جای دایدزئین با CDهای طبیعی انجام شده بود [۸]، تحلیل‌های نظری با بهره‌گیری از پارامترهای دینامیک مولکولی، شامل بررسی تصاویر لحظه‌ای، انحراف از جذر میانگین مربعات (RMSD)، تعداد پیوند هیدروژنی، تابع توزیع شعاعی (RDF)، و محاسبات انرژی آزاد گیبس صورت گرفت. نتایج به‌دست‌آمده از هر دو پژوهش نشان می‌دهد که این روش‌های محاسباتی از دقت بالایی در پیش‌بینی داده‌های تجربی و تبیین رفتار سامانه‌های میزبان-مهمان برخوردار بوده و می‌توانند به عنوان ابزارهایی موثر در مطالعه برهم‌کنش‌های مولکولی به‌کار گرفته شوند.

با توجه به اهمیت داروی AMD در درمان آریتمی‌های قلبی نظیر فیبریلاسیون دهلیزی و تاکی‌کاردی بطنی، و اهمیت سامانه‌های دارورسانی در بهبود اثربخشی و کاهش عوارض

جانبی این دارو، هدف اصلی این پژوهش بررسی پتانسیل ترکیبات سیکلودکسترینی βCD و AC-βCD در تشکیل کمپلکس‌های درهم‌جای با AMD، به عنوان حامل این دارو، با استفاده از روش‌های محاسباتی داکینگ مولکولی و شبیه‌سازی دینامیک مولکولی است. این پژوهش بر تحلیل جای‌گیری، نوع جهت‌گیری و برهم‌کنش این ترکیب دارویی با CDهای مذکور تمرکز دارد. علاوه بر این، در این مطالعه به‌طور خاص تاثیر اصلاح ساختار شیمیایی βCD با گروه عاملی استیل ($COCH_3$) بر بهبود عملکرد آن به‌عنوان حامل دارویی برای AMD بررسی می‌شود. شکل ۱ ساختار شیمیایی ترکیبات مورد مطالعه را نشان می‌دهد.

جدول اختصارات:	
آمیوداروون هیدروکلراید	AMD
سیکلودکسترین	CD
بتاسیکلودکسترین	βCD
استیل-بتا-سیکلودکسترین	AC-βCD
انحراف از جذر میانگین مربعات	RMSD
تابع توزیع شعاعی	RDF

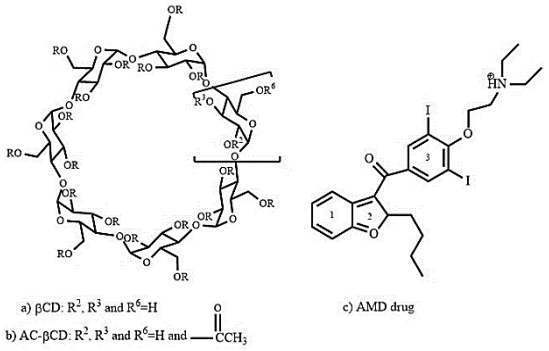
۲-روش های محاسباتی

۲-۱-تهیه فایل‌های ساختاری دارو و سیکلودکسترین‌ها

ساختار سه‌بعدی ترکیب AMD (PubChem: CID 441325)، در قالب فرمت SDF از پایگاه داده PubChem دریافت و سپس به فرمت PDB تبدیل شد تا امکان انجام محاسبات فراهم شود [۱۷]. ساختار سه‌بعدی βCD (PDB ID: 3CGT) با فرمت PDB از پایگاه داده پروتئینی RCSB استخراج گردید [۱۸]. ساختارهای مولکولی βCD اصلاح‌شده (AC-βCD) با استفاده از نرم‌افزار GaussView 5.0.8 طراحی شد [۱۹]. در ساختار AC-βCD، چهار گروه استیل جایگزین برخی از اتم‌های هیدروژن گروه‌های هیدروکسیل C^2 در سمت بازوی پهن‌تر شدند [۱۶]. سپس این ساختار مولکولی با استفاده از بسته نرم‌افزاری Gaussian 09 در سطح نظری B3LYP/6-31G** بهینه‌سازی شد [۲۰]. به‌منظور بررسی برهم‌کنش‌های میزبان-مهمان، از این ساختارهای بهینه‌شده برای انجام محاسبات داکینگ مولکولی استفاده گردید.

۲-۲-روش داکینگ مولکولی

در این پژوهش، برای انجام محاسبات داکینگ مولکولی از نرم‌افزار AutoDock4.2 استفاده شد. پیش از اجرای داکینگ مولکولی، ابتدا با به‌کارگیری نرم‌افزار Autodock Tools 1.5.7، ساختار βCD و AC-βCD (به‌عنوان مولکول‌های میزبان) و AMD (به‌عنوان مولکول مهمان) از فرمت PDB به فرمت PDBQT تبدیل‌شده و برای ادامه محاسبات داکینگ مولکولی ذخیره شد [۲۱ و ۲۲]. سپس شبکه‌ای مکعبی با ابعاد ۴۰ انگستروم^3 و فاصله بین شبکه ۰/۳۷۵ انگستروم برای مولکول میزبان ساخته‌شد. لازم به ذکر است که در انجام محاسبات داکینگ مولکولی، ترکیبات میزبان (βCDها)، به‌صورت صلب و ترکیب دارویی AMD انعطاف‌پذیر در نظر



(ب) (الف)

شکل ۱. ساختار مولکولی (الف) AMD و (ب) βCD و AC-βCD.

گرفته شد تا به‌راحتی در شبکه ساخته‌شده حرکت کرده و درون حفره CDها جهت‌گیری نماید. تمام پارامترهای مربوط به داکینگ مولکولی بر اساس مقادیر استاندارد در نظر گرفته شدند. تعداد اجرای هر محاسبه برابر با ۲۰۰ اجرا و تعداد ارزیابی‌ها در هر اجرا ۲۵ میلیون تعیین شد. پس از انجام محاسبات داکینگ، ۲۰۰ پیکربندی مختلف به‌دست آمد که این پیکربندی‌ها بر اساس انرژی اتصال، در چندین خوشه و به ترتیب صعودی انرژی مرتب شدند.جهت ارزیابی انرژی، پیکربندی با انرژی اتصال پایین‌تر و پرجمعیت‌تر در خوشه، به‌عنوان پیکربندی اصلی انتخاب و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. همچنین، از این پیکربندی، به‌عنوان ساختار آغازین در شبیه‌سازی دینامیک مولکولی استفاده شد. لازم به ذکر است که برای تصویرسازی و تجزیه و تحلیل ساختار سه‌بعدی

کمپلکس‌های درهم‌جای βCD: AMD و AC-βCD: AMD از نرم‌افزارهای PyMol و Discovery Studio نسخه ۲۰۲۱ استفاده شد.

۲-۳-روش شبیه‌سازی دینامیک مولکولی

در محاسبات داکینگ مولکولی، ترکیبات βCD و AC-βCD به‌عنوان پذیرنده ثابت و لیگاند انعطاف‌پذیر در نظر گرفته می‌شود، و همچنین عامل زمان در محاسبات داکینگ مولکولی دخیل نیست. به‌منظور بررسی دقیق‌تر برهم‌کنش‌های مولکولی و پایداری کمپلکس‌ها، شبیه‌سازی دینامیک مولکولی به‌مدت ۳۰۰ نانوثایه برای سامانه‌های شامل βCD و AC-βCD آزاد و کمپلکس‌شده با لیگاند AMD انجام شد. شبیه‌سازی با استفاده از نرم‌افزار GROMACS نسخه ۲۰۲۱.۴ [۲۳] انجام گرفت که در آن از میدان نیروی CHARMM36 برای CDها [۲۴] و پارامترهای تولید شده توسط acpype برای AMD [۲۵] استفاده شد. هر سامانه درون جعبه‌ای مکعبی از نوع SPC/E حاوی آب قرار داده شده و شرایط مرزی سه‌بعدی اعمال گردید [۲۶]. تعداد مولکول آب درون جعبه شبیه‌سازی برای βCD در حالت آزاد و کمپلکس‌شده با AMD به‌ترتیب ۱۳۶۵ و ۱۴۰۷ مولکول و برای AC-βCD به‌ترتیب، ۱۶۳۴ و ۱۶۲۵ مولکول بود. همچنین، ابعاد جعبه مکعبی برای βCD در حالت آزاد و کمپلکس‌شده به‌ترتیب ۳/۵۵۲۳ و ۳/۶۰۵۴ انگستروم^3 و برای AC-βCD در حالت آزاد و کمپلکس‌شده با AMD برابر ۳/۸۲۰۱ انگستروم^3 در نظر گرفته شد.

بعد از آماده‌سازی جعبه‌های حاوی βCD و AC-βCD در حالت آزاد و کمپلکس‌شده با AMD، جهت از بین بردن برهم‌کنش‌های نامطلوب میان اجزاء سامانه (مولکول‌های حلال، AMD و βCD یا AC-βCD)، فرایند کمینه‌سازی انرژی با استفاده از روش شدیدترین نزول انجام گرفت [۲۷ و ۲۸]. ثابت نگه‌داشتن دما (۳۰۰ کلوین)، با استفاده از مجموعه کانونیکال (NVT) و در مدت زمان ۱۰۰۰ پیکوثانیه با استفاده از ترموستات برندسن اصلاح‌شده انجام گرفت [۲۹]. همچنین، ثابت نگهداشتن فشار (۱ بار) سامانه‌های βCD و AC-βCD خالص و کمپلکس‌شده، با استفاده از مجموعه هم‌دما-هم‌فشار (NPT)، در مدت زمان ۱۰۰۰ پیکوثانیه با به‌کارگیری باروستات نوز-هاور انجام گرفت [۳۰]. برای در نظر گرفتن سهم‌های دوربرد نیروهای الکترواستاتیک و واندروالسی، از روش اوالد و همچنین روش قطع (با شعاع قطع ۱۰ انگستروم) استفاده شد [۳۱ و ۳۲]. مرحله نهایی، مرحله‌ی تولید یا اجرای اصلی شبیه‌سازی بود که در مدت زمان ۳۰۰ نانوثایه و با گام‌های زمانی ۰/۰۲ پیکوثانیه در هر سه بعد x، y و z و در شرایط دما، فشار و دانسیته ثابت انجام شد. برای حصول اطمینان از برقراری تعادل در سامانه‌های مورد مطالعه، تمامی شبیه‌سازی‌ها در سه تکرار مستقل انجام گرفتند. در نهایت، تحلیل داده‌های شبیه‌سازی دینامیک مولکولی برای سامانه‌های βCDو AC-βCD (در دو حالت آزاد و کمپلکس‌شده) با بهره‌گیری از روش‌های گوناگون از جمله :تجزیه و تحلیل ساختاری (تصاویر لحظه‌ای)، انحراف از جذر میانگین مربعات (RMSD)، تابع توزیع شعاعی (RDF)، بررسی فاصله‌ی مرکز جرم AMD و CDها، تحلیل پیوندهای هیدروژنی و همچنین محاسبه انرژی‌های برهم‌کنش‌های الکترواستاتیکی و واندروالسی انجام پذیرفت.

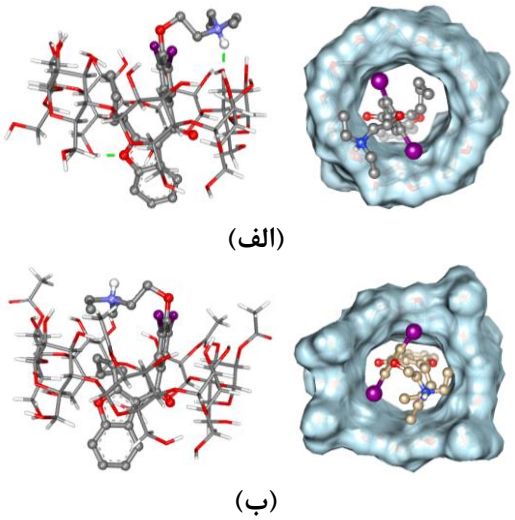
۳-نتایج و بحث

۳-۱-تجزیه و تحلیل داکینگ مولکولی

روش محاسباتی داکینگ مولکولی به منظور بررسی جهت‌گیری، نوع برهم‌کنش و پیش‌بینی ساختار مولکولی کمپلکس تشکیل‌شده بین CDها به‌عنوان میزبان (حامل دارو) و ترکیب دارویی AMD به‌عنوان میهمان انجام شد. ساختارهای سه بعدی داکینگ مولکولی کمپلکس‌های درهم‌جای AMD با βCD و AC-βCD، به ترتیب، در شکل ۲-الف و ب نشان داده شده‌است.

این ساختارهای سه‌بعدی هم به‌صورت خطی و هم به‌صورت صفحه‌ای نشان داده شده‌اند و پیوندهای هیدروژنی با نقطه‌چین‌های سبزرنگ توصیف شده‌اند. به‌منظور به‌دست آوردن این ساختارهای سه بعدی، پیکربندی‌های با کمترین میزان انرژی و متعلق به خوشهٔ با جمعیت بیشتر، به‌عنوان پیکربندی اصلی انتخاب شد. چنانچه مشاهده می‌شود در تشکیل کمپلکس در هم جای βCD:AMD، دو پیوند هیدروژنی مشارکت دارد (یکی بین H گروه عاملی NH– موجود در زنجیره آلیفاتیک AMD با O از OH^3 در

βCD و دیگری بین O حلقه (۲) AMD با H ، OH^6 موجود در ساختار βCD) در حالی که در جای‌گیری AMD درون حفره AC-βCD هیچ‌گونه پیوند هیدروژنی تشکیل نمی‌گردد. از این نتایج، می‌توان دریافت که نیروهای غالب و پیش‌برنده در جای‌گیری AMD درون حفره βCD، از نوع برهم‌کنش‌های واندروالسی و پیوند هیدروژنی است درحالی‌که در تشکیل کمپلکس AC-βCD:AMD این نیروها عمدتاً از نوع واندروالسی می‌باشند. همچنین در شکل (۲) مشاهده می‌گردد که حلقه‌ی (۱) و زنجیره‌ی آلیفاتیک موجود در ساختار ترکیب دارویی، به‌ترتیب، در سمت باریک‌تر و بازوی پهن‌تر از هر دو ترکیب βCD و AC-βCD جای‌گیری شده‌اند. لذا، جای‌گیری ترکیب دارویی AMD درون حفره این دو βCD طبیعی و اصلاح‌شده حدوداً کامل بوده و تنها بخش‌هایی از این ترکیب خارج از حفره‌ی βCD و AC-βCD قرار می‌گیرد.



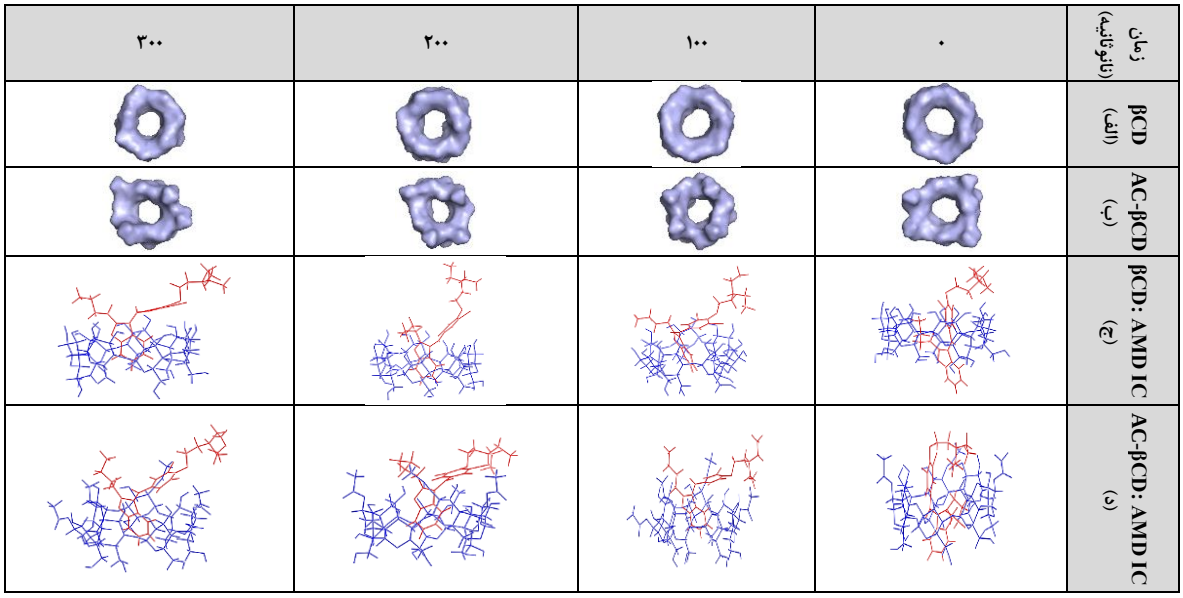
شکل ۲. ساختارهای سه بعدی داکینگ مولکولی کمپلکس‌های درهم‌جای **الف)** βCD: AMD و **ب)** AC-βCD:AMD.

بررسی جای‌گیری AMD درون حفره میزبان، برای پیکربندی‌های با کمترین میزان انرژی و متعلق به خوشهٔ با جمعیت بیشتر، نشان داد مقدار کمینه انرژی اتصال بین حامل‌های βCD و AC-βCD و این ترکیب دارویی به ترتیب برابر ۶/۱۹- و ۶/۲۹- کیلوکالری بر مول می‌باشد. همچنین ثابت مهارکنندگی (K_I) برای تشکیل کمپلکس‌های درهم‌جای βCD:AMD و AC-βCD:AMD به ترتیب برابر ۲۸/۹۴ و ۲۴/۳۳ میکرومولار به‌دست آمد. انرژی اتصال بیشتر از ۵/۰ کیلوکالری بر مول ، نشان‌دهنده برهم‌کنش قوی بین دو ترکیب میزبان و مهمان است [۳۳]. بنابراین داده‌های انرژی اتصال حاکی از برهم‌کنش و جای‌گیری قوی AMD درون حفره دو βCD طبیعی و اصلاح شده است. همچنین، مقایسه انرژی اتصال و ثابت مهارکنندگی نشان می‌دهد که ترکیب AC-βCD در کپسوله‌سازی AMD پایداری بیشتری نسبت به βCD دارد. به‌عبارتی، مشتق‌سازی βCD با گروه عاملی استیل می‌تواند به تشکیل سامانه‌های میزبان–مهمان پایدارتر برای انتقال این ترکیب دارویی منجر شود.

۳-۲-تجزیه و تحلیل شبیه‌سازی دینامیک مولکولی

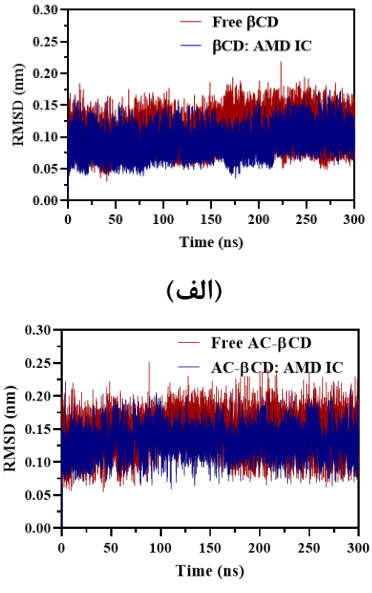
به‌منظور بررسی جهت‌گیری و رفتار مولکول AMD درون حفره‌های βCD و AC-βCD، محاسبات شبیه‌سازی دینامیک مولکولی در محیط آبی و به مدت ۳۰۰ نانوثایه انجام شد. جهت تجزیه و تحلیل فرایند شبیه‌سازی، ساختارهای لحظه‌ای بررسی و کمیت‌هایی مانند RMSD، فاصله بین مرکز جرم AMD با CDها، RDF، تعداد پیوند هیدروژنی و انرژی برهمکنش AMD و CDها، محاسبه شد.

شکل ۳، تغییرات پیکربندی βCD و AC-βCD آزاد و همچنین کمپلکس‌های‌درهم‌جای آن‌ها با AMD را در زمان‌های۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ نانوثایه از شبیه‌سازی نشان می‌دهد. ساختار βCD در حالت آزاد (شکل ۳-الف) در طی ۳۰۰ نانوثایه تغییر قابل ملاحظه‌ای نداشته است. در مورد ترکیب AC-βCD، چنانچه در شکل ۳-ب مشاهده می‌شود بعد از گذشت ۲۰۰ نانوثایه کنفورماسیون برخی از واحدهای گلوکزی دارای استخلاف‌های استیل دچار انحراف جزئی از حالت اولیه شده‌اند، اما ساختار کلی همچنان پایدار باقی مانده است. همچنین، کمپلکس‌های درهم‌جای βCD:AMD و AC-βCD:AMD، (شکل ۳-ج و د) در تمامی زمان‌های مورد بررسی، پایداری مناسبی از خود نشان داده‌اند و در طول ۳۰۰ نانوثایه شبیه‌سازی، مولکول AMD به‌طور کامل از حفره میزبان خارج نشده است. در زمان ۱۰۰ نانوثانیه نخست، پیکربندی مولکول AMD درون کمپلکس تغییر قابل‌ملاحظه‌ای نداشته، اما پس از آن، اگرچه AMD از حفره βCD (طبیعی و اصلاح‌شده) خارج نشده، زنجیره آلیفاتیک آن



شکل ۳. تصاویر لحظه‌ای βCD و AC-βCD آزاد و کمپلکس‌شده با AMD، در ۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ نانوثانیه از آغاز شبیه‌سازی.

به دلیل انعطاف‌پذیری بالا، در قسمت بیرونی حفره دچار چرخش و تغییر موقعیت شده و از ۱۰۰ تا ۳۰۰ نانوثانیه ساختار پایداری را حفظ کرده است. علاوه‌بر این، نتایج به‌دست‌آمده با داده‌های حاصل از داکینگ مولکولی هم‌خوانی دارد، به‌طوری‌که حلقه‌های ۱ و ۲ مولکول AMD در نزدیکی دهانه باریک‌تر βCDها و بخش آلیفاتیک دارو در مجاورت بازوی پهن‌تر و خارج از حفره قرار گرفته‌اند.



شکل ۴. نمودارهای RMSD برحسب نانومتر (nm) مربوط به (الف) βCD و (ب) AC-βCD آزاد و کمپلکس‌شده با AMD.

RMSD یک معیار کمی برای سنجش تغییرات ساختاری یک سامانه مولکولی در زمان t نسبت به یک ساختار مرجع (در زمان t = 0) است. این پارامتر، که به صورت میانگین جذر مربع فاصله‌های بین اتم‌های متناظر دو ساختار (ساختار اولیه و ساختار در زمان t) محاسبه می‌شود، یکی از شاخص‌های اصلی برای ارزیابی پایداری ساختار و هم‌گرایی شبیه‌سازی دینامیک مولکولی به شمار می‌رود [۳۴ , ۳۵]. در این پژوهش، RMSD مربوط به βCD و AC-βCD آزاد و کمپلکس‌شده با AMD، به‌منظور بررسی مسیر رسیدن به تعادل طی ۳۰۰ نانوثایه شبیه‌سازی، مورد بررسی قرار گرفته است.

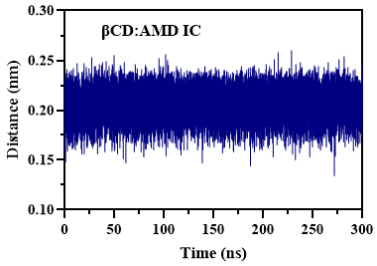
جدول ۱. مقادیر RMSD برای βCD و AC-βCD در حالت آزاد و کمپلکس‌شده با AMD

سامانه	βCD	βCD: AMD	AC-βCD	AC-βCD: AMD
RMSD (nm)	۰/۱۰۱±۰/۰۲۲	۰/۰۹۳±۰/۰۱۹	۰/۱۴۲±۰/۰۲۴	۰/۱۳۱±۰/۰۲۰

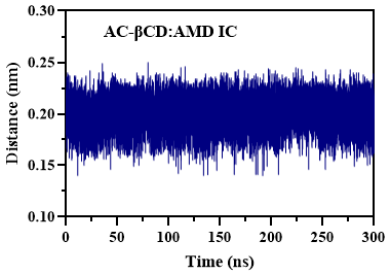
همان‌طور که در شکل ۴ و جدول ۱، مشاهده می‌گردد، هر دو βCD و AC-βCD در حالت آزاد نوسانات اندکی در مقدار RMSD نشان داده‌اند و نمودارها بیانگر رسیدن به تعادل دینامیکی در سامانه هستند. همچنین، با توجه به انعطاف‌پذیری استخلاف‌های استیل در ساختار AC-βCD، مقدار RMSD این ترکیب نسبت به βCD طبیعی بیشتر بوده که این موضوع با نتایج حاصل از تصاویر ساختارهای لحظه‌ای

مطابقت دارد. همچنین، تحلیل نتایج RMSD در دو کمپلکس درهم‌جای βCD:AMD و AC-βCD:AMD حاکی از پایداری بیشتر ساختارهای میزبان در حالت کمپلکس‌شده نسبت به حالت آزاد آن‌هاست. این نتایج نیز در تطابق کامل با مشاهدات حاصل از بررسی ساختارهای لحظه‌ای طی شبیه‌سازی هستند.

برای درک رفتار دینامیکی و میزان انحراف ترکیب دارویی درون حفره‌ی CDها طی فرایند تشکیل کمپلکس درهم‌جای، کمینه فاصله مرکز جرم ترکیب دارویی AMD با مرکز جرم میزبان‌های βCD و AC-βCD در سه نقطه‌ی زمانی (آغازین، پایانی و میانگین طی زمان شبیه‌سازی) محاسبه و تحلیل شد. نتایج این ارزیابی که در طول ۳۰۰ نانوثایه شبیه‌سازی دینامیک مولکولی انجام شد، در شکل ۵ و جدول ۲ ارائه شده‌است.



(الف)



(ب)

شکل۵. کمینه فاصله بین مرکز جرم AMD از مرکز جرم βCDهای (الف) طبیعی و (ب) اصلاح‌شده.

مطابق با نتایج ارائه‌شده در شکل ۵، محاسبات نشان می‌دهند که نوسانات فاصله بین مراکز جرم مولکول AMD و میزبان‌ها بسیار جزئی بوده و در محدوده‌ی تعادلی قرار دارند. این موضوع حاکی از آن است که هر دو میزبان βCD و AC-βCD قادر به تشکیل کمپلکس‌های درهم‌جای پایدار با مولکول AMD در محیط آبی و طی بازه‌ی زمانی ۳۰۰ نانوثایه هستند. به‌طور کلی، نتایج به پایداری جای‌گیری AMD درون حفره‌ی هر دو میزبان در طول شبیه‌سازی اشاره دارند.

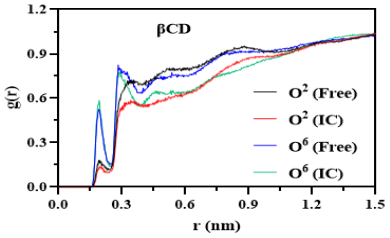
در کمپلکس درهم‌جای βCD:AMD، فواصل بین مراکز جرم AMD و βCD در آغاز، پایان و میانگین به ترتیب برابر با ۰/۱۹۶، ۰/۲۳۵ و ۰/۲۰۶±۰/۰۱۳ انگستروم است. این نتایج بیانگر آن هستند که زنجیره‌ی آلیفاتیک مولکول AMD در بیشتر زمان شبیه‌سازی در بیرون از حفره‌ی βCD قرار داشته و پیکربندی آن همراه با نوسان است، به‌طوری‌که مقدار میانگین فاصله بین مقدار اولیه و نهایی قرار گرفته است. در مورد کمپلکس درهم‌جای AC-βCD:AMD، نیز، فواصل مرکز جرم در زمان‌های آغازین، پایانی و میانگین به‌ترتیب برابر با ۰/۱۸۲، ۰/۱۹۵ و ۰/۲۰۱±۰/۰۱۴ انگستروم است. مطابق با نتایج ساختارهای لحظه‌ای (شکل ۳)، استخلاف‌های استیل در ساختار AC-βCD و همچنین زنجیره‌ی آلیفاتیک در مولکول AMD در خارج از حفره دارای تحرک و نوسان بیشتری هستند، بنابراین مقدار میانگین فاصله دو مرکز جرم در سامانه AC-βCD:AMD نسبت به مقدار اولیه و نهایی کمی بیشتر است. با توجه به اینکه فاصله‌ی کمتر میان مراکز جرم، نشان‌دهنده‌ی جای‌گیری بهتر و پایدارتری از AMD درون حفره‌ی میزبان است، مقایسه‌ی این فاصله‌ها در دو سامانه‌ی مورد بررسی (جدول ۲)، دلالت بر جای‌گیری مطلوب‌تر AMDدرون حفره‌ی AC-βCD دارد. این موضوع مزیت مشتق‌سازی و اصلاح ساختار شیمیایی βCD را برجسته می‌سازد.

جدول ۲. کمینه فاصله آغازین، پایانی و میانگین بین مرکز جرم AMD و مرکز جرم βCD های طبیعی و اصلاح‌شده

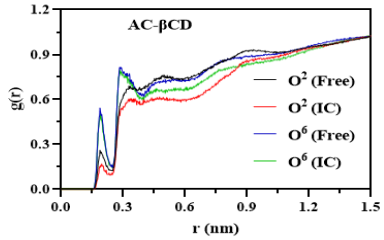
سامانه		βCD: AMD	AC-βCD: AMD
کمینه فاصله (nm)	آغازین	۰/۱۹۶	۰/۱۸۲
	پایانی	۰/۲۳۵	۰/۱۹۵
	میانگین	۰/۲۰۶±۰/۰۱۳	۰/۲۰۱±۰/۰۱۴

برای بررسی دقیق‌تر تعامل میان دارو و مولکول‌های میزبان، از تحلیل تابع توزیع شعاعی (RDF) استفاده شده است. این تابع که معمولاً با g(r) نمایش داده می‌شود، بیانگر احتمال یافتن یک ذره در فاصله معینی از ذره‌ای دیگر است. به‌عبارت دیگر، RDF نشان می‌دهد که چگالی ذرات چگونه به

عنوان تابعی از فاصله از یک ذره مرجع تغییر می‌کند و از این رو، ابزاری کلیدی برای بررسی نظم محلی، لایه‌بندی ساختاری و رفتارهای تجمعی در سامانه‌های مولکولی محسوب می‌شود. تحلیل نمودارهای RDF (شکل ۶) نشان می‌دهد که مولکول‌های آب در اطراف اتم‌های اکسیژن O^2 وO^6، که به‌ترتیب در دو سمت پهن و باریک مولکول‌های βCD و AC-βCD قرار دارند (در هر دو حالت آزاد و کمپلکس‌شده با داروی AMD)، الگوی توزیع مشخصی را دنبال می‌کنند. این نمودارها دو پیک اصلی در محدوده‌های ۰/۱۵ تا ۰/۲۵ نانومتر (با مرکزیت حدود ۰/۲ نانومتر) و ۰/۲۲۵ تا ۰/۴۵ نانومتر (با مرکزیت حدود ۰/۳۵ نانومتر) را نشان می‌دهند که مربوط به تشکیل پیوندهای هیدروژنی بین اتم‌های اکسیژن CDها و مولکولهای آب است.



(الف)

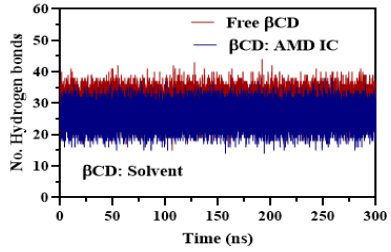


(ب)

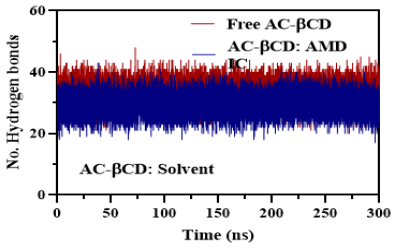
شکل۶- نمودار RDF بین اتم‌های O2 و O6 موجود در ساختار (الف) βCD و (ب) AC-βCD و مولکول‌های آب، در دو حالت آزاد (Free) و کمپلکس‌شده با AMD (IC).

همان‌طور که در شکل ۶ نشان داده شده‌است، مقایسه شدت این پیک‌ها در حالت‌های آزاد و کمپلکس شده، کاهش قابل‌توجه تراکم مولکول‌های آب اطراف CDها را پس از تشکیل کمپلکس با AMD نشان می‌دهد این کاهش ناشی از جایگزینی مولکول‌های آب با دارو درون حفره‌های CD است. این نتایج به‌خوبی نشان می‌دهند که تشکیل کمپلکس دارویی، به‌طور معناداری الگوی توزیع مولکول‌های حلال را در اطراف نانوحامل‌های کربوهیدراتی دستخوش تغییر می‌کند. در هر دو سامانه، شدت کاهش پیک‌ها در حالت کمپلکس‌شده نسبت به حالت آزاد برای اتم‌های O^2 بیش از اتم‌های O^6 است. این مشاهده، که با نتایج حاصل از داکینگ مولکولی و تصاویر لحظه‌ای نیز هم‌خوانی دارد، نشان می‌دهد زنجیره آلیفاتیک داروی AMD در بخش بیرونی بازوی پهن‌تر CDهای طبیعی و اصلاح‌شده قرار گرفته است. در نتیجه، تاثیر آن بر برهم‌کنش مولکول‌های آب با اتم‌های O^2 در ساختارCDها بیشتر بوده و از این‌رو، اختلاف مقدار بیشینه تابع توزیع شعاعی g(r) بین حالت آزاد و کمپلکس‌شده برای این اتم‌ها بیشتر از اتم‌های O^6 مشاهده می‌شود. همچنین در این شکل مشاهده می‌شود که کاهش شدت پیک‌ها در مورد AC-βCD نسبت به βCD شدیدتر است. این یافته بیانگر نقش مؤثر گروه‌های استیل در تغییر الگوی برهم‌کنش با مولکول‌های آب در هنگام تشکیل کمپلکس دارویی است.

انرژی پیوندهای هیدروژنی در بازه ۰٫۵ تا ۴/۷ کیلوکالری بر مول بوده و یکی از مهم‌ترین برهم‌کنش‌های غیرکووالانسی در مطالعات مولکولی به‌شمار می‌روند. این پیوندها در تحلیل برهم‌کنش‌های بین میزبان، مهمان و حلال نقش بسزایی داشته و از عوامل کلیدی در طراحی سامانه‌های دارورسانی هستند.



(الف)



(ب)

شکل۷. تعداد پیوندهای هیدروژنی تشکیل‌شده بین مولکول‌های آب (حلال) و (الف) βCD و (ب) AC-βCD، در دو حالت آزاد (Free) و کمپلکس‌شده با AMD (IC).

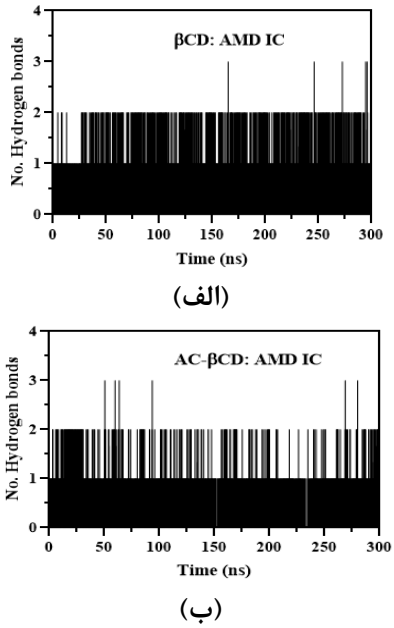
شرایط لازم برای تشکیل پیوند هیدروژنی شامل حضور اتم‌های الکترونگاتیو نظیر اکسیژن و نیتروژن، فاصله بین دهنده و گیرنده کمتر از ۳/۵ انگستروم و زاویه کمتر از ۳۰ درجه است [۱۶]. در این مطالعات، جایگزینی مولکول‌های آب متصل به حفره میزبان با مولکول مهمان، نشانگر پایداری نسبی سامانه دارورسانی تشکیل‌شده است [۹]. به منظور بررسی پیوندهای هیدروژنی در سامانه‌های مورد مطالعه، نمودار تعداد پیوندهای هیدروژنی تشکیل‌شده بین مولکول‌های آب (حلال) و βCD و AC-βCD، در حالت آزاد و کمپلکس‌شده با AMD، طی بازه شبیه‌سازی (۳۰۰ نانوثایه) در شکل ۷ ترسیم و میانگین داده‌ها در جدول ۳ خلاصه شده است.

جدول ۳. میانگین تعداد پیوند هیدروژنی (N) بین مولکول‌های آب و βCD و AC-βCD در حالت آزاد و کمپلکس‌شده با AMD

سامانه	βCD	βCD: AMD	AC-βCD	AC-βCD: AMD
N	۲۹/۱۰±۳/۴۱	۲۵/۹۲±۳/۰۹	۳۳/۰۱±۳/۳۱	۲۹/۶۵±۳/۱۳

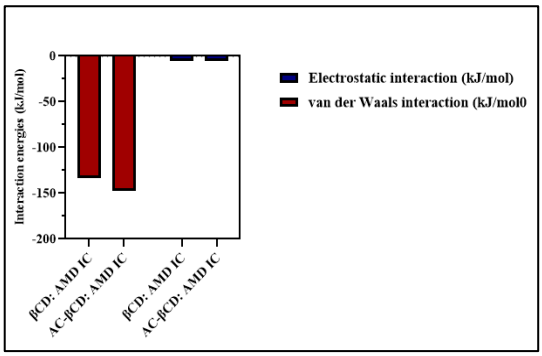
شکل ۷ نشان می‌دهد که در طی بازه شبیه‌سازی، تعداد پیوندهای هیدروژنی بین مولکول‌های آب و βCD یا AC-βCD در حالت آزاد بیشتر از حالت کمپلکس‌شده با AMD است. نتایج این بخش در توافق با داده‌های حاصل از نمودارهای RDF (شکل ۶) است. این هم‌خوانی به این دلیل است که در حالت آزاد، هم حفره داخلی و هم سطح بیرونیCDها در تماس با آب قرار دارند، در حالی که ورود دارو به حفره موجب جابه‌جایی آب و کاهش سطح در دسترس برای برقراری پیوند هیدروژنی می‌شود. نتایج همچنین نشان می‌دهند که AC-βCD به‌دلیل وجود گروه‌های استیل، توانایی بیشتری در برقراری پیوندهای هیدروژنی با مولکول‌های آب و AMD دارد. همین ویژگی موجب افزایش تعداد پیوندهای هیدروژنی در این کمپلکس نسبت به βCD معمولی‌شده و به پایداری بیشتر سامانه AC-βCD:AMD منجر می‌گردد. داده‌های ارائه‌شده در جدول ۳ نیز این یافته را تایید می‌کنند، به‌طوری‌که میانگین تعداد پیوندهای هیدروژنی در کمپلکس AC-βCD:AMD به‌وضوح بیشتر از βCD:AMD است.

در ادامه‌ی این بخش مشخص شد که طی فرایند شبیه‌سازی، میان βCD و AC-βCD به‌عنوان میزبان‌های دارویی و ترکیب AMD، بین ۱ تا ۳ پیوند هیدروژنی پایدار تشکیل می‌شود (شکل ۸). همچنین، به‌طور میانگین، تعداد پیوندهای هیدروژنی در کمپلکس AC-βCD:AMD بیشتر از βCD:AMD است. این نتیجه نیز موید مزیت مشتق‌سازی و اصلاح ساختار شیمیایی βCD در راستای طراحی سامانه‌های دارورسانی موثرتر است.



شکل۸. تعداد پیوندهای هیدروژنی بین مولکولی در تشکیل کمپلکس بین AMD با (الف) βCD و (ب) AC-βCD.

با توجه به این‌که در تشکیل کمپلکس میزبان-مهمان، علاوه بر برهم‌کنش‌های واندروالسی (نظیر پیوندهای هیدروژنی)، احتمال مشارکت نیروهای الکترواستاتیک نیز وجود دارد، در این مطالعه برای بررسی برهم‌کنش‌های الکترواستاتیک از پتانسیل کولمبی، و برای تحلیل برهم‌کنش‌های واندروالسی از پتانسیل لنارد-جونز (LJ) استفاده شد. نتایج مربوط به مقایسه سهم هریک از این برهم‌کنش‌ها در شکل ۹ ارائه شده است. همچنین مقدار این انرژی‌ها به‌همراه مقدار انرژی کل برهم‌کنش میان βCD و AC-βCD به‌عنوان میزبان‌های دارویی با ترکیبAMD، در جدول ۴ خلاصه شده است.



شکل ۹. مقایسه مقادیر انرژی وان‌درووالسی (نمودار قرمز) و الکترواستاتیک (نمودار آبی) در فرایند تشکیل کمپلکس بین AMD با βCD و AC-βCD)

چنانچه مشاهده می‌شود برهم‌کنش‌های واندروالسی (پیوندهای هیدروژنی)، نسبت به برهم‌کنش‌های الکترواستاتیکی، نقش مهم و اساسی در جای‌گیری AMD درون حفره‌ی βCD و AC-βCD ایفا می‌کنند. توافق این یافته با نتایج حاصل از داکینگ مولکولی نقش برجسته‌ی برهم‌کنش‌های واندروالسی را تایید می‌کند.

جدول ۴. مقادیر انرژی وان‌درووالسی، الکترواستاتیک و انرژی کل در فرایند تشکیل کمپلکس بین AMD با βCD و AC-βCD

سامانه		βCD: AMD	AC-βCD: AMD
میانگین انرژی برهم‌کنش (kJ/mol)	وان‌درووالسی	-۱۱۳/۹±۰۷/۲۴	-۱۴۷/۱۱±۶۹/۲۴
	کولمبی	-۵/۸±۳۵/۲۷	-۵/۱۰±۹۲/۲۴
	انرژی کل	-۱۳۸/۱۲±۴۲/۴۰	-۱۵۳/۱۵±۶۱/۱۳

بر اساس داده‌های جدول ۴، میانگین انرژی برهم‌کنش‌های واندروالسی، الکترواستاتیکی و همچنین انرژی کل کمپلکس در سامانه‌ی درهم‌جای AC-βCD:AMD منفی‌تر از کمپلکس درهم‌جای βCD:AMD است. این نتیجه بیانگر پایداری بالاتر کمپلکس تشکیل‌شده با βCD اصلاح‌شده در مقایسه با فرم طبیعی آن است. تطابق این یافته با نتایج مطالعات پیشین، بر اهمیت اصلاح ساختار سیکلودکسترین طبیعی برای طراحی حامل‌های دارورسانی مؤثرتر تأکید می‌کند.

۴-نتیجه‌گیری

این پژوهش به بررسی برهمکنش‌های مولکولی بین ترکیب آمیوداروون (AMD) به عنوان داروی ضدآریتمی قلب و سیکلودکسترین‌های طبیعی و اصلاح‌شده (βCD و AC-βCD) به‌عنوان حامل دارو پرداخته است. نتایج محاسبات داکینگ مولکولی و شبیه‌سازی دینامیک مولکولی نشان دادند که هر دو ترکیب βCD و AC-βCD توانایی مناسبی در کپسوله‌سازی AMD دارند، با این حال، کمپلکس حاصل از AC-βCD از پایداری بیشتری برخوردار است. اصلاح شیمیایی βCD با گروه‌های استیل باعث بهبود انرژی‌های برهم‌کنش و پایداری سامانه دارورسانی می‌شود. علاوه بر این، مقایسه انرژی‌های واندروالسی و الکترواستاتیکی حاکی از تأثیر غالب نیروهای واندروالسی در تعاملات بین دارو و حامل‌ها است. این یافته‌ها اهمیت اصلاح ساختار سیکلودکسترین‌ها به‌ویژه βCD را در طراحی حامل‌های دارویی مؤثرتر و پایدارتر نشان می‌دهد و می‌توانند به بهبود دارورسانی هدفمند و کاهش عوارض جانبی در درمان آریتمی‌های قلبی کمک کنند.

سپاسگزاری

از دانشگاه مازندران به دلیل حمایت از این پژوهش تشکر و قدردانی می‌شود.

*عهده‌دار مکاتبات

نشانی: ایران، استان مازندران، شهر بابلسر، دانشگاه مازندران، دانشکده شیمی، گروه شیمی فیزیک. پیام نگار: f.fateminasab@umz.ac.ir

مراجع

[1] D. Mukherjee, E. J. Topol, Prog. Cardiovasc. Dis. **44**, 479 (**2002**).
[2] N. Mujović, D. Dobrev, M. Marinković, V. Russo, T. S. Potpara, Pharmacol Res. **151**, 104521 (**2020**).
[3] X. D. Feng, X. N. Wang, X. H. Yuan, W. Wang, J. Thorac. Cardiovasc. Surg. **148**, 939 (**2014**).
[4] W. Wang, Y. Q. Mei, X. H. Yuan, X. D. Feng, J. Thorac. Cardiovasc. Surg. **151**, 80 (**2016**).
[5] A. Karakurt, C. Yildiz, A. Yildiz, H. S. Başbuğ, Int. J. Cardiovasc. Acad. **1**, 62 (**2015**).
[6] M. S. Ahmed, C. B. Rodell, M. Hulsmans, R. H. Kohler, A. D. Aguirre, M. Nahrendorf, R. Weissleder, Bioconjug. Chem. **30**, 733 (**2019**).
[7] G. Crini, Chem. Rev. **114**, 10940 (**2014**).

[8] F. Fateminasab, A. Bordbar, S. Shityakov, S. Gholami, J. Mol. Liq. **271**, 80 (**2018**).
[9] E. M. Del Valle, Process Biochem. **39**, 1033 (**2004**).
[10] A. Creteanu, D. Pamfil, C. Vasile, G. Tantaru, C. M. Ghiciuc, L. Ochiuz, A. Ghilan, A. M. Macsim, Int. J. Polym. Sci. **2019**, 1695189 (**2019**).
[11] C. M. Ghiciuc, M. R. Shleghm, C. Vasile, G. Tantaru, A. Creteanu, L. Ochiuz, Front. Pharmacol. **12**, 640705 (**2021**).
[12] O. M. Păduraru, A. Bosînceanu, G. Ţântaru, C. Vasile, Ind. Eng. Chem. Res. **52**, 2174 (**2013**).
[13] D. Wang, G. Chen, L. Ren, AAPS. PharmSciTech. **18**, 1526 (**2017**).
[14] A. M. Rubim, J.B. Rubenick, M. Maurer, L. V. Laporta, C. M. B. Rolim, Braz. J. Pharm. Sci. **53**, e16083 (**2017**).
[15] A. M. Rubim, J. B. Rubenick, L. O. Vendrame, I. Zanella, C. M. Rolim, C. R. Rhoden, J. Mol. Graph. Model. **126**, 108639 (**2024**).
[16] F. Fateminasab, A. Bordbar, B. Asadi, S. Shityakov, A. Z. Karizak, I. Mohammadpoor-Baltork, A. Saboury, Food Hydrocoll. **131**, 107731 (**2022**).
[17] S. Kim, J. Chen, T. Cheng, A. Gindulyte, J. He, S. He, Q. Li, B. A. Shoemaker, P. A. Thiessen, B. Yu, Nucleic. Acids. Res. **53**, D1516 (**2025**).
[18] A. K. Schmidt, S. Cottaz, H. Driguez, G. E. Schulz, Biochem. **37**, 5909 (**1998**).
[19] M. García-Valverde, N. Cordero, E. S. de la Cal, EDULEARN15. Proc. 1366 (**2015**) IATED.
[20] M. J. I. Frisch, Wallingford CT, gaussian 09, Revision d. 01, Gaussian, 201 (**2009**) Wallingford CT.
[21] G. M. Morris, R. Huey, W. Lindstrom, M. F. Sanner, R. K. Belew, D. S. Goodsell, A. J. Olson, J. Comput. Chem. **30**, 2785 (**2009**).
[22] D. B. Kitchen, H. Decornez, J. R. Furr, J. Bajorath, Nat. Rev. Drug Discov. **3**, 935 (**2004**).
[23] D. Van Der Spoel, E. Lindahl, B. Hess, G. Groenhof, A. E. Mark, H. J. Berendsen, J. Comput. Chem. **26**, 1701 (**2005**).
[24] J. Huang, A. D. MacKerell Jr, J. Comput. Chem. **34**, 2135 (**2013**).
[25] V. Zeote, M. A. Cuendet, A. Grosdidier, O. Michielin, J. Comp. Chem. **32**, 2359 (**2011**).
[26] P. Mark, L. Nilsson, J. Phys. Chem. A. **105**, 9954 (**2001**).
[27] K. Zimmermann, J. Comput. Chem. **12**, 310 (**1991**).
[28] B. Hess, C. Kutzner, D. Van Der Spoel, E. Lindahl, J. Chem. Theory Comput. **4**, 435 (**2008**).
[29] A. Mudi, C. Chakravarty, Mol. Phys. **102**, 681 (**2004**).
[30] M. Parrinello, A. Rahman, J. Appl. Phys. **52**, 7182 (**1981**).
[31] U. Essmann, L. Perera, M. L. Berkowitz, T. Darden, H. Lee, L. G. Pedersen, J. Chem. Phys. **103**, 8577 (**1995**).
[32] T. Darden, D. York, L. Pedersen, J. Chem. Phys. **98**, 10082 (**1993**).
[33] K. -Y. Hsin, S. Ghosh, H. Kitano, PloS. One. **8**, e83922 (**2013**).
[34] X. Cheng, I. Ivanov, Comput. Toxicol. **1**, 243 (**2012**).
[35] S. Ghahremanian, M. M. Rashidi, K. Raeisi, D. Toghraie, J. Mol. Liq. **354**, 118901 (**2022**).