


Molecular Engineering of Mono-Chlorotriazinyl-Functionalized Betacyclodextrin-Based Nanocarriers for Targeted Methotrexate Delivery: A Molecular Docking and Dynamics Simulation Study

Raziye Basiri¹, Parvin Asadi^{2,3*}  and Mohammad Dinari¹ 

1- Department of Chemistry, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

2- Department of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- Bioinformatics Research Center, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

* Corresponding author, Email: a.asadi@pham.mui.ac.ir

ABSTRACT

Introduction and Objectives: Betacyclodextrins, as drug carriers, increase the bioavailability of drugs. To enhance the stability of the complex and increase the aqueous solubility of poorly water-soluble drugs, the hydroxyl groups of the betacyclodextrin rings can be modified through chemical alterations. In this study, the interaction between the anticancer drug methotrexate and cyclodextrin, as well as cyclodextrin substituted with mono-chlorotriazinyl, was investigated via docking studies and molecular modeling.

Method: To determine the orientation and binding extent of methotrexate to cyclodextrin and to mono-chlorotriazinyl-substituted cyclodextrin, molecular docking calculations were performed using AutoDock 4.2 software. The study examined various positions of mono-chlorotriazinyl substitution on the cyclodextrin structure, and the best docked conformation obtained from the docking results was subjected to molecular dynamics simulations for 500 nanoseconds to assess the stability of the drug-carrier complex.

Results: The most favorable binding energy and conformer were for cyclodextrin bearing the mono-chlorotriazinyl substituent at glucose units 1, 2, and 5 (3-mct). Root mean square deviation plots and hydrogen-bond analyses derived from the molecular dynamics simulation of this complex, methotrexate was found to stabilize the complexes, and the complexes exhibited more negative van der Waals interaction energies compared to electrostatic interaction energies. Radius of gyration for the complexed state was slightly lower than for the free state, attributed to water molecules leaving the cavity and the replacement of methotrexate within the mct cavity at a 1:1 ratio. Additionally, the 3-mct substituent increases the accessible surface area for solvent molecules due to its three mono-chlorotriazinyl groups.

Conclusion: Based on the docking and molecular dynamics simulations analyses, cyclodextrins bearing the mono-chlorotriazinyl substituent display a greater capability to interact with methotrexate than native cyclodextrin, forming a more stable complex over 500 nanoseconds of simulation. Therefore, this 3-mct substituted betacyclodextrin is recommended for experimental studies.

Keywords: Molecular dynamics simulation, Betacyclodextrin, Targeted drug delivery, Molecular docking, Methotrexate.

How to Cite: Basiri R, Asadi P, Dinari M. Molecular engineering of mono-chlorotriazinyl-functionalized β -cyclodextrin-based nanocarriers for targeted methotrexate delivery: A molecular docking and dynamics simulation study. *J Adv Mater Eng.* 2026;46(3):1–14. <https://doi.org/10.47176/jame.46.3.1184>

مهندسی مولکولی نانوحامل‌های مبتنی بر بتاسیکلودکستین اصلاح‌شده با مونوکلروتری‌آزینیل برای دارورسانی هدفمند متوترکسات: مطالعه داکینگ و شبیه‌سازی دینامیک مولکولی

راضیه بصیری^۱، پروین اسدی^{۲*} و محمد دیناری^۱

۱- دانشکده شیمی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- مرکز تحقیقات بیوانفورماتیک، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

* نویسنده مسئول، پست الکترونیکی: asadi@pham.mui.ac.ir

چکیده

مقدمه و اهداف: بتاسیکلودکستین‌ها، به‌عنوان حامل‌های دارویی باعث افزایش زیست‌دستیابی داروها می‌شوند. به‌منظور افزایش پایداری کمپلکس و بالا بردن حلالیت داروهای کم‌محلول در آب می‌توان ساختار بتاسیکلودکستین را از طریق اصلاحات شیمیایی تغییر داد. در این مطالعه برهمکنش بین داروی ضد سرطان متوترکسات با سیکلودکستین و سیکلودکستین دارای استخلاف مونوکلروتری‌آزینیل از دیدگاه مولکولی بررسی شد.

روش کار: به‌منظور به‌دست آوردن نحوه جهت‌گیری و میزان اتصال داروی متوترکسات به سامانه، محاسبات داکینگ مولکولی توسط نرم‌افزار Auto Dock 4.2 انجام شد. این مطالعه برای موقعیت‌های مختلف استخلاف مونوکلروتری‌آزینیل روی ساختار سیکلودکستین بررسی شد و سپس بهترین کانفورمر به‌دست آمده، مورد مطالعات شبیه‌سازی دینامیک مولکولی در ۵۰۰ نانوثانیه قرار گرفت.

یافته‌ها: مناسب‌ترین انرژی اتصال و پیکربندی برای سیکلودکستین دارای استخلاف مونوکلروتری‌آزینیل روی گلوکزهای شماره ۱ و ۲ و ۵ (3-mct) بود. در نمودارهای ریشه میانگین مربعات انحراف و پیوندهای هیدروژنی کمپلکس 3-mct مشاهده شد که متوترکسات باعث پایدار شدن کمپلکس‌ها و انرژی برهمکنش و اندروالسی منفی‌تری نسبت به انرژی برهمکنش الکتروستاتیکی می‌شود. شعاع ژیراسیون برای حالت کمپلکس کمتر از حالت آزاد است که به‌دلیل خارج شدن مولکول‌های آب از درون حفره و جایگزینی داروی متوترکسات در حفره mct با نسبت ۱:۱ می‌باشد، همچنین در مشتق 3-mct، سطح قابل دسترس برای مولکول‌های حلال افزایش یافته است.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج به‌دست آمده، سیکلودکستین دارای استخلاف توانایی بهتری نسبت به سیکلودکستین آزاد در برهمکنش با داروی متوترکسات دارد و کمپلکس پایدارتری را در طول ۵۰۰ نانوثانیه شبیه‌سازی ایجاد می‌کند.

واژه‌های کلیدی: شبیه‌سازی دینامیک مولکولی، بتاسیکلودکستین، دارورسانی هدفمند، داکینگ مولکولی، متوترکسات.

۱- مقدمه

امروزه توسعه نانوحامل‌های کارآمد دارویی مبتنی بر سیکلودکسترین‌ها، به‌ویژه برای داروهای ضد سرطان توجه محققین زیادی را به خود جلب کرده‌اند. سیکلودکسترین‌ها، الیگوساکاریدهای حلقوی محلول در آب و غیرسمی هستند که از یک حلقه ماکروسیکلی شامل زیرواحدهای گلوکز تشکیل شده‌اند (۱). از نظر هندسی، سیکلودکسترین‌ها به‌شکل مخروطی با سطح بیرونی آب‌دوست و حفره چربی‌دوست هستند که با نگه‌داشتن مولکول‌های داروی آب‌گریز و رساندن آن‌ها به سطح غشای زیستی به‌عنوان حامل دارو عمل می‌کنند. مفیدترین ویژگی سیکلودکسترین‌ها برای ایجاد کمپلکس با دارو، اختلاف قطبیت بین داخل و خارج است (۲)؛ به‌همین دلیل سیکلودکسترین‌ها می‌توانند کمپلکس‌هایی را با ترکیبات مختلف جامد، مایع و گاز تشکیل دهند. سیکلودکسترین‌ها می‌توانند کمپلکس میزبان-مهمان را با استوکیومتری متفاوت ۱:۱، ۱:۲، ۱:۱ و ۲:۱ را ایجاد کنند که این استوکیومتری مختلف، به‌دلیل اندازه آن‌ها است که تناسب مهمان را در حفره مشخص می‌کند (۳). ایجاد کمپلکس سیکلودکسترین و دارو باعث حذف برخی از خصوصیات فیزیکی شیمیایی مولکول‌ها نظیر حلالیت کم در آب، مشکلات پایداری، ناسازگاری دارو و عوارض جانبی ناخواسته می‌شود (۴) و هزینه تولید پایین، ترکیب کارآمد با دارو به‌دلیل اندازه حفره عالی و ساختار پایدار بتاسیکلودکسترین، آن را به یک حامل دارویی مناسب تبدیل کرده است. به‌منظور افزایش پایداری کمپلکس و بالا بردن حلالیت داروهای کم‌محلول در آب، می‌توان گروه هیدروکسیل حلقه‌های بتاسیکلودکسترین را از طریق اصلاحات شیمیایی تغییر داد و سیکلودکسترین‌هایی با درجه‌های اختلاف متفاوت ایجاد کرد (۶ و ۷). درجه اختلاف یا درجه جانشینی یک پلیمر، میانگین تعداد گروه‌های هیدروکسیل در هر واحد تکرارشونده که با یک گروه معین جایگزین شده‌اند، تعریف می‌شود. براین اساس می‌توان مشتقات متعددی برای بتاسیکلودکسترین در نظر گرفت.

متوتروکسات^۱، یکی از مؤثرترین داروهای است که معمولاً

برای درمان سرطان پوست به‌صورت تزریق عضلانی استفاده می‌شود. با این حال، استفاده از آن به دلیل حلالیت کم، سمیت بالا و متابولیسم سریع محدود است. این دارو به‌طور انتخابی، سنتز DNA را مهار می‌کند و در نتیجه فعالیت میتوزی را کاهش می‌دهد. MTX یک داروی آگریز با نفوذپذیری کم است (۸).

امروزه شیمی محاسباتی برای بررسی رفتار مولکول‌های زیستی، به‌طور گسترده به‌کار برده می‌شود. استفاده از شیمی محاسباتی امکان پیش‌بینی نتایج تجربی را با هزینه و وقت کمتری فراهم می‌کند. رفتار سیکلودکسترین‌ها نیز با روش‌های محاسباتی متعددی بررسی شده است. برای مثال در یک مطالعه، پایداری ساختار بتاسیکلودکسترین در محیط‌های آبی مورد بررسی قرار گرفت که نتایج نشان داد این ساختار در محیط آبی و دمای ۳۰۰ کلوین پایدار است و پیوند هیدروژنی نقش مهمی در این پایداری دارد (۹). همچنین نفوذ ایوبروفن در بتاسیکلودکسترین با شبیه‌سازی دینامیک مولکولی^۲ بررسی شد و نتایج حاصل از شبیه‌سازی توافق خوبی با نتایج تجربی به‌دست داد (۱۱). علاوه‌براین، در بررسی برهمکنش داروهای مختلف با بتاسیکلودکسترین مشخص شد که هیدروفوبیسیته حفره بتاسیکلودکسترین، عامل جذب بهتر مولکول‌های دارویی آلی می‌باشد (۱۲). در مطالعه دیگری به کمک شبیه‌سازی MD مشخص شد اختلاف‌های ۱- هیدروکسی پروپیل و بوتیل سولفون‌شده در بتاسیکلودکسترین، موجب برهمکنش و جذب بهتر ترکیبات هیدروکربنی می‌شود (۱۰). در این مطالعه، برهمکنش داروی MTX به سیکلودکسترین و سیکلودکسترین دارای اختلاف مونوکلروتری‌آزینیل از طریق مطالعات داکینگ و شبیه‌سازی MD بررسی شد.

۲- مواد و روش‌ها

به‌منظور به‌دست آوردن نحوه جهت‌گیری و میزان اتصال داروی MTX به سیکلودکسترین و سیکلودکسترین دارای اختلاف مونوکلروتری‌آزینیل، محاسبات داکینگ مولکولی توسط نرم‌افزار Auto Dock 4.2 انجام شد (۱۳). این مطالعه برای موقعیت‌های

در این پژوهش، محاسبات داکینگ مولکولی توسط نرم‌افزار Auto Dock 4.2 برای اتصالات مولکولی سخت و انعطاف‌پذیر استفاده شد (سیکلودکسترین‌ها به‌عنوان مولکول سخت و داروی MTX به‌عنوان مولکول انعطاف‌پذیر در نظر گرفته شد و به همه پیوندهای پیچشی اجازه چرخش آزادانه داده شد). پس از آماده‌سازی فایل‌های ورودی مولکول میزبان (بتاسیکلودکسترین و ایزومرهای مختلف mct) و مولکول مهمان (MTX) به فرمت pdb، همه هیدروژن‌ها به سیستم‌ها اضافه شدند، سپس فایل‌های pdbqt برای تهیه فایل‌های مختصات همه پروتئین‌ها و لیگاند ذخیره شدند. اندازه جعبه مکعبی به ابعاد $45 \times 45 \times 45 \text{ \AA}^3$ و فاصله نقطه شبکه 0.375 \AA برای اطمینان از پوشش جامع تنظیم شد. در این مطالعه، از الگوریتم ژنتیک لامارکی در نرم‌افزار AutoDock 4.2 به‌صورت پیش‌فرض استفاده شد. پارامترهای پیش‌فرض این الگوریتم شامل تعداد نسل‌ها (۱۵۰ نسل)، تعداد جمعیت فرد (۱۵۰ فرد)، احتمال تقاطع (۰/۸) و احتمال جهش (۰/۰۲)، می‌باشد. همچنین، مقدار پارامتر کنترل‌کننده تغییرات جهش به‌صورت پیش‌فرض در محدوده ۰/۰۲ تنظیم شده و از تابع هدف مبتنی بر انرژی پیوندی برای ارزیابی و بهینه‌سازی موقعیت‌های پیوندی استفاده گردید. سپس برای هر پنج سیستم مورد نظر، ۲۰۰ داکینگ انجام شد که به‌ازای هر داکینگ، یک انرژی وجود دارد. انرژی اتصال هر ترکیب با استفاده از توابع رتبه‌بندی محاسبه شد و پیکربندی‌های حاصل، براساس انرژی اتصال آن‌ها از کمترین به بالاترین تنظیم شدند. در نهایت، موقعیت اتصال بهینه به‌عنوان ساختاری با کمترین انرژی آزاد اتصال و بیشترین جمعیت انتخاب شد.

MD روشی برای شبیه‌سازی حرکت مولکولی با استفاده از قوانین حرکت نیوتن است که اغلب برای مولکول‌های زیستی بزرگ مانند پروتئین‌ها یا نوکلئیک اسیدها استفاده می‌شود و در آن با مطالعه خواص میکروسکوپی در یک سیستم می‌توان به خواص ماکروسکوپی آن سیستم دست یافت. برای شروع شبیه‌سازی، ابتدا توپولوژی برای ساختار پروتئین و لیگاند تهیه می‌شود که این فایل متنی از سایت rcsb.org و SwissParam tool

مختلف استخلاف مونوکلوتری‌آزینیل روی ساختار سیکلودکسترین بررسی شد و سپس بهترین کانفورمر به‌دست‌آمده از نتایج داکینگ از نظر پایداری کمپلکس دارو و حامل مورد مطالعات شبیه‌سازی MD در ۵۰۰ نانوثانیه قرار گرفت. ابتدا ساختار بستر بتاسیکلودکسترین از سایت rcsb.org به‌صورت فایل متنی (پروتئین 7QFA با 2 \AA Resolution) استخراج شد (۱۴). بتاسیکلودکسترین به دلیل داشتن ۷ حلقه و وجود ۳ گروه هیدروکسیل روی هر حلقه، دارای ۲۱ گروه هیدروکسیل می‌باشد که به گروه هیدروکسیل در قسمت کوچک‌تر مخروط گروه هیدروکسیل اولیه گویند و به گروه‌های هیدروکسیل در قسمت بزرگ‌تر مخروط هیدروکسیل‌های ثانویه می‌گویند. داروی MTX دارای فرمول بسته $C_{20}H_{22}N_8O_5$ می‌باشد. برای ساختار دقیق آن از سایت pubchem (CID:126941) استفاده شد و برای رسم ساختار مولکول مونوکلوتری‌آزینیل بتاسیکلودکسترین^۳ از برنامه GaussView 5.0 استفاده شد که در آن هیدروکسیل اولیه که خاصیت نوکلئوفیلی و بازی زیادی نسبت به هیدروکسیل‌های ثانویه دارد، با مونوکلوتری‌آزینیل استخلاف شد. این استخلاف در موقعیت‌های مختلف سیکلودکسترین قرار گرفت و mct ایجاد شد. بستر mct با عدد استخلاف ۰/۴ دارای ۴ ایزومر مختلف می‌باشد؛ یعنی سه استخلاف مونوکلوتری‌آزینیلی می‌تواند به چهار حالت در وجه اولیه یا همان دهانه تنگ قرار بگیرد. حالت اول (mct1) اینکه سه استخلاف مونوکلوتری‌آزینیل روی گلوکزهای شماره ۱ و ۲ و ۳ به‌صورت پشت سر هم قرار بگیرند، حالت دوم (mct2) اینکه سه استخلاف مونوکلوتری‌آزینیل روی گلوکزهای شماره ۱ و ۲ و ۴ قرار بگیرند، حالت سوم (mct3) اینکه سه استخلاف مونوکلوتری‌آزینیل روی گلوکزهای شماره ۱ و ۲ و ۵ قرار بگیرند و حالت چهارم (mct4) اینکه سه استخلاف مونوکلوتری‌آزینیل روی گلوکزهای شماره ۱ و ۳ و ۵ به‌صورت یکی در میان قرار بگیرند. سپس با استفاده از برنامه Gaussian 09W هرکدام از ساختارها با استفاده از سطح محاسباتی B3LYP/6-311G(d) برای دستیابی به حداقل انرژی، بهینه شدند (۱۵).

جدول ۱- تعداد مولکول‌های حلال و یون‌ها و ابعاد جعبه برای سیستم‌های آزاد و کمپلکس

سیستم	تعداد مولکول‌های حلال	تعداد یون‌های Na^+	تعداد یون‌های Cl^-	ابعاد جعبه مکعبی $(\text{nm})^3$
free bcd	۱۳۹۳	۴	۴	$(۳/۵۶۷۱۹)^3$
bcd+mtx	۱۳۷۸	۴	۴	$(۳/۵۶۷۱۹)^3$
free mct1	۱۵۷۲	۵	۵	$(۳/۶۹۶۷۶)^3$
mct1+mtx	۱۶۱۱	۶	۵	$(۳/۷۶۹۶۶)^3$
free mct2	۱۹۱۷	۹	۹	$(۳/۹۵۹۲۳)^3$
mct2+mtx	۱۹۱۰	۷	۶	$(۳/۹۵۹۲۳)^3$
free mct3	۱۶۳۷	۵	۵	$(۳/۷۸۲۵۹)^3$
mct3+mtx	۱۶۱۸	۵	۵	$(۳/۸۴۲۵۴)^3$
free mct4	۱۶۳۳	۵	۶	$(۳/۷۵۵۸۱)^3$
mct4+mtx	۱۶۱۳	۵	۶	$(۳/۸۳۰۶۷)^3$

الکترواستاتیکی دوربرد توسط روش اندازه ذره ای ایوالد^۷ ارزیابی شد. یک دوره تولید برای به دست آوردن داده‌ها برای تجزیه و تحلیل در محلول آبی در طول زمان شبیه‌سازی ۵۰۰ نانوثانیه انجام شد. در نهایت پس از اجرای ۵۰۰ نانوثانیه شبیه‌سازی، سیکلودکستین بدون استخلاف و با استخلاف در دو حالت آزاد و کمپلکس از نظر ساختاری و برهمکنش مورد ارزیابی و تحلیل قرار گرفتند.

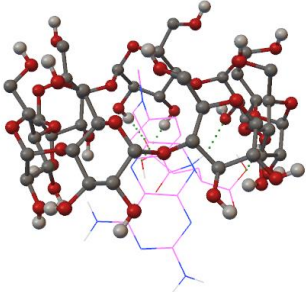
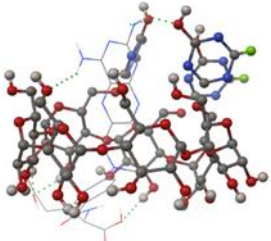
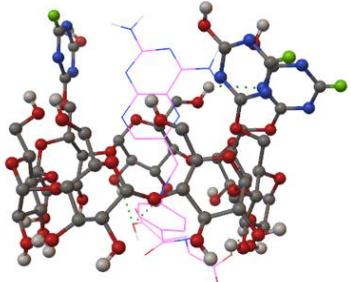
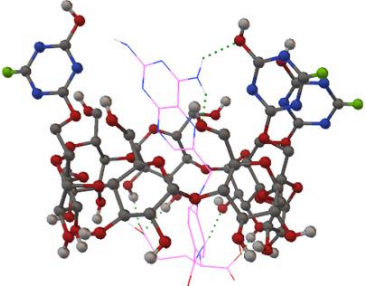
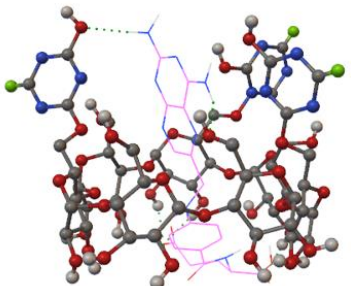
۳- نتایج و بحث

۳-۱- داکینگ مولکولی

در این مطالعه، به منظور شناسایی بهترین موقعیت‌های اتصال مولکول مهمان به بتاسیکلودکستین، ۲۰۰ پیکربندی متفاوت برای هر سیستم میزبان-مهمان مورد شبیه‌سازی قرار گرفت. پس از ارزیابی انرژی اتصال، ثابت بازدارندگی (k_i) و تعداد پیوندهای هیدروژنی، پیکربندی‌هایی با حداقل انرژی اتصال و بیشترین تعداد پیوند هیدروژنی به عنوان بهترین موقعیت‌های اتصال انتخاب شدند. این پیکربندی‌ها به طور متوسط دارای ثابت بازدارندگی پایین‌تر و انرژی اتصال منفی‌تر بودند که نشان‌دهنده پایداری بالاتر و قدرت اتصال قوی‌تر بین مولکول میزبان و مهمان است.

با فرمت pdb دانلود شد. در این مطالعه پس از انجام مراحل داکینگ مولکولی، بهترین موقعیت‌های اتصال به عنوان نقطه شروع برای شبیه‌سازی MD سیکلودکستین‌ها به کار گرفته شد. در سیستم‌های آزاد و کمپلکس، مدل بار نقطه ای ساده^۴ برای جعبه‌های آب استفاده شد (۱۶) و شبیه‌سازی‌های MD از طریق نرم‌افزار GROMACS 2022.6 و میدان نیروی Charmm36 به دست آمد (۱۷). طبق داده‌های جدول (۱)، ابعاد جعبه مکعبی برای شبیه‌سازی، تعداد مولکول‌های آب و یون‌ها برای سیکلودکستین‌های آزاد و کمپلکس در نظر گرفته شد. شرایط مرزی دوره‌ای در هر سه بعد فضایی اجرا شد. برای دستیابی به تعادل و آرامش در هر سیستم آزاد و کمپلکس، مرحله به حداقل رساندن انرژی با الگوریتم فرود برای ۱۰۰۰۰ مرحله انجام شد. در مرحله بعدی آماده‌سازی سیستم‌ها برای اجرای MD، سیستم تا ۳۱۰ کلوین گرم شد و توسط ترموستات نوس-هوور در دمای ثابت برای زمان شبیه‌سازی ۱۰ نانوثانیه در دما و حجم ثابت^۵ به تعادل رسید. سپس فشار این سیستم‌ها در یک اتمسفر توسط باروستات پارینلو-رحمان تنظیم و در شرایط دما و فشار ثابت^۶ به مدت ۱۰ نانوثانیه به تعادل رسید. (۱۸ و ۱۹). علاوه بر این، برهمکنش‌های واندروالس با استفاده از پتانسیل لارد-جونز محاسبه شد (۲۰)، در حالی که برهمکنش‌های

جدول ۲- بررسی ثابت بازدارندگی، انرژی اتصال و پیوند هیدروژنی اولین پیکربندی با کمترین انرژی در داکینگ مولکولی پنج سیستم

سیستم	انرژی اتصال (kcalmol ⁻¹)	ثابت بازدارندگی (uM)	تعداد پیوند هیدروژنی	شکل داکینگ مولکولی
bcd+drug	-۶/۷۶	۱۱/۱۴	۴	
mct1+drug	-۷/۳۷	۳/۹۴	۵	
mct2+drug	-۷/۲۷	۴/۷۱	۴	
mct3+drug	-۷/۴۶	۳/۳۸	۶	
mct4+drug	-۶/۹۸	۷/۶۶	۵	

نتایج نشان داد که حضور گروه‌های استخلاف کلروتری‌آزینیل روی بتاسیکلودکسترین، منجر به کاهش انرژی اتصال و کاهش ثابت بازدارندگی نسبت به بتاسیکلودکسترین بدون استخلاف می‌شود. این یافته نشان می‌دهد که گروه‌های استخلاف MCT باعث افزایش پایداری و قدرت اتصال مولکول مهمان به میزبان می‌شوند. افزایش پایداری می‌تواند ناشی از تقویت تعاملات غیرکووالانسی مانند پیوند هیدروژنی، تعاملات دایپیل-دایپیل و همچنین بهبود سازگاری فضایی و الکترواستاتیکی بین مولکول‌ها باشد. در بین سه ایزومر مونوکلروتری‌آزینیل (MCT1، MCT2 و MCT3)، ایزومر سوم (MCT3)، به‌عنوان بهترین پیکربندی شناسایی شد. این ایزومر دارای کمترین انرژی اتصال (۷/۴۶- کیلوکالری برمول) و بیشترین تعداد پیوند هیدروژنی (شش پیوند) می‌باشد (۶).

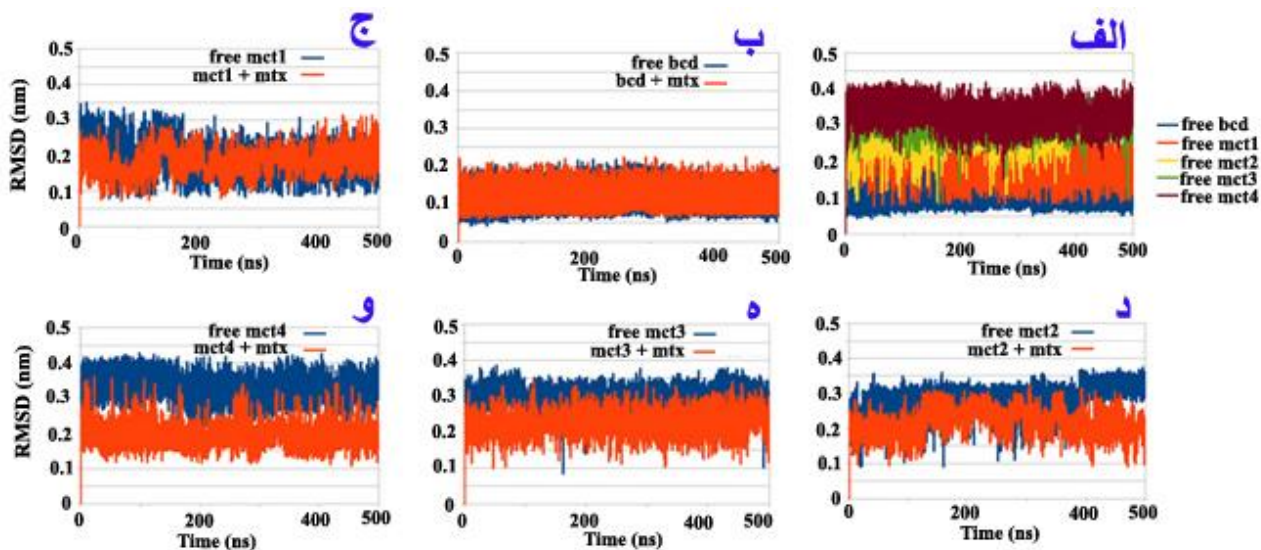
۳-۲- مطالعات شبیه‌سازی MD

بعد از انجام داکینگ، شبیه‌سازی MD هر کدام از سیستم‌ها در ۵۰۰ نانوثانیه انجام شد و سپس به‌منظور درک رفتار سیستم در این بازه زمانی، آنالیزهای ساختاری شامل ریشه میانگین مربعات انحراف^۱، سطح قابل دسترس حلال^۲، تابع توزیع شعاعی^{۱۰} یا شعاع ژیراسیون^{۱۱} و همچنین آنالیز برهمکنش‌ها شامل پیوندهای هیدروژنی انجام شد.

ریشه میانگین مربعات انحراف (RMSD)

RMSD یک اندازه‌گیری رایج در شبیه‌سازی MD برای ارزیابی پایداری و تغییرات ساختاری مولکول‌ها در طول زمان شبیه‌سازی است و در مطالعه رفتار و میل پیوندی بین داروها و هدف‌ها مفید است. نمودار RMSD باید افت و خیزهای محدود و قابل‌قبولی داشته باشد و هرچه مقدار RMSD کمتر باشد یعنی سیستم پایدارتر است (۲۱-۲۳). در این مطالعه RMSD ساختارهای مختلف سیکلودکسترین در حضور و عدم حضور دارو در طول زمان شبیه‌سازی ۵۰۰ نانوثانیه تجزیه و تحلیل شد. همان‌طور که در شکل (۱) مشاهده می‌شود، RMSDهای اتم‌های

سیکلودکسترین‌ها در طول کل زمان شبیه‌سازی در یک موقعیت اتصال پایدار با نوسانات کم باقی می‌مانند. بالاترین و کمترین مقادیر نوسانات RMSD، به‌ترتیب برای free mct4 و free bcd نشان می‌دهد که در بین هر پنج سیکلودکسترین، نمونه free mct4 بیشترین انعطاف‌پذیری ساختاری (RMSD = 0.37 nm) و free bcd بیشترین ثبات ساختاری را در طول زمان شبیه‌سازی دارد؛ ثبات ساختاری به این معنا است که ترکیب موردنظر در حالت آزاد تمایل زیادی برای تشکیل کمپلکس با مولکول دارو ندارد. در شکل (۱-الف)، حالت آزاد و کمپلکس bcd در طول زمان شبیه‌سازی ۵۰۰ نانوثانیه با یکدیگر مقایسه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود مقدار RMSD برای حالت آزاد و کمپلکس bcd خیلی تفاوتی با همدیگر ندارند و برای هر دو در حدود ۰/۱۵ نانومتر می‌باشد، پس می‌توان نتیجه گرفت که بستر bcd آزاد، در مقایسه با بستر bcd استخلاف‌شده، تمایل زیادی برای تشکیل کمپلکس ندارد زیرا با ایجاد برهمکنش و تشکیل کمپلکس بین سامانه و دارو، میزان RMSD باید کاهش پیدا می‌کرد. در شکل (۱-ب) مشاهده می‌شود که mct1 در ابتدای نمودار یعنی از ۰ تا ۲۵۰ نانوثانیه، نوسانات زیادی در RMSD دارد، درحالی‌که پس از ۲۵۰ نانوثانیه، اتم‌های mct1 در یک موقعیت پایدار مانده‌اند و بنابراین RMSDها به تعادل رسیده‌اند. در شکل‌های (۱-ج) تا (۱-و) مشاهده می‌شود که در طول کل زمان شبیه‌سازی ۵۰۰ نانوثانیه، نوسانات نمودار mct2، mct3 و mct4 محدود و قابل‌قبول است (کمتر از ۰/۳ نانومتر) و مقدار RMSD برای حالت کمپلکس (۰/۲ نانومتر) کمتر از حالت آزاد (در محدوده ۰/۲ تا ۰/۴ نانومتر) می‌باشد. درنهایت می‌توان نتیجه گرفت که ایزومرهای مختلف mct تمایل زیادی برای تشکیل کمپلکس با مولکول MTX دارند. همان‌طور که مشاهده می‌شود میانگین RMSD برای حالت آزاد و کمپلکس bcd و ایزومر mct1 تفاوت معناداری با همدیگر ندارند ولی برای سایر ایزومرهای mct، اعداد RMSD برای حالت کمپلکس با MTX کمتر از حالت آزاد می‌باشد و می‌توان نتیجه گرفت که وجود MTX، ساختار سیکلودکسترین‌ها را پایدار می‌کند.



شکل ۱- نمودار RMSD برای الف: حالت آزاد bcd و ایزومرهای مختلف mct، ب: برای حالت آزاد و حالت کمپلکس bcd، ج: حالت آزاد و حالت کمپلکس mct1، د: حالت آزاد و حالت کمپلکس mct2، ه: حالت آزاد و حالت کمپلکس mct3، و: حالت آزاد و حالت کمپلکس mct4 در طول زمان شبیه‌سازی ۵۰۰ نانوثانیه.

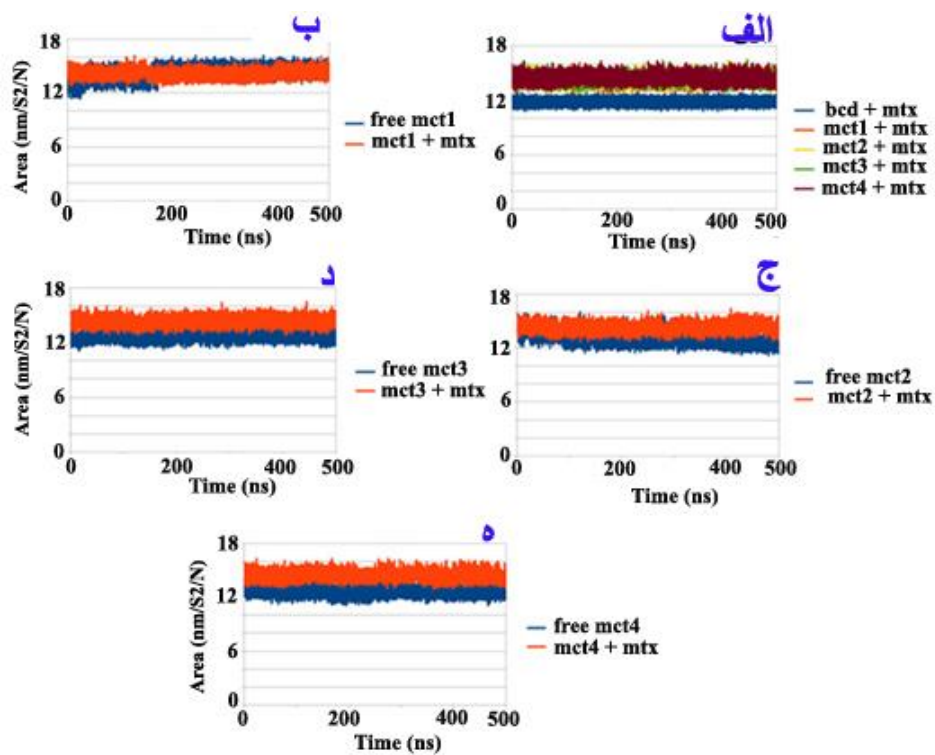
از حالت کمپلکس می‌باشد و بعد از این زمان، مقدار SASA برای حالت آزاد بیشتر از حالت کمپلکس می‌شود که این رفتار احتمالاً به دلیل بیرون رفتن مولکول‌های آب از حفره بتاسیکلودکسترین و ایجاد برهمکنش قوی‌تر با دارو می‌باشد (شکل ۲-ب). نکته جالب این است که در سایر ایزومرها (mct2، mct3 و mct4)، مقدار SASA در کل زمان شبیه‌سازی برای حالت کمپلکس بیشتر از حالت آزاد می‌باشد (شکل ۲-ج تا ۲-ه). دلیل این تفاوت ممکن است تغییر در پیکربندی mct و بازشدن آن در حضور لیگاند (MTX) و همچنین وارد شدن تعدادی از مولکول‌های آب به درون حفره همراه با داروی MTX باشد و در نتیجه سطح بیشتری از مولکول سیکلودکسترین در تماس با مولکول‌های حلال بیشتری می‌باشد.

فاصله بین مرکز جرم سیکلودکسترین و لیگاند

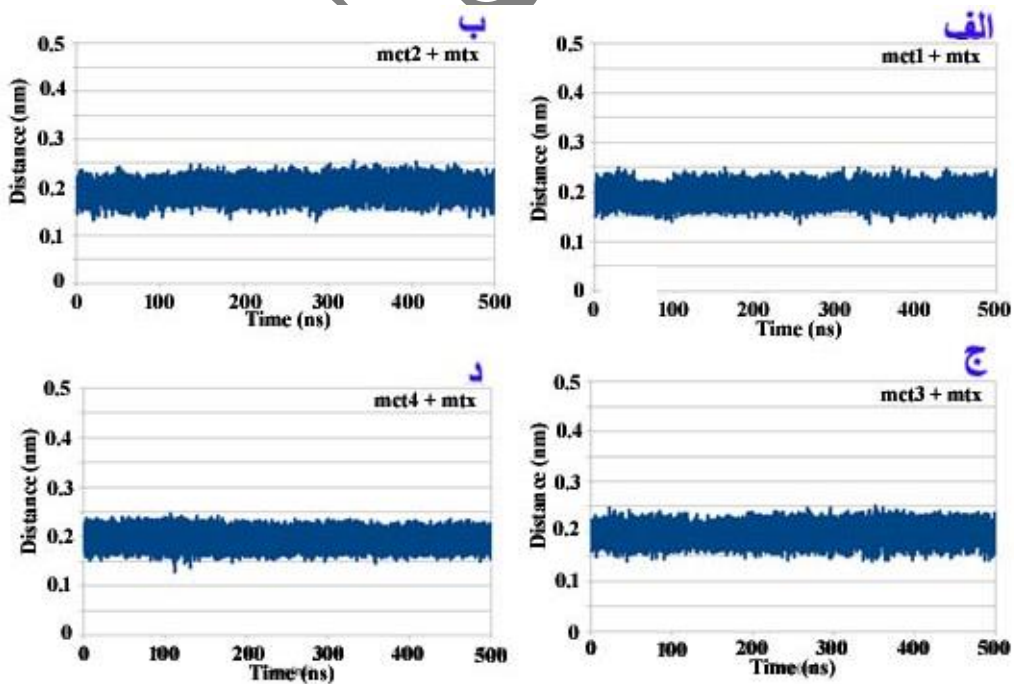
فاصله بین مرکز جرم سیکلودکسترین‌ها و لیگاند (داروی MTX) بررسی (طبق شکل ۳) و مشخص شد برای همه کمپلکس‌های mct در کل زمان شبیه‌سازی ۵۰۰ نانوثانیه، تقریباً در محدوده یکسانی (۰/۱۳ تا ۰/۲۵ نانومتر) نوسان می‌کند که این افت و خیز

سطح قابل دسترس حلال (SASA)

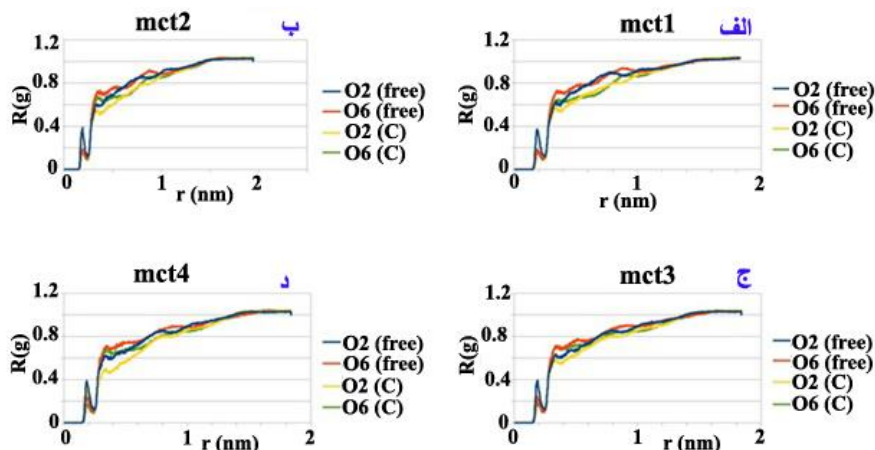
SASA سطحی از مولکول‌های زیستی است که در دسترس حلال است و به‌طور طبیعی با اندازه هسته ماکرومولکول متناسب است (۲۴). نوسانات گسترده در SASA معمولاً نشان می‌دهد که ساختار پایدار نیست، درحالی‌که نوسانات کوچک SASA نشان‌دهنده پایداری نسبتاً بالای ساختار است. همان‌طور که در شکل (۲-الف) مشاهده می‌شود، مقدار SASA برای کمپلکس ایزومرهای مختلف mct با MTX به دلیل وجود سه استخلاف مونوکلروتری‌آزینیلی و در نتیجه افزایش سطح مولکول، بیشتر از مقدار SASA برای کمپلکس بتاسیکلودکسترین با MTX می‌باشد. به‌طور کلی وقتی مولکول میهمان (دارو) بخواهد وارد حفره سیکلودکسترین شود، تعدادی از مولکول‌های آب از درون حفره خارج می‌شوند؛ در نتیجه انتظار می‌رود که سطح قابل دسترس حلال برای مولکول سیکلودکسترین، در حالت کمپلکس کمتر از حالت آزاد باشد (۲۵). تغییرات SASA برای mct آزاد و کمپلکس با MTX در کل زمان شبیه‌سازی ۵۰۰ نانوثانیه محاسبه شد. مشاهده می‌شود که برای ایزومر اول (mct1) از ابتدای زمان شبیه‌سازی تا ۱۸۰ نانوثانیه، مقدار SASA برای حالت آزاد کمتر



شکل ۲- نمودار SASA برای، الف: کمپلکس ایومرهای مختلف met و کمپلکس بتاسیکلودکسترین با MTX،
 ب: برای حالت آزاد و کمپلکس met1، ج: حالت آزاد و حالت کمپلکس met2، د: حالت آزاد و حالت کمپلکس met3،
 ه: حالت آزاد و حالت کمپلکس met4 در طول زمان شبیه سازی ۵۰۰ نانوثانیه.



شکل ۳- نمودارهای فاصله مرکز جرم برای کمپلکس های مختلف met با MTX در زمان شبیه سازی ۵۰۰ نانوثانیه.



شکل ۴- نمودار RDF مولکول‌های آب در اطراف اتم اکسیژن (O₂ و O₆)
 الف: mct1، ب: mct2، ج: mct3، د: mct4 در حالت آزاد و حالت کمپلکس با MTX.

می‌شود که نمودار حالت کمپلکس کمی پایین‌تر از نمودار حالت آزاد است که به دلیل خارج شدن مولکول‌های آب از درون حفره و جایگزین شدن مولکول MTX می‌باشد. همچنین در محدوده ۰/۲ نانومتری (اولین قله)، مشاهده می‌شود که قله مربوط به O₂ کمی بالاتر از قله مربوط به O₆ می‌باشد؛ زیرا O₂ هیدروکسیل ثانویه در وجه ثانویه (قسمت بزرگتر مخروط) و O₆ هیدروکسیل اولیه در وجه اولیه (قسمت کوچکتر مخروط) قرار دارد و تعداد مولکول‌های آب در دسترس قسمت بزرگتر مخروط بیشتر از تعداد مولکول‌های آب در دسترس قسمت کوچکتر مخروط می‌باشد. همچنین می‌توان قله دوم و سوم که به ترتیب مربوط به لایه اول و دوم مولکول‌های آب اطراف سیکلودکستین هستند، را با همدیگر مقایسه کرد؛ به این صورت که مقدار $g(r)$ قله سوم از مقدار $g(r)$ قله دوم بیشتر است که می‌توان دلیل آن را قرار گرفتن تعداد بیشتر مولکول‌های آب در فاصله دورتر بیان کرد.

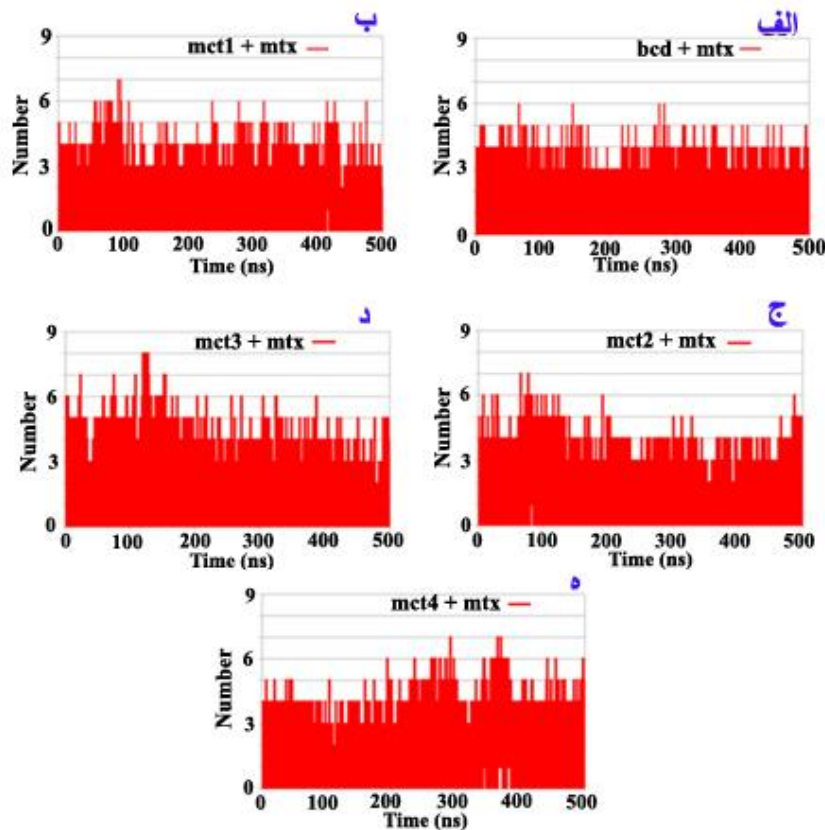
آنالیز برهم‌کنش‌ها: پیوند هیدروژن، (H-Bonds)، پیوند کووالانسی و واندوالسی

پیوندهای هیدروژنی بین مولکولی نقش کلیدی در پایداری کمپلکس‌ها، فراهمی زیستی و انتقال دارو در سیستم‌های زیستی دارند. در شبیه‌سازی MD به‌علت پویابودن سیستم، در هر لحظه

پایدار و کم نشان‌دهنده کمپلکس پایدار است (۲۶)؛ به عبارتی در هیچ زمانی از زمان شبیه‌سازی فاصله بین مرکز جرم mctها و MTX آنقدر زیاد نشده که پیوند هیدروژنی از بین برود.

تابع توزیع شعاعی (RDF)

از نظر محاسباتی، RDF یا $g(r)$ به‌عنوان میانگین تعداد اتم‌هایی که در فاصله r از یک اتم مرجع یافت می‌شوند، تعریف می‌شود. در این پژوهش RDF برای توزیع تعداد مولکول‌های آب که تقریباً در فاصله دو نانومتری از اتم‌های O₂ و O₆ سیکلودکستین‌ها قرار دارند، بیان می‌شود. نمودار RDF برای همه سیستم‌ها، سه قله را نشان می‌دهد؛ اولین قله مربوط به مولکول‌های آب است که در نزدیکی حفره قرار دارند و دو قله دیگر که گسترده‌اند و به سمت راست منتقل شده‌اند، لایه‌های اول و دوم مولکول‌های آب را در اطراف مولکول‌های سیکلودکستین نشان می‌دهند. این قله‌ها به ترتیب در محدوده ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۸ نانومتری قرار دارند. حداکثر مقدار $g(r)$ برای اتم‌های O₂ و O₆ در محدوده ۰/۲ نانومتر است؛ در نتیجه این اتم‌های اکسیژن بیشترین تعداد پیوند هیدروژنی را با مولکول‌های آب دارند. نمودارهای RDF در شکل (۴)، اطلاعات ارزشمندی در مورد آرایش مولکول‌های آب در داخل حفره و اطراف سیکلودکستین‌ها نشان می‌دهد. در همه این نمودارها مشاهده



شکل ۵- نمودار تغییر تعداد پیوند هیدروژنی برای سیستم، الف: بتاسیکلودکستین و داروی MTX، ب: کمپلکس mct1، ج: کمپلکس mct2، د: کمپلکس mct3، ه: کمپلکس mct4 در طول زمان شبیه‌سازی ۵۰۰ نانوثانیه.

از نمودار افت و خیز زیادی که بیانگر عدم وجود پیوند هیدروژنی باشد، مشاهده نمی‌شود. حداکثر تعداد پیوند هیدروژنی در این سیستم‌ها از سیستم بتاسیکلودکستین بدون استخلاف (شکل ۵-الف) بیشتر می‌باشد. همانطور که در شکل (۵-ب) تا (۵-ه) دیده می‌شود، حداکثر تعداد پیوند هیدروژنی برای سیستم‌های mct1+mtx، mct2+mtx و mct4+mtx هفت عدد و برای سیستم mct3+mtx هشت عدد می‌باشد که می‌توان نتیجه گرفت که سیستم mct3+mtx نسبت به بقیه سیستم‌ها کمی پایدارتر است. در ادامه تعامل میزبان-مهمان و میزبان-حلال براساس تعداد پیوندهای هیدروژنی مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده شد که وقتی لیگاند (MTX) حضور دارد، میانگین تعداد پیوند هیدروژنی بین سیکلودکستین و حلال نسبت به وقتی که لیگاند حضور ندارد، کمتر شده است؛ زیرا وقتی لیگاند می‌خواهد در حفره سیکلودکستین قرار بگیرد، باید تعدادی از مولکول‌های حلال از

آنها از همدیگر دور یا نزدیک می‌شوند؛ در نتیجه تعداد پیوندهای هیدروژنی در هر لحظه تغییر می‌کند (۲۷). طبق شکل (۵-الف) مشاهده می‌شود که نمودار پیوند هیدروژنی بتاسیکلودکستین با داروی MTX پیوسته است و در نمودار گسستگی مشاهده نمی‌شود، یعنی پیوندهای هیدروژنی در کل زمان شبیه‌سازی ۵۰۰ نانوثانیه پایدار می‌باشد و حداکثر تعداد پیوند هیدروژنی در این سیستم شش عدد می‌باشد. طبق شکل (۵-ب) تا (۵-ه)، مشاهده می‌شود که نمودارهای پیوند هیدروژنی بتاسیکلودکستین‌های استخلاف‌دار شده با داروی MTX پیوسته است و جایی از نمودار گسسته نمی‌باشد، یعنی پیوندهای هیدروژنی در کل زمان شبیه‌سازی ۵۰۰ نانوثانیه برقرار می‌باشد، همچنین پیوستگی نمودار پیوند هیدروژنی با داده‌های فاصله بین مرکز جرم سیکلودکستین و لیگاند همخوانی دارد، چون فاصله مرکز جرم mct و MTXها در محدوده خاصی نوسان می‌کند و در هیچ جایی

جدول ۳- بررسی میانگین برهم کنش های واندروالس و الکتروستاتیکی (کیلوژول بر مول) کمپلکس های مختلف بتاسیکلودکسترین (bcd) و mct با MTX در طول زمان شبیه سازی ۵۰۰ نانوثانیه

سیستم	میانگین برهمکنش الکتروستاتیکی (kJ/mol)	میانگین برهمکنش واندروالسی (kJ/mol)
bcd+mtx	-۳۷/۰۱±۱۹	-۱۳۹/۲۱±۱۰
mct1+mtx	-۵۲/۲۱±۳۳	-۱۵۹/۰۳±۱۴
mct2+mtx	-۴۴/۱۹±۲۹	-۱۶۸/۱۹±۱۵
mct3+mtx	-۴۰/۶۸±۲۱	-۱۸۵/۱۴±۱۱
mct4+mtx	-۵۵/۰۳±۲۰	-۱۸۵/۶۵±۱۱

درون حفره بیرون آیند تا فضا برای دارو فراهم شود و دارو در حفره قرار بگیرد (۲۸).

در شبیه سازی MD، برهمکنش الکترواستاتیکی دوربرد توسط روش Particle Mesh Ewald و برهم کنش های واندروالس توسط پتانسیل لنارد-جونز ارزیابی می شود. در حالت کلی، کمپلکس ها انرژی برهم کنش واندروالسی منفی تری را در مقایسه با انرژی برهم کنش الکترواستاتیکی نشان می دهند؛ در نتیجه برهمکنش های واندروالسی، نقش مهمی در گنجاندن MTX در حفره سیکلودکسترین ها دارند. در جدول (۳) انرژی برهم کنش های واندروالس و الکتروستاتیکی را در پنج کمپلکس با همدیگر مقایسه شده است. همان طور که مشاهده می شود کمپلکس ایزومرهای مختلف mct، انرژی واندروالسی و الکتروستاتیکی منفی تری نسبت به کمپلکس bcd دارند؛ یعنی ایزومرهای mct نسبت به bcd تمایل بیشتری برای حفظ و نگهداری داروی MTX دارند و از میان ایزومرهای mct، کمپلکس mct4+mtx منفی ترین مقادیر انرژی برهم کنش واندروالس (-۱۸۵/۶۵ کیلوژول بر مول) و الکترواستاتیک (-۵۵/۰۳ کیلوژول بر مول) را دارد که نشان دهنده میل اتصال بهتر و قابلیت تشکیل پیوندهای هیدروژنی قوی تر با MTX است. کمپلکس bcd+mtx مقادیر انرژی برهمکنش واندروالس (-۱۳۹/۲۱ کیلوژول بر مول) و الکترواستاتیک (-۳۷/۰۱ کیلوژول بر مول) را در بین این پنج کمپلکس دارد که نشان می دهد میل کمتری برای اتصال و تشکیل کمپلکس با MTX دارد. از این داده ها می توان نتیجه گرفت که

داروی MTX در کل زمان شبیه سازی ۵۰۰ نانوثانیه از درون حفره بستر سیکلودکسترین خارج نشده است.

براساس نتایج به دست آمده از هر دو مطالعه، بتاسیکلو دکسترین استخلاف شده mct به ویژه ایزومر mct-3 در برهمکنش با MTX مؤثرتر می باشد و می تواند کاندید بهتری برای دارورسانی MTX نسبت به بتاسیکلودکسترین بدون استخلاف باشد. نتایج به دست آمده از این مطالعه در توافق با مطالعات قبلی روی سامانه های سیکلودکسترینی می باشد. برای مثال در یک مطالعه ای که در سال ۲۰۱۸ انجام شد بتاسیکلودکسترین های استخلاف شده پایداری کمپلکس با داروهای ضدسرطان مانند داکسوروبیسین را به طور معناداری افزایش داد (۲۹). همچنین در مطالعه ای دیگر مشاهده شد که استخلاف الکترون کشنده کلر در ساختار بتاسیکلودکسترین، تعاملات این سامانه ها را با داروها تقویت می کند و پایداری کمپلکس را افزایش می دهد (۳۲-۳۰).

۴- نتیجه گیری

در این پروژه برهمکنش داروی متوتروکسات با سیستم های بتا سیکلودکسترینی آزاد و استخلاف شده با مطالعات داکینگ و شبیه سازی دینامیک مولکولی مورد بررسی قرار گرفت. براساس نتایج به دست آمده از هر دو مطالعه، بتاسیکلو دکسترین استخلاف شده mct، به ویژه ایزومر mct-3 در برهمکنش با متوتروکسات مؤثرتر می باشد و می تواند کاندید بهتری برای دارورسانی متوتروکسات نسبت به بتاسیکلودکسترین بدون استخلاف باشد.

تشکر و سپاسگزاری

این تحقیق حمایت خاصی از مؤسسات عمومی، صنعتی و غیرانتفاعی دریافت نکرده است. با تشکر از خانم دکتر نجمه فانی که در انجام محاسبات و فراهم کردن رایانه محاسباتی کمک کردند.

منافعی در خصوص پژوهش حاضر وجود ندارد.

سهم نویسندگان

راضیه بصیری: جمع‌آوری داده‌ها، تحلیل و تفسیر داده‌ها، مدیریت منابع. پروین اسدی: طراحی و ایده‌پردازی مطالعه، راهنمایی پروژه، اعتبارسنجی نتایج. محمد دیناری: راهنمایی پروژه، اعتبارسنجی نتایج، مدیریت منابع.

تعارض منافع

بدین‌وسیله نویسندگان تصریح می‌نمایند که هیچگونه تضاد

واژه‌نامه

1. Methotrexate (MTX)
2. molecular dynamics (MD)
3. mono chloro triazine beta cyclodextrin (mct)
4. simple point charge (SPC)
5. NVT ensemble
6. NPT ensemble
7. particle mesh Ewald (PME)
8. root mean square deviation (RMSD)
9. solvent accessible surface area (SASA)
10. radial distribution function (RDF)
11. radius of gyration (Rg)

مراجع

1. Braga SS. Cyclodextrin superstructures for drug delivery. *J Drug Del Sci Tech.* 2022;75:103650. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2022.103650>
2. Ho S, Thoo YY, Young DJ, Siow LF. Cyclodextrin encapsulated catechin: Effect of pH, relative humidity and various food models on antioxidant stability. *LWT-Food Sci Technol.* 2017;85:232-9. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.07.028>
3. Koester LS, Guterres SS, Le Roch M, Eifler-Lima VL, Zuanazzi JA, Bassani VL. Ofloxacin/ β -cyclodextrin complexation. *Drug Dev Indust Pharm.* 2001;27(6):533-40. <https://doi.org/10.1081/DDC-100105178>
4. Irie T, Uekama K. Cyclodextrins in peptide and protein delivery. *Adv. Drug Del Rev.* 1999;36(1):101-23. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(98\)00057-X](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(98)00057-X)
5. Kali G, Haddadzadegan S, Bernkop-Schnürch A. Cyclodextrins and derivatives in drug delivery: New developments, relevant clinical trials, and advanced products. *Carbohydr Polym.* 2024;324:121500. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2023.121500>
6. Li P, Song J, Ni X, Guo Q, Wen H, Zhou Q, et al. Comparison in toxicity and solubilizing capacity of hydroxypropyl- β -cyclodextrin with different degree of substitution. *Int J Pharm.* 2016;513(1-2):347-56. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.09.036>
7. Peimanfard S, Zarrabi A, Trotta F, Matencio A, Cecone C, Caldera F. Developing novel hydroxypropyl- β -cyclodextrin-based nanospheres as carriers for anticancer hydrophobic agents: overcoming limitations of host-guest complexes in a comparative evaluation. *Pharmaceutics* 2022;14(5):1059. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14051059>
8. Tran TT, Nguyen MT, Luong TH, Nguyen DT, Truong MD, Le Thi P, et al. Syringeable hydrogel based β -cyclodextrin and mixed micelles for methotrexate delivery. *J Drug Del Sci Tech.* 2024;92:105299. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2023.105299>
9. Lawtrakul L, Viernstein H, Wolschann P. Molecular dynamics simulations of β -cyclodextrin in aqueous solution. *Int j pharm.* 2003; 256(1-2):33-41. [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(03\)00060-7](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(03)00060-7)
10. Erdős M, Frangou M, Vlugt TJ, Moulto OA. Diffusivity of α -, β -, γ -cyclodextrin and the inclusion complex of β -cyclodextrin: Ibuprofen in aqueous solutions; A molecular dynamics simulation study. *Fluid Phase Equ.* 2021;528:112842. <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2020.112842>
11. Erdős M, Frangou M, Vlugt TJ, Moulto OA. Diffusivity of α -, β -, γ -cyclodextrin and the inclusion complex of β -cyclodextrin: Ibuprofen in aqueous solutions; A molecular dynamics simulation study. *Fluid Phase Equilibria.* 2021;528:112842. <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2020.112842>
12. Yan X, Wang Y, Meng T, Yan H. Computational insights into the influence of substitution groups on the inclusion complexation of β -cyclodextrin. *Front*

- Chem. 2021;9:668400.
<https://doi.org/10.3389/fchem.2021.668400>
13. Asadi P, Khodarahmi G, Farrokhpour H, Hassanzadeh F, Saghaei L. Quantum mechanical/molecular mechanical and docking study of the novel analogues based on hybridization of common pharmacophores as potential anti-breast cancer agents. *Res Pharm Sci.* 2017;12(3):233-240. <https://doi.org/10.4103/1735-5362.207204>
 14. Semrau MS, Giachin G, Covaceuszach S, Cassetta A, Demitri N, Storici P, et al. Molecular architecture of the glycogen-committed PP1/PTG holoenzyme. *Nature Comm.* 2022;13(1):6199. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-33693-z>
 15. Omid M, Soroushmanesh M, Khodarahmi G, Asadi P. Molecular docking, DFT calculation and molecular dynamics simulation of Triazine-based covalent organic framework as a nanocarrier for delivering anti-cancer drug. *Sci Rep.* 2025;15(1):42098. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-26133-7>
 16. Zielkiewicz J. Structural properties of water: Comparison of the SPC, SPCE, TIP4P, and TIP5P models of water. *J Chem Phys.* 2005;123(10). <https://doi.org/10.1063/1.2018637>
 17. Boczar D, Michalska K. Investigation of the affinity of ceftobiprole for selected cyclodextrins using molecular dynamics simulations and HPLC. *Int J Mol Sci.* 2023;24(23):16644. <https://doi.org/10.3390/ijms242316644>
 18. Hoover WG. Canonical dynamics: Equilibrium phase-space distributions. *Phys Rev A* 1985;31(3):1695. DOI: <https://doi.org/10.1103/PhysRevA.31.1695>
 19. Parrinello M, Rahman A. Polymorphic transitions in single crystals: A new molecular dynamics method. *J Appl Phys.* 1981;52(12):7182-90. <https://doi.org/10.1063/1.328693>
 20. Erdős M, Frangou M, Vlugt TJ, Moulton OA. Diffusivity of α -, β -, γ -cyclodextrin and the inclusion complex of β -cyclodextrin: Ibuprofen in aqueous solutions; A molecular dynamics simulation study. *Fluid Phase Equ.* 2021;528:112842. <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2020.112842>
 21. Bayat F, Homami SS, Monzavi A, Talei Babil Olyai MR. A combined molecular docking and molecular dynamics simulation approach to probing the host-guest interactions of Ataluren with natural and modified cyclodextrins. *Mol Simul.* 2022;48(2):108-19. <https://doi.org/10.1080/08927022.2021.1991921>
 22. Wu N, Zhang R, Peng X, Fang L, Chen K, Jestilä JS. Elucidation of protein-ligand interactions by multiple trajectory analysis methods. *Phy Chem Chem Phy.* 2024;26(8):6903-15. <https://doi.org/10.1039/D3CP03492E>
 23. Safdarianghomsheh A, Fateminasab F. Molecular insight into inclusion complex formation between lefamulin and natural and modified Cyclodextrins to improve drug delivery. *Res Chem.* 2025:102749. <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2025.102749>
 24. Fateminasab F, Bordbar AK, Shityakov S, Saboury AA. Comprehensive physico-chemical characterization of a serotonin inclusion complex with 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin. *J Sol Chem.* 2020;49(7):915-44. <https://doi.org/10.1007/s10953-020-00997-x>
 25. Zamani F, Dinari M, Yazdani A, Asadi P. Monochlorotriazinyl- β -cyclodextrin as a promising nanocarrier for pH-responsive doxorubicin delivery: Simulation and experimental validation. *Carbohydr Polym Technol Appl.* 2025;10:100876. <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2025.100876>
 26. Kumar D, Krishnan Y, Paranjothy M, Pal S. Analysis of molecular interaction of drugs within β -cyclodextrin cavity by solution-state NMR relaxation. *J Phy Chem B* 2017;121(13):2864-72. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.6b11704>
 27. Eslami H, Heydari N. Hydrogen bonding in water nanoconfined between graphene surfaces: a molecular dynamics simulation study. *J Nano Res.* 2014;16(1):2154. <https://doi.org/10.1007/s11051-013-2154-8>
 28. Niether D, Kawaguchi T, Hovancová J, Eguchi K, Dhont JK, Kita R, et al. Role of hydrogen bonding of cyclodextrin-drug complexes probed by thermodiffusion. *Langmuir* 2017;33(34):8483-92. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.7b02313>
 29. Rastegar R, Akbari Javar H, Khoobi M, Dehghan Kelishadi P, Hossein Yousefi G, Doosti M, et al. Evaluation of a novel biocompatible magnetic nanomedicine based on beta-cyclodextrin, loaded doxorubicin-curcumin for overcoming chemoresistance in breast cancer. *Artif cells nanomed biotechnol.* 2018; 46(sup2):207-16. <https://doi.org/10.1080/21691401.2018.1453829>
 30. Garcia A, Leonardi D, Lamas MC. Promising applications in drug delivery systems of a novel β -cyclodextrin derivative obtained by green synthesis. *Bioorg Med Chem Lett.* 2016;26(2):602-8. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2015.11.067>
 31. Norouzi Z, Abdouss M. Electrospun nanofibers using β -cyclodextrin grafted chitosan macromolecules loaded with indomethacin as an innovative drug delivery system. *Int J Bio Macromol.* 2023;233:123518. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123518>
 32. Tofzikovskaya Z, Casey A, Howe O, O'Connor C, McNamara M. In vitro evaluation of the cytotoxicity of a folate-modified β -cyclodextrin as a new anti-cancer drug delivery system. *J Incl Phenom Macrocycl Chem.* 2015 Feb;81(1):85-94. <https://doi.org/10.1007/s10847-014-0436-0>