



مطالعات محاسباتی مبتنی بر DFT بر روی پیکربندی های مولکولی داروی آزاسیتیدین

ابوالقاسم شاملی^{۱*}، سمیرا ناصری^۲

^۱گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد امیدیه، امیدیه، ایران

^۲گروه شیمی دارویی، دانشکده شیمی دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

تاریخ ثبت اولیه: ۱۳۹۸/۰۳/۰۸، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۳۹۸/۰۶/۱۸، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۳۹۸/۰۶/۲۸

چکیده

در این تحقیق به بررسی و مطالعه خواص ساختاری ترکیب آزاسیتیدین بعنوان یک دارو برای درمان سندرم میلودیسپلاستیک با استفاده از روشهای محاسباتی بر مبنای مکانیک کوانتوم پرداخته شده است. تجزیه و تحلیل ۳ پیکربندی مولکول آزاسیتیدین با محاسبات نظریه تابعی چگال و در سطح محاسباتی B3LYP و با تابع پایه 6-311G/dp+ به طور کامل مورد بررسی قرار گرفته است. برای این منظور از آنالیزهای متعددی برای بررسی ساختار، از جمله بهینه سازی ترکیبات، محاسبه های طیف مرئی فرابنفش (UV-Vis) به وسیله ی محاسبه های وابسته به زمان (TD-DFT) انجام شد.

واژه های کلیدی: نظریه تابعی چگال، پیکربندی، آزاسیتیدین.

۱. مقدمه

سندرم میلودیسپلاستیک (MDS) ناهنجاری در تقسیم سلول بنیادی خون بوده که از نظر کمی و کیفی در نقصان تولید سلولهای خونی نقش دارد. MDS در کم خونی ای که نیاز به تزریق خون مزمن داشته باشد نیز دیده میشود. در بیشتر مواقع به دلیل افزایش نارسایی مغز استخوان هر یک از سلولهای خونی گلبول قرمز، گلبول سفید و یا پلاکت دچار کاهش تولید میشوند سندرم میلودیسپلاستیک می تواند به لوسمی حاد میلوئید (AML) تبدیل شود. با توجه به یافته های بدست آمده، 75% درصد از مبتلایان

*عهده دار مکاتبات: ابوالقاسم شاملی

نشانی: گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، امیدیه، ایران

پست الکترونیک: E-mail: shameli678@gmail.com

تلفن: ۰۶۱۵۲۶۲۳۴۳۵

به سندرم میلودیپلاستیک فاقد شرایط لازم برای درمان توسط داروهای موجود و دردسترس هستند. که آزاسیتیدین یک آنالوگ شیمیایی سیتیدین (یکی از نوکلئوزیدها) در DNA و RNA است. آزاسیتیدین و مشتق دی اکسی آن (دسیتابین) در درمان سندرم میلودیپلاستیک (MDS) و هم چنین لوسمی حاد مغز استخوان (AML) به کار می رود. درمان با آزاسیتیدین و دسیتابین فاصله زمانی مورد نیاز برای تزریق خون را افزایش می دهد و تبدیل شدن MDS به AML را به تعویق می اندازد [۵-۱].

سرطان اصولاً یک روند رشد در تولید مثل سلولها می باشد که قابل کنترل نیست و همراه با رفتارهای خطرناک و هجومی این توده سلولی است. سرطان ممکن است بنا به دلایل ژنتیکی یا محیطی رخ دهد. به طور کلی بسیاری از داروهای شیمیایی که به منظور شیمی درمانی سرطان به کار برده می شوند بر روی تقسیم سلولی سلولهای سرطانی اثر می گذارند به خصوص در مورد آن دسته از سرطانهایی که سرعت تقسیم سلولی در آنها بسیار بالاست [۷-۶].

این داروها که سبب آسیب رساندن به سلول می شوند، سایتوتوکسیک نامیده می شوند [۱۰-۸]. برخی از این داروها باعث می شوند که سلول دستخوش تغییرات اساسی شده و رشد آن متوقف شود که به برنامه ریزی برای مرگ سلول نیز معروف است. دانشمندان هنوز در حال بررسی و مطالعه ویژگیهای منحصر به فرد سلولهای سرطانی خطرناک و مقاوم هستند تا بتوانند آنها را به طور ویژه مورد هدف قرار دهند. این کار به این دلیل است که در طول فرایند شیمی درمانی علاوه بر سلولهای سرطانی سلولهای دیگر مانند سلولهای مربوط به رشد مو و سلولهای داخلی روده که سرعت رشد بالایی دارند مورد حمله قرار می گیرند و جریان رشد آنها نیز متوقف می شود که باعث اختلال در امور بیمار می شود. اگرچه بعضی از داروهای مناسب تر نیز ساخته شده که پزشکان را قادر می سازد تا به نحو بهتر به درمان سرطان بپردازند.

شیمی درمانی بر روی تقسیم سلولی تأثیر می گذارد و به ویژه تومورهای با رشد بالا بیشتر تأثیر می پذیرند. به دلیل این که تعداد زیادی از سلول که در حال تقسیم هستند مورد حمله قرار می گیرند؛ و تومورهای بدخیم با رشد پایین بیشتر کمتر تأثیر می پذیرند. دارو بر روی تومورهای جوان بسیار بهتر عمل می کند چرا که مکانیسم منظم تقسیم سلولی را متوقف می کند و تولید مثل موفق را بازمی دارد و رشد، بسیار نامنظم شده و همین باعث می شود تا تومور کمتر از داروی شیمیایی تأثیر پذیرد و دیگر به آن حساس نباشد. مشکل دیگری که با تومورهای سفت و توپر داریم این است که شیمی درمانی به هسته تومور نمی رسد و راه حل این کار استفاده از لیزر و پرتو درمانی یا عمل جراحی است [۱۵-۱۱].

اکثر ترکیبات دارویی، پروتئینها و ترکیبات فعال بیولوژیکی بدلیل جهت گیری های فضایی متعدد و همچنین تبادلات شیمیایی، دارای پیکربندی های متنوعی می باشند. اهمیت این زیر ساختارها در تفاوت های خواص بیولوژیکی این ترکیبات نمایان می گردد به گونه ای که هر پیکربندی پایدار می تواند خواص بیولوژیکی متفاوتی دارند که برخی از پیکربندی ها سمیت نیز دارند و یا اینکه خاصیت دارویی نداشته باشد [۱۶]. این به دلیل تفاوت در نوع برهمکنش هایی است که با سیستم های بیولوژیکی موجود در بدن اتفاق می افتد. در این پژوهش، ابتدا داروی آزاسیتیدین و پیکربندی های ارائه شده رسم می گردد و سپس ساختار آن به کمک

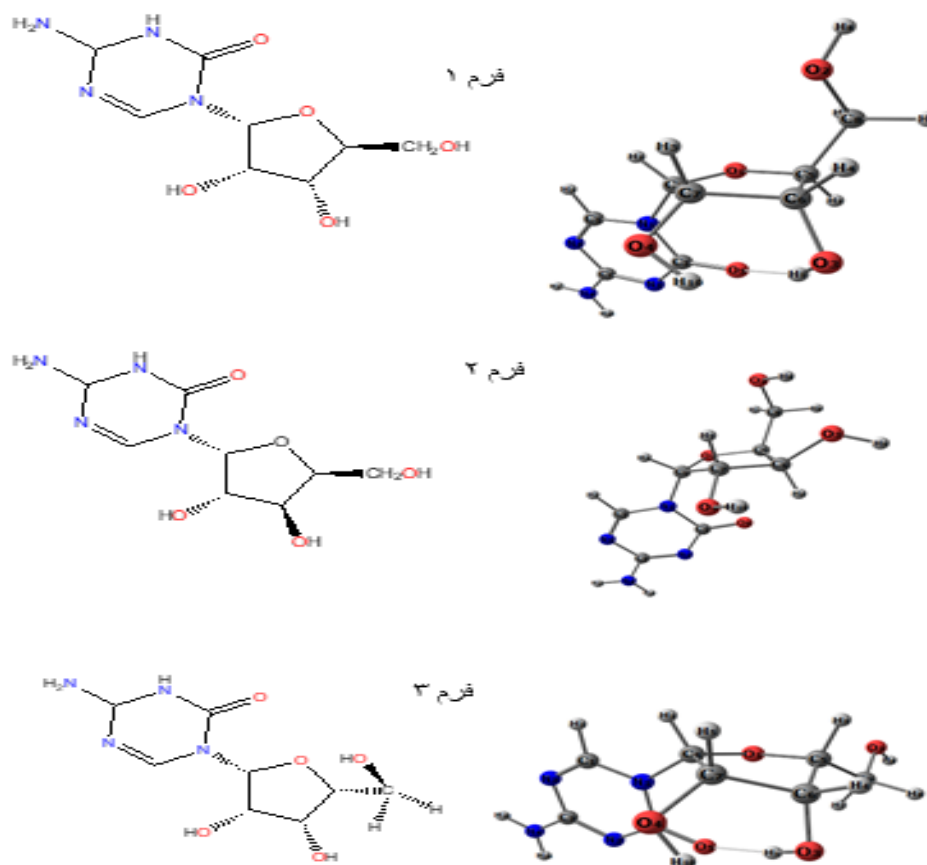
محاسبه های DFT ساختار مولکولی و الکترونی آن مطالعه می گردد. به همین منظور بعد از بهینه سازی ساختار، انتقالهای الکترونی در طیف ماوراء بنفش مطالعه و بررسی می شود.

۲. روشهای محاسباتی

برای انجام روش محاسبه ای در مرحله نخست ساختار ترکیب آزاسیتیدین با ۳ فرم توتومری آن به کمک نرم افزارهای Chem3D و Gauss view رسم شده، سپس محاسبه های بهینه سازی ساختار در سطح نظری B3LYP/6-311+G(d,p) انجام شد. محاسبه های طیف مرئی فرابنفش (UV-Vis) به وسیله ی محاسبه های وابسته به زمان DFT (TD-DFT) انجام شد. برای ترکیب، حالت های اسپینی برانگیخته یک تایی و سه تایی در نظر گرفته شد، هرچند انتقال به حالت های سه تایی غیر مجاز است. همه محاسبات در فاز گازی و با استفاده از نرم افزار گوسین ۰۳ انجام شده اند [۱۷].

۳. نتایج و بحث

در شکل ۱ ساختارهای بهینه شده پیکربندیهای آزاسیتیدین در سطح B3LYP/6-311+G(d,p) آورده شده است. که با تشکیل پیوند هیدروژنی O-H...O ساختار ترکیبات پایدار شده است



شکل ۱. سه فرم از پیکربندی داروی آزاسیتیدین

اطلاعات انرژی مربوط به سه پیکربندی داروی آزاسیتیدین در جدول یک آورده است همانطور که در جدول مشاهده می کنید فرم یک نسبت به دو فرم دیگر از نظر انرژی پایداری بیشتری دارد و طبق جدول یک در فاز آبی فرم یک پایداری بیشتر از فاز گازی آن دارد.

جدول ۱. مقادیر انرژی و نتایج محاسبه شده برای ۳ فرم داروی آزاسیتیدین

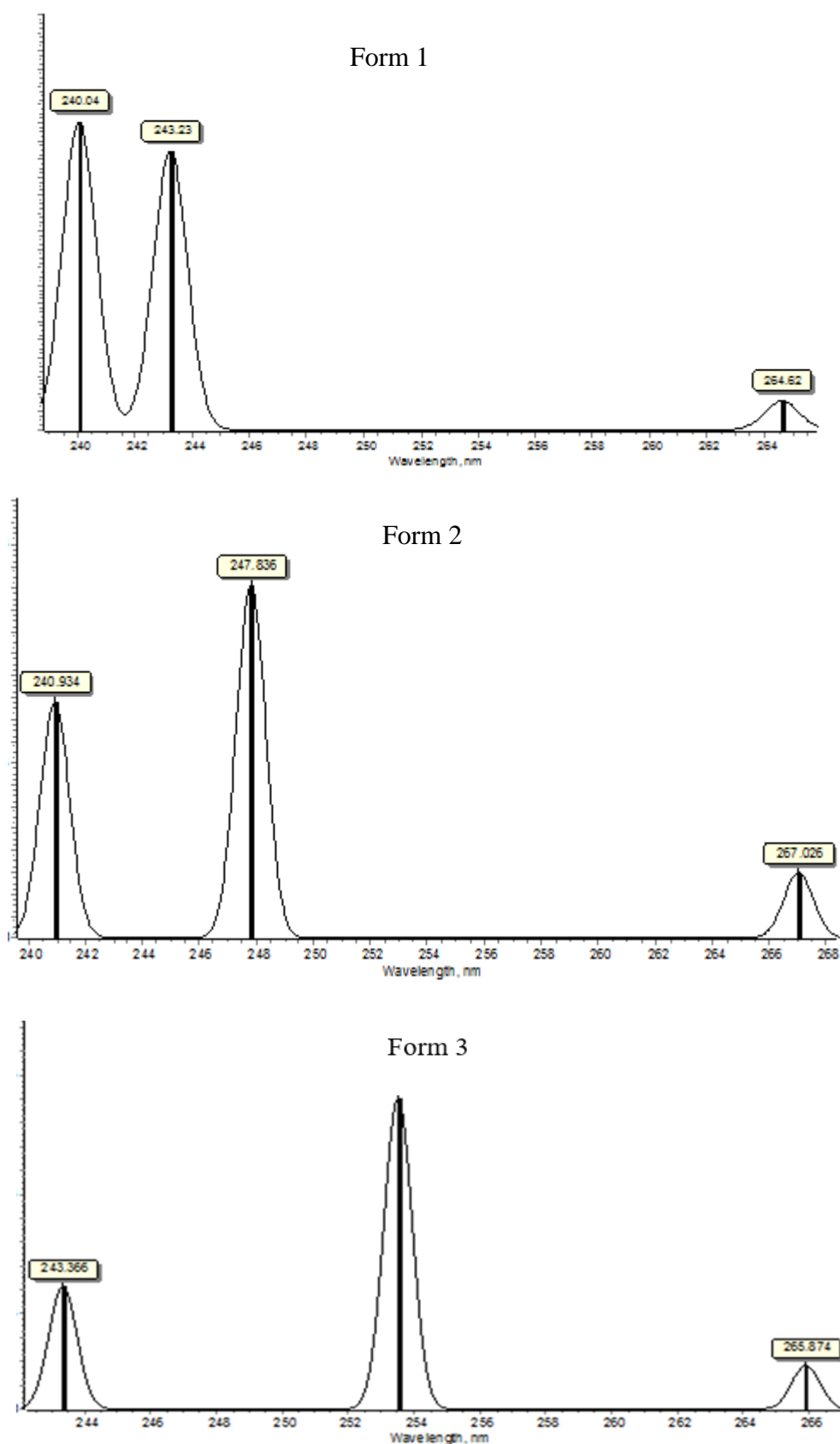
Form	gas		water	
	E(a.u)	Dipole Moment	E(a.u)	Dipole Moment
1	-907.459	3.7541	-907.475	6.0456
2	-907.484	2.2371	-907.498	6.0814
3	-907.479	3.0852	-907.503	6.1814

در ادامه خواص نوری پیکربندی آزاسیتیدین را مورد مطالعه و بررسی قرار دادیم. برای این منظور محاسبات UV انجام شد، برای هر هشت ساختار آزاسیتیدین در فاز گازی و آبی طیف‌های متفاوتی مشاهده شد. شکل‌های زیر طیف‌های UV هر سه ساختار در فاز گازی آزاسیتیدین را نشان می دهد که اطلاعات طیفی آن در جدول شماره ۲ و شکل ۲ آمده است.

جدول ۲: مقادیر انرژی و نتایج طیف سنجی ماوراءبنفش برای ۳ فرم داروی آزاسیتیدین در فاز گازی

	Wave length (nm)	Oscillator Strength	ΔE_{ad} (eV)	Electronic transition
Form 1	264.62	0.032	4.6854	62 (HOMO)→65 (LUMO)
	243.23	0.309	5.0974	63 (HOMO)→65 (LUMO)
	240.04	0.341	5.1651	64 (HOMO)→65 (LUMO)
Form 2	267.02	0.030	4.6433	62 (HOMO)→65 (LUMO)
	247.82	0.161	5.0029	64 (HOMO)→65 (LUMO)
	240.94	0.108	5.1458	61 (HOMO)→65 (LUMO)
Form 3	265.89	0.037	4.6629	62 (HOMO)→65 (LUMO)
	253.52	0.261	4.8905	64 (HOMO)→65 (LUMO)
	243.35	0.103	5.0950	63 (HOMO)→65 (LUMO)

فرم شماره ۱ آزاسیتیدین بالاترین طول موج در ۲۴۰.۰۴ نانومتر مربوط به انتقال بار از اوربیتال مولکولی ۶۴ (HOMO) به اوربیتال مولکولی ضدپیوندی ۶۵ (LUMO) با ویژگی π^* است که اطلاعات آن در جدول ۲ آمده است. مطابق جدول ۲ اوربیتال‌های درگیر در انتقال‌های دوم و سوم روی گروه دهنده ی پروتون و انتقال‌های اول روی گروه پذیرنده ی پروتون قرار دارد، در نتیجه از نوع درون لیگاندی $\pi \rightarrow \pi^*$ (ILCT) می باشند. در فرم ۲ آزاسیتیدین بالاترین طول موج مربوط به انتقال بار از اوربیتال مولکولی ۶۴ (HOMO) به اوربیتال مولکولی ضدپیوندی ۶۵ (LUMO) با ویژگی π^* است. اوربیتال‌های درگیر در انتقال‌های دوم و سوم روی گروه دهنده ی پروتون و انتقال‌های اول روی گروه پذیرنده ی پروتون قرار دارد، در نتیجه از نوع درون لیگاندی $\pi \rightarrow \pi^*$ می



شکل ۲. طیف الکترونی محاسبه ای در سطح B3LYP/6-311+G(d, p) برای ترکیب سه فرم پیکربندی آزاستیدین.

باشند. فرم شماره ۳ آزاستیدین بالاترین طول موج در ۲۵۳.۵۲ نانومتر مربوط به انتقال بار از اوربیتال مولکولی ۶۴ (HOMO) به اوربیتال مولکولی ضدپیوندی ۶۵ (LUMO) با ویژگی π^* است که اطلاعات آن در جدول ۲ آمده است. که طیفهای ماوراء بنفش آن در شکل ۲ آمده است.

جدول ۳. مقادیر ترمودینامیکی ساختارهای ۱-۳ آزاستیدین در فاز گازی و در سطح محاسباتی B3LYP/6-311+G(d,p)

پارامتر	فرم ۱	فرم ۲	فرم ۳	Δ_{r-1}	Δ_{1-3}	Δ_{2-3}
thermal Free Energies	-۹۰۷/۲۹۹۵	-۹۰۷/۲۹۱۳	-۹۰۷/۳۲۱۷	۰-/۰۰۸۲	-۰/۰۲۲۲	-۰/۰۳۰۴
thermal Enthalpies	-۹۰۷/۲۴۰۹	-۹۰۷/۲۳۱۵	-۹۰۷/۲۳۶۴	۰/۰۰۹۴	-۰/۰۰۴۵	-۰/۰۰۴۹
thermal Energies	-۹۰۷/۲۴۰۰	-۹۰۷/۲۳۲۴	-۹۰۷/۲۳۷۴	-۰/۰۰۷۶	-۰/۰۰۲۶	-۰/۰۰۵۰

از نتایج جدول ۲ مشخص است که پارامترهای ترمودینامیکی ساختارهای کنفیگوراسیونی ۱ تا ۳ آزاستیدین خیلی متفاوت از هم نیستند و تقریباً نزدیک یکدیگر می باشند انرژی حرارتی و تغییرات انرژی آزاد گیبس ساختار ۱ آزاستیدین کمی پایدارتر از فرم ۲ و ۳ آزاستیدین می باشد، درحالیکه فرم یک از نظر آنتالپی نسبت به دو فرم دیگر آزاستیدین ناپایدارتر می باشد. همانطور که در جدول ۲ مشاهده می کنید تغییرات آنتالپی فرمها ۱، ۲ و ۳ به ترتیب ۰/۰۰۹۴ / هارتری (معادل ۰/۲۵۵۸ الکترون ولت)، ۰/۰۰۴۵- / هارتری (معادل ۰/۱۲۲۴ الکترون ولت) . ۰/۰۰۴۹- / هارتری (معادل ۰/۱۳۳۳ الکترون ولت) است که پایدارترین فرم از نظر آنتالپی فرم ۳ و ناپایدارترین فرم ۱ می باشد هر چند از نظر مقادیر اختلاف بسیار ناچیزی دارند. تغییرات انرژی آزاد فرمهای ۱ به ۳، ۳ به ۱ و ۳ به ۲ به ترتیب برابر با ۰/۰۰۸۲- / هارتری (معادل ۰/۲۲۳۱ الکترون ولت) ۰/۰۲۲۲- / هارتری (معادل ۰/۶۰۴ الکترون ولت) و ۰/۰۳۰۴- / هارتری (معادل ۰/۸۲۷۲ الکترون ولت) می باشد با توجه به میزان اختلاف ناچیز بین فرمهای کنفیگوراسیونی این تبدیلات براحتی با انرژی بسیار کم انجام می شود.

۳. نتیجه گیری

برای داروی آزاستیدین محاسبه های بهینه سازی و طیف سنجی الکترونی در سطح DFT/B3LYP/6-311+G(d, p)، میزان انرژی پایداری داروی مربوط و انتقال های بار بررسی شد. پیوند هیدروژنی O-H...O باعث پایداری ترکیب به میزان ۳۸- کیلوژول بر مول گردید. مقایسه طیف ماوراء بنفش پیوندهای هیدروژنی در ساختارهای بهینه شده ترکیب ۱ و دو پیکربندی دیگر تشکیل پیوند هیدروژنی را در داروی آزاستیدین را نشان می دهد. سه پیک اصلی محاسبه ای برای طیف الکترونی بدست آمد که از نوع انتقال بار درون مولکولی برای هر سه پیکربندی داروی آزاستیدین به ترتیب با ویژگی $n(p) \rightarrow \pi^*$ و $\pi \rightarrow \pi^*$ هستند. تغییرات آنتالپی و انرژی گیبس بین فرمهای ۱ تا ۳ مورد بررسی قرار گرفت که این ساختارهای کنفیگوراسیونی براحتی به یکدیگر تبدیل می شود.

۴. قدردانی

از دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم پزشکی که در کل دوره تحقیق از این کار تحقیقاتی حمایت کرده اند سپاسگزاری می شود.

۵. مراجع

- [1] Behbehani, G.K., Finck, R., Samusik, N., Sridhar, K.J., Fantl, W.J., Greenberg, P.L. and Nolan, G.P., Profiling Myelodysplastic Syndromes by Mass Cytometry Demonstrates Abnormal Progenitor Cell Phenotype and Differentiation. *bioRxiv*, (2019) 604397.
- [2] Murakami, Y., Kimura, Y., Kawahara, A., Mitsuyasu, S., Miyake, H., Tohyama, K., Endo, Y., Yoshida, N., Imamura, Y., Watari, K. and Ono, M., The augmented expression of the cytidine deaminase gene by 5-azacytidine predicts therapeutic efficacy in myelodysplastic syndromes. *Oncotarget*, 10(23) (2019) 2270.
- [3] Ades, L., Guerci-Bresler, A., Cony-Makhoul, P., Legros, L., Sebert, M., Braun, T., Delaunay, J., Desseaux, K., Chevret, S. and Fenaux, P., A phase II study of the efficacy and safety of an intensified schedule of azacytidine in intermediate-2 and high-risk patients with myelodysplastic syndromes: a study by the Groupe Francophone des Myelodysplasies (GFM). *haematologica*, 104(4) (2019) e131.
- [4] Fenaux, P., Mufti, G.J., Hellström-Lindberg, E., Santini, V., Gattermann, N., Germing, U., Sanz, G., List, A.F., Gore, S., Seymour, J.F. and Dombret, H., Azacitidine prolongs overall survival compared with conventional care regimens in elderly patients with low bone marrow blast count acute myeloid leukemia. *Journal of Clinical Oncology*, 28(4) (2009) 562-569.
- [5] DiNardo, C.D., Pratz, K.W., Letai, A., Jonas, B.A., Wei, A.H., Thirman, M., Arellano, M., Frattini, M.G., Kantarjian, H., Popovic, R. and Chyla, B., Safety and preliminary efficacy of venetoclax with decitabine or azacitidine in elderly patients with previously untreated acute myeloid leukaemia: a non-randomised, open-label, phase 1b study. *The lancet oncology*, 19(2) (2018) 216-228.
- [6] Hallek, M., Cheson, B.D., Catovsky, D., Caligaris-Cappio, F., Dighiero, G., Döhner, H., Hillmen, P., Keating, M.J., Montserrat, E., Rai, K.R. and Kipps, T.J., Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute-Working Group 1996 guidelines. *Blood*, 111(12) (2008) 5446-5456.
- [7] Wang, J.C. and Dick, J.E., Cancer stem cells: lessons from leukemia. *Trends in cell biology*, 15(9) (2005) 494-501.
- [8] Chari, R.V., Targeted cancer therapy: conferring specificity to cytotoxic drugs. *Accounts of chemical research*, 41(1) (2007) 98-107.
- [9] Micheau, O., Solary, E., Hammann, A., Martin, F. and Dimanche-Boitrel, M.T., Sensitization of cancer cells treated with cytotoxic drugs to fas-mediated cytotoxicity. *Journal of the National Cancer Institute*, 89(11) (1997) 783-789.
- [10] Fekri, F., Abousawan, J., Bautista, S.J., Dayam, R.M., Antonescu, C. and Karshafian, R., Targeted enhancement of flotillin-dependent endocytosis augments cellular uptake and impact of cytotoxic drugs. *bioRxiv*, (2019) 543355.
- [11] Kaminskas, E., Farrell, A.T., Wang, Y.C., Sridhara, R. and Pazdur, R., FDA drug approval summary: azacitidine (5-azacytidine, Vidaza™) for injectable suspension. *The oncologist*, 10(3) (2005) 176-182.
- [12] Cowan, L.A., Talwar, S. and Yang, A.S., Will DNA methylation inhibitors work in solid tumors? A review of the clinical experience with azacitidine and decitabine in solid tumors. *Epigenomics*, 2(1) (2010) 71-86.
- [13] Pirola, L., Ciesielski, O. and Balcerzyk, A., The methylation status of the epigenome: its emerging role in the regulation of tumor angiogenesis and tumor growth, and potential for drug targeting. *Cancers*, 10(8) (2018) 268.

- [14] Kratzsch, T., Kuhn, S.A., Joedicke, A., Hanisch, U.K., Vajkoczy, P., Hoffmann, J. and Fichtner, I., Treatment with 5-azacitidine delay growth of glioblastoma xenografts: a potential new treatment approach for glioblastomas. *Journal of cancer research and clinical oncology*, 144(5) (2018) 809-819.
- [15] Schneider, B.J., Shah, M.A., Klute, K., Ocean, A., Popa, E., Altorki, N., Lieberman, M., Schreiner, A., Yantiss, R., Christos, P.J. and Palmer, R., Phase I study of epigenetic priming with azacitidine prior to standard neoadjuvant chemotherapy for patients with resectable gastric and esophageal adenocarcinoma: evidence of tumor hypomethylation as an indicator of major histopathologic response. *Clinical Cancer Research*, 23(11) (2017) 2673-2680.
- [16] Fledelius, H.C., Petrera, J.E., Skjöldt, K. and Trojaborg, W., Ocular ethambutol toxicity: A case report with electrophysiological considerations and a review of Danish cases 1972–81. *Acta ophthalmologica*, 65(2) (1987) 251-255.
- [17] Frisch, M.J.E.A., Trucks, G.W., Schlegel, H., Scuseria, G.E., Robb, M.A., Cheeseman, J.R., Montgomery Jr, J.A., Vreven, T.K.K.N., Kudin, K.N., Burant, J. and Millam, J.M., Gaussian 03, (2004) revision c. 02; Gaussian. Inc., Wallingford, CT, 4.

The DFT studies on molecular configurations of Azacitidine

Abolghasem Shameli^{1*}, Samira Naseri²

¹Department of Chemistry, Faculty of Science, Omidyeh Branch, Islamic Azad University, Omidyeh, Iran

²Department of Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Chemistry, Tehran Medical sciences, Islamic Azad university, Tehran, Iran

Submitted: 29 May 2019, Revised: 09 September 2019, Accepted: 19 September 2019

Abstract

In this study investigates the structural properties of Azacitidine as a drug for the treatment of myelodysplastic syndrome using computational methods based on quantum mechanics. The analysis of 3 configurations of the Azacitidine molecule has been thoroughly investigated by calculating the density function theory at the computational level of B3LYP and with the base function 6-311G/dp. For this purpose, transient analyzes were performed to examine the structure, including optimization of compounds, ultraviolet spectroscopy (UV - Vis) calculations by time - dependent DFT (TD - DFT) calculations.

Keywords: Density Functional Theory, Azacitidine, Configuration.

*Corresponding author : Abolghasem Shameli

Adress: Department of Chemistry, Omidyeh Branch, Islamic Azad University, Omidyeh, Iran

Tel: 06152631035

E-mail: shameli678@gmail.com