

Design of Potential Anti-Leishmanial Pharmacophores via *In Silico* Drug Repurposing

Ahdeno S¹, Razzaghi-Asl N*¹, Mohammadi-ghalehbin B²

1. Department of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran, PO Box: 5618953141

2. Zoonoses Research Center, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

*Corresponding Author. Tel: +984533523833, Fax: +984533522197, E-mail: n.razzaghi@pharmacy.arums.ac.ir

Received: Dec 12, 2021 Accepted: Mar 10, 2021

ABSTRACT

Background & objectives: Drug-repurposing is the study on application of existing drugs for treatment or control of other diseases. Major advantage of the technique relies on a nominated drug molecule that is applied for pharmacodynamics optimization due to lack of serious pharmacokinetics challenges. According to the importance of the subject, a present contribution has been dedicated to the *in-silico* analysis of a few drug classes with the aim of achieving potential anti-leishmanial pharmacophores.

Methods: 3D structure of protein targets within leishmania parasite were retrieved from Brookhaven Protein Data Bank (PDB) on the basis of literature reports to evaluate the related complexes with drugs via molecular docking. Qualitative and quantitative analysis of drug-target interaction patterns in docked complexes offered drugs with higher binding affinities toward targets and finally structural patterns or hypothetical anti-leishmanial pharmacophores were proposed with regard to the top-ranked pharmaceutical compounds.

Results: Highest free binding energy could be estimated for Nateglitinide in binding to farnesyl diphosphate synthase (ΔG_b -13.30 kcal/mol). Among steroids, Norgestrel synthase (ΔG_b -9.48 kcal/mol) and Testosterone synthase (ΔG_b -8.05 kcal/mol) exhibited higher enzyme binding affinities and Arg82 was a key residue in making hydrogen bonds. Within fused tricyclic structural patterns, mirtazapine exhibited highest binding affinity to deoxy uridine triphosphate (ΔG_b -8.64 kcal/mol). In Carbamazepine, amide substituent of the central ring facilitated the formation of two effective hydrogen bonds with Gln21 and Asn25 in deoxy uridine triphosphate.

Conclusion: On the basis of obtained results for steroids and fused tricyclic scaffolds, it will be possible to design molecules that can inhibit several pathogenic targets simultaneously.

Keywords: Drug-Repurposing; Anti-Leishmanial Drug; Adenylyl Phosphoribosyl Transferase; Molecular Docking

طراحی فارماکوفورهای بالقوه ضد لیشمانیا با استفاده از تکنیک محاسباتی کاربری جدید دارو

سنا عهدنو^۱, نیما رزاقی اصل^{۱*}, بهنام محمدی قلعه بین^۲

۱. گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

۲. مرکز تحقیقات زئونوز، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۴۵۳۳۵۲۲۱۹۷ . فاکس: ۰۴۵۳۳۵۲۳۸۴۳۲ . پست الکترونیک: n.razzaghi@pharmacy.arums.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: کاربری جدید دارویی عبارت است از کاربرد برخی از داروها برای درمان یا کنترل علائم بیماری‌های دیگر. مزیت اصلی این تکنیک در انتخاب یک دارو به عنوان ترکیب الگو است که به دلیل عدم وجود مشکلات جدی در فارماکوکینتیک، بهینه سازی فارماکودینامیک را هدف قرار می‌دهد. با عنایت به اهمیت موضوع، پژوهش حاضر به آنالیز مجازی کاربری جدید برخی از دسته‌های دارویی با هدف دستیابی به فارماکوفورهای بالقوه ضد لیشمانیا اختصاص یافته.

روش کار: ساختار سه بعدی تعدادی از گیرنده‌های پروتئینی در انگل لیشمانیا بر اساس گزارشات مقالات معتبر از بانک پروتئینی بروک هاون (PDB) بدست آمدند تا کمپلکس آنها با ساختارهای منتخب دارویی با استفاده از تکنیک داکینگ مولکولی بررسی گردند. آنالیز کیفی و کمی الگوهای برهمکنش در کمپلکس های دارو- گیرنده داک شده، داروهایی که قدرت اتصال بالاتری به گیرنده داشتند را ارائه نمود و در نهایت الگوهای ساختاری یا فارماکوفورهای فرضی ضد لیشمانیا بر اساس ساختارهای دارویی برتر ارائه شدند.

یافته‌ها: بیشترین انرژی آزاد اتصال برای ناتکلینید در اتصال به آنزیم فارنزنیل دی فسفات سینتاز ($\Delta G_b - 13/3 \text{ kcal/mol}$) می‌باشد. در ترکیبات استروئیدی، نورژسترول ($\Delta G_b - 9/48 \text{ kcal/mol}$) و تستوسترون ($\Delta G_b - 8/0.5 \text{ kcal/mol}$) قابلیت اتصال آنزیمی بالاتری نشان دادند و Arg82 نقش مهمی در برقراری پیوندهای هیدروژنی داشت. در الگوی ساختاری حلقه‌ای جوش خورده، میرتاژاپین بیشترین انرژی آزاد در اتصال به آنزیم داکسی اوریدین تری فسفات از خود نشان داد ($\Delta G_b - 8/64 \text{ kcal/mol}$). در کاربامازپین، استخلاف آمیدی در حلقه میانی زمینه را برای برقراری دو برهمکنش هیدروژنی مؤثر با اسیدهای آمینه Asn25 و Gln21 داکسی اوریدین تری فسفات فراهم نموده است.

نتیجه‌گیری: بر اساس آنالیز الگوهای اتصال، در ساختارهای دارویی استروئیدی و سه حلقه‌ای جوش خورده، امکان طراحی مولکول‌هایی که در آنها پتانسیل مهار همزمان چندین گیرنده پاتوژنی وجود داشته باشد، وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: کاربری جدید، داروی ضد لیشمانیا، آدنیلیل فسفوربیوزیل ترانسفراز، داکینگ مولکولی

دريافت: ۱۳۹۹/۹/۲۲ پذيرش: ۱۳۹۹/۱۲/۲۰

داروهای جدید، میزان دستیابی به مولکول‌های دارویی جدید اندک است [۱]. هزینه و مدت زمان بالای تولید دارو باعث کاهش میزان سرمایه‌گذاری در

مقدمه

طراحی و تولید داروهای جدید زمان بر و هزینه بر است و علی‌رغم سرمایه‌گذاری برای تحقیق و تولید

برای درمان لیشمینیا استفاده می‌شود. این دارو از بروز مجدد بیماری پس از درمان به خوبی جلوگیری می‌کند و معمولاً در رژیم درمانی افرادی که همراه لیشمینیا از بیماری دیگری مثل ایدز یا سایر بیماری‌های نقص سیستم ایمنی رنج می‌برند استفاده می‌شود [۱۰]. آمفوتربیسین B نیز یک داروی ضدقارچ است که اکنون به عنوان آنتیلیشمینیا استفاده می‌شود [۱۱]. بنزودیازپین‌ها یک گروه دارویی مؤثر در درمان بی‌خوابی، اختلالات اضطرابی و تشنج می‌باشند که اثرات قابل ملاحظه‌ای علیه *L. mexicana* از خود نشان دادند [۱۲]. کلرپرومازین نیز اثرات قابل توجیه علیه *L. donovani* در تست‌های برونتنی^۴ و درونتنی^۵ از خود نشان داده است [۱۳].

در روش‌های نوبن طراحی دارو، تلفیق روش‌های محاسباتی (مجازی) با تکنیک کاربری جدید دارو امکان بهینه‌سازی و صرفه‌جویی بیشتر در هزینه‌های آزمایشات عملی و همچنین زمان را فراهم می‌سازد [۱۴]. مهم‌ترین تکنیک محاسباتی به کار رفته در این حالت، داکینگ مولکولی^۶ نام دارد که ضمن ارائه الگوی برهم‌کنش دارو با گیرنده هدف مورد نظر، امکان آنالیز کیفی و کمی اتصال دارو در جایگاه اتصال گیرنده ماکرومولکولی را فراهم می‌سازد و بدین ترتیب برای انتخاب مولکول‌هایی بکار می‌رود که حتی الامکان تطابق فضایی و الکترونی (استرئوالکترونیک) مناسب تری با گیرنده هدف داشته باشند [۱۵]. با توجه به موارد ذکر شده کاربری جدید دارو به عنوان یک روش مناسب برای بررسی اثرات جدید داروهایی با فارماکوکینتیک قابل قبول است که هزینه و زمان کمتری را به خود اختصاص می‌دهد. هدف از این پژوهش کاربرد داکینگ مولکولی جهت انتخاب ساختارهای برتر و بهینه‌سازی آنها به منظور پیشنباد فارماکوفورهای جدید با پتانسیل اثر ضد لیشمینیا از

زمینه داروهای جدید شده است و رقابت را بیشتر به سمت تولید داروهای کم‌خطرتر و ایمن‌تر با بازار خرید گسترده‌تر معطوف ساخته است [۲]. مجموعه این عوامل باعث افزایش مطالعات بر روی تکنیکی گردیده است که کاربری جدید دارو^۱ نام دارد. کاربری جدید دارو تحقیق و مطالعه بر روی داروهای موجود با هدف کشف کاربردهای جدید درمانی آنها می‌باشد [۳]. در این روش، ترکیب اولیه مورد بررسی یک دارو است و از آنجایی که اطلاعات مربوط به پروفایل ایمنی و فارماکوکینتیک آن قبلاً به صورت گسترده مطالعه شده و در دسترس است، بسیاری از مراحل اساسی مورد نیاز در بهینه‌سازی و طراحی مولکول دارویی جدید قابل حذف کردن است [۴]. به عنوان مثال دولوکستین که به صورت اولیه برای درمان افسردگی طراحی شده بود اکنون برای رفع تکرر ادرار استفاده می‌شود [۵]. گالاپتین و پره‌گالابیلین که برای جلوگیری از تشنج استفاده می‌شوند و در دسته داروهای ضدصرع قرار داشتند امروزه علاوه بر استفاده در درمان صرع برای تسکین دردهای نوروپاتی نیز تجویز می‌شوند [۶].

مطالعات کاربری جدید دارو در زمینه بیماری‌های مورد غفلت واقع شده گرمسیری^۲ بسیار مناسب است؛ زیرا این نوع بیماری‌ها معمولاً در کشورهای فقیر و در حال توسعه اندمیک هستند و نیاز فوری برای حل این مشکلات در این کشورها وجود دارد [۷،۸]. لیشمینیا^۳ یکی از مهم‌ترین بیماری‌های قرار گرفته در لیست بیماری‌های مورد غفلت واقع شده گرمسیری می‌باشد. اکثر ساکنین این کشورها به بیش از یک پاتوژن آلوده‌اند و این امر به نوبه خود درمان این بیماری‌ها را مشکل‌تر کرده است [۹]. به عنوان مثال از کاربری جدید دارو، پنتمایدین قابل ذکر است که یک داروی آنتی میکروبیال است و

⁴ In vitro

⁵ In vivo

⁶ Molecular Docking

¹ Drug Re-purposing

² Neglected Tropical Diseases (NTD)

³ Leishmania

مولکول‌های دارویی و تارگت‌های پروتئینی منتخب لیشمانیا انجام گردید تا بدین ترتیب داروهایی با قدرت اتصال بیشتر به تارگت پروتئینی مورد نظر انتخاب گردند. در مرحله بعد با استفاده از آنالیز کیفی رابطه ساختار-اتصال ترکیبات دارویی و نقشه‌های اتصال دارو-گیرنده، الگوهای فارماکوفوری احتمالی به منظور اتصال به تارگت‌های منتخب لیشمانیا پیشنهاد گردیدند (شکل ۱).

گیرنده‌های لیشمانیا

انتخاب گیرنده‌های مؤثر باید به نحوی صورت گیرد که اختصاصی پاتوژن هدف بوده و یا اینکه از نظر جایگاه اتصال متفاوت از گیرنده‌های همنام در سلول میزبان باشند. علاوه بر آن گیرنده منتخب باید نقشی مهم در قدرت بیماری‌زایی و یا حیات پاتوژن ایفا کند به نحوی که مهار آن اهمیت قابل توجه در از بین بردن و یا کنترل بیماری ناشی از پاتوژن داشته باشد.

جدول ۱ مشاهده می‌گردد.

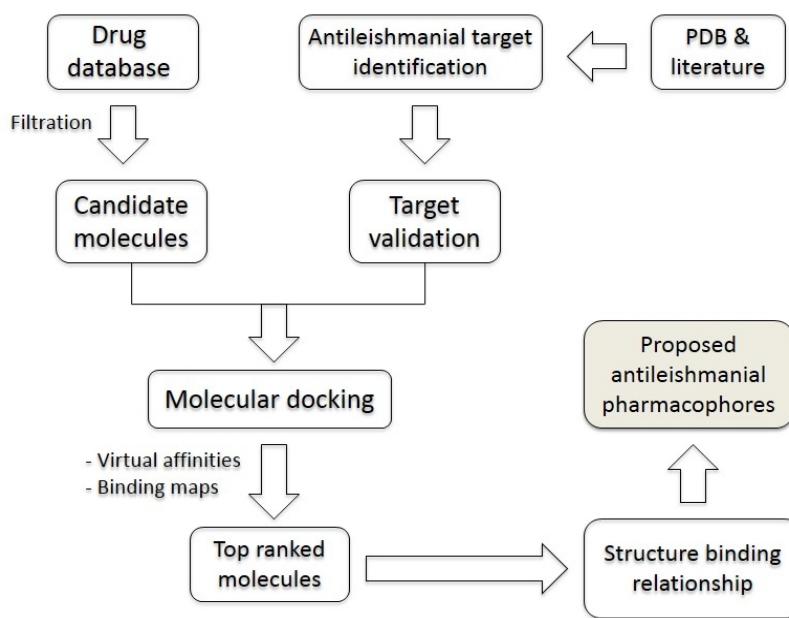
میان گروه‌های دارویی مختلف به عنوان کандیدهای مناسب برای بررسی‌های برونتنی و درونتنی می‌باشد. تارگت‌های آنزمی بکار رفته در این مطالعه عبارتند از تریوز فسفات ایزومراز، فارنزیل دیفسفات سینتاز، آدنیلیل فسفوریبوزیل ترانسферاز، پتریدین ردوکتاز ۱، پروتئین کیناز فعال شده با میتوژن، فروکتوز ۱-او-بیس فسفات آلدولاز و داکسی اوریدین تری فسفات.

روش کار

پس از شناسایی گیرنده‌های پروتئینی مختلف موجود در انگل لیشمانیا با استفاده از بانک پروتئینی بروک‌هاون (PDB^۱) و مقالات معتبر و همچنین انتخاب مولکول‌های کاندید دارویی با اثرات فارماکولوژیک مختلف انتخاب و اعتبارسنجی روش داکینگ مولکولی با استفاده از داکینگ مجدد^۲ لیگاندهای کریستالوگرافی، فرآیند داکینگ

^۱ Protein Data Bank

^۲ Re-docking



شکل ۱. الگوی کلی روش انجام مطالعه

جدول ۱. نام و اهمیت بیولوژیک گیرنده‌های منتخب لیشمانیا در این مطالعه

ردیف	کد PDB	نام گیرنده	اصفهان ایزومراز	اهمیت بیولوژیک	منبع
۱	2VXN	تریوز فسفات ایزومراز	گلیکولیز	[۱۶]	
۲	4JZB	فارنزیل دی فسفات سینتاز	بیوسنتز لیپیدها	[۱۷]	
۳	1QB7	آدنیلیل فسفوربیوزیل تراسفراز	کنترل رشد	[۱۸]	
۴	5L4N	پتربیدین روکتاز ۱	ایجاد مقاومت دارویی	[۱۹]	
۵	3UIB	پروتئین کیناز فعل شده با میتوژن ^۱	پیام رسانی درون سلولی	[۲۰]	
۶	2QDG	فروکتوز ۱۶-بیس فسفات آلدولاز	گلیکولیز و گلوکونئوتراز	[۲۱]	
۷	2YB0	داسکس اوریدین تری فسفات	همانند سازی اسید نوکلئیک	[۲۲]	

^۱ Mitogen-activated protein kinases (MAPK)

الگوریتم پلاک-ریبر^۵ تا دستیابی به گرادیان مجدد میانگین مربعات^۶ ۰/۰۱ کیلو کالری بر مول انجام گردید. بار الکترونیکی گستینگر^۷ (بارهای الکترونیکی اتم که به صورت تجربی محاسبه می‌گردد) و تعداد درجات آزادی زوایای پیچشی^۸ لیگاند نیز توسط نرم افزار اتوداک تولز محاسبه و ذخیره گردیدند. پارامترهای فیزیکوشیمیایی مورد نظر از طریق سامانه تحقیقاتی تحت وب admetSAR محاسبه گردید. لازم به ذکر است بنا بر اصول روش‌های داکینگ مولکولی و لزوم حصول به نتایج صحیح تر، داروهایی که ساختار درشت مولکول دارند مانند انواع آتنی بادی‌ها و انسولین‌ها در مطالعه حاضر وارد نگردیدند.

روش داکینگ مولکولی

محاسبات داکینگ مولکولی با استفاده از نرم افزار اتوداک ۴/۲^۹ انجام گردید [۲۳]. در تحقیق حاضر، بر اساس حجم مولکولی لیگاندهای طراحی شده، شبکه‌ای با ابعاد حداقل $60 \times 60 \times 60 \text{ \AA}^3$ که در بر گیرنده جایگاه فعال گیرنده‌های منتخب باشد با مرکز ثقل لیگاندهای کریستالوگرافی اولیه تعریف گردید. به منظور تعیین میزان اتصال دارو-گیرنده، از الگوریتم ژنتیکی لامارکین^{۱۰} استفاده گردید. تمامی پارامترهای الگوریتم

پیش از آغاز مراحل داکینگ، فایل ماکرومولکول توسط نرم افزار اتوداک تولز^۱ آماده‌سازی گردید [۲۳]. به منظور آماده‌سازی فایل‌های ماکرومولکولی، ساختارهای سه بعدی کریستالوگرافی کمپلکس گیرنده-مهارکننده از بانک داده‌های پروتئین حذف کوفاکتورها و سایر مولکول‌هایی که در جایگاه فعال گیرنده حضور نداشتند، کلیه اتم‌های هیدروژن به ساختار کریستالوگرافی افزوده شده و فرم‌های توتومری آمینو اسیدها نیز تصحیح شدند. در مرحله بعد، توسط نرم افزار اتوداک تولز اتم‌های هیدروژن غیرقطبی^۲ (متصل به اتم‌های کربن) در اتم کربن مربوطه ادغام شده و بار الکترونیکی گلمان^۳ و حلال‌پوشی ماقرومولکول نیز محاسبه و ذخیره گردیدند [۲۳].

مولکول‌های دارویی

در انتخاب داروها سعی گردید تا گروه‌های مختلف دارویی در نظر گرفته شوند (Drugs.com). با وجود فاکتورهای قابل قبول فارماکوکینتیکی، با این حال در انتخاب داروها سعی شد که حتی امکان از قاعده ۵ لیپینسکی^۴ پیروی گردد (جدول ۲). بهینه‌سازی هندسی ساختارها با استفاده از روش نیمه تجربی AM1 در

^۵ Polak-Ribiere Algorithm

^۶ Root Mean Square Gradient

^۷ Gastiger

^۸ Torsional Degree of Freedom

^۹ Autodock 4.2 (<http://autodock.scripps.edu/>)

^{۱۰} Lamarckian Genetic Algorithm (LGA)

^۱ AutoDock Tools

^۲ Non-polar Hydrogens

^۳ Kolmamn Charge

^۴ Lipinski's Rule of 5

متنی اتوداک به الگوی‌های شماتیک برهم‌کنش با استفاده از نرم افزار Ligplot-2012 انجام گردید [۲۴].

ژنتیکی لامارکین بر اساس مقادیر پیش فرض موجود در نرم افزار اتوداک در نظر گرفته شد. در نهایت آنالیز خوش‌های نتایج داکینگ بر اساس انحراف ریشه میانگین مجذور Å^2 انجام شد. تبدیل نهایی داده‌های

جدول ۲. نام و برخی از ویژگی‌های فیزیکوشیمیابی داروهای منتخب

ردیف	نام دارو	وزن مولکولی (گرم/مول)	تعداد دهنه‌های هیدروژن	تعداد گیرنده هیدروژن	لیپوفیلیسیته (ClogP)	پیوندهای قابل چرخش (RTBs)
۱	Captopril	۲۱۷/۲۸	۲	۵	۰/۵۶	۶
۲	Losartan	۴۲۲/۹۱	۲	۶	۴/۲۶	۹
۳	Hydralazine	۱۶/۱۷	۲	۴	۱/۶۸	۴
۴	Diltiazem	۴۱۴/۵۱	-	۷	۳/۴۳	۷
۵	Nifedipine	۳۴۶/۳۳	۱	۵	۳/۳۷	۶
۶	Trimetazidine	۲۶۶/۳۳	۱	۵	۱/۳۸	۱
۷	Milrinone	۲۱۱/۲۱	۱	۳	۱/۶۱	۷
۸	Furosemide	۳۳۰/۷۴	۳	۷	۳/۷۴	۲
۹	Hydrochlorothiazide	۲۹۷/۷۳	۳	۷	۲/۹۷	۴
۱۰	Acetazolamide	۲۲۲/۲۴	۲	۸	۰/۹۹	۴
۱۱	Triamterene	۲۵۵/۲۷	۴	۷	۱/۹۷	۴
۱۲	Spironolactone	۴۱۶/۵۷	-	۵	۴/۸۵	۲
۱۳	Sotalol	۳۰۲/۳۸	۳	۶	۲/۳۴	۷
۱۴	Procainamide	۲۳۵/۳۲	۲	۴	۲/۳۱	۸
۱۵	Lidocaine	۲۳۴/۳۳	۱	۳	۲/۶۵	۶
۱۶	Encainide	۳۵۲/۴۶	۱	۴	۴/۳۷	۷
۱۷	Isosorbide mono nitrate	۱۹۱/۱۳	۱	۳	-۰/۷۵	۳
۱۸	Diphenhydramine	۲۵۵/۳۵	-	۲	۳/۳۵	۶
۱۹	Cimetidine	۲۵۲/۳۳	۳	۶	۱/۳۷	۷
۲۰	Sumatriptan	۲۹۵/۴۰	۲	۴	۲/۷۹	۶
۲۱	Ondansetron	۲۷۹/۳۳	-	۴	۲/۸۲	۴
۲۲	Ergonovine	۳۲۷/۴۲	۳	۴	۱/۹۵	۵
۲۳	Ambrisentan	۳۷۸/۴۲	۱	۶	۳/۵۱	۸
۲۴	Zileuton	۲۳۶/۲۹	۲	۵	۳/۴۳	۵
۲۵	Ibuprofen	۲۰۶/۲۸	۱	۲	۳/-۰۷	۵
۲۶	Aspirin	۱۸۰/۱۵	۱	۴	۱/۳۱	۴
۲۷	Valdecoxib	۳۱۴/۳۵	۱	۵	۴/۷۴	۴
۲۸	Theophylline	۱۸۴/۱۹	۲	۶	-۱/۱۱	.
۲۹	Prednisolone	۳۶۰/۴۴	۳	۵	۱/۰۵	۵
۳۰	Warfarin	۳۰۸/۳۲	۱	۴	۳/۶۰	۵
۳۱	Clopidogrel	۳۲۱/۸۲	-	۴	۳/۶۱	۴
۳۲	Tranexamic acid	۱۵۷/۲۱	۲	۳	۱/۰۳	۴
۳۳	Lovastatin	۴۰۴/۵۳	۱	۵	۴/۱۹	۸
۳۴	Gemfibrozil	۲۵۰/۳۳	۱	۳	۳/۰۷	۷
۳۵	Ezetimibe	۴۰۹/۴۲	۲	۴	۴/۹۵	۸
۳۶	Acetaminophen	۱۵۱/۱۶	۲	۳	۱/۴۲	۳
۳۷	Allopurinol	۱۳۶/۱۱	۲	۴	۰/-۰۵	۱

۸	۳/۲۷	۵	۱	۲۸۵/۳۵	Probenecid	۳۸
۶	۳/۲۶	۷	۱	۳۹۹/۴۳	Colchicine	۳۹
.	۱/۰۸	۲	۱	۱۱۴/۱۶	Methimazole	۴۰
۳	۲/۶۳	۳	.	۲۲۶/۲۷	Metyrapone	۴۱
۵	۱/۸۷	۵	۳	۳۸۰/۴۵	Fludrocortisone	۴۲
۲	۳/۶۱	۲	۲	۲۹۶/۴۰	Ethinyl estradiol	۴۳
۲	۳/۸۸	۲	۱	۳۱۲/۴۴	Norgestrel	۴۴
۳	۲/۶۵	۵	.	۲۸۵/۳۰	Letrozole	۴۵
۱	۴/۲۲	۳	۱	۳۳۷/۴۵	Danazol	۴۶
۱	۳/۸۷	۲	۱	۲۸۸/۴۲	Testosterone	۴۷
۳	۴/۵۳	۴	۲	۳۷۲/۵۴	Finasteride	۴۸
۵	۳/۸۰	۲	۱	۲۷۶/۲۱	Flutamide	۴۹
۴	۰/۲۵	۵	۳	۱۲۹/۱۶	Metformin	۵۰
۸	۳/۶۵	۴	۲	۳۱۷/۴۲	Nateglinide	۵۱
۷	۳/۴۸	۶	۲	۳۵۶/۴۳	Pioglitazone	۵۲
۷	۲/۶۵	۶	۱	۴-۷/۳۱	Sitagliptin	۵۳
۶	-۱/۱۱	۹	۵	۲۷۲/۰۸	Zoledronic acid	۵۴
۱	۳/-۱	۴	.	۳۰-۸/۷۶	Alprazolam	۵۵
۳	۱/۷۱	۶	.	۳۰-۳/۲۸	Flumazenil	۵۶
۲	۰/۶۶	۵	۲	۲۳۲/۲۳	Phenobarbital	۵۷
۴	۳/۲۴	۴	.	۳۰-۷/۳۸	Zolpidem	۵۸
۵	۲/۹۵	۳	۱	۲۵۹/۳۴	Ramelteon	۵۹
۶	۲/-۰۲	۷	.	۳۸۵/۰-	Buspirone	۶۰
۴	۱/۴۶	۵	۲	۳۴۱/۴-	Naltrexone	۶۱
۶	۰/-۸۷	۴	۲	۱۸۱/۲۱	Acamprosate	۶۲
۹	۳/۶۲	۶	.	۲۹۶/۰۳	Disulfiram	۶۳
۱	۰/-۷۷	۳	۱	۱۴۱/۱۶	Ethosuximide	۶۴
۲	۲/۴۲	۴	۲	۲۵۲/۲۶	Phenytoin	۶۵
۵	۲/-۰۷	۳	۲	۱۷۱/۲۳	Gabapentin	۶۶
۲	۴/۱۵	۲	۱	۲۳۶/۲۶	Carbamazepine	۶۷
۳	۲/۳۹	۵	۱	۲۱۲/۲۲	Zonisamide	۶۸
۳	۳/۱۷	۵	۲	۲۵۶-۰-۹	Lamotrigine	۶۹
۴	۰/-۰۱	۴	۱	۱۷۰/-۰-	Levetiracetam	۷۰
۲	۳/۲۸	۲	۱	۲۳۷/۲۲	Ketamine	۷۱
۳	۳/۶۳	۱	۱	۱۷۸/۲۲	Propofol	۷۲
۴	۳/۹۴	۱	.	۲۸-۰/۴-	Imipramine	۷۳
۴	۳/۶۵	۴	۱	۳۲۹/۳۶	Paroxetine	۷۴
۶	۳/-۰۳	۳	۱	۲۷۷/۰/۴-	Venlafaxine	۷۵
۴	۲/۱۸	۱	.	۱۷۸/۰/۲۸	Selegiline	۷۶
.	۲/۴۸	۳	.	۲۷۵/۰/۳۵	Mirtazapine	۷۷
۵	۲/۳۶	۶	.	۲۷۱/۰/۸۶	Trazodone	۷۸
۶	۲/۰۵	۳	۲	۲۱۳/۰/۶۶	Baclofen	۷۹
۴	۲/۰۳	۶	۱	۳۱۴/۰/۲۵	Dantrolene	۸۰
۷	۰/-۷۵	۵	۴	۲۹۷/۰/۱۸	Levodopa	۸۱
۴	۲/۰۵	۴	۲	۲۱۱/۰/۳۲	Pramipexole	۸۲
۵	۳/-۰۶	۳	۲	۲۷۳/۰/۲۴	Tolcapone	۸۳

۷	۴/۳۶	۳	۱	۳۷۵/۸۶	Haloperidol	۸۴
۵	۴/۴۲	۶	-	۴۴۲/۶۲	Thiothixene	۸۵
۱	۲/۸۸	۴	۱	۳۱۲/۴۳	Olanzapine	۸۶
۴	۴/۹۵	۲	-	۳۱۸/۸۶	Chlorpromazine	۸۷
۶	-/۷۳	۷	۱	۳۰۶/۲۷	Fluconazole	۸۸
۱	-/۰۷	۳	۲	۱۲۹/۰۹	Flucytosine	۸۹
۳	۲/۸۱	۶	-	۳۵۲/۷۶	Griseofulvin	۹۰
۳	-/۷۷	۴	۲	۱۳۷/۱۳	Isoniazid	۹۱
۲	-/۲۷	۴	۱	۱۲۳/۱۱	Pyrazinamide	۹۲
۴	-/۵۷	۴	-	۱۹۹/۲۹	Diethylcarbamazine	۹۳
۵	۳/-۰۴	۵	۲	۲۹۵/۲۹	Mebendazole	۹۴
۳	۲/۱۸	۵	-	۲۸۷/۲۹	Nifurtimox	۹۵
۸	۱/۱۷	۴	۳	۱۸۲/۱۶	Eflornithine	۹۶
۸	۳/۹۴	۳	۲	۳۲۹/۹۵	Chloroquine	۹۷
۲	۲/۳۹	۵	-	۲۸۲/۳۳	Artemisinine	۹۸
۵	۴/۷۷	۳	۲	۳۷۸/۳۱	Mefloquine	۹۹
۷	۳/۵۵	۴	۲	۲۵۹/۳۴	Primaquine	۱۰۰
۴	۳/۶۸	۴	۲	۲۴۸/۲۱	Pyrimethamine	۱۰۱
۶	۳/۲۶	۵	۳	۲۵۳/۷۳	Proguanil	۱۰۲
۴	-/۶۱	۳	۱	۱۷۱/۱۵	Metronidazole	۱۰۳
۱	۳/۱۴	۲	۱	۳۹۶/۹۵	Iodoquinol	۱۰۴
۷	۲/۴۲	۷	۲	۲۹۰/۳۱	Trimethoprim	۱۰۵
۴	۱/۹۷	۶	۲	۳۳۱/۳۴	Ciprofloxacin	۱۰۶
۴	۳/۱۰	۶	۲	۲۵۳/۲۷	Sulfamethoxazole	۱۰۷
۵	-۲/۱۴	۹	۵	۳۳۲/۳۴	Spectinomycin	۱۰۸
۶	۴/۸۷	۱	-	۲۹۱/۴۲	Terbinafine	۱۰۹
۹	۱/۸۲	۴	۳	۳۲۳/۱۲	Chloramphenicol	۱۱۰
۵	۱/۶۴	۷	۱	۳۳۷/۳۴	Linezolid	۱۱۱
-	-۰/۷۹	۲	۲	۱۳۰/۰۷	Fluorouracil	۱۱۲
-	۱/-۰۱	۳	۲	۱۵۲/۱۷	Mercaptopurine	۱۱۳
۵	۲/۲۱	۴	۱	۲۶۱/-۰۸	Cyclophosphamide	۱۱۴
۵	۱/۸۴	۸	۲	۳۲۱/۴۴	Topotecan	۱۱۵
۸	۳/۸۶	۵	۳	۳۹۸/۴۷	Sunitinib	۱۱۶
۶	-/-۰۱	۹	۳	۳۳۴/۳۲	Mitomycin	۱۱۷
۹	-/۲۵	۸	۴	۲۹۹/۳۴	Imipenem	۱۱۸
۷	۱/۳۴	۸	۳	۳۴۹/-۰	Ampicillin	۱۱۹
۵	۲/۶۳	۳	۱	۲۶۳/۳۷	Tramadol	۱۲۰
۳	۱/۱۳	۴	۲	۲۸۵/۳۳	Morphine	۱۲۱
۲	۱/۸۷	۴	-	۲۹۹/۳۶	Hydrocodone	۱۲۲
۵	۱/۶۴	۵	۳	۳۵۷/۴۴	Nalbufine	۱۲۳
۲	۲/۴۱	۴	-	۳۱۲/-۰	Praziquantel	۱۲۴
۵	۴/۴۵	۳	۲	۳۳۷/۱۱	Niclosamide	۱۲۵
۵	۲/۱۶	۴	۱	۲۵۷/۴۳	Metrifonate	۱۲۶
۲	۱/۸۶	۳	-	۲۰۶/-۰	Pyrantel Pamoate	۱۲۷
۶	۲/۸۶	۳	۳	۲۷۹/۳۳	Oxamniquine	۱۲۸

یافته‌ها

(جدول ۶). هرچند که بعضی از این برهمکنش‌ها مانند فروکتوز-۱-و-۶-بیس فسفات آلدولاز از جهت انرژی ضعیف بوده و ارزش چندانی ندارد ولی با این همه به دلیل بالاتر بودن از حد آستانه (۷۰٪) در جدول گنجانده شد.

ایزومرهای راست گرد و چپ گرد نورژسترل قوی‌ترین برهمکنش را با آنزیم آدنین‌فسفوربیوزیل‌ترانس‌فراز از خود نشان دادند. نورژسترل یک مخلوط راسمیک است که صرفاً ایزومر چپ گرد آن فعال می‌باشد [۲۵]. هرچند که فرم ایزومر راست گرد این مولکول به دلیل نداشتن فعالیت بیولوژیکی ارزش مطالعه ندارد، به جهت درک بهتر نوع برهمکنش مولکول نورژسترول هر دو فرم آن جداگانه ترسیم شده و مستقل از هم دیگر وارد مطالعات داکینگ گردیده‌اند (جدول ۷).

نتایج اعتبار سنجی اولیه نرم افزار اتوداک برای کمپلکس‌های کربستالوگرافی در جدول ۳ مشاهده می‌گردد.

انرژی اتصال و برهمکنش‌های شیمیایی

به منظور تعیین قدرت و نحوه اتصال داروهای مختلف به آنزیم‌های لیشمانیا، تمامی ساختارهای دارویی مورد مطالعه در جایگاه‌های اتصال آنزیمی داک گردیدند. گستره انرژی آزاد اتصال به اهداف مختلف لیشمانیا در جدول ۴ نشان داده شده اند.

به منظور انتخاب بهترین مولکول‌های دارویی از جهت قدرت اتصال به گیرنده ۷۰ درصد برتر گستره انرژی آزاد برای هر کمپلکس دارو- گیرنده به عنوان حد آستانه در نظر گرفته شد (جدول ۵).

نورژسترل

نورژسترل تنها مولکول دارویی مورد مطالعه بود که با تمامی ۷ گیرنده لیشمانیا برهمکنش نشان داد

جدول ۳. نتایج اعتبار سنجی برای کمپلکس گیرنده‌های لیشمانیا و لیگاندهای کربستالوگرافی

ردیف	PDB کد	خواهش موجود در بهترین کنفرماسیون‌های اجرای الگوریتم	تعداد دفعات اجرای الگوریتم	RMSD (Å)	حد وضوح فایل کربستالوگرافی (Å)	تعداد مکریم تعداد محاسبه انرژی
۱	2VXN	۴۳	۵۰	.۰۵۰	.۰۸۲	۲۵.....
۲	4JZB	۵۰	۵۰	.۰۵۳	۱/۹۰	۲۵.....
۳	1QB7	۴۸	۵۰	.۰۹۹	۱/۵۰	۳.....
۴	5L4N	۵۰	۵۰	.۰۹۸	۲/۳۵	۲۵.....
۵	3UIB	۵۰	۵۰	.۰۸۴	۲/۶۵	۲۵.....
۶	2QDG	۳۱	۵۰	.۱۱۳	۲/۲۰	۲۵.....
۷	2YB0	۴۷	۵۰	.۰۶۷	۲/۲۸	۲۵.....

جدول ۴. گستره انرژی آزاد اتصال در برهمکنش داروها با اهداف پروتئینی لیشمانیا

حد آستانه ^۱ انتخاب	گستره انرژی آزاد اتصال دارو- گیرنده (kcal/mol)	گستره انرژی آزاد اتصال دارو- گیرنده لیشمانیا (kcal/mol)
-۵/۱۰	-۹/۱۹ -۳/۳۶	3UIB
-۵/۴۶	-۹/۴۰ -۳/۷۸	5L4N
-۴/۳۹	-۷/۷۸ -۲/۸۰	2QDG
-۵/۸۴	-۱۰/۱۵ -۴/۰۰	2YB0
-۵/۰۴	-۹/۱۷ -۳/۲۷	2VXN
-۶/۲۹	-۱۳/۳۰ -۳/۷۷	4JZB
-۵/۷۵	-۱۱/۴۳ -۳/۳۲	1QB7

^۱Cut-off Point

جدول ۵. قابلیت اتصال داروهای منتخب به انواع گیرنده‌های پروتئینی مرتبط با لیشمانیا

داروهای با قابلیت اتصال به ۷ گیرنده	داروهای با قابلیت اتصال به ۶ گیرنده	داروهای با قابلیت اتصال به ۵ گیرنده	داروهای با قابلیت اتصال به ۴ گیرنده	داروهای با قابلیت اتصال به ۳ گیرنده
Norgestrel	Testosterone	Valdecoxib	Tranexamic acid	Nilosamide
	Ethinyl estradiol	Danazol	Zonisamide	Imiperamine
	Proguanil	Finasteride	Iodoquinol	Ciprofloxacin
		Carbamazepine	Alprazolam	Spironolactone
		Morphine	Praziquantel	DiethylCarbamazine
		Pyrimethamine	Artemisinine	Flumazenil
		Mirtazapine	Pyrantel pamoate	Pramipexol
		Milrinone	Dantrolene	Baclofen
			Phenytoin	Acetazolamide
			Zolpidem	
			Olanzapine	
			Propofol	
			Triamterene	

جدول ۶. پارامترهای باندینگ محاسبه شده توسط اتوداک در اتصال نورژسترل به اهداف پروتئینی ارگانیسم لیشمانیا

ردیف	گیرنده لیشمانیا	PDB کد	تعداد کنفورماتیون‌های موجود در بهترین خوش	انرژی اتصال (kcal/mol)
۱	1QB7	۴۹	-۹/۴۸	
۲	5L4N	۵۰	-۸/۱۰	
۳	4JZB	۵۰	-۸/۲۶	
۴	3UIB	۴۸	-۸/۰۰	
۵	2YB0	۵۰	-۸/۰۰	
۶	2VXN	۵۰	-۷/۰۰	
۷	2QDG	۵۰	-۶/۹۲	

جدول ۷. مقایسه داده‌های دومولکول لوو-نورژسترل و دکسترونورژسترل در ۵ اجرای الگوریتم ژنتیکی لامارکین

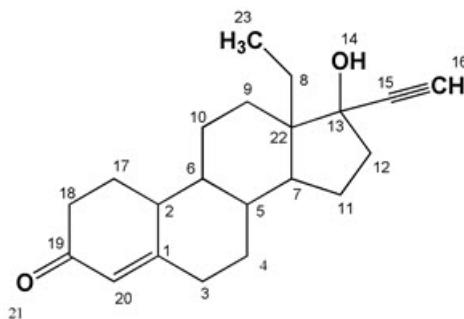
ردیف	فرم دارو	گیرنده لیشمانیا	PDB کد	تعداد کنفورماتیون‌های موجود در بهترین خوش	انرژی اتصال (kcal/mol)
۱	دکسترونورژسترل	2QDG	۵۰	-۶/۹۲	
۲	لونورژسترل	2QDG	۵۰	-۶/۹۹	
۳	دکسترونورژسترل	2VXN	۵۰	-۷/۰۰	
۴	لونورژسترل	2VXN	۵۰	-۷/۱۴	
۵	دک	2YB0	۵۰	-۸/۰۰	
۶	لونورژسترل	2YB0	۵۰	-۷/۸۷	
۷	دکسترونورژسترل	3UIB	۴۸	-۸/۰۰	
۸	لونورژسترل	3UIB	۵۰	-۸/۱۷	
۹	دکسترونورژسترل	4JZB	۵۰	-۸/۲۶	
۱۰	لونورژسترل	4JZB	۵۰	-۸/۱۹	
۱۱	دکسترونورژسترل	5L4N	۵۰	-۸/۱۰	
۱۲	لونورژسترل	5L4N	۴۳	-۸/۰۱	
۱۳	دکسترونورژسترل	1QB7	۴۹	-۹/۴۸	
۱۴	لونورژسترل	1QB7	۴۷	-۸/۲۰	

تستوسترون

جدول ۹ و ۱۰ پارامترهای محاسباتی حاصل شده توسط داکینگ برای اتصال تستوسترون به ۶ هدف پروتئینی مختلف در ارگانیسم لیشمانیا را نشان می‌دهند.

به منظور آگاهی بیشتر از نحوه برهم‌کنش نورژسترول در سایت اتصال اهداف مختلف پروتئینی، مشخصات اسیدهای آمینه برهم‌کنش کننده هیدروفیلی و هیدروفوبی و همچنین طول پیوندهای هیدروژنی در سایت اتصال اهداف پروتئینی لیشمانیا در جدول ۸ آورده شده است.

جدول ۸. مشخصات اسیدهای آمینه برهم‌کنش کننده با نورژسترول در باندینگ سایت اهداف پروتئینی لیشمانیا

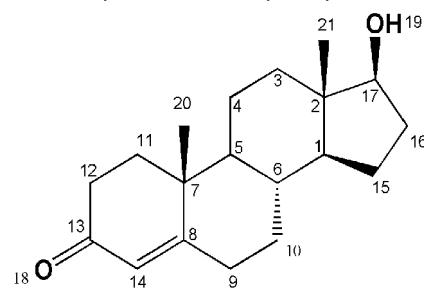


ردیف	کد گیرنده لیشمانیا	اسیدهای آمینه مشارکت کننده در برهمکنش هیدروفوبی	اسیدهای آمینه مشارکت کننده در پیوند هیدروفیلی	طول پیوند هیدروفیلی (Å)	اتم‌های متصل دارو	اتم‌های متصل گیرنده
۱	1QB7	Arg37, Val39, Phe42, Ala43, Val148, Ala150, Leu176, Ile178, Asp206	Arg41, Arg82	۳/۰۵ ۳/۰۷	O21 OH14	N-زنجیر جانبی N-زنجیر جانبی
۲	5L4N	Phe113, Asp181, Leu188, Tyr194, Gly225, Leu226, Leu229, His241	-	-	-	-
۳	4JZB	Phe167, Ile171, Gly172, Ala173, Phe216, Phe266, Leu290, Tyr291	Tyr212	۴/۴۸	OH14	O-زنجیره جانبی
۴	3UIB	Gln21, Asn25, Ile28, Trp32, Arg36, Trp41, Glu48, Phe83, Asn183, Gln187, Tyr198	Arg186	۴/۸۳	OH14	N-زنجیره جانبی
۵	2YB0	Val37, Ala49, Glu78, Leu91, Thr112, Glu113, Leu114, Leu165, Cys175	Met115 Asp176	۴/۸۳ ۳/۰۹	O21 OH14	N-زنجیر اصلی N-زنجیر اصلی
۶	2VXN	Lys13, Glu167, Ile172, Gly173, Gly175, Gly211, Gly212, Ser213, Val214, Leu232, Gly234, Gly235, Ala236	-	-	-	-
۷	2QDG	Asp43, Ser45, Gly47, Ser48, Lys51, Lys116, Leu121, Arg158	Lys156	۴/۸۹	O21	N-زنجیره جانبی

جدول ۹. پارامترهای باندینگ محاسبه شده توسط اتوذاک در اتصال تستوسترون به اهداف پروتئینی ارگانیسم لیشمانيا

ردیف	گیرنده لیشمانيا	کد PDB	تعداد کنفورماسیون‌های موجود در بهترین خوش	انرژی اتصال (kcal/mol)
۱	1QB7	۵۰	-۸/۰۵	
۲	5L4N	۴۱	-۷/۵۷	
۳	4JZB	۵۰	-۷/۷۰	
۴	3UIB	۵۰	-۷/۹۹	
۵	2YB0	۵۰	-۸/۰۴	
۶	2QDG	۵۰	-۶/۰۳	

جدول ۱۰. پارامترهای باندینگ محاسبه شده توسط اتوذاک در اتصال تستوسترون به اهداف پروتئینی ارگانیسم لیشمانيا



ردیف	گیرنده لیشمانيا	کد PDB	اسیدهای آمینه مشارکت کننده در برهمکنش هیدروفوبی		طول پیوند هیدروفوبی (Å)	امنهای متصل دارو	امنهای متصل گیرنده
۱	1QB7	Arg37, Val39, Pro40, Arg41, Phe42, Val148, Ala150, Ile178, Leu181, Asp206	Arg82	Arg82	۳/۱۳ ۳/۲۳	O18	NH زنجیر جانبی NH زنجیر جانبی
۲	5L4N	Phe113, Leu188, Leu226, Ser227, Leu229, His241	Arg17	Arg17	۲/۸۰	OH19	N زنجیره جانبی
۳	4JZB	Phe167, Ile171, Gly172, Ala173, Tyr212, Phe216, Phe219, Phe266, Leu290, Tyr291, Ala293	-	-	-	-	-
۴	3UIB	Val37, Ala49, Lys51, leu91, Leu93, Leu110, Thr112, Glu113, Leu114, Met115, leu165	-	-	-	-	-
۵	2YB0	Gln21, Leu24, Asn25, Ile28, Arg36, Trp41, Asp79, His82, Phe83	Asn183	Asn183	۳/۳۱	O18	N زنجیر اصلی
۶	2VXN	Lys13, Glu167, Ala171, Ile172, Gly173, Gly211, Ser213, Val214, Val223, Leu232, Val233, Gly234, Gly235, Ala236	Gly212	Gly212	۲/۸۶	OH19	N زنجیر اصلی
۷	2QDG	Ala41, Asp43, Glu44, Ser45, Ser48, Arg52, Lys116, Arg158, Ala312, Arg313	Lys239	Lys239	۲/۶۵	O18	NH زنجیره جانبی

اتصال تستوسترون به ۵ هدف پروتئینی مختلف در ارگانیسم لیشمانيا را نشان می‌دهند.

کاربامازپین

جداول ۱۳ و ۱۴ پارامترهای محاسباتی داکینگ برای اتصال تستوسترون به اهداف پروتئینی مختلف در ارگانیسم لیشمانيا را نشان می‌دهند.

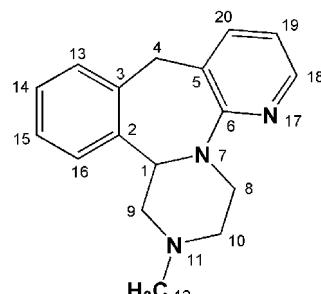
میرتاژاپین

مولکول دارویی دیگری که الگوی اتصال مطلوبی در مطالعات این پژوهه به آنزیم‌های تحت مطالعه از خود نشان داد، میرتاژاپین است. جداول ۱۱ و ۱۲ پارامترهای محاسباتی حاصل شده توسط داکینگ برای

جدول ۱۱. پارامترهای باندینگ محاسبه شده توسط اتوداک در اتصال میرتاژاپین به اهداف پروتئینی ارگانیسم لیشمانيا

ردیف	کد گیرنده لیشمانيا	تعداد کنفورماسیون‌های موجود در پیترین خوش	انرژی اتصال (kcal/mol)
۱	5L4N	۵۰	-۸/۲۴
۲	4JZB	۴۴	-۵/۴۵
۳	3UIB	۵۰	-۶/۷۶
۴	2YB0	۵۰	-۸/۶۴
۵	2VXN	۵۰	-۵/۱۷
۶	2QDG	۵۰	-۴/۷۰

جدول ۱۲. پارامترهای باندینگ محاسبه شده توسط اتوداک در اتصال میرتاژاپین به اهداف پروتئینی ارگانیسم لیشمانيا

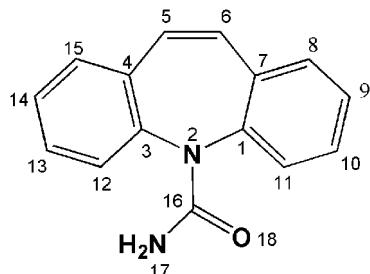


ردیف	کد گیرنده لیشمانيا	اسیدهای آمینه مشارکت کننده در برهمکنش هیدروروفوبی	مشارکت کننده در پیوند هیدروروفوبی	طول پیوند هیدروژنی (Å)	اتمهای متصل دارو	اتمهای متصل گیرنده
۱	5L4N	Ph113, Met183, Leu188, Gly225	Asp181, Tyr194	۳/۰۰	N11 OH N17 OH	Zنجیره جانبی Zنجیره جانبی
۲	3UIB	Ala49, Lys51, Glu78, Leu82, Leu93, Leu110, Val111, Thr112, Leu165, Cys175, Asp176	-	-	-	-
۳	2YB0	Gln21, Asn25, Ile28, Gln48, Asp79, His82, Phe83, Lys179, Asn183, Arg186, Gln187, Tyr191	-	-	-	-
۴	2VXN	Ser213, Val214, Gly234, Gly235, Ala236, Lys239	Gly173	۳/۰۸	N11 OH	Zنجیره جانبی
۵	2QDG	Asp43, Glu44, Ser45, Ser48, Arg52, Lys116, Lys156, Arg158, Arg313, Val366	Lys239	۲/۶۵	O18 NH Zنجیره جانبی	-

جدول ۱۳. پارامترهای باندینگ محاسبه شده توسط اتوداک در اتصال کاربامازپین به اهداف پروتئینی ارگانیسم لیشمانيا

ردیف	کد	گیرنده لیشمانيا	تعداد کنفورماتیون‌های موجود در بهترین خوش	انرژی اتصال (kcal/mol)
۱	1QB7		۵۰	-۶/۳۷
۲	4JZB		۵۰	-۶/۵۰
۳	3UIB		۵۰	-۶/۶۴
۴	2YB0		۵۰	-۶/۷۷
۵	2VXN		۵۰	-۶/۴۹

جدول ۱۴. پارامترهای باندینگ محاسبه شده توسط اتوداک در اتصال کاربامازپین به اهداف پروتئینی ارگانیسم لیشمانيا



ردیف	کد	گیرنده لیشمانيا	اسیدهای آمینه برهمکنش هیدروفوگی	مشارکت کننده در پیوند هیدروفوگی	طول پیوند هیدروفوگی (Å)	اتمهای متصل دارو	اتمهای متصل گیرنده
۱	1QB7		Arg37, Arg82, Asp146, Val148, Leu149, Ala150, Thr151, Gly152, Gly153, Ala155	Glu127, Thr154	۳/۰۲	NH17	O زنجیره جانبی O زنجیره جانبی
۲	3UIB		Tyr34, Ala49, Lys51, Glu78, Leu82, Leu91, Leu110, Val111,	Thr112	۳/۰۲	O18	O زنجیره جانبی
۳	2YB0		Leu24, Ile28, Asp79, His82, Phe83, Leu165, Cys175, Asp176, Asn183	Gln21, Asn25	۲/۸۶	O18	NH زنجیره جانبی O زنجیره جانبی
۴	2VXN		Lys13, Glu167, Ile172, Gly173, Thr174, Gly175, Gly211, Gly212, Ser213, Val214, Leu232, Val233, Gly234, Gly235, Ala236,	-	-	-	-

اتصال به گیرنده با در نظر گرفتن انرژی آزاد اتصال و جمعیت خوش برتر انتخاب گردیدند [۲۶]. قابلیت اتصال بالاتر برخی از لیگاند‌های دارویی به انواع گیرنده‌های منتخب لیشمانيوز، این ساختارها را به عنوان ترکیباتی با پتانسیل مهار کنندگی انواع اهداف انگل لیشمانيا مطرح می‌نماید. در این حالت امکان طراحی مطالعات برونتی و دروننتی بر روی

بحث

کنفورماتیون‌های داکشده مولکول‌های دارویی بر حسب میزان انرژی آزاد اتصال (ΔG_b) امتیازدهی^۱ و خوشبندی^۲ شدند. در پروژه حاضر برای هر هدف پروتئینی، بهترین مولکول‌های دارویی از نظر قدرت

¹ Scoring

² Clustering

ساختارهای حلقه‌ای استروئیدی مشابه این دو دارو را در مهار بازیافت پورین توسط پاتوژن نشان می‌دهد و همان طور که در نقشه‌های اتصال مشخص است در گیربودن هر چهار حلقه استروئیدی را در برهم‌کنش‌های هیدروفوب در جایگاه اتصال آدنین فسفو ریبوزیل ترانسفراز نشان می‌دهد.

بر خلاف میرتازاپین که با ۵ گیرنده مختلف انگل لیشمانیا برهم‌کنش داشته است، فلومازنیل و ایمی‌برامین ضعیفترین برهم‌کنش‌ها را از خود نشان داده‌اند. قوی‌ترین برهم‌کنش میرتازاپین با جایگاه اتصال داکسی اوریدین تری فسفات ثبت گردید اتصال داکسی اوریدین تری فسفات با اندیل (ΔG_b-۸/۶۴ kcal/mol) که پتانسیل آن را برای مهار مسیر همانندسازی اسیدهای نوکلئیک در پاتوژن آشکار می‌سازد.

رابطه ساختار- اتصال^۱

نورژسترول

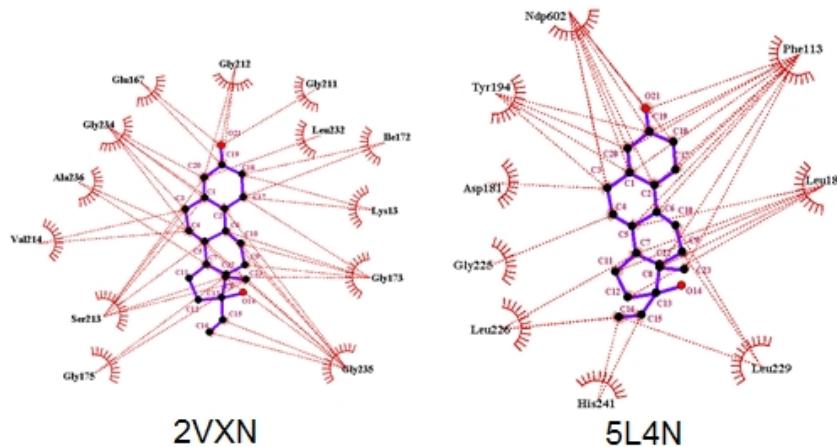
بر اساس آنالیز نقشه‌های اتصال دارو- پروتئین به نظر می‌رسد اتم اکسیژن شماره ۱۴ در گروه هیدروکسیل (حلقه D استروئیدی) و اتم اکسیژن شماره ۲۱ (حلقه A استروئیدی) مولکول نورژسترول نقش بسیار مهمی در برقراری پیوندهای هیدروژنی با اهداف پروتئینی لیشمانیایی داشته باشند. در جایگاه‌های اتصال آدنیل فسفو ریبوزیل ترانسفراز (1QB7) و داکسی اوریدین تری فسفات (2YB0) هر دو اتم مذکور در پیوندهای هیدروژنی در گیر هستند (مراجعه به جدول ۷). ماهیت هیدروفوبی برهم‌کنش‌های نورژسترول در جایگاه اتصال تریوز فسفات ایزومراز (2VXN) و پتريیدین ردوكتساز ۱ (5L4N) امکان طراحی مولکول‌های آنتاگونیست آنزیم با این پایه ساختاری را مطرح می‌سازد (شکل ۲).

داروهای برتر و یا مشتقات آنها با هدف کاربری جدید و یا توسعه داروهای مؤثر در درمان لیشمانیوز وجود خواهد داشت. طبق نتایج حاصل از داکینگ مولکولی، نورژسترول، قابلیت اتصال بالایی به ۷ گیرنده پروتئینی لیشمانیا را از خود نشان داده است و بنابراین می‌تواند الگوی ساختاری مناسبی برای توسعه عوامل مهار کننده ضدلیشمانیا باشد. توجه به این نکته مهم است که از نظر فارماکودینامیک به دلیل احتمال اتصال به گیرنده‌های مختلف لیشمانیایی، می‌توان شرایطی را تصور نمود که مهار همزمان برخی از گیرنده‌های دخیل در مسیرهای متابولیسم انرژی، گلیکولیز، همانند سازی ژنتیکی و یا بازیافت نوکلوتیدها بتواند نقش مهمی در مبارزه با انگل داشته و پتانسیل مولکول‌های دارویی مذکور را در مقابله با انگل لیشمانیا به طور قابل توجهی افزایش دهد و امکان طراحی مولکول‌هایی که در آنها پتانسیل مهار همزمان چندین گیرنده پاتوژنی وجود داشته باشد، فراهم خواهد بود.

محاسبات داکینگ مولکولی نشان داد که نورژسترول بالاترین تمایل اتصال را به آدنین فسفو ریبوزیل ترانسفراز (1QB7) دارد. مقایسه داده‌های بدست آمده از اتصال ایزومرهای نوری مختلف نورژسترول (جدول ۶) نشان داد که تفاوت معناداری میان دو ایزومر نورژسترول، از نظر قدرت اتصال به انواع گیرنده‌ها وجود ندارد. در ۴ مورد از ۷ گیرنده پروتئینی، فرم راست گرد نتایج بهتری نسبت به فرم دیگر نشان داده است. این در حالی است که در ۳ مورد دیگر فرم لوو- نورژسترول یا چپ گرد عملکرد بهتری داشته است. هر چند به جز در مورد آدنیل فسفو ریبوزیل ترانسفراز، این تفاوت‌ها جزئی بوده و قابل چشم‌پوشی است.

قدرت اتصال تستوسترون به آدنین فسفو ریبوزیل ترانسفراز مانند نورژسترول بالاتر از سایر موارد است (ΔG_b-۸/۰۵ kcal/mol). این مسئله پتانسیل

^۱ Structure Binding Relationship



شکل ۲. الگوی برهمکنش هیدروفوبي نورُسترن با جايگاه اتصال 2VXN: تريوز فسفات ايزومراز و 5L4N: پتريدين ردوكتاز ۱

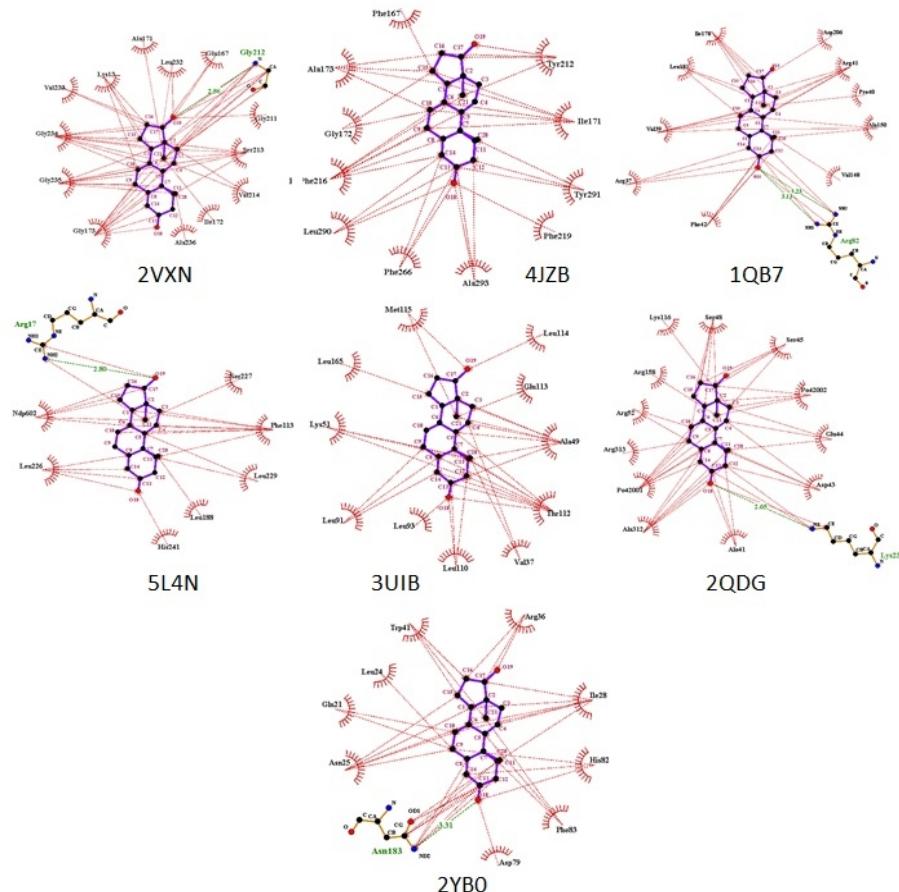
قوی‌تر بودن قدرت اتصال تستوسترون نسبت به سایر لیگاندها باشد ($\Delta G_b = -0.5 \text{ kcal/mol}$). اتم اکسیژن موقعیت ۱۹ تستوسترون نیز با اتم نیتروژن مربوط به گروه آمینی زنجیر اصلی^۲ در تريوز فسفات ايزومراز و همچنین گروه آمینی زنجیر جانبی در پتريدين ردوكتاز ۱ پيوند هیدروژنی برقرار کرده است. ماهیت هیدروفوبي برهمکنش‌ها در جايگاه اتصال فارنزیل دی فسفات سینتاز و پروتئین کیناز فعال شده با میتوژن، ساختار تستوسترون را به عنوان گزینه‌ای مناسب در طراحی آنتاگونیست مطرح می‌سازد (شکل ۳).

² Backbone

تستوسترون

اتم‌های اکسیژن شماره ۱۸ و ۱۹ تستوسترون پيوندهای هیدروژنی مهمی تشکيل داده‌اند. اتم اکسیژن در موقعیت ۱۸ با اتم‌های نیتروژن گروه‌های آمینی آدنیلیل فسفوریبوزیل ترانسفراز، داکسی اوریدین تری فسفات و فروکتوز ۱و۶- بیس فسفات آلدولاز (2YBO.1QB7 و 2QDG) پيوند هیدروژنی تشکيل داده است. در ضمن اتم اکسیژن موقعیت ۱۸ دو پيوند هیدروژنی متفاوت با گروه NH_2 مربوط به زنجیره جانبی^۱ Arg82 در آدنیلیل فسفوریبوزیل ترانسفراز برقرار کرده است که شاید دلیلی بر

¹ Side Chain



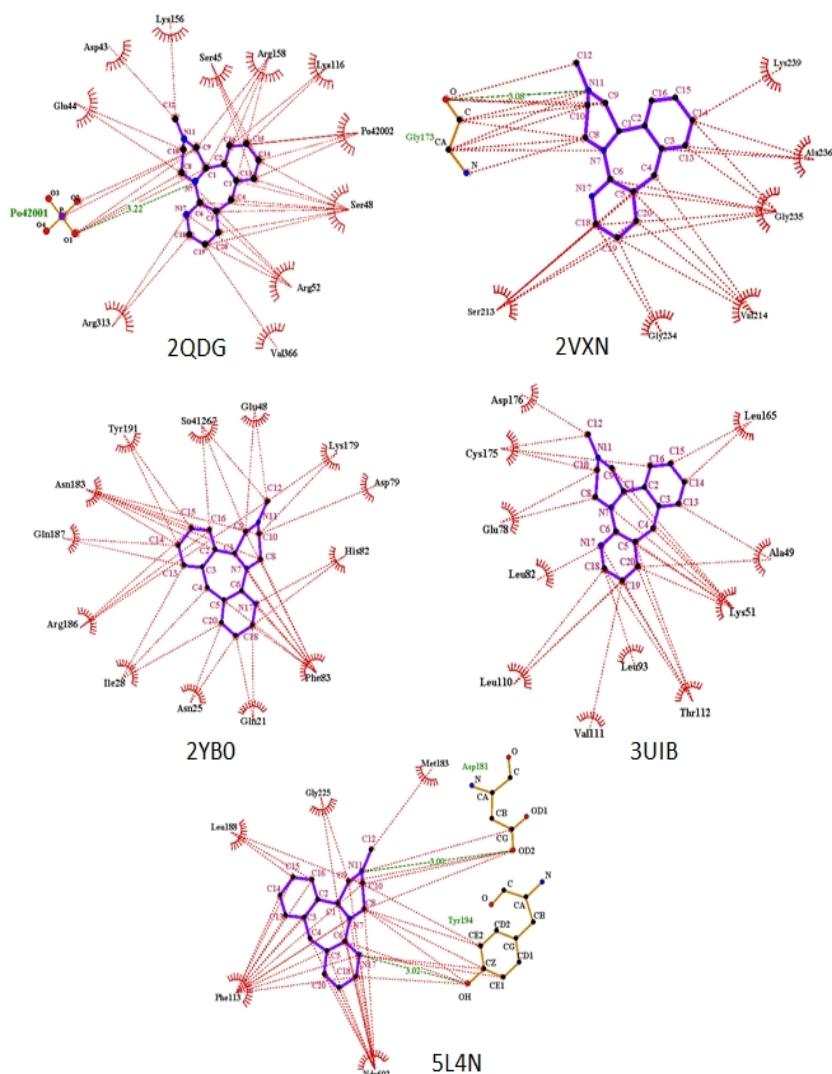
شکل ۳. الگوی برهمکنش تستوسترون با جایگاه اتصال گیرنده‌های بیولوژیک لیشمانیا: 2VXN: تریوز فسفات ایزومرازن، 4JZB: فارنزیل دی فسفات سینتاز، 1QB7: آدنیلیل فسفوریبوزیل ترانسفراز، 5L4N: ۵پتیدین ردوکتاز، 3UIB: پروتئین کیناز فعل شده با میتوژن، 2QDG: فروکتوز ۱-او-۴-بیس فسفات آلدولاز، 2: داکسی اوریدین تری فسفات

پیوندهای هیدروژنی با برخی از آنزیم‌های تحت مطالعه دارد و اتم N11 نقش مهم‌تری نسبت به اتم نیتروژن داخلی حلقه پی پرازین (N7) در اتصال به آنزیم‌ها دارد که این مسئله را شاید بتوان با موقعیت فضایی کم ازدحام‌تر N11 نسبت به N7 مرتبط دانست.

میرتازایین

بیشترین انرژی آزاد میرتازایین در اتصال به آنزیم داکسی اوریدین تری فسفات (2YB0) ثبت شده است ($\Delta G_b = -8.64 \text{ kcal/mol}$). به دلیل برهمکنش‌های هیدروفوبي، طراحی آنتاگونیست‌های داکسی اوریدین تری فسفات قابل توجه است (شکل ۴). اتم نیتروژن واجد متیل (N11) در حلقه پی پرازین^۱ میرتازایین

¹ Piperazine



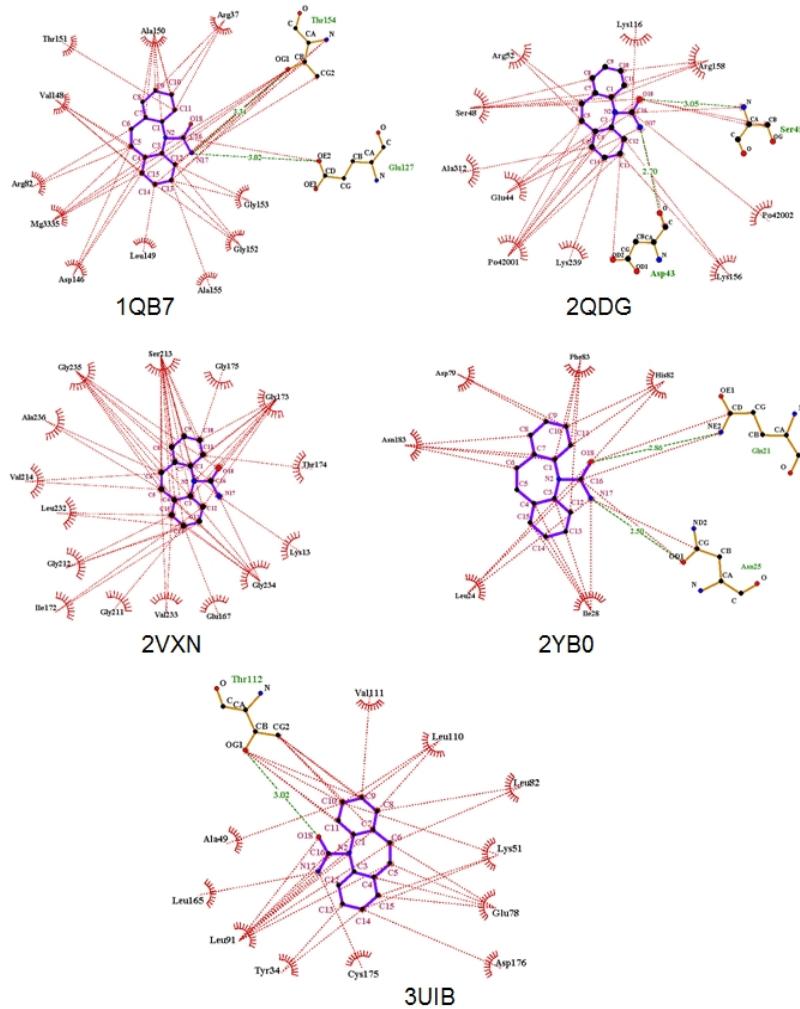
برهمکنش هیدروژنی مؤثر با اسیدهای آمینه Gln21 و Asn25 فراهم نموده است در حالی که در میرتازاپین وجود حلقه پی پرازین زمینه را برای برهمکنش با تعداد بیشتری اسید آمینه هیدروفوب مهیا کرده است. بدین ترتیب شاید یکی از دلایل کاهش انرژی آزاد اتصال در کاربامازپین را علاوه بر جیت گیری پیوندهای هیدروژنی بتوان به کاهش قابل توجه برهمکنش‌های هیدروفوبی مرتبط دانست. نکته قابل توجه دیگر در مورد کاربامازپین این است که در اتصال به تریوز فسفات این و مر az (2VXN)،

کاربامازپین

طبق نتایج بدست آمده در این پژوهه، کاربامازپین نیز همانند میرتازاپین بیشترین انرژی آزاد را در اتصال به آنزیم داکسی اوریدین تری فسفات (YB₂O) از خود نشان داد ($\Delta G_b = -677 \text{ kcal/mol}$) هر چند که در این حالت، قدرت اتصال به اندازه میرتازاپین ($\Delta G_b = -84 \text{ kcal/mol}$) نبود. بررسی الگوهای اتصال آنزیمی دو دارو (شکل ۵) نشان داد که در کاربامازپین با وجود هسته اصلی ساختاری مشابه میرتازاپین، استخلاف آمیدی در حلقه میانی زمینه را برای برقراری دو

پرامین قابل ذکر است عدم وجود پیوند دوگانه در حلقه هفت ضلعی میانی ایمی پرامین است که برهم-کنش‌های هیدروفوگی مهمی را با Val214, Val214, Gly235 و Ala236 در کاربامازپین برقرار نموده است. بر اساس نقشه‌های اتصال دارو-پروتئین، در وضعیت مشابه میرتاژاپین، اتم نیتروژن داخلی کاربامازپین (N2) مشارکتی در برقراری پیوندهای هیدروژنی با جایگاه اتصال آنزیم‌های تحت مطالعه از خود نشان نداده است.

گروه آمیدی در تشکیل پیوند هیدروژنی مشارکت نداشته است ولی برهمکنش واندوالس با Lys13, Gly235, Gly173 و Gly235 مقایسه با قدرت اتصال کمتر ساختار مشابه ایمی پرامین واجد استخلاف آکلیلی هیدروفوگی در موقعیت مشابه با داکسی اوریدین تری فسفات (4 kcal/mol < ΔG_b)، می‌توان به اهمیت وجود استخلاف حاوی اتم‌های دهندۀ و گیرنده هیدروژن در سایت برهم-کنش مذکور بی‌برد. البته نکته دیگری که در مقایسه الگو و قدرت اتصال دو داروی کاربامازپین و ایمی

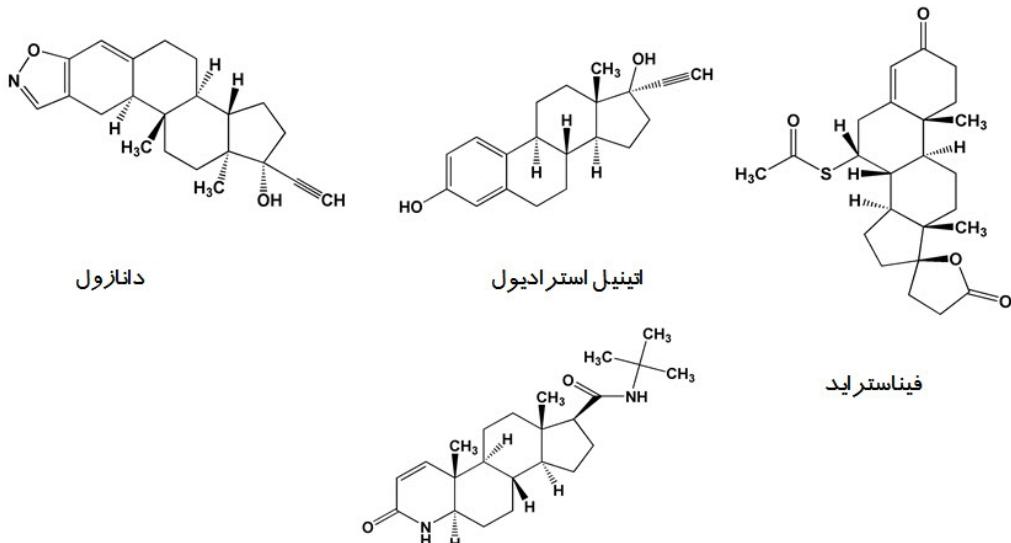


دانازول، فیناستراید و اسپیرونولاکتون (شکل ۶) در یک دسته ساختاری واقع‌اند هرچند از جهت طبقه بندی فارماکولوژی در گروه‌های مختلف دارویی قرار گرفته‌اند.

فارماکوفورهای پیشنهادی ضد لیشمانيا

ترکیبات با هسته استروئیدی

آنچه در نگاه اول به چشم می‌خورد، وجود تعداد زیادی مولکول دارویی با ساختار استروئیدی در جدول ۴ می‌باشد. تستوسترون، نورژسترون، اتینیل استرادیول،



اسپیرونولاکتون

شکل ۶. ساختار شیمیایی تعدادی از مشتقات دارویی استروئیدی

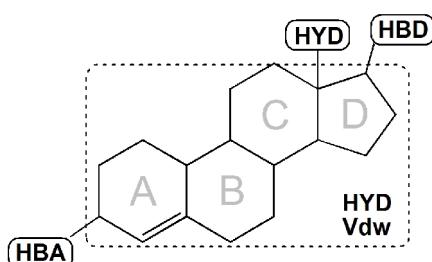
این عامل را به افزایش دافعه فضایی^۱ این مولکول‌ها در جایگاه اتصال آنزیم‌های فوق نسبت داد. وجود گروه هیدروکسیل در موقعیت ۱۷ حلقه D استروئیدی بهترین نتیجه را به دنبال دارد. به طوری که جایگزین کردن این موقعیت با استخلاف‌های آمیدی مانند مولکول دارویی فیناستراید باعث کاهش قدرت اتصال می‌شود و از این رو وجود یک گروه دهنده پیوند هیدروژنی^۲ با اتصال مستقیم به حلقة نسبت به یک گروه گیرنده پیوند هیدروژنی^۳ ارجح خواهد بود. البته در مورد فیناستراید حذف استخلاف هیدروفوب در موقعیت یکسان حلقة D استروئیدی نیز می‌تواند یک عامل دیگر تضعیف کننده قدرت اتصال باشد.

نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهند که شاید بهترین ساختار از نظر قدرت اتصال به گیرنده‌های مورد مطالعه لیشمانيا و به ویژه آدنین فسفو ریبوزیل ترانسفراز، هسته استروئیدی باشد. این مسئله پتانسیل حلقه استروئیدی را در مهار بازیافت پورین توسط ارگانیسم لیشمانيا مورد تأکید قرار می‌دهد. بررسی‌های دقیق‌تر نشان‌دهنده این بودند که افزودن هرگونه حلقه اضافی از هر سمت به ساختار ۴ حلقه‌ای استروئیدی (دانازول و اسپیرونولاکتون) باعث کاهش انرژی آزاد در اتصال به آنزیم‌های لیشمانيایی مورد نظر می‌شود به نحوی که اضافه‌شدن یک حلقه ۵ ضلعی به ساختار ۴ حلقه‌ای در مولکول دارویی دانازول و اسپیرونولاکتون باعث گردیده است تا این دو مولکول به ترتیب ضعیفترین برهمکنش‌ها را با گیرنده‌های انگل لیشمانيا داشته باشند که شاید بتوان

¹ Steric Hindrance

² Hydrogen Bond Donor (HBD)

³ Hydrogen Bond Acceptor (HBA)



شکل ۷. ساختار شیمیایی فارماکوفور فرضی استروئیدی ضد لیشمانیا

ترکیبات سه حلقه‌ای جوش خورده^۱

در ستون‌های سوم، چهارم و پنجم جدول ۴ تعداد زیادی از مولکول‌های دارویی مؤثر بر سیستم عصبی مرکزی شامل ضد افسردگی‌های سه حلقه‌ای، عوامل ضد تشنج و داروهای موثر جیت پیشگیری و درمان صرع مشاهده می‌گردد. آنچه که تمامی این داروها در آن مشترک هستند وجود یک هسته اصلی شیمیایی سه حلقه‌ای جوش خورده است. ساختار ۳ حلقه‌ای متصل به هم طیف وسیعی از دستجات دارویی را شامل می‌شود.

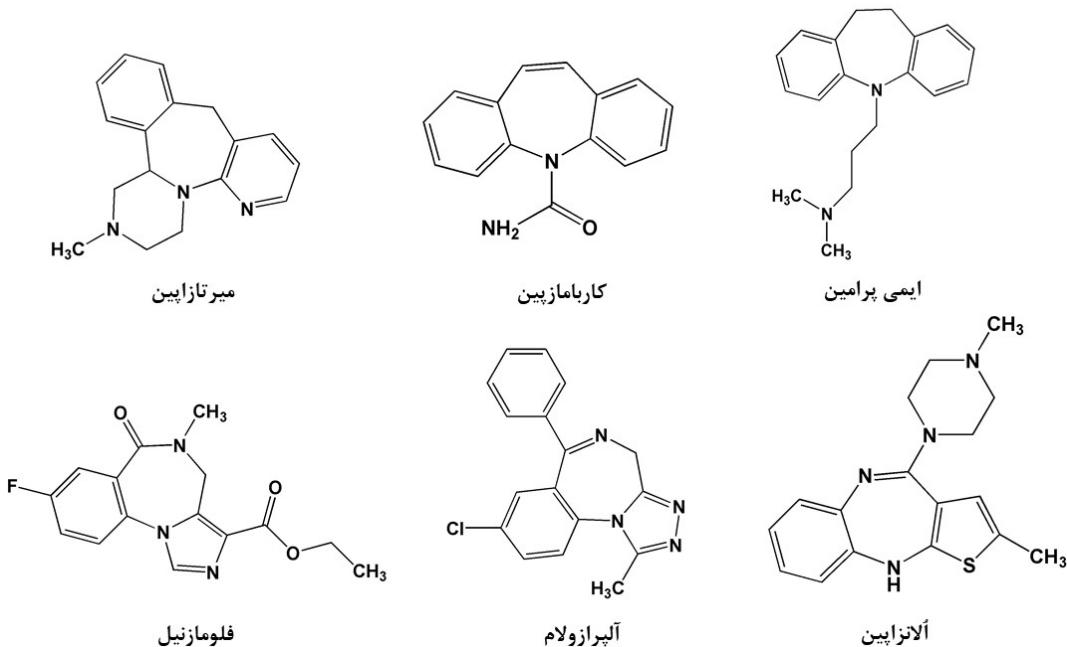
الگوی ساختاری ۳ حلقه‌ای جوش خورده می‌تواند با برخی از آنزیم‌های منتخب لیشمانیا و به ویژه پروتئین کیناز فعال شده با میتوژن (3UIB) و پتربیدین (RDO-KTاز ۱) اتصال قابل قبولی برقرار نماید. نتایج داکینگ مولکولی نشان دادند که در ترکیبات تحت مطالعه، کیفیت اتصال تابع الگوی جوش خورده‌گی نیز می‌باشد (شکل ۹). همانند آنچه که در ساختار میرتاژاپین و کاربامازپین (شکل ۸) قابل مشاهده است، علاوه بر الگوی اتصال، جایگزین کردن یکی از حلقه‌های شش ضلعی مجاور با یک حلقه پنج ضلعی همانند آپرازولام (شکل ۸) و فلومازنیل (شکل ۸) نیز باعث کاهش قدرت اتصال می‌شود.

بررسی بیشتر الگوهای اتصال دارو-پروتئین نشان داد که در مورد حلقه A وضعیت بالعکس بوده و وجود گروه کربونیل متصل به ساختار چهار حلقه‌ای، مشابه ساختار تستوسترون و نورژسترول، باعث بهبود قدرت اتصال مولکول دارویی به گیرنده‌های لیشمانیا می‌شود. هر سه مولکول دارویی نورژسترول، تستوسترون و فیناستراید که به ترتیب بهترین الگوی برهمکنش را با گیرنده‌های لیشمانیا داشته‌اند، حاوی یک گروه کربونیل در حلقه A خود هستند و در واقع بررسی‌های بیشتر نشان داد که تغییر گروه کربونیل به گروه هیدروکسیل همانند اتینیل استرادیول باعث کاهش قدرت اتصال داروها شده است و لذا وجود گروه گیرنده هیدروژن بر روی حلقه A شرایط بینه‌تری ایجاد می‌نماید (شکل ۷).

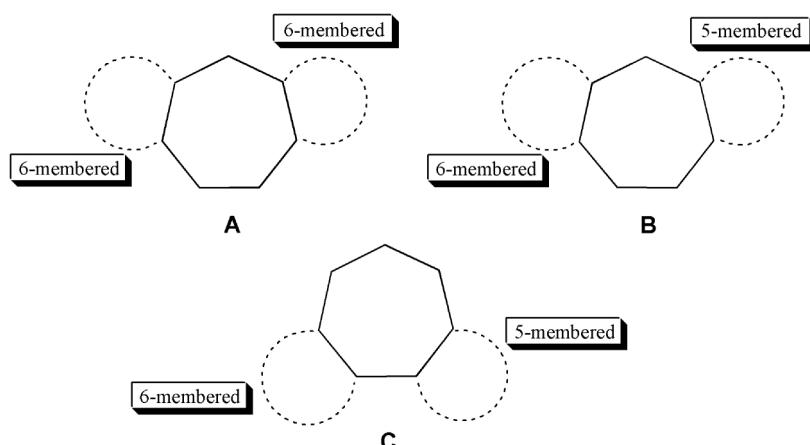
آنالیز نتایج داکینگ مولکولی نشان داد که وجود یک گروه با توانایی برقراری برهمکنش هیدروفوب مانند گروه متیل یا اتیل در محل اتصال حلقه‌های C و D به طور کلی باعث افزایش قدرت باندینگ به گیرنده‌های انگل لیشمانیوز می‌شود. مولکول دارویی نورژسترول حاوی یک گروه اتیل و مولکول‌های دارویی تستوسترون، فیناستراید و اتینیل استرادیول که حاوی گروه متیل در این موقعیت هستند، به ترتیب قوی ترین و بیشترین تعداد برهمکنش‌ها را با گیرنده‌های تحت مطالعه داشته‌اند. تعداد برهمکنش‌های هیدروفوب گروه متیل به ویژه در آنزیم تریبوز فسفات ایزومراز (2VXN) حائز اهمیت بیشتری است. حذف این گروه همانند آنچه در دانازول و اسپیرونولاکتون قابل مشاهده است، باعث کاهش تعداد و قدرت برهمکنش‌های شیمیایی می‌شود.

با استناد به موارد ذکر شده و همچنین با توجه به نحوه برهمکنش مولکول‌های دارویی فوق، ساختار زیر به عنوان فارماکوفور فرضی با خاصیت ضد لیشمانیا به عنوان پیشنهاد جزئیات بیشتر ساختاری دقیق‌تر امکان پیشنهاد جزئیات بیشتر ساختاری امکان‌پذیر خواهد بود.

¹ Fused Tricyclic



شکل ۸. ساختار شیمیایی تعدادی از مشتقات دارویی سه حلقه‌ای



شکل ۹. الگوی جوش خوردگی حلقه‌ها در تعدادی از مشتقات دارویی سه حلقه‌ای. بر اساس نتایج به دست آمده از روش داکینگ مولکولی، الگوهای ساختاری فوق بر حسب قدرت اتصال محاسبه شده به پروتئین کیناز فعل شده با میتوژن (3UIB) و پتریدین ردوكاتاز 1 (5L4N) به ترتیب زیر می‌باشند: A>B>C

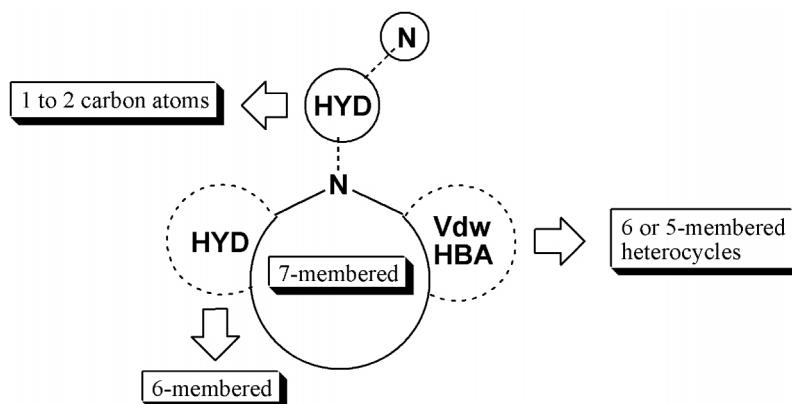
نیز می‌تواند باعث افزایش قدرت اتصال شود. در حالی که حضور یک گروه الکترون کشندۀ همانند فلوئور در این موقعیت در مولکول فلومازنیل باعث تضعیف قدرت اتصال این مولکول گردیده است به طوری که این مولکول دارویی ضعیفترین و کمترین تعداد برهمکنش‌ها را با آنزیم‌های لیشمایانی

با مقایسه دقیق‌تر نتایج می‌توان اظهار کرد که داشتن گروه آمینی به فاصله ۱ یا ۲ اتم کربن در زنجیره جانبی متصل به حلقه میانی، می‌تواند در افزایش قدرت اتصال ترکیبات موثر باشد. وجود یک اتم الکترون‌دهنده مثل گوگرد در الانزپین یا نیتروژن در میرتازپین بر روی حلقه‌های مجاور ساختار ۳ حلقه‌ای

به عنوان فارماکوفور فرضی با خاصیت ضد لیشمانیا که احتمال برهم‌کنش مناسب با چند آنزیم لیشمانیایی را داشته باشد، به صورت زیر پیشنهاد می‌گردد (شکل ۱۰). البته با انجام مطالعات ساختاری دقیق‌تر امکان پیشنهاد جزئیات بیشتر ساختاری امکان‌پذیر خواهد بود.

تحت مطالعه از خود نشان داده است (تنها آنزیم‌هایی که در ۷۰ درصد گستره انرژی آزاد اتصال با فلومازنیل قرار گرفته عبارت بودند از تریوژ فسفات ایزومراز با $\Delta G_b = -6 / 34 \text{ kcal/mol}$ و همچنین فارنژیل دی فسفات سینتاز ($\Delta G_b = -5 / 52 \text{ kcal/mol}$).

با استناد به موارد ذکر شده و همچنین با توجه به نحوه برهمکنش مولکول‌های دارویی فوق، ساختار زیر



شکل ۱۰. ساختار شیمیابی فارماکوفور فرضی سه حلقه‌ای جوش خورده ضد لیشمانیا

جایگزینی یکی از حلقه‌های شش ضلعی مجاور با یک حلقه پنج ضلعی (آلپرازولام و فلومازنیل) باعث کاهش قدرت اتصال می‌گردد. برهمکنش‌های هیدروفوگی نورژسترل، تستوسترون و میرتاژاپین در جایگاه اتصال آنزیم‌های مربوطه، امکان طراحی آنتاگونیست را مطرح می‌سازد. با توجه به نتایج به دست آمده برای ساختارهای استروئیدی و سه حلقه‌ای جوش خورده، امکان طراحی مولکول‌هایی که در آنها پتانسیل مهار هم‌زمان چندین گیرنده پاتوژنی وجود داشته باشد، فراهم خواهد بود.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر حاصل یک پایان نامه دانشجویی دوره دکتری عمومی داروسازی است و نویسنده‌گان مقاله از دانشگاه علوم پزشکی اردبیل که محققین را در جهت اجرای این پژوهش یاری دادند، سپاسگزاری می‌نمایند.
(کد اخلاق: IR.ARUMS.REC.1398.109).

نتیجه گیری

تحقیق حاضر الگوهای ساختاری برتر را در برهمکنش داروهای منتخب با گیرنده‌های مهم آنزیمی لیشمانیا در اختیار قرار داد. بر اساس نتایج داکینگ مولکولی، بهترین ساختار از نظر قدرت اتصال به گیرنده‌های مورد مطالعه لیشمانیا و به ویژه آدنین فسفو ریبوزیل ترانسفراز، هسته استروئیدی می‌باشد. افزودن هر گونه حلقه اضافی از سمت حلقه‌های A و یا D استروئیدی (دانازول و اسپیرونولاکتون) باعث کاهش انرژی آزاد در اتصال به آنزیم‌های لیشمانیایی مورد نظر می‌شود که شاید بتوان این عامل را به افزایش دافعه فضایی^۱ این مولکول‌ها در جایگاه اتصال آنزیم‌های فوق نسبت داد. در داروهای واجد هسته شیمیابی سه حلقه‌ای جوش خورده، کیفیت اتصال به آنزیم، تابع الگوی جوش خوردنی ساختاری نیز می‌باشد و در ساختار میرتاژاپین و کاربامازین،

^۱ Steric Hindrance

References

- 1- Takebe T, Imai R, Ono S. The current status of drug discovery and development as originated in United States academia: the influence of industrial and academic collaboration on drug discovery and development. *Clin Transl Sci.* 2018 Nov; 11(6):597-606.
- 2- Woodcock J, Woosley R. The FDA critical path initiative and its influence on new drug development. *Annu Rev Med.* 2008 Feb; 59:1-12.
- 3- Sleigh SH, Barton CL. Repurposing strategies for therapeutics. *Pharm Med.* 2010 Aug; 24(3):151-159.
- 4- Talevi A, Bellera CL. Challenges and opportunities with drug repurposing: finding strategies to find alternative uses of therapeutics. *Expert Opin Drug Discov.* 2020 Dec; 15(4):397-401.
- 5- Ashburn TT, Thor KB. Drug repositioning: identifying and developing new uses for existing drugs. *Nat Rev Drug Discov.* 2004 Aug; 3(8):673-683.
- 6- Sharlow ER. Revisiting repurposing. *Assay Drug Dev Technol.* 2016 Dec; 14(10):554-556.
- 7- Charlton RL, Rossi-Bergmann B, Denny PW, Steel PG. Repurposing as a strategy for the discovery of new anti-leishmanials: the-state-of-the-art. *Parasitology.* 2018 Aug; 145(2):219-236.
- 8- Hotez PJ, Aksoy S, Brindley PJ, Kamhawi S. What constitutes a neglected tropical disease? *PLoS Negl Trop Dis.* 2020 Jan; 14(1):e0008001.
- 9- Koporc K, Emerson PM. Prevention and treatment of neglected tropical diseases: past, present and future. *Int. Health.* 2016 Mar; 8(1):i1-i3.
- 10-Moore EM, Lockwood DN. Treatment of visceral leishmaniasis. *J Glob Infect Dis.* 2010 Apr; 2(2):151-158.
- 11-Masmoudi A, Hariz W, Marrekchi S, Amouri M, Turki H. Old world cutaneous leishmaniasis: diagnosis and treatment. *J Dermatol Case Rep.* 2013 Jun; 7(2):31-41.
- 12-Thi MDD, Grant MH, Mullen AB, Tettey JNA, MacKay SP, Clark RL. Metabolism of two new benzodiazepine-type anti-leishmanial agents in rat hepatocytes and hepatic microsomes and their interaction with glutathione in macrophages. *J Pharma Pharmacol.* 2009 March; 61(3):399-406.
- 13-Pearson RD, Manian AA, Hall D, Harcus JL, Hewlett EL. Antileishmanial activity of chlorpromazine. *Antimicrob Agents Chemother.* 1984 May; 25(5):571-574.
- 14-Wang F, Wu FX, Li CZ, Jia CY, Su SW, Hao GF, et al. ACID: a free tool for drug repurposing using consensus inverse docking strategy. *J Cheminformatics.* 2019 Nov; 11(1):73.
- 15-Tao X, Huang Y, Wang C, Chen F, Yang L, Ling L, et al. Recent developments in molecular docking technology applied in food science. *Int J Food Sci Tech.* 2019 Aug; 55(1):33-45.
- 16-Alahuhta M, Wierenga RK. Atomic resolution crystallography of a complex of triosephosphate isomerase with a reaction-intermediate analog: new insight in the proton transfer reaction mechanism. *Proteins.* 2010 Jun; 78:1878-1888.
- 17-Aripirala S, Gonzalez-Pakanowska D, Oldfield E, Kaiser M, Amzel LM, Gabelli SB. Structural and thermodynamic basis of the inhibition of leishmania major farnesyl diphosphate synthase by nitrogen-containing bisphosphonates. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr.* 2014 Mar; 70:802-810.
- 18-Phillips CL, Ullman B, Brennan RG, Hill CP. Crystal structures of adenine phosphoribosyltransferase from leishmania donovani. (1999) *EMBO J.* 1999 Jul; 18:3533-3545.
- 19-Dello Iacono L, Di Pisa F, Pozzi C, Landi G, Mangani S. Leishmania major Pteridine reductase 1 (PTR1) in complex with compound 1. *Molecules.* 2017 Mar; 22.
- 20-Horjales S, Schmidt-Arras D, Leclercq O, Spath G, Buschiazzo A. Map kinase LMAMPK10 from leishmania major in complex with SB203580. *Structure.* 2012 Oct; 20:1649-1660.
- 21-Lafrance-Vanassee J, Sygusch J. Carboxy-terminus recruitment induced by substrate binding in eukaryotic fructose bis-phosphate aldolases. *Biochemistry.* 2007 Oct; 46:9533-9540.
- 22-Hemsworth GR, Moroz OV, Fogg MJ, Scott B, Bosch-Navarrete C, Gonzalez-Pacanowska D, et al. The crystal structure of the leishmania major deoxyuridine triphosphate nucleotidohydrolase in complex with nucleotide analogues, dump, and deoxyuridine. *J Biol Chem.* 2011 Jul; 286:16470-16481.

- 23-Morris GM, Huey R, Lindstrom W, Sanner MF, Belew RK, Goodsell DS, et al. AutoDock4 & AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility. *J Comput Chem.* 2009 Dec; 30(16):2785-2591.
- 24-Wallace AC, Laskowski RA, Thornton JM, LIGPLOT-a program to generate schematic diagrams of protein ligand interactions. *Protein Eng.* 1995 Feb; 8(2):127-134.
- 25-Wishart DS, Knox C, Guo AC, Cheng D, Shrivastava S, Tzur D, et al. DrugBank: a knowledgebase for drugs, drug actions and drug targets. *Nucleic Acids Res.* 2008 Jan; 36(Database issue):D901-906.
- 26-Razzaghi-Asl N, Hemmateenejad B, Ebadi A, Shahabipour S, Miri R. A new insight into computational molecular design: A case study on BACE-1 inhibitors. *J Comput Methods Sci Eng.* 2014 Oct; 14:315-325.