

Research Paper

In Silico Structural-based Virtual Screening and Molecular Docking Analysis of Plant-derived Small Molecules for Treatment of COVID-19



Zahra Azadian^{1,2}, Kayhan Azadmanesh³, *Atefeh Alipour⁴, *Hosein Shahsavarani^{1,2}

1. Department of Cell and Molecular Biology, Faculty of life sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.
2. Laboratory of Regenerative Medicine and Biomedical Innovations, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran.
3. Department Virology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran.
4. Department of Nanobiotechnology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran.



Citation Azadian Z, Azadmanesh K, Alipour A, Shahsavarani H. [In Silico Structural-based Virtual Screening and Molecular Docking Analysis of Plant-derived Small Molecules for Treatment of COVID-19 (Persian)]. *Jundishapur Scientific Medical Journal*. 2023; 21(6):758-775. <https://doi.org/10.32598/JSMJ.21.6.2372>

doi <https://doi.org/10.32598/JSMJ.21.6.2372>



ABSTRACT

Background and Objectives Despite many studies on the new Coronavirus disease 2019 (COVID-19), there is still a rate of disease mortality, which has made researchers to focus more on finding successful antiviral drugs. In this regard, small molecule inhibitors have been suggested for their higher safety, lower toxicity, and cost-effectiveness. In this study, we applied virtual screening and docking analysis to identify the prospective inhibitors of 3CL protease and ACE-2 receptors

Subjects and Methods In this study, 1,600 natural compounds were assessed by virtual screening. The ligands with a high affinity to bind to active site residues of target proteins were identified using the glide docking method and then were included in the induced-fit docking analysis in Schrödinger-Maestro software.

Results The found compounds such as Theaflavin and Delphinidin had a high affinity to bind to the receptors. They had higher binding energy and a potent inhibitory effect compared to common drugs such as chloroquine.

Conclusion The introduced natural compounds can be used to suppress COVID-19. The results may help develop new drugs or formulations to combat COVID-19; however, clinical trials are needed to examine the potential of these small molecules alone or in combination with other medical procedures.

Keywords SARS-CoV-2, Molecular docking, Virtual screening, Drug discovery, Natural products

Received: 12 Jan 2021

Accepted: 19 Mar 2022

Available Online: 21 Jan 2023

* Corresponding Authors:

Hosein Shahsavarani, Associate Professor.

Address: Department of Cell and Molecular Science, Faculty of Life Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.

Tel: +98 (21) 64112362

E-Mail: hosein.shahsavarani@gmail.com

Atefeh Alipour, Assistant professor.

Address: Department of Nanobiotechnology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran.

Tel: +98 (21) 64112362

E-Mail: atefeh.alipour@gmail.com

Extended Abstract

Introduction

The COVID-19, caused by the SARS-CoV-2 virus, has several symptoms, including respiratory issues, fever, loss of taste and smell, and cardiovascular and neurological problems. Various methods, including vaccines, antiviral drugs, antibodies, anti-inflammatory drugs, immune system regulators, and anticoagulants, were evaluated for the treatment of COVID-19, where some studies suggested the simultaneous use of multiple drugs. However, despite extensive research efforts, there are still many challenges in managing COVID-19 at different levels, including the lack of strong drugs to reduce the side effects and the reduced efficacy of some vaccines against variants of the virus. In addition, finding and developing effective drug compounds is time-consuming, taking about 10-15 years. Therefore, drug repurposing is important in emergency situations such as the COVID-19 pandemic. Virtual screening and in-silico studies are effective for finding potential virus inhibitors. This study aims to find small molecules with natural and plant origin that can target and inhibit the virus's entry pathway into cells containing the angiotensin receptor or its replication system inside the infected cells. In this regard, virtual screening of 1600 natural products was done to identify prospective inhibitors of 3CL protease and angiotensin-converting enzyme 2 (ACE-2) receptors.

Methods

The crystal structures of the ACE-2 receptor (PDB code: 1R42) and the 3CL protease (PDB code: 6LU7) were first obtained from the Protein Data Bank. After protein preparation, a grid box was placed on the receptor based on reported positions in the literature to identify the precise binding site. For screening, the standard precision (SP) glide docking, extra precision (XP) glide docking, and induced-fit docking (IFD) methods in Schrödinger-Maestro software as well as ΔG_{bind} calculation were employed to investigate the top ligands with the highest affinity to the active site residues of the protein, including residues Q24, E35, E37, D38, Y41, Q42, Y83, Q325, and N330 in the outer surface of the ACE-2 receptor and residues E166, F140, H172, H163, S144, C145, and G164 in the 3CL protease. Finally, several top compounds were selected in each step based on the docking score and the minimum energy required for the ligand to bind to the protein.

Results

The results of SP glide docking showed that the top drugs from among 1600 plant-derived compounds can bind to the active site residues of the target proteins in the range from -7.529 to -8.429, which were selected for further steps. Subsequently, the results of XP glide docking revealed that about 30 compounds had acceptable docking scores and binding energies, including isocryptolepine, norlichexanthone, delphinidin, epicatechin, auranthamide acetate, mammein, theaflavin, colchicine, IDEIN, IRESSA, and pseudotropine.

Among the top 30 compounds, delphinidin 3-diglucoside had the minimum energy required to bind to the receptor in the MM-GBSA calculations and the lowest docking score (-13.711) ($\Delta G_{\text{bind}} = -82.83$). The amount of binding free energy for theaflavin was -66 and its docking score was -11.343. Delphinidin 3- (6 “-malonylglucoside) had the highest docking score (-10.686), the highest amount of binding free energy (-60.05), and thus lower affinity (Table 1). These findings suggest that the plant-derived compounds had higher binding energy and a potent inhibitory effect relative to known drugs such as chloroquine, and 3CL protease inhibitors such as saquinavir, lopinavir and telinavir.

The root-mean-square deviation (RMSD) value in the protein complex docked with theaflavin and delphinidin 3-diglucoside was very similar to the value obtained when the protein docked with chloroquine (RMSD=0.334Å), which indicates a high degree of similarity between the two complexes. Furthermore, the RMSD value in the protein complex docked with delphinidin 3-(6”-malonylglucoside) was very similar to that of mozenavir, indicating a high degree of similarity between them (Figure 1).

Conclusion

In this study, we revealed that the plant-derived compounds such as delphinidin 3-diglucoside, theaflavin, and delphinidin 3- (6 “-malonylglucoside) had higher inhibitory activity compared to other derived compounds and were selected as effective agents to combat COVID-19. These small molecules exhibit a high binding affinity to the targeted protein receptors and require much less binding energy compared to control samples. The RMSD values of these compounds were also very close to that of specific receptor-related control drugs. The interesting result was the effect of glycosylated groups on creating a bond and increasing the binding affinity to the receptor which was obtained from the docking results. Furthermore, the natural origin of plant-derived compounds makes them suitable for use by the general public and

Table 1. The IFD and glide docking results of the three main derived compounds compared to controls (grey color) bound to each protein receptor.

Compound	Drug-target	Other Inhibitory Activities	XP Docking Score	IFD Score	ΔG	H-bond	Pi-pi Stacking	Pi-Cation	Salt Bridge
Theaflavin	ACE-2 receptor	Proteasomal chymotrypsin-like activity	-11.347	-1258.35	-66.27	9	-	-	-
Delphinidin 3-diglucoside	ACE-2 receptor	NF- κ B signaling pathway	-13.711	-1254.21	-83.82	7	1	2	-
Chloroquine	ACE-2 receptor	Anti-malaria	-5.694	-1238.98	-62.32	1	-	2	2
Delphinidin 3-(6''-malonylglucoside)	3CL protease	-	-10.686	-625.254	-60.05	7	-	1	-
Mozenavir	3CL protease	HIV protease inhibitor	-4.985	-620.355	-41.59	3	-	-	-

Jundishapur
Scientific Medical Journal

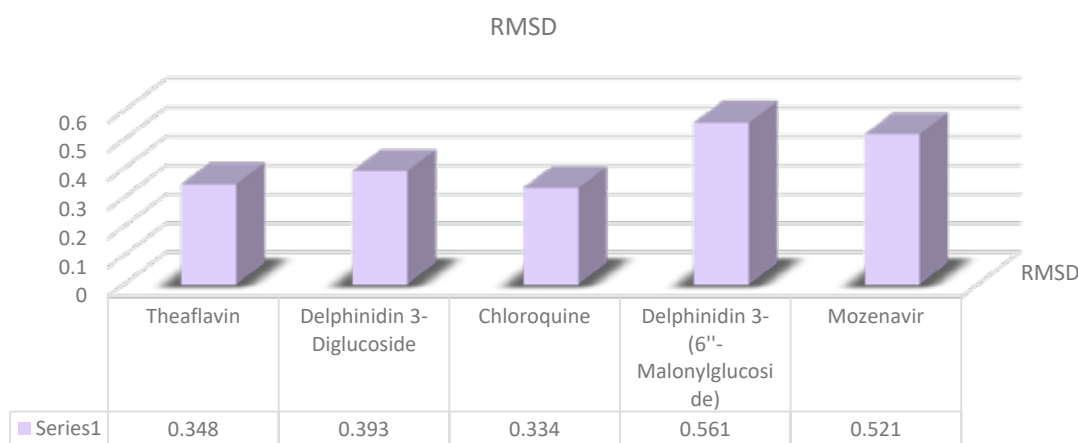


Figure 1. The RMSD values of top plant-derived compounds

may have fewer side effects compared to chemical drugs. The use of the natural drugs introduced in this study can help develop new formulations against COVID-19, but clinical trials are required to examine their potential to be used alone or along with other medical procedures.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

In this study, there was no experiment on human or animal sample. Therefore, no ethical considerations were needed.

Funding

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Authors contributions

Conceptualization, review & editing: Hosein Shah-savarani and Atefeh Alipour; Data analysis and writing: Zahra Azadian; Data curation: Kayhan Azadm-nesh.

Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest.

Acknowledgements

The authors would like to thank Dr. Hemant Kumar Srivastava and Dr. Suyash Pant in the Pharmacoinformatics Department of the [National Institute of Pharmaceutical Education and Research \(NIPER\)](#) in Calcutta, India

Jundishapur
Scientific Medical Journal

for the provision of computing facilities and the permission from Schrödinger Inc.

This Page Intentionally Left Blank

مقاله پژوهشی

بررسی بیوانفورماتیکی از جمله داکینگ مولکولی و غربالگری مجازی مبتنی بر ساختار بر روی ریزمولکول‌ها با منشأ گیاهی برای درمان بیماری کووید-۱۹

زهرا آزادیان^{۱،۲}، کیهان آزادمنش^۲، عاطفه علیپور^۳، حسین شاهسوارانی^۴

۱. گروه زیست‌شناسی سلولی مولکولی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.

۲. آزمایشگاه طب بازساختی و نوآوری‌های پزشکی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران.

۳. گروه ویروس شناسی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران.

۴. گروه نانویوتکنولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران.

Use your device to scan and read the article online



Citation Azadian Z, Azadmanesh K, Alipour A, Shahsavarani H. [In Silico Structural-based Virtual Screening and Molecular Docking Analysis of Plant-derived Small Molecules for Treatment of COVID-19 (Persian)]. *Jundishapur Scientific Medical Journal*. 2023; 21(6):758-775. <https://doi.org/10.32598/JSMJ.21.6.2372>

<https://doi.org/10.32598/JSMJ.21.6.2372>

چکیده



زمینه و هدف: امروزه با وجود تحقیقات بسیاری که در مورد ویروس کرونا صورت گرفته است، اما هنوز هم شاهد نرخ مرگ‌ومیر بالای این بیماری هستیم؛ که باعث شده است محققان تمرکز بیشتری روی شناسایی داروهای ضدویروسی کارآمد از بین داروهای موجود داشته باشند. در این میان، استفاده از ریزمولکول‌هایی با منشأ گیاهی به دلیل ایمنی بالاتر، سمیت کمتر و مقرون‌به‌صرفه بودن مورد توجه قرار گرفته است. ما در این مطالعه با استفاده از داکینگ مولکولی، به شناسایی بازدارنده‌های پروتئین ACE-2 و 3cl protease به دلیل اهمیت آن‌ها در بیماری‌زایی ویروس کرونا پرداخته‌ایم.

روش بررسی: بدین منظور، ۱۶۰۰ ترکیب با منشأ طبیعی با استفاده از یک غربالگری مجازی بررسی گرفتند. در این روش لیگاند‌هایی با تمایل بالا نسبت به ریزدوهای جایگاه فعال پروتئین‌های هدف با استفاده از گلاپد داکینگ شناسایی شدند تا برای محاسبات بیشتر براساس روش القای قالب با استفاده از نرم‌افزار شرویدینگر مورد تجزیه و تحلیل قرار بگیرند.

یافته‌ها: یافته‌ها نشان می‌دهند ترکیبات به‌دست‌آمده از جمله Delphinidin و Theaflavin با دارا بودن میل اتصال بالا به گیرنده‌های مذکور می‌توانند در مهار ویروس کرونا مؤثر باشند. همچنین ترکیبات معرفی شده در مقایسه با داروهای شناخته‌شده نظیر کلروکوئین، دارای انرژی اتصال بهتر و اثر مهارکنندگی قابل توجهی هستند.

نتیجه‌گیری: داده‌های ارائه‌شده در این مقاله می‌توانند برای پیشرفت بیشتر در کشف دارو یا فرمولاسیون‌های جدید برای مقابله با ویروس کرونا کمک‌کننده باشند، اما به آزمایش‌های بالینی نیاز است تا پتانسیل مولکول‌های کوچک موردنظر را به‌تنهایی یا به‌صورت ترکیبی برای کاربردهای پزشکی بررسی کنند.

کلیدواژه‌ها: ویروس کرونا، داکینگ مولکولی، غربالگری مجازی، کشف دارو، ترکیبات طبیعی

تاریخ دریافت: ۲۳ دی ۱۳۹۹

تاریخ پذیرش: ۲۸ اسفند ۱۴۰۰

تاریخ انتشار: ۰۱ بهمن ۱۴۰۱

دکتر حسین شاهسوارانی

نشانی: تهران، دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، گروه

بیوتکنولوژی و سلولی مولکولی.

تلفن: ۶۴۱۱۲۳۶۲ (۲۱) ۰۹۸+

رایانامه: hosein.shahsavarani@gmail.com

* نویسنده مسئول:

دکتر عاطفه علیپور

نشانی: تهران، انستیتو پاستور ایران، گروه نانویوتکنولوژی.

تلفن: ۶۴۱۱۲۳۶۲ (۲۱) ۰۹۸+

رایانامه: atefeh.alipour@gmail.com

مقدمه

این ویروس از بین داروهای موجود^۲ برای شکست هرچه سریع‌تر بیماری بسیار حائز اهمیت است. یکی از کارآمدترین روش‌ها برای ارزیابی مولکول‌های بالقوه، شبیه‌سازی اتصال آن‌ها به گیرنده از طریق غربالگری مجازی^۳ و مطالعات درون سیلیکویی^۴ است. در این روش، ریزمولکول‌ها براساس یک رابطه محاسباتی که میل اتصال داروهای موردتأیید سازمان غذا و داروی ایالات متحده آمریکا^۵ و داروهای طبیعی گیاهی با پروتئین‌های هدف در ویروس کرونا را مشخص می‌کند، اولویت‌بندی می‌شوند تا پس از ارزیابی بیشتر و کار آزمایشی بالینی برای اهداف درمانی مورد استفاده قرار بگیرند. به‌طور کلی این روش نسبت به غربالگری آزمایشگاهی سریع‌تر بوده و با هزینه کمتری انجام می‌شود و می‌تواند به‌عنوان یک فیلتر اولیه برای ارزیابی هزاران ترکیب عمل کند [۱۱].

ویروس انسانی کرونا جزء ویروس‌های دارای RNA تک‌رشته‌ای طبقه‌بندی می‌شود که حاوی یک آنولوپ بزرگ و کپسید مارپیچی است. در میان تمام استراتژی‌های موردبررسی، ایجاد تداخل در مکانیسم‌های ورود این ویروس تک‌رشته‌ای به داخل بدن و تکثیر آن، به‌عنوان ۲ روش مؤثر برای مهار ویروس ذکر شده‌اند. مطالعاتی که داکینگ از طریق ابر رایانه‌ها انجام داده است، نشان می‌دهد کووید-۱۹، دقیقاً مانند ویروس سارس از طریق مسیر اندوزومی و با استفاده از گیرنده آنزیم مبدل آنژیوتانسین II^۶ به سلول‌های هدف وارد می‌شود. پس پیشنهاد می‌شود برای مهار نفوذ ویروس به داخل سلول میزبان و جلوگیری از عفونت ویروسی، از ریزمولکول‌هایی به‌عنوان دارو استفاده شود تا اتصال اولیه بین گیرنده‌های سلول میزبان و گلیکوپروتئین ویروسی را مختل کنند [۱۲، ۱۳]. همچنین پروتئاز شبه کیموتریپسین^۷ که به نام Main Protease هم شناخته می‌شود، اساسی‌ترین آنزیم پروتئاز در خانواده ویروس کروناست [۱۴، ۱۵] که با تجزیه پلی پروتئین‌های حاصل از فرایند ترجمه در ویروس، پروتئین‌های مربوط به همانندسازی را فعال می‌کند. بنابراین، می‌توان آن را به‌عنوان یک هدف درمانی مهم برای شناسایی بازدارنده‌های ویروس کرونا در نظر گرفت [۷، ۱۶].

تاکنون مطالعات زیادی برای کشف و فرمول‌سازی داروهای مربوط به درمان ویروس کرونا انجام شده است که نتایج موفقیت‌آمیزی را در آزمایشات برون‌تنی^۸ و درون‌تنی^۹ نشان می‌دهند، اما موارد گزارش شده از پاسخ بالینی بیماران و بروز عوارض جانبی و سمیت به‌وسیله داروهای نامیدکننده است. برخلاف داروهای شیمیایی، استفاده از داروهای برگرفته‌شده از عصاره‌های گیاهی که به‌طور گسترده در

از سال ۲۰۱۹ شاهد شیوع ویروس جدیدی از خانواده کرونا به نام سندرم حاد تنفسی شدید کرونا-۲^۱ هستیم که به‌سرعت در سراسر جهان گسترش یافته است [۱]. این ویروس با طیف وسیعی از علائم و نشانه‌ها از جمله علائم تنفسی از سرماخوردگی گرفته تا ذات‌الریه شدید و برونشیت، تب، تنگی نفس، از دست دادن چشایی و بویایی، اختلال دستگاه گوارش، اختلال عملکرد انعقادی و درگیری‌های عصبی همراه است [۲]. علاوه‌براین، ویروس کرونا می‌تواند به آسیب‌های قابل‌توجه در سیستم قلبی‌عروقی و بروز نارسایی شدید قلبی منجر شود که معمولاً کمتر مورد توجه قرار می‌گیرد و مرگ ناگهانی انسان را در پی دارد [۳، ۴]. با توجه به علائم گسترده‌ای که این بیماری از خود نشان می‌دهد، می‌توان نتیجه گرفت که بیماری کووید-۱۹ یک بیماری چندعلامتی است، به‌طوری‌که وضعیت ایمنی بیمار، سطح ویتامین D، کمبود روی یا سایر پارامترهای فیزیولوژیکی تعیین‌کننده نوع و شدت علائم بوده و همین‌طور تعیین‌کننده این مسئله است که چگونه هر بیمار به‌طور مؤثر ویرمی را از بین می‌برد [۲].

تا به امروز، طیف وسیعی از روش‌های درمانی برای مدیریت مؤثر کووید-۱۹ مورد مطالعه و ارزیابی قرار گرفته است. به‌عنوان مثال، استفاده از روش‌های درمانی مختلفی، مانند انواع واکسن‌ها، داروهای ضدویروسی (رمدسیویر)، آنتی‌بادی‌ها (هایپرایمونوگلوبولین داخل وریدی)، داروهای ضدالتهابی (استاتین‌ها، دگزامتازون)، تنظیم‌کننده‌های سیستم ایمنی، ضدانعقادها و غیره برای درمان بیماران مبتلا به ویروس کرونا گزارش شده است [۵، ۶]. همچنین در بسیاری از مطالعات، استفاده هم‌زمان از ۲ یا ۳ دارو به‌عنوان یک روش درمانی موفقیت‌آمیز پیشنهاد شده است [۷، ۸]، اما با وجود تلاش‌های تحقیقاتی بسیار، هنوز هم شاهد چالش‌های بسیاری در مدیریت کووید-۱۹ در سطوح مختلف از جمله فقدان داروهای قوی برای کاهش عوارض کرونا و کاهش اثربخشی برخی واکسن‌ها در برابر انواع سویه‌های جهش‌یافته کرونا هستیم [۹]. همچنین، از بین روش‌های درمانی موجود، تاکنون هیچ درمان قطعی و تأییدشده‌ای برای کاهش پیشرفت این بیماری در بیماران مبتلا به کووید-۱۹ در بیمارستان وجود ندارد و با توجه به روند رو به افزایش بیماری و ابتلای مجدد افراد واکسینه‌شده به ویروس کرونا، نیاز فوری به معرفی داروهای مؤثر ضد کرونا وجود دارد [۱۰].

نکته حائز اهمیت اینجاست که یافتن و توسعه ترکیبات دارویی مناسب که دارای تأثیرات درمانی مثبت و مؤثری باشند، یک فرایند وقت‌گیر بوده که ممکن است به‌طور متوسط حدود ۱۰ تا ۱۵ سال طول بکشد. بنابراین در موارد اورژانسی مانند بیماری همه‌گیر کووید-۱۹، کشف و شناسایی ریزمولکول‌های مهارکننده

2. Drug repurposing
3. Virtual screening
4. In-silico
5. Food and Drug Administration (FDA)
6. Angiotensin-converting enzyme II
7. 3-chymotrypsin-like protease (3CLpro)
8. In vitro
9. In vivo

1. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS-CoV-2)

فیلترهای مختلفی از گلاید داکینگ با دقت‌های مختلف^{۱۵} بر روی لیگندهای آماده‌سازی شده اعمال شد تا لیگندهای برتر با بیشترین میل اتصال با آمینو اسید رزیدوهای جایگاه فعال پروتئین شناسایی شوند. بدین منظور، کتابخانه‌ای از ریزمولکول‌ها در حفره متصل شونده با وپروس^{۱۶} در سطح خارجی ACE-2 شامل رزیدوهای Q24، E35، K353، N330، Q325، Y83، Q42، Y41، D38، E37، و در جایگاه کاتالیزوری پروتئاز شبه کیموتریپسین شامل رزیدوهای E166، F140، N142، G164، C145، S144، H163، H172، داکینگ شدند [۱۷]. سرانجام در هر مرحله، با توجه به میزان داکینگ اسکور و حداقل انرژی موردنیاز برای اتصال لیگاند و پروتئین، تعدادی از بهترین ترکیبات انتخاب شدند تا برای داکینگ با دقت بالاتر بارگیری شوند. علاوه بر این، مرتب‌سازی کمپلکس‌های لیگاند پروتئین حاصل از داکینگ توسط GlideScore، به‌عنوان یک روش تجربی برای تخمین زدن بهترین موقعیت اتصال لیگاند به پروتئین، دقت و قدرت میل اتصال مورد استفاده قرار گرفت. لیگاند‌هایی که بالاترین GlideScore (بالای ۷/۰-) را در مراحل اولیه داشتند؛ برای مراحل بعدی انتخاب شدند.

محاسبه ΔG_{bind}

در مطالعات داکینگ، پارامتر ΔG_{bind} بیانگر میزان انرژی آزاد اتصال (برحسب کیلوکالری بر مول) است که تمایل اتصال لیگاند به رسپتور را نشان می‌دهد. در این مطالعه، انرژی آزاد اتصال، با استفاده از روش MM-GBSA در نرم‌افزار شرویدینگر برای نتایج حاصل از XP dock محاسبه شد. مدل حلالیت VSGB با استفاده از فورس فیلد OPLS3e انتخاب و مابقی تنظیمات به‌صورت پیش‌فرض نرم‌افزار مورد استفاده قرار گرفت.

روش القای قالب^{۱۷}

در پایان از روش القای قالب به‌منظور بررسی میل اتصال در شرایطی با انعطاف‌پذیری بالا برای پروتئین و لیگاند و الگو گرفتن از روش دست و دستکش استفاده شد و بدین‌منظور از ترکیباتی که به‌خوبی در مراحل قبلی با آمینواسید رزیدوهای جایگاه فعال داکینگ شده بودند برای اعمال این روش استفاده شد. همچنین، برای تأیید نهایی لیگندهای برتر، پارامتر انحراف جذر میانگین مربعات^{۱۸} مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. برای محاسبه انحراف جذر میانگین مربعات از روی هم قرار دادن ساختار کریستالی پروتئین و کمپلکس داکینگ شده با لیگاند استفاده شد.^{۱۹} در نهایت، بازدارنده‌های کارآمد برای وپروس کرونا با توجه به میزان انحراف جذر میانگین مربعات (کمتر از یک آنگستروم)، تعداد پیوندهای هیدروژنی و نمره IFD رتبه‌بندی شدند.

تمدن‌های پیشرفته باستانی کاربرد داشته‌اند، نیز امروزه به یک عامل امیدوارکننده درمانی تبدیل شده است که به نظر می‌رسد اثرات ناخواسته کمتری نسبت به داروهای شیمیایی دارند و نتایج مطلوبی را علیه بیماری‌های وپروسی از جمله کووید-۱۹ نشان می‌دهند. هدف ما در این مطالعه، یافتن ریزمولکول‌هایی با منشأ طبیعی و گیاهی است که بتوانند مسیر ورود وپروس به داخل سلول‌های حاوی گیرنده آنژیوتانسین و یا سیستم تکثیر آن را در داخل سلول‌های آلوده هدف قرار دهند. ما برای رسیدن به این هدف، ۱۶۰۰ ریزمولکول با منشأ زیستی را از پایگاه داده ZINC.15 به‌منظور بررسی میل اتصال آن‌ها با گیرنده‌های پروتئینی ACE-2 و 3CL Protease بررسی کردیم.

روش بررسی

آماده‌سازی لیگاند و پروتئین

ابتدا ساختارهای کریستالی گیرنده ACE-2 (کد pdb: 1r42) و پروتئاز شبه کیموتریپسین (کد 6lu7: pdb) از بانک اطلاعات پروتئین^{۱۰} دانلود شدند. سپس آماده‌سازی برای ساختارهای پروتئینی با استفاده از قسمت PrepWizard در نرم‌افزار شرویدینگر انجام شد. درحقیقت، برنامه PrepWizard مولکول‌های آب و لیگاند موجود در کمپلکس پروتئینی را حذف و به همه اتم‌ها هیدروژن اضافه می‌کند. لیگاند‌ها نیز با جست‌وجو در کاتالوگ‌های زیرمجموعه محصولات طبیعی پس از اعمال فیلترهای مختلفی (درون‌تنی، برون‌تنی، بیوژنیک و موجود در بازار) از پایگاه داده ZINC.15 دانلود شدند. در نتیجه مطابق با فیلترهای اعمال شده فقط ترکیباتی مورد بررسی قرار گرفت که شواهد لازم برای مطالعات برون‌تنی و درون‌تنی درخصوص آن‌ها موجود باشد. بهینه‌سازی این ۱۶۰۰ ترکیب در ابزار LigPrep در نرم‌افزار شرویدینگر صورت گرفت.

ایجاد گرید باکس در گیرنده‌های پروتئینی

پس از آماده‌سازی پروتئین، محل گرید باکس بر روی گیرنده با توجه به موقعیت‌های گزارش شده در مقالات، مشخص شد تا محل اتصال دقیق لیگاند بر روی جایگاه فعال پروتئین نشان داده شود. بدین‌منظور، ضریب مقیاس شعاع واندروالسی ۱/۰ و نقطه بار جزئی^{۱۱} ۰/۲۵ در پنل ایجاد گرید باکس^{۱۲} به‌صورت تنظیمات پیش‌فرض استفاده شد.

داکینگ مولکولی

برای انجام غربالگری، به‌ترتیب روش‌های داکینگ با دقت استاندارد، داکینگ با دقت بالا^{۱۳} و روش القای قالب^{۱۴} مورد استفاده قرار گرفت.

15. Standard Precision (SP) & Extra Precision (XP)
16. Receptor-binding motif of virus
17. Induced Fit Docking
18. Root-Mean-Square Deviation (RMSD)
19. Superimposed of docked complexes

10. Protein Data Bank
11. Partial charge cutoff
12. Grid box generation
13. Standard Precision (SP) & Extra Precision (XP)
14. Induced Fit Dock

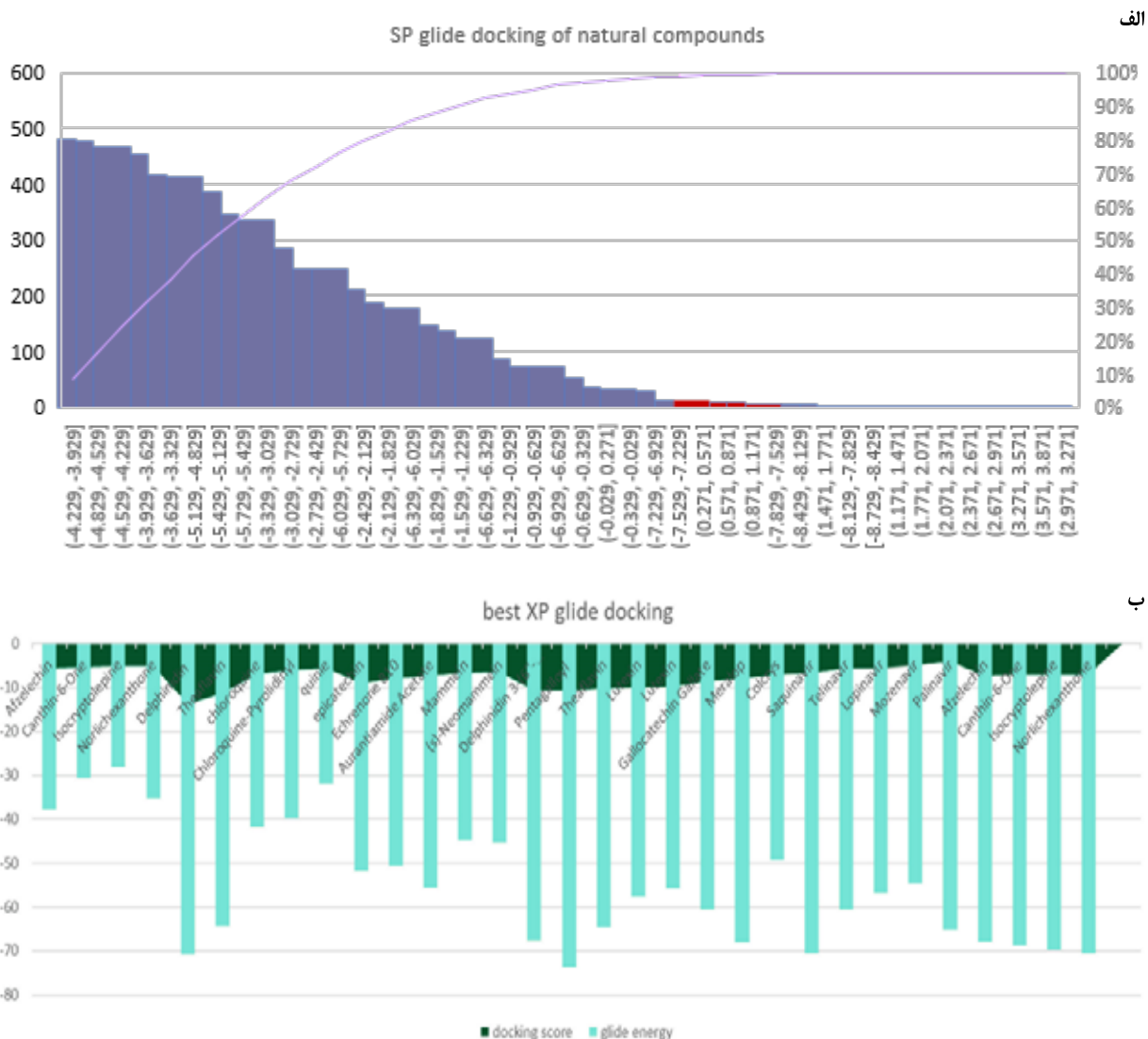
یافته‌ها

بررسی نتایج حاصل از گلاید داکینگ ۲۰

برای مراحل بعدی انتخاب و داک شوند (تصویر شماره ۱ الف). در ادامه، نتایج گلاید داکینگ در مرحله نتایج گلاید داکینگ با دقت بالا مشخص کرد که حدود ۳۰ ترکیب عملکرد خوبی داشته و داکینگ اسکور و انرژی پیوندی قابل قبولی دارند. از جمله این ترکیبات برتر می‌توان به Canthin-6-One، Isocryptolepine، Norlichexanthone، Delphinidin، Epicatechin، Aurantiamide acetate، Mammecin، Theaflavin، Colcrys، Idein، Iressa، Pseudotropine و غیره اشاره کرد (تصویر شماره ۱ ب). علاوه بر این، محاسبه میزان انرژی آزاد برای اتصال لیگاند و پروتئین ($\Delta G_{\text{bind}} = \text{binding free energy}$) که از طریق روش MM-GBSA در یافتن ترکیبات دارویی جدید و بررسی قدرت

تمامی لیگاندهای دارویی در جایگاه فعال گیرنده ACE-2 و پروتئاز شبه‌کیموترپسین داک شدند و داده‌های برتر در جدول شماره ۱ نمایش داده شدند. نتایج گلاید داکینگ با دقت استاندارد نشان‌دهنده این مطلب است که برترین داروها از بین ۱۶۰۰ ترکیب مشتق از گیاه، می‌توانند در محدوده $-7/529$ تا $-8/429$ به جایگاه فعال پروتئین‌های هدف اتصال یابند که نهایتاً

20. XP and SP Glide Dock



جندی شاپور

تصویر ۱. الف) رتبه‌بندی ترکیبات حاصل از SP Glide بر اساس داکینگ اسکور؛ نمودار نشان‌دهنده این است که فقط تعداد کمی از مجموعه ریزمولکول‌های مورد بررسی از امتیاز مناسبی برای اتصال به گیرنده مربوطه برخوردار هستند که با رنگ قرمز نشان داده شده‌اند. ب) نمودار نشان‌دهنده نتایج حاصل از XP Glide Docking است که ترکیبات برتر با توجه به میزان انرژی و داکینگ اسکور رتبه‌بندی شده‌اند.

نفوذ ویروس را از طریق مداخله در گلیکوزیلاسیون گیرنده‌های سلولی ACE-2 سرکوب می‌کند [۵]. با میزان داکینگ اسکور ۶/۹۹۲- کیلوکالری بر مول از میل اتصال کمتری نسبت به ترکیبات معرفی شده در این مقاله از جمله Delphinidin 3-Di-gluco- side و Theaflavin برخوردار است.

بررسی نتایج حاصل از روش القای قالب

روش القای قالب با دارا بودن توانایی کاهش تعداد نتایج مثبت کاذب و ارزیابی توانایی اتصال در حالت تجزیه و تحلیل با انعطاف پذیری بالا مورد استفاده قرار گرفت [۱۸]. نتایج نشان داد ترکیبات برتر از امتیاز داکینگ (IFD Score) تقریباً مشابهی در گیرنده‌های مربوط به خود برخوردار هستند؛ به طوری که ۳ لیگاند طبیعی با بالاترین امتیاز و ۲ لیگاند شیمیایی به عنوان نمونه‌های کنترل در جدول شماره ۱ معرفی و نشان داده شدند. داده‌های ما نشان می‌دهد ترکیبات طبیعی، از جمله Theaflavin و Delphinidin 3-Digluco- side به طور بالقوه می‌توانند به جایگاه اتصال ویروس بر روی گیرنده ACE-2 متصل شوند و با اشغال این حفره با میل اتصال بالا، از نفوذ ویروس به سلول‌های ریوی و قلبی انسان جلوگیری کنند و بنابراین هدف دارویی جذابی برای مطالعات بیشتر و دقیق‌تر محسوب می‌شوند. همچنین داده‌های حاصل از داکینگ با روش القای قالب (IFD) نشان می‌دهد که Delphinidin 3-(6"-Malonylglu- coside) نیز ممکن است با اتصال به جایگاه کاتالیزوری پروتئاز ویروس از فعالیت آن جلوگیری کند و باعث اختلال در فرایندهای زیستی ویروس و عدم ادامه حیات آن در داخل بدن انسان شود که در ادامه به تفصیل در مورد هر یک از ترکیبات مذکور بحث خواهد شد.

باتوجه به مطالعاتی که در این مقاله صورت گرفته است مشخص شد علاوه بر سایر ویژگی‌های درمانی Theaflavin، این ترکیب دارویی با کسب نمره IFD نسبتاً بالایی (۱۲۵۸/۳۵) می‌تواند به طور اختصاصی به جایگاه فعال گیرنده ACE-2 متصل شود و از ورود ویروس و عفونت‌زایی آن جلوگیری کند. تجزیه و تحلیل نتایج، وجود ۹ پیوند هیدروژنی بین رسپتور و گروه‌های هیدروکسیل متصل به Theaflavin را نشان می‌دهد که حاکی از میل اتصال بالا و تعامل مؤثر Theaflavin با گیرنده اصلی کووید-۱۹ است. باتوجه به اینکه جایگاه‌های هدف متنوعی برای اتصال ساختار بنزوتروپولون آن^{۲۶} وجود دارد؛ می‌توان theaflavin را به یک الگوی امیدوارکننده در کشف ساختارهای طبیعی یا سنتزی با خاصیت مهارکنندگی ویروس کرونا در نظر گرفت. علاوه بر این، نتایج داکینگ در این مقاله نشان می‌دهد Delphinidin 3-Digluco- side نیز با کسب نمره IFD نسبتاً مشابهی با theaflavin (۱۲۵۴/۲۱-) دارای اثر مهارکنندگی بالایی علیه ویروس کروناست. این ترکیب به آمینواسید رزیدوهای ASP367

اتصال آن‌ها به گیرنده ماکرومولکولی خاصی مورد استفاده قرار می‌گیرد، برای ترکیبات به دست آمده محاسبه و در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. نتایج حاصل از بررسی داکینگ اسکور و انرژی آزاد اتصال نشان می‌دهد که ۳ ترکیب Delphinidin 3-Digluco- side، Theaflavin و Malonylglu- coside به ترتیب از فعالیت مهارکنندگی بیشتری برخوردار هستند و به عنوان بهترین فعال کننده در بین ۳۰ ترکیب برتر انتخاب شدند. از نقاط قوت Delphinidin 3-Digluco- side، دارا بودن حداقل انرژی لازم برای اتصال به گیرنده در محاسبات مربوط به MM-GBSA و کمترین داکینگ اسکور (۱۳/۷۱- است $\Delta G = -83/82$). میزان انرژی آزاد اتصال برای Theaflavin عدد ۶۶- و میزان داکینگ اسکور آن ۱۱/۳۴۳- گزارش شده است، اما از بین این ۳ ترکیب، Delphinidin 3-(6"-Malonylglu- coside) بیشترین داکینگ اسکور (۱۰/۶۸۶-) و بیشترین میزان انرژی آزاد (۶۰/۰۵-) و در نتیجه میل اتصال کمتری است. این نتایج نشان می‌دهد ترکیبات دارویی به طور کلی با قدرت بیشتری به سایت اتصال در گیرنده ACE-2 نسبت به پروتئاز شبه کیموتریپسین اتصال پیدا می‌کنند (جدول شماره ۱).

همان‌طور که قبلاً نیز به آن اشاره کردیم، هدف ما در این پژوهش یافتن ترکیبات دارویی جدید با منشأ گیاهی در درمان بیماری کرونا بود، به طوری که در مقایسه با داروهای رایج به طور مناسب‌تری به گیرنده‌های هدف متصل و فعالیت آن‌ها را مهار کنند. در این مطالعه، برتری ترکیبات طبیعی به دست آمده، در مقایسه با اثر بخشی داروهای شیمیایی شناخته شده که دارای قابلیت مهارکنندگی گیرنده ACE-2 و یا مهار فعالیت پروتئازی هستند، مورد تأیید قرار گرفت. بدین صورت که حدود ۵۰ دارویی شیمیایی با قابلیت مهار پروتئازهای ویروس از سایت ZINC.15 دانلود شدند و میل اتصال آن‌ها به گیرنده مذکور با استفاده از داکینگ مولکولی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج گلاید داکینگ نشان می‌دهد که ساکویناویر^{۲۱} (کیلوکالری بر مول) (gscore=-۶/۷۵۷)، تیلیناویر^{۲۲} (gscore=-۵/۶۲۴)، لوپیناویر^{۲۳} (gscore=-۵/۶۱۲) و موزنویر^{۲۴} (gscore=-۴/۹۸۵) از میل اتصال و نمره گلاید بالاتری نسبت به سایرین برخوردار هستند. مقایسه نتایج به دست آمده نشان می‌دهد ترکیبات طبیعی معرفی شده در این مقاله از جمله Delphinidin 3-(6"-Mal- onylglu- coside) (gscore=-۱۰/۶۸۶) نسبت به داروهای شیمیایی شناخته شده از میل اتصال و در نتیجه فعالیت بیشتری جهت مهار پروتئاز شبه کیموتریپسین برخوردار هستند. همچنین نتایج داکینگ مولکولی نشان می‌دهد داروی کلروکوئین^{۲۵} که

21. Saquinavir
22. Telinavir
23. Lopinavir
24. Mozenavir
25. Chloroquine

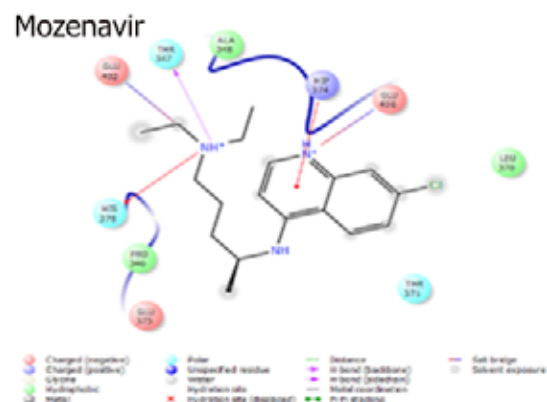
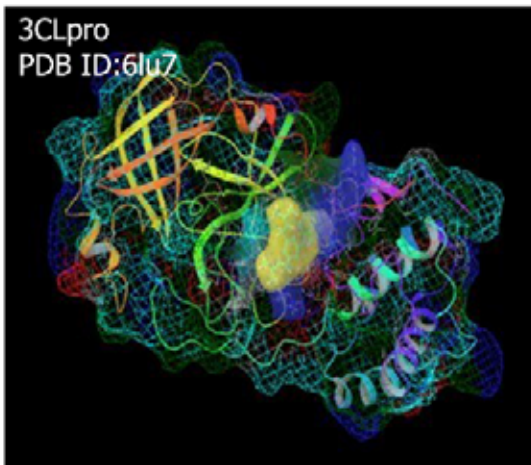
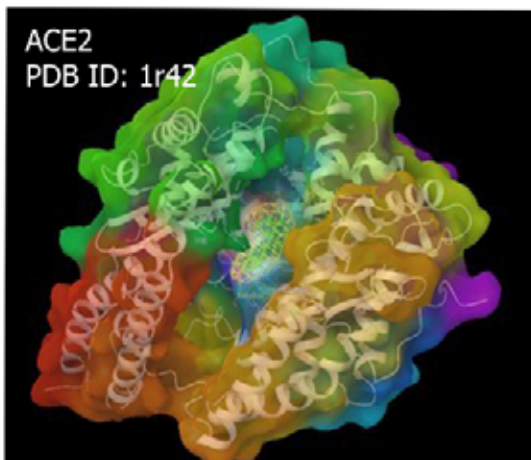
26. Theaflavin benzotropolone structure

رنگ‌ها در تصاویر شماره ۲ و ۳ نشان داده شده است.

همچنین، نتایج IFD نشان می‌دهد کلروکوئین به‌عنوان سرکوبگر شناخته‌شده گیرنده ACE-2، مقدار IFD کمتری را نسبت به Delphinidin 3-Diglucoside و Theaflavin نشان می‌دهد (IFD score = $-1238/98$ kcal/mol). علاوه بر این، mozenavir با نتایج مناسب‌تری از بین سایر مهارکننده‌های شناخته‌شده برای پروتئاز شبه‌کیموتریپسین، میل اتصال کمتری را نسبت به Delphinidin 3-(6''-Malonylglucoside) از خود نشان می‌دهد (IFD score = $-620/355$). بررسی نتایج حاصل از انحراف جذر میانگین مربعات مشخص کرد که مقدار انحراف جذر میانگین مربعات در کمپلکس پروتئین با Theaflavin و Delphinidin 3-Diglucoside با مقدار آن در حالتی که پروتئین با کلروکوئین داکینگ شده است (RMSD = $0/0334$)؛ شباهت بسیار زیادی دارند (تصویر شماره ۴). میزان انحراف جذر میانگین مربعات در کمپلکس پروتئین با Delphinidin 3-(6''-Malo-

GLU406، LYS441، GLN422، در جایگاه فعال ماکرومولکول ACE-2 با ایجاد ۷ پیوندهای هیدروژنی و ۳ پیوند پای، متصل می‌شود.

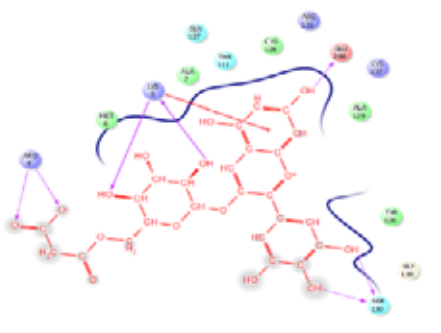
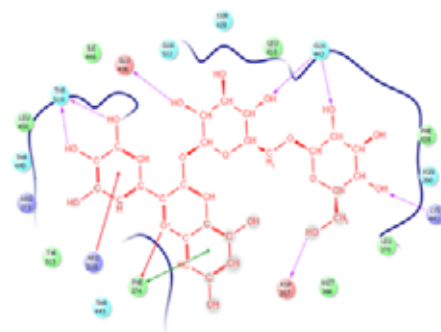
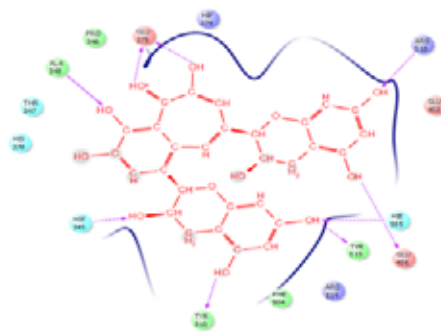
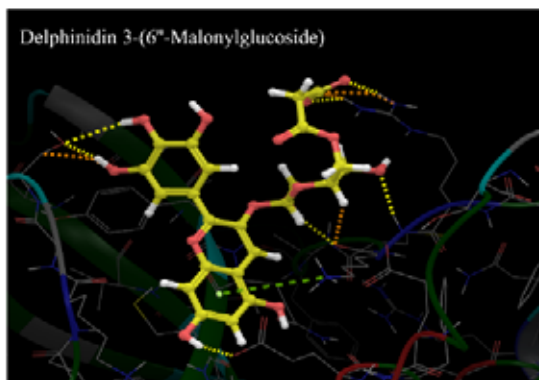
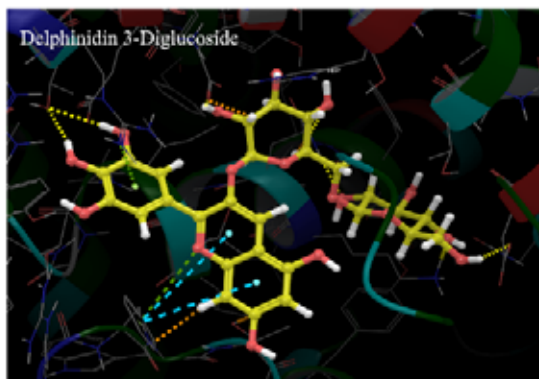
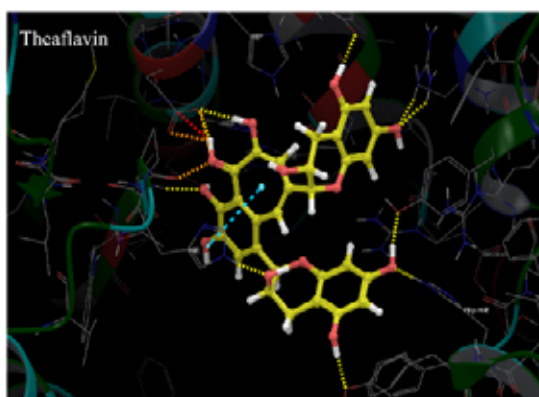
علاوه بر این، یکی دیگر از مشتقات آنتوسیانیدین‌ها به نام Delphinidin 3-(6''-Malonylglucoside)، که به‌عنوان مهارکننده پروتئاز شبه‌کیموتریپسین شناسایی شد دارای نمره IFD برابر با $-625/25$ کیلوکالری بر مول است. در محل اتصال این لیگاند، ۷ پیوند هیدروژنی و ۱ پیوند پای با آمینو اسید رزیدوهای LYS5، LYS290 و SER130 تشکیل شده است. طبق الگوی اتصال بین این لیگاندهای دارویی با آمینو اسید رزیدوهای درگیر در جایگاه فعال پروتئین، می‌توان نتیجه گرفت هر ۳ این ترکیبات عمدتاً با قسمت‌های قطبی و هیدروفیل دارای برهم کنش بیشتری هستند. تعداد و نوع پیوندهای درگیر بین لیگاند و رزیدوهای جایگاه فعال اعم از پیوندهای هیدروژنی، پل نمکی و یا پیوند الکترواستاتیکی و پیوند pi-pi نیز به‌صورت شکل ۲ بعدی و کدگذاری براساس



مجله علمی پزشکی

جندی شاپور

تصویر ۲، تصاویر سمت چپ متعلق به شکل ۳ بعدی آنزیم مبدل آنژیوتانسین - ۲ و پروتئاز شبه‌کیموتریپسین هستند، تصویر سمت راست نشان‌دهنده نقشه ۲ بعدی اتصال کلروکوئین به گیرنده ACE-2 و موزنویر به گیرنده پروتئاز است که در این شکل پیوندهای هیدروژنی با رنگ بنفش، پیوند pi-pi stack با رنگ سبز و پیوند Cation- π با رنگ قرمز نشان داده شده است.



مجله علمی پزشکی

جندی شاپور

تصویر ۳. در این تصویر، نحوه اتصال گروه‌های هیدروکسیل و حلقه‌های بنزنی موجود در ساختار ریزمولکول‌های Theaflavin، Delphinidin 3-Diglucoside و Delphinidin 3-(6'-Malonyl)glucoside به آمینواسید رزیدوهای جایگاه فعال پروتئین‌های هدف نشان داده شده است.

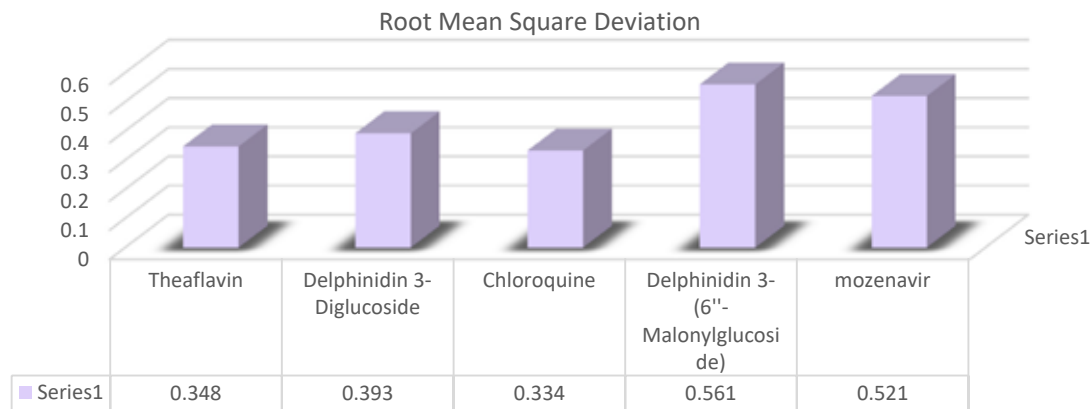
است. در این مطالعه، غربالگری مجازی برای تشخیص برترین مهارکننده در برابر ویروس کرونا انجام شد که در آن کارایی اتصال لیگاند برای کشف داروهای جدید نیز مورد بررسی قرار گرفت.

همچنین ساختارهای مورد بررسی با استفاده از روش‌های گلابد، MM-GBSA، IFD و RMSD از نظر میزان فعالیت ضدویروسی رتبه‌بندی شدند و ساختارهای برتر با بیشترین میل اتصال نسبت به جایگاه فعال پروتئین شناسایی شدند. از طرفی، مطالعات آزمایشگاهی برای بررسی توانایی بالفعل این ترکیبات در مهار گیرنده‌های ACE-2 و پروتئاز شبه‌کیموتریپسین، به دلیل معرفی این ترکیبات برای اولین بار انجام نشده است. به همین

mozenavir نیز شباهت بسیاری را نسبت به nylglucoside) از خود نشان می‌دهد.

بحث

تعداد مرگ‌ومیر در بیماری کووید-۱۹ به سرعت در حال افزایش است و تاکنون هیچ داروی قطعی و اختصاصی برای این ویروس مورد تأیید قرار نگرفته است. همچنین، هیچ‌یک از داروهای موجود و مورداستفاده با توانایی جلوگیری از تکثیر ویروس کرونا ثبت نشده‌اند. بنابراین کشف و توسعه دارو علیه این ویروس توسط مطالعات درون‌سیلیکویی ضرورت پیدا کرده



جنیدی شاپور

تصویر ۴. نمودار ارائه شده، نشان دهنده میزان انحراف جذر میانگین مربعات به عنوان یک معیار معتبر برای سنجش میزان توانایی ریزمولکول‌های معرفی شده در ایجاد موقعیت اتصال مشابه با داروهای شناخته شده کلروکوئین و موزونویر است که شباهت بسیار زیادی از فاصله اتمی در کمپلکس لیگاند پروتئین در بین آن‌ها مشاهده می‌شود.

بوومیک و همکاران در سال ۲۰۲۰ انجام دادند، بالاترین قدرت اتصال به ساختار بلوری پروتئین ACE-2 از بین فلاونوئیدها برای کوئرستین به میزان ۶/۰- کیلوکالری بر مول بیان شده است [۱۹]. در مطالعه دیگری که با استفاده از غربالگری مجازی به بررسی کتابخانه دارویی LOPAC مورد تأیید سازمان غذا و داروی ایالات متحده آمریکا پرداخته است، ۵ ترکیب برتر شناسایی شدند که از بین آن‌ها GR 127935 hydrochloride hydrate با بیشترین انرژی اتصال (-۱۱/۲۳) و برقراری ۲ پیوند هیدروژنی توانست گیرنده ACE-2 را مهار کند [۲۰]. در حالی که در مطالعه ماه این مقدار در محدوده ۷/۰۷- تا ۱۳/۷۱۱- کیلوکالری بر مول در برابر آنزیم ACE-2 به دست آمده است.

همچنین، مهارکننده پروتئاز شبه کیموتریپسین، Delphinidin 3-(6''-Malonylglucoside) از جهت میزان داکینگ

دلیل پیشنهاد می‌شود که نتایج ارائه شده در این مقاله، از جنبه‌های مختلفی نظیر دینامیک مولکولی و مطالعات برون تنی بیشتر مورد بررسی قرار بگیرند. با این حال، یافته‌های حاصل از بررسی انواع روش‌های داکینگ مولکولی که در جدول شماره ۱ گزارش شده است، نشان می‌دهد ترکیبات طبیعی معرفی شده نسبت به داروهای معمول و رایج نظیر کلروکوئین و mozenavir میل ترکیبی بیشتری به گیرنده‌های مربوطه دارند.

جست‌وجو در سایر مطالعات تحقیقاتی می‌تواند شرایطی را برای مقایسه بین میزان سودمندی و تأثیرگذاری ترکیبات معرفی شده در این مطالعه با میزان مهارکنندگی ترکیبات نتیجه‌بخش در سایر مطالعات فراهم کند. به همین دلیل، با مرور مقالات منتشر شده در این زمینه، اثربخشی ترکیبات معرفی شده به عنوان داروهای ضد ویروسی بررسی شد. طبق مطالعاتی که

جدول ۱. بررسی نتایج روش اتقای قالب و گلاید داکینگ در ۳ ترکیب برتر و مقایسه با نمونه‌های کنترل (رنگ طوسی) مرتبط با هر گیرنده پروتئینی

Compound name	Drug-target	Other inhibitory activities	XP docking score	IFD score	ΔG	H-bond	pi-pi Stacking	pi-Cation	Salt bridge
Theaflavin	ACE2	proteasomal chymotrypsin (CT)-like activity	-11.347	-1258.35	-66.27	9	-	-	-
Delphinidin 3-Diglucoside	ACE2	NF- κ B signaling pathway	-13.711	-1254.21	-83.82	7	1	2	-
Chloroquine	ACE2	Anti-malaria	-5.694	-1238.98	-62.32	1	-	2	2
Delphinidin 3-(6''-Malonylglucoside)	Protease	---	-10.686	-625.254	-60.05	7	-	1	-
Mozenavir	Protease	HIV protease inhibitor	-4.985	-620.355	-41.59	3	-	-	-

جنیدی شاپور

کاتچین یک فلاونول^{۲۷} است که به‌عنوان یک جزء اصلی در بسیاری از گیاهان مانند چای سبز، چای سیاه و توت‌ها وجود دارد [۲۶]. اپی کاتچین نیز یکی دیگر از فلاونول‌های^{۲۸} قوی است که از چای سبز و گونه‌های از علف هفت بند^{۲۹} جدا شده است [۲۷]. در بسیاری از مطالعات گزارش شده است که Theaflavin می‌تواند فعالیت پروتئاز شبه‌کیموتريپسین در ویروس‌ها را مهار و از انباشت بیشتر RNA و پروتئین‌های ویروس جلوگیری کند [۲۸، ۲۹]. همچنین تحقیقات بیشتر نشان داده است که سایر ترکیبات موجود در چای نظیر کاتچین و اپی کاتچین هم عملکرد بازدارندگی بالایی در برابر Main Protease در کووید-۱۹ دارند [۳۰]. علاوه‌براین، کاتچین و Theaflavin نسبت به ۲ لایه لیپیدی غشای سلول با ایجاد پیوندهای هیدروژنی میل اتصال بالایی از خود نشان می‌دهند. برقراری ارتباط Theaflavin با ۲ لایه لیپیدی غشا مانع از اتصال عوامل میکروبی به گیرنده‌های سلولی و در نتیجه به ایجاد اثرات ضد میکروبی، ضد سرطانی، ضد ویروسی، ضد التهابی و سایر اثرات مفید منجر می‌شود [۲۴]. در نتیجه ما پیشنهاد می‌کنیم که چای‌های طبیعی نظیر چای سبز و چای سیاه با دارا بودن ترکیباتی نظیر Theaflavin و کاتچین ممکن است به‌عنوان یک عامل مؤثر در بهبود بیماران مبتلا به کووید-۱۹ عمل کنند.

یکی دیگر از ترکیبات دارویی پیشنهاد شده در این مقاله Delphinidin (نوعی آنتوسیانین) است که در غلظت‌های قابل توجهی در سبزیجات و میوه‌های رنگی مانند زغال اخته، بلوبری، آقوی، توت خرس، تمشک، توت فرنگی و خانواده‌های روزاسه وجود دارد [۳۱]. توت‌ها میوه‌های سالمی هستند که ارزش غذایی بالایی دارند و دارای خواص درمانی بسیاری هستند [۳۲]. در بین آن‌ها، بلوبری حاوی مقدار بیشتری از Delphinidin 3-Di-glucoside همراه با سیانیدین، گالوکاتچین گالات، کاتچین، میریسیتین، کوئرستین، روتین و مشتقات دیگری از گلیکوزیدها و آنتوسیانیدین‌هاست که به فعالیت آنتی‌اکسیدانی بسیار قوی در این میوه و جلوگیری از انواع سرطان‌ها و بیماری‌های قلبی عروقی اشاره دارد [۳۳]. نکته قابل توجه این است که ترکیبات گلیکوزیده شده دارای فعالیت زیستی بالاتری در مهار عوامل میکروبی مانند ویروس‌ها هستند؛ که ممکن است این ویژگی با تکیه بر خواص قندها در ایجاد پیوندهای قوی با پروتئین‌های هدف ایجاد شود.

وجود ترکیبات گلیکوزیده شده در برخی از انواع توت‌ها به معرفی آن‌ها به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های قوی و گیاهان مؤثر با فعالیت زیستی بالا در مهار بیماری‌های ویروسی منجر شده است که حدس می‌زنیم عصاره این گیاهان می‌تواند گیرنده‌های اختصاصی ویروس کرونا را نیز تحت تأثیر قرار دهد. در بسیاری

اسکور (۱۰/۶۸۶- کیلوکالری بر مول) از سایر مهارکننده‌های شناخته‌شده پروتئاز (به‌عنوان مثال ساکونوایر، تلینوایر، لوپینوایر، موزنویر) نتایج مطلوب‌تری را نشان می‌دهد. علاوه‌براین، نتایج داکینگ ما در مقایسه با سایر مطالعاتی که از آن‌ها در سطرهای بعد بحث خواهد شد، تعامل مطلوب‌تری را بین کمپلکس لیگانند و پروتئاز نشان می‌دهد. در مطالعات جو و همکاران، میزان فعالیت‌های مهاری در ساختارهایی با بالا ترین سطح gscore در بین کتابخانه‌های از فلاونوئیدها در محدوده ۹/۰- کیلوکالری / مول برای ساختارهای herbacetin (۹/۲۶۳-، rhoifo- lin (۹/۵۶۵- و pectolarin (۸/۰۵۴- گزارش شده است [۳]. در تحقیقاتی که آنه تین تن انجام داده است، ۱/۳ بیلیون ترکیب برای مهار گیرنده پروتئازی داکینگ شدند که از این بین، ۱۰۰۰ ترکیب برتر با میزان نمرات گلاید داکینگ با دقت استاندارد در محدوده ۸- تا ۱۱/۵- کیلو کالری در مول شناسایی شدند که از جمله ترکیبات برتر در این مطالعه می‌توان به ساختارهای ZINC000541677852 (۱۱/۳۲-)، ZINC000543523838 (۱۰/۸۵-)، ZINC000544491494 (۱۰/۷۵-)، ZINC000544491491 (۱۰/۵۰- و غیره اشاره کرد [۲۱]. از بین مجموعه داروهای مورد بررسی در مطالعات مایکل بری و همکاران نیز ZINC27332786 (۹/۵-)، ZINC15987063 و ZINC9104621 (۹/۸-)، ZINC2328322 و ZINC15999133 (۹/۷- و ۲۲ ساختار دیگر به‌عنوان بهترین ترکیبات معرفی شده‌اند [۲۲].

امروزه جست‌وجوی دارو به سمت استفاده از محصولات گیاهی به‌دلیل وجود منابع غنی از عوامل دارویی در آن‌ها سوق پیدا کرده است. در واقع، داروهای پیشنهاد شده در طب سنتی و گیاهان دارویی، دارای سابقه طولانی مدت در درمان بیماری‌های ویروسی هستند که به‌دلیل ایمنی بیشتر، سمیت کمتر و مقرون‌به‌صرفه بودن بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند [۲۳]. در ادامه مقاله سعی شده است تا پیشینه استفاده از این ترکیبات مؤثر گیاهی در درمان بیماری‌های ویروسی، مکانیسم عمل و یافتن ارتباط آن با درمان ویروس کرونا از جنبه‌های مختلفی مورد کندوکاو قرار بگیرد.

Theaflavin جزء خانواده فلاونوئیدها طبقه‌بندی می‌شود و طی فرایند تخمیر از کاتچین تولید می‌شود [۲۴]. فلاونوئیدها جزو مهم‌ترین متابولیت‌های ثانویه در گیاهان پلی‌گونوم هستند و فعالیت‌های زیستی متنوعی مانند خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و ضد ویروسی دارند. عصاره چای سیاه غنی از Theaflavin و کاتچین با غلظت‌های بسیار زیادی است که این ترکیبات علاوه بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالایی که دارند، در مهار فعالیت چندین عفونت ویروسی از جمله ویروس کرونا در حیوانات نیز نقش دارند [۲۵].

27. Flavonol

28. Flavanol

29. Polygonum paleaceum

گذراندن فازهای مختلف آزمایشات بالینی و بررسی اثر سمیت آن‌ها بر روی بدن به‌عنوان دارو مورد استفاده قرار بگیرند.

نتیجه‌گیری

ما در این مطالعه، ترکیباتی نظیر Theaflavin و مشتقات Delphinidin را به‌عنوان ترکیبات مؤثری در کنترل ویروس کرونا معرفی می‌کنیم، زیرا این ریزمولکول‌ها از میل اتصال بالایی نسبت به گیرنده‌های پروتئینی مورد بررسی برخوردار هستند و همین‌طور انرژی بسیار کمتری برای اتصال آن‌ها به گیرنده در مقایسه با نمونه‌های کنترل مورد نیاز است. مقدار انحراف جذر میانگین مربعات در آن‌ها نیز کاملاً نزدیک به انواع داروهای کنترل مرتبط با گیرنده اختصاصی آن‌هاست (تصویر شماره ۲). نکته قابل توجه تأثیر بالای گروه‌های گلیکوزیده شده در ساختار آن‌ها در ایجاد پیوند و افزایش میل اتصال به گیرنده است که از بررسی نتایج داکینگ و شکل ۲ بعدی فعل‌وانفعالات بین آن‌ها استنتاج می‌شود. علاوه‌براین، ساختار ترکیبات توصیف‌شده، به‌دلیل منشأ گرفتن آن‌ها از گیاهان و میوه‌های در دسترس، برای عموم مردم قابل استفاده هستند و خطرات جانبی کمتری را نسبت به داروهای شیمیایی ایجاد می‌کنند. استفاده از ساختارهای طبیعی معرفی‌شده در این مقاله ممکن است فرصت جدیدی برای تهیه فرمولاسیون‌های جدید دارویی علیه کووید-۱۹ فراهم کند.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

مقاله حاضر از نوع بیوانفورماتیکی و درون سیلیکویی می‌باشد و نیاز به کد اخلاق ندارد.

حامی مالی

این پژوهش هیچ‌گونه کمک مالی از سازمانی‌های دولتی، خصوصی و غیرانتفاعی دریافت نکرده است.

مشارکت‌نویسندگان

ایده اولیه، ویرایش و تصحیحات: حسین شاهسوارانی و عاطفه علیپور؛ تحلیل، پردازش و نگارش مقاله: زهرا آزادیان؛ بررسی داده‌ها: کیهان آزادمنش.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.

از موارد گزارش شده است که آنتوسیانین‌ها خصوصاً Delphinidin 3-O-b-glucosides، باعث کاهش سیگنالینگ NF- κ B، یکی از مهم‌ترین مسیرهای پیام‌رسان در هنگام عفونت‌های ویروسی می‌شود [۳۴]. در واقع، مهار سیگنالینگ NF- κ B با کاهش بیان سیتوکین‌های ایجادکننده التهاب و نوتروفیل‌ها می‌تواند برای درمان ویروس آنفولانزا و ویروس سارس مفید باشد. افزایش التهاب ناشی از نوتروفیل‌ها در ریه‌های ملتهب به ایجاد برونشیت و آسیب‌های ریوی منجر می‌شود [۳۵].

همچنین فعال شدن NF- κ B می‌تواند برای سیستم قلبی‌عروقی هم بسیار مضر باشد و باعث بازسازی نامطلوب و آپوپتوز سلول‌ها شود [۳۶]. بالا بودن بیان ACE-2 در سلول‌های قلبی نسبت به سلول‌های ریوی به تأثیرات بالینی ویروس کرونا بر روی سیستم قلبی‌عروقی و بروز آسیب‌های قلبی حاد منجر می‌شود و این مطلب حساس بودن سیستم قلبی‌عروقی را در برابر ویروس کووید-۱۹ نشان می‌دهد [۳۷]. بنابراین در درمان بیماری کووید-۱۹، استفاده از گیاهان غنی از آنتوسیانین، مانند زغال اخته و توت‌فرنگی با اثرات مفید بر تصلب شرایین و سایر بیماری‌های قلبی‌عروقی، توانایی مهار مسیر NF- κ B و میل اتصال قوی به گیرنده ACE-2 به‌دلیل دارا بودن مقادیر زیادی Delphinidin و ترکیبات گلیکوزیده را پیشنهاد می‌کنیم [۳۴].

ماده (Delphinidin 3-(6"-Malonylglucoside)-3) نیز متعلق به رده آنتوسیانیدین است و در انواع مختلفی از گیاهان مانند گل ختمی^{۳۰} از خانواده پنیرکیان وجود دارد [۳۸]. جالب اینجاست که در روش عصاره‌گیری متانولی از گلبرگ‌های ختمی و استخراج عصاره از میوه بنفش گیاه *Passiflora Suberosa* (نوعی گل ساعتی)، هم Delphinidin 3-(6"-Malonylglucoside) و هم Delphinidin 3-Diglucoside حاصل می‌شود [۳۹]. در واقع، وجود هر دو ماده مشتق‌شده از Delphinidin در یک عصاره گیاهی که هرکدام مکانیسم عمل متفاوتی برای مهار ویروس کرونا (یکی با مهار ACE-2 و دیگری با مهار پروتئاز) دارند، ممکن است اثرات هم‌افزایی در درمان بیماری ایجاد کند.

یافته‌ها حاکی از آن است که ترکیبات برتر در این مقاله می‌توانند به‌عنوان داروهای امیدوارکننده‌ای در درمان بیماران مبتلا به کرونا مورد استفاده قرار بگیرند. علی‌رغم وجود شواهدی مبنی بر اینکه برخی از فلاونوئیدها مستقیماً در برابر پروتئاز شبه‌کیموتریپسین فعالیت مهارکنندگی و ضدویروسی دارند، اما هدف قرار دادن پروتئین ACE-2 برای فلاونوئیدها از جمله Theaflavin در این مقاله نیز به اثبات رسیده است. بدین ترتیب، داروهای مورد بحث در این مطالعه ممکن است در درمان ترکیبی و هم‌زمان برای اهداف مهار ACE-2 و پروتئاز شبه‌کیموتریپسین مفید باشند. هرچند، مطالعات بیشتری در این زمینه مورد نیاز است تا به دنبال

تشکر و قدردانی

از دکتر هیمانث کومار سریواستاوا^{۳۱} و سواش پند^{۳۲} و از گروه فارماکوانفورماتیک انستیتوی ملی آموزش و تحقیقات دارویی در کلکته هند، به دلیل ارائه تسهیلات محاسباتی و مجوز Schro-dinger Inc قدردانی می‌شود.

31. Hemant Kumar Srivastava
32. Suyash Pant

References

- [1] Pradhan P, Pandey AK, Mishra A, Gupta P, Tripathi PK, Menon MB, et al. Uncanny similarity of unique inserts in the 2019-nCoV spike protein to HIV-1 gp120 and Gag. *bioRxiv*. 2020; 2020; [Unpublished]. [DOI:10.1101/2020.01.30.927871]
- [2] Chiappelli F. CoVID-19 susceptibility. *Bioinformatics*. 2020; 16(7):501-4. [DOI:10.6026/97320630016501] [PMID] [PMCID]
- [3] Jo S, Kim S, Shin DH, Kim MS. Inhibition of SARS-CoV 3CL protease by flavonoids. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2020; 35(1):145-51. [DOI:10.1080/14756366.2019.1690480] [PMID] [PMCID]
- [4] Kearney MT, Cotton JM, Richardson PJ, Shah AM. Viral myocarditis and dilated cardiomyopathy: Mechanisms, manifestations, and management. *Postgrad Med J*. 2001; 77(903):4-10. [DOI:10.1136/pmj.77.903.4] [PMID] [PMCID]
- [5] Wang M, Cao R, Zhang L, Yang X, Liu J, Xu M, et al. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. *Cell Res*. 2020; 30(3):269-71. [DOI:10.1038/s41422-020-0282-0] [PMID] [PMCID]
- [6] Sanders JM, Monogue ML, Jodlowski TZ, Cutrell JB. Pharmacologic treatments for coronavirus disease 2019 (COVID-19): A review. *JAMA*. 2020; 323(18):1824-36. [DOI:10.1001/jama.2020.6019] [PMID]
- [7] Anderson J, Schiffer C, Lee SK, Swanstrom R. Viral protease inhibitors. *Handb Exp Pharmacol*. 2009; 189(189):85-110. [DOI:10.1007/978-3-540-79086-0_4] [PMID] [PMCID]
- [8] Deng X, StJohn SE, Osswald HL, O'Brien A, Banach BS, Sleeman K, et al. Coronaviruses resistant to a 3C-like protease inhibitor are attenuated for replication and pathogenesis, revealing a low genetic barrier but high fitness cost of resistance. *J Virol*. 2014; 88(20):11886-98. [DOI:10.1128/JVI.01528-14] [PMID] [PMCID]
- [9] Beeraka NM, Tulimilli SV, Karnik M, Sadhu SP, Pragada RR, Aliev G, et al. The current status and challenges in the development of vaccines and drugs against severe acute respiratory syndrome-corona virus-2 (SARS-CoV-2). *Biomed Res Int*. 2021; 2021:8160860. [DOI:10.1155/2021/8160860] [PMID] [PMCID]
- [10] Wiersinga WJ, Rhodes A, Cheng AC, Peacock SJ, Prescott HC. Pathophysiology, transmission, diagnosis, and treatment of coronavirus disease 2019 (COVID-19): A review. *JAMA*. 2020; 324(8):782-93. [DOI:10.1001/jama.2020.12839] [PMID]
- [11] Galindez G, Matschinske J, Rose TD, Sadegh S, Salgado-Albarrán M, Späth J, et al. Lessons from the COVID-19 pandemic for advancing computational drug repurposing strategies. *Nat Comput Sci*. 2021; 1(1):33-41. [DOI:10.1038/s43588-020-00007-6]
- [12] Wan Y, Shang J, Graham R, Baric RS, Li F. Receptor recognition by the novel coronavirus from Wuhan: An analysis based on decade-long structural studies of SARS Coronavirus. *J Virol*. 2020; 94(7):e00127-20. [DOI:10.1128/JVI.00127-20] [PMID] [PMCID]
- [13] Xia S, Zhu Y, Liu M, Lan Q, Xu W, Wu Y, et al. Fusion mechanism of 2019-nCoV and fusion inhibitors targeting HR1 domain in spike protein. *Cell Mol Immunol*. 2020; 17(7):765-7. [DOI:10.1038/s41423-020-0374-2] [PMID] [PMCID]
- [14] Lee H, Mittal A, Patel K, Gatuz JL, Truong L, Torres J, et al. Identification of novel drug scaffolds for inhibition of SARS-CoV 3-Chymotrypsin-like protease using virtual and high-throughput screenings. *Bioorg Med Chem*. 2014; 22(1):167-77. [DOI:10.1016/j.bmc.2013.11.041] [PMID] [PMCID]
- [15] Chang YC, Tung YA, Lee KH, Chen TF, Hsiao YC, Chang HC, et al. Potential therapeutic agents for COVID-19 based on the analysis of protease and RNA polymerase docking. *Preprints*. 2020; [Unpublished]. [DOI:10.20944/preprints202002.0242.v1]
- [16] Patick AK, Potts KE. Protease inhibitors as antiviral agents. *Clin Microbiol Rev*. 1998; 11(4):614-27. [DOI:10.1128/CMR.11.4.614] [PMID] [PMCID]
- [17] Lan J, Ge J, Yu J, Shan S, Zhou H, Fan S, et al. Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. *Nature*. 2020; 581:215-20. [DOI:10.1038/s41586-020-2180-5]
- [18] Friesner RA, Murphy RB, Repasky MP, Frye LL, Greenwood JR, Halgren TA, et al. Extra precision glide: Docking and scoring incorporating a model of hydrophobic enclosure for protein-ligand complexes. *J Med Chem*. 2006; 49(21):6177-96. [DOI:10.1021/jm051256o] [PMID]
- [19] Bhowmik D, Nandi R, Prakash A, Kumar D. Evaluation of flavonoids as 2019-nCoV cell entry inhibitor through molecular docking and pharmacological analysis. *Heliyon*. 2021; 7(3):e06515. [DOI:10.1016/j.heliyon.2021.e06515]
- [20] Choudhary S, Malik YS, Tomar S. Identification of SARS-CoV-2 cell entry inhibitors by drug repurposing using in silico structure-based virtual screening approach. *Front Immunol*. 2020; 11:1664. [DOI:10.3389/fimmu.2020.01664] [PMID] [PMCID]
- [21] Ton AT, Gentile F, Hsing M, Ban F, Cherkasov A. Rapid identification of potential inhibitors of SARS-CoV-2 main protease by deep docking of 1.3 billion compounds. *Mol Inform*. 2020; 39(8):2000028. [DOI:10.1002/minf.202000028]
- [22] Berry M, Fielding BC, Gamielidien J. Potential broad spectrum inhibitors of the Coronavirus 3CLpro: A virtual screening and structure-based drug design study. *Viruses*. 2015; 7(12):6642-60. [DOI:10.3390/v7122963] [PMID] [PMCID]
- [23] Lin LT, Hsu WC, Lin CC. Antiviral natural products and herbal medicines. *J Tradit Complement Med*. 2014; 4(1):24-35. [DOI:10.4103/2225-4110.124335] [PMID] [PMCID]
- [24] Sirk TW, Friedman M, Brown EF. Molecular binding of black tea theaflavins to biological membranes: Relationship to bioactivities. *J Agric Food Chem*. 2011; 59(8):3780-7. [DOI:10.1021/jf2006547] [PMID]
- [25] Jassim SA, Naji MA. Novel antiviral agents: A medicinal plant perspective. *J Appl Microbiol*. 2003; 95(3):412-27. [DOI:10.1046/j.1365-2672.2003.02026.x] [PMID]
- [26] Mbaveng AT, Zhao Q, Kuete V. Harmful and protective effects of phenolic compounds from African medicinal plants. In: Kuete V, editor. *Toxicological survey of African medicinal Plants*. Edinburgh: Elsevier Inc; 2014. [DOI:10.1016/B978-0-12-800018-2.00020-0]

- [27] Shen BB, Yang YP, Yasamin S, Liang N, Su W, Chen SH, et al. Analysis of the phytochemistry and bioactivity of the genus polygonum of polygonaceae. *Digit Chinese Med.* 2018; 1(1):19-36. [DOI:10.1016/S2589-3777(19)30005-9]
- [28] Mujtaba T, Dou QP. Black tea polyphenols inhibit tumor proteasome activity. *In Vivo.* 2012; 26(2):197-202. [Link]
- [29] Tran K, Mahr JA, Spector DH. Proteasome subunits relocalize during human cytomegalovirus infection, and proteasome activity is necessary for efficient viral gene transcription. *J Virol.* 2010; 84(6):3079-93. [DOI:10.1128/JVI.02236-09] [PMID] [PMCID]
- [30] Khaerunnisa S, Kurniawan H, Awaluddin R, Suhartati S, Soetjipito S. Potential Inhibitor of COVID-19 main protease (M^{pro}) from Several Medicinal Plant Compounds by Molecular Docking Study. Preprints. 2020; [Unpublished]. [DOI:10.20944/preprints202003.0226.v1]
- [31] Bonetti F, Brombo G, Zuliani G. Nootropics, functional foods, and dietary patterns for prevention of cognitive decline. In: Ross Watson R, editor. *Nutrition and functional foods for healthy aging.* Edinburgh: Elsevier Inc; 2017. [DOI:10.1016/B978-0-12-805376-8.00019-8]
- [32] Côté J, Caillet S, Doyon G, Sylvain JF, Lacroix M. Bioactive compounds in cranberries and their biological properties. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2010; 50(7):666-79. [DOI:10.1080/10408390903044107] [PMID]
- [33] Huang WY, Zhang HC, Liu WX, Li CY. Survey of antioxidant capacity and phenolic composition of blueberry, blackberry, and strawberry in Nanjing. *J Zhejiang Univ Sci B.* 2012; 13(2):94-102. [DOI:10.1631/jzus.B1100137] [PMID] [PMCID]
- [34] Hassellund SS, Flaa A, Kjeldsen SE, Seljeflot I, Karlsen A, Erlund I, et al. Effects of anthocyanins on cardiovascular risk factors and inflammation in pre-hypertensive men: A double-blind randomized placebo-controlled crossover study. *J Hum Hypertens.* 2013; 27(2):100-6. [DOI:10.1038/jhh.2012.4] [PMID]
- [35] DeDiego ML, Nieto-Torres JL, Regla-Nava JA, Jimenez-Guardaño JM, Fernandez-Delgado R, Fett C, et al. Inhibition of NF- κ B-mediated inflammation in severe acute respiratory syndrome coronavirus-infected mice increases survival. *J Virol.* 2014; 88(2):913-24. [DOI:10.1128/JVI.02576-13] [PMID] [PMCID]
- [36] No Author. Corrigendum to: Multilevel analyses of SCN5A mutations in arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy suggest non-canonical mechanisms for disease pathogenesis. *Cardiovasc Res.* 2017; 113(6):691. [DOI:10.1093/cvr/cvx028] [PMID] [PMCID]
- [37] Xu H, Zhong L, Deng J, Peng J, Dan H, Zeng X, et al. High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa. *Int J Oral Sci.* 2020; 12(1):8. [DOI:10.1038/s41368-020-0074-x] [PMID] [PMCID]
- [38] Kim JH, Nonaka GI, Fujieda K, Uemoto S. Anthocyanidin malonylglucosides in flowers of *Hibiscus syriacus*. *Phytochemistry.* 1989; 28(5):1503-6. [DOI:10.1016/S0031-9422(00)97774-4]
- [39] Kidøy L, Nygård AM, Andersen ØM, Pedersen AT, Aksnes DW, Kiremire BT. Anthocyanins in fruits of *passiflora edulis* and *P. suberosa*. *J Food Compos Anal.* 1997; 10(1):49-54. [DOI:10.1006/jfca.1996.0514]