

# شناسایی و معرفی مهارکننده‌های احتمالی آنزیم لاكتات دهیدروژناز پلاسمودیوم فالسیپاروم با استفاده از تکنیک‌های محاسباتی طراحی دارو و غربالگری مجازی براساس ماکرومولکول

اسماء مولاوی اصل<sup>۱</sup>، ساقی سپهری<sup>۱\*</sup>

## مقاله پژوهشی

**مقدمه:** مalariaی انسانی یک بیماری عغونی-خونی است که توسط تک یاخته‌ای از جنس پلاسمودیوم ایجاد می‌شود. پشه‌های جنس آنوفل با گزش، مalaria را انتقال داده و به عنوان تنها ناقلین بیولوژیک این بیماری شناخته شده‌اند. هدف از این پژوهش شناسایی و معرفی مهارکننده‌های احتمالی آنزیم لاكتات دهیدروژناز پلاسمودیوم فالسیپاروم با استفاده از تکنیک‌های محاسباتی طراحی دارو و غربالگری مجازی براساس ماکرومولکول است.

**روش بررسی:** در این مطالعه تحلیلی-توصیفی، در ابتدا ۸۷۳۳ ترکیب از پایگاه داده PubChem جمع‌آوری شد. در مرحله دوم، بر روی ترکیبات کتابخانه، غربالگری مجازی توسط فیلتراسیون‌های مختلف انجام گردید و ترکیباتی که خواص داروهمانندی و فارماکوکینتیک مناسبی نشان دادند انتخاب شدند؛ در نهایت برای بررسی حالت اتصال و برهمکنش‌های آن‌ها در جایگاه فعال آنزیم، شبیه‌سازی داکینگ مولکولی انجام گرفت.

**نتایج:** یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که پیوندهای درگیر در اتصال ترکیب با آنزیم، برهمکنش‌های هیدروفوب و پیوندهای هیدروژنی و در اولویت پایین تر برهمکنش  $\pi-\pi$  می‌باشند. در میان ترکیبات مورد مطالعه بهترین نتایج داکینگ مربوط به ترکیبات با کد شناسایی ۱۰/۲۹-CID\_11912187، CID\_23603337، CID\_23603310 و CID\_11912184 به ترتیب با انرژی آزاد اتصال  $-9/06$ ،  $-9/04$  و  $-9/00$ - کیلوکالری بر مول است. به طور کلی، وجود بخش‌های لیپوفیل و پیوندهای هیدروژنی ترکیبات باعث افزایش قدرت اتصال و در نتیجه مهار احتمالی آنزیم می‌شوند.

**نتیجه‌گیری:** براساس نتایج، تمام ترکیبات اتصالات مناسبی را در جایگاه فعال آنزیم از خود نشان می‌دهند و می‌توانند به عنوان مهارکننده‌های احتمالی موثر آنزیم لاكتات دهیدروژناز پلاسمودیوم فالسیپاروم مطرح شوند.

**واژه‌های کلیدی:** داکینگ مولکولی، داروهمانندی، فارماکوکینتیک، مalaria

**ارجاع:** مولاوی اصل اسماء، سپهری ساقی. شناسایی و معرفی مهارکننده‌های احتمالی آنزیم لاكتات دهیدروژناز پلاسمودیوم فالسیپاروم با استفاده از تکنیک‌های محاسباتی طراحی دارو و غربالگری مجازی براساس ماکرومولکول. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۴۰۲؛ ۳۱: ۶۲۸۶-۶۳۰۰. (۱)

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

\*نویسنده مسئول؛ تلفن: ۰۴۵۳۳۵۲۲۴۳۷، پست الکترونیکی: sepehri.saghi@yahoo.com، صندوق پستی: ۵۶۱۸۹-۸۵۹۹۱.

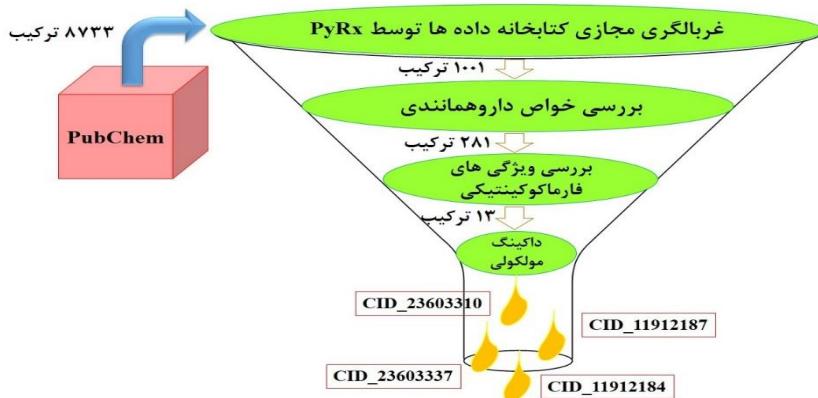
## مقدمه

داروهای ضد مalaria مانند پلاسموپسین I، II و V، فالسیپاپین،<sup>۲</sup> لاکتات دهیدروژناز *Pf* و پیریدوکسال کیناز وجود دارد. از میان این اهداف، آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH) یک هدف ارجح برای داروهای ضد مalaria است؛ زیرا تولید آدنوزین تری فسفات (ATP) در پلاسمودیوم را از طریق مسیر گلیکولیتیک کنترل می‌کند. مسیرهای گلیکولیتیک و آنزیم‌های مرتبط به دلیل واستگی انگلی آن‌ها به چرخه گلیکولیز برای تولید انرژی، اهداف دارویی حیاتی هستند (۵). *PfLDH* یک نقش مهم در آخرین مرحله گلیکولیز دارد و تبدیل پیروات به لاکتات را کاتالیز می‌کند. آنزیم *PfLDH* بیشتر با توسعه NAD<sup>+</sup> مرتبط است که برای آنزیم گلیکولیتیک گلیسرآلدئید-۳-فسفات دهیدروژناز مورد نیاز است (۶). انگل‌های *Pf* برای تولید انرژی خود به این آنزیم نیازمند هستند که برای عملکرد، رشد و توسعه بیوشیمیایی مهم است. بنابراین، این آنزیم یک هدف دارویی مهم در درمان Malaria است و مهار آن باعث مرگ انگل می‌گردد. توالی اسیدهای آمینه برای LDH انسانی و *PfLDH* شباهت کمی وجود دارد (۷). بنابراین، هدف‌گیری انتخابی این آنزیم گلیکولیتیک در *PfLDH* قابل توجه است اما LDH انسانی را متوقف نمی‌کند. این ویژگی‌ها، *PfLDH* را به عنوان یک هدف مناسب برای طراحی مبتنی بر ساختار ضد Malariaهای جدید توصیه می‌کند. غربالگری مجازی (VS) یک استراتژی کاربردی است که برای تمایز مولکول‌ها براساس ویژگی مورد نظر استفاده می‌شود و می‌تواند برای شناسایی ترکیبات الگوی جدید مفید باشد. می‌توان آن را به دو دسته گستردۀ تقسیم کرد: مبتنی بر ساختار و مبتنی بر لیگاند (۸). روش‌های غربالگری مجازی مبتنی بر ساختار یا گیرنده SBVS (Zmannی بسیار مناسب هستند که اطلاعات مربوط به ساختار هدف در دسترس باشد. در این روش حالت‌های اتصال برای هر لیگاند پیش‌بینی می‌شود. رویکردهای غربالگری مجازی مبتنی بر لیگاند (LBVS) از اطلاعات داده‌های ساختار-فعالیت مولکول‌های فعال شناسایی شده با هدف شناسایی ترکیبات ساختاری متنوع با زیست فعالیتی مشابه استفاده می‌کنند. ترکیبات الگوی شناسایی شده از VS، به

Malaria کشنده‌ترین بیماری عفونی است که بیش از ۳۰۰ سال قبل آغاز گردیده اما طبق گزارش سازمان بهداشت جهانی طی دو دهه اخیر، کاهش چشمگیر موارد مرگ و میر از این بیماری مشاهده شده است. در سال ۲۰۱۹، ۲۲۹ میلیون نفر در ۸۷ کشور به Malaria مبتلا و تعداد کل Malaria توسط انگل‌های تک یاخته‌ای جنس پلاسمودیوم ایجاد و از طریق پشه آنوفل منتشر می‌گردد. پنج گونه شناخته شده Malaria شامل پلاسمودیوم Malaria، پلاسمودیوم اوالا، پلاسمودیوم ویواکس، پلاسمودیوم ناولسکی و پلاسمودیوم فالسیپاروم وجود دارند. از بین پنج گونه انگلی پلاسمودیوم، پلاسمودیوم فالسیپاروم انسان را آلوده می‌کند و از میان همه آن‌ها کشنده‌تر است (۲). در غیاب یک واکسن موثر، استفاده از روش‌های شیمی‌درمانی به عنوان عوامل ضد Malaria تنها راه باقی‌مانده برای مدیریت و پیشگیری از بیماری Malaria است. تحقیقات نشان دادند که اثربخشی بیشتر ترکیبات ضد Malaria به گونه‌های پلاسمودیوم مقاومت نشان می‌دهند. مقاومت در برابر تمام گروه‌های اصلی داروها شامل ۴-آمینوکوئینولین‌ها (کلروکین، آمودیاکین و پیپراکین)، آنتی فولات‌ها، آریل آمینو الکل‌ها (کینین، لومفانترین و مفلوکین)، مشتقات آرتیزینین، آنتی‌بیوتیک‌ها (کلیندامایسین و داکسی سایکلین) و نپتوکوکینون گزارش شده است (۳). اینامر باعث می‌شود محققان بر روی اهداف پلاسمودیوم فالسیپاروم (*Pf*) کار کنند تا داروهای موثر بر ضد آن و سایر گونه‌های Malaria را که بر انسان موثر است معرفی نمایند. کلروکین به طور وسیعی از دهه ۱۹۴۰ به عنوان داروی انتخابی با هزینه قابل قبول برای درمان همه انواع Malaria استفاده شده است. ویژگی‌های مناسب کلروکین باعث استفاده گستردۀ از آن و نهایتاً مقاومت به آن در *Pf* منجر شد. در نتیجه این گونه انگل مسئول گستردۀ ترین مشکلات Malaria انسانی گردید (۴). این امر نیاز به توسعه داروهای ضد Malaria جدید را افزایش داده است که در کنترل Malaria موثرتر باشد. اهداف مختلفی برای

ترکیبات دارویی ضد مالاریا طراحی شدند. بدین منظور کتابخانه‌ای از ترکیبات تشکیل شد و با بهره‌گیری از فیلتراسیون‌های مختلف ترکیبات مورد ارزیابی قرار گرفتند. فلوچارت فرایند VS در شکل ۱ نشان داده شده است.

عنوان نقطه شروعی برای بهینه‌سازی ترکیبات الگو در برنامه‌های کشف دارو می‌باشد (۹). در این مطالعه، به منظور شناسایی و معرفی مهارکننده‌های بالقوه جهت مهار آنزیم *pflLDH* با استفاده از روش‌های غربالگری مجازی مبتنی بر ساختار، مهارکننده‌های احتمالی آنزیم *pflLDH* به عنوان



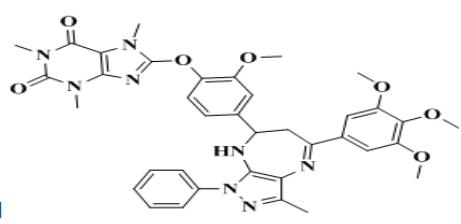
شکل ۱: فلوچارت فرایند کلی غربالگری مجازی

شود. در این پژوهش ابتدا کتابخانه ترکیبات از پایگاه داده *PubChem* استخراج شد. در پایگاه *PubChem* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) بیش از ۱۰۰ میلیون ساختار وجود دارد. کتابخانه شامل ۸۷۳۳ ترکیب از پایگاه داده *PubChem* تشکیل شد. همه ساختارها در فرمات *SDF* ذخیره و سپس به فرمات *PyRx* (*PyRx* نرم‌افزار توسط *pdbqt*) تبدیل شدند. در مرحله بعد، ترکیبات کتابخانه داخل جایگاه فعال آنزیم *pflLDH* با استفاده از آنالیز داکینگ روی *PyRx* (۰/۸ آنالیز) تهییه کتابخانه داده شد. الگوریتم *run* برای هر آنالیز داکینگ روی ۱۰۰ تنظیم شد. الگویتیم به کار برده شده لامارکین ژنتیک بود. نتایج داکینگ براساس انرژی آزاد اتصال مرتب و ترکیبات با بالاترین انرژی آزاد اتصال انتخاب گردیدند.

**بررسی خواص داروهمناندی:** از میان کل ترکیبات کتابخانه، ۱۰۰۱ ترکیب از مرحله قبل با بالاترین انرژی آزاد اتصال انتخاب شدند و برای ارزیابی خواص داروهمناندی و پارامترهای قانون پنج لیپنیسکی وارد این مرحله گردیدند. پارامترهای مورد

## روش بررسی

این پژوهش به صورت توصیفی-تحلیلی صورت گرفت. در این مطالعه ترکیب ۷-۴،۶-۲-۷،۰۳،۱-تری متیل-۳-۲،۷،۶،۳-تتراهیدرو-۱*H*-پورین-۸-یل(اکسی)-۳-متوكسی-۳-متیل-۱-فنیل-۵-۴،۳-تری متوكسی فنیل)-۱-فنیل-۴،۱-[*b*]۴،۳-دیازپین (ترکیب ۱، ۸،۷،۶،۱-تتراهیدروپیرازولو [۱،۲-۸] دیازپین (ترکیب ۲) با فعالیت ضد مالاریای قوی (مقدار  $IC_{50}$  برابر ۱۱/۳ مکروگرم بر میلی لیتر و درصد مهار برابر ۹۴/۲٪) که در مطالعات قبلی گزارش شده بود (۱۰) به عنوان ترکیب الگو برای تهییه کتابخانه ترکیبات مورد استفاده قرار گرفت.



شکل ۲. ساختار شیمیایی ترکیب ۱

تهییه کتابخانه داده و غربالگری مجازی: قبل از شروع غربالگری مجازی، ابتدا لازم است کتابخانه‌ای از ترکیبات تهییه

لیگاند، با استفاده از نرمافزار اتوکاک تولز اتم‌های هیدروژن به ساختار مولکول افزوده شدند. در مرحله بعد، اتم‌های هیدروژن غیرقطبی در اتم کربن مربوطه ادغام و بار الکتریکی گستیگر (بارهای الکتریکی اتم که به صورت تجربی محاسبه می‌گردد) و تعداد درجات آزادی زوایای پیچشی لیگاند با استفاده از نرمافزار اتوکاک تولز محاسبه گردید. در نهایت فایل لیگاند به صورت *pflLDH pdbqt* ذخیره شد. ساختار کریستالی سه بعدی آنزیم *ICET* از پایگاه بانک داده‌های پروتئین دانلود گردید (کد شناسایی ۱). روش انجام داکینگ و آنالیز کانفورمرها براساس توضیحات در مقالات قبلی صورت گرفت (۱۳). در ابتدا با استفاده از نرمافزار *Notpat++* و *Discovery Studio Viewer lite 4.0* ساختار کریستالوگرافی حذف گردیدند. پس با استفاده از نرمافزار اتوکاک تولز اتم‌های هیدروژن به ساختار کریستالوگرافی افزوده شدند. در مرحله بعد، اتم‌های هیدروژن غیرقطبی در اتم کربن مربوطه ادغام شده و بار الکتریکی کلمن و پارامترهای *pdbqt* حلال پوشی ماکرومولکول محاسبه و در نهایت به صورت *swissADMET* ذخیره گردید. پس از تهیه فایل‌های ورودی مورد نیاز داکینگ (ماکرومولکول، لیگاند و نقشه اتصال)، مطالعات داکینگ به منظور مدل سازی برهمکنش‌های لیگاند-گیرنده، با استفاده از الگوریتمی تحت عنوان ژنتیک لامارکین انجام شد. در مرحله بعد، براساس حجم مولکولی لیگاندهای طراحی شده، شبکه‌ای با بعد  $60 \times 60 \times 60$  آنگستروم در راستای محورهای سه گانه مختصات و فاصله نقاط شبکه  $0.573/573$  آنگستروم (یک چهارم طول پیوند ساده کربن-کربن) که در برگیرنده جایگاه *gpf* فعال گیرنده بود، در نظر گرفته شد. فایل شبکه به صورت *gpf* در اختیار ذخیره گردید. پارامترهای ذخیره شده در فایل *gpf* در انتخاب محاسبات اتوگرید قرار گرفته است. پس از انجام عملیات داکینگ، نتایج شامل کانفورماتیون‌های مولکول، انواع برهمکنش‌های مولکول با پروتئین شامل برهمکنش‌های هیدروژنی، هیدروفوبی و  $\pi-\pi$  با اسیدهای آمینه موجود در جایگاه اتصال پروتئین‌ها قابل مشاهده و تجزیه و تحلیل می‌باشند. به منظور دستیابی به این اطلاعات از نرمافزارهای

ارزیابی شامل وزن مولکولی، تعداد اتم‌های دهنده هیدروژن، تعداد اتم‌های گیرنده هیدروژن، لیپوفیلیسیته (*LogP*، *TPSA*) و تعداد پیوندهای قابل چرخش است. تمام این خواص با استفاده از وب سرور *Molinspiration* محاسبه شد (<https://www.molinspiration.com>).

**بررسی ویژگی‌های فارماکوکینتیکی ترکیبات (ADMET):** خواص فارماکوکینتیک شناخته شده تحت عنوان *ADMET* (جذب، پخش، متابولیسم، دفع و سمتیت) موقعیت ترکیبات دارویی را در ارگانیسم بررسی می‌کنند. یک داروی موفق تنها منوط به داشتن قدرت اثر خوب نیست بلکه باید ویژگی‌های *ADMET* قابل قبولی داشته باشد. بنابراین در این مرحله خواص *ADMET* ۲۸۱ ترکیب راه یافته از مرحله قبل توسط *swissADMET* سرورهای *swissADME* و *admetSAR* (<http://www.swissadme.ch>) مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت از ۲۸۱ ترکیب وارد شده ۱۳ ترکیب توانستند پروفایل فارماکوکینتیک خوبی را نشان دهند و به مرحله بعدی راه پیدا کنند.

**مطالعه شبیه سازی داکینگ مولکولی:** برای انجام روش داکینگ مولکولی از نرمافزار اتوکاک ۴.۲ استفاده شد (۱۱). بدین منظور نرمافزار اتوکاک بر روی کامپیوتر ۸ هسته‌ای تحت سیستم عامل ویندوز نصب گردید. ژنتیک الگوریتم (GA) به عنوان الگوریتم جستجوگر توسط نرمافزار مورد استفاده قرار گرفت. برنامه گرافیکی اتوکاک تولز ۶.۵.۱ (ADT) برای تهییه، انجام و آنالیز شبیه‌سازی‌های داکینگ مولکولی به کار رفت. در ابتدا، ساختارهای دوبعدی ترکیبات به وسیله برنامه *ChemDraw Ultra 10.0* و سپس با استفاده از *HyperChem, Release 8.0 for Hyperchem8* نرمافزار *Windows, Molecular Modeling System: HyperCube, 2007* در میدان نیروی مکانیک مولکولی *Polak-Polak PM3* و الگوریتم (MM+) روش نیمه تجربی *Ribiere* از نظر انرژی بهینه شدند. پس از بهینه‌سازی انرژی

تحت عنوان انعطاف‌پذیری مولکول شناخته می‌شود، جذب گوارشی خوب و TPSA پایین (مجموع پیوندهای هیدروژنی دهنده و پذیرنده). علاوه بر آن‌ها، قانون پنج لیپنسکی ویژگی‌های داروهمانندی شامل جرم مولکولی، مقادیر پیوندهای هیدروژنی دهنده و پذیرنده و LogP را معرفی می‌کند. مجموع این معیارها کمک می‌کند که ترکیباتی با خصوصیات فارماکوکینتیک بهتر در بدن انسان برای تجویز خوراکی معرفی گردد. در این فاز، پارامترهای فیزیکوشیمیایی مانند CLogP، TPSA، جرم مولکولی، پیوندهای هیدروژنی دهنده و گیرنده، و پیوندهای قابل چرخش بر روی ترکیبات انتخاب شده از مرحله قبل پیاده‌سازی شد. نهایتاً، ۲۸۱ ترکیب از معیارهای ذکر شده تعییت کردند و خواص داروهمانندی مناسبی را نشان دادند.

**خواص فارماکوکینتیک (ADMET):** محاسبه خواص فارماکوکینتیک ترکیبات در شناسایی اولیه آن‌ها به عنوان ترکیبات الگو قابل توجه می‌باشد. بررسی این خواص منجر به حذف کاندیدهای دارویی ضعیف می‌شود. در این مرحله خواص فیزیکوشیمیایی و فارماکوکینتیکی ترکیبات انتخاب شده توسط وب سرورهای swissADME و admetSAR و PyRx انجام شد. بعد از اتمام کار ۱۰۰۱ ترکیب با انرژی آزاد اتصال برابر و بالاتر از ۸/۷۹ Kcal/mol در مرحله بعد انتخاب شدند (برابر و بالاتر از انرژی آزاد اتصال ترکیب ۱، ۸/۷۹ Kcal/mol).  
قبل مورد بررسی قرار گرفت. از این تعداد، ۱۳ ترکیب با بهترین خواص فارماکوکینتیک انتخاب شدند. نتایج خواص دارو همانندی و فارماکوکینتیک ۱۳ ترکیب منتخب در جداول ۱ و ۲ نشان داده شده است.

Discovery Studio Viewer lite 4.0 (Accelrys Inc, San Diego, CA, USA) استفاده شد (تجزیه و تحلیل آماری).

در این مطالعه ترکیبات با پتانسیل مهار آنزیم pFLDH براساس روش غربالگری مجازی مبتنی بر ساختار شناسایی و معرفی گردید.

#### ملاحظات اخلاقی

کد اخلاق مصوبه این پروژه توسط دانشگاه علوم پزشکی اردبیل IR.ARUMS.REC.1397.138 است.

## نتایج

**تشکیل کتابخانه و غربالگری مجازی:** در زمینه کشف و طراحی ترکیبات دارویی، VS می‌تواند به طور موثری برای انتخاب مولکول‌های زیست فعال بالقوه از کتابخانه ترکیبات برای اتصال به پروتئین هدف استفاده شود. در این پروژه از پایگاه داده PubChem برای جستجوی ترکیبات با شباهت ۷۰٪ به ترکیب ۱ استفاده شد. نتیجه این جستجو براساس شباهت ساختاری، منجر به تشکیل یک کتابخانه با ۸۷۳۳ ترکیب گردید. سپس VS بر روی ترکیبات جمع‌آوری شده توسط نرمافزار PyRx انجام شد. بعد از اتمام کار ۱۰۰۱ ترکیب با انرژی آزاد اتصال برابر و بالاتر از ۸/۷۹ Kcal/mol در مرحله بعد انتخاب شدند (برابر و بالاتر از انرژی آزاد اتصال ترکیب ۱، ۸/۷۹ Kcal/mol).

**خواص داروهمانندی:** یکی از فاکتورهای مهم برای کشف و پیشرفت ترکیبات زیست فعال به عنوان یک داروی خوراکی فراهمی زیست بالای آن‌ها است. برای پیش‌بینی ترکیبات زیست فعال به عنوان یک داروی خوراکی خوب باید معیارهای زیر را مورد توجه قرار داد: پیوندهای قابل چرخش مولکول که

جدول ۱: خواص داروهمندی ترکیبات منتخب حاصل از غربالگری مجازی

nROTB	NOHNH	NON	MW	TPSA	CLogP	ترکیب
۶	۱	۹	۴۷۳/۴۱	۱۰۰/۱۷	۳/۶۳	CID_86764490
۷	۱	۹	۴۶۹/۴۵	۱۰۰/۱۷	۲/۹۶	CID_24464444
۸	۱	۹	۴۶۸/۴۷	۱۰۸/۳۷	۳/۴۳	CID_24342862
۶	۴	۱۰	۴۴۱/۴۹	۱۲۴/۷۹	۲/۲۹	CID_14888646
۵	۴	۱۰	۴۲۷/۴۶	۱۲۴/۷۹	۱/۸۹	CID_14348666
۵	۴	۱۰	۴۲۷/۴۶	۱۲۴/۷۹	۱/۹۲	CID_14348662
۵	۲	۸	۴۰۴/۴۳	۹۸/۱۳	۳/۲۳	CID_11524240
۵	۱	۹	۴۵۳/۸۹	۹۲/۲۳	۳/۷۸	CID_989632
۶	۳	۸	۴۷۱/۹۰	۱۱۵/۹۱	۴/۳۱	CID_23603337
۶	۳	۸	۴۷۱/۹۰	۱۱۵/۹۱	۴/۵۰	CID_23603310
۵	۲	۹	۴۴۶/۴۶	۱۰۳/۸۴	۲/۶۳	CID_11912184
۵	۲	۹	۴۶۰/۴۹	۱۰۳/۸۴	۳/۰۸	CID_11912187
۵	۴	۱۰	۴۲۷/۴۶	۱۲۴/۷۹	۱/۹۲	CID_14348655

TPSA: سطح توپولوژیک قطبی؛ MW: جرم مولکولی؛ NON: تعداد پیوندهای هیدروژنی پذیرنده؛ NOHNH: تعداد پیوندهای هیدروژنی دهنده؛

nROTB: تعداد پیوندهای قابل چرخش

جدول ۲. ویژگی‌های فارماکوکینتیکی ترکیبات منتخب حاصل از غربالگری مجازی

ترکیب	کارسینوژن	سبیل	مهار کننده CYP3A4	مهار کننده CYP2D6	مهار کننده CYP2C9	مهار کننده CYP2C19	CYP1A2	P-gp	سوسپرا	BBB	GI	جذب
CID_86764490	خیر	خیر	خیر	بله	بله	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	بالا	بالا
CID_24464444	خیر	خیر	خیر	بله	بله	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	بالا	بالا
CID_24342862	خیر	خیر	خیر	بله	بله	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	بالا	بالا
CID_14888646	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	بالا	بالا
CID_14348666	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	بالا	بالا
CID_14348662	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	بالا	بالا
CID_11524240	خیر	خیر	خیر	بله	بله	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	بالا	بالا
CID_989632	خیر	خیر	خیر	بله	بله	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	بالا	بالا
CID_23603337	خیر	خیر	خیر	بله	بله	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	بالا	بالا
CID_23603310	خیر	خیر	خیر	بله	بله	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	بالا	بالا
CID_11912184	خیر	خیر	خیر	بله	بله	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	بالا	بالا
CID_11912187	خیر	خیر	خیر	بله	بله	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	بالا	بالا
CID_14348655	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	بالا	بالا

GI: جذب گوارشی؛ BBB: سد خونی-غزی؛ P-gp: گلیکوپروتئین

پروتکل داکینگ، لیگاند کلروکین (کوکریستال) از جایگاه فعال آنزیم حذف شد و مجدداً در جایگاه فعال داک گردید. تجزیه و تحلیل نتایج تحت عنوان ریشه انحراف میانگین مربع

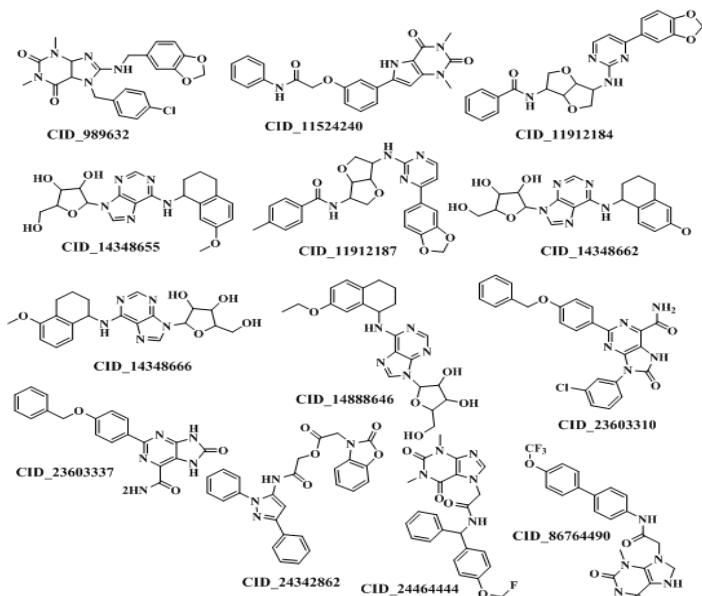
مطالعات شبیه‌سازی داکینگ مولکولی: شبیه‌سازی داکینگ مولکولی برای مطالعه حالت‌های اتصال ترکیبات منتخب داخل جایگاه فعال آنزیم انجام شد. در ابتدا به منظور اعتبار سنجی

۹/۰۶- کیلوکالری بر مول برهمنکش‌های زیر را نشان داد (شکل ۵): یک پیوند هیدروژنی بین اتم نیتروژن حلقه پیریمیدین و اسید آمینه Gly99 تشکیل شد. اسیدآمینه‌های Phe100, Tyr85, Ile119, Phe52, Val26, Val138, Ala98, Thr97 و Ile31 با ترکیب CID\_23603337 برهمنکش‌های هیدروفوب تشکیل دادند. حالت اتصال CID\_11912187 در جایگاه فعال آنزیم در شکل ۶ مشاهده می‌شود. این ترکیب دو پیوند هیدروژنی نشان داد؛ دو پیوند هیدروژنی بین NH گروه آمیدی متصل به حلقه فنیل و NH متصل به حلقه پیریمیدین و اسید آمینه Glu122. این ترکیب همچنین برهمنکش‌های هیدروفوب، Ala98, Ile54, Phe52, Ile119, Ile121 با اسید آمینه‌های Phe100 و Gly99 تشکیل داد. ترکیب ۱۳ با اسید آمینه Phe100 آزاد اتصال دارد. ترکیب ۱۴ با اسید آمینه Glu122 آزاد اتصال دارد. ترکیب ۱۵ با اسید آمینه His126 آزاد اتصال دارد. ترکیب ۱۶ با اسید آمینه Asp53 آزاد اتصال دارد. ترکیب ۱۷ با اسید آمینه Gly27 آزاد اتصال دارد. ترکیب ۱۸ با اسید آمینه Ala98 آزاد اتصال دارد. ترکیب ۱۹ با اسید آمینه Gly98 آزاد اتصال دارد. ترکیب ۲۰ با اسید آمینه Phe52 آزاد اتصال دارد.

(RMSD) بین حالت‌های داک شده و کریستالوگرافی شده انجام گردید. مقدار RMSD به دست آمده بین کانفورماتیون داک شده کلروکین و حالت کریستال شده برابر ۱/۰۳ آنگستروم بود. براساس شاخص بین‌المللی مقادیر زیر ۲ آنگستروم مورد پذیرش می‌باشد. بعد از اعتبارسنجی پروتکل داکینگ، بررسی نتایج داکینگ ۱۳ ترکیب منتخب از مرحله قبل نشان داد که تمام این ترکیبات فضای مشابه را درون جایگاه فعال آنزیم اشغال می‌کنند. ساختار شیمیایی این ۱۳ ترکیب در شکل ۳ نشان داده شده است.

داکینگ مولکولی ۱۳ ترکیب حاصل از غربالگری مجازی در جایگاه فعال آنزیم pfLDH با کد شناسایی 1CET در نرم‌افزار داکینگ انجام گردید (جدول ۳).

بالاترین انرژی آزاد اتصال (Kcal/mol) ۱۰/۲۹ برای برهمکنش CID\_23603310 با اسید آمینه‌های جایگاه فعال به صورت زیر تفسیر می‌شود (شکل ۴): دو پیوند هیدروژنی بین اتم نیتروژن حلقه پیریمیدین و NH آمیدی ترکیب و اسید آمینه Gly99 تشکیل شد. برهمنکش‌های هیدروفوب لیگاند با Asp53, Ile119, Gly27, Ile31, Met30, His126, Ala98, Thr97, Phe100, Thr101, Phe52, Gly99 و Gly27 با اسید آمینه‌های Asp53, Ile119, Ile31, Met30, His126, Ala98, Thr97, Phe100, Thr101, Phe52 مشاهده گردید. ترکیب ۱۳ با انرژی آزاد اتصال



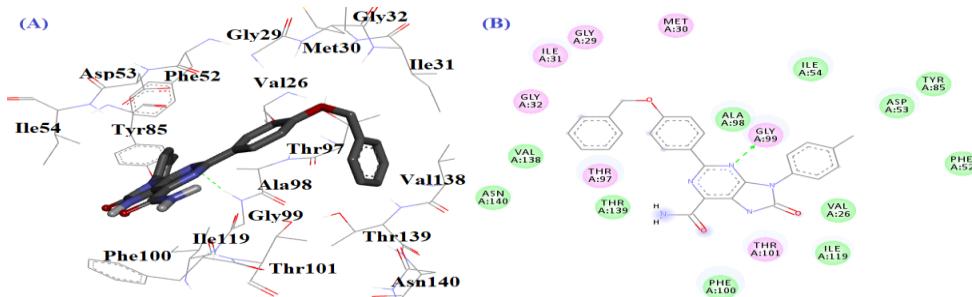
شکل ۳: ساختارهای شیمیایی ۱۳ ترکیب منتخب راه یافته به مرحله داکینگ مولکولی

جدول ۳: انرژی آزاد اتصال و برهمکنش‌های هیدروژنی، هیدروفوبی و  $\pi-\pi$  ترکیبات منتخب حاصل از غربالگری مجازی در جایگاه فعال آنزیم *pJLDH*

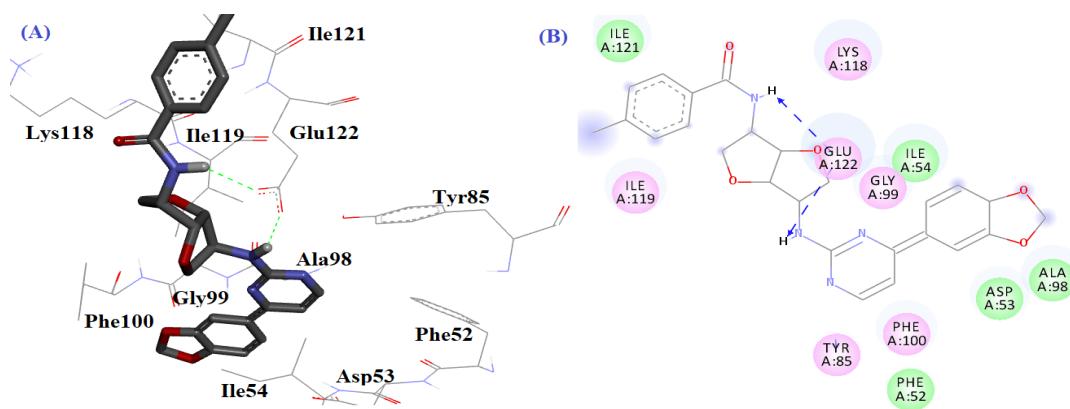
$\pi-\pi$ برهمکنش	پیوندهای هیدروفوب	پیوندهای هیدروژن	$\Delta G_{\text{binding}}$	ترکیبات
-	Lys118, Glu122, Ile119, Asp53, Gly27, Thr97, Ala98, Gly32, Ile31, Ser28, Met30	Gly29, Gly99	-۸/۹۰	CID_86764490
-	Glu122, Ile119, Ile54, Ala98, Asp53, Gly27, Val26, Phe52	Gly99	-۹/۰۰	CID_24464444
-	Lys118, Glu122, Ile119, Gly99, Ala98, Ile54, Thr97, Val55, Gly27, Gly29, Ile31, Met58	Asp53	-۹/۰۴	CID_24342862
Tyr85	Ile119, Ile54, Ala98, Gly99, Phe100	Thr101, Tyr85, Glu122	-۷/۰۰	CID_14888646
-	Ile119, Glu122, Met30, Gly29, Gly27, Thr97, Ala98, Gly99	Ile31, Ile54, Asp53, Tyr85	-۷/۲۳	CID_14348666
-	Ile123, Ile119, Ile31, Gly32, Gly27, Thr97, Ala98, Gly99, Ile54, Gly29	Tyr85, Glu122	-۷/۷۹	CID_14348662
-	Tyr85, Lys118, Glu122, Ile119, Phe52, Val26, Gly27, Ala98, Thr97, Phe100, Ser28, Gly29	Gly99, Asp53	-۷/۰۳	CID_11524240
-	Lys118, Leu115, Phe100, Glu122, Ile119, Tyr85, Ala98, Ile54, Asp53	-	-۱۰/۲۹	CID_989632
-	Tyr85, Ile119, Phe52, Val26, Val138, Ala98, Thr97, Phe100, Ile31	Gly99	-۹/۰۶	CID_23603337
-	Phe52, Asp53, Ile119, Gly27, Ile31, Met30, Gly29, Thr97, Ala98, Phe100, Thr101	Gly99	-۸/۳۱	CID_23603310
-	Ile54, His126, Ile119, Val26, Phe52, Gly27, Ala98, Asp53	Tyr85, Glu122	-۷/۱۵	CID_11912184
-	Ile121, Ile119, Phe52, Ile54, Ala98, Gly99, Phe100	Glu122	-۷/۸۶	CID_11912187
-	Tyr85, Glu122, Ile119, Asp53, Ile54, Gly27, Ala98, Phe100, Thr101, Gly99	Ile31, Gly99, Thr97	-۸/۰۲	CID_14348655



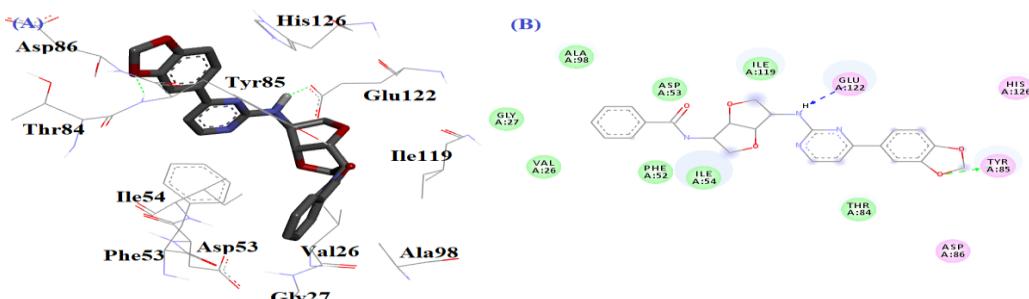
شکل ۴: حالت اتصال و برهمکنش‌های (A) سه بعدی (B) دو بعدی ترکیب CID\_23603310 در جایگاه فعال آنزیم *pJLDH*



شکل ۵: حالت اتصال و برهمکنش‌های (A) سه بعدی (B) دو بعدی ترکیب CID\_23603337 در جایگاه فعال آنزیم pfLDH



شکل ۶: حالت اتصال و برهمکنش‌های (A) سه بعدی (B) دو بعدی ترکیب CID\_11912187 در جایگاه فعال آنزیم pfLDH



شکل ۷: حالت اتصال و برهمکنش‌های (A) سه بعدی (B) دو بعدی ترکیب CID\_11912184 در جایگاه فعال آنزیم pfLDH

دakinig مولکولی همه چهار ترکیب مذکور انرژی آزاد اتصال منفی تری نسبت به کلروکین نشان داده اند. ساختار دو ترکیب CID\_11912184 و CID\_11912187 مشابه یکدیگر است. ساختار CID\_11912187 یک گروه متیل اضافه نسبت به CID\_11912184 دارد. این گروه متیل لیپوفیل به نظر می‌آید تا حدی اثر مثبت روی اتصال ترکیب در جایگاه فعال آنزیم داشته باشد. هر دو این ترکیبات انرژی آزاد اتصال بهتری نسبت

## بحث

دو معیار مهم در تعیین بهترین حالت داک شده، بیشترین (منفی ترین) انرژی آزاد اتصال تخمین زده شده و همچنین بیشترین برهمکنش‌های مناسب با اسید آمینه‌های اصلی جایگاه فعال آنزیم pfLDH می‌باشند. ۱۳ ترکیب نهایی با خصوصیات داروهمندی و فارماکوکینتیک مناسب به مرحله شبیه‌سازی دakinig مولکولی راه یافتنند. طبق نتایج حاصل از

مذکور با ترکیب CID\_11912184 هیچ برهمکنشی برقرار نکرده است. در مطالعات پیشین اسیدآمینه Gly99 در تشکیل پیوند هیدروژنی ترکیبات با آنزیم شرکت داشته است (۱۴، ۱۷). این دو ترکیب و کلروکین و ترکیب ۱ با اسید آمینه‌های Ala98 و Phe52، Ile119 و Ile54 بر همکنش‌های هیدروفوبی تشکیل می‌دهند. ساختار دو ترکیب CID\_23603310 و CID\_23603310 می‌دهند. CID\_23603337 مشابه یکدیگر است. با این تفاوت که گروه کلر در ترکیب CID\_23603310 در موقعیت متأ قرار گرفته است اما در ترکیب CID\_23603337 در موقعیت پارا جای گرفته است. انرژی آزاد اتصال ترکیب CID\_23603310 با CID\_23603337 اختلاف ۱/۲۳ کیلوکالری بر مول منفی تراز است و منفی‌ترین انرژی به دست آمده از میان ۱۳ ترکیب است که این تغییر کانفورماتیون برای اتصال با اسید آمینه‌ها مناسب تر است. هر دو ترکیب با اسید آمینه Gly99 پیوند هیدروژنی تشکیل می‌دهند اما در ترکیب CID\_23603310 این اسید آمینه همزمان با اتم نیتروژن حلقه پیریمیدینی و آمین گروه آمیدی پیوند هیدروژنی برقرار می‌کند در حالیکه با ترکیب CID\_23603337 تنها با اتم نیتروژن حلقه پیریمیدینی این برهمکنش مشاهده می‌شود و از نظر فضایی آمین گروه آمیدی با فاصله دورتری قرار گرفته است که توانایی تشکیل این پیوند را با اسید آمینه Gly99 ندارد. بنابراین به نظر می‌رسد تعداد ترکیل پیوند هیدروژنی با اسیدآمینه Gly99 برای فعالیت حائز اهمیت باشد. در مطالعات پیشین این اسیدآمینه در تشکیل برهمکنش سایر ترکیبات با آنزیم مورد مطالعه شرکت داشته است (۱۴، ۱۷). در ترکیب ۱ اسیدآمینه Phe52 در ترکیل برهمکنش سایر ترکیبات با آنزیم مورد مطالعه شرکت داشته است (۱۴، ۱۷). در ترکیب ۱ اسیدآمینه Gly99 در ترکیل برهمکنش های هیدروفوبی نقش دارد. بنابراین به نظر می‌رسد این اسیدآمینه برای اتصال با آنزیم حائز اهمیت باشد. در مطالعات پیشین این اسیدآمینه در تشکیل پیوند هیدروژنی شرکت داشته است (۱۴، ۱۵).

ترکیب ۱ با اسیدآمینه Tyr85 برهمکنش هیدروژنی با اسیدآمینه Tyr85 پیوند هیدروژنی تشکیل داد در حالیکه با ترکیب ۱ در تشکیل اتصال هیدروفوب نقش ایفا کرد. بنابراین به نظر می‌رسد این اسیدآمینه برای برقراری اتصال با آنزیم حائز اهمیت باشد. در مطالعات پیشین این اسیدآمینه در تشکیل پیوند هیدروژنی شرکت داشته است (۱۴، ۱۵).

ترکیب ۱ اسیدآمینه در تشکیل بر همکنش‌های هیدروفوبی نقش دارد. در مطالعات پیشین این اسیدآمینه برای تشکیل پیوند هیدروژنی سایر ترکیبات در جایگاه فعال آنزیم *p**f*LDH ذکر شده است (۱۵، ۱۶). ترکیب ۱ با اسیدآمینه Phe52 برهمکنش  $\pi$ - $\pi$  تشکیل داده است در حالیکه ترکیبات CID\_11912184 و CID\_11912187 و کلروکین با این اسیدآمینه در برهمکنش‌های هیدروفوبی شرکت داشته اند؛ از این‌رو احتمالاً این اسیدآمینه نقش مهمی برای اتصال در جایگاه فعال آنزیم داشته باشد. ترکیب ۱ با اسیدآمینه Lys118 و Thr101 در برقراری بر همکنش‌های هیدروژنی و  $\pi$ - $\pi$ -کاتیون نقش دارد در حالیکه با دو ترکیب CID\_11912184 و CID\_11912187 و کلروکین برهمکنشی مشاهده نشد. اسیدآمینه Gly99 با ترکیب CID\_11912187، کلروکین و ترکیب ۱ در تشکیل بر همکنش هیدروفوب شرکت داشته است در حالیکه اسید آمینه

CID\_11912184 به کلروکین و ترکیب ۱ نشان دادند. ترکیب ۱ پیوند هیدروژنی و ترکیب CID\_1912187 دو پیوند هیدروژنی با اسیدآمینه Glu122 تشکیل می‌دهند. در ترکیب CID\_11912187 گروه NH متصل به حلقه پیریمیدینی و آمیدی هر دو با Glu122 پیوند هیدروژنی تشکیل می‌دهند در حالیکه ترکیب ۱ تنها NH متصل به حلقه پیریمیدینی با این اسید آمینه پیوند هیدروژنی تشکیل می‌دهد. علاوه بر آن این ترکیب از سر اکسیژن بنزوئی اکسول با اسید آمینه Tyr85 پیوند هیدروژنی تشکیل پیوند هیدروژنی با اسید آمینه Tyr85 در مقایسه با Tyr85 برای اتصال بهتر دارای اهمیت بالاتری می‌باشد. Glu122 با این دو ترکیب و هم‌چنین کلروکین پیوند هیدروژنی تشکیل داد در حالیکه با ترکیب ۱ در تشکیل اتصال هیدروفوب نقش ایفا کرد. بنابراین به نظر می‌رسد این اسیدآمینه برای برقراری اتصال با آنزیم حائز اهمیت باشد. در مطالعات پیشین این اسیدآمینه در تشکیل پیوند هیدروژنی شرکت داشته است (۱۴، ۱۵).

ترکیب ۱ اسیدآمینه در تشکیل هیدروژنی با اسیدآمینه Tyr85 نشان می‌دهد اما در کلروکین و ترکیب ۱ این اسیدآمینه در تشکیل بر همکنش‌های هیدروفوبی نقش دارد. در مطالعات پیشین این اسیدآمینه برای تشکیل پیوند هیدروژنی سایر ترکیبات در جایگاه فعال آنزیم *p**f*LDH ذکر شده است (۱۵، ۱۶). ترکیب ۱ با اسیدآمینه Phe52 برهمکنش  $\pi$ - $\pi$  تشکیل داده است در حالیکه ترکیبات CID\_11912184 و CID\_11912187 و کلروکین با این اسیدآمینه در برهمکنش‌های هیدروفوبی شرکت داشته اند؛ از این‌رو احتمالاً این اسیدآمینه نقش مهمی برای اتصال در جایگاه فعال آنزیم داشته باشد. ترکیب ۱ با اسیدآمینه Lys118 و Thr101 در برقراری بر همکنش‌های هیدروژنی و  $\pi$ - $\pi$ -کاتیون نقش دارد در حالیکه با دو ترکیب CID\_11912184 و CID\_11912187 و کلروکین برهمکنشی مشاهده نشد. اسیدآمینه Gly99 با ترکیب CID\_11912187، کلروکین و ترکیب ۱ در تشکیل بر همکنش هیدروفوب شرکت داشته است در حالیکه اسید آمینه

هیدروژنی تشکیل داده‌اند در حالیکه این اسیدآمینه با بر همکنش هیدروفوبی به ترکیبات CID\_11524240، CID\_14348655 و CID\_989632 اتصال دارد. ترکیب CID\_14888646 نیز با Tyr85 بر همکنش  $\pi-\pi$  تشکیل داده است. در مطالعات پیشین این اسیدآمینه برای تشکیل پیوند هیدروژنی نام برد شده است (۱۵، ۱۶). ترکیب CID\_14888646 با اسیدآمینه Gly29 برهمکنش هیدروژنی تشکیل می‌دهد در حالیکه در ترکیبات CID\_24342862، CID\_11524240، CID\_14348662، CID\_14348666 و CID\_14348655 این اسیدآمینه در تشکیل بر همکنش‌های هیدروفوبی شرکت دارد. در ترکیبات CID\_86764490، CID\_24464444 و CID\_14348655، CID\_989632 و CID\_24464444 اسیدآمینه Asp53 در تشکیل پاکت هیدروفوبی نقش دارد اما در ترکیبات CID\_14348666 و CID\_24342862 در CID\_11524240 پیوند هیدروژنی بر قرار کرده است. در مطالعات پیشین اسید آمینه مذکور در تشکیل پیوند هیدروژنی نقش ایفا کرده است (۱۵). اسیدآمینه Thr101 در ترکیب CID\_14888646 پیوند هیدروژنی برقرار کرده است در حالیکه در ترکیب CID\_14348655 در ایجاد پاکت هیدروفوبی نقش داشته است. همچنین اسید آمینه Ile31 در تشکیل بر همکنش‌های هیدروفوبی در جایگاه اتصال ترکیبات CID\_14348662، CID\_24342862 و CID\_86764490 و نقش دارد در حالیکه در ترکیبات CID\_14348666 با ترکیب Ile54 تنها با هیدروژنی برقرار می‌کند در حالیکه در ترکیبات CID\_14888646، CID\_24342862، CID\_24464444 در CID\_14348655 و CID\_989632 در ایجاد برهمکنش هیدروفوبی نقش دارد. در مطالعات پیشین برای فعالیت بهتر ترکیبات، اسیدآمینه‌های Phe52، Val26، Ala98، Asn83، Phe100، Ile119، Ala98 پیشنهاد شده است که همسو با نتایج حاضر می‌باشد (۱۴، ۲۱). علاوه بر برهمکنش‌های هیدروفوبی، پیوندهای هیدروژنی نیز در محل اتصال ترکیبات به

Thr101 با اسیدآمینه Thr23603310 در برقراری بر همکنش هیدروفوبی نقش دارد. در جایگاه فعال آنزیم با هر دو ترکیب، اسیدآمینه‌های Ala98، Phe100 و Ala98 در پاکت هیدروفوب، هر چهار ترکیب با اسیدآمینه‌های Ile119، Phe52 و Ala98 برهمکنش نشان دادند بنابراین به نظر می‌رسد این اسیدآمینه‌ها در تشکیل برهمکنش هیدروفوبی مهم باشند. در مطالعات پیشین برای فعالیت بهتر ترکیبات نیز اسیدآمینه‌های Ala98، Asn83، Phe100، Ile119، Ile54، Val26، Phe52 پیشنهاد شده است که نتایج حاضر را تایید می‌کند (۱۸-۲۰). برهمکنش غالب در تمام ترکیبات هیدروفوبی می‌باشد. بیشترین اسیدآمینه‌ای که در تشکیل پیوند هیدروژنی نقش دارد Gly99 است. CID\_24464444، CID\_86764490، CID\_14348655 و CID\_11524240 پیوند هیدروژنی تشکیل داده‌اند اما در ترکیبات CID\_14348666، CID\_14888646، CID\_24342862 و CID\_14348662، ترکیب ۱ و کلروکین این اسیدآمینه در تشکیل بر همکنش هیدروفوب نقش دارد. در مطالعات پیشین این اسیدآمینه در تشکیل پیوند هیدروژنی سایر ترکیبات با آنزیم مورد مطالعه شرکت داشته است (۱۴، ۱۷). CID\_14888646 و CID\_14348662 با اسیدآمینه Glu122 که در بر همکنش کلروکین نقش داشت، پیوند هیدروژنی تشکیل داده‌اند در حالیکه تمامی هفت ترکیب باقیمانده (CID\_86764490)، CID\_14348666، CID\_24342862، CID\_24464444، CID\_14348655 و CID\_989632، CID\_11524240 همانند ترکیب ۱ با این اسیدآمینه برهمکنش هیدروفوبی نشان می‌دهند. در مطالعات پیشین این اسیدآمینه در تشکیل پیوند هیدروژنی شرکت داشته است (۱۴، ۱۵). به نظر می‌رسد اسیدآمینه Glu122 در اتصال بهتر ترکیبات به جایگاه فعال آنزیم نقش مهمی داشته باشد. CID\_14888646 با اسیدآمینه Tyr85 و CID\_14348662 با اسیدآمینه Tyr85 پیوند

فیزیکوشیمیایی خوب و اتصال بالا به آنژیم برای ترکیبات توصیف گردید. سپس داکینگ مولکولی برای آنالیز کیفی و کمی برهمکنش‌های ترکیبات با اسید آمینه‌های جایگاه فعال انجام شد. از میان همه ترکیبات، CID\_23603310، CID\_11912184، CID\_11912187 و CID\_23603337 به عنوان ترکیبات الگو انتخاب و معرفی شدند. می‌توان این طور استنباط کرد که وجود حلقه‌های آروماتیک و بخش‌های هیدرووفوب، گروه آمین، پیوندهای قابل چرخش و تشکیل پیوند پلاسمودیوم فالسیپاروم است.

### سپاس‌گزاری

این مقاله منتج از پایان‌نامه داروسازی دکتری عمومی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل است.  
حامی مالی: دانشگاه علوم پزشکی اردبیل  
تعارض در منافع: وجودندارد.

جایگاه فعال آنژیم قابل مشاهده است که اهمیت این نوع برهمکنش را بعد از برهمکنش‌های هیدرووفوب نشان می‌دهد. با اینکه در جایگاه اتصال ترکیب ۱ برهمکنش‌های  $\pi$ -کاتیون و  $\pi$ -مشاهده گردید و احتمال اهمیت این نوع برهمکنش در نحوه اتصال وجود داشت، به جز ترکیب ۶ CID\_14888646 هیچ یک از ۱۳ ترکیب در تشکیل این نوع برهمکنش‌ها نقشی نداشتند. از این‌رو احتمال بر این است که وجود این نوع برهمکنش‌ها در اتصال به آنژیم حائز اهمیت نباشد.

### نتیجه‌گیری

به‌طور خلاصه، SBVS به عنوان یک روش می‌تواند به‌طور موفق آمیزی برای شناسایی مهارکننده‌های آنژیم لاكتات دهیدروژناز پلاسمودیوم فالسیپاروم به کار رود. در این پژوهه کتابخانه‌ای از ترکیبات با شباهت ساختاری به ترکیب ۱ از پایگاه داده PubChem تشکیل گردید. ترکیبات انتخاب شده براساس معیارهای انرژی اتصال، خواص دارو همانندی و پارامترهای ADME آنالیز و غربال شدند. خواص

### References:

- 1-World Malaria Report. 2020.** Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240015791>. Accessed March 2021.
- Muhseen ZT, Hameed AR, Al-Bhadly O, Ahmad S, Li G. *Natural Products for Treatment of Plasmodium Falciparum Malaria: An Integrated Computational Approach*. Comput Biol Med 2021; 134: 104415.
- Varela-Aramburu S, Ghosh C, Goerdeler F, Priegue P, Moscovitz O, Seeberger PH. *Targeting and Inhibiting Plasmodium Falciparum Using Ultra-Small Gold Nanoparticles*. ACS Appl Mater Interfaces 2020; 12(39): 43380-87.
- Flegg JA, Metcalf CJ, Gharbi M, Venkatesan M, Shewchuk T, Sibley CH, Guerin PJ. *Trends in Antimalarial Drug Use in Africa*. Am J Trop Med 2013; 89(5): 857-65.
- Waingeh, VF, Groves AT, Eberle JA. *Binding of Quinoline-Based Inhibitors to Plasmodium falciparum Lactate Dehydrogenase: A Molecular Docking Study*. Open J Biophys 2013; 3(4): 285-90.
- Penna-Coutinho J, Cortopassi WA, Oliveira AA, França TCC, Krettli AU. *Antimalarial Activity of Potential Inhibitors of Plasmodium falciparum Lactate Dehydrogenase Enzyme Selected by Docking Studies*. PLoS ONE 2011; 6(7): e21237.
- Singh R, Bhardwaj V, Purohit R. *Identification of a Novel Binding Mechanism of Quinoline Based Molecules with Lactate Dehydrogenase of*

- Plasmodium Falciparum.* J Biomol Struct Dyn 2021; 39(1): 348-56.
- 8-Reynolds CR, Muggleton SH, Sternberg MJE. *Incorporating Virtual Reactions into a Logic-based Ligand-based Virtual Screening Method to Discover New Leads.* Mol Inform 2015; 34(9): 615-25.
- 9-Sepehri S, Saghiae L, Fassihi A. *Anti-HIV-1 Activity Prediction of Novel Gp41 Inhibitors Using Structure-Based Virtual Screening and Molecular Dynamics Simulation.* Mol Inform 2017; 36(3): 1600060.
- 10-Insuasty B, Ramírez J, Becerra D, Echeverry C, Quiroga J, Abonia R, et al. *An Efficient Synthesis of New Caffeine-Based Chalcones, Pyrazolines and Pyrazolo[3,4-b][1,4]diazepines as Potential Antimalarial, Antitrypanosomal and Antileishmanial Agents.* Eur J Med Chem 2015; 93: 401-13.
- 11-Morris GM, Goodsell DS, Halliday RS, Huey R, Hart WE, Belew RK, Olson AJ. *Automated Docking Using a Lamarckian Genetic Algorithm and an Empirical Binding Free Energy Function.* J Comput Chem 1998; 19(14): 1639-62.
- 12-Mills N. *ChemDraw Ultra 10.0 CambridgeSoft, 100 CambridgePark Drive, Cambridge, MA 02140. Www.cambridgesoft.com. Commercial Price: \$1910 for download, \$2150 for CD-ROM; Academic Price: \$710 for download, \$800 for CD-ROM.* J Am Chem Soc 2006; 128(41): 13649-50.
- 13-Jeddi B, Saberi S, Menéndez JC, Sepehri S. *Synthesis and Biological Evaluation of Tetrahydropyrimidine and Dihydropyridine Derivatives against Leishmania Major.* Acta Parasitol 2022; 67(1): 255-66.
- 14-Saddala MS, Kumar KK, Rani AU. *In Silico Inhibitors for Plasmodium Falciparum Lactate Dehydrogenase.* J Bioinforma 2014; 14(2): 146-59.
- 15-Mishra M, Agarwal S, Dixit A, Mishra VK, Kashaw V, Agrawal RK, et al. *Integrated Computational Investigation to Develop Molecular Design of Quinazoline Scaffold as Promising Inhibitors of Plasmodium Lactate Dehydrogenase.* J Mol Str 2020; 1207: 127808.
- 16-Kaushik D, Paliwal D, Kumar A. *2D QSAR and Molecular Docking Studies of Chloroquine Thiazolidinone Derivatives as Potential pfLDH Inhibitors of Plasmodium Falciparum.* Int J Pharmacol Pharm Sci 2015; 2(5): 42-53.
- 17-Shadrack DM, Nyandoro SS, Munissi JJE, Mubofu EB. *In Silico Evaluation of Anti-malarial Agents from Hoslundai Opposita as Inhibitors of Plasmodium Falciparum Lactate Dehydrogenase (PfLDH) Enzyme.* Comput Mol Biosci 2016; 6(2): 23-32.
- 18-Zakaria NH, WAI L, Hassan NI. *Molecular Docking Study of the Interactions between Plasmodium Falciparum Lactate Dehydrogenase and 4-Aminoquinoline Hybrids.* Sains Malays 2020; 49(8): 1905-13.
- 19-Chaniad P, Mungthin M, Payaka A, Viriyavejakul P, Punyawad C. *Antimalarial Properties and Molecular Docking Analysis of Compounds From Dioscorea Bulbifera L. as New Antimalarial Agent Candidates.* BMC Complement Med Ther 2021; 21: 144.

20- Shamsuddin MA, Ali AH, Zakaria NH, Mohammat MF, Hamzah AS, Shaameri Z, et al. *Synthesis, Molecular Docking, and Antimalarial Activity of Hybrid 4-Aminoquinoline-pyrano[2,3-c]pyrazole Derivatives*. Pharmaceuticals 2021; 14(11): 1174.

21- Oluyemi WM, Samuel BB, Adewumi AT, Adekunle YA, Soliman MES, Krenn L. *An Allosteric Inhibitory*

*Potential of Triterpenes from Combretum racemosum on the Structural and Functional Dynamics of Plasmodium falciparum Lactate Dehydrogenase Binding Landscape*. Chem Biodivers 2022; 19(2): e202100646.

## Identification and Introduction of Possible Inhibitors of *Plasmodium falciparum* Lactate Dehydrogenase Enzyme using Computational Techniques of Drug Design and Virtual Screening based on Macromolecules

Asma Molayi-Asl<sup>1</sup>, Saghi Sepehri<sup>\*1</sup>

### Original Article

**Introduction:** Human malaria is an infectious-blood disease that is caused by the *Plasmodium* genus. Anopheles mosquitoes transmit malaria by biting and are well-known as the only biological carriers of this disease. The aim of this research was the identification and introduction of possible inhibitors of *Plasmodium falciparum* lactate dehydrogenase enzyme using computational techniques of drug design and virtual screening based on macromolecule.

**Methods:** In this analytical-descriptive study, 8733 compounds were initially collected from the PubChem database. In the second step, different filtrations were performed on the library compounds. The selected compounds showed good drug-like properties and pharmacokinetics. Finally, molecular docking simulations were carried out to investigate their binding mode and interactions in the enzyme's active site.

**Results:** The results of the present study showed that the bonds involved in the binding of the compounds with the enzyme were hydrophobic interactions and hydrogen bonds, and the  $\pi$ - $\pi$  interaction was in the lower priority. Among the studied compounds, the best docking results were related to the compounds with identification codes CID\_23603310, CID\_23603337, CID\_11912187 and CID\_11912184 and free binding energy of -29.10, -9.06, -9.04 and -9.00 kcal/mol, respectively. In general, lipophilic parts and hydrogen bonds increased the affinity and inhibited the enzyme.

**Conclusion:** Based on the results, all the compounds showed suitable connections in the active site of the enzyme and can be proposed as potential effective inhibitors of *Plasmodium falciparum* lactate dehydrogenase enzyme.

**Keywords:** Molecular docking, Drug-likeness, Pharmacokinetics, Malaria.

**Citation:** Molayi-Asl A, Sepehri S. Identification and Introduction of Possible Inhibitors of *Plasmodium falciparum* Lactate Dehydrogenase Enzyme using Computational Techniques of Drug Design and Virtual Screening based on Macromolecules. J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2023; 31(1): 6286-6300.

<sup>1</sup>Department of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran.

\*Corresponding author: Tel: 045-33522437, email: Sepehri.saghi@yahoo.com