AUMJ Journal Alborz University of Medical Sciences
Alborz University of Medical Sciences Journal, Summer 2026, Vol. 15, No 3: 274-284

Using bioinformatics methods to predict DNA topoisomerase II inhibitors for cancer treatment

Reza Haghshenas Hafshejani[1]
Mobin Aghajani[1]
Maryam Abbasi[2,*]

Abstract

Introduction: Topoisomerase enzymes play a pivotal role in DNA metabolism by regulating DNA topology during essential cellular processes, including DNA replication, transcription, recombination, and chromosome segregation. Consequently, the identification and development of selective topoisomerase inhibitors have emerged as important strategies in the discovery and development of novel anticancer agents. In the present study, a series of structurally diverse multiring compounds was designed, and their potential inhibitory activities against DNA topoisomerase II were systematically investigated using a comprehensive in silico approach.

Methods: Following preparation of the target protein structure, a library of 349 compounds belonging to the pyrimido[1,2-a]benzimidazole class was designed and subjected to a multistage virtual screening workflow. Initial molecular docking and screening were performed using PyRx software, followed by more detailed molecular docking analyses using AutoDock. Subsequently, the binding free energies of the selected ligand–protein complexes were estimated using the molecular mechanics/generalized Born surface area (MM-GBSA) approach. Based on the results obtained from the successive screening stages, the most promising compound was selected for further molecular dynamics (MD) simulation and compared with the corresponding reference compound to evaluate the stability and dynamic behavior of the ligand–protein complex. The study was approved by the Ethics Committee of Hormozgan University of Medical Sciences (IR.HUMS.REC.1401.216).

Results: At each stage of the virtual screening process, the obtained docking and energetic parameters were compared with those of the reference compound. Among the evaluated compounds, compound 76 demonstrated the most favorable binding free energy according to the MM-GBSA calculations, with a value of −33.097 kcal/mol, compared with −24.690 kcal/mol for the reference compound. Based on its superior predicted binding affinity, compound 76 was identified as the most promising candidate for further investigation. Molecular dynamics simulation of compound 76 and the reference compound demonstrated favorable structural stability of the selected ligand–protein complex throughout the simulation period, supporting the potential stability of its interaction with the target enzyme.

Conclusion: The findings of this computational study suggest that pyrimido[1,2-a]benzimidazole derivatives may represent promising structural scaffolds for the

1. Student Research Committee, Faculty of Pharmacy, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran.
2. Department of Pharmaceutical Chemistry, School of Pharmacy, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran.

* Corresponding author:
mabbasi@hums.ac.ir

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-07]

.Copyright © 2026 The Authors. Published by Alborz University of Medical Sciences
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).
.Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited

AUMJ Journal Alborz University of Medical Sciences
Alborz University of Medical Sciences Journal, Summer 2026, Vol. 15, No 3: 274-284

development of DNA topoisomerase II inhibitors. Structure–activity analysis indicated that incorporation of an electron-withdrawing substituent at the meta position of the R2 moiety on the pyrimido[1,2-a]benzimidazole scaffold may favor the formation of compounds with suitable predicted inhibitory activity against DNA topoisomerase II. In particular, compound 76 exhibited a more favorable predicted binding free energy and stable molecular dynamics behavior compared with the reference compound. These findings provide a computational basis for the further structural optimization and experimental evaluation of pyrimido[1,2-a]benzimidazole derivatives as potential anticancer agents targeting DNA topoisomerase II.

Keywords: DNA Topoisomerase II; Molecular Docking; Molecular Dynamics Simulation; MM-GBSA; Pyrimido[1,2-a]benzimidazole

Reza Haghshenas Hafshejani[1]
Mobin Aghajani[1]
Maryam Abbasi[2,*]

1. Student Research Committee, Faculty of Pharmacy, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran.
2. Department of Pharmaceutical Chemistry, School of Pharmacy, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran.

* Corresponding author:
mabbasi@hums.ac.ir

How to cite this article: Haghshenas Hafshjani R, Aghajani M, Abbasi M. Using bioinformatics methods to predict DNA topoisomerase II inhibitors for cancer treatment. Alborz University Medical Journal 2026; 15 (3) 274-284

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-07]

AUMJ Journal
Alborz University of Medical Sciences
نشریه دانشگاه علوم‌پزشکی البرز، تابستان ۱۴۰۵، دوره ۱۵، شماره ۳، صفحه‌های ۲۸۴-۲۷۴

استفاده از روش‌های بیوانفورماتیک برای پیش‌بینی مهارکننده DNA توپوایزومراز II برای درمان سرطان

رضا حق‌شناس هفشجانی[۱]
مبین آقاجانی[۱]
مریم عباسی[۲*]

چکیده

مقدمه: آنزیم‌های توپوایزومراز نقش مهمی در متابولیسم DNA ایفا می‌کند و جستجو برای مهارکننده‌های آنزیم یک هدف مهم در جستجوی داروهای ضدسرطان جدید است. در این مطالعه ترکیباتی با ساختار چندحلقه‌ای طراحی شده و اثر آنها با روش‌های in silico به‌عنوان مهارکننده توپوایزومراز II در کمپلکس با DNA مورد بررسی قرار گرفته است.

روش کار: پس از آماده‌سازی ساختار پروتئین و ترکیبات طراحی شده از دسته پیریمیدو ۱ و۲ بنزایمیدازول (۳۴۹ ترکیب)، غربالگری مجازی در سه سطح انجام شد:۱- با استفاده از نرم‌افزار پایرکس ۲- بررسی دقیق‌تر با نرم‌افزار Autodock ۳- محاسبه انرژی آزاد بر اساس روش MM-GBSA. در نهایت شبیه‌سازی دینامیک مولکولی بر روی بهترین ترکیب و ترکیب رفرنس انجام شد. این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان (IR.HUMS.REC.۱۴۰۱,۲۱۶) تأیید شد.

یافته‌ها: در هر مرحله از غربالگری نتایج نسبت به ترکیب رفرنس سنجیده شدند و در نهایت ترکیب ۷۶ با منفی ترین مقدار انرژی آزاد پیوندی (۳۳/۰۹۷- کیلوکالری بر مول) نسبت به ترکیب الگو (۲۴/۶۹۰- کیلوکالری بر مول) توسط روش MM-GBSA انتخاب شد. نتایج شبیه سازی دینامیک مولکولی ترکیب ۷۶ در مقایسه با ترکیب رفرنس پایداری ترکیب را نشان می دهد.

نتیجه‌گیری: بررسی ساختار شیمیایی ترکیبات نشان می‌دهد که قراردادن گروه الکترون کشنده در موقعیت متا در موقعیت R_2 اسکلت پیریمیدو ۱ و۲ بنزایمیدازول منجر به ایجاد ترکیبات مناسب برای مهار DNA توپوایزومراز II می‌شود.

واژگان کلیدی: سرطان، مهارکننده توپوایزومراز II، داکینگ، غربالگری مجازی، شبیه‌سازی دینامیک مولکولی

۱. کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس، ایران.
۲. گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس، ایران.

*نویسنده مسئول:
mabbasi@hums.ac.ir

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-07]

مقدمه

سرطان دومین علت اصلی مرگ در سراسر جهان است و بیماری است که انتظار می رود شیوع آن در دهه های بعد به طور جهانی افزایش یابد (۱). این بیماری سالانه حدود ۱۰ میلیون قربانی دارد (۲). سرطان بیماری شناخته شده ای است که بشر از دیرباز با آن درگیر بوده و از رشد بی رویه و بدون کنترل سلول های بدن به وجود می آید. درمان هدفمند نوعی از درمان سرطان است که تغییرات سلول های سرطانی را که به رشد، تقسیم و گسترش آن ها کمک می کند، هدف قرار می دهد. به عبارت دیگر پروتئین هایی را هدف قرار می دهد که نحوه رشد، تقسیم و گسترش سلول های سرطانی را کنترل می کنند (۳).

رشته DNA ماده اصلی در بیشتر موجودات زنده است که اطلاعات لازم برای رشد، عملکرد، تکثیر و بقا را ذخیره و منتقل می کند. همانند سازی DNA فرایندی است که طی آن DNA قبل از تقسیم سلولی به طور دقیق کپی می شود تا هر سلول جدید یک نسخه کامل از اطلاعات ژنتیکی را دریافت کند. این فرایند شامل چندین مرحله است که به کمک آنزیم ها و پروتئین های خاص انجام می شود. توپوایزومراز II یک آنزیم چند زیر واحدی است که با استفاده از انرژی ATP باعث شکستن دورشته ای DNA می شود، در واقع یعنی این تنش ها را با بریدن هر دو رشته DNA و سپس باز کردن و دوباره متصل کردن آن ها کاهش می دهد (٤).

توپوایزومراز ها بسته به اینکه به ترتیب تشکیل و پیوند مجدد شستگی DNA تک رشته ای (single strand) یا دو رشته ای (double strand) را کاتالیز کنند، به عنوان نوع I یا II طبقه بندی می شوند (۵). با توجه به اهمیت آنها در فرایند تکثیر سلولی، مهار هر دو نوع آنزیم توپوایزومراز می تواند در درمان سرطان نقش مهمی داشته باشد (٦).

مهارکننده های توپوایزومراز را می توان به دو دسته اصلی تقسیم کرد: مهارکننده های مستقیم توپوایزومراز و مهارکننده های غیرمستقیم یا سرکوبگرهای بیان توپوایزومراز که هر دو فعالیت کاتالیزوری توپوایزومراز را مهار می کنند(۷) . امروزه ترکیبات گوناگون مانند کمپتوتسین (Camptothecin) و مشتقات آن مانند توپوتکان (Topotecan) و ایرینوتکان (Irinotecan)، بنزوآنتراسن، ایندولوکاربازول ها به طور گسترده در شیمی درمانی به عنوان مهارکننده توپوایزومراز I مورد استفاده قرار میگیرند.(۱۰-۸)

ترکیبات دوکسوروبیسین (Doxorubicin)، دانوروبیسین (Daunorubicin)، ایداروبیسین (Idarubicin)، میتوکسانترون (Mitoxantrone) و اتوپوزاید (Etoposide) به عنوان مهارکننده های توپوایزومراز II مورد استفاده قرار میگیرند (۱۲ ,۱۱). مهارکننده های توپوایزومراز I و II ارائه شده دارای معایب گوناگونی هستند مانند عوارض گوارشی، خستگی و ضعف عمومی، سمیت مغز استخوان، سمیت کبدی، سمیت قلبی، تداخلات دارویی و مقاومت دارویی. با توجه به وجود عوارض گوناگون، مطالعه بر روی مهارکننده های جدید توپوایزومراز I و II همچنان در حال انجام است (۸, ۱۳).

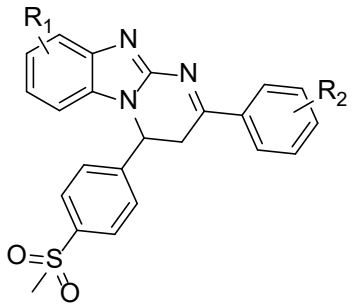
بررسی ساختاری مهارکننده های توپوایزومراز I و II نشان میدهد که این ترکیبات غالبا ساختارهای شیمیایی چند حلقهای به هم فیوز شده دارند مانند مشتقات تیازولوپیریمیدین، پیریمیدین تینو [d-۲،۳] و ۳-آریل ایزوکینولین (١٦-١٤). این ساختارها دارای گروههایی هستند که هم با آنزیم و هم با DNA اتصال میدهند. در میان ترکیباتی که تا کنون به عنوان مهار کننده توپوایزومراز شناخته شده اند ساختار پیریمیدو ۱ و۲ بنزایمیدازول مشاهده نشده است از این رو در این مطالعه ابتدا ترکیبات جدیدی با ساختار پیریمیدو ۱ و۲ بنزایمیدازول طراحی و سپس با استفاده از روشهای بیوانفورماتیک مانند داکینگ مولکولی و شبیه سازی دینامیک مولکولی، پتانسیل آنها به عنوان مهارکننده توپوایزومراز II مورد بررسی قرار گرفت تا در آینده بهترین آنها سنتز و اثرات بیولوژی آن، بررسی شود.

روش کار

طراحی ترکیبات

در این مطالعه ۳٤۹ مشتق جدید با اسکلت پیریمیدو ۱ و ۲ بنزایمیدازول که دارای ساختاری چند حلقه ای است به عنوان مهار کننده توپوایزومراز II طراحی شد. همانطور که در شکل ۱ مشاهده می شود استخلافهای مختلف کشنده و دهنده R۱ و R۲ در موقعیت های مختلف ارتو و متا و پارا بر روی دو حلقه بنزن گذاشته شد. این ترکیبات در نرم افزار شرودینگر رسم و به فرم سه بعدی ذخیره شدند.

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-07]



R1,R2=Ortho, Meta, Para
H, Me, OMe, Cl, NO2, CF3

شکل ۱- ساختار شیمیایی مشتقات طراحی شده از پیریمیدو ۱ و۲ بنز ایمیدازول.

بهینه‌سازی ترکیبات طراحی شده

در پنجره آماده‌سازی لیگاند، ساختارهای مولکولی دوبعدی به ساختارهای سه‌بعدی بهینه و کم‌انرژی‌تر تبدیل می‌شوند. Ligprep همچنین قوانین پیچیده‌ای نظیر حالت‌های توت و مری، یونیزاسیون، کانفورماسیون‌های حلقه‌های سیکلو و ایزومرهای فضایی را برای اصلاح ساختاری و حذف اشتباهات در لیگاندها به‌منظور کاهش خطاهای محاسباتی در مراحل بعدی اعمال می‌کند (۱۷). لذا پس از طراحی ترکیبات، فرایند بهینه سازی ترکیبات از طریق پنجره آماده سازی لیگاند صورت گرفت.

انتخاب و بهینه‌سازی پروتئین

ساختار سه بعدی پروتئین توپوایزومرازII و DNA از بانک داده پروتئین (PDB (Protein Data Bank)) به آدرس اینترنتی https://www.rcsb.org استخراج شد. ساختار انتخابی دارای کد شناسه 3QX3، و با منشا انسانی است که با روش استخراج X-Ray استخراج شده است (۱۸). ابتدا جهت شناسایی و رفع عیوب ساختاری پروتئین و آماده سازی آن برای ادامه مراحل غربالگری بهینه سازی پروتئین توسط ماژول protein preparation انجام شد (۱۹). بدین منظور پس از بارگزاری فایل PDB در پنجره آماده سازی پروتئین، اصلاح مرتبه پیوندها، اصلاح پیوند های شکسته شده و ایجاد پیوند های دی سولفیدی انجام شد و در نهایت بهینه سازی انرژی با استفاده از میدان نیروی OPLS-AA-2005 و ماکزیمم انحراف ریشه میانگین مربعات (RMSD (Root Mean Square Deviation)) معادل ۰/۳ انجام گرفت.

غربالگری مجازی

غربالگری مجازی بر روی کتابخانه ایجاد شده در دو مرحله انجام شد: ۱) غربالگری مجازی توسط نرم افزار PyRx. ۲) غربالگری مجازی توسط AutoDock٤. پایرکس یک نرم افزار غربالگری مجازی است که برای غربالگری کتابخانه های ترکیبات بر روی اهداف دارویی استفاده می شود. در نرم افزار پایرکس، داده های ورودی به فرمت pdb وارد شدند. جهت انجام فرایند داکینگ در این نرم افزار، از الگوریتم vina wizard استفاده شد. در این مرحله ۳٤۹ ترکیب به همراه ماکرومولکول، ابتدا به فرمت pdbqt تبدیل شدند. سپس مرکز grid box (x=٤٠/٤٨٨٠، y= ۹۵/۲۳۸۰ و z=٤٦/٦٨٨٠) تعیین و در نهایت Run vina گذاشته شد و فایل اکسل خروجی انرژی نهایی ترکیبات را نشان داد.

در فرایند داکینگ، آماده سازی پروتئین-DNA و لیگاند توسط نرم افزار Autodock tool 1.5.6 انجام شد. برای آماده سازی پروتئین ابتدا اتم هیدروژن اضافه و بار پروتئین با استفاده از الگوریتم Kolman محاسبه شد و در نهایت هیدروژن های غیر قطبی حذف و پروتئین به فرمت pdbqt ذخیره گردید. در فرایند آماده سازی لیگاند و تبدیل آن به فرمت pdbqt نیز ابتدا اتم های هیدروژن اضافه و سپس بار اتم های لیگاند توسط الگوریتم gastiger محاسبه شد (۲۰). برای انجام فرایند داکینگ، پروتئین و لیگاند درون یک جعبه شبکه ای قرار گرفت مرکز جعبه مشابه نرم افزار PyRX انتخاب شده است و سپس پارامترهای محاسباتی هر اتم با استفاده از autogrid٤ محاسبه شد (۲۱). پارامترهای داکینگ به صورت پیش فرض با ۱۰۰ ران و ماکزیمم تعداد generation معادل ۲۷۰۰۰ با فرمت dpf ذخیره شد.

به‌دست‌آوردن انرژی آزاد پیوندی با روش MM-GBSA

در فرایند کشف دارو استفاده از روش‌های دقیق‌تر محاسبه انرژی آزاد و میل ترکیبی لیگاند باهدف بیولوژیکی به‌شدت موردنیاز است. در میان روش‌های مختلف، MM-GBSA به‌عنوان رویکرد مفید و مؤثر در حال ظهور است. نتایج نشان داده است که همبستگی بین انرژی‌های آزاد اتصال MM-GBSA با داده‌های تجربی در اکثر موارد قرابت عالی داشته است (۲۲). انرژی آزاد پیوندی کمپلکس DNA-پروتئین-لیگاند توسط متد MM-GBSA با استفاده از بسته prime شرودینگر برای ترکیباتی که انرژی آزاد منفی تری در مرحله غربالگری داکینگ مولکولی داشتند،

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-07]

محاسبه شد. این محاسبات با استفاده از میدان نیرو OPLS-2005 و در نظر گرفتن بار جزئی ورودی اتم ها و همچنین در نظر گرفتن قابلیت انعطاف پذیری و چرخش ترکیبات محاسبه شد.

شبیه‌سازی دینامیک مولکولی

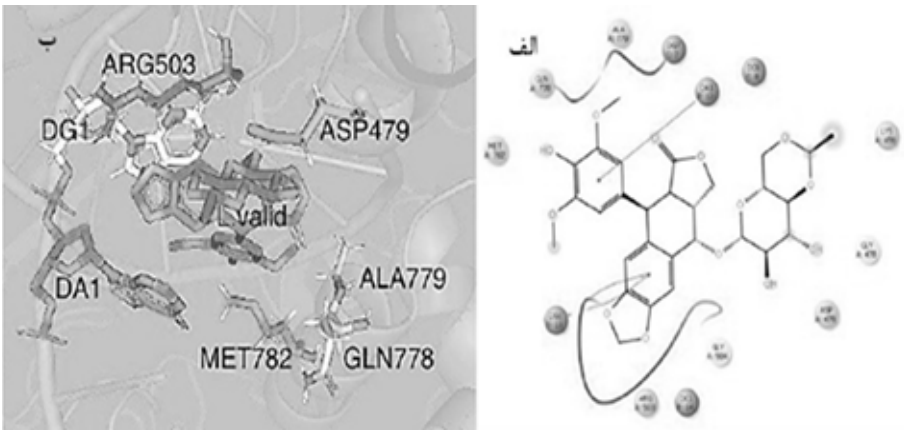
به منظور ارزیابی رفتار ترمودینامیکی در هنگام اتصال لیگاند در جایگاه فعال پروتئین، شبیه سازی دینامیک مولکولی با استفاده از نرم افزار GROMACS بر روی بهترین حالت لیگاند در پروتئین انجام شد. در این شبیه سازی با استفاده از میدان نیرو AMBER برای لیگاند، با استفاده از نرم افزار Acpype، و پروتئین و DNA، با استفاده از نرم افزار GROMACS، فایل توپولوژی ساخته شد (۲۴, ۲۳). کمپلکس های DNA–پروتئین–لیگاند درون یک جعبه دوازده وجهی با مرز ۱ نانومتر از لبه های پروتئین قرار گرفت و با مولکول های آب، با مدل TIP3P به عنوان حلال، پر شد (۲۵). به منظور خنثی سازی سیستم از اتم های Cl و Na به جای مولکولهای آب استفاده شد. بهینه سازی سیستم جهت آرام کردن سیستم و ایجاد تعادل در نیرو های حاصل از افزودن حلال، قبل از انجام شبیه سازی MD، با روش Steep Desent انجام شد. قبل از شروع شبیه سازی اصلی، سیستم در دو مرحله با شرایط NVT (دمای ثابت ۳۰۰ کلوین، حجم و تعداد ثابت ذرات) و NPT (دمای ثابت ۳۰۰ کلوین، فشار ثابت bar ۱ و تعداد ثابت ذرات) به مدت ۵۰۰ پیکوثانیه پایدار شد. در نهایت شبیه سازی اصلی در دمای ثابت ۳۰۰ کلوین و زمان ۱۰۰ نانوثانیه انجام شد. انحراف ریشه میانگین مربعات، نوسان ریشه میانگین مربعات (RMSF (Root Mean Square Fluctuation)) و شعاع ژیراسیون به عنوان رفتار های وابسته به زمان و نتایج فرایند شبیه سازی گزارش شد.

یافته‌ها

اعتبارسنجی فرایند داکینگ

ارزیابی فرایند داکینگ به‌منظور یافتن انرژی و برهم‌کنش‌های اصلی بین لیگاند کریستالوگرافی و اسیدهای آمینه ضروری جایگاه فعال توپوایزومراز II انجام شد. برای این منظور اتوپوزاید (لیگاند کریستالوگرافی) به‌عنوان رفرنس در نظر گرفته شد و داکینگ مولکولی انجام شد و اسیدهای آمینه ضروری مانند: Asp٤٧٩، Ala٧٧٩، Met٧٨٢، Arg٥٠٣، Gln٧٧٨، Gly٤٧٨، Lys٤٥٦، Gly٥٠٤ در اطراف اتوپوزاید مشاهده شد و حالت‌های اتصال لیگاند کریستالوگرافی درون جایگاه فعال مورد بررسی قرار گرفت (۲۶).

مقدار انرژی پیوندی (ΔG Binding) لیگاند کریستالوگرافی (اتوپوزاید) معادل با ۹/۲۰- کیلوکالری بر مول به دست آمد. برهم‌کنش اسیدهای آمینه جایگاه فعال با این لیگاند در شکل ۲ نشان‌داده‌شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، در جایگاه فعال، حلقه‌های بنزن با بازهای آلی آدنین (DA1) و گوانین (DG1) بر همکنش کاتیون - پای تشکیل داده‌اند. علاوه بر این، باز آلی گوانین (DG1) می‌تواند با حلقه بنزودی اکسو بر همکنش پای - پای تشکیل دهد. لیگاند کریستالوگرافی درون جایگاه فعال قرار گرفته به‌طوری‌که اسیدهای آمینه Asp479، Ala779، Met782، Gly504، Lys456، Gly478، Gln778، Arg503 در اطراف آن مشاهده می‌شوند.



شکل ۲- بر همکنش لیگاند کریستالوگرافی با پروتئین توپوایزومراز II. الف) تصویر ۲ بعدی بر همکنش های لیگاند در جایگاه فعال پروتئین و DNA ب) تصویر ۳ بعدی برهمکنش ها در جایگاه فعال پروتئین و DNA.

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-07]

نتایج دو مرحله غربالگری مجازی بر روی کتابخانه داده‌ها

در ابتدا، به‌منظور یافتن ترکیبات با برهم‌کنش مناسب در جایگاه فعال آنزیم توپوایزومرازII، بر روی کتابخانه ترکیبات ایجاد شده غربالگری مجازی با استفاده از نرم‌افزار PyRx انجام شد. بدین منظور ۳۴۹ ترکیب وارد فرایند غربالگری مجازی شدند. نتایج حاصل از فرایند داکینگ اولیه با نرم‌افزار PyRx، انرژی پیوندی ترکیبات را در بازه ٤/٧- تا ٦/٧- کیلوکالری بر مول نشان داد. ۵۵ ترکیب باانرژی پیوندی منفی‌تر از ۵/۵- کیلوکالری بر مول وارد فرایند داکینگ بادقت بیشتر و ۱۰۰ ران انجام شدند. با انجام فرایند داکینگ و درنظرگرفتن ۱۰۰ حالت برای هر لیگاند و آنالیز آنها نتایج بهتری به دست آمد. نتایج انرژی آزاد ۱۷ ترکیب برتر به همراه مهم‌ترین برهم‌کنش‌های آنها در جدول ۱ فایل ضمیمه گزارش شده است.

نتایج محاسبات انرژی پیوندی به روش MM-GBSA

انرژی آزاد پیوندی بر اساس روش مولکولار مکانیک - مساحت سطح بورن تعمیم داده شده بر کل سطح، یک روش با دقت بالا برای محاسبه انرژی آزاد اتصال بین لیگاند و گیرنده است. نتایج این غربالگری نشان‌دهنده پایداری کمپلکس DNA- پروتئین هدف - لیگاند است با این ویژگی خاص که حلال را نیز در محاسبات خود لحاظ می‌کند، این موضوع همبستگی نتایج آن را با آزمایش‌های تجربی افزایش می‌دهد. ۱۷ ترکیب حاصل از داکینگ مولکولی که دارای انرژی و برهم‌کنش بهتری بودند، وارد فرایند MM-GBSA شدند. مقادیر انرژی اتصال آزاد شامل مجموع انرژی‌های برهم‌کنش لیگاند - پروتئین است که تعدادی از آنها مانند پیوند کووالانسی، پیوند هیدروژنی، بر همکنش لیپوفیل، جاذبه کولونی و انرژی واندروالس برای ۱۷ ترکیب به همراه ترکیب الگو در جدول ۲ فایل ضمیمه گزارش شده است. همان‌طور که در جدول ۲ فایل ضمیمه مشاهده می‌شود مقدار انرژی آزاد پیوندی ترکیب رفرنس معادل ٢٤/٦٩٠- کیلوکالری بر مول به دست آورده شد و از میان ۱۷ ترکیب گزارش شده، ترکیب ٧٦ بالاترین مقدار انرژی آزاد پیوندی (٣٣/٠٩٧- کیلوکالری بر مول) را نسبت به ترکیب الگو نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دهد که در ترکیب ٧٦ انرژی واندروالس (٣٢/٣٣٩- کیلوکالری بر مول) اهمیت بیشتری را نسبت به پیوندهای کووالانسی، هیدروژنی، بر همکنش لیپوفیل، جاذبه کولونی را نشان می‌دهد.

نتایج شبیه‌سازی دینامیک مولکولی

به‌منظور بررسی رفتار دینامیکی و پایداری ترکیب ٧٦ در جایگاه فعال پروتئین توپوایزومراز II و DNA، شبیه سازی دینامیک مولکولی، به مدت ۱۰۰ نانوثانیه انجام شد. همچنین شبیه سازی دینامیک مولکولی برای کمپلکس DNA-پروتئین-لیگاند کریستالوگرافی نیز به صورت جداگانه انجام گرفت و نتایج حاصل از آن به عنوان مرجع، برای مقایسه داده ها با ترکیب پیشنهادی استفاده شد. انحراف ریشه میانگین مربعات، نوسان ریشه میانگین مربعات، شعاع ژیراسیون و تعداد پیوند هیدروژنی به عنوان رفتار های وابسته به زمان مسیر های شبیه سازی دینامیک مولکولی بررسی شدند. برای برآورد پایداری کانفورماسیونی پروتئین توپوایزومرازII در طول شبیه سازی، انحراف ریشه میانگین مربعات برای اسکلت اصلی پروتئین در کمپلکس های DNA- پروتئین-لیگاندDNA، ٧٦- پروتئین-لیگاند الگو به دست آورده شد. در انحراف ریشه میانگین مربعات، میانگین گیری بر روی مکان کل ذرات به ازای هر لحظه انجام می گیرد. همانطور که در نمودار انحراف ریشه میانگین مربعات مربوط به اسکلت اصلی پروتئین (نمودار ۱الف) مشخص می باشد، در نمودار مرتبط به کمپلکس DNA-پروتئین-لیگاند الگو (مشکی) در ٦٥ نانوثانیه ابتدایی شبیه سازی نوسانات بیشتری مشاهده می شود اما پس از آن تا پایان شبیه سازی، سیستم به پایداری نسبی رسیده است. در کمپلکس DNA -پروتئین-لیگاند ٧٦ (طوسی) نوساناتی با شیب خیلی ملایم و با دامنه تغییرات کمتر از ۰/۳ نانومتر مشاهده شد.

با توجه به اینکه گروهی از پروتئین‌ها ساختاری گلوبولار یا شبه کروی دارند برای چنین پروتئین‌هایی شعاع ژیراسیون را می‌توان محاسبه کرد. در طول شبیه‌سازی اگر عاملی باعث جمع‌شدن پروتئین شود شعاع ژیراسیون کم می‌شود و در نتیجه پروتئین دچار تاخوردگی می‌شود. عاملی مانند تغییر حلال یا بر همکنش‌های درون‌مولکولی پروتئین یا رفتن پروتئین به سمت دناتوراسیون، باعث باز شدن پروتئین می‌شود، در نتیجه شعاع ژیراسیون افزایش‌یافته و پایداری پروتئین کاهش می‌یابد.

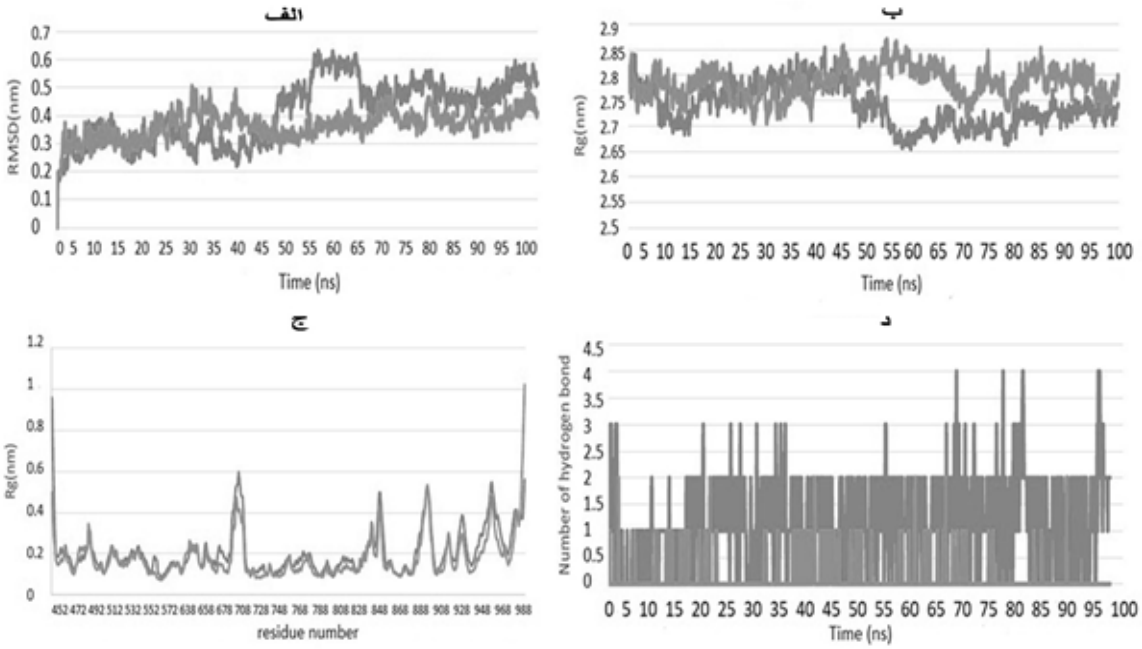
نمودار ۱ب شعاع ژیراسیون را در دو شبیه سازی انجام شده در طی ۱۰۰ نانوثانیه نشان می دهد. نمودار شعاع چرخشی کمپلکس DNA-پروتئین-لیگاند الگو، در ٤٥ ثانیه اول تقریبا ۰/۱۵ نانومتر نوسان نشان می دهد که پس از یک کاهش ۰/۱ نانومتری تا زمان ٦٠ نانوثانیه تا انتهای شبیه سازی نوسانی در ۰/۱ نانومتر نشان می دهد. نمودار شعاع چرخشی در

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-07]

کمپلکس DNA- پروتئین-لیگاند۷٦ تقریبا رنج ثابتی را با دامنه تغییرات ۱۵/۰ نانومتری در کل شبیه سازی نشان می دهد.

نوسان ریشه میانگین مربعات آنالیزی است که نشان‌دهنده میزان انعطاف‌پذیری پروتئین در طی شبیه‌سازی است و میانگین‌گیری مکان به‌ازای هر اسیدآمینه انجام می‌گیرد. در نمودار ۱ج ، نمودار نوسان ریشه میانگین مربعات برای ترکیب الگو و لیگاند تقریبا بر روی هم منطبق می باشند. از آنجایی که اسیدهای آمینه مهمی که در جایگاه فعال پروتئین توپوایزومرازII قرار دارند اسیدهای آمینه Ala779، Gln778، Met782، Lys456، Gly478، Asp479، Gly504 می‌باشند، پایدار بودن این اسیدهای آمینه بیشتر از اسیدهای آمینه دیگر مورد توجه است زیرا بر همکنش با آنها عامل پایداری لیگاند در جایگاه فعال می باشد.

در طی ۱۰۰ نانوثانیه شبیه سازی؛ تعداد پیوند های هیدروزنی بین ترکیبات ۷٦، الگو و پروتئین توپوایزومرازII محاسبه شد و نتایج آن در نمودار ۱ د نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می کنید تعداد پیوند های هیدرژونی برای ترکیب الگو بین ۰ تا ٤ عدد و برای ترکیب ۷٦ بین ۰ تا ۲ متغیر می باشد.



نمودار ۱. نمودار نتایج شبیه سازی دینامیک مولکولی. الف) نمودار انحراف ریشه میانگین مربعات (RMSD) کمپلکس ترکیب ۷٦ و لیگاند کریستالوگرافی در مدت ۱۰۰ نانوثانیه. ب) نمودار شعاع ژیراسیون (۲۵) کمپلکس ترکیب ۷٦ و لیگاند کریستالوگرافی در مدت ۱۰۰ نانوثانیه. ج) نمودار نوسان ریشه میانگین مربعات (RMSF) کمپلکس ترکیب ۷٦ و لیگاند کریستالوگرافی در مدت ۱۰۰ نانوثانیه. د) نمودار تعداد پیوند هیدروژنی کمپلکس ترکیب ۷٦ و لیگاند کریستالوگرافی در مدت ۱۰۰ نانوثانیه. کمپلکس الگو-پروتئین-DNA (مشکی) و کمپلکس ترکیب ۷٦-پروتئین-DNA (طوسی).

بحث

مهار آنزیم توپوایزومراز II یکی از راهکارهای مهم برای درمان سرطان می باشد. مطالعات گوناگونی تا کنون بر روی مهارکننده های توپوایزومراز بصورت in vitro و in silico انجام شده است. در مطالعات گذشته، مهارکننده های همزمان آنزیم های توپوایزومراز و DNA ، معمولا دارای ساختار چند حلقه ای می باشند، اما متاسفانه استفاده طولانی مدت از این داروها می‌تواند منجر به مسائلی مانند مقاومت دارویی، سمیت قلبی و سرکوب مغز استخوان شود (۲۷). براین اساس، امروزه نیاز به ترکیباتی با اسکلت جدید احساس می شود. به عنوان مثال در سال ۲۰۲۵ مشتقات هیبریدی کینولین-کرومن طراحی و سنتز شدند و تعدادی از آنها با مقدار IC۵۰ در حد زیر میکرومولار برای مهار توپوایزومراز I/II گزارش شدند (۲۸). نمونه دیگر از ترکیبات چند حلقه ای مطالعه ای در سال ۲۰۲٦ می باشد که ترکیباتی با اسکلت بیس-ایندول و پیرازولو[b-۳،٤]پیریدین به عنوان مهارکننده توپوایرومراز سنتز و بررسی شدند (۲۹).

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-07]

اسکلت ساختاری پیریمیدو ۱ و ۲ بنزایمیدازول در سال ۲۰۲۳ به‌عنوان مهارکننده Cox و ضدالتهاب توسط زرقی و همکاران سنتز و پیشنهاد شده است (۳۰). چند حلقه ای بودن این مشتقات، منجر به ایده ای برای طراحی ترکیباتی با این اسکلت به عنوان مهارکننده آنزیم توپوایزومراز II شده است. در این مطالعه کتابخانه ای شامل ۳۴۹ ترکیب با ساختار پیریمیدو ۱ و ۲ بنز ایمیدازول طراحی شد؛ و اثر این ترکیبات بر روی آنزیم DNA توپوایزومراز II به صورت in silico مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه از مطالعات وابسته به ساختار داکینگ ، MM–GBSA و شبیه سازی دینامیک مولکولی استفاده شده است. اسکلت کلی ترکیبات طراحی شده در شکل ۱ نشان داده شده است. از آنجایی که اسکلت این ترکیبات مشابه ترکیباتی که تا کنون به عنوان مهارکننده پیشنهاد شده نمی باشد میزان فعالیت آنها با یک ترکیب رفرنس که درون لیگاند کریستالوگرافی قرار دارد مقایسه شده است. برای این منظور تمام مراحل بیوانفورماتیک بر روی این ترکیب هم انجام شده است. در ترکیبات طراحی شده گروههای R۱ و R۲ در موقعیت های ارتو، متا و پارا شامل هیدروژن، استخلاف های کشنده مانند CF_3، NO_2، Cl و دهنده مانند Me و OMe می باشند نتایج مرحله داکینگ در مقایسه با ترکیب رفرنس (۹/۲۰- کیلو کالری بر مول) نشان می دهد که بهترین ترکیب دارای گروه متیل در موقعیت ارتو R۱ و یک گروه کشنده مانند NO_2 در موقعیت متا در R2 با انرژی پیوندی ۷۰/۱۰- کیلوکالری بر مول می باشد. نتایج MM–GBSA هم تایید کننده این یافته می باشد. ترکیب ۷۶ با بهترین میزان انرژی آزاد پیوندی (۳۳/۰۹۷-) در مقایسه با رفرنس (۲۴/۶۹۰- کیلوکالری بر مول) دارای استخلاف متیل در موقعیت متا برای R1 و NO_2 در موقعیت متا برای R۲ می باشد. قرار گرفتن گروه نیترو منجر به افزایش سهم پیوند واندروالس و پیوند هیدروژنی در برهم کنش با رسپتور می شود. نتایج نشان می دهد بطور کلی قرار گرفتن گروه کشنده در موقعیت متا برای R2 بسیار اهمیت دارد در صورتیی که در استخلاف R1 موقعیت ارتو و متا و پارا تفاوتی ایجاد نمی کند.

بررسی نمودارهای شبیه‌سازی دینامیک مولکولی برای کمپلکس DNA–پروتئین – لیگاند۷۶ و مقایسه آن با نمودار های مختلف کمپلکس DNA–پروتئین–لیگاند ترکیب رفرنس نشان داد که این ترکیب در طی ۱۰۰ نانوثانیه شبیه سازی می تواند در جایگاه فعال پروتئین پایدار باشد بدون اینکه پایداری کلی پروتئین و اسیدآمینه های درگیر در سایت فعال را مختل کند و به طور کلی رفتاری مشابه ترکیب الگو که مهارکننده تایید شده توپوایزومراز II می باشد را نشان می دهد. بررسی نتایج نمودار RMSD ترکیب ۷۶ در مقایسه با ترکیب رفرنس در طول شبیه سازی پایداری بیشتری را نشان می دهد. برای تایید این مهم نیاز به سنتز و مطالعات in vitro/in vivo بر روی ترکیب ۷۶ است.

نتیجه‌گیری

اسکلت پیریمیدو ۱ و ۲ بنز ایمیدازول میتواند پتانسیل لازم برای مهار آنزیم توپوایزومراز II را داشته باشد. از بین ترکیبات طراحی شده، ترکیب ۷۶ مقدار انرژی آزاد پیوندی منفی‌تری را نشان می‌دهد و نتایج شبیه‌سازی نیز آن را تأیید می‌کند. البته برای تأیید این مهم نیاز به سنتز و بررسی اثرات بیولوژیکی ترکیب ۷۶ است.

اعلان‌ها

تشکر و قدردانی: این مقاله حاصل پایان‌نامه دکترای عمومی رشته داروسازی با شماره ۴۰۱۰۲۸۰ می باشد که در دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان انجام شده است. برای انجام این پژوهش از نرم افزارهایSchrodinger ،AutoDock۴ ،PyRxو Gromacx استفاده شده است.

ملاحظات اخلاقی: کد اخلاق پایان‌نامه IR.HUMS.REC.۱۴۰۱,۲۱۶ می باشد.

تضاد منافع: نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافعی مرتبط با تحقیق حاضر ندارند.

مشارکت نویسندگان: رضا حق‌شناس هفشجانی: نگارش مقاله، مبین آقاجانی: انجام پروژه، مریم عباسی: ایده‌پردازی، راهنمایی انجام پروژه و نگارش مقاله سهم داشته‌اند.

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-07]

References

1. Kiri S, Ryba T. Cancer, metastasis, and the epigenome. Molecular cancer. 2024;23(1):154. [DOI:10.1186/s12943-024-02069-w]
2. Patole VP, Shinde NV, Chandak SM, Satalkar AT. Cancer Research in the 21st Century: Recent Advances and Future Perspectives. Zhongguo ying yong sheng li xue za zhi = Zhongguo yingyong shenglixue zazhi = Chinese journal of applied physiology. 2025;41:e20250018.
3. Wang JJ, Lei KF, Han F. Tumor microenvironment: recent advances in various cancer treatments. European review for medical and pharmacological sciences. 2018;22(12):3855-64.
4. McKie SJ, Neuman KC, Maxwell A. DNA topoisomerases: Advances in understanding of cellular roles and multi-protein complexes via structure-function analysis. BioEssays : news and reviews in molecular, cellular and developmental biology. 2021;43(4):e2000286. [DOI:10.1002/bies.202000286]
5. Bush NG, Evans-Roberts K, Maxwell A. DNA Topoisomerases. EcoSal Plus. 2015;6(2). [DOI:10.1128/ecosalplus.esp-0010-2014]
6. 6. Pommier Y, Leo E, Zhang H, Marchand C. DNA topoisomerases and their poisoning by anticancer and antibacterial drugs. Chemistry & biology. 2010;17(5):421-33. [DOI:10.1016/j.chembiol.2010.04.012]
7. Nitiss J, Wang JC. DNA topoisomerase-targeting antitumor drugs can be studied in yeast. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1988;85(20):7501-5. [DOI:10.1073/pnas.85.20.7501]
8. Pommier Y. Topoisomerase I inhibitors: camptothecins and beyond. Nature reviews Cancer. 2006;6(10):789-802. [DOI:10.1038/nrc1977]
9. Sorina R. Functional interactions of DNA topoisomerases with a human replication origin. 2006.
10. Yoshinari T, Ohkubo M, Fukasawa K, Egashira S, Hara Y, Matsumoto M, et al. Mode of action of a new indolocarbazole anticancer agent, J-107088, targeting topoisomerase I. Cancer research. 1999;59(17):4271-5.
11. Hande KR. Clinical applications of anticancer drugs targeted to topoisomerase II. Biochimica et biophysica acta. 1998;1400(1-3):173-84. [DOI:10.1016/S0167-4781(98)00134-1]
12. Tanaka T, Halicka HD, Traganos F, Seiter K, Darzynkiewicz Z. Induction of ATM activation, histone H2AX phosphorylation and apoptosis by etoposide: relation to cell cycle phase. Cell cycle (Georgetown, Tex). 2007;6(3):371-6. [DOI:10.4161/cc.6.3.3835]
13. Varghese SS, Eekhoudt CR, Jassal DS. Mechanisms of anthracycline-mediated cardiotoxicity and preventative strategies in women with breast cancer. Molecular and Cellular Biochemistry. 2021;476(8):3099-109. [DOI:10.1007/s11010-021-04152-y]
14. Deng X, Yang X, Yu Q, Xia Z, Wang Y, Huang R, et al. Design, synthesis and biological evaluation of 3-arylisoquinoline derivatives as topoisomerase IIα inhibitors for the therapy of small cell lung cancer. Bioorganic & Medicinal Chemistry. 2025;129:118299. [DOI:10.1016/j.bmc.2025.118299]
15. Ewieda SY, Salem Mm, Elshewy A, Abdalla M, El-Manawaty M, Abdelhady HK, et al. Discovery of novel thiazolopyrimidine derivatives targeting topoisomerase II: Design, synthesis, antiproliferative evaluation, molecular docking and apoptosis inducing activity. Bioorganic Chemistry. 2025;163:108672. [DOI:10.1016/j.bioorg.2025.108672]
16. Hassan RA, Sonousi A, Abdou AM, El-Dash Y. Thieno [2, 3-d] pyrimidine derivatives as topoisomerase II inhibitors: design, synthesis, anticancer evaluation, and in silico studies. Bioorganic Chemistry.

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-07]

2025:108839. [DOI:10.1016/j.bioorg.2025.108839]

17. LigPrep S. LLC. New York, NY. 2017;2017.
18. . Wu CC, Li TK, Farh L, Lin LY, Lin TS, Yu YJ, et al. Structural basis of type II topoisomerase inhibition by the anticancer drug etoposide. Science (New York, NY). 2011;333(6041):459-62. [DOI:10.1126/science.1204117]
19. Meraj K, Mahto MK, Christina NB, Desai N, Shahbazi S, Bhaskar M. Molecular modeling, docking and ADMET studies towards development of novel Disopyramide analogs for potential inhibition of human voltage gated sodium channel proteins. Bioinformation. 2012;8(23):1139-46. [DOI:10.6026/97320630081139]
20. Morris GM, Goodsell DS, Halliday RS, Huey R, Hart WE, Belew RK, et al. Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. Journal of computational chemistry. 1998;19(14):1639-62. https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-987X(19981115)19:14<1639::AID-JCC10>3.0.CO;2-B [DOI:10.1002/(SICI)1096-987X(19981115)19:143.0.CO;2-B]
21. Abbasi M, Sadeghi-Aliabadi H, Hassanzadeh F, Amanlou M. Prediction of dual agents as an activator of mutant p53 and inhibitor of Hsp90 by docking, molecular dynamic simulation and virtual screening. Journal of Molecular Graphics and Modelling. 2015;61:186-95. [DOI:10.1016/j.jmgm.2015.08.001]
22. Rastelli G, Del Rio A, Degliesposti G, Sgobba M. Fast and accurate predictions of binding free energies using MM-PBSA and MM-GBSA. J Comput Chem. 2010;31(4):797-810. [DOI:10.1002/jcc.21372]
23. Abraham MJ, Van Der Spoel D, Lindahl E, Hess B. the GROMACS development team. GROMACS user manual version. 2016;5(4).
24. Sousa da Silva AW, Vranken WF. ACPYPE-Antechamber python parser interface. BMC research notes. 2012;5(1):367. [DOI:10.1186/1756-0500-5-367]
25. Jorgensen WL, Chandrasekhar J, Madura JD, Impey RW, Klein ML. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. The Journal of chemical physics. 1983;79(2):926-35. [DOI:10.1063/1.445869]
26. Farouk F, Elmaaty AA, Elkamhawy A, Tawfik HO, Alnajjar R, Abourehab MA, et al. Investigating the potential anticancer activities of antibiotics as topoisomerase II inhibitors and DNA intercalators: in vitro, molecular docking, molecular dynamics, and SAR studies. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry. 2023;38(1):2171029. [DOI:10.1080/14756366.2023.2171029]
27. Shen G, Li S, Zhu Y, Xu Z, Liu X, Lv C, et al. Recent progress in topoisomerase inhibitors as anticancer agents: Research and design strategies for Topo I and II inhibitors via structural optimization. Bioorganic Chemistry. 2025:109040. [DOI:10.1016/j.bioorg.2025.109040]
28. Saxena A, Siddiquee NH, Shahariar MH, Biswas S, Lynn AM, Saha B. Synthesis, in-silico and in-vitro evaluation of quinoline-chromene hybrids as dual topoisomerase inhibitors. Bioorganic & Medicinal Chemistry. 2025:118422. [DOI:10.1016/j.bmc.2025.118422]
29. Eldehna WM, Tawfik HO, Veselá D, Peřina M, Negmeldin AT, Elsayed ZM, et al. Discovery of potent bisindole-based pyrazolopyridine derivatives as topoisomerase inhibitors: DNA damage induction and synergistic antileukemic activity. Frontiers in Pharmacology. 2026;17:1745220.https://doi.org/10.3389/fphar.2026.1745220 [DOI:10.3389/fphar.2026.1895851]
30. Bayanati M, Khoramjouy M, Faizi M, Movahed MA, Mahboubi-Rabbani M, Zarghi A. Novel Benzo [4, 5] imidazo [1, 2-a] pyrimidine derivatives as selective Cyclooxygenase-2 Inhibitors: Design, synthesis, docking studies, and biological evaluation. Medicinal Chemistry Research. 2023;32(3):495-505. [DOI:10.1007/s00044-023-03022-0]

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-07]