Iraqi Journal of Biotechnology, 2014,Vol.13, No.1 , 1-13

دراسات حاسوب لبعض الجوانب السلبية للأدوية المضادة للسرطان المستعملة في العراق

زهرة محمود الخفاجي ، أيمن فرعون الملا

معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الاحيائية للدراسات العليا، جامعة بغداد

الإستلام: 23 حزيران 2013/ القبول: 1 كانون الاول2013

الخلاصة: درست بعض الجوانب السلبية الناجمة عن استعمال بعض الأدوية المضادة للسرطان المستعملة في العراق (30 دواء) باستعمال الحاسوب . أسفرت النتائج عند استعمال برنامج T.E.S.T v. 4.1 ان 50% من الأدوية لها فعالية تطفيرية وان 91% منها لها تأثيرات على التطور وعلى المدى البعيد ، وكانت العلاقة موجبة بين القابلية التطفيرية وسمية التطور اذ بلغ معامل الارتباط (r=0.779) وكانت اغلب حالات التطفير ناتجة عن عمليات الألكلة (حوالي 30.77%) وبدرجة اقل عن عمليات الحشر (23.08%) ، اما سمية التطور فكانت ناتجة بشكل أساسي عن التأثير في الإنزيمات والمستلمات (29.41%) في حين كان التداخل مع Tubulin بدرجة اقل (17.65%) وشغلت العوامل المتعددة الأخرى التي بعضها غير معروف باقي النسب في كلا الحالتين . لم تكن هناك علاقة بين عدد الحلقات (العامة) الموجودة في الدواء مع حالة التطفير او سمية التطور . ولا توجد علاقة بين مؤشرات أخرى مثل عدد الأواصر الحرة Rotatable bonds او HB donors و HB acceptors مع الجوانب السلبية المدروسة .

In Silico Investigations of some Adverse Effects of Anticancer Drugs used in Iraq

Zahra M. AL-Khafaji , Aymen F. AL-Mulla

Institute of Genetic Engineering and Biotechnology for Postgraduate Studies, Baghdad University

Received: June 23,2012/ Accepted: December 1,2013

Abstract: Adverse effects of anticancer drugs used in Iraq (30 drugs) were studied using *in Silico* approaches represented by using T.E.S.T v. 4.1 software. Results showed that 50% of drugs were mutagenic and 91% of them caused developmental toxicity .There was positive relationship between mutagenicity and developmental toxicity and the correlation coefficient was (r=0.779) . Most mutagenic activity caused by alkylating drugs (30.77%) and less than that by intercalating drugs (23.08%). Developmental toxicity mainly resulted from drugs affected the enzymes and receptors (29.41%) while drugs interact with tubulin resulted in (17.65%) of toxicity cases. The rest of percentages were due to other factors which some of them were unknown. There was no relationship between the number of rings (in general) in drug molecule and the mutagenicity and developmental toxicity. Other parameters such as number of rotatable bonds ، HB donors and HB acceptors had no effect on mutagenicity and developmental toxicity.

Key words : Anticancer drugs, mutagenicity, developmental toxicity, QSAR, *In Silico.*

المقدمة

يعرف الدواء بصورة عامة على انه المادة التي لها تأثيرات طبية ايجابية عند تعاطيها من مختلف النواحي. اما الأدوية المضادة للسرطان فهي المواد التي تستعمل لعلاج السرطان لوحدها او مع مواد أخرى لتحطيم الخلايا والأنسجة السرطانية ويفترض في هذه الأدوية ان تهاجم الخلايا سريعة النمو مثل الخلايا السرطانية ولكنها يمكن ان تهاجم الخلايا الطبيعية وبذلك فإنها تؤدي الى أنواع من السمية ومنها السمية الجينية (Genotoxicity) (2،1) . وقد عرف حديثا ان 90% من المواد المسرطنة (وبضمنها الأدوية المضادة للسرطان) هي مواد مطفرة (3،2) وتخضع معظم الأدوية (وبخاصة التي تؤخذ عن طريق الفم) لقاعدة Lipinski's rule of five او ما تسمى بـ Pfizer's rule of five (RO5) والتي تشير الى بعض المواصفات الجزيئية للمركبات التي تؤهلها ان تكون أدوية (4) ويمكنها الوصول للحصول على المصادقة (Approval) من قبل الجهات المختصة مثل FDA (Food and Drug Administration) (6،5) .

ليست كل الأدوية صالحة بشكل مطلق للاستخدام لذلك تلجأ الجهات المختصة الى استعمال العديد من الأنظمة لتحديد السمية بأنواعها المختلفة وتعتمد مؤسسة FDA في الوقت الحاضر فحص أيمس Ames test (4) والذي يعد احد الفحوص السريعة لإجراء المسح على المواد عامة والأدوية خاصة لمعرفة مدى صلاحيتها للاستعمال سواء للإنسان او الحيوان (2 ،3). ويتألف نظام أيمس من عدد من سلالات Salmonella typhimurium تحمل طفرات العوز للهستدين وتختلف فيما بينها في أنواع الطفرات (7،2) .

وفي واقع الأمر فإنه ليست كل الأدوية المضادة للسرطان قد حددت الجوانب السلبية لاستعمالها وبعض الأحيان يتم التغاضي عن الجوانب السلبية أملا في الفائدة المرجوة من الاستعمال . وقد ساهمت المعلوماتية الحيوية وبرامج الحاسوب في المساعدة في تحديد الجوانب السلبية وسلامة المواد والأدوية بشكل فاعل (8 ، 9 ، 10).

ان الهدف من الدراسة الحالية هو تحديد القابلية التطفيرية Mutagenicity والتأثير في التطور السمي Developmental toxicity لعدد من الأدوية التي سمحت بها وزارة الصحة العراقية للاستعمال في العراق.

المواد وطرائق العمل

- تم اختيار الأدوية المضادة للسرطان في العراق من قوائم الأدوية الداخلة الى البلد بعد الفحص في وزارة الصحة (وفقا لقوائم الاستيراد لوزارة الصحة لعام 2011 ، جدول 1) .
- استعمل برنامج T.E.S.T version 4.1 (Toxicity Estimation Software Tool) الصادر عن Environmental Protection Agency عام 2012 لتحديد قابلية التطفير Mutagenicity والتأثير في التطور السمي Developmental toxicity .
- استعملت قاعدة البيانات Zinc database (http://zinc.docking.org/) للحصول على العديد من البيانات حول الأدوية ورقم CAS 3 يغ المطلوبة .
- استعملت قاعدة بيانات TOXNET (http://toxnet.nlm.nih.gov/)

- استعملت قاعدة بيانات AltTox.ORG (http://alttox.org/ttrc/resources/databases.html)
- استعمل موقع DrugBank (http://www.drugbank.ca/) للحصول على العديد من البيانات حول الأدوية المستعملة .
- استعمل برنامج ToxPredict (http://www.toxpredict.net) لغرض التأكد وإيجاد بعض المعلومات التي لا يغطيها برنامج T.E.S.T .

جدول (1) : بعض الأدوية المضادة للسرطان واستعمالاتها المسموح بها في العراق

ت	الادوية	الاستعمال
1	5-fluorouracil	Colorectal cancer and pancreatic cancer
2	Anastrozole	Breast cancer after surgery، metastasis in both pre and post-menopausal women
3	Azathioprine	Immunosuppressant
4	Bleomycin	Hodgkin's lymphoma، squamous cell carcinomas، and testicular cancer
5	Busulphan	Chronic myeloid leukemia
6	Carboplatin	Ovarian carcinoma، lung، head and neck cancers
7	Cisplatin	Sarcomas، some carcinomas (e.g. small cell lung cancer، and ovarian cancer)، lymphomas، and germ cell tumors
8	Cladribine	Hairy cell leukemia and multiple sclerosis
9	Cyclophosphamide	Lymphomas، some forms of brain cancer، leukemiaand some solid tumors
10	Cytarabine	Acute myeloid leukemia (AML) and non-Hodgkin lymphoma
11	Dacarbazine	Malignant melanoma، Hodgkin lymphoma، sarcoma، and islet cell carcinoma of the pancreas
12	Daunorubicin	Acute myeloid leukemia and acute lymphocytic leukemia
13	Docetaxel	Breast، colorectal، lung، ovarian، prostate، liver، renal، gastric، head and neck cancers، and melanoma
14	Doxorubicin	Hematological malignancies، many types of carcinoma، and soft tissue sarcomas
15	Etoposide	Kaposi’s sarcoma ،Ewing'ssarcoma، lung cancer، testicular cancer،lymphoma، nonlymphocytic leukemia، and glioblastomamultiforme
16	Flutamide	Prostate cancer
17	Gemcitabine	Non-small cell lung cancer، pancreatic cancer، bladder cancer and breast cancer
18	Ifosfamide	Lymphoma (Hodgkin's and non-،Breast cancer،Testicular cancer Lung ،Osteogenic sarcoma (bone cancer)،Soft tissue sarcoma،Hodgkin's) Cervical cancer and Ovarian cancer،cancer
19	Imatinib	Philadelphia chromosome-positive (Ph+) chronic myelogenous leukemia (CML)
20	Letrozole	Breast cancer
21	Mesna	Used in cancer chemotherapy involving cyclophosphamide and ifosfamide as an adjuvant
22	Methotrexate	Leukemia، lymphoma، lung، osteosarcoma، bladder، and trophoblastic neoplasms
23	Mitomycin	Esophageal carcinoma، anal cancers، and breast cancers، superficial bladder tumors
24	Mitoxantrone	Metastatic breast cancer، acute myeloid leukemia، and non-Hodgkin's lymphoma
25	Paclitaxel	Lung، ovarian، breast، head and neck cancer، and advanced forms of Kaposi's sarcoma
26	Tamoxifen	Early and advanced ER+ (estrogen receptor positive) breast cancer in pre- and post-menopausal women، male breast cancer
27	Thioguanine	Acutelymphoblasic leukemia in children ، autoimmune diseases
28	Vinblastine	Hodgkin's lymphoma، non-small cell lung cancer، breast cancer، head and neck cancer، and testicular cancer.
29	Vincristine	Non-Hodgkin's lymphoma، Hodgkin's lymphoma، acute lymphoblastic leukemia، and nephroblastoma
30	Vinorelbine	non small cell lung cancer ،metastatic breast cancer and rhabdomyosarcoma

النتائج والمناقشة

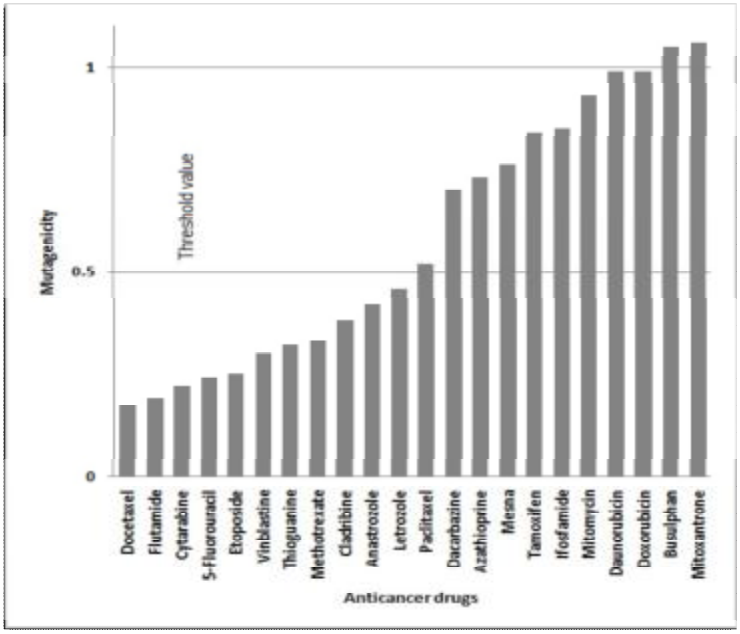
استعملت الأدوية الواردة في الجدول (1) والتي سمحت بها وزارة الصحة للاستعمال في العراق واغلب الأدوية هي مصادق عليها من قبلFDA. اختلفت الأدوية قيد الدراسة في عدد من مواصفاتها وبعض هذه الأدوية هي من المضادات الحيوية Antibiotics وتشير القواعد (RO5) التي تصنف المواد على أساسها انها أدوية الى ان الوزن الجزيئي يكون بحدود 500 دالتون (12 ، 13) وربما كانت هذه خاصة بالأدوية التي تؤخذ عن طريق الفم وقد تراوحت الأوزان الجزيئية للأدوية بين 130.078 دالتون للمركب Fluorouracil لتصل الى 1415.552 دالتون في حالة Bleomycin . وقد تبعتها في هذه الصفة عدد الأواصر غير المرتبطة Rotatable bonds بالحلقات التي تمثل المرونة الجزيئية Molecular flexibility . وتشير الدراسات الى ان المركبات ذات الأوزان الجزيئية اقل من 400 دالتون تحوي على أواصر غير المرتبطة يمكن ان تصل الى حوالي 10 ولكن لم يكن هذا الوضع ساريا على الأدوية المستعملة اذ تراوح عدد الأواصر بين الصفر في حالة Fluorouracil و Cisplatin و Thioguanine الى 36 في حالة Bleomycin (12،13) .

اختلفت المركبات ايضاً في عدد الحلقات الحاوية عليها فهي اما ان تكون مركبات غير حلقية كما في مركب Busulphan ومشتقات Mesna الكبريتية او تكون حاوية على حلقات تتراوح بين حلقة واحدة الى تسع حلقات. ومن الصفات الأخرى المسجلة للأدوية هي النسب المئوية لارتباطها بالبروتينات وكانت اقل نسبة (1%) مسجلة لـ Bleomycin الى نسبة بلغت (99%) لـ Vinorelbine (13 ، 14) ، وسرى مثل هذا الاختلاف على صفة الامتصاص في الجسم فالبعض وصف بأنه بطئ الامتصاص كما في Dacarbazine الى أدوية تمتص 100 % والمسجلة للأدوية Flutamide و Gemcitabine وتراوحت البقية بين هذين الطرفين. ومن المؤشرات الأخرى التي سجلت للأدوية المستعملة هي LogP الذي يتعلق بتوزيع المركب بين الطور المائي والطور الدهني (14) ومرة أخرى اختلفت الأدوية في هذه الصفة والتي تعد مهمة في الأنظمة الحيوية لوجود الأغشية الحيوية وتعد الصفة الرئيسة والتي تمثل محبة الدهون Lipophilicity (15). وكما تشير نتائج طرق QSAR (التي سيأتي ذكرها لاحقا) الى ان المركبات ذات صفة محبة الدهون القوية سوف تكون لها صفة انتشار سريعة في الأغشية الحيوية الخلوية (13). ومن المؤشرات الأخرى المهمة كصفات دوائية هي عدد المعطيات الهيدروجينية Hydrogen bond donor و Hydrogen bond receiver والتي تكون قيمها المثالية بين 5 الى 10 على التوالي وتراوحت قيم المعطيات بين صفر في عدد من الأدوية وأعلى القيم سجلت لـ Bleomycin وكانت 20 آصرة ، اما المستلمات receivers فكانت اقل القيم المسجلة 2 للأدوية ، Cisplatin وTamoxifen وأعلى القيم كانت 28 خاصة بـ Bleomycin . ومن الجدير بالذكر ان معظم الأدوية المذكورة تتداخل مع 5 أخرى بشكل متفاوت كما تشير معطيات DrugBank .

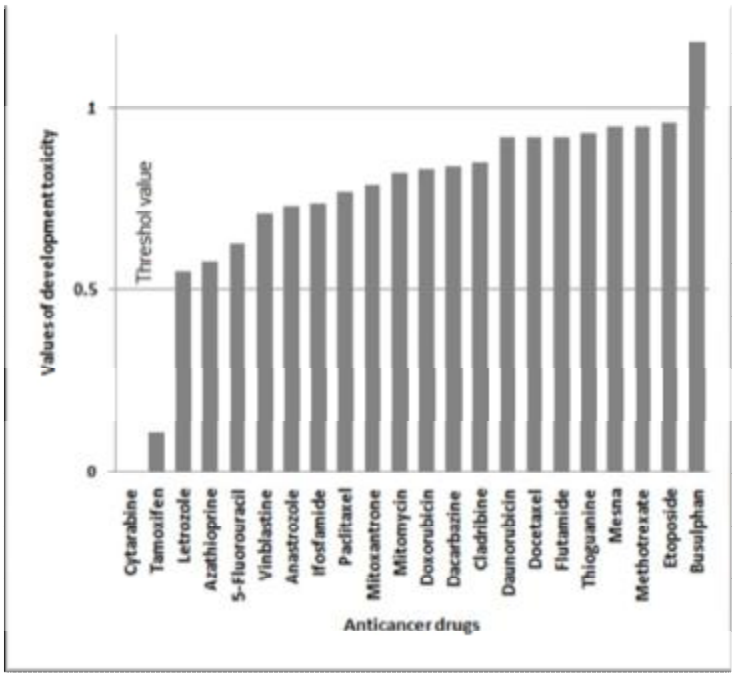
ولدراسة هذه الأدوية من النواحي السلبية مثل السمية الجينية Genotoxicity وغيرها ، استعمل برنامج او Software الذي أطلقته وكالة حماية البيئة الأمريكية (EPA) عام 2012 بالإصدار 4.1 ويرتكز البرنامج على استعمال عدة طرائق والتي تقوم بربط تركيب المادة بالفعالية وإعطاء نتائج محسوبة

Quantitative Structure Activity Relationship (QSAR). وهذه الطرائق هي طرائق رياضية لها نماذجها الحسابية الخاصة التي تستعمل لتحديد السمية وغيرها من الصفات او المواصفات الفيزيائية لتركيب المواد الكيماوية والتي تعرف بالمواصفات الجزيئية Molecular descriptors (11) ولذلك فإن قياس السمية بطريقة QSAR يمكن ان يستعمل لمسح وفحص المركبات غير المفحوصة مسبقاً او التي لم تفحص بعض جوانبها لحد الآن لغرض إعطاء الأولوية للمواد الملائمة للتسويق واختصار الجهد والكلفة والتحذير من المواد الضارة ولذلك كانت طريقة QSAR هي البديل لتحديد السمية مثلاً عندما تكون الفحوص الحيوية Bioassays التقليدية غير ممكنة . وبرنامج T.E.S.T بإصداره الجديد طور ليستعمل طرق مختلفة لتحديد السمية دون الحاجة الى برامج أخرى ، والبرنامج سهل الاستعمال ويوفر طرق من QSAR لعل أفضلها هي الطريقة الموحدة Consensus method التي تمثل معدل نتائج الطرق الأخرى (16) ، وتعد الطريقة موثوق بها لأن الأخطاء يكون قد تم تجاوزها في الطرق الأخرى وتمثل هي الناتج الصافي ، وهو يوفر العديد من طرق تحديد السمية سواء في البيئات المائية وأحيائها او أنظمة اللبائن او الأنظمة البكتيرية فضلاً عن إظهاره العديد من قيم المؤشرات الجزيئية الخاصة بالمركبات .

استخدم في الدراسة الحالية مؤشر التطفير الذي يعتمد على سلالات أيمس ويضم قاعدة بيانات تتجاوز 5743 مركب (17) بعد تشذيب وإزالة العديد من المركبات الكيماوية التي لا تلائم دراسة QSAR ويوفر البرنامج تغطية تتراوح بين (0.99-1.0) وحساسية تصل الى 0.789 وتخصص 0.791 عند استعمال الطريقة الموحدة وهي الأعلى من بين الطرق التي تنضوي تحت البرنامج . وفي حالة عدم توفر البيانات عن المركب قيد الدراسة وحتى عند وجود المركب ضمن قواعد بيانات البرنامج تظهر التراكيب الكيماوية المشابهة مع قيم مدى تشابهها Similarity coefficient لزيادة الثقة فضلاً عن إظهار المجاميع او العناقيد Clusters التي استعملت في تحديد مواصفات المركب وعلاقة قيم االتنبؤ Predicted values والمدى الذي تقع فيه قيم التنبؤ مع القيم التجريبية والقيم الإحصائية لعدم الثقة Uncertainty . والمؤشر الآخر الذي اختير والذي له علاقة بالتداخلات السلبية للأدوية وعلى المدى البعيد هو مؤشر سمية التطور Developmental toxicityوالتي تمثل الآثار الجانبية السلبية ما قبل الولادة وتمتد الى ما بعدها (18) ويعطي البرنامج التفاصيل المذكورة أعلاه. ويوضح الشكل (1) قيم التطفير للأدوية المستعملة ، اما الشكل (2) فيوضح قيم التأثير لفحوص سمية التطور.

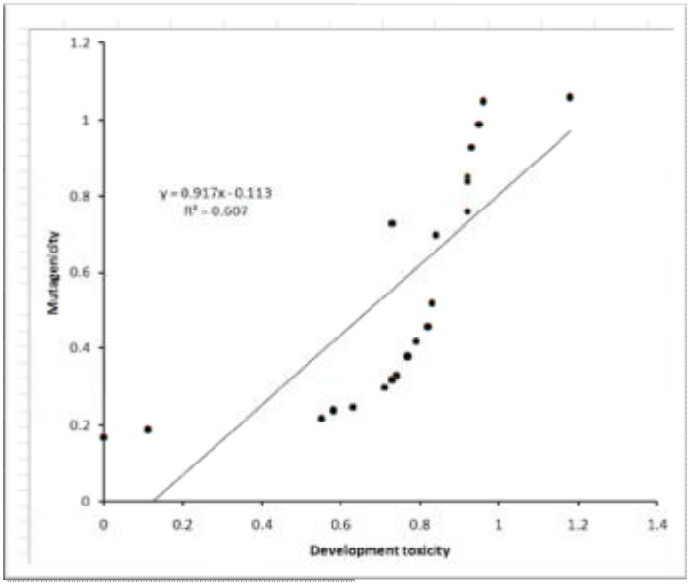


شكل 1 : القابلية التطفيرية للأدوية المضادة للسرطان



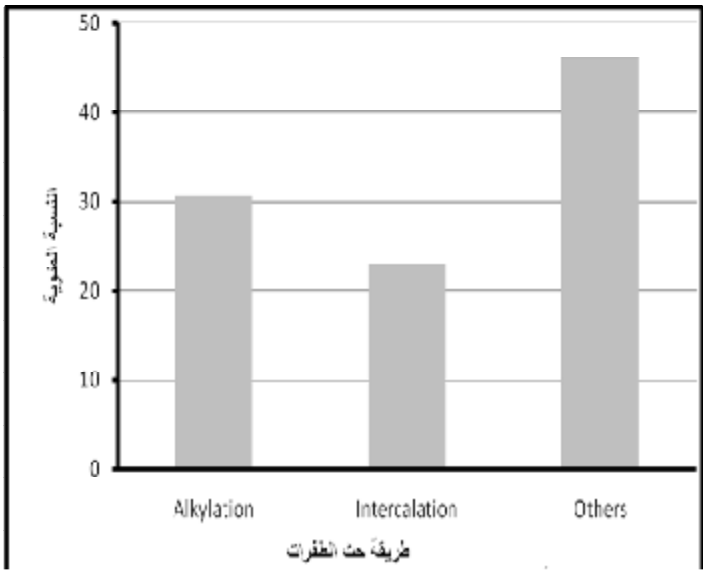
شكل 2 : قابلية الأدوية على حث سمية التطور طويلة الأمد

ويلاحظ من الشكلين ان العديد من الأدوية هي ذات تأثيرات جانبية سلبية من حيث التطفير او سمية التطور حيث تجاوزت القيم المسجلة الحد الحرج او حد العتبة Threshold value (وهي 0.5) . ويوضح الشكل (3) علاقة قابلية التطفير مع سمية التطور للأدوية المذكورة أعلاه.

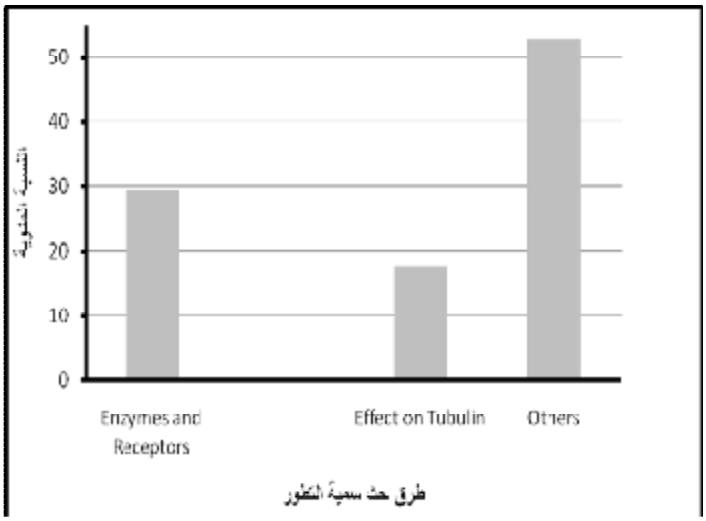


شكل 3 : علاقة قابلية التطفير لأدوية السرطان مع قابلية سمية التطور

ومعظم عمليات التطفير تنحصر في كون المواد المؤثرة هي عوامل الألكلة Alkylating agents التي تؤدي الى تحوير القواعد النيتروجينية في DNA مما يؤدي الى اضطراب عملية التضاعف والاستنساخ Transcription مؤدية الى ظهور الطفرات وتأتي آلية الحشر Intercalation بالدرجة الثانية وفيها تنحشر المواد بين النيوكلوسيدات في الأشرطة المزدوجة للـDNA مما يؤدي الى اضطراب كل من عملية تضاعفه واستنساخه وبالتالي حدوث الطفرات ، اما الآلية الأخرى فهي تتعلق بتثبيط الإنزيمات الرئيسة ذات العلاقة بأشرطة DNA مثل Topoisomerases II وغيرها المشتركة في تضاعف الأشرطة واستنساخها وتؤدي الى تدمير المادة الوراثية (19،1) ويوضح الشكل (4 أ، 4 ب) النسب المئوية للآليات المسجلة لتأثير الأدوية.

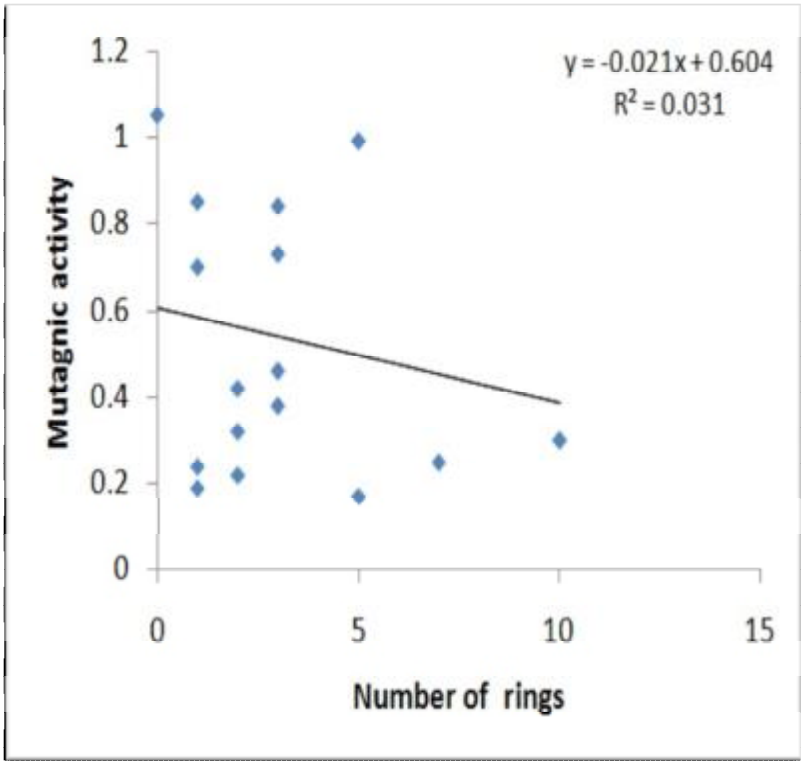


شكل 4 أ: طرق حث الطفرات (Mutagenicity) بواسطة الادوية المضادة للسرطان

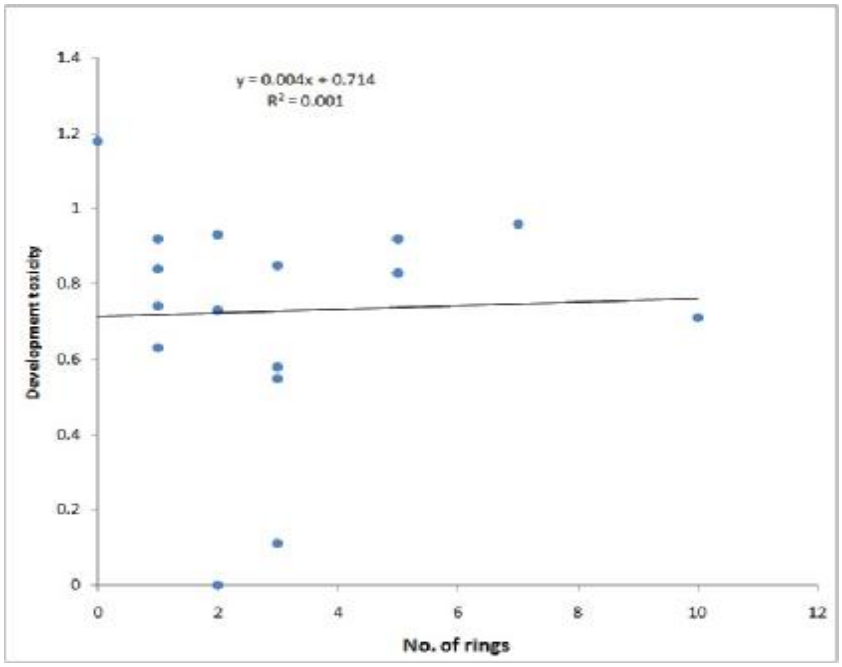


شكل 4 ب: طرق حث سمية التطور (toxicity Developmental) بواسطة الادوية المضادة للسرطان

ويلاحظ من الشكل (4 أ) ان الغالبية العظمى من عمليات التطفير هي مسجلة لعوامل الألكلة **Alkylation** تليها الأدوية او المواد التي تحشر بين قواعد **DNA** (**Intercalating agents**) اما ما تبقى فيعزى الى عدة آليات البعض منها غير معروف وربما كانت بطرق غير مباشرة وذلك بالتأثير في الإنزيمات والمركبات الأخرى غير **DNA**. اما الشكل (4 ب) فيوضح ان سمية التطور التي تظهرها الأدوية كانت بواسطة الأدوية المؤثرة في الإنزيمات والمستلمات وبشكل اقل من الأدوية المؤثرة في **Tubulin** بمختلف وحداته والتي لها تأثيرات مختلفة تؤدي في النهاية الى إعاقة انقسام الخلايا (**20**) .ومما ذكر حول مواصفات الأدوية فان ما يتبادر الى الذهن هو ان عدد الحلقات قد يكون مؤثراً في فعاليات الأدوية لذلك درست العلاقة بين عدد الحلقات للمركبات (اي **Core fragments**) والقابلية التطفيرية وكذلك التأثير في سمية التطور كما موضح في الشكل (5أ ،5ب) على التوالي.



شكل 5 أ : علاقة قابلية التطفير مع عدد الحلقات في جزيئة الدواء



شكل 5 ب : علاقة حث سمية التطور بعدد الحلقات في جزيئة الدواء

ويتضح انه ليس هناك علاقة او قد تكون العلاقة عكسية فقد بلغ معامل الارتباط (r) بالنسبة للتطفير مستويات متدنية (0.176-) وبالنسبة لسمية التطور (0.0316) وهذا يتفق مع مبدأ ان الأدوية يفضل ان تكون حاوية على أنظمة حلقية (11) ولكن يجب الأخذ بنظر الاعتبار نوعية الحلقات. درست علاقة كراهية الماء Hydrophobicity والتي تقاس بـ LogP ، في الحالة العامة ان القابلية التطفيرية تزداد بزيادة كراهية الماء (21) وبالنسبة للأدوية قيد الدراسة لم تكن هناك علاقة او تكاد تكون معدومة وقد يعود ذلك الى ان الأدوية منتخبة لتكون قيم LogP اقل من 5 ما عدا Tamoxifen الذي له قيمة 5.93 والذي اظهر قابلية تطفيرية واضحة . اما علاقة التطفير او سمية التطور مع عدد المعطيات HB donor والمستلمات HB acceptor فلم تكن هناك علاقة وكذا الحال مع عدد الأواصر الحرة Rotatable bonds التي تكون ذات علاقة مباشرة مع الوزن الجزيئي وتمثل مدى مرونة الجزيئات (14 ، 22). وقد أشارت الدراسات والجهات المعنية ان بعض الأدوية تكون مسرطنة وتؤدي الى سرطانات ثانوية مثل Leukemia (1) ولكنها سالبة في فحص ايمس مثل Bleomycin وMethotrexate وغيرها (2) في حين ان البعض تعطي مؤشرات ايجابية في فحص التطفير والتسرطن والتأثير في تطور الكائن كما سبق وان أشير اليه (شكل 1و2) مثل عقار Cyclophosphamide والآخر المشتق منه Ifosphamide (23 ، 24 ، 25) ويعود السبب في هذه التشعبات من التأثير الى ان بعض الأدوية محبطة للجهاز المناعي Immunosuppressor لذلك تظهر حالة التسرطن دون ظهور حالة التطفير وتغير DNA (2).

وقد تكون أجزاء خاصة من الجزيئة Toxicophore او بعض المجاميع الفعالة هي المسؤولة عن حث التطفير وليس الجزيئة كلها لأن هذه الأجزاء هي التي تتداخل مع DNA ومنها الحلقات والأمينات ومجاميع Thiols و Epoxides compounds nitro و Hydroxylamine والكثير غيرها (21 ، 26 ، 27) . ومن جانب ثاني وجد ان بعض القطع في الجزيئة يمكن ان تلغي التأثير المؤذي للتراكيب

الأخرى جاعلة الجزيئة غير مطفرة (26 ، 28) لذلك كان تطوير وإيجاد موديلات In Silico models هي البديل لتحديد قابلية التطفير دون الاعتماد على إجراء الفحوص في الحيوانات وقد زادت هذه باستعمال طرق QSAR كما ذكرنا آنفاً (27).

وبما ان معظم الأدوية تؤثر في الخلايا ذات الانقسام السريع إلا ان هذا لا يلغي تأثيرها في الخلايا العادية ومن هنا جاءت التأثيرات الجانبية فضلاً عن ان بعض الخلايا الطبيعية سريعة الانقسام مثل بعض الخلايا التي تبطن الأمعاء وكذلك الخلايا الجذعية Stem cells في نخاع العظام معرضة للقتل مثل الخلايا السرطانية (1) لذلك فعند تبني استعمال دواء ما او تصميمه يفضل ان يكون بدون قابلية على التطفير لأن هذا سيجنب المرضى ظهور سرطانات مستحثة بهذه الأدوية لدى المرضى الذين يستعملونها.

References

1. Bhattacharya, S., Zhang,Q., Carmichael, P., Boekelheide, K. and Andersen,M.(2011).Toxicity testing in the 21st Century :Defining new risk assessment approaches based on perturbation of intracellular toxicity pathways . *PLoS ONE* , 6 :e20887.
2. Benedict ,W., Baker, M. and Haroun, L. (1977).Mutagenicity of cancer chemotherapeutic agents in the *Salmonella*/microsome test.*Cancer Research*,37:2209-2213.
3. Pounikar , R. and Dawande, A. (2010).Detection of potential carcinogens by Ames test. *Asiatic Journal of Biotechnology Research* , 1:57-64.
4. Lipinski , C., Lombardo, F., Dominy, B. and Feeney, P. (2001). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advances in Drug Delivery Review*,46:3-26.
5. Lipinski , C.(2004).Lead-and drug like compounds: the rule-of-five revolution. *Drug Discovery Today*,1:337-341.
6. Leeson , P. and Springthorpe, B. (2007).The influence of drug-like concepts on decision-making in medicinal chemistry. *National Review of Drug Discovery*, 6:881-890.
7. McCann , J. and Ames, B.(1978).The *Salmonella* / microsome Mutagenicity Test: Predictive Value for Animal Carcinogenicy, *In* "Mutagenesis", W. Flamm and M. Mehlman (Eds.), John Wiley & Sons, New York, London.
8. Demetri , G., Reichardt, P., Kang, Y., Blay, J., Rutkowski, P., and Gelderblom, H. (2013).Efficacy and safety of regorafenib for advanced gastrointestinal stromal tumors after failure of imatinib and sunitinib (GRID): an international , multicenter , randomised , placebo-controlled, phase 3 trial .*The Lancet* , 381:295-302.
9. Rubrichi ,S., Quaglini, S., Spengler, A., Russo, P. and Gallinari,P. (2013).A system for the extraction and representation of summary of product characteristics content. *Artificial Intelligence in Medicine*.57:145-154.
10. Bai ,J. and Abernethy, D.(2013).Systems pharmacology to predict drug toxicity :Integration across levels of biological organization. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 53:451-473.
11. Young , G.(2009).Computational Drug Design. John Wiley& Sons, New Jersey ,USA.
12. Lipinsky ,C., Lombardo, F., Dominy, R. and Feeney, P.(1997).Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advances in Drug Delivery Review*, 23:3-25.
13. Zekeri-Milani , P., Tajerzadeh, H., Islambolchilar, Z., Barzegar, S. and Valizadeh, H.(2006). The relation between molecular properties of drugs and their transport across the intestinal membrane. Drug ,14:164-171.
14. Veber , D., Johnson, S., Cheng, H., Smith, B., Ward, K. and Kopple, K.(2002).Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *Journal of Medicinal Chemistry*, 45:2615-2623.
15. Waterbeemd , H.(2000). Intestinal permeability prediction from theory. *In* "Oral Drug Absorption" Marcel Dekker , New York.
16. Zhu , H., Tropsha, A., Fourches, D., Varnek, A., Papa, E., and Gramatica, P.(2008). Combinational QSAR model of chemical toxicants tested against *Tetrahymena pyriformis. Journal of Chemical Information and Modeling* , 48:766-784.
17. Hansen , K., Mika, S., Schroeter, T., Sutter, A., Terlaak, A., Steger-Hartmann, T.(2009). Benchmark data set for *in Silico* prediction of Ames mutagenicity. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 49:2077-2081.
18. Arena , V., Sussman, N., Mazumdar, S., Yu, S. and Macina, O.(2004). The utility of structure-activity relationship (SAR) models for prediction and covariate selection in developmental toxicity: Comparative analysis of logistic regression and decision tree models . SAR QSAR Environmental Research , 15:1-18.
19. Fortune , J. and Osheroff, N.(2000). Topoisomerase II as a target for anticancer drugs : When enzymes stop being nice. *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology*, 64:221-253.

20. Kavallaris , M.(2010). Microtubules and resistance to tubulin-binding agents. *Nature Reviews Cancer*, 10:194-204.
21. Hakimelahi , G. and Khodarahmi, G.(2005). The identification of toxicophores for the prediction of mutagenicity, hepatotoxicity and cardiotoxicity. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 2:244-267.
22. Jay , A., Walters, W., and Murcko, M.(1998).Can we learn to distinguish between drug-like and non drug-like molecules? *Journal of Medicinal Chemistry* , 41: 3314-3324.
23. Hadidian , Z., Fredrickson, T., Weisburger, E., Weisburger, J., Glass, R. and Mantel, N.(1968). Tests for chemical carcinogens. Report on the activity of derivatives of aromatic amines, nitrosoamines,quinolones,nitroalkanes,amides,epoxides,aziridines and purine antimetabolites. *Journal of National Cancer Institute* , 41:985-1036.
24. Walker , S. and Bole, G.(1973). Augmented incidence of neoplasia in NZB/NZW mice treated with long-term Cyclophosphamide. *Journal of Laboratory Clinical Medicine*, 82:619-629.
25. Herbold , B. and Buseimaier, W.(1978). Induction of point mutations by different chemical mechanisms in the liver microsomal assay. *Mutation Research*, 40:73-84.
26. Blogg , J.(2006). Structure activity relationships for *in vitro* and *in vivo* toxicity. *Annual Review of Medicinal Chemistry* , 41:353-358.
27. Seal , A., Passi, A., Abdul Jaleel, U. and Wild, D.(2012). *In Silico* predictive mutagenicity model generation using supervised learning approaches. *Journal of Cheminformatics*, 4:10-21.
28. Bongsup , P., Beland, F. and Marques, F.(1992). NMR structural studies of a 15-mer DNA sequence from a rasprotooncogene modified at the first base of codon 61 with the carcinogen 4-aminobiphenyl. *Biochemistry*, 31:9587-9602.