

Current application of arylazoles and annulated azoles in the design of new antileishmanial agents

Masoud Keighobadi¹,
Hassan Mirzaei¹,
Mahdi Fakhar²,
Saeed Emami³

¹ PhD Student, Pharmaceutical Sciences Research Center, Student Research Committee, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Associate Professor, Department of Parasitology, Molecular and Cell Biology Research Center, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³ Professor, Department of Medicinal Chemistry, Pharmaceutical Sciences Research Center, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received June 28, 2017 ; Accepted September 4, 2017)

Abstract

Leishmaniasis is a group of tropical diseases with high worldwide prevalence and difficulty in management. At present, the development of resistance and the increase of co-infected leishmaniasis with AIDS have become a serious public health problem. Thus, designing and discovery of effective and non-toxic drugs for the treatment of this disease is very urgent. Azole derivatives have displayed a wide range of biological activities. The pharmacological interest of azole compounds has been established to find new antileishmanial agents. The usefulness of some well-known azole antifungals has been also reported previously. Generally, azole antifungals have a common pharmacophoric portion namely *N*-phenethylazole and act by inhibiting the cytochrome P-450-mediated 14 α -demethylation of lanosterol. Apart from azole antifungals with *N*-phenethylazole structure, a variety of *N*-aryl azoles and fused azole derivatives have been reported as antileishmanial agents. These compounds possess distinct structure and mechanism of action differing from those of azole antifungals. Thus, in this paper we reviewed the current application of *N*-aryl azoles and fused azoles for the design and development of new antileishmanial agents.

Keywords: azoles, antileishmanial agents, drug design, leishmaniasis, structure-activity relationship

J Mazandaran Univ Med Sci 2017; 27 (153): 175 - 190 (Persian).

کاربرد آریل آزولها و آزولهای با حلقه جوش خورده در طراحی ترکیبات جدید ضدلیشمانیا

مسعود کیقبادی¹

حسن میرزایی¹

مهدی فخار²

سعید امامی³

چکیده

لیشمانیوز یکی از بیماری‌های عفونی است که از شیوع بالایی در جهان برخوردار بوده و کنترل آن با مشکلات جدی مواجه است. در حال حاضر، گسترش موارد مقاومت دارویی و افزایش لیشمانیوز همراه با ایدز به عنوان مشکلات جدی پیشروی ما هستند. به همین لحاظ نیاز به طراحی و کشف داروهای جدید قوی و غیرسمی برای درمان این بیماری به شدت احساس می‌شود. آزولها ترکیباتی هستند که گستره وسیعی از اثرات بیولوژیک را از خود نشان داده‌اند و به ویژه اهمیت آن‌ها در کشف داروهای جدید ضدلیشمانیا به اثبات رسیده است. هم‌چنین کاربرد برخی از آزولهای ضدقارچ در درمان لیشمانیوز مفید واقع شده است. به‌طور کلی آزولهای ضدقارچ که از یک ساختار فارماکوفوری خاص به نام *N*-فن‌اتیل آزول برخوردار هستند، از طریق مهار دمتیلاسیون وابسته به سیتوکروم P-450 لانوسترول عمل می‌کنند. علاوه بر آزولهای ضدقارچ، تعدادی از *N*-آریل آزولها و آزولهای جوش خورده هم به‌عنوان ضدلیشمانیا گزارش شده‌اند. ترکیبات اخیر از لحاظ ساختاری و عملکردی با آزولهای ضدقارچ تفاوت دارند. لذا در این مقاله، کاربرد *N*-آریل آزولها و آزولهای جوش خورده را در طراحی و توسعه داروهای ضدلیشمانیا مرور خواهیم کرد.

واژه‌های کلیدی: آزولها، ترکیبات ضدلیشمانیا، طراحی دارو، لیشمانیوز، رابطه ساختمان-فعالیت

مقدمه

صورت آندمیک وجود دارد (3، 2). انگل لیشمانیا از تک‌یاخته‌های خونی - بافتی است که متعلق به خانواده تریپانوزوماتیده (Trypanosomatidae) بوده و به دو شکل پروماستیگوت (Promastigote) و آماستیگوت (Amastigote) دیده می‌شود (2). سازمان جهانی بهداشت، بیماری لیشمانیوز را به‌عنوان یکی از 6 بیماری مهم عفونی و هم‌چنین جز بیماری‌های گرمسیری فراموش شده در سراسر جهان معرفی

لیشمانیوز از جمله بیماری‌های مهم زئونوز در مناطق گرمسیری جهان می‌باشد که سالانه عوارض اقتصادی و اجتماعی فراوانی بر جوامع بشری تحمیل می‌کند (1). عامل اصلی این بیماری، گونه‌های مختلفی از انگل لیشمانیا هستند که از طریق گزش پشه‌های خاکی ماده از جنس فلوتومینه به سه فرم مختلف (احشایی، مخاطی و پوستی) انتقال می‌یابند که در حال حاضر دو فرم احشایی (کالا آزار) و پوستی (سالک) در کشورمان به

E-mail: sd_emami@yahoo.com

مؤلف مسئول: سعید امامی - مازندران، ساری، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، دانشکده داروسازی، گروه شیمی دارویی و مرکز تحقیقات علوم دارویی

1. دانشجوی دکتری پژوهشی، کمیته تحقیقات دانشجویی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

2. دانشیار، گروه انگل شناسی، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

3. استاد، مرکز تحقیقات علوم دارویی و گروه شیمی دارویی دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: 1396/4/7 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1396/5/28 تاریخ تصویب: 1396/6/13

هم دارای سمیت قابل توجهی هستند و این مسئله مصرف آن‌ها را با تردید همراه می‌سازد (16، 15).

در سال‌های اخیر داروهای مختلفی برای درمان این بیماری مورد توجه واقع شده‌اند که تا حدودی قدرت مهار این بیماری را داشته‌اند (18، 17). از جمله این داروها می‌توان به کتوکونازول، ایتراکونازول، فلوکونازول، پوساکونازول و وریکونازول اشاره کرد (23، 19). این داروها، جزو خانواده آزول‌های ضدقارچ هستند که قادرند در برابر لیشمانیا نیز به صورت نسبتاً موثری عمل کنند (25، 24). آزول‌های ضدقارچ با مهار آنزیم استرول 14α -دمتیلاز در انگل لیشمانیا باعث تداخل در بیوسنتز ارگوسترول و سایر استرول‌های ضروری برای انگل می‌شوند (26). آزول‌های مهارکننده آنزیم استرول 14α -دمتیلاز از ساختار N -آریل آلکیل آزول برخوردارند. در توصیفی دقیق تر، این ترکیبات دارای یک حلقه ایمیدازول یا تریازول هستند که صرفاً از طریق نیتروژن شماره 1 و با واسطه یک پل چندکربنه به حلقه آریل متصل می‌شود (27، 26).

علاوه بر آزول‌های کلاسیک، اثرات ضدلیشمانیایی سایر آزول‌ها نیز مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته است. هرچند که مکانیسم این ترکیبات ممکن است ناشناخته باشد، اما آشنایی بیش تر با این ترکیبات ممکن است مسیرهای جدیدی را برای دستیابی به ترکیبات ضدلیشمانیا بگشاید. در این میان می‌توان به دو دسته کلی از آزول‌ها اشاره کرد: آریل آزول‌ها و آزول‌های چندحلقه‌ای. در این جا طبق این دسته‌بندی کلی، به بررسی کاربرد آن‌ها در طراحی و توسعه ترکیبات جدید ضدلیشمانیا خواهیم پرداخت.

آریل آزول‌ها

در ترکیبات آریل آزولی، معمولاً یک حلقه فنیل استخلاف دار به نیتروژن حلقه ایمیدازول، تریازول یا پیرازول متصل شده است؛ ضمن این که خود حلقه

نموده‌است (1). بیماری لیشمانیوز دارای طیف گسترده‌ای شامل اشکال پوستی خود بهیود یا بنده تا زخم‌های پوستی-مخاطی و شکل کشنده احشائی می‌باشد. جمعیتی در حدود 350 میلیون نفر در معرض ابتلا به آن قرار دارند (4). براساس گزارش‌های رسمی، بیش از 580000 مورد لیشمانیوز احشائی و 2200000 مورد لیشمانیوز پوستی سالانه اتفاق می‌افتد (4). بیماری لیشمانیوز یکی از مشکلات سلامت عمومی در نقاط مختلف ایران می‌باشد و بیماری سالک در بخش‌هایی از 17 استان کشور از جمله گلستان، اصفهان، سمنان، یزد، کرمان، فارس، بوشهر، کرمانشاه، خوزستان، ایلام و خراسان‌های رضوی و جنوبی و لیشمانیوز احشائی در 8 استان به صورت آندمیک وجود دارد (7، 5، 2). در حال حاضر تعداد موارد این بیماری از مالاریا پیشی گرفته است و به‌عنوان یکی از مهم‌ترین بیماری‌های منتقله از طریق حشرات، توجه زیادی را به خود جلب کرده است. در ایران سالانه حداقل حدود 20 هزار بیمار مبتلا به سالک ثبت می‌شود که بر اساس تحقیقات موجود به نظر می‌رسد میزان واقعی آن 4 تا 5 برابر میزان گزارش شده باشد (8).

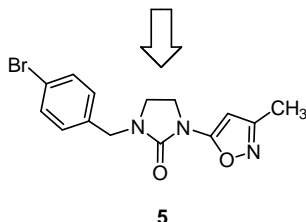
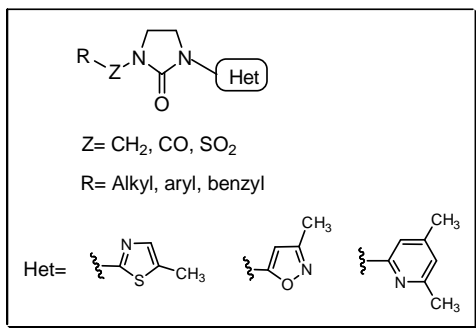
در بیش تر نقاط جهان از ترکیبات آنتیموآن شامل مگلو مین آنتیمونات (گلو کانتیم) و سدیم استیو گلو کونات (پنتوستام) به عنوان داروهای انتخابی در درمان بیماری لیشمانیا استفاده شده است (10، 9). طی چند سال اخیر اثربخشی این داروها به شدت کاهش یافته و در حال حاضر ظهور اشکال بالینی مقاوم به درمان‌های رایج یکی از معضلات اصلی درمان بشمار می‌رود (13، 11). این داروها به صورت تزریقی مورد استفاده قرار گرفته و دوره درمانی با آن‌ها بسیار طولانی است. هم چنین اثرات جانبی منجمله اثرات سمی بر روی کلیه و قلب از عوارض مصرف آن‌ها به‌شمار می‌رود (14). از طرفی اثرات داروهای خط دوم درمان مانند پنتامیدین و آمفو تریسین B نیز کم تر قابل قبول می‌باشد. این داروها

آزول هم از استخلاف یا استخلافات مناسب دیگری برخوردار است.

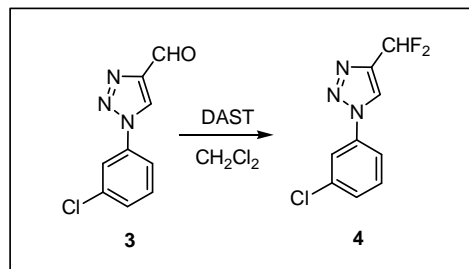
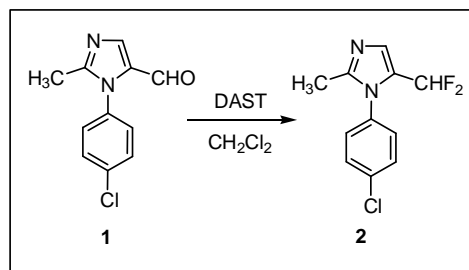
مشتقات ایمیدازول و تریازول

در مطالعه‌ای که توسط Ferreira و همکارانش در سال 2007 انجام گرفت، یکسری مشتقات *N*-آریل ایمیدازول و *N*-آریل تریازول طراحی و سنتز گردید و اثرات آن‌ها روی پروماستیگوت‌های *L. amazonensis* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان داد ترکیبات **2** و **4** (تصویر شماره 1) به ترتیب با مقادیر IC_{50} برابر با $1/7$ و $2/6$ میکرومولار اثرات خوبی را در مقایسه با داروی استاندارد پنتامیدین از خود نشان دادند. در این تحقیق با بررسی رابطه ساختمان و فعالیت این ترکیبات مشخص شد که وجود گروه دی‌فلوئورومتیل ایجاد کننده فعالیت ضدلشمانیایی می‌باشد. در این تحقیق به منظور تهیه ترکیبات دی‌فلوئورومتیل‌آزول از آزول کربآلدئیدهای مربوطه **1** و **3** استفاده شده است. جالب این که ترکیبات آلدیدی غیرفعال بودند ولی با تبدیل آلدئید به گروه دی‌فلوئورومتیل، اثرات ضدلشمانیایی ظاهر شده است (28).

گذشته از حلقه ایمیدازول، از حلقه ایمیدازولیدین-2-اون هم در ترکیبات ضدلشمانیا بهره گرفته شده است. از جمله در پژوهشی که در سال 2003 انجام شده است، مشتقات *N*-هتروآریل ایمیدازولیدین-2-اون که دارای ریشه‌های اسیل، آریل سولفونیل و بنزیل بودند، سنتز شدند و اثرات ضدلشمانیایی آن‌ها روی گونه‌های *L. mexicana* و *L. infantum* بررسی گردید. نتایج بررسی‌های *in vitro* نشان داد که در بین ترکیبات طراحی شده، ترکیب شماره **5** (تصویر شماره 2) با مقادیر IC_{50} در محدوده 8 الی 16 میکرومولار، روی پروماستیگوت‌های *L. mexicana* و *L. infantum* اثر قابل ملاحظه‌ای داشته است. در بررسی سمیت ترکیبات روی سلول‌های فیبروبلاست ریوی انسان (MRC5) ترکیب مزبور اثرات سمی از خود نشان نداد. هم چنین این ترکیب اثر قوی‌ای روی آماستیگوت‌های *L. mexicana* داشت ($IC_{50} = 2/4 \mu M$). بررسی‌های بعدی نشان داد که این ترکیبات باعث مهار آنزیم فسفولیپاز A2 در انگل شده و منجر به کاهش تعداد انگل‌ها در تهاجم به ماکروفاژها می‌شوند (29).

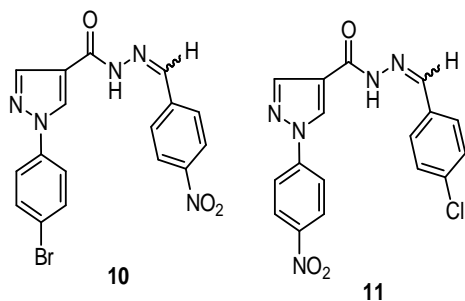


تصویر شماره 2: مشتق سازی ترکیبات *N*-هتروآریل ایمیدازولیدین-2-اون



تصویر شماره 1: مشتقات *N*-آریل ایمیدازول و *N*-آریل تریازول

کربوهیدرازیدی در موقعیت 4 حلقه پیرازول بودند. اثرات ضد لیشمانیایی این ترکیبات روی پروماستیگوت‌های سه گونه لیشمانیا (*L. amazonensis*، *L. braziliensis* و *L. chagasi*) به صورت *in vitro* مورد بررسی قرار گرفت. از بین 30 ترکیب سنتز شده دارای استخلافات مختلف روی حلقه‌های فنیل، ترکیب شماره 10 و 11 (تصویر شماره 4) به ترتیب با IC_{50} های 50 و 80 میکرومولار بهترین اثرات را روی *L. amazonensis* داشته‌اند. علاوه بر این، بررسی سمیت سلولی این ترکیبات که روی سلول‌های صفاقی موش انجام گرفت بیان‌گر آن بود که این ترکیبات به نسبت داروهای استاندارد کتوکونازول و پنتامیدین از سمیت پائین‌تری برخوردار هستند. بر اساس مطالعه، رابطه ساختمان-فعالیت مشخص شد که بسته به نوع استخلاف روی مولکول، عوامل الکترونی و هیدروفوبی در اتصال به تارگت مربوطه نقش مهمی را ایفا می‌کنند (31).



تصویر شماره 4: مشتقات N-آریل پیرازولی واجد گروه کربوهیدرازیدی

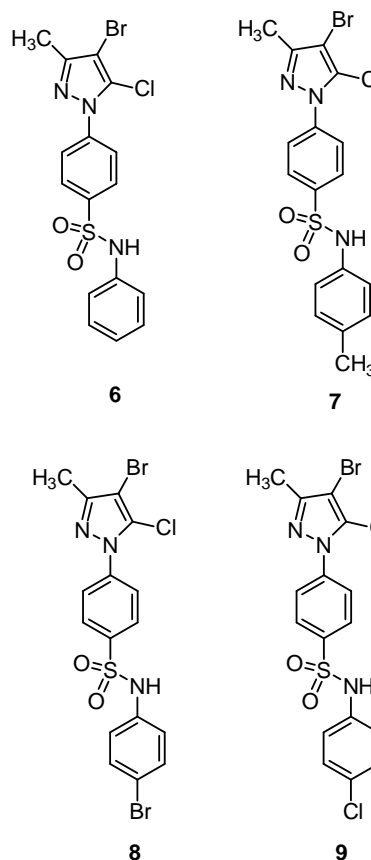
دی آریل پیرازول‌ها

dos Santos و همکارانش در سال 2011 یکسری از مشتقات N-آریل پیرازول را که حاوی حلقه امیدازولین در ناحیه 4 بود سنتز کردند و اثرات مهار رشد آن‌ها را روی سه گونه از انگل لیشمانیا (*L. amazonensis* و *L. braziliensis* و *L. infantum*) بررسی کردند. در بین 14 ترکیب سنتز شده، ترکیب 12 (تصویر شماره 5) که حاوی 3،5-دی کلروفنیل می‌باشد، با IC_{50} معادل با 15/5 میکرومولار اثرات بهتری را بر روی *L. amazonensis* از خود نشان داده

مشتقات پیرازول

مونو آریل پیرازول‌ها

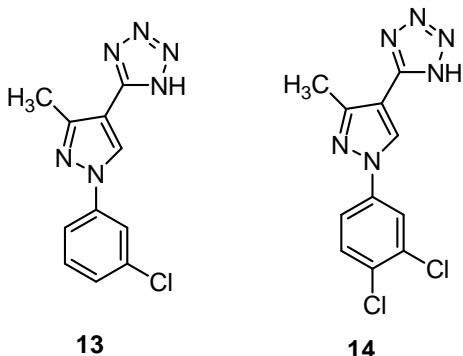
یک سری از مشتقات 4-(پیرازول-1-ایل) بنزن سولفونامید توسط Marra و همکارانش سنتز شده‌اند و روی گونه‌های مختلف لیشمانیا مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند. اطلاعات به دست آمده از این مطالعه حاکی از آن بود که ترکیبات 6-9 (تصویر شماره 3) پروفایل اثر بهتری را روی پروماستیگوت‌های *L. infantum* و *L. amazonensis* دارا هستند و فعالیت آن‌ها نزدیک به داروی استاندارد پنتامیدین است. ارزیابی سمیت سلولی ترکیبات روی ماکروفاژهای صفاقی نشان داد که ترکیبات 6 و 9 مقادیر IC_{50} بهتری را نسبت به پنتامیدین برخوردار هستند (30).



تصویر شماره 3: مشتقات آریل پیرازول دارای گروه سولفونامیدی

Bernardino و همکارانش یکسری از مشتقات N-آریل پیرازولی را طراحی و سنتز کردند که واجد گروه

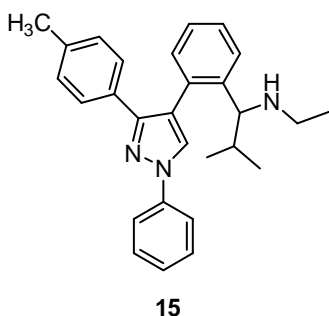
به عنوان مثال ترکیباتی که دارای استخلاف 3-کلروفنیل بودند، دارای IC₅₀ کم تر روی پروماستیگوت و هم چنین سمیت کم تر روی ماکروفاز بودند، اما جایگزینی 3-کلرو با 3-فلورو یا 3-برمو منجر به کاهش فعالیت ضدلشمانیایی می شود (33).



تصویر شماره 6: مشتقات N-آریل پیرازول دارای حلقه ترازول

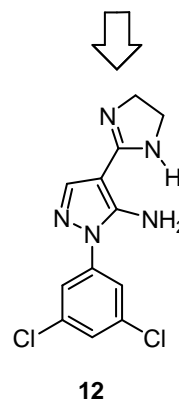
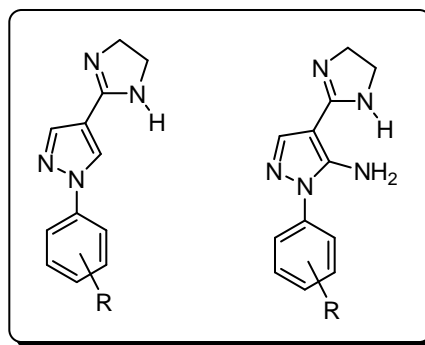
تری آریل پیرازولها

ترکیب دیگری از دسته پیرازولها که دارای سه گروه فنیل روی حلقه مرکزی بوده است، به عنوان ضدلشمانیا گزارش شده است. این ترکیب با نام شیمیایی 4-[2-(1-اتیل آمینو)-2-متیل پروپیل] فنیل-3-(4-متیل فنیل)-1-فنیل پیرازول (تصویر شماره 7) می تواند تکثیر *in vitro* گونه های مختلف لیشمانیا شامل *L. infantum*، *L. major* و *L. tropica* را در غلظت های میکرومولار مهار نماید. مقادیر IC₅₀ بعد از 48 ساعت روی رشد پروماستیگوت های *L. tropica*، *L. major* و *L. infantum* به ترتیب 0/48، 0/63 و 0/40 میکروگرم بر میلی لیتر، اندکی بالاتر از مقادیر مربوط به داروی استاندارد آمفو تریسین B بوده است (34).



تصویر شماره 7: ساختار ترکیب 15 به عنوان یک تری آریل پیرازول

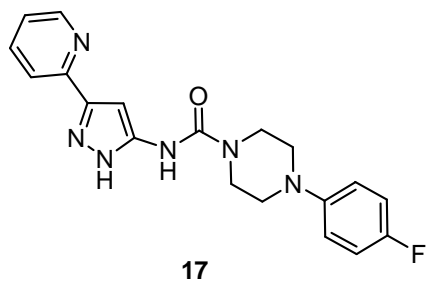
بود. هم چنین ترکیب 12 در یک دوره یک ماهه به موش تزریق گردید که در مقایسه با داروی کتوکونازول در درمان ضایعه موثر بوده است و اثرات سمی روی کبد و کلیه موش نداشته است (32).



تصویر شماره 5: مشتقات N-آریل پیرازول حاوی حلقه ایمیدازولین

دسته ای دیگر از مشتقات N-آریل پیرازول که دارای حلقه ترازول در ناحیه 4 بوده اند، طراحی و سنتز گردیده اند. این ترکیبات روی پروماستیگوت های گونه های *L. brasiliensis* و *L. amazonensis* به صورت *in vitro* ارزیابی و آزمایش شدند که نتایج آزمایشات نشان داد مشتق 3-کلروفنیل 13 و مشتق 3 و 4-دی کلروفنیل 14 (تصویر شماره 6) اثرات بهتری را روی پروماستیگوت های *L. brasiliensis* دارا هستند. ضمناً اثرات سیتوتوکسیک آن ها روی ماکروفاز RAW264.7 کم تر از داروی استاندارد پنتامیدین بوده است. بررسی رابطه ساختمان-فعالیت ترکیبات نشان گر آن است که نوع استخلاف روی حلقه فنیل به طور قابل توجهی اثرات ضدلشمانیایی را تحت تاثیر قرار می دهد.

طی مطالعه‌ای در سال 2015، یکسری مشتقات پیرازولی با تلفیق گروه‌هایی مانند تiazول، تiazول دیون، تiazول پیرازول و پیرازولین سنتز شدند و اثرات ضدلشمانیایی و ضدمالاریایی آن‌ها بررسی شد. این ترکیبات *N*-آریل پیرازولی دارای گروه‌های آریل و هتروآریل در موقعیت 3 و 4 حلقه پیرازول بودند. از بین 32 ترکیب سنتز شده، ترکیب 16 (تصویر شماره 8) بهترین نتیجه و اثر را بر روی پروماستیگوت‌های *L. aethiopica* (با IC_{50} معادل $0/014 \mu g/ml$) در مقایسه با داروی استاندارد میلنفوسین ($IC_{50} = 3/19 \mu g/ml$) داشته است. مقدار IC_{50} این ترکیب روی آماستیگوت هم معادل $0/13$ میکروگرم بر میلی‌لیتر، پایین‌تر از میلنفوسین بوده است. نتایج مطالعات داکینگ مولکولی نشان داد که این ترکیب باعث مهار آنزیم پتیدین ردوکتاز Lm-PTR (PDB ID: 2BFM) با ایجاد پیوندهای هیدروژنی و هیدروفوبیک می‌گردد (35).



تصویر شماره 9: مشتقی پیرازولی با آریل متصل به کربن حلقه

آزول‌های جوش خورده دو حلقه‌ای

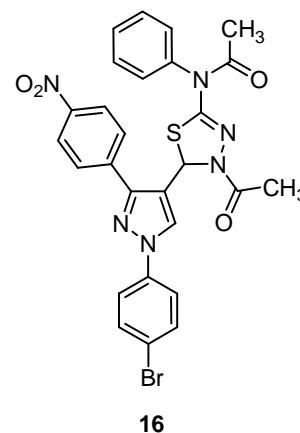
در آزول‌های دو حلقه‌ای، حلقه اصلی آزول با حلقه‌های دیگر جوش خورده و به صورت بی‌سیکلیک درآمده است. در این میان اثرات ضدلشمانیایی تعدادی از مشتقات این حلقه‌ها گزارش گردیده که می‌توان به بنزایمیدازول، ایمیدازوپیریدین، ایمیدازوپیرازین، تریازولوپیریمیدین و مشتقات پورین اشاره کرد.

مشتقات بنزایمیدازول

2-آریل بنزایمیدازول‌ها

یک سری از مشتقات 2-آریل بنزایمیدازول طراحی و سنتز گردیده‌اند که دارای استخلافاتی روی گروه 2-آریل و حلقه بنزایمیدازول بوده‌اند و اثرات آن‌ها روی

طی مطالعه‌ای در سال 2015، یکسری مشتقات پیرازولی با تلفیق گروه‌هایی مانند تiazول، تiazول دیون، تiazول پیرازول و پیرازولین سنتز شدند و اثرات ضدلشمانیایی و ضدمالاریایی آن‌ها بررسی شد. این ترکیبات *N*-آریل پیرازولی دارای گروه‌های آریل و هتروآریل در موقعیت 3 و 4 حلقه پیرازول بودند. از بین 32 ترکیب سنتز شده، ترکیب 16 (تصویر شماره 8) بهترین نتیجه و اثر را بر روی پروماستیگوت‌های *L. aethiopica* (با IC_{50} معادل $0/014 \mu g/ml$) در مقایسه با داروی استاندارد میلنفوسین ($IC_{50} = 3/19 \mu g/ml$) داشته است. مقدار IC_{50} این ترکیب روی آماستیگوت هم معادل $0/13$ میکروگرم بر میلی‌لیتر، پایین‌تر از میلنفوسین بوده است. نتایج مطالعات داکینگ مولکولی نشان داد که این ترکیب باعث مهار آنزیم پتیدین ردوکتاز Lm-PTR (PDB ID: 2BFM) با ایجاد پیوندهای هیدروژنی و هیدروفوبیک می‌گردد (35).

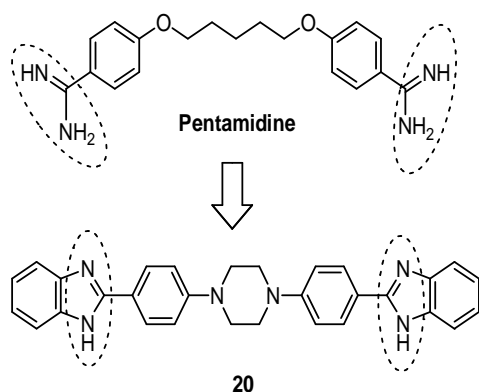


تصویر شماره 8: مشتقی از *N*-آریل پیرازول با گروه‌های اضافی آریل و هتروآریل

ترکیبات پیرازولی فاقد آریل در *N*-1

تمامی ترکیباتی که تا این جا معرفی گردیده‌اند، دارای گروه آریل روی *N*-1 حلقه آزول بوده‌اند، اما ترکیبات پیرازولی دیگری هم گزارش شده‌اند که فاقد گروه آریل روی *N*-1 هستند. از جمله در بررسی‌های Mowbray و همکارانش، اثرات ضدلشمانیایی ترکیبات سنتز شده آمینوپیرازول به صورت *in vitro*

در سال 2004 میلادی، Mayence و همکارانش یکسری ترکیبات شبه بیس-آمیدینی از جمله بیس-بنزایمیدازولی را که حاوی گروه پیرازین به عنوان گروه اتصال دهنده بودند را برای اثر ضد *L. donovani* طراحی و سنتز کردند. از بین ترکیبات سنتز شده، ترکیب شماره 20 (تصویر شماره 12) بهترین اثر را با IC_{50} معادل 0/41 میکرومولار در مقابل پنتامیدین با تقریباً 7 برابر افزایش اثر مهار روی *L. donovani* به دست آورد (39).

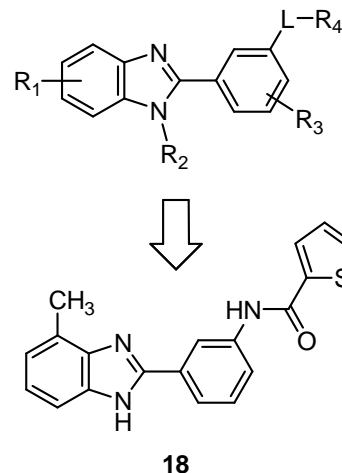


تصویر شماره 12: طراحی یک ترکیب بیس-بنزایمیدازولی از یک ترکیب بیس-آمیدینی (پنتامیدین)

نتایج و بررسی‌های رابطه ساختمان-فعالیت نشان داد که گروه‌های متصل شونده به آریل در مهار رشد انگل از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. هم‌چنین گروه بیس-آمیدینی نقش موثر و مهمی روی مهار رشد پروماستیگوت‌های *L. donovani* داشته است (39).

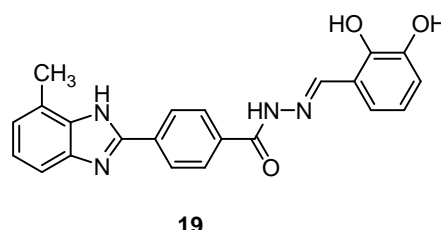
مشتقات پیریدینیوم بنزایمیدازولات بتائین ترکیبات ویژه‌ای از دسته ترکیبات بنزایمیدازولی بوده‌اند که به همراه آزولات‌های دیگر به عنوان ترکیبات ضدلشمانیا معرفی شده‌اند. بررسی اثر این ترکیبات روی *L. donovani* حاکی از آن است که ترکیبات 21 و 22 (تصویر شماره 13) اثر قوی‌تری از گلوکانتیم دارند. نتایج این مطالعه بیان‌گر آن است که هم‌بخش پیریدینیوم و هم‌بخش آزولی، جهت بروز اثر

فرم آگزینیک آماستیگوت *L. donovani* بررسی شده است. نتایج تست‌های بیولوژیک نشان داد که مشتق شماره 18 (تصویر شماره 10) بهترین اثر را داشته و باعث مهار 46 درصدی انگل در غلظت 5 μ M می‌شود. بر اساس تست سیتوتوکسیک انجام شده روی سلول‌های THP-1 سلکتیویته ایندکس برای ترکیب مذکور 16/8 گزارش گردید (37).

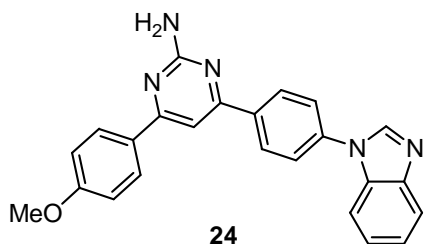
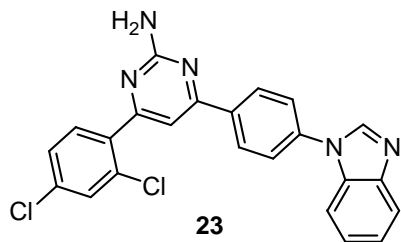


تصویر شماره 10: مشتقات 2-آریل بنزایمیدازول

در مطالعه‌ای دیگر، مشتقات 2-آریل -4-متیل بنزایمیدازول سنتز گردید و مورد ارزیابی‌های بیولوژیک متعددی از جمله ضدلشمانیایی قرار گرفت. نتایج حاصله نشان داد که ترکیب شماره 19 (تصویر شماره 11) دارای اثرات نسبتاً خوبی در مهار انگل لیشمانیا ($IC_{50} = 37/8 \mu$ M) می‌باشد. این مطالعه ثابت کرد که تلفیق حلقه بنزایمیدازول با گروه بنزوهیدرازون مسئول ایجاد فعالیت علیه انگل لیشمانیا می‌باشد. البته ترکیبات یاد شده دارای خواص آنتی‌اکسیدانی هم‌بوده‌اند (38).



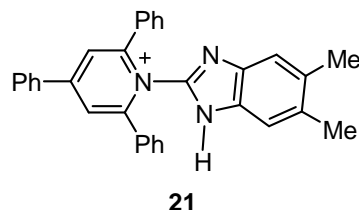
تصویر شماره 11: مشتقی هیدرازید-هیدرازون از 2-آریل -4-متیل بنزایمیدازول

تصویر شماره 14: مشتقات *N*-آریل بنزایمیدازول ها

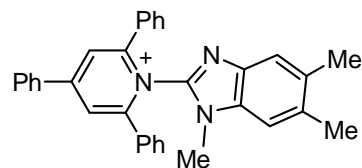
مشتقات ایمیدازوپیریدین

به منظور دستیابی به داروهای ضدلشمانیا، مشتقات دی آریل ایمیدازوپیریدین طراحی و سنتز گردید و جهت بررسی رابطه ساختمان و فعالیت ترکیبات، استخلافات روی حلقه‌های فنیل تغییر داده شد. بررسی اثرات ضد لیشمانیایی ترکیبات روی فرم پروماستیگوت *L. major* مشخص نمود که اکثر این ترکیبات فعالیت خوبی علیه پروماستیگوت‌ها داشته و IC_{50} در محدوده 4 تا 43 میکرومولار از خود نشان می‌دهند. در این میان، ترکیب **25** (تصویر شماره 15) با شاخص انتخاب‌پذیری $46/18$ (Selectivity index) در مقایسه با داروی استاندارد پنتامیدین با شاخص انتخاب‌پذیری $3/13$ پروفایل اثر بهتری داشت و نیز این ترکیب باعث مهار رشد 84 درصدی آماستیگوت‌های *L. major* در غلظت 10 میکرومولار می‌گردید. این ترکیب فاقد سمیت سلولی قابل توجه روی سلول‌های سرطانی HeLa بود. هم‌چنین در این تحقیق لگاریتم ضریب توزیع ($\log D$) در pH برابر $7/5$ با استفاده از متد HPLC فاز معکوس اندازه‌گیری شد و نتایج نشان داد که فعالیت

ضدتک‌یاخته‌ای ضروری هستند و الگوی استخلافی 1,5,6-تری متیل بنزایمیدازول در ترکیب **22** بهترین اثر را ایجاد می‌کند (40).



21



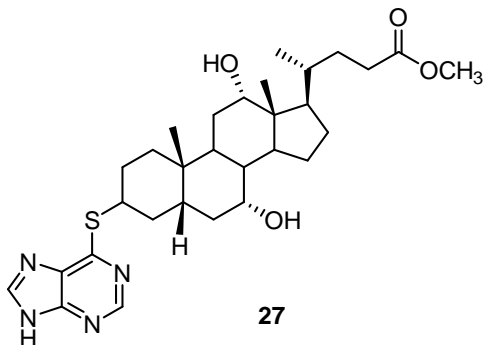
22

تصویر شماره 13: مشتقات پیریدینیوم بنزایمیدازولات بتائین

N-آریل بنزایمیدازول ها

هم‌چنان که در بخش‌های قبل اشاره گردید، ترکیبات مختلفی با ساختار *N*-آریل آزول از خود فعالیت ضدلشمانیایی نشان داده‌اند. بر همین اساس، مشتقاتی از بنزایمیدازول هم طراحی شده‌اند که دارای ریشه آریل روی N-1 حلقه بوده‌اند. از جمله یک سری از مشتقات بنزایمیدازول توسط Patle و همکارانش سنتز گردید و اثرات ضد لیشمانیایی آن روی فرم پروماستیگوت *L. donovani* بررسی شده است. نتایج مطالعه نشان داد که ترکیبات **23** و **24** (تصویر شماره 14) در غلظتی معادل 10 میکروگرم بر میلی‌لیتر باعث مهار بیش از 50 درصدی فرم پروماستیگوت می‌گردند. مطالعه رابطه ساختمان - فعالیت نشان داد که وجود 2,4-دی کلرو روی حلقه فنیل باعث افزایش فعالیت بیولوژیک می‌گردد (41).

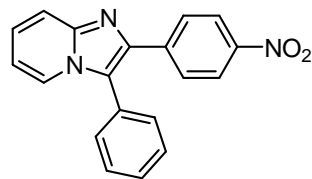
17) در مهار سه گونه *L. amazonensis*، *L. braziliensis* و *L. major* به ترتیب مقادیر IC_{50} برابر با 22/8، 13/9، 17/3 میکرومولار را دارا بود (44).



تصویر شماره 17: ساختار ترکیب 27

س
مشتقات ایمیدازوپیریمیدین
گروه تحقیقاتی Marchand و همکاران مشتقات ایمیدازوپیرازین را به عنوان عوامل موثر ضدلشمانیایی روی فرم‌های آماستیگوت و پروماستیگوت *L. major* ارزیابی نمودند. بر اساس نتایج حاصله، ترکیب 28 (تصویر شماره 18) فعالیت مهاری موثری روی پروماستیگوت ($IC_{50} = 2/8 \mu M$) و فرم آماستیگوت ($IC_{50} = 0/2 \mu M$) داشته است. علاوه بر این، سمیت این ترکیبات روی ماکروفاژهای J774-A1 بررسی گردید که سمیت آن ($IC_{50} = 3/2 \mu M$) بوده است. هم چنین این ترکیب فاقد سمیت قابل ملاحظه‌ای بر سلول‌های نرمال فیروبلاست موشی (NIH3T3) بوده است. ترکیب مذکور دارای شاخص انتخاب پذیری 466 می‌باشد که در مقایسه با داروی استاندارد پنتامیدین با شاخص انتخاب پذیری 51 بهتر و موثرتر عمل می‌کند. نتایج آنالیز رابطه ساختمان-فعالیت نشان داد که ترکیبات واجد گروه ید در حلقه ایمیدازول و گروه فلئور در حلقه فنیل فعالیت موثرتری بر علیه فرم پروماستیگوت *L. major* دارند (45).

ضدلشمانیایی علیه آماستیگوت‌ها با افزایش لیپوفیلیسته ترکیبات همبستگی دارد (42).

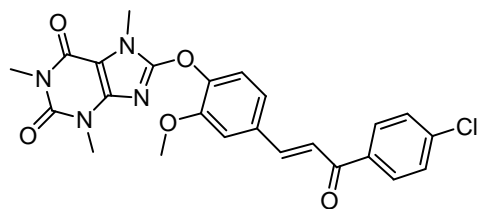


25

تصویر شماره 15: مشتقی از دی آریل ایمیدازوپیریدین

مشتقات ایمیدازوپیریمیدین

کافئین که مشتقی از ایمیدازوپیریمیدین است، در طراحی برخی ترکیبات با اثر بیولوژیک از جمله ضدلشمانیا به کار گرفته شده است. به عنوان نمونه در یک تحقیق، یک سری از چالکون‌ها با واسطه اکسیژن به ریشه کافئین متصل گردیده و اثرات آن‌ها روی *L. panamensis* بررسی گردید. نتایج مطالعه نشان داد که ترکیب 26 (تصویر شماره 16) باعث مهار 88/3 درصدی رشد آماستیگوت داخل سلولی در غلظت 20 میکروگرم بر میلی لیتر می‌گردد. مقدار EC_{50} این ترکیب برابر با 12/9 میکروگرم بر میلی لیتر بود (43).

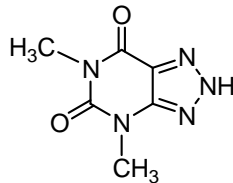


26

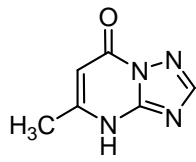
تصویر شماره 16: مشتقی از ایمیدازوپیریمیدین

در مطالعه‌ای دیگر، حلقه ایمیدازوپیریمیدین از طریق اتم گوگرد به یک استروئید خاص متصل گردید و فعالیت ضدلشمانیایی آن به صورت *in vitro* مورد بررسی قرار گرفت. ترکیب شماره 27 (تصویر شماره

J774.2 معادل 36، بسیار بالاتر از داروی استاندارد گلوکانتیم بود. با بررسی مکانیسم‌های احتمالی مختلف مشخص گردید که کمپلکس‌های ترکیب مذکور بر متابولیسم انرژی انگل‌ها ($NAD^+/NADH$) و ارگانل‌های غشایی تاثیر می‌گذارد و باعث تجزیه غشا و مرگ سلولی می‌گردد (47).



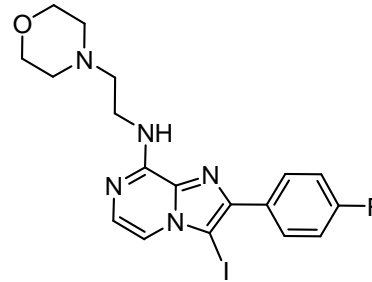
29



30

تصویر شماره 19: مشتقات تریازولوپیریمیدین با قابلیت ایجاد کمپلکس با فلزات چندظرفیتی

در پایان می‌توان نتیجه گرفت که آزول‌هایی مانند ایمیدازول، تریازول و پیرازول حلقه‌های پنج‌عضوی دارای نیتروژن هستند که اثرات بیولوژیک متنوعی از مشتقات آن‌ها گزارش شده است و به ویژه اهمیت آن‌ها در کشف داروهای جدید ضدلشمانیا به اثبات رسیده است. هم‌چنین کاربرد برخی از آزول‌های ضدقارچ مانند کتوکونازول، ایتراکونازول و فلوکونازول در درمان لیشمانیوز مفید گزارش شده است. به‌طور کلی آزول‌های ضدقارچ از یک ساختار شناخته شده N -فن‌اتیل آزول برخوردار هستند و باعث مهار دمتیلاسیون استروئول‌ها در انگل لیشمانیا می‌شوند. اما بسیاری ترکیبات آزولی دیگر هم وجود دارند که از چنین ساختار کلاسیکی برخوردار نیستند ولی اثر ضدلشمانیایی از خود نشان می‌دهند. ترکیبات اخیر که از لحاظ ساختاری و عملکردی متمایز از آزوهای ضدقارچ هستند را می‌توان به دو دسته N -آریل آزول‌ها و آزول‌های جوش‌خورده تقسیم‌بندی کرد. در بین N -آریل آزول‌ها، N -آریل پیرازول‌ها بیش‌تر مورد توجه قرار گرفته‌اند. این ترکیبات می‌توانند در ناحیه 4 حلقه



28

تصویر شماره 18: مشتقی از ایمیدازوپیرازین

کمپلکس‌های تریازولوپیریمیدین

در برخی مطالعات جهت دستیابی به ترکیبات ضدلشمانیا از تهیه کمپلکس‌های فلزات چند ظرفیتی استفاده شده است. با توجه به قابلیت آزول‌ها به ویژه آزول‌های جوش‌خورده دو حلقه‌ای در ایجاد کمپلکس، Ramírez-Macías و همکارانش کمپلکس‌هایی از تریازولوپیریمیدین 29 (تصویر شماره 19) را با نیکل تهیه نمودند و فعالیت ضدلشمانیایی آن‌ها را روی فرم‌های آماستیگوت و پروماستیگوت دو گونه لیشمانیا شامل *L. infantum* و *L. braziliensis* مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که برخی از این ترکیبات اثر مهاری موثری روی فرم‌های پروماستیگوت و آماستیگوت با شاخص انتخاب‌پذیری مناسب دارند و فاقد سمیت قابل توجه روی ماکروفاژهای J774.2 هستند. در تعیین مکانسیم این ترکیبات مشخص گردید که کمپلکس‌های ترکیب فوق‌الذکر با اثر روی میکروتوبول‌ها باعث تجزیه غشا سلولی و در نهایت مرگ سلولی می‌گردند (46).

در مطالعه‌ای دیگر، Ramírez-Macías و همکارانش کمپلکس‌هایی از یک مشتق تریازولوپیریمیدین دیگر به نام 5-متیل-1و2و4-تریازولول[5-ا]پیریمیدین-7-اون (30، HmtpO) را با مس و کبالت دو ظرفیتی تهیه نمودند و فعالیت ضدلشمانیایی آن‌ها را ارزیابی نمودند. بهترین اثر با کمپلکس $[Cu(HmtpO)_2(H_2O)_3](ClO_4)_2 \cdot H_2O$ روی *L. infantum* به دست آمد ($IC_{50} = 20 \mu M$) و سلکتیویته ایندکس بر اساس اثر روی ماکروفاژهای

گزارش شده است. با توجه به قابلیت آزول‌ها به ویژه آزول‌های جوش خورده دوحلقه‌ای در ایجاد کمپلکس، در برخی مطالعات جهت دستیابی به ترکیبات ضدلشمانیا از تهیه کمپلکس‌های فلزات چند ظرفیتی استفاده شده است.

سپاسگزاری

این مقاله در راستای پایان‌نامه آقای مسعود کیقبادی دانشجوی Ph.D پژوهشی مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران می‌باشد که از حمایت مالی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران برخوردار بوده است، لذا از این طریق صمیمانه از این معاونت سپاسگزاری می‌نمایم.

پیرازول دارای حلقه اضافی آریل یا هتروآریل بوده و با استخلافات مناسب دیگری داشته باشند. در این جا لازم به ذکر است آریل‌ایمیدازول‌هایی که دارای گروه نیترو روی حلقه ایمیدازول هستند، در این مقاله وارد نشده‌اند چرا که این ترکیبات جزو نیترو هتروسیکل‌ها هستند که دسته شناخته شده‌ای به شمار می‌آیند و مکانیسم آن‌ها هم متفاوت است. اعتقاد بر این است که نیترو هتروسیکل‌ها از طریق احیای گروه نیترو، اثرات ضد پروتوزوایی خود را اعمال می‌کنند (48، 49). در آزول‌های جوش خورده، حلقه اصلی آزول (ایمیدازول، تریازول و ...) با حلقه‌های دیگر ادغام شده و به صورت بی‌سیکلیک (دوحلقه‌ای) در آمده است. مشتقات بنزایمیدازول، ایمیدازوپیریدین، ایمیدازوپیریمیدین، ایمیدازوپیرازین، تریازولوپیریمیدین و مشتقات پورین مشتقاتی هستند که اثرات ضدلشمانیایی از آن‌ها

References

1. World Health Organization (WHO). First WHO report on neglected tropical diseases: working to overcome the global impact of neglected tropical diseases. Geneva, WHO, 2010.
2. Fakhar M, Mohebbali M, Ahmadpoor E. Visceral Leishmaniosis .1th ed. Gorgan, Iran: Nouroozi Pub; 2014. (Persian).
3. Fakhar M, Rahmati B. sVisceral leishmaniasis in Mazandaran Province and review on its current situation in Iran. Iran J Parasitol .2011;13(2):68-75 (Persian).
4. World Health Organization (WHO). Manual for case management of cutaneous leishmaniasis in the WHO Eastern Mediterranean Region, Geneva, WHO, 2014.
5. Pagheh AS, Fakhar M, Mesgarian F, Rahimiesboei B, Badiiee F. Incidence trend of rural cutaneous leishmaniasis in Gonbad-e-Qabus city,(Golestan, Iran) during 2009-2012. J Mazandaran Univ Med Sci .2013;23(104):27-33. (Persian).
6. Pagheh AS, Fakhar M, Sharif M, Danesh V, Ahmadi Z. Epidemiological survey of cutaneous leishmaniasis due to Leishmania tropica in a new focus in Khorasan Razavi Province. J Mazandaran Univ Med Sci 2013;23(103):46-52. (Persian).
7. Shokri A, Fakhar M, Teshnizi SH. Canine visceral leishmaniasis in Iran: A systematic review and meta-analysis. Acta Trop 2017;165:76-89.

8. Shirzadi MR, Sharifian J, Zeinali M, Qarahgozloo F, Pourmozaffari J. Successful in zoonosis control programmes. 1th ed. Tehran: Ministry of Health and Medical Education publications. 2009 (Persian).
9. Croft SL, Coombs GH. Leishmaniasis—current chemotherapy and recent advances in the search for novel drugs. *Trends Parasitol* 2003;19(11):502-508.
10. Behrouzi-Fardmoghdam M, Poorrajab F, Ardestani SK, Emami S, Shafiee A, Foroumadi A. Synthesis and in vitro anti-leishmanial activity of 1-[5-(5-nitrofuranyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl]- and 1-[5-(5-nitrothiophen-2-yl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl]-4-arylpiperazines. *Bioorg Med Chem*. 2008;16(8):4509-4515.
11. Desjeux P. Leishmaniasis: Current situation and new perspectives. *Comp Immun Microb Infe Dis* 2004;27(5):305-318.
12. Hendrickx S, Guerin PJ, Caljon G, Croft SL, Maes L. Evaluating drug resistance in visceral leishmaniasis: the challenges. *Parasitology* .2016;21:1-11.
13. Bogdan C, Rollinghoff M. The immune response to leishmania: mechanisms of parasite control and evasion. *Int J Parasitol* .1998;28(1):121-134.
14. Oliveira LF, Schubach AO, Martins MM, Passos SL, Oliveira RV, Marzochi MC, Andrade CA. Systematic review of the adverse effects of cutaneous leishmaniasis treatment in the New World. *Acta Trop*. 2011;118(2):87-96.
15. Croft SL. Recent developments in the chemotherapy of leishmaniasis. *Trends Parasitol Sci* 1988;9(10): 376–381
16. Croft SL, Olliaro P. Leishmaniasis chemotherapy—challenges and opportunities. *Clin Microbiol Infect* 2011;17(10):1478–1483.
17. Luize PS, Tiunan TS, Morello LG, Maza PK, Ueda-Nakamura T, Dias FBP, et al . Effects of medicinal plant extracts on growth of *Leishmania (L.) amazonensis* and *Trypanosoma cruzi*. *Rev Bras Cienc Farm* 2005;41(1):85-94.
18. Minodier P, Parola P. Cutaneous leishmaniasis treatment. *Travel Med Infect Dis* 2007;5(3):150-158.
19. Navin TR, Arana BA, Arana FE, Berman JD, Chajón JF. Placebo-controlled clinical trial of sodium stibogluconate (Pentostam) versus ketoconazole for treating cutaneous leishmaniasis in Guatemala. *J Infect Dis* .1992; 165(3):528-534.
20. Baroni A, Aiello FS, Voza A, Voza G, Faccenda F, Brasiello M, Ruocco E. Cutaneous leishmaniasis treated with itraconazole. *Dermatol Ther* 2009;22(Suppl 1):S27-S29.
21. Emad M, Hayati F, Fallahzadeh MK, Namazi MR. Superior efficacy of oral fluconazole 400 mg daily versus oral fluconazole 200 mg daily in the treatment of cutaneous *Leishmania major* infection: a randomized clinical

- trial. *J Am Acad Dermatol* 2011;64(3):606-608.
22. Paniz Mondolfi AE, Stavropoulos C, Gelanew T, Loucas E, Perez Alvarez AM, et al. Successful treatment of Old World cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* with posaconazole. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55(4):1774-1776.
 23. Kulkarni MM, Reddy N, Gude T, McGwire BS. Voriconazole suppresses the growth of *Leishmania* species in vitro. *Parasitol Res*. 2013;112(5):2095-2099.
 24. Beach DH, Goad LJ, Holz Jr GG. Effects of antimycotic azoles on growth and sterol biosynthesis of *Leishmania promastigotes*. *Mol Biochem Parasitol* 1988;31(2):149-162.
 25. Sousa AQ, Frutuoso MS, Moraes EA, Pearson RD, Pompeu MM. High-dose oral fluconazole therapy effective for cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania (Vianna) braziliensis*. *Clin Infect Dis*. 2011;53(7):693-695.
 26. Emami S, Tavangar P, Keighobadi M. An overview of azoles targeting sterol 14 α -demethylase for antileishmanial therapy. *Eur J Med Chem* 2017;135:241-259.
 27. Shokri A, Emami S, Fakhar M, Teshnizi SH, Keighobadi M. In vitro antileishmanial activity of novel azoles (3-imidazolylflavanones) against promastigote and amastigote stages of *Leishmania major*. *Acta Trop* 2017;167:73-78.
 28. Ferreira SB, Costa MS, Boechat N, Bezerra RJ, Genestra MS, Canto-Cavalheiro MM, et al. Synthesis and evaluation of new difluoromethyl azoles as antileishmanial agents. *Eur J Med Chem* .2007;42(11-12):1388-1395.
 29. Robert JM, Sabourin C, Alvarez N, Robert-Piessard S, Le Baut G, Le Pape P. Synthesis and antileishmanial activity of new imidazolidin-2-one derivatives. *Eur J Med Chem*. 2003;38(7-8):711-718.
 30. Marra RK, Bernardino AM, Proux TA, Charret KS, Lira M-LF, Castro HC, et al. 4-(1H-Pyrazol-1-yl) benzenesulfonamide derivatives: Identifying new active antileishmanial structures for use against a neglected disease. *Molecules* 2012;17(1):12961-12973.
 31. Bernardino AM, Gomes AO, Charret KS, Freitas AC, Machado GM, Canto-Cavalheiro MM, et al. Synthesis and leishmanicidal activities of 1-(4-X-phenyl)-N'-[(4-Y-phenyl)methylene]-1H-pyrazole-4-carbohydrazides. *Eur J Med Chem* 2006;41(1):80-87.
 32. dos Santos MS, Oliveira ML, Bernardino AM, de Leo RM, Amaral VF, de Carvalho FT, et al. Synthesis and antileishmanial evaluation of 1-aryl-4-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)-1H-pyrazole derivatives. *Bioorg Med Chem Lett* 2011;21(24):7451-7454.
 33. Faria JV, dos Santos MS, Bernardino AM, Becker KM, Machado GM, Rodrigues RF, et al. Synthesis and activity of novel tetrazole compounds

- and their pyrazole-4-carbonitrile precursors against *Leishmania* spp. *Bioorg Med Chem Lett* 2013;23(23):6310-6312.
34. Dardari Z, Lemrani M, Sebban A, Bahloul A, Hassar M, Kitane S, et al. Antileishmanial and antibacterial activity of a new pyrazole derivative designated 4-[2-(1-(ethylamino)-2-methylpropyl)phenyl]-3-(4-methylphenyl)-1-phenylpyrazole. *Arch Pharm Chem Life Sci* 2006;339(6):291-298.
35. Bekhit AA, Hassan AM, Abd El Razik HA, El-Miligy MM, El-Agroudy EJ, Bekhit Ael D. New heterocyclic hybrids of pyrazole and its bioisosteres: design, synthesis and biological evaluation as dual acting antimalarial-antileishmanial agents. *Eur J Med Chem* 2015;94:30-44.
36. Mowbray CE, Braillard S, Speed W, Glossop PA, Whitlock GA, Gibson KR, et al. Novel amino-pyrazoleUreas with potent in vitro and in vivo antileishmanial activity. *J Med Chem* 2015;58(24):9615-9624.
37. Keurulainen L, Siiskonen A, Nasereddin A, Kopolyanskiy D, Sacerdoti-Sierra N, Leino TO, et al. Synthesis and biological evaluation of 2-arylbenzimidazoles targeting *Leishmaniadonovani*. *Bioorg Med Chem Lett* .2015;25(9):1933-1937.
38. Taha M, Ismail NH, Jamil W, Rashwan H, Kashif SM, Sain AA, et al. Synthesis of novel derivatives of 4-methylbenzimidazole and evaluation of their biological activities. *Eur J Med Chem* 2014;84:731-738.
39. Mayence A, VandenEynde JJ, LeCour L Jr, Walker LA, Tekwani BL, Huang TL. Piperazine-linked bisbenzamidines: a novel class of antileishmanial agents. *Eur J Med Chem* 2004;39(6):547-553.
40. Alcalde E, Dinarés I, Elguero J, Frigola J, Osuna A, Castanys S. Pyridinium azolate betaines and their derivatives: a new class of antiprotozoal agents. *Eur J Med Chem* 1990;25(4):309-319.
41. Patle S, Kawathekar N, Zaveri M, Kamaria P. Synthesis and evaluation of 2, 4, 6-trisubstituted pyrimidine derivatives as novel antileishmanial agents. *Med Chem Res* 2013;22(4):1756-1761.
42. Marhadour S, Marchand P, Pagniez F, Bazin MA, Picot C, Lozach O, et al. Synthesis and biological evaluation of 2,3-diarylimidazo[1,2-a]pyridines as antileishmanial agents. *Eur J Med Chem* 2012;58:543-556.
43. Insuasty B, Ramirez 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;93:401-413.
44. Corrales RC, de Souza NB, Pinheiro LS, Abramo C, Coimbra ES, Da Silva AD. Thiopurine derivatives containing triazole and steroid: synthesis, antimalarial and antileishmanial activities. *Biomed Pharmacother* 2011;65(3):198-203.

45. Marchand P, Bazin MA, Pagniez F, Riviere G, Boderio L, Marhadour S, et al. Synthesis, antileishmanial activity and cytotoxicity of 2,3-diaryl- and 2,3,8-trisubstituted imidazo[1,2-a]pyrazines. *Eur J Med Chem*. 2015;103:381-395.
46. Ramirez-Macias I, Maldonado CR, Marin C, Olmo F, Gutierrez-Sanchez R, Rosales MJ, et al. In vitro antileishmania evaluation of nickel complexes with a triazolopyrimidine derivative against *Leishmaniainfantum* and *Leishmanibraziliensis*. *J Inorg Biochem* 2012;112:1-9.
47. Ramirez-Macias I, Marin C, Salas JM, Caballero A, Rosales MJ, Villegas N, et al. Biological activity of three novel complexes with the ligand 5-methyl-1,2,4-triazolo[1,5-a]pyrimidin-7(4H)-one against *Leishmania* spp. *J Antimicrob Chemother* 2011;66(4):813-819.
48. Poorrajab F, Ardestani SK, Emami S, Behrouzi-Fardmoghdam M, Shafiee A, Foroumadi A. Nitroimidazolyl-1,3,4-thiadiazole-based antileishmanial agents: synthesis and in vitro biological evaluation, *Eur J Med Chem* 2009;44(4):1758-1762.
49. Alipour E, Emami S, Yahya-Meymandi A, Nakhjiri M, Johari F, Ardestani SK, et al. Synthesis and antileishmanial activity of 5-(5-nitroaryl)-2-substituted-thio-1,3,4-thiadiazoles, *J Enzyme Inhib Med Chem* 2011;26(1):123-128.