



# In-silico Analysis of Chemical Space Governing the Interactions between Distamycin A Derivatives and DNA Molecule

## ARTICLE INFO

### Article Type

Original Research

### Authors

Rasti B.\*<sup>1</sup> PhD,  
Shahangian S.Sh.<sup>2</sup> PhD

### How to cite this article

Rasti B, Shahangian S Sh. In-silico Analysis of Chemical Space Governing the Interactions between Distamycin A Derivatives and DNA Molecule. Modares Journal of Biotechnology. 2019;10(1):69-75.

<sup>1</sup>Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Lahijan Branch, Islamic Azad University (IAU), Lahijan, Iran

<sup>2</sup>Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

### \*Correspondence

Address: Lahijan Branch, Islamic Azad University (IAU), Shaghayegh Street, Lahijan, Guilan, Iran.  
Postal Code: 4416939515  
Phone: +98 (13) 42229081  
Fax: +98 (13) 41222605  
rasti@liau.ac.ir

### Article History

Received: January 01, 2017  
Accepted: February 21, 2018  
ePublished: March 16, 2019

## ABSTRACT

**Aims** Targeting DNA lies at the heart of anti-cancer therapies. Hence, DNA-binding drugs and their interaction with DNA have recently drawn the attention of researchers. Since DNA minor groove binders (MGBs) act as potent anti-tumor agents, there is a need to have detailed insights on how they interact with DNA. The mechanism of action of the majority of MGBs is not well studied at the molecular level.

**Materials & Methods** Herein, molecular docking and dynamics simulations were performed, using AutoDock Vina and NAMD softwares, respectively, to evaluate the binding of distamycin A derivatives (Tallimustine, PNU 151807, and brostallicin) to DNA molecule, and to compare their interaction energy and binding modes patterns.

**Findings** All three drugs were stably bound throughout the simulation, causing only minor modifications to the structure of DNA. Results of interaction energy analyses together with LigPlot outcomes showed that A/T residues are responsible for making the majority of non-bonding interactions in the case of all three drugs, showing a good agreement with previously reported findings on MGBs.

**Conclusion** A/T residues are responsible for making the majority of non-bonding interactions in the case of all three drugs, showing a good agreement with previously reported findings on MGBs. Furthermore, our studies have shown that compare to the other members of the Distamycin A family, brostallicin makes stronger interactions with DNA molecule, making it a better candidate for cancer therapy goals.

**Keywords** Distamycin; DNA; Molecular Docking Simulation; Molecular Dynamics Simulation

## CITATION LINKS

- [1] Antineoplastic DNA-binding compounds: Intercalating and minor groove binding ... [2] Synthesis, characterization, anticancer, DNA binding and antioxidant studies of benzylamine ... [3] Minor-groove binding drugs: Where is the second Hoechst 33258 ... [4] Chemistry of DNA minor groove binding ... [5] DNA binders in clinical trials and ... [6] Comparison of computational methods to model DNA minor groove ... [7] DNA minor groove binders as potential antitumor and antimicrobial... [8] DNA minor-groove recognition by small ... [9] Molecular dynamics simulations and binding free energy analysis of DNA minor groove complexes of ... [10] Development of distamycin-related DNA binding anticancer ... [11] New solid phase synthesis of distamycin ... [12] Advances in DNA sequence-specific ... [13] DNA minor groove binders: Back in the ... [14] Brostallicin, a novel anticancer agent whose activity is enhanced ... [15] Molecular therapies of ... [16] Phase I and pharmacokinetic study of ... [17] Brostallicin (PNU-166196), a new minor groove ... [18] Drug-DNA interactions and their study by ... [19] AutoDock/Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new ... [20] A rapidly convergent descent method for ... [21] VMD: Visual Molecular ... [22] Comparison of simple potential ... [23] Scalable molecular dynamics with ... [24] Development and current status of the ... [25] Numerical integration of the cartesian equations of motion of a system with constraints ... [26] Settle: An analytical version of the Shake and Rattle ... [27] Particle mesh Ewald: An N.log(N) method for Ewald sums in ... [28] LIGPLOT: A program to generate schematic diagrams ... [29] DNA minor-groove binders. Design, synthesis and biological evaluation of ... [30] Molecular dynamics simulations and drug ... [31] Molecular docking and molecular dynamics study ... [32] DNA as a target for anticancer compounds ... [33] DNA minor groove binders: An overview ... [34] Brostallicin (PNU-166196) -- a new DNA minor groove binder that retains sensitivity in ... [35] Alpha-bromoacryloyl derivative of distamycin A (PNU 151807): A new non-covalent ... [36] Preparation and functional evaluation of RGD-modified proteins ... [37] Characterization of methicillin-resistant Staphylococcus aureus ... [38] Dynamic hydrogen bonding and DNA flexibility in minor groove ...

## تحلیل *in-silico* فضای شیمیایی تاثیرگذار در ایجاد برهم‌کنش‌های مشتقات دیستامایسین A و مولکول DNA

بهنام راستی \* PhD

گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران

سیده‌شیرین شاهنگیان PhD

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

### چکیده:

**اهداف:** هدف قرارداد DNA در راس درمان‌های ضدسرطان قرار دارد. بنابراین داروهای متصل‌شونده به DNA و برهم‌کنش آنها با DNA بسیار مورد توجه محققان قرار گرفته‌اند. از آنجایی که متصل‌شونده‌ها به شیار کوچک DNA (MGBs) به‌عنوان ترکیبات ضدتوموری موثر و کارآمدی مطرح هستند، درک جزئیات برهم‌کنش آنها با DNA ضروری به نظر می‌رسد. تاکنون مکانیزم عمل بسیاری از MGBها در سطح مولکولی مشخص نشده است.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه با انجام شبیه‌سازی‌های داکینگ و دینامیک مولکولی توسط نرم‌افزارهای AutoDock Vina و NAMD، نحوه اتصال سه مشتق متفاوت از دیستامایسین A (تالیومستاین، PNU151807 و بروستالیسین) با DNA بررسی و انرژی برهم‌کنش و الگوی اتصال آنها با یکدیگر مقایسه شد.

**یافته‌ها:** هر سه دارو طی شبیه‌سازی به‌طور پایداری به DNA متصل شده و تغییرات ساختاری کمی را در مولکول DNA القا کرده‌اند. نتایج حاصل از تحلیل LigPlot نیز هم‌خوانی بسیار بالایی را با نتایج مربوط به تحلیل انرژی‌های برهم‌کنش توسط NAMD نشان داد و مشخص شد در کمپلکس‌های مربوط به هر سه ترکیب با DNA، نوکلئوتیدهای A و T بیشترین نقش را در ایجاد برهم‌کنش‌ها دارند.

**نتیجه‌گیری:** در کمپلکس‌های مربوط به هر سه ترکیب با DNA، نوکلئوتیدهای A و T بیشترین نقش را در ایجاد برهم‌کنش‌ها دارند که با سایر مطالعات و گزارش‌های موجود در مورد MGBها مطابقت دارد. مطالعه حاضر نشان داد که بروستالیسین در مقایسه با دو داروی هم‌خانواده خود که همگی از دیستامایسین A مشتق شده‌اند، پتانسیل بیشتری در برقراری برهم‌کنش‌های قوی‌تر با مولکول DNA داشته و می‌تواند به‌عنوان کاندیدای موفق‌تری در درمان‌های ضدسرطان مطرح شود.

**کلیدواژه‌ها:** دیستامایسین، DNA، شبیه‌سازی داکینگ، مولکولی، شبیه‌سازی دینامیک مولکولی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۰/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۲/۰۲

\* نویسنده مسئول: راستی@liau.ac.ir

### مقدمه

توسعه راهکارهای ضدتوموری در راستای درمان سرطان از مباحث کلیدی است که امروزه محققان علوم مولکولی روی آن بسیار متمرکز شده‌اند<sup>[1]</sup>. با توجه به اینکه هدف قرارداد DNA در راس درمان‌های ضدسرطان قرار دارد، داروهای متصل‌شونده به DNA (DNA-binding drugs) شدیداً در کانون توجه‌اند<sup>[2, 3]</sup>. این دسته از مولکول‌ها عمدتاً اثر ضدتوموریشان را با آسیب‌رساندن به سیستم رونویسی DNA، از طریق اتصال‌های کووالان یا غیرکووالان اعمال می‌کنند. اتصالات غیرکووالان به دو صورت درج‌شدن در DNA و اتصال به شیار DNA برقرار می‌شوند<sup>[4, 1]</sup>.

متصل‌شونده‌ها به شیار DNA نقش اساسی در طراحی دارو و درمان سرطان ایفا می‌کنند<sup>[5]</sup>. تفاوت‌های ظریف بین شیارهای کوچک و بزرگ DNA همچون موقعیت فضایی، ویژگی‌های پیوند هیدروژنی،

محیط الکتروستاتیک و قطبیت ریزمحیط موجب می‌شوند مولکول‌ها تمایل و ارجحیت متفاوتی برای برهم‌کنش با DNA نشان دهند<sup>[4, 6]</sup>. شیارهای بزرگ برای مولکول‌های بزرگی همچون پروتئین‌ها قابل دسترسی هستند، در حالی که شیارهای کوچک برای اتصال مولکول‌های کوچک در دسترس‌اند<sup>[4, 6]</sup>.

از پرکاربردترین داروهای ضدسرطان، متصل‌شونده‌ها به شیار کوچک DNA (MGBs) هستند که در درمان طیف وسیعی از سرطان‌ها موثر واقع شده‌اند<sup>[7]</sup>. MGBها خصوصیات مشترکی دارند که از میان آنها می‌توان به ساختار محدبشان که مکمل شیار کوچک DNA هستند، ترجیح آنها در اتصال به نواحی غنی از AT و ایجاد تغییر ناچیز در ساختار DNA اشاره نمود<sup>[8, 9]</sup>.

جفت‌شدن MGBها با شیار کوچک DNA به‌واسطه ساختار محدب و مکمل‌شان، برهم‌کنش‌های غیرپیوندی مطلوبی را با مولکول DNA رقم می‌زند<sup>[9, 8]</sup>. این ترکیبات ویژگی‌های ضدپروتوزوا و ضدباکتریایی از خود نشان داده‌اند و در دو دسته تقسیم‌بندی می‌شوند: ترکیباتی که از طریق برهم‌کنش‌های برگشت‌ناپذیر موجب صدمه دائمی به مولکول DNA می‌شوند (میتوسین C، آنترامایسین CC-1065 و آنالوگ‌های آن، نئوکارسینوستاتین) و ترکیباتی که ضمن برهم‌کنش با DNA موجب مهار برگشت‌پذیر عملکردهای وابسته به DNA می‌شوند (دیستامایسین A، برنیل، پنتامیدین، Hoechst 33258)<sup>[7]</sup>.

تالیومستاین (Tallimustine) از شناخته‌شده‌ترین این ترکیبات است که به‌عنوان عامل ضدتوموری موثر و کارآمدی مطرح است و از دیستامایسین A مشتق شده است<sup>[10]</sup>. دیستامایسین A علاوه بر فعالیت ضدتوموری، خاصیت ضدویروسی نیز دارد و چهارچوب ساختاری MGBهای جدید است<sup>[6, 11]</sup>. حاصل اضافه‌شدن استخلاف نیتروژن‌بنزوئیک‌اسید به دیستامایسین، ترکیب تالیومستاین است که همچون ترکیبات آلکیل‌کننده، اثرات مخرب DNA از خود نشان می‌دهد. علی‌رغم تاثیر کارآمد ضدتوموری تالیومستاین، به‌دلیل سمیت شدید آن بر مغز استخوان، استفاده دارویی از این ترکیب در فازهای بالینی متوقف شد و توسعه نیافت<sup>[12-14]</sup>. ترکیب دیگری از خانواده دیستامایسین، همولوگ بروموالکیل امید از دیستامایسین، به نام PNU-151807 است که در شرایط "درون موجو زنده" نتایج مطلوبی نشان داده است<sup>[5]</sup>. از بین مشتقات دیستامایسین، بروستالیسین (PNU-166196) موفق‌ترین دارو است که در حال گذران فازهای بالینی برای درمان سرطان سینه، سرطان تخمدان و سارکومای بافت‌های نرم است<sup>[5]</sup>. بروستالیسین (Brostallicin) در مقایسه با سایر MGBها میلیوتوکسیسیتی کمتری دارد و بازده درمانی آن ۸۰ برابر تالیومستاین است<sup>[16, 17]</sup>.

از آنجا که نحوه عملکرد بسیاری از داروهای ضدسرطان مرتبط با چگونگی اتصال آنها به DNA است، امروزه بررسی برهم‌کنش دارو و DNA جزو مباحث کلیدی دارویی به شمار می‌رود<sup>[18]</sup>. مکانیزم عمل بسیاری از MGBها که داروهای کارآمدی هستند هنوز مشخص نشده است. در مطالعه حاضر با استفاده از مطالعات شبیه‌سازی دینامیک مولکولی و داکینگ مولکولی، اتصال مشتقات دیستامایسین A (تالیومستاین، PNU 151807 و بروستالیسین) مولکول DNA بررسی و انرژی برهم‌کنش و الگوی اتصال آنها با یکدیگر مقایسه شد. این گونه مطالعات ضمن بررسی نحوه برهم‌کنش داروها با ماکرومولکول‌هایی چون DNA، زمینه را برای طراحی داروهایی موثرتر و کارآمدتر فراهم می‌کنند.

محدودیت اولی در تمام طول شبیه‌سازی اعمال شد، در حالی که محدودیت دوم به تدریج طی ۱۵۰ پیکوثانیه اول فاز تولید شبیه‌سازی حذف شد. سپس فرآیند دینامیک مولکولی تحت شرایط فشار ثابت به مدت ۲۰ نانوثانیه انجام شد و هر اپیکو ثانیه، یک ساختار لحظه‌ای از مولکول‌های کمپلکس ثبت و ذخیره شد. برای بررسی پایداری شبیه‌سازی و ساختار، انرژی کل و انحراف معیار جذر میانگین مربعات (RMSD) به عنوان تابعی از زمان تحلیل شدند. برای ارزیابی و محاسبه برهم‌کنش‌های غیرپیوندی بین رسیپتور (DNA) و لیگاندها (داروها) از *plug-in* انرژی موجود در NAMD 2.9 استفاده شد. به منظور مطالعه توزیع پیوندهای هیدروژنی و برهم‌کنش‌های هیدروفوب، نرم‌افزار LigPlot 4.5.3 به کار گرفته شد<sup>[28]</sup>. کمپلکس‌ها توسط نرم‌افزار VMD 1.9.2 نمایش داده شدند.

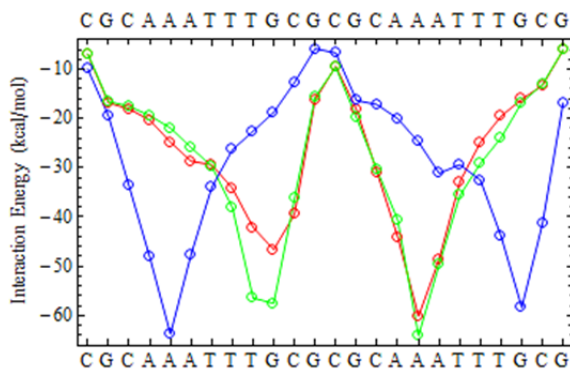
### نتایج و بحث

تاکنون ترکیبات ضدسرطانی سنتتیک و طبیعی متنوعی شناسایی شده‌اند که قادر به ایجاد برهم‌کنش با DNA هستند. اما اکثر این ترکیبات از ویژگی اتصال به توالی خاصی از DNA برخوردار نبوده و لذا سمیت بسیار شدیدی برای بافت‌های طبیعی نشان می‌دهند<sup>[29]</sup>. از این رو طی سال‌های اخیر، علوم پزشکی و بیولوژی مولکولی به گونه‌ای هدفمند و متمرکز به شناسایی مولکول‌های کوچکی پرداخته‌اند که در یک رفتار توالی-ویژه مولکول DNA را شناسایی کرده و عملکرد نوکلئیک‌اسید را تغییر دهند<sup>[29]</sup>. متصل‌شونده‌ها به شیار کوچک DNA به عنوان دسته مهمی از لیگاندهای توالی ویژه DNA، بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند<sup>[10]</sup>. آنالوگ‌های عوامل ضدتوموری طبیعی همچون دیستامایسین A، که به شیار کوچک DNA متصل می‌شوند گروه جدیدی از ترکیبات ضدسرطانی‌اند که در راستای درمان سرطان، خیلی مورد توجه قرار گرفته‌اند<sup>[29]</sup>. دیستامایسین A از آنجا که علاوه بر فعالیت‌های متنوع زیستی قادر است به صورت غیردرج‌شونده به شیار کوچک DNA متصل شود و با نواحی خاصی از توالی DNA اتصال محکم ایجاد کند، توجه محققان را به خود جلب کرده است<sup>[29]</sup>. تالیومستاین یکی از مشتقات دیستامایسین A است که ضمن پتانسیل بالا و اثر ضدتوموری قابل توجه بر تومورهای مختلف، به دلیل سمیت شدیدی که روی مغز استخوان دارد خیلی موفق نبوده است<sup>[10]</sup>. PNU 151807 مشتق دیگری از دیستامایسین است که نتایج درمانی مطلوبی نشان داده<sup>[5]</sup> و مشتق سنتتیک جدید دیستامایسین یعنی بروستالیسین به دلیل فعالیت ضدتوموری که در تست‌های پیش بالینی متنوع نشان داده است، در حال توسعه و بررسی بیشتر است<sup>[15]</sup>. مطالعات شبیه‌سازی برهم‌کنش میان گیرنده‌های ماکرومولکولی و لیگاندهای مولکولی کوچک در طراحی و توسعه داروها نقش بسزایی ایفا می‌کند<sup>[30]</sup>. به دلیل اهمیتی که امروزه MGBها برای درمان سرطان دارند، طراحی مولکول‌های جدید با اتصال مناسب به شیار کوچک DNA از اولویت‌های محققان مولکولی است. برای دستیابی به این هدف، درک جزئیات مولکولی اتصال MGBها به DNA حایز اهمیت است<sup>[6]</sup>. در این مطالعه به منظور بررسی انرژی برهم‌کنش و شیوه اتصال سه مشتق متفاوت از دیستامایسین A با DNA، مطالعات داکینگ و شبیه‌سازی دینامیک مولکولی روی کمپلکس‌های این ترکیبات با DNA انجام شد. فرآیند داکینگ مولکولی توسط نرم‌افزار AutoDock Vina 1.1.2 انجام شد تا

ساختار داروها (تالیومستاین، PNU 151807 و بروستالیسین) از پایگاه داده ChemSpider (<http://www.chemspider.com/>) و ساختار DNA گیرنده از بانک اطلاعاتی پروتئین (PDB) استخراج شدند. DNA با توالی 2(CGCAAATTTGCG) d برگرفته از یک ساختار کمپلکس دارو- DNA (کد 121D:PDB) بود که در آن مولکول نتروپسین به شیار کوچک DNA اتصال داشت. مولکول نتروپسین از ساختار کمپلکس حذف و شبیه‌سازی داکینگ مولکولی توسط نرم‌افزار AutoDock Vina 1.1.2 بین داروهای مورد نظر و DNA دورشته‌ای انجام شد<sup>[19]</sup>. قبل از انجام فرآیند داکینگ، ابتدا ساختار DNA برای ۱۰۰۰۰ گام به کمک الگوریتم شیب مزدوج<sup>[20]</sup> تحت روند کمینه‌سازی انرژی قرار گرفت تا برهم‌کنش‌های نامناسب درون ساختاری برطرف شوند و همچنین شرایط ایجاد برهم‌کنش‌های هیدروژنی بین مولکول DNA و مولکول‌های حلال فراهم شود. فرآیند داکینگ مولکولی سخت برای هر سه ترکیب انجام و در هر مورد کمپلکس‌های برگزیده و برتر از لحاظ آرایش فضایی و تمایل داروها، وارد فرآیند شبیه‌سازی شده و مورد بررسی بیشتر قرار گرفت. برای تهیه فایل‌های ساختاری مورد نیاز برای شبیه‌سازی از *plug-in* Psfgen موجود در نرم‌افزار VMD 1.9.2 استفاده شد<sup>[21]</sup>.

اطلاعات توپولوژی DNA و داروها به ترتیب از فایل توپولوژی *top\_all27\_na* و جستجوگر تحت وب ParamChem (<https://www.paramchem.org>) استخراج شد. کمپلکس‌های مولکولی در محیط آبی با مدل TIP3P<sup>[22]</sup> با تعداد مولکول‌های ۹۲۰۰، ابعاد  $۷۴ \times ۵۴ \times ۵۳$  و حداقل ضخامت ۸ آنگستروم به عنوان حلال قرار داده شدند. یون‌های سدیم (۲۱ یون) نیز به منظور خنثی‌سازی سیستم به آن اضافه شدند. مولکول‌های آب و یون‌های سدیم به ترتیب توسط *plug-in*‌های Solvate و Autoionize موجود در نرم‌افزار VMD 1.9.2 اضافه شدند<sup>[21]</sup>. شبیه‌سازی‌های دینامیک مولکولی به وسیله نرم‌افزار NAMD<sup>[23]</sup> 2.9 و تحت میدان نیروی CHARMM27<sup>[24]</sup> انجام شد. پارامترهای داروها از جستجوگر ParamChem به دست آمد. شبیه‌سازی‌ها در مجموعه NPT انجام شد و برهم‌کنش‌های واندروالس و الکتروستاتیک با cut-off برابر ۱۲ آنگستروم محاسبه شدند. طول پیوندهای شامل اتم هیدروژن برای DNA و مولکول‌های آب به ترتیب توسط الگوریتم‌های SHAKE<sup>[25]</sup> و SETTLE<sup>[26]</sup> محدود شد. پیوندهای کووالان به ازای هر گام زمانی، برهم‌کنش‌های غیرکووالان کوتاه‌برد به ازای هر دو گام زمانی و برهم‌کنش‌های الکتروستاتیک دوربرد به ازای هر چهار گام زمانی محاسبه شدند. از روش ذرات مش اوالد (PME) برای محاسبه نیروهای الکتروستاتیک استفاده شد<sup>[27]</sup>. گام زمانی اتموتوانیه در نظر گرفته شد. دما در سامانه مدل شده با روش دینامیک لانگوین در مقدار ثابت ۲۹۸ درجه کلونین تنظیم شد. برای کنترل فشار ۱ اتمسفر از باروستات برنسن استفاده شد. قبل از انجام شبیه‌سازی دینامیک، سیستم برای ۳۰۰۰ گام به کمک الگوریتم شیب مزدوج تحت روند کمینه‌سازی انرژی قرار گرفت. در این مرحله طی مدت ۷۰ پیکوثانیه دمای سیستم تحت شرایط حجم ثابت به تدریج از صفر تا ۳۰۰ درجه کلونین افزایش یافت. برای ثابت نیروی تمامی اتم‌ها محدودیت  $۵ \text{ kcal mol}^{-1} \text{ \AA}^{-2}$  و برای ثابت نیروی N1-N3 در جفت‌های GC انتهایی، محدودیت  $۲ \text{ kcal mol}^{-1} \text{ \AA}^{-2}$  لحاظ شد.

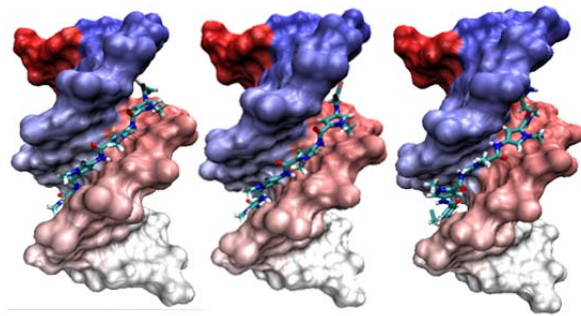
اتصال داروها به مولکول DNA خمش قابل ملاحظه‌ای در محور مولکول DNA و نهایتاً در کل ساختار DNA وارد نکرده است. این نتیجه در موافقت با سایر مطالعاتی است که نشان داده‌اند بر خلاف درج‌شونده‌ها، متصل‌شونده‌ها به شیار DNA تغییرات کونفورماسیونی زیادی در DNA ایجاد نمی‌کنند و رفتار اتصال آنها بیشتر شبیه مدل استاندارد قفل و کلیدی است که برای لیگاند و ماکرومولکول مطرح است [31, 32]. با استفاده از plugin انرژی موجود در NAMD 2.9، انرژی برهم‌کنش دارو و DNA نیز براساس میانگین انرژی تمامی ساختارها محاسبه شد. همان گونه که در مورد متصل‌شونده‌ها به شیار کوچک DNA انتظار می‌رفت، تحلیل انرژی اتصال نشان داد در مورد هر سه داروی بررسی‌شده، نوکلئوتیدهای آدنین و تیمین نقش اصلی و سهم اساسی در برهم‌کنش DNA با این داروها ایفا می‌کنند. اگر چه، در مورد کمپلکس‌های DNA-PNU 151807 و DNA-brostaticin و نوکلئوتید G10 و برای کمپلکس DNA-tallimustine نوکلئوتیدهای G22 و C23 نیز سهم عمده‌ای در برقراری برهم‌کنش قوی با داروهای متناظر مذکور و اتصال آنها به DNA نشان دادند. در مقایسه با سایر مطالعات تئوری و تجربی که عمدتاً A و T را به‌عنوان نوکلئوتیدهای موثر در اتصال MGBها به شیار کوچک DNA معرفی کرده‌اند [8, 9, 33]، در مورد سه داروی مورد بررسی در تحقیق حاضر دریافتیم که علاوه بر نوکلئوتیدهای A و T، MGBها با نوکلئوتیدهای G/C نیز برهم‌کنش‌های قوی برقرار کرده‌اند (شکل ۳).



شکل ۳) ارزیابی برهم‌کنش‌های غیرپیوندی بین رسپتور (DNA) و لیگاندها (داروها) با استفاده از plugin انرژی NAMD. انرژی برهم‌کنش هر یک از نوکلئوتیدهای مولکول DNA و: tallimustine (منحنی آبی)، PNU 151807 (منحنی قرمز)، brostaticin (منحنی سبز)

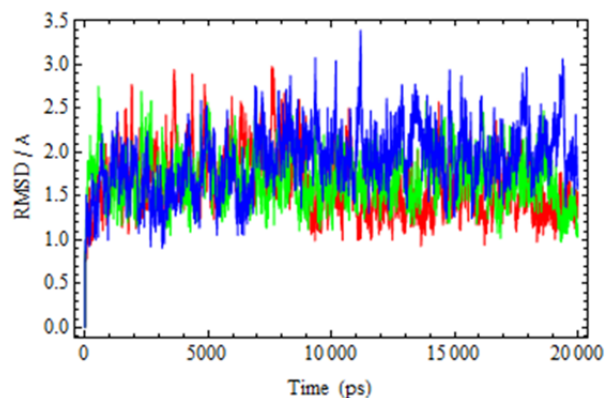
در راستای درک جزئیات بیشتر از الگوی برهم‌کنش DNA و داروها از نرم‌افزار LigPlot 4.5.3 استفاده شد. تحلیل شیوه‌های اتصال برای هر کمپلکس دارو-گیرنده، نشان‌دهنده نوکلئوتیدهای درگیر در ایجاد پیوند هیدروژنی یا برهم‌کنش‌های هیدروفوبی است (شکل ۴). همان گونه که در شکل ۳ نیز ملاحظه می‌شود، پلات انرژی برهم‌کنش دو داروی بروستالیسین و PNU 151807 با DNA روند بسیار مشابهی نشان می‌دهند که بیانگر الگوی توزیع مشابهی از برهم‌کنش‌های غیرپیوندی برای این دو دارو با مولکول DNA است. تحلیل انجام‌شده توسط نرم‌افزار LigPlot 4.5.3 نشان‌دهنده حضور پیوندهای هیدروژنی بین ترکیب PNU 151807 با نوکلئوتید T9 از مولکول DNA (شکل ۴-ب) و ترکیب بروستالیسین با نوکلئوتید A17 (شکل ۴-ج) از مولکول گیرنده است.

جایگاه اتصال ترکیبات به DNA مشخص شود. در مورد هر یک از کمپلکس‌های دارو-DNA، بهترین کمپلکس براساس تمایل اتصال و آرایش مولکولی لیگاندها انتخاب و پس از انجام فرآیند شبیه‌سازی دینامیک مولکولی، ساختارها بهینه شدند (شکل ۱).



شکل ۱) ساختار منتخب کمپلکس DNA و هر یک از داروها پس از فرآیند های داکینگ مولکولی و شبیه‌سازی دینامیک مولکولی: الف) کمپلکس DNA-tallimustine، ب) کمپلکس DNA-PNU 151807 و ج) کمپلکس DNA-brostaticin

پس از انجام شبیه‌سازی دینامیک مولکولی توسط نرم‌افزار NAMD 2.9، پایداری شبیه‌سازی با تحلیل پارامترهای فیزیکوشیمیایی مختلف به‌عنوان تابعی از زمان ارزیابی شد و مورد تایید قرار گرفت. در شبیه‌سازی دینامیک مولکولی هر سه کمپلکس، انرژی کل و دما به ترتیب در مقادیر حدود ۵۳- کیلوکالری بر مول و ۲۹۹ درجه کلوین پایدار شدند. رفتار ثابت پارامترهای مذکور گواهی بر پایداری شبیه‌سازی انجام‌شده است. RMSD بین ساختارهای ایجادشده در شبیه‌سازی در بعد زمان از مهم‌ترین معیارها برای اطمینان یافتن از پایداری ساختار است. تغییرات RMSD در زمان شبیه‌سازی نسبت به ساختار اولیه محاسبه شد و همان طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود ساختارها در مراحل اولیه شبیه‌سازی به تعادل می‌رسند. بنابراین ساختارهای شبیه‌سازی‌شده از پایداری قابل قبولی برخوردار بوده و بهینه شده‌اند.



شکل ۲) بررسی پایداری کمپلکس‌های شبیه‌سازی‌شده DNA و داروها. تغییرات RMSD کمپلکس DNA-tallimustine (آبی)، کمپلکس DNA-PNU 151807 (سبز) و کمپلکس DNA-brostaticin (قرمز)

RMSD ساختار میانگین مولکول DNA و ساختار کریستال اولیه نیز محاسبه شد. این مقادیر برای کمپلکس‌های DNA-brostaticin، DNA-PNU 151807 و DNA-tallimustine، به ترتیب ۲/۵، ۲/۳ و ۲/۷ آنگستروم ارزیابی شد که نشان می‌دهد

داد در کمپلکس‌های مربوط به هر سه دارو با DNA، نوکلئوتیدهای A و T بیشترین نقش را در ایجاد برهم‌کنش‌های غیرپیوندی دارند که این یافته با سایر مطالعات و گزارش‌ها در مورد متصل‌شونده‌ها به شیار کوچک DNA مطابقت دارد.

در مطالعات سلولی قبلی مقادیر IC<sub>50</sub> برای داروهای تالیموستاتین، PNU 151807 و بروستالیسین ارزیابی شده است. طبق نتایج مطالعات تجربی، مقادیر IC<sub>50</sub> کمتری برای داروی بروستالیسین در مقایسه با PNU 151807 و تالیموستاتین تخمین زده شده است. همچنین PNU 151807 نیز نسبت به تالیموستاتین، IC<sub>50</sub> کمتری دارد [34, 35]. از جمله پارامترهایی است که بیانگر میزان تمایل است و می‌توان IC<sub>50</sub> را پارامتری متناسب و مرتبط با تمایل در نظر گرفت [36, 37]. تعداد بیشتر برهم‌کنش‌ها، همچنین نوع و قدرت برهم‌کنش‌ها در میزان تمایل ترکیبات به گیرنده‌هایشان تاثیرگذار است و برهم‌کنش‌های قوی‌تر با تعداد بیشتر منجر به افزایش تمایل ترکیب به گیرنده و در نتیجه کوچک‌تر شدن این پارامتر می‌شود. براساس نتایج حاصل از مطالعات داکینگ مولکولی در این مطالعه، بروستالیسین و PNU 151807 تمایل بسیار مشابهی به مولکول DNA گیرنده نشان داده‌اند، اگر چه همچنان بروستالیسین در مقایسه با دو داروی دیگر بیشترین میزان تمایل را نشان داده است (جدول ۱).

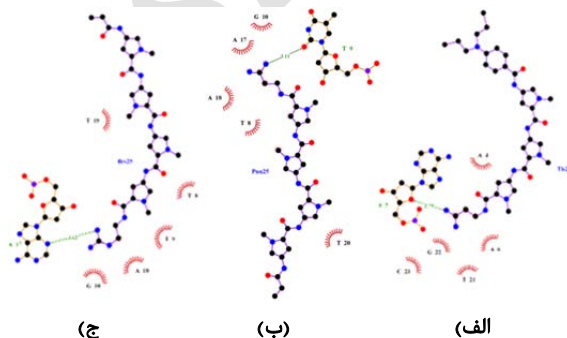
**جدول ۱** مقایسه تمایل داروهای tallimustine، PNU 151807 و brostallicin به مولکول DNA براساس مطالعات شبیه‌سازی داکینگ مولکولی برای ۱۰ کمپلکس برتر از لحاظ انرژی برهم‌کنش

Modes of binding	Affinity (Kcal/mol)		
	Brostallicin	PNU 151807	Tallimustine
1	-12.5	-12.1	-10.9
2	-12.2	-11.8	-10.9
3	-12.2	-11.7	-10.8
4	-12.2	-11.6	-10.4
5	-12.1	-11.5	-10.3
6	-12.0	-11.5	-10.3
7	-12.0	-11.5	-10.2
8	-11.9	-11.4	-10.2
9	-11.8	-11.3	-10.2
10	-11.7	-11.3	-10.1

بروستالیسین در مقایسه با سایر MGBها میلوتوکسیسیتی کمتری دارد و بازه درمانی آن ۸۰ برابر تالیموستاتین است [16, 17]. طبق نتایج مطالعات تئوری در این تحقیق و نیز یافته‌های تجربی بروستالیسین در مقایسه با دو داروی هم‌خانواده خود که همگی از دیستامایسین A مشتق شده‌اند، پتانسیل بیشتری در برقراری برهم‌کنش‌های قوی‌تر با مولکول DNA داشته و به‌عنوان کاندیدای موفق‌تری در درمان‌های ضدسرطان مطرح است. از طرف دیگر درک جزئیات اتصال و برهم‌کنش‌های سه داروی مذکور که در این مطالعه به آنها پرداختیم، می‌تواند در راستای طراحی داروهای جدیدتر و کارآمدتری با پتانسیل اتصال محکم‌تر به مولکول DNA مفید واقع شود. طی سال‌های اخیر، محققان با روی آوردن به این قبیل مطالعات بیوانفورماتیکی به بررسی جزئیات نحوه اتصال MGBها به DNA پرداخته‌اند. بروس و همکاران در سال ۲۰۱۵ با استفاده از مطالعات شبیه‌سازی دینامیک مولکولی روی کمپلکس یک ترکیب متصل‌شونده به شیار کوچک به نام f-ImPylm با DNA، نحوه اتصال این ترکیب به مولکول DNA را تحلیل کردند و با استفاده از نتایج حاصل از این مطالعه پیشنهاد کردند MGBها ممکن است علاوه بر ممانعت از اتصال فاکتورهای رونویسی کلیدی، نقش‌های موثرتر دیگری نیز در مهار رونویسی DNA داشته

محاسبات انرژی برهم‌کنش به‌وسیله plug-in انرژی موجود در NAMD 2.9 نیز مقادیر انرژی برهم‌کنش منفی بزرگی را برای brostallicin-A17 و PNU 151807-T9 نشان می‌دهد (شکل ۳)، که احتمالاً ناشی از تشکیل همین پیوندهای هیدروژنی است. تحلیل بیشتر توسط LigPlot 4.5.3 نشان داد هر دو مولکول بروستالیسین و PNU 151807 با ۵ نوکلئوتید از مولکول‌های DNA گیرنده خود دارای برهم‌کنش‌های غیرپیوندی از نوع هیدروفوبی هستند (شکل ۴-ب و ج). در این نوکلئوتیدها، نوکلئوتیدهای T8، G10 و A18 بین دو کمپلکس مذکور مشترک بوده و دو نوکلئوتید غیرمشترک شامل T9 و T19 برای بروستالیسین و A17 و T20 برای PNU 151807 به چشم می‌خورد (شکل ۴-ب و ج).

فارغ از ماهیت برهم‌کنشی میان نوکلئوتیدهای مذکور با ترکیبات بروستالیسین و PNU 151807، نتایج حاصل از تحلیل LigPlot 4.5.3 (شکل ۴) همخوانی بسیار بالایی با نتایج مربوط به تحلیل انرژی برهم‌کنش انجام‌شده توسط plug-in انرژی موجود در NAMD 2.9 نشان داد (شکل ۳). این دو مطالعه حاکی از درگیر بودن یک دسته مشترک و ثابت از نوکلئوتیدها (T8، T9، G10، A17 و A18) در برهم‌کنش با ترکیبات نامبرده هستند.



**شکل ۴** تحلیل برهم‌کنش‌های غیرپیوندی مولکول DNA و لیگاندها توسط LigPlot. برهم‌کنش‌های هیدروفوبی و هیدروژنی بین الف) DNA و tallimustine، ب) DNA و PNU 151807 و ج) DNA و Brostallicin. برهم‌کنش‌های هیدروفوبی و هیدروژنی به‌ترتیب توسط هاشورهای محدب و نقطه‌چین‌های سبز مشخص شده‌اند.

در مقایسه با بروستالیسین و PNU 151807، تالیموستاتین الگوی کاملاً متفاوتی از برهم‌کنش‌های غیرپیوندی نشان می‌دهد. از بین نوکلئوتیدهای دخیل در برهم‌کنش مولکول DNA با بروستالیسین و PNU 151807، هیچ کدام در برهم‌کنش با تالیموستاتین نقشی نداشتند (شکل ۳). همان‌گونه که در شکل مشخص است، منفی‌ترین میزان انرژی برای ترکیب تالیموستاتین مربوط به برهم‌کنش با نوکلئوتید A5 از مولکول DNA است. طبق تحلیل LigPlot 4.5.3 نیز، داروی تالیموستاتین قادر به تشکیل پیوند هیدروژنی با نوکلئوتید A5 مولکول DNA است که این نتیجه قویاً در موافقت با نتایج مربوط به تحلیل انرژی‌های برهم‌کنش است.

همچنین براساس نتایج حاصل از LigPlot 4.5.3 نوکلئوتیدهای A4، A6، T21، G22 و C23 از مولکول DNA دارای برهم‌کنش هیدروفوبی با تالیموستاتین هستند (شکل ۴-الف) که این نواحی در تحلیل‌های مربوط به انرژی برهم‌کنش نیز دارای مقادیر انرژی منفی بزرگی هستند (شکل ۳). به‌طور کلی نتایج حاصل از تحلیل‌های انرژی برهم‌کنش و نیز بررسی LigPlot 4.5.3 نشان

potential antitumor and antimicrobial agents. *Med Res Rev.* 2004;24(4):475-528.

8- Neidle S. DNA minor-groove recognition by small molecules. *Nat Prod Rep.* 2001;18(3):291-309.

9- Koonammackal MV, Nellipparambil UV, Sudarsanakumar C. Molecular dynamics simulations and binding free energy analysis of DNA minor groove complexes of curcumin. *J Mol Model.* 2011;17(11):2805-16.

10- Marchini S, Broggin M, Sessa C, D'Incalci M. Development of distamycin-related DNA binding anticancer drugs. *Expert Opin Investig Drugs.* 2001;10(9):1703-14.

11- Danuta D. New solid phase synthesis of distamycin analogues. *Molecules.* 2011;16(4):3066-76.

12- Chapman BJ. *Advances in DNA sequence-specific agents.* 4<sup>th</sup> Volume. Amsterdam: Elsevier; 2002.

13- Cai X, Gray PJ Jr, Von Hoff DD. DNA minor groove binders: Back in the groove. *Cancer Treat Rev.* 2009;35(5):437-50.

14- Geroni C, Marchini S, Cozzi P, Galliera E, Ragg E, Colombo T, et al. Brostallicin, a novel anticancer agent whose activity is enhanced upon binding to glutathione. *Cancer Res.* 2002;62(8):2332-6.

15- Weber GF. *Molecular therapies of cancer.* Basel: Springer International Publishing; 2015.

16- Ten Tije AJ, Verweij J, Sparreboom A, Van Der Gaast A, Fowst C, Fiorentini F, et al. Phase I and pharmacokinetic study of brostallicin (PNU-166196), a new DNA minor-groove binder, administered intravenously every 3 weeks to adult patients with metastatic cancer. *Clin Cancer Res.* 2003;9(8):2957-64.

17- Lorusso D, Mainenti S, Pietragalla A, Ferrandina G, Foco G, Masciullo V, et al. Brostallicin (PNU-166196), a new minor groove DNA binder: Preclinical and clinical activity. *Expert Opin Investig Drugs.* 2009;18(12):1939-46.

18- Sirajuddin M, Ali S, Badshah A. Drug-DNA interactions and their study by UV-visible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltammetry. *J Photochem Photobiol B.* 2013;124:1-19.

19- Trott O, Olson AJ. AutoDock/Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *J Comput Chem.* 2010;31(2):455-61.

20- Fletcher R, Powell MJD. A rapidly convergent descent method for minimization. *Comput J.* 1963;6(2):163-8.

21- Humphrey W, Dalke A, Schulten K. VMD: Visual Molecular Dynamics. *J Mol Graph.* 1996;14(1):33-8.

22- Jorgensen WL, Chandrasekhar J, Madura JD, Impey RW, Klein ML. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. *J Chem Phys.* 1983;79(2):926.

23- Phillips JC, Braun R, Wang W, Gumbart J, Tajkhorshid E, Villa E, et al. Scalable molecular dynamics with NAMD. *J Comput Chem.* 2005;26(16):1781-802.

24- Mac Kerell AD Jr, Banavali N, Foloppe N. Development and current status of the CHARMM force field for nucleic acids. *Biopolymers.* 2000-2001;56(4):257-65.

25- Ryckaert JP, Ciccotti G, Berendsen HJ. Numerical integration of the cartesian equations of motion of a system with constraints: Molecular dynamics of n-alkanes. *J Comput Phys.* 1977;23(3):327-41.

26- Miyamoto Sh, Kollman PA. Settle: An analytical version of the Shake and Rattle algorithm for rigid water models. *J Comput Chem.* 1992;13(8):952-62.

باشند. آنها یافته‌های خود را به‌عنوان مقدمه‌ای برای طراحی داروهای موثر معرفی کردند<sup>[38]</sup>. در مطالعه‌ای دیگر ضمن انجام شبیه‌سازی داکینگ و دینامیک مولکولی کمپلکس DNA و برخی MGBها همچون DAPI، پروپامیدین و نترپوسین، انرژی آزاد اتصال ترکیبات نام‌برده به DNA تخمین زده شد و پیشنهاد شد که در مطالعات آتی از اطلاعات به‌دست‌آمده در راستای طراحی مهارکننده‌های کارآمد جدید که DNA را هدف قرار می‌دهند، استفاده شود<sup>[31]</sup>. به‌طور کلی مطالعاتی از این دست که در آنها جزییات نحوه اتصال ترکیبات به DNA بررسی می‌شود راه را برای طراحی دقیق‌تر ترکیبات با قدرت اتصال و پتانسیل بیشتر هموار می‌کند.

## نتیجه‌گیری

طبق نتایج مطالعات تئوری در این تحقیق مشخص شد در کمپلکس‌های مربوط به هر سه ترکیب با DNA، نوکلئوتیدهای A و T بیشترین نقش را در ایجاد برهم‌کنش‌ها دارند که این یافته با سایر مطالعات و گزارش‌های موجود در مورد MGBها مطابقت دارد. به علاوه نتایج مطالعات حاضر نشان می‌دهند که brostallicin در مقایسه با دو داروی هم‌خانواده خود که همگی از دیستامایسین A مشتق شده‌اند، پتانسیل بیشتری در برقراری برهم‌کنش‌های قوی‌تر با مولکول DNA داشته و می‌تواند به‌عنوان کاندیدای موفق‌تری در درمان‌های ضدسرطان مطرح شود.

**تشکر و قدردانی:** موردی از سوی نویسندگان گزارش نشد.

**تأییدیه اخلاقی:** موردی از سوی نویسندگان گزارش نشد.

**تعارض منافع:** موردی از سوی نویسندگان گزارش نشد.

**سهم نویسندگان:** بهنام راستی (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/روش‌شناس/پژوهشگر اصلی/تحلیلگر آماری/نگارنده بحث (۶۰٪)؛ سیده شیرین شاهنگیان (نویسنده دوم)، روش‌شناس/پژوهشگر کمکی/نگارنده بحث (۴۰٪)

**منابع مالی:** موردی از سوی نویسندگان گزارش نشد.

## منابع

1- Mišković K, Bujak M, Baus Lončar M, Glavaš-Obrovac L. Antineoplastic DNA-binding compounds: Intercalating and minor groove binding drugs. *Arch Ind Hyg Toxicol.* 2013;64(4):593-602.

2- Sharma NK, Ameta RK, Singh M. Synthesis, characterization, anticancer, DNA binding and antioxidant studies of benzylamine supported Pd (II) complex. *J Cancer Sci Res.* 2016;1(1):1000101.

3- Fornander LH, Wu L, Billeter M, Lincoln P, Nordén B. Minor-groove binding drugs: Where is the second Hoechst 33258 molecule?. *J Phys Chem B.* 2013;117(19):5820-30.

4- Khan GSh, Shah A, Zia-ur-Rehman, Barker D. Chemistry of DNA minor groove binding agents. *J Photochem Photobiol B.* 2012;115:105-18.

5- Ali A, Bhattacharya S. DNA binders in clinical trials and chemotherapy. *Bioorg Med Chem.* 2014;22(16):4506-21.

6- Srivastava HK, Chourasia M, Kumar D, Sastry GN. Comparison of computational methods to model DNA minor groove binders. *J Chem Inf Model.* 2011;51(3):558-71.

7- Baraldi PG, Bovero A, Fruttarolo F, Preti D, Aghazadeh Tabrizi M, Pavani MG, et al. DNA minor groove binders as

- 34- Fedier A, Fowst C, Tursi J, Geroni C, Haller U, Marchini S, et al. Brostallicin (PNU-166196) -- a new DNA minor groove binder that retains sensitivity in DNA mismatch repair-deficient tumour cells. *Br J Cancer*. 2003;89(8):1559-65.
- 35- Marchini S, Cirò M, Gallinari F, Geroni C, Cozzi P, D'Incalci M, et al. Alpha-bromoacryloyl derivative of distamycin A (PNU 151807): A new non-covalent minor groove DNA binder with antineoplastic activity. *Br J Cancer*. 1999;80(7):991-7.
- 36- Kok RJ, Schraa AJ, Bos EJ, Moorlag HE, Ásgeirsdóttir SA, Everts M, et al. Preparation and functional evaluation of RGD-modified proteins as  $\alpha_v\beta_3$  integrin directed therapeutics. *Bioconjug Chem*. 2002;13(1):128-35.
- 37- Mendes RE, Tsakris A, Sader HS, Jones RN, Biek D, Mc Ghee P, et al. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* displaying increased MICs of ceftaroline. *J Antimicrob Chemother*. 2012;67(6):1321-4
- 38- Bruce CD, Ferrara MM, Manka JL, Davis ZS, Register J. Dynamic hydrogen bonding and DNA flexibility in minor groove binders: Molecular dynamics simulation of the polyamide f-ImPylm bound to the Mlu1 (MCB) sequence 5'-ACGCGT-3' in 2:1 motif. *J Mol Recognit*. 2015;28(5):325-37.
- 27- Darden T, York D, Pedersen L. Particle mesh Ewald: An  $N \cdot \log(N)$  method for Ewald sums in large systems. *J Chem Phys*. 1993;98(12):10089.
- 28- Wallace AC, Laskowski RA, Thornton JM. LIGPLOT: A program to generate schematic diagrams of protein-ligand interactions. *Protein Eng*. 1995;8(2):127-34.
- 29- Baraldi PG, Aghazadeh Tabrizi M, Preti D, Fruttarolo F, Avitabile B, Bovero A, et al. DNA minor-groove binders. Design, synthesis and biological evaluation of ligands structurally related to CC-1065, distamycin, and anthramycin. *Pure Appl Chem*. 2003;75(2-3):187-94.
- 30- Durrant JD, Mc Cammon JA. Molecular dynamics simulations and drug discovery. *BMC Biol*. 2011;9:71.
- 31- Mishra R, Gaur AS, Chandra R, Kumar D. Molecular docking and molecular dynamics study of DNA minor groove binders. *Int J Pharm Chem Anal*. 2015;2(4):161-9.
- 32- Palchadhuri R, Hergenrother PJ. DNA as a target for anticancer compounds: Methods to determine the mode of binding and the mechanism of action. *Curr Opin Biotechnol*. 2007;18(6):497-503.
- 33- Lauria A, Montalbano A, Barraja P, Dattolo G, Almerico AM. DNA minor groove binders: An overview on molecular modelling and QSAR approaches. *Curr Med Chem*. 2007;14(20):2136-60.