

## واژه‌های کلیدی:

پروتئین تقویت شده،  
مزدوج پلیمر-پروتئین،  
دارورسانی هدفمند

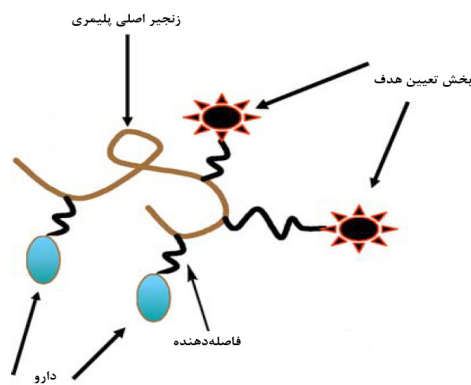
# مروری بر ترکیبات جفت شده پلیمر-پروتئین

حسین مدینه، فاطمه منصوری‌نیا، نادره گلشن ابراهیمی\*  
تهران، دانشگاه تربیت مدرس، گروه مهندسی پلیمر

## چکیده ...

امروزه به لطف توسعه زیست‌فناوری‌های دارویی، پروتئین‌ها و پپتیدها به موادی قوی و خاص تبدیل شده‌اند که به‌عنوان عوامل جایگزین، مهارکننده و یا تنظیم‌کننده سامانه ایمنی برای معالجه بیماری‌های مختلف به کار می‌روند. با این حال، پروتئین‌ها دارای محدودیت‌های ذاتی مانند ایمنی‌زایی، پایداری کم در بدن و نیمه‌عمر کوتاه در کاربردهای درمانی هستند. در این بین، تهیه ترکیبات جفت شده پلیمر-پروتئین، رویکردی شناخته شده برای بهبود خواص درمانی پروتئین‌ها، پپتیدها یا کوچک‌مولکول‌ها است که به‌طور گسترده‌ای استفاده می‌شود. در ترکیبات جفت شده پلیمر-پروتئین (Polymer-Protein Conjugations)، پلیمرها با پروتئین‌ها یا داروها، برای دستیابی به سامانه‌های زیست‌تخریب پذیر و حساس به محرک‌ها، جفت شده و باعث افزایش زمان گردش خون و غلظت دارو در محل موردنظر می‌شوند. با توجه روزافزون به معالجات پروتئینی، ترکیبات جفت شده پلیمر-پروتئین نقش مهمی را در غلبه بر نقاط ضعف این معالجات (بی‌ثباتی و پاک‌سازی سریع در داخل بدن) و بهبود عملکرد آن‌ها ایفا می‌کنند. در این مقاله، مروری بر انتخاب پروتئین، انتخاب پلیمر و روش مزدوج‌سازی پلیمر-پروتئین صورت می‌گیرد.

\*پست الکترونیکی مسئول مکاتبات:  
ebrahimn@modares.ac.ir



شکل ۱ طرح‌واره‌ای از اجزای ترکیبات پلیمر-دارو [۲].

در حالی که برای ترکیبات پلیمر-دارو وجود تعداد زیادی گروه واکنش دهنده برای رسیدن به بارگذاری دارویی رضایت بخش، مورد نیاز است [۵]. در این مقاله به‌طور خلاصه به برخی از رایج‌ترین و پرکاربردترین پلیمرها مانند پلی‌اتیلن گلیکول (Polyethylene Glycol)، پلیمرهای وینیلی و پلی ساکاریدها پرداخته می‌شود.

## ۲ انواع پلیمرهای مورد استفاده

### ۲-۱ پلی اتیلن گلیکول

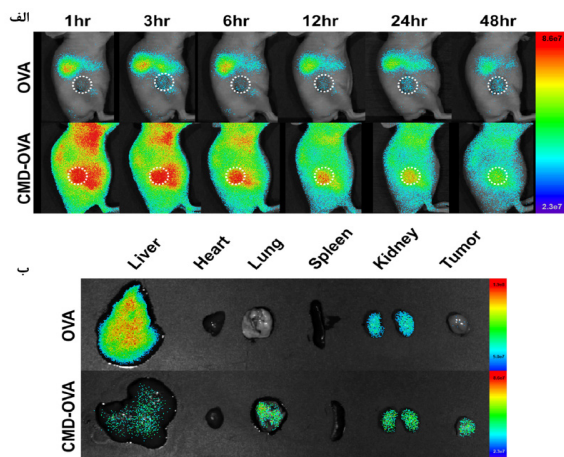
پلی اتیلن گلیکول (Polyethylene Glycol) پلیمری زیست‌سازگار است که به‌طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرد. این پلیمر به‌صورت تجاری با گروه‌های عاملی مختلف در دسترس است. پلی اتیلن گلیکول توسط پلیمر شدن حلقه گشای اکسیداتیلن تولید می‌شود. از این پلیمر با استفاده از متانول یا آب به‌عنوان آغازگر، به‌ترتیب برای تولید Me-thoxy-PEG یا Diol-PEG استفاده می‌شود [۵]. ترکیبات جفت شده پلی اتیلن گلیکول با پروتئین‌های درمانی، مورد تأیید سازمان غذا و دارو هستند. اولین داروی پروتئینی اصلاح شده با پلی اتیلن گلیکول، آداژن (Adagen) است که در سال ۱۹۹۰ مورد تأیید سازمان غذا و داروی آمریکا قرار گرفت. داروهای پروتئینی اصلاح شده با پلی اتیلن گلیکول برای درمان بیماری‌هایی مانند سرطان خون، نقرس و هیپاتیت به کار گرفته شده‌اند [۶]. پلی اتیلن گلیکول به‌دلیل خصوصیتی مانند آب‌دوستی، عدم سمیت، انعطاف‌پذیری بالا و زیست‌سازگاری یکی از بهترین پلیمرهای قابل استفاده است. با این وجود، این پلیمر برای تمام کاربردها بهترین انتخاب نیست. به‌عنوان مثال از پلی اتیلن گلیکول با جرم مولکولی بالا، به علت عدم زیست‌تخریب‌پذیری، نمی‌توان استفاده کرد. همچنین، تزریق مکرر آن به بدن باعث

## ۱ مقدمه

دارورسانی یکی از مهم‌ترین و پیچیده‌ترین شاخه‌های داروسازی است که امروزه به لطف به‌کارگیری علوم مانند مهندسی پلیمر، پیشرفت چشمگیری داشته است. دارورسانی هدفمند، به مجموعه‌ای از فعالیت‌ها اطلاق می‌شود که منجر به تجمع مواد دارویی در منطقه خاصی از بدن شود [۱]. پروتئین‌ها دسته‌ی مهمی از معالجات هستند که مزایایی از جمله ویژگی هدف (Target Specificity) مناسب دارند؛ اما چالش‌هایی در استفاده از آن‌ها وجود دارد که می‌توان به پاک‌سازی سریع و پایداری فیزیکی کم اشاره کرد. از زمانی که سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA) اولین داروی پروتئینی نوترکیب انسانی، انسولین، را در سال ۱۹۸۲ تأیید کرد، سایر پروتئین‌ها نیز به‌عنوان داروی درمانی توجه پژوهشگران را به خود جلب کردند [۱]. از آنجا که زندگی نوین کنونی بدون پلیمرها غیرقابل تصور است، امروزه مزدوج‌های پلیمری سهم بزرگی از حوزه دارورسانی را به خود اختصاص داده‌اند. تهیه ترکیبات جفت شده پلیمر-پروتئین، رویکردی مؤثر برای بهبود خواص درمانی پروتئین‌ها و عوامل زیستی است [۲]. ترکیبات پلیمر-دارو که از آن‌ها با عنوان پیش‌داروهای پلیمری نیز یاد می‌شود، سامانه‌هایی هستند که در آن‌ها، یک یا چند دارو به‌طور شیمیایی به گروه‌های عاملی پلیمر به‌طور مستقیم یا از طریق فاصله‌دهنده (Spacer) متصل می‌شوند (شکل ۱).

فاصله‌دهنده معمولاً پیوند شیمیایی سازگار با محیط و شرایط زیستی است؛ یعنی تحت شرایط زیستی خاصی مانند تغییر pH و وجود آنزیم تجزیه‌کننده مانند پروتئاز دچار گسستگی می‌شود [۳-۴]. مزیت اصلی استفاده از ترکیبات جفت شده پلیمر-دارو این است که می‌توان خواص شیمیایی و فیزیکی پلیمرها را برای افزایش کارایی دارو تنظیم کرد. این ترکیبات، افزایش شاخص درمانی و گردش خون طولانی مدت همراه با رهایش پایدار داروی متصل را نشان داده‌اند [۳].

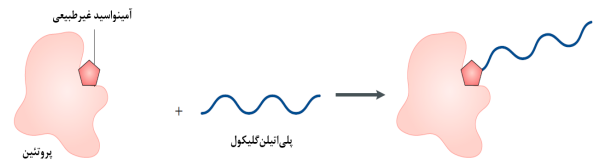
بسیاری از پلیمرها، به‌عنوان نامزد انتقال داروهای طبیعی یا سنتزی مورد بررسی قرار گرفته‌اند. به‌طور کلی، پلیمر ایده‌آل برای دارورسانی باید توسط زیست‌تخریب‌پذیری آن یا وزن مولکولی مناسب با هدف حذف از بدن برای جلوگیری از تجمع تدریجی در داخل بدن، مشخص شود. به‌علاوه، دارای شاخص پراکندگی پایین برای اطمینان از همگنی مزدوج نهایی و زمان ماند (Retention Time) طولانی در بدن یا طولانی‌تر کردن عمل مزدوج برای تجمع در نواحی مورد نظر بدن باشد. همچنین، در ترکیبات جفت شده پلیمر-پروتئین، وجود تنها یک گروه واکنشی در پلیمر برای جلوگیری از اتصالات عرضی کافی است.



شکل ۳ توزیع مزدوج کربوکسی متیل دکستران-اوبومین و اوبومین خالص (الف) در کل بدن (ب) در اندام‌واره‌های بدن [۸].

به دلیل فراوانی گروه‌های عاملی در ساختار این پلیمر، اگر شرایط اتصال پلیمر به پروتئین به خوبی کنترل نشود، واکنش نامطلوب شبکه‌ای شدن اتفاق می‌افتد [۴]. در سال ۲۰۱۸، شین و همکاران از کربوکسی متیل دکستران برای اصلاح اوبومین (Ovalbumin) در بررسی بهبود سلول‌های سرطانی موش استفاده کردند [۸]. در این تحقیق در بین پلیمرهای زیست‌سازگار، کربوکسی متیل-دکستران به دلیل ساختار منحصربه‌فرد، سازگاری زیستی بالا، حلالیت عالی در آب و تجزیه زیستی به‌عنوان حامل انتخاب شد و از اوبومین به‌عنوان مدل آنتی‌ژن استفاده شد. متیل دکستران نقش حامل را دارد و در محل تومور تجمع می‌کند تا سامانه ایمنی بدن، تومور را شناسایی کند و از بین ببرد. نتایج نشان دادند که این مزدوج به‌طور تقریباً یکنواخت در محل تومور توزیع شده است؛ در حالی که اوبومین خالص بیشتر در کبد، جایی که حداقل مقدار کربوکسی متیل دکستران تشخیص داده شده، تجمع پیدا می‌کند (شکل ۳). این نتایج حاکی از آن است که ترکیب کربوکسی متیل دکستران-اوبومین می‌تواند به‌طور مؤثری در موقعیت تومور تجمع کند. بنابراین توانایی بالقوه‌ای در فعالیت آنتی‌ژنی ارائه می‌دهد [۸].

هیدروکسی اتیل نشاسته، گونه دیگری از پلی ساکاریدها است که پلیمری غیر یونی و نیمه سنتزی است. این پلیمر برای استفاده انسانی به‌عنوان منبسط کننده حجم پلاسما خون مورد تأیید قرار گرفته است. با توجه به حلالیت بالا در آب و امکان کنترل نرخ زیست تخریب پذیری این پلیمر، برخی آن را جایگزین مناسبی برای پلی اتیلن گلیکول می‌دانند. اگرچه هیدروکسی اتیل نشاسته، پلیمر مناسبی برای ترکیب با پروتئین به نظر می‌رسد؛ اما نگرانی‌هایی در مورد ایمنی آن در خصوص افزایش خطر مرگ



شکل ۲ فرایند پیگله کردن پروتئین‌ها [۶].

ایجاد مشکلاتی در کلیه و طحال می‌شود. از دیگر معایب پلی اتیلن گلیکول می‌توان به عدم وجود گروه‌های عاملی خاص در ساختار آن اشاره کرد که باعث می‌شود از این پلیمر در بعضی از کاربردها مانند ترکیبات هوشمند پلیمر-پروتئین، استفاده نشود [۶].

در حال حاضر یکی از روش‌های پرکاربرد در زمینه سامانه‌های دارورسانی هدفمند، پیگله کردن (PEGylation) است که به فرایند پیوند زنی پلی اتیلن گلیکول بر سطح پروتئین‌ها گفته می‌شود (شکل ۲) [۷].

## ۲-۲ پلیمرهای وینیلی

این دسته از پلیمرها توسط پلیمر شدن رادیکالی مونومر وینیل مربوطه یا کوپلیمر شدن دو یا چند مونومر مختلف برای تنظیم خواص محصول نهایی تهیه می‌شوند. این نوع پلیمرها می‌توانند به‌عنوان حامل‌های پلیمری، به دلیل وجود گروه‌های واکنشی، به سطح بالایی از بارگذاری دارو برسند. با این حال، پلیمرهای وینیلی، زیست تخریب پذیر نیستند؛ بنابراین برای خروج این پلیمرها از بدن، از راه کلیه، باید وزن مولکولی آن‌ها کمتر از آستانه فیلتر کردن کلیوی (۴۰-۵۰ کیلو دالتون) باشد از پرکاربردترین پلیمرهای این دسته می‌توان به N-(۲-هیدروکسی پروپیل) متاکریل آمید اشاره کرد [۵].

## ۲-۳ پلی ساکاریدها

پلی ساکاریدها به‌طور گسترده‌ای در دارورسانی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. سینتیک دارویی (Pharmacokinetic) آن‌ها تا حد زیادی تحت تأثیر وزن مولکولی، بار الکتریکی، تغییرات شیمیایی و شاخص پراکندگی یا انشعاب است [۵]. دکستران پرمصرف‌ترین پلیمر در بین پلی ساکاریدها است. برای اصلاح پروتئین‌ها توسط دکستران، ابتدا باید این پلیمر توسط ترکیبات پریداتی (Periodate)، اکسید شده و گروه‌های آلدهیدی در آن تشکیل شوند. سپس آلدهیدها با گروه‌های آمین موجود در پروتئین واکنش دهند. اگرچه از این روش هنوز هم برای اتصال دکستران‌ها و پلی ساکاریدها به پروتئین‌ها استفاده می‌شود، اما

پلیمر زیست‌مقلد (Biomimetic) به‌عنوان پلیمری مصنوعی تعریف می‌شود که از ویژگی‌های مفید سامانه زیستی تقلید می‌کند [۱،۱۲]. تقلید از سامانه زیستی شامل شکل دادن به ماده زیستی در مقیاس نانو/میکرو است که سلول‌ها می‌توانند آن را حس کنند و به آن پاسخ دهند. این پلیمرها را می‌توان به دو دسته پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر و زیست‌تخریب‌ناپذیر تقسیم کرد. مواد زیست‌تخریب‌پذیر به‌طور گسترده‌ای در سامانه‌های دارورسانی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. پلیمرهای زیست‌مقلد مصنوعی با قابلیت تخریب زیستی و به‌دلیل کنترل آسان ساختار آن‌ها جایگزین جذابی برای استفاده در سامانه‌های دارورسانی هستند، در نتیجه می‌توان خواص مختلفی را به دست آورد. همچنین، اصلاحات بیشتر با پلیمرهای زیست‌مقلد مصنوعی که به درستی طراحی شده‌اند، بدون تغییر خواص توده نیز امکان‌پذیر است. به علاوه، پلیمرهای زیست‌مقلد معمولاً زیست‌سازگاری و عملکرد خوبی را در دارورسانی از خود نشان می‌دهند. از رایج‌ترین پلیمرهای زیست‌مقلد می‌توان به پلی‌لاکتون‌ها و مشتقات آن‌ها، پلی‌لاکتیک اسید و هپارین اشاره کرد [۱۲].

## ۲-۶ پلیمرهای پاسخ‌گو به محرک

پلیمرهای پاسخ‌گو به محرک‌ها با پلیمرهای معمولی که تحوّل سریع فیزیکی-شیمیایی را نسبت به پاسخی که در محیط اطراف رخ می‌دهد، نشان می‌دهند، متفاوت هستند. پلیمرهای پاسخ‌گو به محرک‌ها به‌عنوان پلیمرهای هوشمند یا پلیمرهای سازگار با محیط‌زیست نیز شناخته می‌شوند. پلیمرهای پاسخ‌گو به محرک‌ها می‌توانند در درمان سرطان توسط هایپرترمی (افزایش کنترل‌شده دما از ۳۷ به ۴۵-۴۰ درجه سانتی‌گراد به منظور درمان تومورها)، کاربرد داشته باشد [۱۳]. ترکیبات پلیمر-پروتئین هوشمند با اتصال پلیمرهای پاسخ‌گو به محرک‌های خارجی به پروتئین تهیه می‌شوند و در آن‌ها تغییر محرک خارجی مانند pH، دما یا نور باعث تغییر صورت‌بندی پلیمر از حالت باز شده (Denature) به حالت فروپاشیده (Collapse) یا برعکس، می‌شود. پلیمرهای پاسخ‌گو به محرک‌های خارجی به‌خاطر تغییر صورت‌بندی، در مقایسه با پلیمرهای معمولی باعث پایداری بیشتر پروتئین‌ها در شرایط غیرطبیعی می‌شوند. هافمن و همکاران در سال ۱۹۸۰، پلیمر حساس به دمای پلی (N-ایزوپروپیل آکریلامید) را بر روی پادتن بررسی و روش جدیدی برای جداسازی مولکول‌های زیستی با استفاده از حرارت گزارش کردند. از آن زمان تاکنون مطالعات زیادی در زمینه اصلاح پروتئین‌ها توسط پلیمرهای هوشمند برای کاربردهای مختلف از جمله دارورسانی، تشخیص و درمان

و آسیب‌کلوی مخصوصاً در بیماری‌هایی که داروی منبسط‌کننده پلاسما مصرف می‌کنند، وجود دارد [۹]. در سال ۲۰۱۹، چن و همکاران از هیدروکسی‌اتیل‌نشاسته برای اصلاح کورکومین (Curcumin) که در درمان سرطان به کار می‌رود، استفاده کردند [۱۰]. طبق نتایج به دست آمده، مزدوج هیدروکسی‌اتیل‌نشاسته-کورکومین در شرایط فیزیولوژیکی مشابه بدن، حدود ۸۰ درصد پایداری از خود نشان داد؛ درحالی‌که کورکومین خالص در حدود ۲۰ دقیقه پایداری خود را از دست داد، دچار تخریب شده است. همچنین نتایج به دست آمده نشان داد که به‌دلیل اصلاح انجام شده، رهایش کورکومین در pH اسیدی صورت گرفته است؛ که به‌دلیل اسیدی بودن سلول‌های سرطانی این موضوع باعث بهبود کاربرد درمانی کورکومین می‌شود [۱۰].

## ۲-۴ پلیمرهای زوئتریونیک

پلیمرهای زوئتریونیک (Zwitterionic) به خانواده‌ای از مواد پلیمری اطلاق می‌شود که تعداد کاتیون‌ها و آنیون‌های یکسانی در طول زنجیر پلیمری خود دارند که آن‌ها را بسیار آبدوست و ضد رسوب می‌کند. این پلیمرها، در برابر جذب غیراختصاصی (Nonspecific) پروتئین، چسبندگی باکتریایی و تشکیل فیلم‌های زیستی مقاومت می‌کنند؛ بنابراین توانایی زیادی برای استفاده در کاربردهای پزشکی مانند حسگرهای در تماس با خون یا پوشش‌های ضد رسوب در کاشتنه‌های زیست‌پزشکی دارند. در میان پلیمرهای زوئتریونیک، پلی(کربوکسی‌بتائین) به‌دلیل خاصیت ضد رسوب عالی و تولید آسان، در اصلاح حسگرهای در تماس با خون استفاده می‌شود. از کاربردهای مهم مواد یکسان‌سازی (زوئتریونیک) می‌توان به استفاده از آن‌ها به‌عنوان حامل دارو اشاره کرد. این پلیمرها از شناسایی سریع توسط سامانه ایمنی جلوگیری کرده و زمان گردش نانوذرات را افزایش می‌دهند [۱۱]. اندرو و همکاران در سال ۲۰۱۲ نشان دادند که چگونه پلی‌زوئتریون‌ها به‌عنوان سطوح غیر رسوب‌کننده به‌طور متمایزی عمل می‌کنند و مانع از جذب پروتئین در محیط‌های زیستی پیچیده می‌شوند. همچنین، نشان دادند پلی‌زوئتریون‌هایی مانند پلی(کربوکسی‌بتائین) از نظر مقاومت در برابر جذب غیراختصاصی پروتئین از سرم و پلاسما خون در مقایسه با پلی‌اتیلن‌گلیکول عملکرد بهتری دارند [۱۱].

## ۲-۵ پلیمرهای زیست‌مقلد

پلیمرها با الهام از مولکول‌های موجود در طبیعت نشان داده‌اند که در ارائه خواص مطلوب مولکول‌های طبیعی همراه با دیگر ویژگی‌های سودمند پلیمرهای مصنوعی، عملکرد مناسبی دارند.

آب کافتی در مقایسه با پلیمرهای تجزیه پذیر آنزیمی در کاربرد کاشتینه ترجیح داده می‌شوند، زیرا حداقل تغییرات وابسته به محل و بیمار را دارند [۱۸]. بر همین اساس در ادامه طبقه‌بندی کلی از پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر، با تمرکز بر کاربردشان، بررسی می‌شود [۱۸].

## ۲-۷-۱ کلاژن

کلاژن فراوان‌ترین پروتئین در ماتریس خارج سلولی (تقریباً ۳۰ درصد از کل محتوای پروتئین) است و مسلماً در بسیاری از بافت‌های هم‌بند (Connective Tissues) نرم و سخت انسان وجود دارد. این زیست‌ماده یکی از مؤثرترین پلیمرها در مهندسی بافت است. ساختار مارپیچ سه گانه کلاژن، دارای محتوای بالایی از اسید آمینه گلیسین بوده که برای اتصال و تکثیر سلولی بسیار مهم است. این پروتئین، ساختار لیفی اصلی بدن انسان را تشکیل می‌دهد. همچنین در ساخت پروتئین‌های ساختاری لازم برای ترکیب ماکرومولکولی پوست، سامانه‌های اسکلتی (مانند استخوان، غضروف، مفاصل، رباط‌ها، تاندون‌ها و عروق خونی) و اندام‌های داخلی نیز استفاده می‌شود. کلاژن نقش «بستر» را ایفا کرده، سلول‌های بدن را به هم می‌چسباند، تمام بافت‌ها و اندام‌ها را به یکدیگر متصل می‌کند و از کل چارچوب بدن پشتیبانی می‌کند. کلاژن، همراه با الاستین و کراتین، به‌طور خاص شبکه‌های خارج سلولی لیفی را تشکیل می‌دهند و بافت‌ها یا اندام‌ها را قادر می‌سازند تا در برابر تنش‌های پیوسته، بدون تغییر شکل یا پارگی مقاومت کنند. در سطح سلولی، پیوندهای درون سلولی تشکیل شده توسط الیاف کلاژن، سازوکار چسبندگی مورد نیاز برای پیوندها، تقویت و حفاظت و حتی تأمین اکسیژن و مواد مغذی را فراهم می‌کنند. بنابراین کمبود کلاژن به‌طور طبیعی منجر به ریزمحیط سلولی (Cell Microenvironment) ناسالم می‌شود که در نهایت اثر خود را بر سلامت کلی انسان می‌گذارد. از کلاژن به‌دلیل خواص عملکردی و زیست‌فعال بودن آن به‌عنوان ماده زیستی همه‌کاره یاد می‌شود و می‌تواند به ماتریس‌های سه‌بعدی بسیار سازمان‌دهی شده (مانند اسفنج‌ها، فیلم‌ها، پیوندهای پوستی و پانسمان‌ها) که دارای استحکام کششی بالا و ذاتاً زیست‌سازگار و زیست‌تخریب‌پذیر هستند، تبدیل شود. تحقیقات انجام شده سبب کشف بیش از ۲۰ شکل متمایز از کلاژن شده است که بیشتر آن‌ها برای استفاده در پزشکی، دارای خلوص بالایی هستند [۲۳، ۲۴]. اکثر زیست‌مواد مورد استفاده در مهندسی بافت پوست، بر پایه کلاژن هستند که علت آن توانایی تشکیل داربست و پشتیبانی از اتصال، تکثیر و تمایز سلول‌های اولیه انسان است. با این حال ترکیب آن با مواد

توسط پروتئین‌ها و حسگرهای زیستی انجام شده است [۱۴، ۱۵]. راسل و همکارانش با پیوند زدن پلی (۲-دی‌متیل‌آمینو) اتیل متاکریلات) بر سطح آنزیم کیموتریپسین (Chymotrypsin)، ترکیب جفت شده پلیمر-پروتئین حساس به pH، را تهیه کردند. آن‌ها مشاهده کردند که با کاهش pH، فعالیت کاتالیزوری و کارایی آنزیم در شرایط اسیدی حفظ می‌شود [۱۶].

## ۲-۷ پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر

در طراحی مواد زیست‌تخریب‌پذیر، بسیاری از خواص مهم باید در نظر گرفته شود. این مواد باید الزامات و پیش‌نیازهای داربست یا سامانه دارورسانی را برآورده کنند. دارا بودن پیش‌نیازها تا حد زیادی تحت تأثیر ویژگی‌های زیست‌پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر از جمله شیمی پلیمر، وزن مولکولی، آب‌گریزی، بار سطحی، جذب آب، تخریب و سازوکار فرسایش است. به‌دلیل استفاده گسترده از زیست‌پلیمرها پلیمر یا خانواده پلیمری منحصر به فرد وجود ندارد؛ در عوض کتابخانه‌ای از مواد در دسترس محققان است که می‌توانند سنتز و مهندسی شوند تا به بهترین نحو با عملکرد زیست‌پزشکی مورد نظر مواد مطابقت داشته باشند [۱۷]. پلیمرهای طبیعی و مصنوعی به‌طور گسترده به‌عنوان پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر مورد استفاده و بررسی قرار گرفته‌اند. تجزیه زیستی زیست‌پلیمرها شامل شکستن پیوندهای حساس به آب کافت یا آنزیم‌ها در پلیمر است که منجر به تجزیه پلیمر می‌شود. زیست‌پلیمرها را بسته به نحوه تجزیه، می‌توان به پلیمرهای تجزیه‌پذیر آب‌کافتی و پلیمرهای تجزیه‌پذیر آنزیمی طبقه‌بندی کرد. پلیمرهای طبیعی بیشتر در معرض تجزیه آنزیمی قرار می‌گیرند. پلیمرهای طبیعی را می‌توان اولین زیست‌پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر مورد استفاده در کاربردهای بالینی دانست. با این حال، نرخ تخریب پلیمرهای تجزیه‌پذیر آنزیمی در داخل بدن، بسته به در دسترس بودن و غلظت آنزیم‌ها در محل کاشت به‌طور قابل‌توجهی متفاوت است. اصلاح شیمیایی این پلیمرها نیز می‌تواند به‌طور مؤثری بر سرعت تخریب آن‌ها تأثیر بگذارد. پلیمرهای طبیعی دارای چندین مزیت ذاتی مانند زیست‌فعالی، توانایی بازسازی طبیعی و حساسیت به تخریب پروتئولیتیک ناشی از سلول‌ها هستند. زیست‌فعالی ذاتی این پلیمرها دارای نکات منفی مانند پیچیدگی‌های مرتبط با خالص‌سازی آن‌ها و امکان انتقال بیماری است. از سوی دیگر، زیست‌پلیمرهای مصنوعی عموماً از نظر زیستی خنثی و دارای خواص قابل پیش‌بینی‌تر هستند. به علاوه، دارای ویژگی‌های مناسب برای کاربردهای خاص، بدون معایب پلیمرهای طبیعی هستند. استفاده از پلیمرهای تجزیه‌پذیر



پلیمری دیگر، به طور قابل توجهی پایداری ساختاری داربست کلاژن را افزایش می‌دهد.

### ۲-۷-۲ ژلاتین

ژلاتین پروتئینی لیفی و جزء اصلی بستر خارج سلولی در بافت‌های حیوانی از جمله پوست، غضروف و استخوان است. این پلیمر، ماده‌ای زیست‌سازگار و زیست‌تخریب‌پذیر، با خاصیت شکل‌پذیری، کم‌هزینه و در دسترس است که در پزشکی به دلیل زیست‌تخریب‌پذیری کاربرد دارد. ژلاتین حاوی توالی آرژنین-گلیسین-اسپارتیک اسید (RGD) است که برای ایجاد برهم‌کنشی پایدار بین سلول‌ها و ماتریس خارج سلولی ضروری است. بسیاری از گزارش‌ها نشان داده‌اند که ژلاتین دارای پتانسیل بالایی برای مهاجرت، چسبندگی، رشد و سازماندهی سلول‌ها در راستای بهبود زخم است. ژلاتین، پروتئینی محلول است که از آب‌کافت جزئی کلاژن به دست می‌آید. با این حال بر خلاف پلیمرهای مصنوعی که عموماً غیر یونی هستند، نوعی پلیمر پلی‌الکترولیت است که تعداد زیادی گروه قابل یونیزه شدن دارد. علاوه بر این، پیوند هیدروژنی قوی موجود در کلاژن منجر به تشکیل شبکه ماکرومولکولی سه‌بعدی می‌شود که تحرک زنجیرهای ژلاتین را به شدت کاهش می‌دهد؛ بنابراین قابلیت الکتروریسی ضعیفی دارد. همچنین با توجه به حالیت ژلاتین در دمای بدن، نمی‌توان از آن به طور گسترده‌ای برای کاربردهای مهندسی بافت داخل بدن استفاده کرد. برای دست آوردن ساختارهایی با خواص و پایداری مناسب نیاز به اتصال عرضی است [۲۱-۱۹]. هوانگ و همکاران در پژوهشی برای الکتروریسی ژلاتین از تری فلئورواتانول به عنوان حلال استفاده کردند. نانوالیاف از محلول‌های با غلظت بین ۵ تا ۱۲/۵ درصد وزنی الکتروریسی شدند. ساختار لیفی بسیار ریز و بدون هیچ بیدی از محلول ۷/۵ درصد وزنی به دست آمد. برای غلظت ۲/۵ درصد وزنی الیاف پیوسته‌ای به دست نیامد و در واقع تنها الکتروپاشش رخ داد. در غلظت ۷/۵ درصد وزنی الیافی با قطر ۱۴۰ نانومتر به دست آمد که در مقایسه با غلظت ۱۰ و ۱۲/۵ بهترین خواص مکانیکی را با بیشترین مدول کششی و مقاومت کششی نهایی و به عبارتی محکم‌ترین لیف ارائه داد [۲۲].

### ۲-۷-۳ ابریشم

ابریشم، پروتئینی طبیعی است که توسط حشرات و عنکبوت‌ها تولید می‌شود. ابریشم ترکیبی عالی با وزن سبک ( $1/3 \text{ g/cm}^3$ ) و استحکام بالا (تا  $4/8 \text{ GPa}$ ) است که به عنوان قوی‌ترین لیف در طبیعت شناخته شده است. این پلیمر، چقرمگی و کشامد قابل

توجهی (تا ۳۵ درصد) را نیز ارائه می‌دهد؛ به عنوان مثال، در حالی که استحکام کششی ابریشم دراگلین (Dragline) با الیاف مصنوعی دارای مقاومت بالا مانند کولار ۴۹ قابل مقایسه است، خاصیت ارتجاعی ابریشم دراگلین ۴ تا ۷ برابر بیشتر از کولار ۴۹ است و انرژی مورد نیاز برای شکستن آن ۳ تا ۴ برابر بیشتر از کولار ۴۹ است. علاوه بر خواص مکانیکی قابل توجه ابریشم، از نظر حرارتی نیز تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد پایدار است و امکان فراوری در طیف دمایی وسیعی را فراهم می‌کند. ابریشم در شکل طبیعی خود از هسته پروتئینی لیفی به نام فیبروئین ابریشم (Silk Fibroin) و پوشش چسب مانند، متشکل از خانواده‌ای از پروتئین‌های سریسین (Sericin) تشکیل شده است. بخش‌های آب‌گریز آن که اساس استحکام کششی فیبرون‌های ابریشم را تشکیل می‌دهد، تمایل به تشکیل بلورهایی از طریق پیوند هیدروژنی و فعل‌وانفعالات آب‌گریز دارد. بخش‌های آب‌گریز مرتب با بخش‌های آب‌دوست، کم‌تر ترکیب می‌شوند و در نتیجه چقرمگی فیبروئین‌های ابریشم را ایجاد می‌کنند. در گزارشی آمده است مشاهده شده که فیلم‌های تشکیل‌شده از فیبروئین کرم ابریشم بومی از نظر چسبندگی، پخش و تکثیر فیبروبلاست‌های I-929، قابل مقایسه با فیلم‌های کلاژن هستند [۲۵]. فیبروئین ابریشم به دلیل استحکام مکانیکی بالا، زیست‌سازگاری عالی و زیست‌تخریب‌پذیری در اشکال مختلف (مانند فیلم، داربست، هیدروژل و الیاف الکتروریسی) به طور گسترده در کاربردهای مختلف مهندسی بافت، به‌ویژه برای پوست استفاده شده است. تحقیقات در مورد اختلاط فیبروئین ابریشم با سایر پلیمرها به منظور بهبود کاستی‌های عملکردی و در عین حال بهره‌گیری از مزایای ساختاری فیبروئین ابریشم، به عنوان جایگزین پوستی پیشنهاد شده است زیرا اثربخشی درمانی بالاتری نسبت به هر جز به‌طور جداگانه دارند [۲۵].

### ۲-۷-۴ کیتوسان

کیتوسان (Chitosan)، پلی‌ساکاریدی خطی و مشتق اصلی کیتین، دومین زیست‌پلیمر طبیعی فراوان پس از سلولز است. کیتوسان ویژگی‌های مطلوب بسیاری مانند زیست‌سازگاری، تجزیه‌پذیری زیستی، خون‌ایستی (Hemostasis) و فعالیت ضدباکتریایی در برابر انواع مختلف باکتری‌ها را ارائه می‌دهد که آن را به پلیمر زیستی منحصر به فردی برای کاربردهای مختلف زیست‌پزشکی مانند دارورسانی و مهندسی بافت تبدیل کرده است [۲۶].

### ۳ محل‌های اصلاح پروتئین‌ها

تعیین دقیق محلی از پروتئین که وارد واکنش با پلیمرها می‌شود؛

دی سولفیدی زیادی هستند، کاهش نسبی آن‌ها ممکن است بدون ایجاد اختلال در ساختارهای سوم و چهارم، امکان ترکیب با باقی‌مانده‌های سیستمین‌ها را فراهم کند. پیونددهنده‌های دی سولفیدی مصنوعی برای اتصال کوچک مولکول‌ها و پلیمرها در محل‌های دی سولفیدی و در عین حال حفظ پل دی سولفیدی بین آن‌ها کاربرد دارند [۱].

### ۳-۴ پایانه N (N-Terminu)

گروه آمین پایانه N در مقایسه با لیزین‌ها، به طور قابل توجهی  $pK_a$  کمتری دارد و تفاوت در واکنش پذیری وابسته به pH، اغلب برای اصلاح انتخابی پایانه N استفاده می‌شود. گروه آمین پایانه N ممکن است به طور انتخابی تحت شرایط اسیدی با سدیم یدید و سدیم نیتريت یددار شود. با این حال، در شرایط خنثی واکنش‌های جانبی با باقی‌مانده‌های تیروسین (Tyrosine) و هیستیدین (Histidine) امکان پذیر است. پایانه N هر پروتئین می‌تواند به طور انتخابی با یک آلکین از طریق سنتز اکسایشی امید و همین‌طور هیدروژن پراکسید مورد هدف قرار گیرد. در روش دیگری برای اصلاح انتخابی پایانه N پروتئین‌ها، از واکنش ترانس آمیناسیون استفاده می‌شود که گروه کتون یا آلدهید واکنش پذیر منحصر به فردی معرفی می‌شود که امکان اصلاح بیشتر از طریق تشکیل اکسیم (Oxime) یا هیدرازون (Hydrazone) را فراهم می‌کند [۲۷]. معمولاً برای ایجاد پایداری در پروتئین مورد نظر، حضور فقط یک اسید آمینه اضافی در پایانه N کافی است.

### ۳-۵ پایانه C (C-Terminus)

تشخیص شیمیایی گروه کربوکسیلات پایانه C از گروه‌های کربوکسیلات زنجیرهای جانبی دشوار است. برخلاف اصلاح پایانه N، روش مؤثری برای ترکیب از پایانه C پروتئین اصلاح نشده، وجود ندارد. موقعیت منحصر به فرد و شیمی پایانه C، تلاش‌هایی را برای هدف قرار دادن این محل برای اصلاح انتخابی پروتئین در پی داشته است [۲۸]. اخیراً مک میلان و همکارانش از کاتالیزور فوتوردوکس (Photoredox) برای اصلاح گروه کربوکسیلات پایانه C استفاده کردند که نتایج به دست آمده نشان داد این کاتالیزور پتانسیل اکسایش کمتری در مقایسه با سایر گروه‌های کربوکسیلات دارد [۱].

### ۳-۶ تیروسین (Tyrosine)

تیروسین اسید آمینه‌ای با فراوانی سطحی متوسط (۴/۸ درصد) است. اخیراً، بقایای تیروسین روی پروتئین‌ها به عنوان اهدافی

یکی از عوامل مهم در تهیه ترکیبات جفت شده پلیمر-پروتئین است که به طور قابل توجهی در عملکرد نهایی پروتئین تأثیر می‌گذارد. در ادامه به بیان متداول‌ترین روش‌های اصلاح پروتئین‌ها پرداخته می‌شود [۱].

### ۳-۱ لیزین (Lysine)

لیزین فراوان‌ترین اسید آمینه روی سطح پروتئین است و معمولاً اولین باقیمانده‌ای (Residue) است که برای ترکیب‌های غیرانتخابی (Non-Selective) استفاده می‌شود [۱]. لیزین می‌تواند تا شش درصد از ترتیب کلی اسید آمینه را تشکیل دهد. به طور کلی، گروه  $\epsilon$ -amino روی لیزین به واکنش‌های الکتروفیل مانند اسیدهای کربوکسیلیک فعال، آلدهیدها یا کتون‌ها و ایزوسیانات‌ها متصل می‌شود [۲۷]. این اسید آمینه، اغلب در ترکیبات جفت شده از طریق محل انتخابی استفاده نمی‌شود؛ اما برناردز و همکارانش از واکنش گر سولفونیل آکریلات برای اصلاح انتخابی لیزین منفرد در پنج پروتئین مختلف استفاده کردند. نتایج به دست آمده نشان دادند که واکنش پذیری بالای واکنش گر اجازه می‌دهد تا اسیدی‌ترین لیزین به طور انتخابی (Selective) در  $pH=8$  اصلاح شود و ترکیب جفت شده با استفاده از مقادیر مولار یکسان واکنش گر، به تبدیل کامل برسد [۱]. استفاده از تیواسترها (Thioesters) یکی از روش‌هایی است که از آن برای اصلاح باقی‌مانده‌های لیزین استفاده می‌شود [۲۷].

### ۳-۲ سیستئین (Cysteine)

باقیمانده‌های سیستئین مواد ارزشمندی در اصلاح پپتیدها و پروتئین‌ها هستند. این باقیمانده‌ها نسبتاً کمیاب هستند و به طور طبیعی در حدود ۱/۵ درصد وجود دارند. محل‌های ترکیب سیستئین‌ها به دلیل فراوانی کم، بهتر از لیزین‌ها مشخص می‌شوند. علاوه بر این، هسته دوستی بالای آن‌ها امکان اصلاح آسان را فراهم می‌کند. بقایای سیستئین اغلب به طور جزئی یا به طور کامل در ساختار پروتئین مدفون می‌شوند؛ خاصیتی که ممکن است دسترسی آن‌ها به واکنش‌های شیمیایی را محدود کند. سیستئین را تحت شرایط مناسب می‌توان به صورت انتخابی، سریع برگشت پذیر یا غیر قابل برگشت اصلاح کرد [۱].

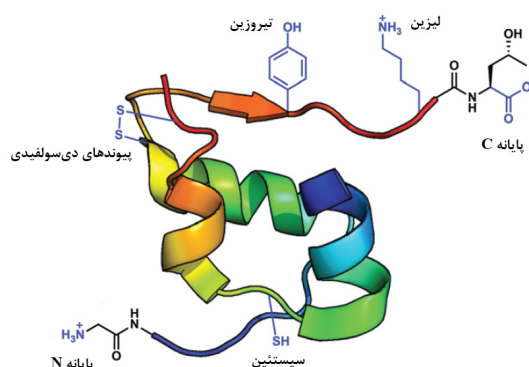
### ۳-۳ پیوندهای دی سولفیدی

پیوندهای دی سولفیدی در اکثر پروتئین‌ها وجود دارند و می‌توانند گروه مفیدی برای ترکیب خاص باقی‌مانده‌ها در اصلاح انتخابی باشند. برای پروتئین‌های بزرگی که حاوی پیوندهای

۳،۵-دیون (4-Phenyl-1,2,4-Triazole-3,5-Dione) به سرعت با باقی‌مانده‌های تیروسین در محدوده وسیعی از pH (۲ تا ۱۰) واکنش نشان می‌دهد [۱]. تعیین دقیق موقعیتی از پروتئین که وارد واکنش با پلیمرها می‌شود یکی از عوامل مهم در تهیه ترکیبات پلیمر-پروتئین است که به‌طور چشمگیری در عملکرد نهایی پروتئین تأثیر می‌گذارد (شکل ۴).

#### ۴ نتیجه‌گیری

در این مقاله، جنبه‌های مختلف ترکیبات جفت‌شده پلیمر-پروتئین بررسی شد و رایج‌ترین پلیمرها، پروتئین‌ها و محل‌های اصلاح مورد بحث قرار گرفت. پیشرفت‌ها در روش‌های پلیمر شدن کنترل‌شده و روش‌های مزدوج‌سازی در چند دهه اخیر، مجموعه‌ای از ابزارها را برای سنتز ترکیبات پلیمر-پروتئین تحت شرایط مطلوب برای اصلاح مولکول‌های زیستی به ما ارائه می‌دهند. استفاده از پلیمرها در روند تهیه ترکیبات پلیمر-پروتئین به دلیل افزایش نیمه‌عمر، بهبود پایداری، ذخیره‌سازی یا کاهش ایمنی‌زایی پروتئین به‌عنوان مهم‌ترین عامل مطرح می‌شود. با توجه به افزایش روزافزون درمان‌های پروتئینی، ترکیبات پلیمر-پروتئین نقش مهمی در غلبه بر نقاط ضعف داروهای پروتئینی مانند بی‌ثباتی، پاکسازی سریع در داخل بدن و افزایش کاربرد آن‌ها به‌عنوان گروه مهمی از درمان‌ها ایفا می‌کند.



شکل ۴ طرح‌واره موقعیت‌های اصلاح در پروتئین [۱].

برای اصلاح خاص استفاده شده است. تیروسین در مقایسه با سایر روش‌های ترکیب محل انتخابی، تمایل به واکنش با باقی‌مانده‌های هسته‌دوست مانند هیستیدین دارد. همچنین، دارای کارایی پایین تری است. اتصال دیازونیم (Diazonium) و مانیچ (Mannich) از جمله روش‌های ترکیب تیروسین هستند که بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرند. نمک‌های دیازونیم توسط گروه فرانسیس و گروه بارباس برای اتصال کتون یا گروه بنزآلدئیدی در تیروسین‌ها استفاده شده است. فرانسیس و همکارانش همچنین واکنشی از نوع مانیچ با استفاده از آنیلین و آلدئید به‌عنوان ابزاری برای ترکیب تیروسین ایجاد کردند. در تحقیقی دیگر بارباس و همکاران نشان دادند که ۴-فنیل-۲،۴-تریازول-دیون



## مراجع

- Ko J. H., Maynard H. D., A Guide to Maximizing the Therapeutic Potential of Protein-polymer Conjugates by Rational Design, *Chemical Society Reviews*, 47, 8998-9014, **2018**.
- Khandare J., Minko, T., Polymer-drug Conjugates: Progress in Polymeric Prodrugs, *Progress in Polymer Science*, 31, 359-397, **2006**.
- Seifu M. F., Nath L. K., Polymer-drug Conjugates: Novel Carriers for Cancer Chemotherapy, *Polymer-plastics Technology and Materials*, 58, 158-171, **2019**.
- Pasut G., Veronese, F. M., Polymer-drug Conjugation, Recent Achievements and General Strategies, *Progress in Polymer Science*, 32, 933-961, **2007**.
- Pang X., Du H. L., Zhang H. Q., Zhai Y. J., Zhai G. X., Polymer-drug Conjugates: Present State of Play and Future Perspectives, *Drug Discovery Today*, 18, 1316-1322, 2013.
- Ekladios I., Colson, Y. L., Grinstaff M. W., Polymer-drug Conjugate Therapeutics: Advances, *Insights and Prospects, Nature Reviews Drug discovery*, 18, 273-294, **2019**.
- Mishra P., Nayak B., Dey R. K., PEGylation in Anti-cancer Therapy: An Overview, *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 11, 337-348, **2016**.
- Fan Z., Guan J., Antifibrotic Therapies to Control Cardiac Fibrosis, *Biomaterials Research*, 20, 1-13, **2016**.
- Pasut G., Polymers for Protein Conjugation, *Polymers*, 6, 160-178, **2014**.
- Chen S., Wu J., Tang Q., Xu C., Huang Y., Huang D., Lou F., Wu Y., Weng Z., Wang S., Nano-micelles Based on Hydroxyethyl Starch-curcumin Conjugates for Improved Stability, Antioxidant and Anticancer Activity of Curcumin, *Carbohydrate Polymers*, 228, 115398, **2020**.
- Zheng L., Sundaram H. S., Wei Z., Li C., Yuan Z., Applications of Zwitterionic Polymers, *Reactive and Functional Polymers*, 118, 51-61, **2017**.
- Wang W., Park, K., Biomimetic Polymers for in Vivo Drug Delivery, *Bioinspired Biomim. Polym. Syst. Drug Gene Deliv*, 109-148, **2014**.
- Patel G. C., Parmar V. K., Patel P. S., Stimuli-responsive Polymers for Ocular Therapy, Elsevier Ltd, India, **2018**.
- I. Cobo, M. Li, B. S. Sumerlin, and S. Perrier, Smart Hybrid Materials by Conjugation of Responsive Polymers to Biomacromolecules, *Nat. Mater.*, **2015**.
- Hoffman A. S., Stayton P. S., Conjugates of Stimuli-responsive Polymers and Proteins, *Progress in Polymer Science*, 32, 922-932, **2007**.
- Cummings C., Murata H., Koepsel R., Russell A. J., Tailoring Enzyme Activity and Stability Using Polymer-based Protein Engineering, *Biomaterials*, 34, 7437-7443, **2013**.
- Nokoorani Y. D., Shamloo A., Bahadoran M., Moravvej H., Fabrication and Characterization of Scaffolds Containing Different Amounts of Allantoin for Skin Tissue Engineering, *Scientific Reports*, 11, 1-20, **2021**.
- Nair L. S., Laurencin C. T., Biodegradable Polymers as Biomaterials, *Progress in Polymer Science*, 32, 762-798, **2007**.
- Kim A. Y., Kim Y., Lee S. H., Yoon Y., Kim W. H., Kweon O. K., Effect of Gelatin on Osteogenic Cell Sheet Formation Using Canine Adipose-derived Mesenchymal Stem Cells, *Cell Transplantation*, 26, 115-123, **2017**.
- Campiglio C. E., Contessi Negrini N., Farè S., Draghi L., Cross-linking Strategies for Electrospun Gelatin Scaffolds, *Materials*, 12, 2476, **2019**.
- Pezeshki Modares M., Mirzadeh H., Zandi M., Fabrication of a Porous Wall and Higher Interconnectivity Scaffold Comprising Gelatin/Chitosan Via Combination of Salt-leaching and Lyophilization Methods, *Iranian Polymer Journal*, 21, 191-200, **2012**.
- Huang Z. M., Zhang Y. Z., Ramakrishna S., Lim C. T., Electrospinning and Mechanical Characterization of Gelatin Nanofibers, *Polymer*, 45, 5361-5368, **2004**.
- Chen F. M., Liu X., Advancing Biomaterials of Human Origin for Tissue Engineering, *Prog. Polym. Sci.*, 53, 86-168, **2016**.
- Ramanathan G., Singaravelu S., Raja M. D., Nagiah N., Padmapriya P., Ruban K., Krishnasamy K., Natarajan. T. S., Sivagnanam. U. T., Perumal P. T., Fabrication and Characterization of a Collagen Coated Electrospun poly (3-hydroxybutyric Acid)-gelatin Nanofibrous Scaffold as a Soft Bio-mimetic Material for Skin Tissue Engineering Applications, *RSC Advances*, 6, 7914-7922, **2016**.
- Wang Y., Kim H. J., Vunjak-Novakovic G., Kaplan D. L., Stem Cell-based Tissue Engineering with Silk Biomaterials, *Biomaterials*, 27, 6064-6082, **2006**.
- Moghadas B., Dashtimoghadam E., Mirzadeh H., Seidi F., Hasani-Sadrabadi M. M., Novel Chitosan-based Nanobiohybrid membranes for Wound Dressing Applications, *RSC Advances*, 6, 7701-7711, **2016**.
- Gauthier M. A., Klok H. A., Peptide/protein-polymer Con-

jugates: synthetic Strategies and Design Concepts, *Chemical Communications*, 23, 2591-2611, **2008**.  
28. Yi L., Sun H., Wu Y. W., Triola G., Waldmann H., Goody R.

S., A Highly Efficient Strategy for Modification of Proteins at the Terminus, *Angewandte Chemie International Edition*, 49, 9417-9421, **2010**.