

بررسی تئوری ساختار توتومریزاسیون داروی کارموستین با استفاده از

روش DFT در سیستم بیولوژیک

مهنوش مؤمنی لندی^۱، سید علی احمدی^{۲*}، محمدرضا اخگر^۲، دادخدا غضنفری^۲

۱- دانشجوی دکتری، گروه شیمی، واحد کرمان، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمان، ایران

۲- دانشیار، گروه شیمی، واحد کرمان، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمان، ایران

saahmadi@iau.ac.ir

پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۱۰

دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۱۶

چکیده

توتومرها ایزومرهای یک مولکول هستند که در محلول یا در یک سلول وجود دارند. آنها اشکال قابل تعویض هستند زیرا پیوندهای شیمیایی بارها به طور خود به خود بازآرایی می شوند. این با کایرالیته متفاوت است، جایی که مولکول ها تصاویر آینه ای (یا انانتیومرها) یکدیگر هستند. روش DFT برای مطالعه توتومریزاسیون مکانیسم کارموستین به عنوان یک داروی ضد سرطان انجام شد. در ساختار کارموستین، دو توتومر ساختاری پیش بینی شد و هر دو ساختار توتومر برای در نظر گرفتن نقش تغییر اتم ها در ترکیب کارموستین نشان داده شدند. انرژی های نسبی در مجموعه های پایه-B3LYP/6-311G++ (d,p), Aug-cc-pVDZ و ۳۱۱-۶ ++g (2d,2p) به دست می آیند. بیشترین اوربیتال مولکولی اشغال شده (HOMO)، کمترین اوربیتال اشغال نشده (LUMO) و انرژی گپ باند سازه ها محاسبه شد. پارامترهای الکترونیک به دست آمد. الکتروفیلی الکترون گاتیوی، نرمی و سختی برای تعیین واکنش پذیری ترکیبات در محیط زیستی. مورد مطالعه قرار گرفته اند. با توجه به داده ها، ساختار کارموستین و دو ترکیب توتومر پایدار است. اما T1 پایدارتر از دیگری است.

کلید واژگان: DFT، کارموستین، توتومر، پارامتر الکترونیکی، ضدسرطان

۱-مقدمه

کارموسستین^۱ یا 1,3-bis(2-chloroethyl)-1-nitrosourea که یک عامل اصلاح کننده DNA است، به علت مکانیسم تجزیه و ویژگی های منحصر به فرد آن می تواند به عنوان یک داروی ضد تومور مناسب استفاده شود [۱-۳]. این دارو متعلق به یک خانواده دارویی است که به عنوان یکی از با ارزش ترین و قابل توجه ترین گروه های مواد ضد سرطان آلکیل کننده می تواند برای مراقبت پزشکی و درمان سلول های سرطانی مختلف مانند لوسمی^۲ (سرطان خون)، ملانوم^۳ بدخیم و تومور مغزی متاستاتیک^۴ مورد استفاده قرار بگیرد [۴-۸]. مشابه سایر داروهای مشتق شده از نیتروسوره^۵، کارموسستین به شدت چربی دوست بوده و وزن مولکولی پایینی دارد. بنابراین، این دارو در سیستم عصبی مرکزی به خوبی نفوذ کرده و به خاطر طبیعت چربی دوستی می تواند به راحتی از سد خونی - مغزی^۶ عبور کند [۹، ۱۰]. نیتروسوره آس (CNUs) می تواند تأثیر سلول کشی خود را از طریق توانایی متوقف کردن سلول های سرطانی توسط کارموسستین اعمال کند. مکانیسم عمده این فعالیت از طریق اتصال با دئوکسی ریبونوکلیک اسید (DNA) و آلکیلایون^۷ بازهای آلی نیتروژن دار موجود در مولکول DNA به صورت دو رشته ای انجام می دهد [۱۱ و ۱۲]. همچنین از طریق آلکیلایون DNA، فرایندهای حیاتی مانند همانندسازی^۸، رونویسی^۹ و ترجمه^{۱۰} DNA مهار می شوند [۱۳ و ۱۸]. کارموسستین به دلیل داشتن دو گروه کلرواتیل یک ماده آلکیل کننده دو کاربرد دارد، و از این رو قادر به تولید پیوندهای عرضی DNA

درون سلولی و بین سلولی است [۱۹-۲۲]. به طور معمول، CNUs های شامل کارموسستین به شدت ناپایدار هستند و به سرعت دستخوش دگرگونی خود به خودی برای ایجاد تعدادی از فراورده ها قرار می گیرند. یکی از مهم ترین فراورده ها، هیدروکسید کلرواتیل دیازن-۱۲ به شدت ناپایدار است که به سرعت به یون کلروکربونیوم آلکیل شده (گونه ای فعال) تبدیل می شود [۲۳-۲۵]. یون کلروکربونیوم، یک ماده آلکیل شده قدرتمند با توانایی عبور عرضی از DNA است و مطابق آن تأثیرات سمی بیشتری در مقایسه با مونوآلکیلایون دارد [۲۵]. هدف از پژوهش حاضر، مطالعه مکانیسم تخریبی کارموسستین در محیط های آبدار برای پیدا کردن مسیرهای خطی تجزیه و کشف مکانیسم تخریب و تأثیر دارویی آن از دیدگاه مولکولی است. براساس تغییر برهمکنش های کارموسستین توسط ساختار های تومور، پیکربندی کارموسستین در محیط های زیستی بررسی می شود. علاوه بر این، اهمیت تغییرات تومور در محیط های زیستی در ایجاد بهترین پیکربندی داروهای کارموسستین پژوهش و بررسی شد و کلیه خواص شیمیایی این دارو در راستای بررسی خاصیت آن در محیط های بیولوژیکی ارزیابی شد.

ترکیبات نیتروسوره (Nitrosourea) عوامل آلکیل کننده DNA هستند و اغلب در شیمی درمانی مورد استفاده قرار می گیرند. این ترکیبات لیوفیلی هستند و بنابراین می توانند از سد خونی-مغزی عبور کرده و در درمان تومورهای مغزی مانند گلیوبلاستوما مولتیفرم مفید می کند.

۲-مدل محاسباتی

برای بررسی واکنش پذیری تومور کرموسستین (C)، تمام محاسبات در چارچوب شبکه DFT^{۱۲} با استفاده از تنظیمات نامحدود چرخشی در عملکرد هیبریدهای سه پارامتره Becke همراه با تابع همبستگی Lee-Yang-Parr،

^۱ Carmustine^۲ Leukemia^۳ Melanoma^۴ Metastatic^۵ Nitrosourea^۶ Blood-brain barrier^۷ Alkylation^۸ Replication^۹ Transcription^{۱۰} Translation^{۱۱} 2-chloroethyldiazene hydroxide^{۱۲} Discrete Fourier Transform

مربوط به نرمی شیمیایی و $\omega = \frac{\mu^2}{2\eta}$ شاخص الکتروفیلی است.

۳- نتایج و بحث

کارموستین دارای دو پیکربندی توتومری برای ساختن پیوندهای زیستی و هیدروژنی با DNA و دیگر ترکیبات شیمیایی است. تغییرات موقعیت هیدروژن در ساختار شیمیایی ممکن است تأثیر دارو را تغییر دهد. بنابراین، برای تشخیص این موضوع درباره کاربوستین، T1 و پیکربندی توتومری T2 در فاز گازی بررسی شده است. مشخصات هندسی کارموستین و توتومرها در جدول ۱ شرح داده شده است. داده‌ها نشان می‌دهد که کارموستین و T2 ساختار مشابهی دارند و ممکن است مانند یکدیگر در محیط‌های شیمیایی عمل کنند، اما با استفاده از محاسبه پارامترهای الکترونیکی بهتر مورد بررسی قرار گیرند. داده‌های جدول ۱ نشان می‌دهد هنگامی که 6-311++(2d,2p) و 311++(d,p) از هندسه همه ترکیبات استفاده کرده‌اند، تغییری رخ نداده است. اما هنگامی که مجموعه پایه‌ای Aug-cc-pVDZ استفاده شد، ساختار همه ترکیبات بهتر، صحیح‌تر و دقیق‌تر حاصل می‌شود.

B3LYP، انجام شدند و سطح محاسباتی برای همه اتم‌ها با استفاده از مجموعه بنیادی Aug-cc-pVDZ و g (d,p) ++g (2d,2p) و 6-311 ++g (2d,2p) توصیف شدند. ساختارهای ابتدایی با استفاده از نسخه ۵ gauss ساخته شده و ساختارها با نسخه Gaussian 09 A 02 بهینه‌سازی شدند [۲۶]. انرژی پایداری، پارامترهای ساختاری، ممان دوقطبی شدن، الکترون‌گاتیوی، ویژگی‌های دماهی، فرکانس IR و ویژگی‌های واکنش‌پذیری با همان روش قبلی محاسبه شده و پیکربندی متفاوت توتومرها مورد ملاحظه قرار گرفتند. واکنش‌پذیری شیمیایی مبتنی بر DFT و توصیف‌گرهای پایداری که شامل: پتانسیل شیمیایی الکترونیک، سختی شیمیایی، نرمی شیمیایی و الکتروفیلی (الکترون دوستی) هستند، طبق معادله ۱ تا ۴ و مطابق با قضیه کوپمنس محاسبه شدند.

$$\mu = \left(\frac{\partial E}{\partial N} \right)_{V(r),T} \quad (۱)$$

$$\eta = \left(\frac{\partial^2 E}{\partial N^2} \right)_{V(r),T} \quad (۲)$$

$$S = \frac{1}{\eta} \quad (۳)$$

$$\omega = \frac{\mu^2}{2\eta} \quad (۴)$$

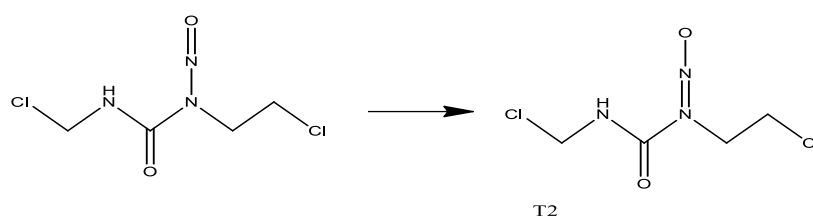
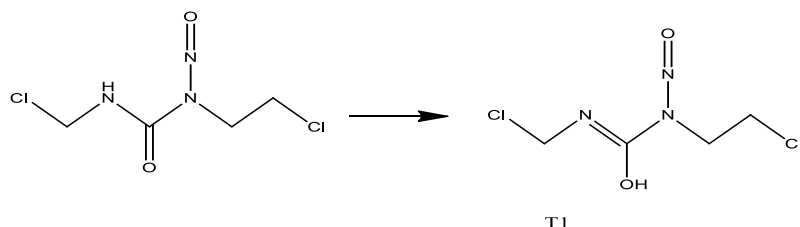
که در آن، $\mu = \left(\frac{\partial E}{\partial N} \right)_{V(r),T}$ مربوط به پتانسیل شیمیایی،

$$S = \frac{1}{\eta} \quad \eta = \left(\frac{\partial^2 E}{\partial N^2} \right)_{V(r),T}$$

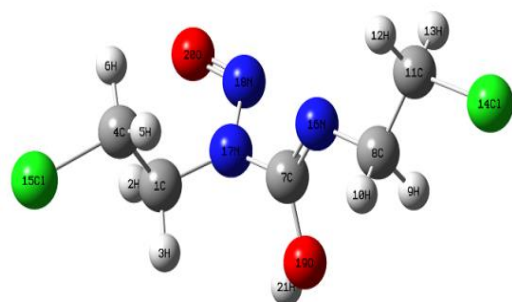
مربوط به سختی شیمیایی،

جدول ۱ هندسه کارموستین، T1 و T2 توسط همه مجموعه‌های پایه

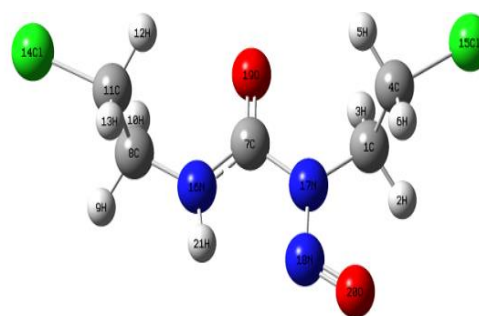
6-311++(d,p) C		T1	T2	6-311++(2d,2p) C	T1	T2	Aug-cc-pVDZ C	T1	T2
C7-N17	1.35	1.25	1.35	1.35	1.25	1.35	1.35	1.26	1.35
C7-O20	1.21	1.36	1.21	1.21	1.36	1.21	1.22	1.36	1.22
N18-N19	1.35	1.36	1.35	1.35	1.36	1.35	1.35	1.36	1.35
N19-O21	1.21	1.20	1.21	1.21	1.20	1.21	1.21	1.21	1.21



شکل ۱ ساختار کارموستین و توتومرها

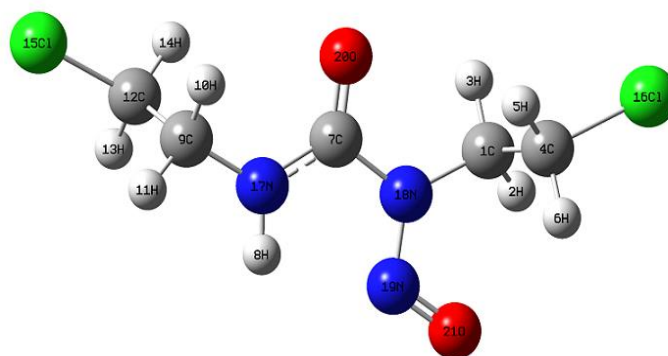


T1

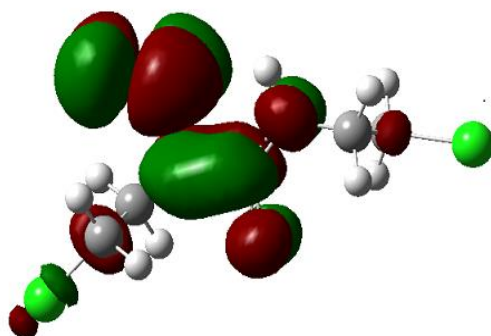


T2

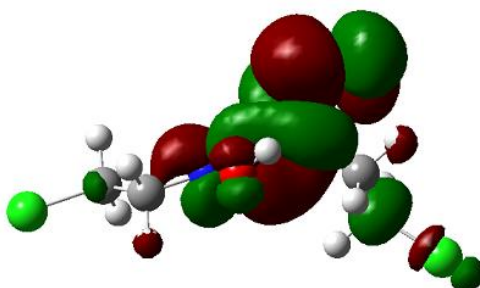
شکل ۲ ساختار بهینه توتومر T1 و T2 با استفاده از Aug-cc-pVDZ



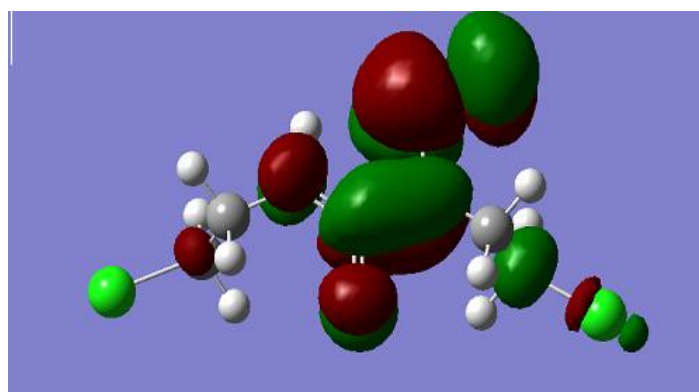
شکل ۳ ساختار بهینه کارموستین با استفاده از Aug-cc-pVDZ



شکل ۴ طرح HOMO-LUMO کارموستین با استفاده از Aug-cc-pVDZ



شکل ۵ طرح HOMO-LUMO توتومر T1 با استفاده از Aug-cc-pVDZ



شکل ۶ طرح HOMO-LUMO توتومر T2 با استفاده از Aug-cc-pVDZ

غلظت منفی، ناحیه الکتروفیلی و غلظت مثبت، ناحیه الکترون‌خواهی در ترکیب است. این نواحی ممکن است هیبریداسیون^۱ در هر اتم در مولکول را تغییر دهند.

شکل ۱ توتومر را در زمان وقوع تعادل نمایش داده است. در شکل‌های ۲ و ۳ نیز ساختارهای بهینه شده C، T1 و T2 ارائه شده است. شکل‌های ۴ تا ۶ نمودارهای ترکیبات HOMO و LUMO را نشان می‌دهند. مکان قرمز غلظت منفی الکترون و مکان سبز الگوی مثبت را نشان داد.

^۱ Hybridation

جدول ۲ پارامترهای الکترونیکی c، T1 و T2 با استفاده از Aug-cc-pVDZ

Molecular parameters	C	T1	T2
E HOMO	-0.27823	-0.27123	-0.27821
E LUMO	-0.10061	-0.08698	-0.10056
ΔE HOMO-LUMO	0.17762	0.18425	0.17765
IP (Ionization potential)	0.27823	0.27123	0.27821
Electron affinity (EA)	0.10061	0.08698	0.10056
Electronegativity (χ)	0.18942	0.179105	0.18938
Chemical potential (μ)	-0.18942	-0.179105	-0.18938
Chemical softness (s)	11.26	21.709	11.258
Chemical hardness (η)	0.0888	0.0460	0.888
Global electrophilicity index (ω)	0.2020	0.3482	0.2018
Dipol momentum (Deby) μ	2.2072	2.8056	2.2057
Cv (kcal/mol)	45.459	46.384	45.439
S (kcal/mol)	122.031	124.665	122.043

(یونیزاسیون)^۱ یک توصیف پایه‌ای از واکنش‌پذیری اتم‌ها و مولکول‌های با IP بالا است که اجازه می‌دهند به بالاترین پایداری برسند. یک مولکول سخت شکاف انرژی بزرگی دارد و یک مولکول نرم واکنش‌پذیرتر از نمونه‌های سخت است، زیرا راحت‌تر می‌تواند الکترون‌ها را به پذیرنده انتقال دهند. توانایی مولکول‌ها برای پذیرش الکترون‌ها می‌تواند توسط شاخص الکتروفیلی توصیف شود. جدول ۲، پارامترهای الکترونیک ترکیبات را توصیف کرده است. مطابق با نتایج این جدول، C اهداکننده الکترون در رفتار شیمیایی است و T1 بهترین ساختار برای پذیرش الکترون در رفتار شیمیایی است.

انرژی HOMO توانایی یک مولکول برای اهدا کردن الکترون‌ها را مشخص می‌کند. بنابراین، هرچه سطح بالاتری از انرژی HOMO وجود داشته باشد، با احتمال بیشتری مولکول، الکترون‌ها را اهدا می‌کند. سطح انرژی بالاتر LUMO توانایی پذیرش الکترون یک مولکول را توضیح می‌دهد و بنابراین هرچه سطح انرژی پایین‌تری از ELUMO موجود باشد، به احتمال بیشتری مولکول الکترون‌ها را پذیرش و جذب می‌کند. شکاف انرژی بین سطوح انرژی HOMO و LUMO در یک مولکول، پارامتری مهم است، زیرا که یک کارکرد برای فعال‌سازی مجدد مولکول است. توانایی (پتانسیل) یونیزه شدن

^۱ Ionization

discrimination between alternative pathways of DNA base modification by 1, 3-bis (2-fluoroethyl)-1-nitrosourea by using specific deuterium labeling and identification of reaction products by HPLC/tandem mass spectrometry. *J Am Chem Soc* 112(8):3178–3187.

[3] Puyo S, Montaudon D, Pourquier P (2014) from old alkylating agents to new minor groove binders. *Crit Rev Oncol Hematol* 89(1):43–61.

[4] Bodell WJ (2003) Repair of DNA alkylation products formed in 9L cell lines treated with 1-(2-chloroethyl)-1-nitrosourea. *Mutat Res/Fundam Mol Mechan Mutagen* 522(1):85–92.

[5] Schabel JF (1976) Nitrosoureas: a review of experimental antitumor activity. *Cancer Treat Rep* 60(6):665–698.

[6] Miyagami M, Tsubokawa T, Tazoe M, Kagawa Y (1990) Intraarterial ACNU chemotherapy employing 20% mannitol osmotic blood-brain barrier disruption for malignant brain tumors. *Neurol Med Chir* 30(8):582–590.

[7] Bindra JS, Lednicer D (1993) *Chronicles of drug discovery*, vol 1. John Wiley & Sons, Hoboken.

[8] Boice Jr JD, Greene MH, Killen Jr JY, Ellenberg SS, Keehn RJ, McFadden E, Chen TT, Fraumeni Jr JF (1983) Leukemia and preleukemia after adjuvant treatment of gastrointestinal cancer with semustine (methyl-CCNU). *N Engl J Med* 309(18):1079–1084.

[9] Zackheim HS, Feldmann RJ, Lindsay C, Maibach HI (1977) Percutaneous absorption of I, 3-bis (2-chloroethyl)-I-nitrosourea (BCNU, carmustine) in mycosis fungoides. *Br J Dermatol* 97(1):65–67.

[10] Walker MD, Alexander Jr E, Hunt WE, MacCarty CS, Mahaley Jr MS, Mealey Jr J, Norrell HA, Owens G, Ransohoff J, Wilson CB (1978) Evaluation of BCNU and/or radiotherapy in the treatment of anaplastic gliomas: a cooperative clinical trial. *J Neurosurg* 49(3):333–343.

[11] Walker MD, Green SB, Byar DP, Alexander Jr E, Batzdorf U, Brooks WH, Hunt WE, MacCarty CS, Mahaley Jr MS, Mealey Jr J (1980) Randomized comparisons of radiotherapy and nitrosoureas for the treatment

انرژی شکاف باند نشان داد که T1 واکنش پذیری بیشتری در مقایسه با دیگری دارد و بنابراین، در محیط‌های شیمیایی زیستی بهتر عمل می‌کند. سایر پارامترهای ترمودینامیک و الکترونیک از هر ترکیب شیمیایی، این نظر را اثبات کردند.

۴- نتیجه گیری

پایدارترین توتومر از شکل زیست فعال کارموستین، T1 است. ویژگی‌های فیزیکی و واکنش پذیری شیمیایی کارموستین‌ها تنها می‌توانند با شمارش برای بررسی بین اشکال متفاوت توتومریک درک شوند. یک ابزار محاسباتی قادر به پیش‌بینی پایدارترین توتومری است که می‌تواند مفید باشد. با این حال، محاسبات کوانتومی مورد نیاز بسیار زمان‌بر هستند. بدیهی است که ما نمی‌توانیم با استفاده از این نتایج پیش‌بینی کنیم که محاسبات مشابه برای سایر مولکول‌ها همیشه توتومرهای T1 را باثبات‌تر می‌دانند. علاوه بر این، نباید فراموش شود که حلال‌ها و سایر شرایط، تعادل را تحت تأثیر قرار می‌دهند، که ممکن است در محاسبات مورد نظر قرار نگیرند. آنچه در اصل می‌توان در نظر گرفت این است که می‌توان این نوع تجزیه و تحلیل توتومری محاسباتی سطح بالا را روی تعداد زیادی (صدها یا حتی هزاران) مولکول متنوع انجام داد و از نتایج آن‌ها برای ساخت مدل‌های ساختاری توتومریسم کمیتی استفاده کرد که قادر به پیش‌بینی پایدارترین توتومرها برای هر مولکول کوچک با استفاده از توصیف کننده‌های مولکولی مناسب (در حوزه کاربردی مدل) هستند.

۵- منابع

- [1] Carter SK, Schabel Jr FM, Broder LE, Johnston TP (1973) 1, 3-bis (2-chloroethyl)-1-nitrosourea (BCNU) and other nitrosoureas in cancer treatment: a review. In: *Adv Cancer Res* 16. Elsevier: 273–332.
- [2] Naghipur A, Ikonou MG, Kebarle P, Lown JW (1990) Mechanism of action of (2-haloethyl) nitrosoureas on DNA:

- (lomustine) chemotherapy in dogs. *J Vet Intern Med* 18(1):75–80.
- [18] Wheeler GP, Chumley S (1967) Alkylating activity of 1, 3-bis (2- chloroethyl)-1-nitrosourea and related compounds. *J Med Chem* 10(2):259–261.
- [19] Barranco S, Humphrey R (1971), The effects of bleomycin on survival and cell progression in Chinese hamster cells in vitro. *Cancer Res* 31(9):1218–1223.
- [20] Bhuyan B, Scheidt L, Fraser T (1972) Cell cycle phase specificity of antitumor agents. *Cancer Res* 32(2):398–407.
- [21] Tobey RA, Crissman HA (1975) Comparative effects of three nitrosourea derivatives on mammalian cell cycle progression. *Cancer Res* 35(2):460–470.
- [22] Le Blanc GA, Waxman DJ (1989) Interaction of anticancer drugs with hepatic monooxygenase enzymes. *Drug Metab Rev* 20(2–4):395–439.
- [23] Lemoine A, Lucas C, Ings R (1991) Metabolism of the chloroethy linitrosoureas. *Xenobiotica* 21(6):775–791.
- [24] Ramirez YP, Weatherbee JL, Wheelhouse RT, Ross AH (2013) Glioblastoma multiforme therapy and mechanisms of resistance. *Pharmaceuticals* 6(12):1475–1506.
- [25] Pratt WB, Ensminger WD, Ruddon RW (1994), *The anticancer drugs*. Oxford University Press, USA.
- [26] GESMJ, F.; Trucks, G.W.; Schlegel, H.B.; Robb, B.M.M.A.; Cheeseman, J.R.; Scalmani, G.; Barone, V.; HPHGA, P.; Nakatsuji, H.; Caricato, M.; Li, X.; Gaussian 09. Revision A, 2, 2009.
- of malignant glioma after surgery. *N Engl J Med* 303(23):1323–1329.
- [12] Ludlum DB (1997), The chloroethy linitrosoureas: sensitivity and resistance to cancer chemotherapy at the molecular level. *Cancer Investig* 15(6):588–598.
- [13] Zhuang L, Gao J, Zeng Y, Yu F, Zhang B, LiM, Derendorf H, Liu C (2011) HPLC method validation for the quantification of lomustine to study pharmacokinetics of thermosensitive liposomeencapsulated lomustine containing iohexol for CT imaging in C6 glioma rats. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 36(2):61–69.
- [14] Kramer RA, Boyd MR, Dees JH (1986) Comparative nephrotoxicity of 1-(2-chloroethyl)-3-(trans-4-methylcyclohexyl)-1-nitrosourea (MeCCNU) and chlorozotocin: functional-structural correlations in the Fischer 344 rat. *Toxicol Appl Pharmacol* 82(3):540–550.
- [15] Drabløs F, Feyzi E, Aas PA, Vaagbø CB, Kavli B, Bratlie MS, Peña-Díaz J, Otterlei M, Slupphaug G, Krokan HE (2004) Alkylation damage in DNA and RNA—repair mechanisms and medical significance. *DNA repair* 3(11):1389–1407.
- [16] Ducastelle T, Raguenez-Viotte G, Fouin-Fortunet H, Matysiak M, Hemet J, Fillastre J (1988) The hepatotoxicity of 1-(2-chloroethyl)-3-cyclohexyl-1-nitrosourea (CCNU) in rats. *Cancer Chemother Pharmacol* 22(2):153–162.
- [17] Kristal O, Rassnick KM, Gliatto JM, Northrup NC, Chretien JD, Morrison-Collister K, Cotter SM, Moore AS (2004) Hepatotoxicity associated with CCNU

The computational study of the tautomerization of Carmustine drug in the biological system: DFT approach

Mahnoush Momeni Landi¹, Sayed Ali Ahmadi², Mohammad Reza Akhgar², Dadkhoda Ghazanfari²

1. Ph.D. Candidate, Department of Chemistry, Kerman Branch, Islamic Azad University, Kerman, Iran

2. Associate Professor, Department of Chemistry, Kerman Branch, Islamic Azad University, Kerman, Iran

saahmadi@iau.ac.ir

Receipt: 2022/02/05

Accepted: 2024/10/01

Abstract

Tautomers are isomers of a molecule that exist in solution or in a cell. They are interchangeable forms because chemical bonds are rearranged many times spontaneously. This is different from chirality, where molecules are mirror images (or enantiomers) of each other. DFT method was carried out to study the tautomerization of the mechanism of carmustine as an anti-cancer drug. In the carmustine structure, two conformational tautomers were predicted and both two tautomer structures were demonstrated for considering the role of changing atoms in the conformation of carmustine. Relative energies obtained at the B3LYP/6-311G++ (d,p), Aug-cc-pVDZ and 6-311++g (2d,2p) basis sets. The highest occupied molecular orbital (HOMO), The lowest unoccupied orbital (LUMO), and bandgap energy of structures were calculated. Electronics parameters were obtained. electrophilicity. Electronegativity, softness, and hardness for determining the reactivity of compounds in biological media. have been studied. According to the data, the structure of carmustine and two tautomer conformations are stable but T1 is more stable than the other one.

Keywords: DFT, carmustine, tautomer, electronic parameter, anti-cancer