Journal of Ardabil University of Medical Sciences

Vol. 20, No. 3, Autumn 2020, Pages 372-396

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

Ahdeno S[1], Razzaghi-Asl N*[1], Mohammadi-ghalehbin B[2]

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 Nateglinide 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: ۰۴۵۳۳۵۲۳۸۳۳ فاکس: ۰۴۵۳۳۵۲۲۱۹۷ 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 درفارماکوکینتیک، بهینه سازی فارماکودینامیک را هدف قرار می‌دهد. با عنایت به اهمیت موضوع، پژوهش حاضر به آنالیز مجازی کاربری جدید برخی از دسته های دارویی با هدف دستیابی به فارماکوفورهای بالقوه ضد لیشمانیا اختصاص یافت.

روش کار: ساختار سه بعدی تعدادی از گیرنده های 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 ناتگلینید در اتصال به آنزیم فارنزیل دی فسفات سینتاز (ΔG_b-۱۳/۳۰ kcal/mol) می‌باشد. در ترکیبات استروئیدی، نورژسترل (ΔG_b -۹/٤۸ kcal/mol) و تستوسترون (ΔG_b -۸/۰۵ kcal/mol) قابلیت اتصال آنزیمی بالاتری نشان دادند و Arg82 نقش مهمی در برقراری پیوندهای هیدروژنی داشت. در الگوی ساختاری حلقه‌ای جوش خورده، میرتازاپین بیشترین انرژی آزاد در اتصال به آنزیم دِاکسی اوریدین تری فسفات از خود نشان داد (ΔG_b-۸/۶٤ kcal/mol). در کاربامازپین، استخلاف آمیدی در حلقه میانی زمینه را برای برقراری دو برهمکنش هیدروژنی مؤثر با اسیدهای آمینه Gln21 و Asn25 دِاکسی اوریدین تری فسفات فراهم نموده است.

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

واژه های کلیدی: کاربری جدید، داروی ضد لیشمانیا، آدنیلیل فسفوریبوزیل ترانسفراز، داکینگ مولکولی

دریافت: ۱۳۹۹/۹/۲۲ **پذیرش:** ۱۳۹۹/۱۲/۲۰

مقدمه

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

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[1] 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 [٤]. به عنوان مثال دولوکستین که به صورت اولیه برای درمان افسردگی طراحی شده بود اکنون برای رفع تکرر ادرار استفاده می‌شود [۵]. گاباپنتین و پره‌گابالین که برای جلوگیری از تشنج استفاده می‌شدند 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[2] 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]. لیشمانیا[3] یکی از مهم‌ترین بیماری‌های قرارگرفته در لیست بیماری‌های مورد غفلت واقع‌شده 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، پنتامیدین قابل ذکر است که یک داروی آنتی میکروبیال است و برای درمان لیشمانیا استفاده می‌شود. این دارو از بروز مجدد بیماری پس از درمان به خوبی جلوگیری می‌کند و معمولاً در رژیم درمانی افرادی که همراه لیشمانیا از بیماری دیگری مثل ایدز یا سایر بیماری‌های نقص سیستم ایمنی رنج می‌برند استفاده می‌شود [۱۰]. آمفوتریسین B نیز یک داروی ضدقارچ است که اکنون به عنوان آنتی‌لیشمانیا 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 قابل‌توجهی علیه *L. donovani* در تست‌های برون‌تنی[4] و درون‌تنی[5] از خود نشان داده است [۱۳].

در روش‌های نوین 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 [١٤]. مهم‌ترین تکنیک محاسباتی به کار رفته در این حالت، داکینگ مولکولی[6] 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 پروژه کاربرد داکینگ مولکولی جهت انتخاب ساختارهای برتر و بهینه‌سازی آنها به منظور پیشنهاد فارماکوفورهای جدید با پتانسیل اثر ضد لیشمانیا از

[1] Drug Re-purposing
[2] Neglected Tropical Diseases (NTD)
[3] Leishmania
[4] In vitro
[5] In vivo
[6] Molecular Docking

میان گروه‌های دارویی مختلف به عنوان کاندیدهایی مناسب برای بررسی‌های برون‌تنی و درون‌تنی می‌باشد. تارگت‌های آنزیمی بکار رفته در این مطالعه عبارتند از تریوز فسفات ایزومراز، فارنزیل دی‌فسفات سینتاز، آدنیلیل فسفوریبوزیل ترانسفراز، پتریدین ردوکتاز ۱، پروتئین کیناز فعال شده با میتوژن، فروکتوز ۱و۶-بیس فسفات آلدولاز و داکسی اوریدین تری فسفات.

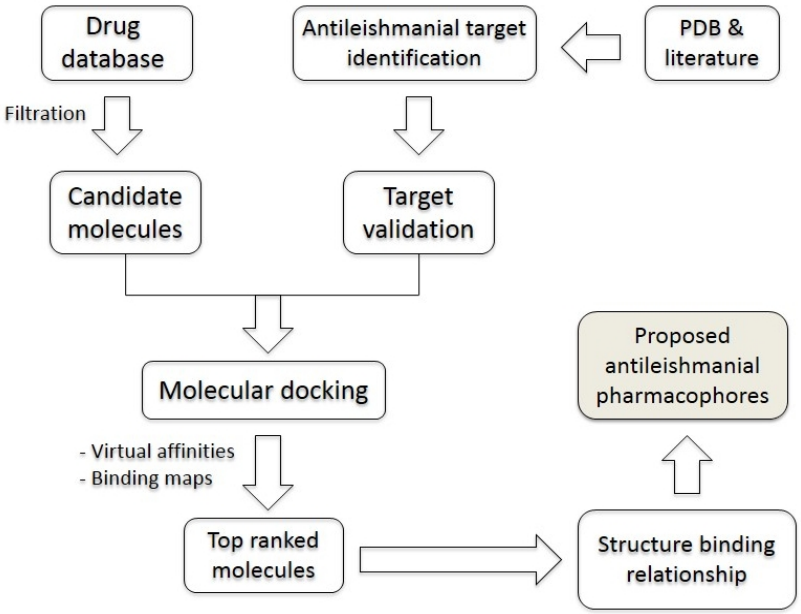
روش کار

پس از شناسایی گیرنده‌های پروتئینی مختلف موجود در انگل لیشمانیا با استفاده از بانک پروتئینی بروک‌هاون (PDB[1]) و مقالات معتبر و همچنین انتخاب مولکول‌های کاندید دارویی با اثرات فارماکولوژیک مختلف انتخاب و اعتبارسنجی روش داکینگ مولکولی با استفاده از داکینگ مجدد[2] لیگاندهای کریستالوگرافی، فرآیند داکینگ 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).

[1] Protein Data Bank
[2] Re-docking

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 قابل‌توجه در از بین بردن و یا کنترل بیماری ناشی از پاتوژن داشته باشد. نام گیرنده‌های منتخب لیشمانیا برای این مطالعه در جدول ۱ مشاهده می‌گردد.



شکل ۱. الگوی کلی روش انجام مطالعه

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

ردیف	کد PDB	نام گیرنده	اهمیت بیولوژیک	منبع
۱	2VXN	تریوز فسفات ایزومراز	گلیکولیز	[۱۶]
۲	4JZB	فارنزیل دی فسفات سینتاز	بیوسنتز لیپیدها	[۱۷]
۳	1QB7	آدنیلیل فسفوریبوزیل ترانسفراز	کنترل رشد	[۱۸]
٤	5L4N	پتریدین ردوکتاز ۱	ایجاد مقاومت دارویی	[۱۹]
۵	3UIB	پروتئین کیناز فعال شده با میتوژن[1]	پیام رسانی درون سلولی	[۲۰]
۶	2QDG	فروکتوز ۱و۶-بیس فسفات آلدولاز	گلیکولیز و گلوکونئوژنز	[۲۱]
۷	2YB0	داکسی اوریدین تری فسفات	همانند سازی اسید نوکلئیک	[۲۲]

[1] Mitogen-activated protein kinases (MAPK)

پیش از آغاز مراحل داکینگ، فایل ماکرومولکول توسط نرم افزار اتوداک تولز[1] آماده‌سازی گردید [۲۳]. به منظور آماده‌سازی فایل‌های ماکرومولکولی، ساختارهای سه بعدی کریستالوگرافی کمپلکس گیرنده- مهارکننده از بانک داده‌های پروتئین (http://www.rcsb.org) استخراج شدند. پس از 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[2] (متصل به اتم‌های کربن) در اتم کربن مربوطه ادغام شده و بارالکتریکی کُلمن[3] و حلال‌پوشی ماکرومولکول 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 الامکان از قاعده ۵ لیپینسکی[4] پیروی گردد (جدول ۲). بهینه‌سازی هندسی ساختارها با استفاده از روش نیمه تجربی AM1 در الگوریتم پُلاک- ریبیر[5] تا دستیابی به گرادیان مجذور میانگین مربعات[6] ۰/۰۱ کیلو کالری بر مول انجام گردید. بار الکتریکی گَستیگِر[7] (بارهای الکتریکی اتم که به‌صورت تجربی محاسبه می‌گردد) و تعداد درجات آزادی زوایای پیچشی[8] 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 آنتی بادی‌ها و انسولین‌ها در مطالعه حاضر وارد نگردیدند.

روش داکینگ مولکولی

محاسبات داکینگ مولکولی با استفاده از نرم افزار اتوداک ٤/۲[9] انجام گردید [۲۳]. در تحقیق حاضر، بر اساس حجم مولکولی لیگاندهای طراحی شده، شبکه‌ای با ابعاد حداکثر ۶۰×۶۰×۶۰ Å[3] که در برگیرنده جایگاه فعال گیرنده‌های منتخب باشد با مرکز ثقل لیگاندهای کریستالوگرافی اولیه تعریف گردید. به منظور تعیین میزان اتصال دارو- گیرنده، از الگوریتم ژنتیکی لامارکین[10] استفاده گردید. تمامی پارامترهای الگوریتم

[1] AutoDock Tools
[2] Non-polar Hydrogens
[3] Kolmann Charge
[4] Lipinski's Rule of 5
[5] Polak-Ribiere Algorithm
[6] Root Mean Square Gradient
[7] Gastiger
[8] Torsional Degree of Freedom
[9] Autodock 4.2 (*http://autodock. scripps.edu/*)
[10] Lamarckian Genetic Algorithm (LGA)

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 ۲ انجام شد. تبدیل نهایی داده‌های متنی اتوداک به الگوی‌های شماتیک برهم‌کنش با استفاده از نرم افزار Ligplot-2012 انجام گردید [۲٤].

جدول ۲. نام و برخی از ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی داروهای منتخب

ردیف	نام دارو	وزن مولکولی (گرم/مول)	تعداد دهنده هیدروژن	تعداد گیرنده هیدروژن	لیپوفیلیسیته (ClogP)	پیوندهای قابل چرخش (RTBs)
۱	Captopril	۲۱۷/۲۸	۲	۵	۰/۵۶	۶
۲	Losartan	٤۲۲/۹۱	۲	۶	٤/۲۶	۹
۳	Hydralazine	۱۶۰/۱۷	۲	٤	۱/۶۸	٤
٤	Diltiazem	٤۱٤/۵۱	۰	۷	۳/٤۳	۷
۵	Nifedipine	۳٤۶/۳۳	۱	۵	۳/۳۷	۶
۶	Trimetazidine	۲۶۶/۳۳	۱	۵	۱/۳۸	۶
۷	Milrinone	۲۱۱/۲۱	۱	۳	۱/۶۱	۱
۸	Furosemide	۳۳۰/۷٤	۳	۷	۳/۷٤	۷
۹	Hydrochlorothiazide	۲۹۷/۷۳	۳	۷	۲/۹۷	۲
۱۰	Acetazolamide	۲۲۲/۲٤	۲	۸	۰/۹۹	٤
۱۱	Triamterene	۲۵۵/۲۷	٤	۷	۱/۹۷	٤
۱۲	Spironolactone	٤۱۶/۵۷	۰	۵	٤/۸۵	۲
۱۳	Sotalol	۳۰۲/۳۸	۳	۶	۲/۳٤	۷
۱٤	Procainamide	۲۳۵/۳۲	۲	٤	۲/۳۱	۸
۱۵	Lidocaine	۲۳٤/۳۳	۱	۳	۲/۶۵	۶
۱۶	Encainide	۳۵۲/٤۶	۱	٤	٤/۳۷	۷
۱۷	Isosorbide mono nitrate	۱۹۱/۱۳	۱	۳	-۰/۷۵	۳
۱۸	Diphenhydramine	۲۵۵/۳۵	۰	۲	۳/۳۵	۶
۱۹	Cimetidine	۲۵۲/۳۳	۳	۶	۱/۳۷	۷
۲۰	Sumatriptan	۲۹۵/٤۰	۲	٤	۲/۷۹	۶
۲۱	Ondansetron	۲۷۹/۳۳	۰	٤	۲/۸۲	٤
۲۲	Ergonovine	۳۲۷/٤۲	۳	٤	۱/۹۵	۵
۲۳	Ambrisentan	۳۷۸/٤۲	۱	۶	۳/۵۱	۸
۲٤	Zileuton	۲۳۶/۲۹	۲	۵	۳/٤۳	۵
۲۵	Ibuprofen	۲۰۶/۲۸	۱	۲	۳/۰۷	۵
۲۶	Aspirin	۱۸۰/۱۵	۱	٤	۱/۳۱	٤
۲۷	Valdecoxib	۳۱٤/۳۵	۱	۵	٤/۷٤	٤
۲۸	Theophylline	۱۸٤/۱۹	۲	۶	-۱/۱۱	۰
۲۹	Prednisolone	۳۶۰/٤٤	۳	۵	۱/۵۵	۵
۳۰	Warfarin	۳۰۸/۳۲	۱	٤	۳/۶۰	۵
۳۱	Clopidogrel	۳۲۱/۸۲	۰	٤	۳/۶۱	٤
۳۲	Tranexamic acid	۱۵۷/۲۱	۲	۳	۱/۵۳	٤
۳۳	Lovastatin	٤۰٤/۵۳	۱	۵	٤/۱۹	۸
۳٤	Gemfibrozil	۲۵۰/۳۳	۱	۳	۳/۵۷	۷
۳۵	Ezetimibe	٤۰۹/٤۲	۲	٤	٤/۹۵	۸
۳۶	Acetaminophen	۱۵۱/۱۶	۲	۳	۱/٤۲	۳
۳۷	Allopurinol	۱۳۶/۱۱	۲	٤	۰/۰۵	۱

۳۸	Probenecid	۲۸۵/۳۵	۱	۵	۳/۲۷	۸
۳۹	Colchicine	۳۹۹/٤۳	۱	۷	۳/۲۶	۶
٤۰	Methimazole	۱۱٤/۱۶	۱	۲	۱/۰۸	۰
٤۱	Metyrapone	۲۲۶/۲۷	۰	۳	۲/۶۳	۳
٤۲	Fludrocortisone	۳۸۰/٤۵	۳	۵	۱/۸۷	۵
٤۳	Ethinyl estradiol	۲۹۶/٤۰	۲	۲	۳/۶۱	۲
٤٤	Norgestrel	۳۱۲/٤٤	۱	۲	۳/۸۸	۲
٤۵	Letrozole	۲۸۵/۳۰	۰	۵	۲/۶۵	۳
٤۶	Danazol	۳۳۷/٤۵	۱	۳	٤/۲۲	۱
٤۷	Testosterone	۲۸۸/٤۲	۱	۲	۳/۸۷	۱
٤۸	Finasteride	۳۷۲/۵٤	۲	٤	٤/۵۳	۳
٤۹	Flutamide	۲۷۶/۲۱	۱	۲	۳/۸۰	۵
۵۰	Metformin	۱۲۹/۱۶	۳	۵	۰/۲۵	٤
۵۱	Nateglinide	۳۱۷/٤۲	۲	٤	۳/۶۵	۸
۵۲	Pioglitazone	۳۵۶/٤۳	۲	۶	۳/٤۸	۷
۵۳	Sitagliptin	٤۰۷/۳۱	۱	۶	۲/۶۵	۷
۵٤	Zoledronic acid	۲۷۲/۰۸	۵	۹	-۱/۱۱	۶
۵۵	Alprazolam	۳۰۸/۷۶	۰	٤	۳/۰۱	۱
۵۶	Flumazenil	۳۰۳/۲۸	۰	۶	۱/۷۱	۳
۵۷	Phenobarbital	۲۳۲/۲۳	۲	۵	۰/۶۶	۲
۵۸	Zolpidem	۳۰۷/۳۸	۰	٤	۳/۲٤	٤
۵۹	Ramelteon	۲۵۹/۳٤	۱	۳	۲/۹۵	۵
۶۰	Buspirone	۳۸۵/۵۰	۰	۷	۲/۰۲	۶
۶۱	Naltrexone	۳٤۱/٤۰	۲	۵	۱/٤۶	٤
۶۲	Acamprosate	۱۸۱/۲۱	۲	٤	۰/۸۷	۶
۶۳	Disulfiram	۲۹۶/۵۳	۰	۶	۳/۶۲	۹
۶٤	Ethosuximide	۱٤۱/۱۶	۱	۳	۰/۷۷	۱
۶۵	Phenytoin	۲۵۲/۲۶	۲	٤	۲/٤۲	۲
۶۶	Gabapentin	۱۷۱/۲۳	۲	۳	۲/۰۷	۵
۶۷	Carbamazepine	۲۳۶/۲۶	۱	۲	٤/۱۵	۲
۶۸	Zonisamide	۲۱۲/۲۲	۱	۵	۲/۳۹	۳
۶۹	Lamotrigine	۲۵۶/۰۹	۲	۵	۳/۱۷	۳
۷۰	Levetiracetam	۱۷۰/۲۰	۱	٤	۰/۵۱	٤
۷۱	Ketamine	۲۳۷/۷۲	۱	۲	۳/۲۸	۲
۷۲	Propofol	۱۷۸/۲۷	۱	۱	۳/۶۳	۳
۷۳	Imipramine	۲۸۰/٤۰	۰	۱	۳/۹٤	٤
۷٤	Paroxetine	۳۲۹/۳۶	۱	٤	۳/۶۵	٤
۷۵	Venlafaxine	۲۷۷/٤۰	۱	۳	۳/۰۳	۶
۷۶	Selegiline	۱۷۸/۲۸	۰	۱	۲/۱۸	٤
۷۷	Mirtazapine	۲۷۵/۳۵	۰	۳	۲/٤۸	۰
۷۸	Trazodone	۲۷۱/۸۶	۰	۶	۲/۳۶	۵
۷۹	Baclofen	۲۱۳/۶۶	۲	۳	۲/۵۵	۶
۸۰	Dantrolene	۳۱٤/۲۵	۱	۶	۲/۵۳	٤
۸۱	Levodopa	۲۹۷/۱۸	٤	۵	۰/۷۵	۷
۸۲	Pramipexole	۲۱۱/۳۲	۲	٤	۲/۵۵	٤
۸۳	Tolcapone	۲۷۳/۲٤	۲	۳	۳/۰۶	۵

۸٤	Haloperidol	۳۷۵/۸۶	۱	۳	٤/۳۶	۷
۸۵	Thiothixene	٤٤۲/۶۲	۰	۶	٤/٤۲	۵
۸۶	Olanzapine	۳۱۲/٤۳	۱	٤	۲/۸۸	۱
۸۷	Chlorpromazine	۳۱۸/۸۶	۰	۲	٤/۹۵	٤
۸۸	Fluconazole	۳۰۶/۲۷	۱	۷	۰/۷۳	۶
۸۹	Flucytosine	۱۲۹/۰۹	۲	۳	۰/۰۷	۱
۹۰	Griseofulvin	۳۵۲/۷۶	۰	۶	۲/۸۱	۳
۹۱	Isoniazid	۱۳۷/۱۳	۲	٤	۰/۷۷	۳
۹۲	Pyrazinamide	۱۲۳/۱۱	۱	٤	۰/۲۷	۲
۹۳	Diethylcarbamazine	۱۹۹/۲۹	۰	٤	۰/۵۷	٤
۹٤	Mebendazole	۲۹۵/۲۹	۲	۵	۳/۰٤	۵
۹۵	Nifurtimox	۲۸۷/۲۹	۰	۵	۲/۱۸	۳
۹۶	Eflornithine	۱۸۲/۱۶	۳	٤	۱/۱۷	۸
۹۷	Chloroquine	۳۲۹/۹۵	۲	۳	۳/۹٤	۸
۹۸	Artemisinine	۲۸۲/۳۳	۰	۵	۲/۳۹	۲
۹۹	Mefloquine	۳۷۸/۳۱	۲	۳	٤/۷۷	۵
۱۰۰	Primaquine	۲۵۹/۳٤	۲	٤	۳/۵۵	۷
۱۰۱	Pyrimethamine	۲٤۸/۷۱	۲	٤	۳/۶۸	٤
۱۰۲	Proguanil	۲۵۳/۷۳	۳	۵	۳/۲۶	۶
۱۰۳	Metronidazole	۱۷۱/۱۵	۱	۳	۰/۶۱	٤
۱۰٤	Iodoquinol	۳۹۶/۹۵	۱	۲	۳/۱٤	۱
۱۰۵	Trimethoprim	۲۹۰/۳۱	۲	۷	۲/٤۲	۷
۱۰۶	Ciprofloxacin	۳۳۱/۳٤	۲	۶	۱/۹۷	٤
۱۰۷	Sulfamethoxazole	۲۵۳/۲۷	۲	۶	۳/۱۰	٤
۱۰۸	Spectinomycin	۳۳۲/۳٤	۵	۹	-۲/۱٤	۵
۱۰۹	Terbinafine	۲۹۱/٤۲	۰	۱	٤/۸۷	۶
۱۱۰	Chloramphenicol	۳۲۳/۱۲	۳	٤	۱/۸۲	۹
۱۱۱	Linezolid	۳۳۷/۳٤	۱	۷	۱/۶٤	۵
۱۱۲	Fluorouracil	۱۳۰/۰۷	۲	۲	-۰/۷۹	۰
۱۱۳	Mercaptopurine	۱۵۲/۱۷	۲	۳	۱/۰۱	۰
۱۱٤	Cyclophosphamide	۲۶۱/۰۸	۱	٤	۲/۲۱	۵
۱۱۵	Topotecan	۳۲۱/٤٤	۲	۸	۱/۸٤	۵
۱۱۶	Sunitinib	۳۹۸/٤۷	۳	۵	۳/۸۶	۸
۱۱۷	Mitomycin	۳۳٤/۳۲	۳	۹	۰/۰۱	۶
۱۱۸	Imipenem	۲۹۹/۳٤	٤	۸	۰/۲۵	۹
۱۱۹	Ampicillin	۳٤۹/٤۰	۳	۸	۱/۳٤	۷
۱۲۰	Tramadol	۲۶۳/۳۷	۱	۳	۲/۶۳	۵
۱۲۱	Morphine	۲۸۵/۳۳	۲	٤	۱/۱۳	۳
۱۲۲	Hydrocodone	۲۹۹/۳۶	۰	٤	۱/۸۷	۲
۱۲۳	Nalbufine	۳۵۷/٤٤	۳	۵	۱/۶٤	۵
۱۲٤	Praziquantel	۳۱۲/٤۰	۰	٤	۲/٤۱	۲
۱۲۵	Niclosamide	۳۲۷/۱۱	۲	۳	٤/٤۵	۵
۱۲۶	Metrifonate	۲۵۷/٤۳	۱	٤	۲/۱۶	۵
۱۲۷	Pyrantel Pamoate	۲۰۶/۳۰	۰	۳	۱/۸۶	۲
۱۲۸	Oxamniquine	۲۷۹/۳۳	۳	۳	۲/۸۶	۶

یافته‌ها

نتایج اعتبار سنجی اولیه نرم افزار اتوداک برای کمپلکس‌های کریستالوگرافی 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 ٤ 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 ۶). هرچند که بعضی از این برهمکنش‌ها مانند فروکتوز-۱و۶-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 آدنین‌فسفوریبوزیل‌ترانسفراز از خود نشان دادند. نورژسترل یک مخلوط راسمیک است که صرفاً ایزومر چپ‌گرد آن فعال می‌باشد [۲۵]. هرچند که فرم ایزومر راست‌گرد 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).

جدول ۳. نتایج اعتبارسنجی برای کمپلکس گیرنده‌های لیشمانیا و لیگاندهای کریستالوگرافی

ردیف	کد PDB	تعداد کنفورماسیون‌های موجود در بهترین خوشه	تعداد دفعات اجرای الگوریتم ژنتیکی	RMSD (Å)	حد وضوح فایل کریستالوگرافی (Å)	ماکزیمم تعداد محاسبه انرژی
۱	2VXN	٤۳	۵۰	۰/۵۰	۰/۸۲	۲۵۰۰۰۰۰
۲	4JZB	۵۰	۵۰	۰/۵۳	۱/۹۰	۲۵۰۰۰۰۰
۳	1QB7	٤۸	۵۰	۰/۹۹	۱/۵۰	۳۰۰۰۰۰۰
٤	5L4N	۵۰	۵۰	۲/۰۸	۲/۳۵	۲۵۰۰۰۰۰
۵	3UIB	۵۰	۵۰	۰/۸٤	۲/۶۵	۲۵۰۰۰۰۰
۶	2QDG	۳۱	۵۰	۱/۱۳	۲/۲۰	۲۵۰۰۰۰۰
۷	2YB0	٤۷	۵۰	۰/۶۷	۲/۲۸	۲۵۰۰۰۰۰

جدول ٤. گستره انرژی آزاد اتصال در برهمکنش داروها با اهداف پروتئینی لیشمانیا

کد گیرنده لیشمانیا	گستره انرژی آزاد اتصال دارو- گیرنده (kcal/mol)	حد آستانه[1] انتخاب (kcal/mol)
3UIB	-۳/۳۶ تا -۹/۱۹	-۵/۱۰
5L4N	-۳/۷۸ تا -۹/٤۰	-۵/٤۶
2QDG	-۲/۸۰ تا -۷/۷۸	-٤/۲۹
2YB0	-٤/۰۰ تا -۱۰/۱۵	-۵/۸٤
2VXN	-۳/۲۷ تا -۹/۱۷	-۵/۰٤
4JZB	-۳/۷۲ تا -۱۳/۳۰	-۶/۲۹
1QB7	-۳/۳۲ تا -۱۱/٤۳	-۵/۷۵

[1] Cut-off Point

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

داروهای با قابلیت اتصال به ۳ گیرنده	داروهای با قابلیت اتصال به ٤ گیرنده	داروهای با قابلیت اتصال به ۵ گیرنده	داروهای با قابلیت اتصال به ۶ گیرنده	داروهای با قابلیت اتصال به ۷ گیرنده
Nilosamide	Tranexamic acid	Valdecoxib	**Testosterone**	**Norgestrel**
Imiperamine	Zonisamide	Danazol	Ethinyl estradiol	
Ciprofloxacin	Iodoquinol	Finasteride	Proguanil	
Spironolactone	Alprazolam	**Carbamazepine**		
DiethylCarbamazine	Praziquantel	Morphine		
Flumazenil	Artemisinine	Pyrimethamine		
Pramipexol	Pyrantel pamoate	**Mirtazapine**		
Baclofen	Dantrolene	Milrinone		
Acetazolamide	Phenytoin			
	Zolpidem			
	Olanzapine			
	Propofol			
	Triamterene			

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

ردیف	کد PDB گیرنده لیشمانیا	تعداد کنفورماسیون‌های موجود در بهترین خوشه	انرژی اتصال (kcal/mol)
۱	1QB7	٤۹	-۹/٤۸
۲	5L4N	۵۰	-۸/۱۰
۳	4JZB	۵۰	-۸/۲۶
٤	3UIB	٤۸	-۸/۰۰
۵	2YB0	۵۰	-۸/۰۰
۶	2VXN	۵۰	-۷/۰۰
۷	2QDG	۵۰	-٤/۹۲

جدول ۷. مقایسه داده‌های دو مولکول لوو- نورژسترل و دکسترونورژسترل در ۵۰ اجرای الگوریتم ژنتیکی لامارکین

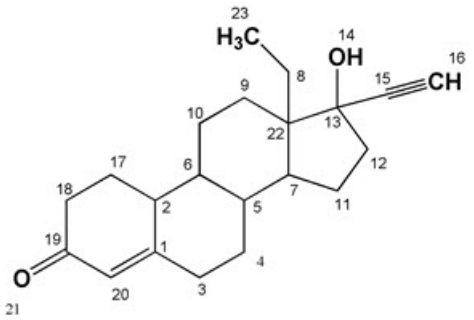
ردیف	فرم دارو	کد PDB گیرنده لیشمانیا	تعداد کنفورماسیون‌های موجود در بهترین خوشه	انرژی اتصال (kcal/mol)
۱	دکسترونورژسترل	2QDG	۵۰	-٤/۹۲
۲	لونورژسترل	2QDG	۵۰	-٤/۹۹
۳	دکسترونورژسترل	2VXN	۵۰	-۷/۰۰
٤	لونورژسترل	2VXN	۵۰	-۷/۱٤
۵	دک	2YB0	۵۰	-۸/۰۰
۶	لونورژسترل	2YB0	۵۰	-۷/۸۷
۷	دکسترونورژسترل	3UIB	٤۸	-۸/۰۰
۸	لونورژسترل	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	٤۳	-۸/۰۱
۱۳	دکسترونورژسترل	1QB7	٤۹	-۹/٤۸
۱٤	لونورژسترل	1QB7	٤۷	-۸/۲۰

به منظور آگاهی بیشتر از نحوه برهم‌کنش نورژسترل 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.

تستوسترون

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

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

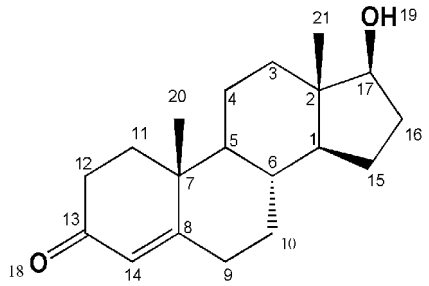


ردیف	کد PDB گیرنده لیشمانیا	اسیدهای آمینه مشارکت کننده در برهمکنش هیدروفوبی	اسیدهای آمینه مشارکت کننده در پیوند هیدروژنی	طول پیوند هیدروژنی (Å)	اتم‌های متصل دارو	اتم‌های متصل گیرنده
۱	1QB7	Arg37, Val39, Phe42, Ala43, Val148, Ala150, Leu176, Ile178, Asp206	Arg41 Arg82	۳/۰۵ ۳/۰۷	O21 OH14	NH زنجیر جانبی N زنجیر جانبی
۲	5L4N	Phe113, Asp181, Leu188, Tyr194, Gly225, Leu226, Leu229, His241	-	-	-	-
۳	4JZB	Phe167, Ile171, Gly172, Ala173, Phe216, Phe266, Leu290, Tyr291	Tyr212	۲/٤۸	OH14	O زنجیره جانبی
٤	3UIB	Gln21, Asn25, Ile28, Trp32, Arg36, Trp41, Glu48, Phe83, Asn183, Gln187, Tyr198	Arg186	۲/۸۳	OH14	N زنجیره جانبی
۵	2YB0	Val37, Ala49, Glu78, Leu91, Thr112, Glu113, Leu114, Leu165, Cys175	Met115 Asp176	۲/۸۳ ۳/۰۹	OH14 O21	N زنجیر اصلی NH 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	۲/۸۹	O21	NH زنجیره جانبی

جدول ۹. پارامترهای باندینگ محاسبه شده توسط اتوداک در اتصال تستوسترون به اهداف پروتئینی ارگانیسم لیشمانیا

ردیف	کد PDB گیرنده لیشمانیا	تعداد کنفورماسیون‌های موجود در بهترین خوشه	انرژی اتصال (kcal/mol)
۱	1QB7	۵۰	-۸/۰۵
۲	5L4N	٤۱	-۷/۵۷
۳	4JZB	۵۰	-۷/۷۰
٤	3UIB	۵۰	-۷/۹۹
۵	2YB0	۵۰	-۸/۰٤
۶	2QDG	۵۰	-۶/۰۳

جدول ۱۰. پارامترهای باندینگ محاسبه شده توسط اتوداک در اتصال تستوسترون به اهداف پروتئینی ارگانیسم لیشمانیا



ردیف	کد PDB گیرنده لیشمانیا	اسیدهای آمینه مشارکت کننده در برهمکنش هیدروفوبی	اسیدهای آمینه مشارکت کننده در پیوند هیدروژنی	طول پیوند هیدروژنی (Å)	اتم‌های متصل دارو	اتم‌های متصل گیرنده
۱	1QB7	Arg37, Val39, Pro40, Arg41, Phe42, Val148, Ala150, Ile178, Leu181, Asp206	Arg82	۳/۱۳ ۳/۲۳	O18 O18	NH زنجیر جانبی NH زنجیر جانبی
۲	5L4N	Phe113, Leu188, Leu226, Ser227, Leu229, His241	Arg17	۲/۸۰	OH19	N زنجیره جانبی
۳	4JZB	Phe167, Ile171, Gly172, Ala173, Tyr212, Phe216, Phe219, Phe266, Leu290, Tyr291, Ala293	-	-	-	-
٤	3UIB	Val37, Ala49, Lys51, leu91, Leu93, Leu110, Thr112, Glu113, Leu114, Met115, leu165	-	-	-	-
۵	2YB0	Gln21, Leu24, Asn25, Ile28, Arg36, Trp41, Asp79, His82, Phe83	Asn183	۳/۳۱	O18	N زنجیر اصلی
۶	2VXN	Lys13, Glu167, Ala171, Ile172, Gly173, Gly211, Ser213, Val214, Val223, Leu232, Val233, Gly234, Gly235, Ala236	Gly212	۲/۸۶	OH19	N زنجیر اصلی
۷	2QDG	Ala41, Asp43, Glu44, Ser45, Ser48, Arg52, Lys116, Arg158, Ala312, Arg313	Lys239	۲/۶۵	O18	NH زنجیره جانبی

میرتازاپین

مولکول دارویی دیگری که الگوی اتصال مطلوبی در مطالعات این پروژه به آنزیم‌های تحت مطالعه از خود نشان داد، میرتازاپین است. جداول ۱۱ و ۱۲ پارامترهای محاسباتی حاصل شده توسط داکینگ برای اتصال تستوسترون به ۵ هدف پروتئینی مختلف در ارگانیسم لیشمانیا را نشان می‌دهند.

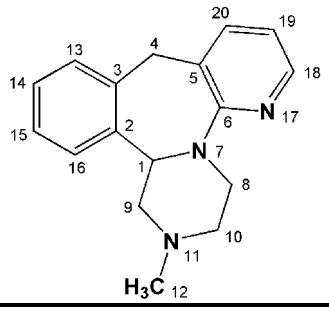
کاربامازپین

جداول ۱۳ و ۱٤ پارامترهای محاسباتی داکینگ برای اتصال تستوسترون به اهداف پروتئینی مختلف در ارگانیسم لیشمانیا را نشان می‌دهند.

جدول ۱۱. پارامترهای باندینگ محاسبه شده توسط اتوداک در اتصال میرتازاپین به اهداف پروتئینی ارگانیسم لیشمانیا

ردیف	کد PDB گیرنده لیشمانیا	تعداد کنفورماسیون‌های موجود در بهترین خوشه	انرژی اتصال (kcal/mol)
۱	5L4N	۵۰	-۸/۲٤
۲	4JZB	٤٤	-۵/٤۵
۳	3UIB	۵۰	-۶/۷۶
٤	2YB0	۵۰	-۸/۶٤
۵	2VXN	۵۰	-۵/۱۷
۶	2QDG	۵۰	-٤/۷۰

جدول ۱۲. پارامترهای باندینگ محاسبه شده توسط اتوداک در اتصال میرتازاپین به اهداف پروتئینی ارگانیسم لیشمانیا

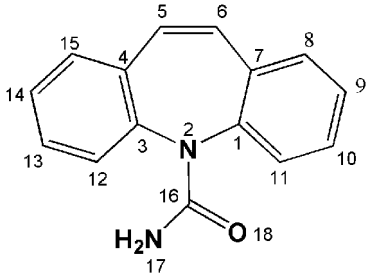


ردیف	کد PDB گیرنده لیشمانیا	اسیدهای آمینه مشارکت کننده در برهمکنش هیدروفوبی	اسیدهای آمینه مشارکت کننده در پیوند هیدروژنی	طول پیوند هیدروژنی (Å)	اتم‌های متصل دارو	اتم‌های متصل گیرنده
۱	5L4N	Ph113, Met183, Leu188, Gly225	Asp181 Tyr194	۳/۰۰ ۳/۰۲	N11 N17	OH زنجیره جانبی OH زنجیره جانبی
۲	3UIB	Ala49, Lys51, Glu78, Leu82, Leu93, Leu110, Val111, Thr112, Leu165, Cys175, Asp176	-	-	-	-
۳	2YB0	Gln21, Asn25, Ile28, Gln48, Asp79, His82, Phe83, Lys179, Asn183, Arg186, Gln187, Tyr191	-	-	-	-
٤	2VXN	Ser213, Val214, Gly234, Gly235, Ala236, Lys239	Gly173	۳/۰۸	N11	OH زنجیره جانبی
۵	2QDG	Asp43, Glu44, Ser45, Ser48, Arg52, Lys116, Lys156, Arg158, Arg313, Val366	Lys239	۲/۶۵	O18	NH زنجیره جانبی

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

ردیف	کد PDB گیرنده لیشمانیا	تعداد کنفورماسیون‌های موجود در بهترین خوشه	انرژی اتصال (kcal/mol)
۱	1QB7	۵۰	-۶/۳۷
۲	4JZB	۵۰	-۶/۵۰
۳	3UIB	۵۰	-۶/۶٤
٤	2YB0	۵۰	-۶/۷۷
۵	2VXN	۵۰	-۶/٤۹

جدول ١٤. پارامترهای باندینگ محاسبه شده توسط اتوداک در اتصال کاربامازپین به اهداف پروتئینی ارگانیسم لیشمانیا



ردیف	کد PDB گیرنده لیشمانیا	اسیدهای آمینه مشارکت کننده در برهمکنش هیدروفوبی	اسیدهای آمینه مشارکت کننده در پیوند هیدروژنی	طول پیوند هیدروژنی (Å)	اتم‌های متصل دارو	اتم‌های متصل گیرنده
۱	1QB7	Arg37, Arg82, Asp146, Val148, Leu149, Ala150, Thr151, Gly152, Gly153, Ala155	Glu127 Thr154	۳/۰۲ ۳/۳٤	NH17 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 ۲/۵۰	O18 NH17	NH زنجیره جانبی O زنجیره جانبی
٤	2VXN	Lys13, Glu167, Ile172, Gly173, Thr174, Gly175, Gly211, Gly212, Ser213, Val214, Leu232, Val233, Gly234, Gly235, Ala236,	-	-	-	-

بحث

کنفورماسیون‌های داک‌شده مولکول‌های دارویی برحسب میزان انرژی آزاد اتصال (ΔG_b) امتیازدهی[1] و خوشه‌بندی[2] شدند. در پروژه حاضر برای هر هدف پروتئینی، بهترین مولکول‌های دارویی از نظر قدرت اتصال به گیرنده با در نظرگرفتن انرژی آزاد اتصال و جمعیت خوشه برتر انتخاب گردیدند [۲۶]. قابلیت اتصال بالاتر برخی از لیگاندهای دارویی به انواع گیرنده‌های منتخب لیشمانیوز، این ساختارها را به عنوان ترکیباتی با پتانسیل مهارکنندگی انواع اهداف انگل لیشمانیا مطرح می‌نماید. در این حالت امکان طراحی مطالعات برون‌تنی و درون‌تنی بر روی

[1] Scoring
[2] Clustering

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، نورژسترل، 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 نورژسترل بالاترین تمایل اتصال را به آدنین فسفو ریبوزیل ترانسفراز (1QB7) دارد. مقایسه داده‌های بدست‌آمده از اتصال ایزومرهای نوری مختلف نورژسترل (جدول ۶) نشان داد که تفاوت معناداری میان دو ایزومر نورژسترل، از نظر قدرت اتصال به انواع گیرنده‌ها وجود ندارد. در ٤ مورد از ۷ گیرنده پروتینی، فرم راست‌گرد نتایج بهتری نسبت به فرم دیگر نشان داده است. این در حالی است که در ۳ مورد دیگر فرم لوو- نورژسترول یا چپ‌گرد عملکرد بهتری داشته است. هر چند به جز در مورد آدنیلیل فسفوریبوزیل ترانسفراز، این تفاوت‌ها جزئی بوده و قابل چشم‌پوشی است.

قدرت اتصال تستوسترون به آدنین فسفو ریبوزیل ترانسفراز مانند نورژسترل بالاتر از سایر موارد است (ΔG_b -۸/۰۵ kcal/mol). این مسأله پتانسیل 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 درگیربودن هر چهار حلقه استروئیدی را در برهم‌کنش‌های هیدروفوب در جایگاه اتصال آدنین فسفو ریبوزیل ترانسفراز نشان می‌دهد.

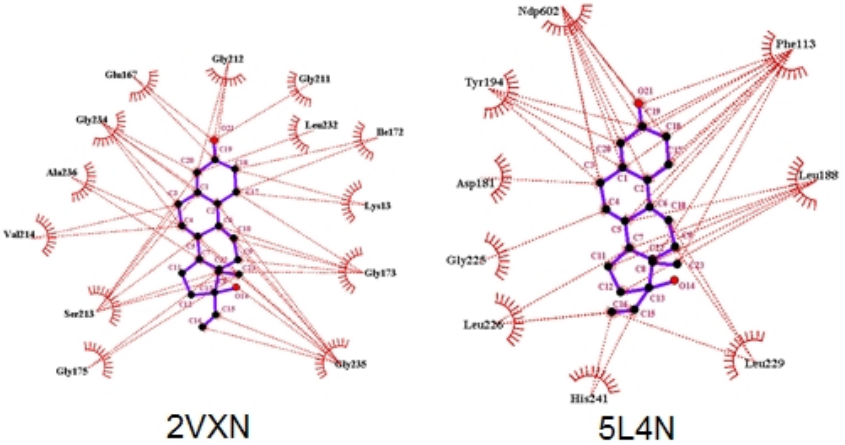
بر خلاف میرتازاپین که با ۵ گیرنده مختلف انگل لیشمانیا برهم‌کنش داشته است، فلومازنیل و ایمی‌پرامین ضعیف‌ترین برهم‌کنش‌ها را از خود نشان داده‌اند. قوی‌ترین برهم‌کنش میرتازاپین با جایگاه اتصال دِاکسی اوریدین تری فسفات ثبت گردید (ΔG_b-۸/٦٤ kcal/mol) که پتانسیل آن را برای مهار مسیر همانندسازی اسیدهای نوکلئیک در پاتوژن آشکار می‌سازد.

رابطه ساختار- اتصال[1]

نورژسترل

بر اساس آنالیز نقشه‌های اتصال دارو- پروتئین به نظر می‌رسد اتم اکسیژن شماره ١٤ در گروه هیدروکسیل (حلقه D استروئیدی) و اتم اکسیژن شماره ۲۱ (حلقه A استروئیدی) مولکول نورژسترل نقش بسیار مهمی در برقراری پیوندهای هیدروژنی با اهداف پروتئینی لیشمانیایی داشته باشند. در جایگاه‌های اتصال آدنیلیل فسفو ریبوزیل ترانسفراز (1QB7) و دِاکسی اوریدین تری فسفات (2YB0) هر دو اتم مذکور در پیوندهای هیدروژنی درگیر هستند (مراجعه به جدول ۷). ماهیت هیدروفوبی برهم‌کنش‌های نورژسترل در جایگاه اتصال تریوز فسفات ایزومراز (2VXN) و پتریدین ردوکتاز ۱ (5L4N) امکان طراحی مولکول‌های آنتاگونیست آنزیم با این پایه ساختاری را مطرح می‌سازد (شکل ۲).

[1] Structure Binding Relationship



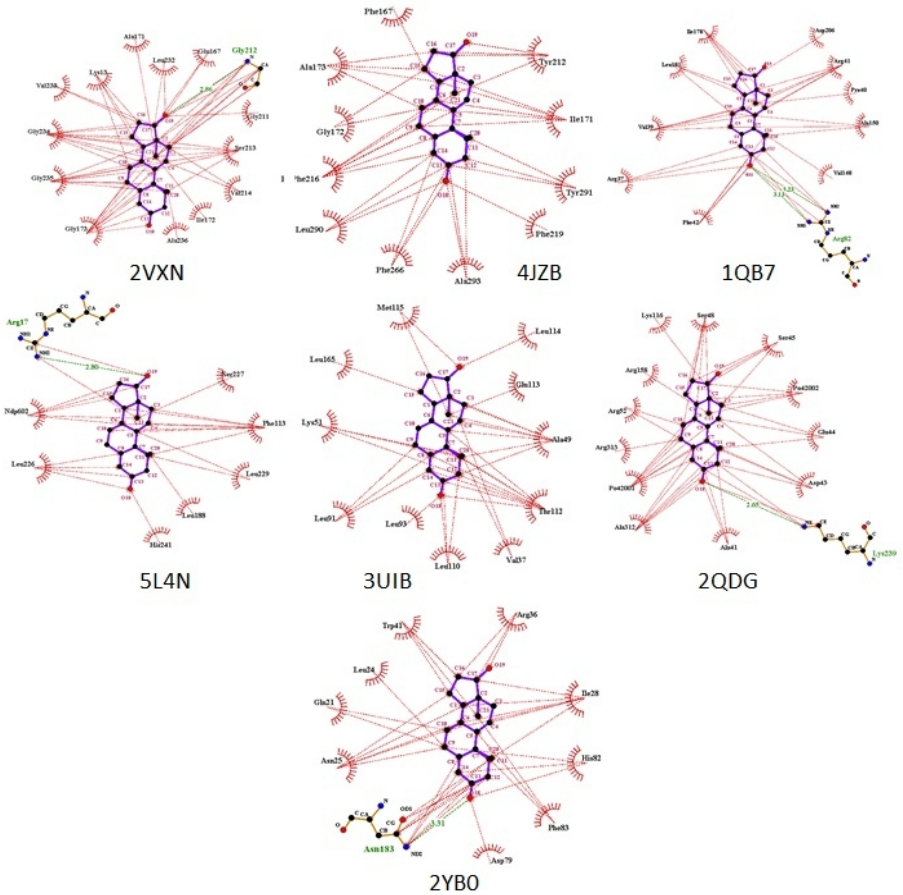
شکل ۲. الگوی برهمکنش هیدروفوبی نورژسترل با جایگاه اتصال 2VXN: تریوز فسفات ایزومراز و 5L4N: پتریدین ردوکتاز ۱

تستوسترون

اتم‌های اکسیژن شماره ۱۸ و ۱۹ تستوسترون پیوندهای هیدروژنی مهمی تشکیل داده‌اند. اتم اکسیژن در موقعیت ۱۸ با اتم‌های نیتروژن گروه‌های آمینی آدنیلیل فسفوریبوزیل ترانسفراز، دِاکسی اوریدین تری فسفات و فروکتوز ۱و۶- بیس فسفات آلدولاز (1QB7، 2YBO و 2QDG) پیوند هیدروژنی تشکیل داده است. در ضمن اتم اکسیژن موقعیت ۱۸، دو پیوند هیدروژنی متفاوت با گروه NH_2 مربوط به زنجیره جانبی[1] Arg82 در آدنیلیل فسفوریبوزیل ترانسفراز برقرار کرده است که شاید دلیلی بر قوی‌تر بودن قدرت اتصال تستوسترون نسبت به سایر لیگاندها باشد (ΔG_b-۸/۰۵ kcal/mol). اتم اکسیژن موقعیت ۱۹ تستوسترون نیز با اتم نیتروژن مربوط به گروه آمینی زنجیر اصلی[2] در تریوز فسفات ایزومراز و همچنین گروه آمینی زنجیر جانبی در پتریدین ردوکتاز ۱ پیوند هیدروژنی برقرار کرده است. ماهیت هیدروفوبی برهم‌کنش‌ها در جایگاه 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).

[1] Side Chain

[2] Backbone

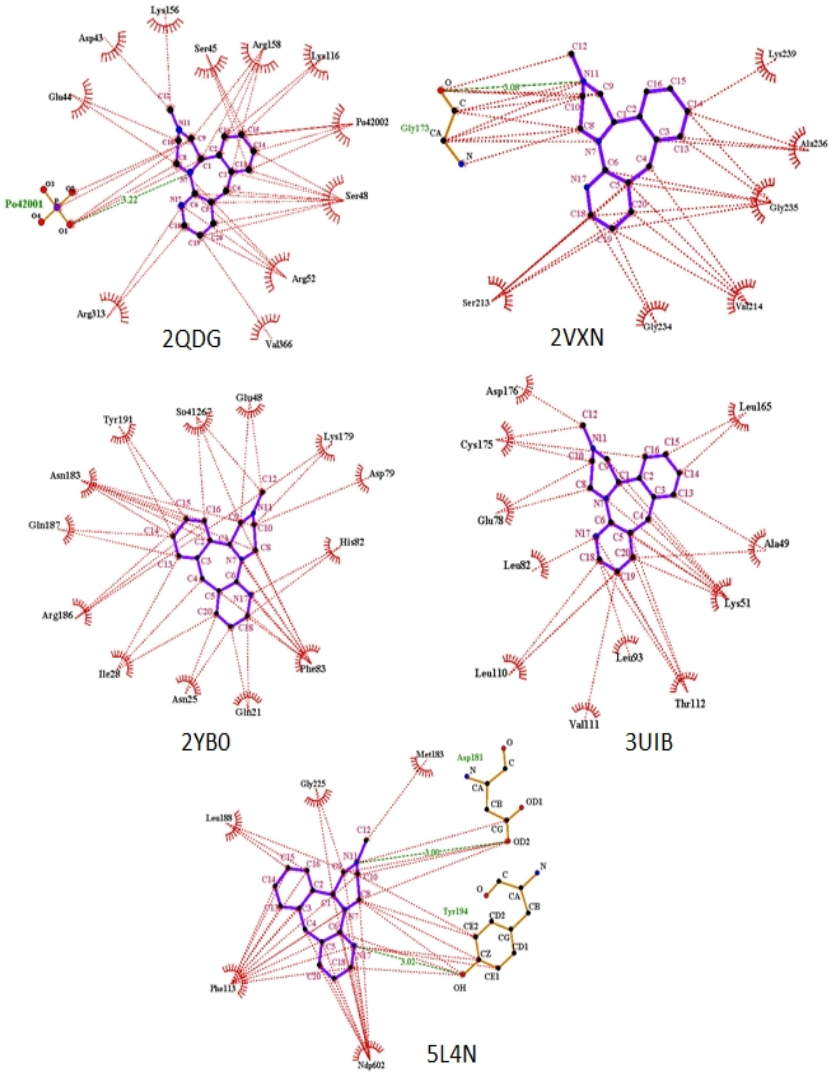


شکل ۳. الگوی برهمکنش تستوسترون با جایگاه اتصال گیرنده‌های بیولوژیک لیشمانیا: 2VXN: تریوز فسفات ایزومراز، 4JZB: فارنزیل دی فسفات سینتاز، 1QB7: آدنیلیل فسفوریبوزیل ترانسفراز، 5L4N: پتریدین ردوکتاز ۱، 3UIB: پروتئین کیناز فعال شده با میتوژن، 2QDG: فروکتوز ۱و۶-بیس فسفات آلدولاز، 2YB0: دِاکسی اوریدین تری فسفات

میرتازاپین

بیشترین انرژی آزاد میرتازاپین در اتصال به آنزیم دِاکسی اوریدین تری فسفات (2YB0) ثبت شده است (ΔG_b -۸/۶٤ kcal/mol). به دلیل برهم‌کنش‌های هیدروفوبی، طراحی آنتاگونیست‌های دِاکسی اوریدین تری فسفات قابل توجه است (شکل ٤). اتم نیتروژن واجد متیل (N11) در حلقه پی پرازین[1] میرتازاپین 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.

[1] Piperazine



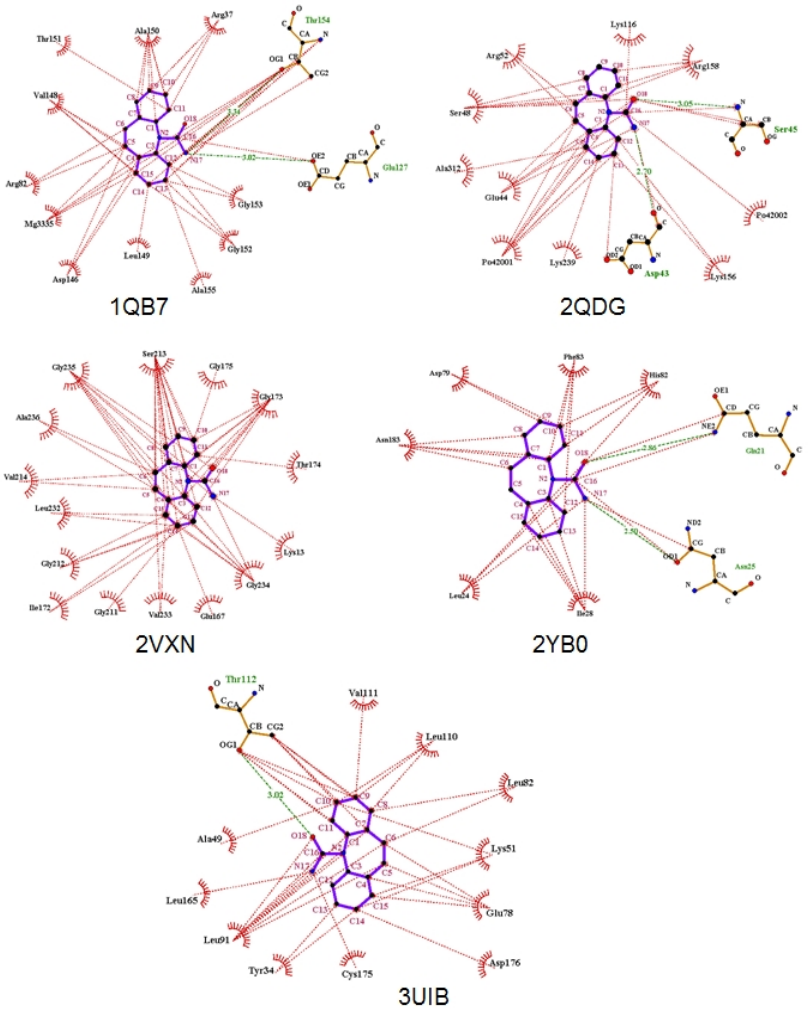
شکل ٤. الگوی برهمکنش میرتازاپین با جایگاه اتصال گیرنده‌های 2VXN: تریوز فسفات ایزومراز، 5L4N: پتریدین ردوکتاز ۱، 3UIB: پروتئین کیناز فعال‌شده با میتوژن، 2QDG: فروکتوز ۱و۶-بیس فسفات آلدولاز، 2YB0: دِاکسی اوریدین تری فسفات

کاربامازپین

طبق نتایج بدست آمده در این پروژه،کاربامازپین نیز همانند میرتازاپین بیشترین انرژی آزاد را در اتصال به آنزیم دِاکسی اوریدین تری فسفات (2YB0) از خود نشان داد (ΔG_b -۶/۷۷ kcal/mol) هر چند که در این حالت، قدرت اتصال به اندازه میرتازاپین (kcal/mol ٨/٦٤- ΔG_b) 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 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 جهت 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 ایزومراز (2VXN)،

گروه آمیدی در تشکیل پیوند هیدروژنی مشارکت نداشته است ولی برهمکنش واندوالس با Lys13، Gly173، Gly234 و Gly235 برقرار نموده است. در مقایسه با قدرت اتصال کمتر ساختار مشابه ایمی پرامین واجد استخلاف آلکیلی هیدروفوبی در موقعیت مشابه با دِاکسی اوریدین تری فسفات (ΔG_b < ٤ kcal/mol)، می‌توان به اهمیت وجود استخلاف حاوی اتم‌های دهنده و گیرنده هیدروژن در سایت برهم-کنش مذکور پی برد. البته نکته دیگری که در مقایسه الگو و قدرت اتصال دو داروی کاربامازپین و ایمی پرامین قابل ذکر است عدم وجود پیوند دوگانه در حلقه هفت ضلعی میانی ایمی پرامین است که برهم-کنش‌های هیدروفوبی مهمی را با Val214، Val233، Gly235 و Ala236 در کاربامازپین برقرار نموده است. بر اساس نقشه‌های اتصال دارو-پروتئین، در وضعیتی مشابه میرتازاپین، اتم نیتروژن داخلی کاربامازپین (N2) مشارکتی در برقراری پیوندهای هیدروژنی با جایگاه اتصال آنزیم‌های تحت مطالعه از خود نشان نداده است.

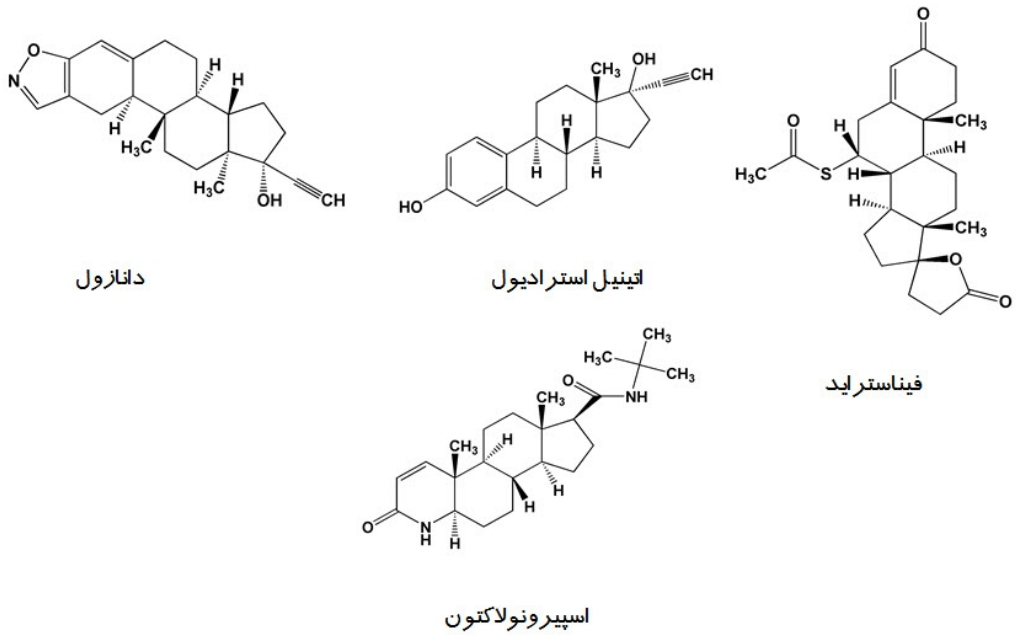


شکل ۵. الگوی برهمکنش کاربامازپین با جایگاه اتصال گیرنده‌های 2VXN: تریوز فسفات ایزومراز، 5L4N: پتریدین ردوکتاز ۱، 3UIB: پروتئین کیناز فعال شده با میتوژن، 2QDG: فروکتوز ۱و۶-بیس فسفات آلدولاز، 2YB0: دِاکسی اوریدین تری فسفات

فارماکوفورهای پیشنهادی ضد لیشمانیا

ترکیبات با هسته استروئیدی

آنچه در نگاه اول به چشم می‌خورد، وجود تعداد زیادی مولکول دارویی با ساختار استروئیدی در جدول ٤ می‌باشد. تستوسترون، نورژسترل، اتینیل استرادیول، دانازول، فیناسترایید و اسپیرونولاکتون (شکل ۶) در یک دسته ساختاری واقع‌اند هرچند از جهت طبقه بندی فارماکولوژی در گروه‌های مختلف دارویی قرار گرفته‌اند.



شکل ۶. ساختار شیمیایی تعدادی از مشتقات دارویی استروئیدی

نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهند که شاید بهترین ساختار از نظر قدرت اتصال به گیرنده‌های مورد مطالعه لیشمانیا و به ویژه آدنین فسفو ریبوزیل ترانسفراز، هسته استروئیدی باشد. این مسئله پتانسیل حلقه استروئیدی را در مهار بازیافت پورین توسط ارگانیسم لیشمانیا مورد تأکید قرار می‌دهد. بررسی‌های دقیق‌تر نشان‌دهنده این بودند که افزودن هرگونه حلقه اضافی از هر سمت به ساختار ٤ حلقه‌ای استروئیدی (دانازول و اسپیرونولاکتون) باعث کاهش انرژی آزاد در اتصال به آنزیم‌های لیشمانیایی مورد نظر می‌شود به نحوی که اضافه‌شدن یک حلقه ۵ ضلعی به ساختار ٤ حلقه‌ای در مولکول دارویی دانازول و اسپیرونولاکتون باعث گردیده است تا این دو مولکول به ترتیب ضعیف‌ترین برهمکنش‌ها را با گیرنده‌های انگل لیشمانیا داشته باشند که شاید بتوان این عامل را به افزایش دافعه فضایی[1] این مولکول‌ها در جایگاه اتصال آنزیم‌های فوق نسبت داد.

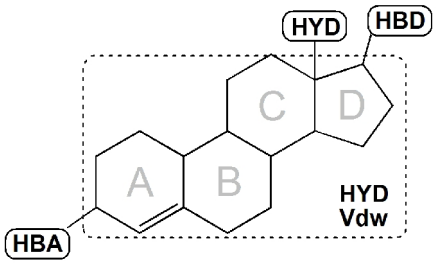
وجود گروه هیدروکسیل در موقعیت ۱۷ حلقه D استروئیدی بهترین نتیجه را به دنبال دارد. به طوری که جایگزین‌کردن این موقعیت با استخلاف‌های آمیدی مانند مولکول دارویی فیناسترایید باعث کاهش قدرت اتصال می‌شود و از این رو وجود یک گروه‌دهنده پیوند هیدروژنی[2] با اتصال مستقیم به حلقه نسبت به یک گروه گیرنده پیوند هیدروژنی[3] ارجح خواهد بود. البته در مورد فیناسترایید حذف استخلاف هیدروفوب در موقعیت یکسان حلقه D استروئیدی نیز می‌تواند یکی عامل دیگر تضعیف کننده قدرت اتصال باشد.

[1] Steric Hindrance
[2] Hydrogen Bond Donor (HBD)
[3] Hydrogen Bond Acceptor (HBA)

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 نورژسترل، تستوسترون و فیناسترایدکه به ترتیب بهترین الگوی برهمکنش را با گیرنده‌های لیشمانیا داشته اند، حاوی یک گروه کربونیل در حلقه A خود هستند و در واقع بررسی-های 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 بهینه تری 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، فیناسترایدو اتیتیل 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 تریوز 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 پیشنهاد می‌گردد. البته با انجام مطالعات ساختاری دقیق‌تر امکان پیشنهاد جزئیات بیشتر ساختاری امکان‌پذیر خواهد بود.



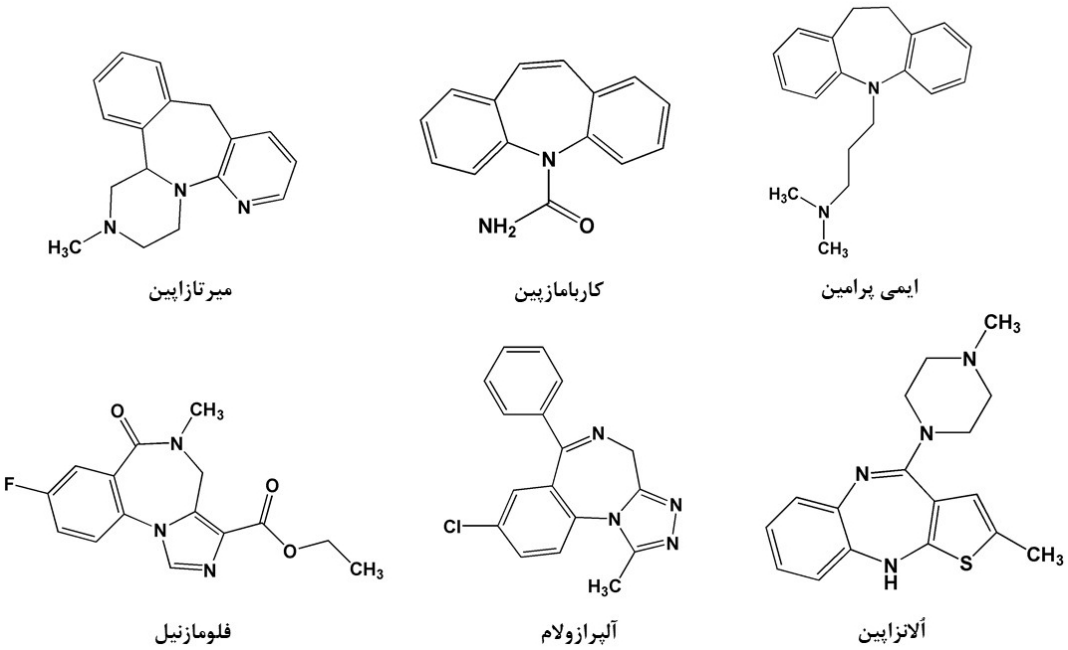
شکل ۷. ساختار شیمیایی فارماکوفور فرضی استروئیدی ضد لیشمانیا

ترکیبات سه حلقه ای جوش خورده[1]

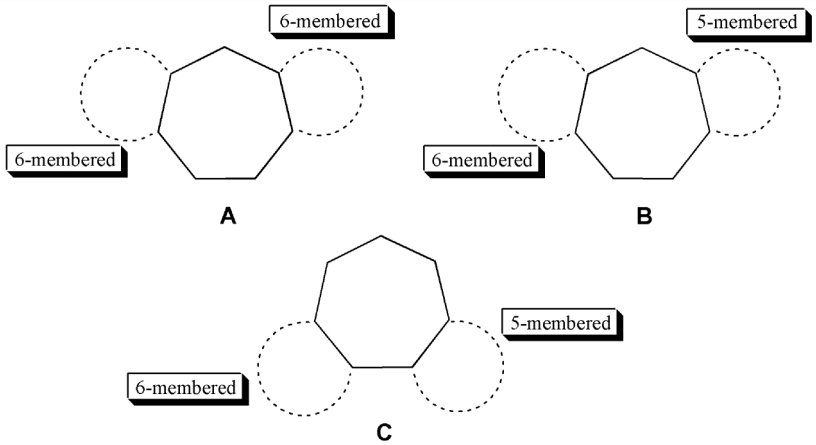
در ستون‌های سوم، چهارم و پنجم جدول ٤ تعداد زیادی از مولکول‌های دارویی مؤثر بر سیستم عصبی مرکزی شامل ضد افسردگی‌های سه حلقه‌ای، عوامل ضد تشنج و داروهای موثر جهت پیشگیری و درمان صرع مشاهده می‌گردد. آنچه که تمامی این داروها در آن مشترک هستند وجود یک هسته اصلی شیمیایی سه حلقه‌ای جوش خورده است. ساختار ۳ حلقه‌ای 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 پتریدین ردوکتاز۱ (5L4N) اتصال قابل قبولی برقرار نماید. نتایج داکینگ مولکولی نشان دادند که در ترکیبات تحت مطالعه، کیفیت اتصال تابع الگوی جوش خوردگی نیز می‌باشد (شکل ۹). همانند آنچه که در ساختار میرتازاپین وکاربامازپین (شکل ۸) قابل مشاهده است، علاوه بر الگوی اتصال، جایگزین کردن یکی از حلقه‌های شش ضلعی مجاور با یک حلقه پنج ضلعی همانند آلپرازولام (شکل ۸) و فلومازنیل (شکل ۸) نیز باعث کاهش قدرت اتصال می‌شود.

[1] Fused Tricyclic



شکل ۸. ساختار شیمیایی تعدادی از مشتقات دارویی سه حلقه‌ای

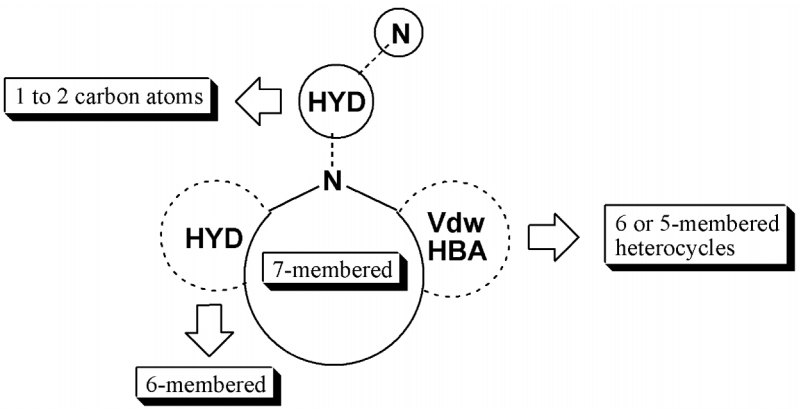


شکل ۹. الگوی جوش خوردگی حلقه‌ها در تعدادی از مشتقات دارویی سه حلقه ای. بر اساس نتایج به دست آمده از روش داکینگ مولکولی، الگوهای ساختاری فوق بر حسب قدرت اتصال محاسبه شده به پروتئین کیناز فعال شده با میتوژن (3UIB) و پتریدین ردوکتاز ۱(5L4N) به ترتیب زیر می‌باشند: A>B>C

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 اُلانزاپین یا نیتروژن در میرتازاپین بر روی حلقه‌های مجاور ساختار ۳ حلقه‌ای نیز می‌تواند باعث افزایش قدرت اتصال شود. در حالی‌که حضور یک گروه الکترون کشنده همانند فلوئور در این موقعیت در مولکول فلومازنیل باعث تضعیف قدرت اتصال این مولکول گردیده است به‌طوری که این مولکول دارویی ضعیف‌ترین و کمترین تعداد برهمکنش‌ها را با آنزیم‌های لیشمانیایی

تحت مطالعه از خود نشان داده است (تنها آنزیم‌هایی که در ۷۰ درصد گستره انرژی آزاد اتصال با فلومازنیل قرار گرفتند عبارت بودند از تریوز فسفات ایزومراز با ΔG_b -۶/۳٤ kcal/mol و همچنین فارنزیل دی فسفات سینتاز (ΔG_b-۵/۵۲ kcal/mol).

با استناد به موارد ذکرشده و همچنین با توجه به نحوه برهمکنش مولکول‌های دارویی فوق، ساختار زیر 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.



شکل ۱۰. ساختار شیمیایی فارماکوفور فرضی سه حلقه ای جوش خورده ضد لیشمانیا

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[1] این مولکول‌ها در جایگاه اتصال آنزیم‌های فوق نسبت داد. در داروهای واجد هسته شیمیایی سه حلقه ای جوش خورده، کیفیت اتصال به آنزیم، تابع الگوی جوش خوردگی ساختاری نیز می‌باشد و در ساختار میرتازاپین و کاربامازپین، جایگزینی یکی از حلقه‌های شش ضلعی مجاور با یک حلقه پنج ضلعی (آلپرازولام و فلومازنیل) باعث کاهش قدرت اتصال می‌گردد. برهمکنش‌های هیدروفوبی نورژسترل، تستوسترون و میرتازاپین در جایگاه اتصال آنزیم‌های مربوطه، امکان طراحی آنتاگونیست را مطرح می‌سازد. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده 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 نویسندگان 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).

[1] 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-Vanasse 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.