

## بررسی مهارپذیری متابولیت‌های ثانویه گیاهی در مقایسه با داروهای شیمیایی بر روی پروتئاز اصلی $M^{Pro}$ و Spike گلیکوپروتئین ویروس SARS-CoV-2 (nCoV-19) به

### روش داکینگ مولکولی



دنیا پوی<sup>۱</sup>، مسعود توحیدفر<sup>۱\*</sup> و مهرداد سادات نصراله زاده<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> ایران، تهران، دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، گروه بیوتکنولوژی

<sup>۲</sup> ایران، مشهد، دانشگاه علوم پزشکی، گروه شیمی دارویی

تاریخ دریافت: ۹۹/۴/۹ تاریخ پذیرش: ۹۹/۸/۷

#### چکیده

عفونت ناشی از ویروس SARS-COV-2 یکی از عوامل اصلی مرگ و میر در قرن ۲۱ است. پژوهش‌های زیادی با هدف معرفی ترکیبات موثر ضد ویروس SARS-COV-2 بویژه ترکیبات گیاهی در حال انجام است. هدف از پژوهش حاضر، غربالگری بیوانفورماتیکی مهارکننده‌های پروتئاز اصلی ( $M^{Pro}$ ) و پروتئین S ویروس از میان ترکیبات فنولی و ترپنوئیدی گیاهی می‌باشد. ساختار سه بعدی و شیمیایی پروتئین‌های ویروس و ترکیبات فنولی و ترپنوئیدی گیاهی از پایگاه داده‌های پروتئین و Pubchem دریافت شد. در نهایت ترکیبات گیاهی بر روی پروتئاز اصلی ( $M^{Pro}$ ) و پروتئین S ویروس به روش داکینگ مولکولی با استفاده از نرم‌افزار iGemdock 2.1 بررسی سپس خصوصیات فیزیکی-شیمیایی ترکیبات از نظر نفوذپذیری، حلالیت و جذب گوارشی با استفاده از نرم‌افزار Swiss ADME پیش‌بینی شد. ۴ ترکیب ترپنوئیدی گلیسریریک اسید (glycyrrhizic acid)، سیکوساپونین B2 (Saikosaponin B2)، پولی‌فیلین I (Polyphyllin I) و ویتافرین A (Withaferin A) و ۷ ترکیب فنولی EGCG، رزماریک اسید (Rosmarinic acid)، سیلیبینین (Silibinin)، کلروژنیک اسید (Chlorogenic acid)، پروآنتوسیانیدین (Proanthocyanidin)، پروسیانیدین B2 (Procyanidin B2) و آنتوسیانین (Anthocyanin) با داشتن انرژی اتصال قوی در مقایسه با ترکیبات دارویی مرجع مانند آزیترومایسین (Azithramycine) و رمدیسویر (Remdesivir) و غیره، کاندیدهای فیتوشیمیایی بسیار مناسبی برای مهار گلیکوپروتئین S و پروتئاز اصلی ویروس ( $M^{Pro}$ ) می‌باشند.

طبق نتایج هر دو ترکیب فنولی و ترپنوئیدی در مقایسه با داروهای شیمیایی، قدرت مهار مناسبی برای پروتئاز  $M^{Pro}$  و پروتئین S ویروس دارند و می‌توانند نامزدهای مناسبی جهت بررسی‌های *in vivo* و *in vitro* باشند.

واژه‌های کلیدی: ویروس SARS-COV-2، پروتئاز  $M^{Pro}$ ، گلیکوپروتئین S، ترکیبات گیاهی، داکینگ مولکولی

\* نویسنده مسئول، تلفن: +۰۰۹۸۹۱۲۴۶۲۷۰۱۴، پست الکترونیکی: gtohidfar@yahoo.com

#### مقدمه

کرونا ویروس‌ها (CoVs) باعث ایجاد انواع بیماری‌ها از جمله بیماری‌های تنفسی، روده، کلیه، مغز و اعصاب در انسان و حیوانات می‌شوند. (۲۷). از ابتدای این قرن، تاکنون سه شیوع بیماری زونوتیک (بیماری‌هایی که از حیوانات به انسان منتقل می‌شوند) از نوع بتا

کرونا ویروس‌ها (CoVs) باعث ایجاد انواع بیماری‌ها از جمله بیماری‌های تنفسی، روده، کلیه، مغز و اعصاب در انسان و حیوانات می‌شوند. (۲۷). از ابتدای این قرن، تاکنون سه شیوع بیماری زونوتیک (بیماری‌هایی که از حیوانات به انسان منتقل می‌شوند) از نوع بتا

رو، پروتئاز  $M^{pro}$  و پروتئین S می‌توانند اهدافی ایده آل برای طراحی و توسعه دارو جهت مهار این ویروس باشند. دانشمندان در همه حوزه‌های مرتبط از جمله دانشمندان علوم پایه، علوم پزشکی، داروسازان، متخصصین بیوتکنولوژی و ژنتیک در حال بررسی ابعاد مختلف درمان جهت تولید واکسن یا دارویی موثر برای این ویروس در جهان می‌باشند. تا کنون از برخی داروها به صورت داروهای ترکیبی برای مهار بیماری کووید ۱۹ در جهان استفاده شده است اما محققان همچنان در پی یافتن واکسن یا دارویی ویژه برای درمان این بیماری هستند چراکه داروهای تجویز شده به تنهایی عملکرد موثری در مهار کامل بیماری نداشته و یا همراه با اثرات جانبی فراوان بر سلولها و بافت‌های بدن می‌باشند. گیاهان یکی از منابع ترکیبات فعال دارویی هستند که کاربرد گسترده‌ای در درمان بیماری‌های ناشی از میکروب‌ها دارند (۱۰، ۲۵، ۳۵). بسیاری از ترکیبات گیاهی فعال زیستی گزارش شده، دارای فعالیت‌های ضد قارچ، ضد باکتری و ضد ویروسی هستند (۷، ۲۶، ۲۹). گیاهان و محصولات مشتق شده گیاهی نسبت به روش‌های معمول درمانی مزایایی همچون ساده بودن، ایمنی بیشتر، سمیت کمتر، هزینه کمتر، سرعت عمل بالاتر و سازگاری با محیط زیست را دارا می‌باشند (۱۳). جستجو برای یافتن کاندیداهای بالقوه از میان ترکیبات گیاهی که بتوانند بدون عوارض جانبی یا با عوارض جانبی کمتر ویروس را مهار کنند در بیماری‌های ویروسی مشابه مانند ایدز، هپاتیت C و HSV انجام شده است (۳۴). از میان ترکیبات متنوع گیاهی، ترکیبات فنولی و ترپنوئیدی با داشتن خواص متعدد دارویی همچون ضد سرطان، ضد اکسیدان، ضد التهاب، ضد ویروس، ضد باکتری و حفاظت‌کننده سیستم ایمنی و کبد، مورد توجه محققان قرار گرفته‌اند و در مطالعات قبلی، پتانسیل مهار تکثیر ویروس‌ها و عفونت‌زایی آنها مشاهده شده است (۱۶، ۳۰).

B کروناویروس نوع بتا است و دارای ارتباط نزدیک فیلوژنی با SARS (RaTG13) است که در سال ۲۰۱۳، در چین کشف شد (۱۲، ۳۲). کرونا ویروس جدید ۲۰۱۹ (nCoV2019) که اخیراً با عنوان کووید ۱۹ (COVID-19) از آن یاد می‌شود به عنوان یک عامل بیماری‌زا در چین با بروز علائم اولیه مانند تب، بیماری شدید تنفسی و پنومونیا ظاهر شد (۳۷).

ویروس SARS-CoV-2 حاوی چهار پروتئین ساختاری به نام‌های Spike (تاج)، Envelope (پاکت)، Membrane (غشاء) و پروتئین Nucleocapsid (نوکلئوکپسید) می‌باشد. گلیکوپروتئین سطحی (پروتئین S)، یک پروتئین مهم اتصالی برای همجوشی ویروس و غشای سلولی از طریق آنزیم تبدیل‌کننده آنژیوتانسین ۲ گیرنده سلولی (ACE2) است و پروتئین مهم دیگر، پروتئاز اصلی ( $M^{pro}$  / 3CLpro) می‌باشد که یک آنزیم کلیدی برای تکثیر کرونا ویروس است (۱۷، ۳۳).

پروتئاز اصلی کروناویروس ( $M^{pro}$  / 3CLpro) مانند پروتئازهای گیاهی پاپاین (Papain-like proteinase)، برای پردازش پلی پروتئین‌هایی که از RNA ویروسی ترجمه میشوند ضروری است. بنابر این مهار فعالیت این آنزیم مانع از تکثیر ویروس می‌شود. از آنجا که هیچ پروتئاز انسانی با ویژگی هضم مشابه شناخته نشده است، بعید نیست مهارکننده‌های پروتئاز اصلی ویروس برای بدن انسان سمی باشند (۴۲). از نظر ساختاری، پروتئاز اصلی کروناویروس حاوی یک زنجیره A به طول ۳۰۶ اسید آمینه و از دسته پروتئین‌های غیرساختاری ویروس می‌باشد. گلیکوپروتئین S از نظر ساختاری دارای سه زنجیره B، A و C به طول ۱۲۸۱ aa و دارای دو زیر واحد S1 و S2 می‌باشد که به ترتیب وظیفه اتصال و همجوشی با غشا را برعهده دارند که بخش C ترمینال زیر واحد S2 مسئول همجوشی ویروس با سلول است (۳۱، ۳۸). از این

امروزه به منظور کاهش هزینه و زمان در تولید دارو، توجه زیادی به پیش مطالعات در طراحی دارو به روش‌های بیوانفورماتیکی معطوف شده است. در این روش، بکارگیری ابزارهای بیوانفورماتیکی و روش‌های محاسباتی که با ضریب اطمینان بالا اثربخشی ترکیبات دارویی و نیز سمیت احتمالی آنها را پیش‌بینی میکنند طی سال‌های اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته اند (۲۴). داکینگ مولکولی، شبیه‌سازی، تعیین نقطه هدف و بررسی‌های پایداری شیمیایی، از مهم‌ترین روش‌های بیوانفورماتیکی استفاده شده در طراحی دارو هستند. در این میان، داکینگ مولکولی از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است. در این تکنیک می‌توان با در نظر گرفتن حالت‌های مختلف مولکول‌های مورد نظر در فضای سه بعدی و پیش‌بینی چگونگی تعامل پروتئین گیرنده با ترکیبات فعال زیستی (لیگاند)، نحوه میان‌کنش آن‌ها را بررسی کرد و عوامل موثر در برهم‌کنش پایدارتر و مهم از لحاظ شناخت دارو را تعیین نمود (۹).

این تحقیق با توجه به گزارش‌های تایید شده قبلی در خصوص پتانسیل ترکیبات فعال زیستی و برخی از ترکیبات گیاهی (phytochemical) در پیشگیری و درمان عفونت‌های ویروسی چندین ترکیب فعال زیستی شناخته شده مانند ترکیبات فنولی و ترپنوئیدی گیاهی به عنوان کاندیدهای دارویی موثر برای غلبه بر کووید ۱۹ با استفاده از داکینگ مولکولی بررسی شده است.

## مواد و روشها

**جمع‌آوری داده:** این پژوهش به شیوه توصیفی-تحلیلی انجام شد. در گام نخست از میان ترکیبات موثر گیاهان دارویی دو گروه ترکیبات فنولی و ترپنوئیدی که دارای خاصیت ضد ویروسی بودند انتخاب شدند و در گام بعدی از میان ۱۰۰ ترکیب فنولی و ترپنوئیدی، ۲۲ ترکیب فنولی و ۸ ترکیب ترپنوئیدی که بر اساس مقالات پیشین، خاصیت ضد ویروسی آنها بر روی بیماری‌هایی مانند

آنفلوآنزا، HIV، HPV و سرطان‌های مختلف مانند سرطان کبد اثبات شده بود، به عنوان لیگاند انتخاب شدند که فرمول ترکیبات و کد دسترسی به آنها در PubChem جدول ۱ آورده شده است. ساختار سه بعدی لیگاندهای مذکور از پایگاه داده‌های شیمیایی به آدرس (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) دریافت شد و برای ساختارهایی که ساختار سه بعدی آن‌ها در سایت مذکور وجود نداشت، از روی ساختار دو بعدی موجود در سایت، با کمک نرم‌افزار Chem Draw Ultra 7.0 ساختار سه بعدی آن ترکیبات نیز تهیه شد. ساختار سه بعدی پروتئاز M<sup>Pro</sup> و Spike گلیکوپروتئین SARS-CoV-2 نیز از پایگاه داده‌های پروتئین به آدرس (<http://www.rcsb.org>) دریافت شد.

به ترتیب با شماره دسترسی 6VXX و 6LU7 دریافت شد. به منظور بررسی برهم‌کنش لیگاند و رسپتور (گیرنده) در پایدارترین حالت از لحاظ انرژی و ساختار، پیش از بررسی نهایی، همه ساختارهای مولکولی از نظر انرژی برهم‌کنش ایتیمایز شد، سپس ساختاری که دارای کمترین انرژی است، انتخاب و جهت مطالعات داکینگ توسط برنامه iGEMDOCKv2.1 آنالیز شد. در پروتئین رسپتور، محل اسید آمینه‌ها به عنوان جایگاه فعال، جایگاه لیگاندها به آن متصل می‌شوند با استفاده از یک پایگاه پروتئین به آدرس (<https://www.uniprot.org>) مشخص شد. در مورد پروتئاز (M<sup>Pro</sup>) از کل ساختار به عنوان رسپتور استفاده شد اما به جهت بزرگ بودن پروتئین S و جهت بررسی رقابت میان آنالوگ‌های گیاهی هدف، با پروتئین S، برای اتصال به گیرنده سلولی انسان، تنها از بخش‌های دومین اتصال پروتئین S، برای پیدا کردن بهترین جهت گیری یک لیگاند در یک کمپلکس با حداقل انرژی استفاده شد. بخش‌های دومین اتصال این پروتئین، شامل ناحیه دومین اتصال رسپتور (RBD) از اسید آمینه ۳۱۹-۵۴۱ و ناحیه اتصال رسپتور به گیرنده (ACE2) در سطح سلولی انسان از اسید آمینه ۴۳۷-۵۰۸ به عنوان دومین‌های قابل بررسی جدا شدند.

جدول ۱- ترکیبات فنولی و ترپنوئیدی گیاهی کاندید شده جهت بررسی بیوانفورماتیکی مهارکننده های آنزیم  $M^{pro}$  و پروتئین S و ویروس SARS-CoV-2 بر اساس پایگاه داده های شیمیایی PubChem

ردیف	نوع ترکیب	نام ترکیب	کد دسترسی در pubchem	فرمول مولکولی
۱	ترکیبات فنولی	Anethole	۶۳۷۵۶۳	C10H12O
۲		Apigenin	۵۲۸۰۴۴۳	C15H10O5
۳		Caffeic acid	۶۸۹۰۴۳	C9H8O4
۴		EGCG	۶۵۰۶۴	C22H18O11
۵		Eugenol	۳۳۱۴	C10H12O2
۶		Glabridin	۱۲۴۰۵۲	C20H20O4
۷		Liquiritigenin	۱۱۴۸۲۹	C15H12O4
۸		Menthol	۱۲۵۴	C10H20O
۹		Rosmarinic acid	۵۲۸۱۷۹۲	C18H16O8
۱۰		Isoimperatorin	۶۸۰۸۱	C16H14O4
۱۱		Osthole	۱۰۲۲۸	C15H16O3
۱۲		oxypeucedanin hydrate	۱۷۵۳۶	C16H16O6
۱۳		psoralen	۶۱۹۹	C11H6O3
۱۴		Quercetin	۵۲۸۰۳۴۳	C15H10O7
۱۵		Silibinin	۳۱۵۵۳	C25H22O10
۱۶		Thymol	۶۹۸۹	C10H14O
۱۷		Gingerol	۴۴۲۷۹۳	C17H26O4
۱۸		Carvacrol	۱۰۳۶۴	C10H14O
۱۹		Proanthocyanidin	۱۰۸۰۶۵	C31H28O12
۲۰		Procyanidin B2	۱۲۲۷۳۸	C30H26O12
۲۱		Anthocyanin	۱۳۱۷۵۱۶۸۲	+C57H59O35
۲۲	Chlorogenic acid	۱۷۹۴۴۲۷	C16H18O9	
۱	ترکیبات ترپنوئیدی	Safficinolide	۸۵۱۵۲۶۹۹	C20H24O5
۲		Oleanolic acid	۱۰۴۹۴	C30H48O3
۳		Ursolic acid	۶۴۹۴۵	C30H48O3
۴		glycyrrhizic acid	۱۴۹۸۲	C42H62O16
۵		Withanolide	۵۳۴۷۷۷۶۵	C28H38O6
۶		Saikosaponin B2	۲۱۶۳۷۶۴۲	C42H68O13
۷		Withaferin A	۲۶۵۲۳۷	C28H38O6
۸		Polyphyllin I	۱۱۰۱۸۳۲۹	C44H70O16

مهم جهت ارزیابی یک مولکول به عنوان یک کاندید دارویی مناسب است. لذا در پژوهش حاضر، خصوصیات فیزیکیوشیمیایی شامل حلالیت در آب، مساحت قسمت

پیش بینی خصوصیات فیزیکیوشیمیایی لیگاندهای مورد بررسی: بطول کلی، دارا بودن خصوصیات فیزیکیوشیمیایی مطلوب در کنار اثربخشی دارویی از جمله شاخص های

قابل اطمینان برهمکنش مولکولی، ۱۰ داروی بکار رفته در درمان بیماری کووید ۱۹ به شرح جدول ۲ براساس کد دسترسی در pubchem در مهار پروتئاز اصلی ( $M^{pro}$ ) و پروتئین S ویروس مورد مطالعه قرار گرفت. فرمول مولکولی و کد دسترسی به این داروها از پایگاه داده ای DrugBank به آدرس ([www.drugbank.ca](http://www.drugbank.ca)) و پایگاه Pubchem به آدرس (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) دریافت شد و مورد استفاده قرار گرفت.

های قطبی مولکول (TPSA)، پخش و نفوذ (LogD) و قابلیت مهار سیتوکرومی که در طراحی پیش دارو بصورت خوراکی یا تزریقی وریدی یا جذب پوستی نقش دارند با استفاده از سرور SWISSADME به آدرس <http://www.swissadme.ch> بر اساس قانون لپینسکی پیش بینی شد. سرور مذکور یک نرم افزار آنالیز است که با دریافت اطلاعات مولکول شیمیایی در قالب فایل Mol یا Smile امکان پیش بینی خصوصیات فیزیوشیمیایی را فراهم می آورد. جهت مقایسه شاخص های عملکرد ترکیبات فنولی و ترپنوئیدی گیاهی و دستیابی به نتایج

جدول ۲- بررسی داروهای مورد مطالعه بر اساس پایگاه داده های شیمیایی PubChem

ردیف	نام دارو	کد دسترسی در pubchem	فرمول مولکولی
۱	chloroquine	۲۷۱۹	C18H26ClN3
۲	Hydroxychloroquine	۳۶۵۲	C18H26ClN3O
۳	Favipiravir	۴۹۲۴۰۵	C5H4FN3O2
۴	Remdesivir	۱۲۱۳۰۴۰۱۶	C27H35N6O8P
۵	Ribavirin	۳۷۵۴۲	C8H12N4O5
۶	Oseltamivir	۶۵۰۲۸	C16H28N2O4
۷	Prednisolone	۵۷۵۵	C21H28O5
۸	Azithramycine	۵۵۱۸۵	C38H72N2O12
۹	Ritonavir	۳۹۲۶۲۲	C37H48N6O5S2
۱۰	Lopinavir	۹۲۷۲۷	C37H48N4O5

## نتایج

بررسی انرژی اتصال و خصوصیات فیریکوشیمیایی داروهای مورد مطالعه به عنوان کنترل مثبت: نتایج حاصل از بررسی داروهای بکار رفته به عنوان کنترل مثبت در ردیف های ۴، ۸ و ۱۰ در جدول شماره ۳، حاکی از برهمکنش مستحکم ۴ مورد از آن ها به نام های رمدیسویر (Remdesivir)، ریباویرین (Ribavirin)، لوپیناویر (lopinavir)، ریتوناویر (Ritonavir) به ترتیب با انرژی منفی تر  $-۹۶/۳۸$ ،  $-۹۷/۳۸$ ،  $-۱۰۲/۵۷$ ،  $-۱۰۹/۷۲$  با جایگاه فعال آنزیم پروتئاز  $M^{pro}$  بود. داروهای رمدیسویر (Remdesivir)، لوپیناویر (lopinavir) و

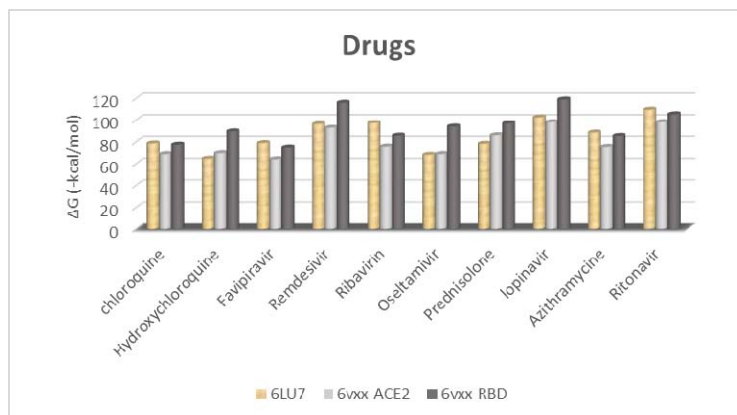
داکینگ مولکولی: به منظور ارزیابی ترکیبات فنولی و ترپنوئیدی مورد بررسی در مهار آنزیم  $M^{pro}$  و پروتئین S ویروس SARS-CoV-2 از روش داکینگ مولکولی با استفاده از نرم افزار iGEMDOCKv2.1 استفاده شد. پارامترهای استفاده شده جهت انجام داکینگ مولکولی در این نرم افزار برای تمامی ترکیبات مورد بررسی ثابت و بصورت نوع داکینگ استاندارد، قطر ناحیه برهمکنش ۲۰۰ آنگسترم، تعداد دفعات برهمکنش ۷۰ و بررسی میان کنش های هیدروژنی، الکترواستاتیکی و واندروالسی در کل جایگاه فعال آنزیم بود و نتایج حاصل با هم مقایسه شد.

برهمکنش منفی تر، تأثیر مهارتی قوی تری روی پروتئین S نسبت به پروتئاز  $M^{Pro}$  دارند. بر اساس جدول شماره ۳، طبق ردیف‌های ۴، ۶، ۷، ۸ و ۱۰ تأثیر داروها در مهار ویروس قبل از ورود به سلول با اثر بازدارندگی روی پروتئین S و طبق ردیف‌های ۴، ۵، ۸ و ۱۰ تأثیر داروها بعد از ورود ویروس به داخل سلول در مرحله همانندسازی و تکثیر ویروس با اثر بازدارندگی روی پروتئاز  $M^{Pro}$ ، نشان داده شده است.

ریتوناویر (Ritonavir) به ترتیب با انرژی‌های مهارتی  $-98/14$ ،  $-98/19$  کیلوژول و انرژی‌های مهارتی  $-116/06$ ،  $-119/01$  و  $-105/48$  کیلوژول اثر بازدارندگی قوی تری به جهت دارا بودن انرژی‌های مهارتی منفی تر، به ترتیب روی دومین‌های ACE2 و RBD پروتئین S نشان دادند. طبق نمودار شماره ۱، داروهای لوپیناویر (lopinavir)، ریتوناویر (Ritonavir) و رمدیسویر (Remdesivir) که به عنوان اولین کاندید امید بخش در درمان ویروس کرونا یاد می‌شود، با داشتن انرژی

جدول ۳- انرژی اتصال داروهای استاندارد مورد مطالعه حاصل از داکینگ با استفاده از نرم افزار iGEMDOCKv2.1

داروهای استاندارد در درمان کوید-۱۹ (به عنوان کنترل مثبت)					
ردیف	نام دارو	کد دسترسی در pubchem	میزان انرژی (E) برای اتصال به پروتئین 6LU7	میزان انرژی (E) برای اتصال به 6vxx-ACE2	میزان انرژی (E) برای اتصال به 6vxx-RBD
۱	chloroquine	۲۷۱۹	-۷۸/۵۷	-۶۸/۹۲	-۷۷/۳۹
۲	Hydroxychloroquine	۳۶۵۲	-۶۴/۷۵	-۶۹/۸۲	-۸۹/۵۰
۳	Favipiravir	۴۹۲۴۰۵	-۷۸/۹۳	-۶۴/۱۶	-۷۴/۸۰
۴	Remdesivir	۱۲۱۳۰۴۰۱۶	-۹۶/۳۸	-۹۲/۸۲	-۱۱۶/۰۶
۵	Ribavirin	۳۷۵۴۲	-۹۷/۳۸	-۷۵/۶۷	-۸۵/۵۴
۶	Oseltamivir	۶۵۰۲۸	-۶۸/۲۸	-۶۸/۹۹	-۹۴/۰۲
۷	Prednisolone	۵۷۵۵	-۷۸/۲۹	-۸۵/۹۲	-۹۶/۹۱
۸	lopinavir	۹۲۷۳۷	-۱۰۲/۵۷	-۹۸/۱۴	-۱۱۹/۰۱
۹	Azithramycine	۵۵۱۸۵	-۸۸/۴۳	-۷۵/۴۳	-۸۵/۲۹
۱۰	Ritonavir	۳۹۲۶۲۲	-۱۰۹/۷۲	-۹۸/۱۹	-۱۰۵/۴۸



شکل ۱- مقایسه مقدار اتصال انرژی ( $\Delta G$  (-kcal / mol) پروتئین S و  $M^{Pro}$  با داروهای استاندارد بکار رفته، با روش داکینگ مولکولی با استفاده از نرم افزار iGEMDOCKv2.1

ویروس به عنوان رسپتور، برای درمان کووید ۱۹ می باشند.

در جدول شماره ۴ نیز خصوصیات فیزیکوشیمیایی، میزان TPSA، حلالیت و تاثیر داروها بر سیتوکروم های حیاتی بدن و جذب گوارشی داروها نشان داده شده است.

بر اساس شکل شماره ۱، از میان داروهای شیمیایی کاندید شده ۳ داروی رمديسيویر (Remdesivir)، ریتوناویر (Ritonavir) و لوپیناویر (lopinavir) با بیشترین برهمکنش مولکولی ( $\Delta G$  بالای ۱۰۰ کیلوکالری بر مول) و بهترین جهت گیری به عنوان لیگاند، داخل کمپلکس پروتئینی

جدول شماره ۴- بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی داروهای استاندارد مورد مطالعه بر اساس قانون لیپینسکی

نام دارو	Logp	logD ph=7	LogS	TPSA	جذب گوارشی	BBB permeant	مهارکننده سیتوکروم CYP1A2	مهارکننده سیتوکروم CYP2C19	مهارکننده سیتوکروم CYP2C9	مهارکننده سیتوکروم CYP3A4	مهارکننده سیتوکروم CYP2D6
Azithramycine	۴/۰۲	-۱/۹۹	-۶/۵۵	۱۸۰/۰۸	کم	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر
chloroquine	۴/۶۳	۰/۴	-۴/۵۵	۲۸/۱۶	بالا	بله	بله	خیر	خیر	بله	بله
Hydroxychloroquine	۳/۵۸	-۰/۲۳	-۳/۹۱	۴۸/۳۹	بالا	بله	بله	خیر	خیر	خیر	بله
Favipiravir	-۰/۵۶	-۰/۸۱	-۰/۸۰	۸۸/۸۴	بالا	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر
Remdesivir	۱/۹۱	-	-۴/۱۲	۲۱۳/۳۶	کم	خیر	خیر	خیر	خیر	بله	خیر
Ribavirin	-۱/۸۵	-۲/۷۷	-۰/۲۱	۱۴۳/۷۲	کم	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر
Oseltamivir	۱/۱۰	-۱/۰۳	-۱/۸۸	۹۰/۶۵	بالا	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر
Prednisolone	۱/۶۲	۱/۲۷	-۲/۹۶	۹۴/۸۳	بالا	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر
Ritonavir	۶/۰۵	-۲/۷۷	-۶/۹۹	۲۰۲/۲۶	کم	خیر	خیر	خیر	خیر	بله	خیر
Lopinavir	۵/۹۲	۵/۲۲	-۶/۶۴	۱۲۰	بالا	خیر	خیر	بله	خیر	بله	خیر

عمده در کبد و روده یافت می شوند و مولکول های کوچک آلی خارجی مانند سموم یا داروها را اکسید می کنند تا بتوانند از بدن خارج شوند. بنابر این بررسی این سیتوکروم ها در جذب و اثر بخشی دارو بسیار موثر است و چنانچه ترکیب کاندید شده، مهار کننده این سیتوکروم ها نباشد، می توان عنوان کرد که دارو قابلیت جذب گوارشی خوبی دارد و بصورت خوراکی قابل مصرف می باشد. در نهایت برای اثر بخشی یک دارو به صورت خوراکی، تزریق وریدی یا جذب پوستی باید برآیندی از فاکتورهای ذکر شده را در نظر گرفت. بر اساس جدول شماره ۴، علیرغم بالا بودن انرژی اتصال داروهای رمديسيویر (Remdesivir)، ریتوناویر (Ritonavir) و ریباویرین (Ribavirin)، این داروها دارای محلولیت نسبی، نفوذپذیری نامناسب و جذب گوارشی کم می باشند و باید به صورت تزریق وریدی استفاده شوند. اما داروهای کلروکین (chloroquine)، هیدروکسی کلروکین (Hydroxychloroquine) و فاویپیراویر (Favipiravir) با

بر اساس قانون لیپینسکی و تعریف قانون ۵، پیش بینی قابل جذب بودن ترکیبات از راه خوراکی بر اساس وزن مولکولی، فاکتور چربی دوستی و تعداد اتم های دهنده و پذیرنده پیوند هیدروژنی ارائه می شود. Logp میزان لیپوفیلوسیتی ماده را نشان می دهد که می بایست بین ۱ الی ۵ باشد (۲۳). پس هر اندازه میزان آن از ۵ بزرگتر باشد میزان چربی دوستی ماده بیشتر و جذب گوارشی آن کمتر خواهد بود. Logs نیز میزان حلالیت ماده را نشان می دهد که میزان آن بالای صفر، نشان دهنده حلالیت بالا و میزان کمتر از ۱۰-، نشان دهنده نامحلول بودن ماده مورد نظر است. فاکتور مهم دیگری که نقش مستقیمی در نفوذپذیری ترکیبات زیست فعال دارد مساحت قسمت های قطبی مولکول (TPSA) می باشد (۲۳). بر اساس مطالعات انجام شده، نفوذپذیری ترکیبات با افزایش جرم ماده و کاهش PSA بیشتر می شود. ترکیباتی که PSA بزرگتر از ۱۴۰ آنگستروم دارند فاقد نفوذپذیری مناسب می باشند. سیتوکروم ها از آنزیم های مهم در بدن هستند که بطور

داشتن انرژی اتصال پایین، دارای نفوذپذیری مناسب و دارند. جذب گوارشی بالا می‌باشند و قابلیت مصرف خوراکی

جدول شماره ۵- بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی ترکیبات فنولی و ترپنوئیدی بر اساس قانون لیبینسکی

نام ترکیب	Logp	logD PH=7	LogS	TPSA	جذب گوارشی	BBB permeant	مهارکننده سیتوکروم CYP1A2	مهارکننده سیتوکروم CYP2C19	مهارکننده سیتوکروم CYP2C9	مهارکننده سیتوکروم CYP3A4	مهارکننده سیتوکروم CYP2D6
Glycyrrhizic acid	۲/۸۰	-۵/۹۹	-۶/۲۴	۲۶۷/۰۴	کم	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر
Oleanolic acid	۷/۴۹	۴/۳۶	-۷/۳۲	۵۷/۵۳	کم	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر
Saffinonolide	۳/۳۱	۴/۳۶	-۴/۰۴	۸۰/۶۷	بالا	خیر	خیر	خیر	بله	بله	خیر
Ursolic acid	۷/۳۴	۴/۳۵	-۷/۲۳	۵۷/۵۳	کم	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر
Withanolide	۳/۱۲	۳/۷۸	-۴/۵۹	۹۶/۳۶	بالا	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر
Polyphyllin I	۱/۴۵	۱/۲۵	-۵/۵۳	۲۳۵/۶۸	کم	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر
Withaferin A	۳/۸۳	۳/۵۸	-۴/۹۷	۹۶/۳۶	بالا	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر
Saikosaponin B2	۲/۵۳	۰/۸۷	-۵/۸۱	۲۱۸/۹۹	کم	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر
Anethol	۳/۳۰	۲/۹۴	-۳/۱۱	۹/۲۳	بالا	بله	بله	خیر	خیر	خیر	خیر
Apigenin	۳/۰۲	۲/۱۳	-۳/۹۴	۹۰/۹۰	بالا	خیر	بله	خیر	خیر	بله	بله
Caffeic acid	۱/۱۵	-۱/۷۱	-۱/۸۹	۷۷/۷۶	بالا	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر
EGCG	۱/۱۷	۳/۰۳	-۳/۵۶	۱۹۷/۳۷	کم	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر
Eugenol	۲/۲۷	۲/۶۱	-۲/۴۶	۲۹/۴۶	بالا	بله	بله	خیر	خیر	خیر	خیر
Glabridin	۳/۸۹	۴/۰۹	-۴/۶۱	۵۸/۹۲	بالا	بله	بله	بله	بله	بله	بله
Liquiritigenin	۲/۳۰	۲/۴۲	-۳/۲۸	۶۶/۷۶	بالا	بله	بله	خیر	خیر	خیر	خیر
Menthol	۳/۴۰	۲/۶۶	-۲/۸۸	۲۰/۲۳	بالا	بله	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر
Rosmarinic acid	۲/۳۶	-۰/۳۷	-۳/۴۴	۱۴۴/۵۲	کم	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر
Isoimperatorin	۳/۴۳	۳/۱۵	-۳/۹۶	۵۲/۵۸	بالا	بله	بله	بله	بله	خیر	خیر
Osthole	۳/۸۱	۳/۳۵	-۳/۹۷	۳۹/۴۴	بالا	بله	بله	بله	بله	خیر	خیر
oxypeucedanin hydrate	۱/۲۵	۱/۱۶	-۲/۶۹	۹۳/۰۴	بالا	خیر	بله	خیر	خیر	خیر	خیر
psoralen	۱/۶۷	۱/۹۴	-۲/۷۳	۴۳/۳۵	بالا	بله	بله	خیر	خیر	خیر	خیر
Quercetin	۱/۵۴	۱/۴۱	-۳/۱۶	۱۳۱/۳۶	بالا	خیر	بله	خیر	خیر	بله	بله
Silibinin	۱/۹۰	۲/۵۶	-۴/۱۴	۱۵۵/۱۴	کم	خیر	خیر	خیر	بله	خیر	خیر
Thymol	۳/۳۰	۳/۴۳	-۳/۱۹	۲۰/۲۳	بالا	بله	بله	خیر	خیر	خیر	خیر
Gingerol	۲/۷۶	۳/۶۲	-۲/۹۶	۶۶/۷۶	بالا	بله	بله	خیر	خیر	خیر	بله
Carvacrol	۳/۴۹	۳/۴۳	-۳/۳۱	۲۰/۲۳	بالا	بله	بله	خیر	خیر	خیر	خیر
Proanthocyanidin	۲/۶۹	۳/۲۵	-۵/۳۶	۲۰۹/۷۶	کم	خیر	خیر	خیر	خیر	بله	خیر
Anthocyanin	-۳/۱۱	-۸	-۴/۹۰	۵۶۸/۰۷	کم	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر
Procyanidin B2	۲/۳۷	۳/۱۱	-۵/۱۴	۲۲۰/۷۶	کم	خیر	خیر	خیر	خیر	بله	خیر
Chlorogenic acid	-۰/۴۲	-۳/۵۶	-۱/۶۲	۱۶۴/۷۵	کم	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر

acid)، سیلیبیین (Silibinin)، پروآنتوسیانیدین (Proanthocyanidin)، آنتوسیانین (Anthocyanin)، پروسیانیدین B2 (Procyanidin B2) و کلروژنیک اسید (Chlorogenic acid) با داشتن محلولیت نسبی، نفوذپذیری نامناسب و جذب گوارشی کم، قابلیت مصرف خوراکی نداشته و می‌بایست مانند داروهای رم‌دیسیویر (Remdesivir)، ریتوناویر (Ritonavir) و ریباویرین

بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی ترکیبات فنولی و ترپنوئیدی گیاهی: بر اساس جدول شماره ۵، مشاهده شد که از میان ترکیبات ترپنوئیدی، گلیسرینیک اسید (glycyrrhizic acid)، اولئالونیک اسید (Oleanolic acid)، اورسولیک اسید (Ursolic acid)، پولیفیلین I (Polyphyllin I)، سیکوساپونین B2 (Saikosaponin B2) و از میان ترکیبات فنولی EGCG، رزماریک اسید (Rosmarinic acid)



ویروس دارند. از طرفی مشخص شد ترکیبات سیلیبینین (Silibinin) و پروآنتوسیانیدین (Proanthocyanidin) با انرژی‌های مهار  $122/83$  و  $128/71$  کیلوژول، اثر بازدارندگی قوی تری نسبت به داروهای استاندارد لوپیناویر (lopinavir) و ریتوناویر (Ritonavir) با انرژی‌های  $102/57$  و  $109/72$  کیلوژول و حتی آزیترومایسین (Azithramycine) و رم‌دیسیویر (Remdesivir) با انرژی‌های  $88/43$  و  $96/38$  کیلوژول دارند.

در مقایسه‌ای دیگر، از میان ۲۲ ترکیب فنولی کاندید شده، ترکیب‌های کوئرستین (Quercetin)، رزماریک اسید (Rosmarinic acid)، EGCG، پروسیانیدین (Procyanidin B2) B2، پروآنتوسیانیدین (Proanthocyanidin) به ترتیب با انرژی‌های  $93/30$ ،  $97/09$ ،  $104/92$ ،  $107/10$ ،  $112/50$  و  $114/04$  کیلوژول نسبت به داروهای استاندارد به کار رفته مانند رم‌دیسیویر (Remdesivir)، لوپیناویر (lopinavir) و ریتوناویر (Ritonavir) به ترتیب با انرژی‌های معادل  $92/82$ ،  $98/14$  و  $98/19$  کیلوژول دارای اثر مهار قوی‌تر روی دومین ACE2 پروتئین S می‌باشد. همچنین ترکیب‌های EGCG، سیلیبینین (Silibinin)، پروآنتوسیانیدین (Proanthocyanidin)، کلروژنیک اسید (Chlorogenic acid)، آنتوسیانین (Anthocyanin)، رزماریک اسید (Rosmarinic acid)، پروسیانیدین (Procyanidin B2) B2 به ترتیب با انرژی‌های  $113/38$ ،  $116/24$ ،  $120/118$ ،  $120/98$ ،  $122/60$ ،  $128/76$ ،  $138/59$  کیلوژول نسبت به داروهای استاندارد به کار رفته مانند رم‌دیسیویر (Remdesivir)، لوپیناویر (lopinavir) و ریتوناویر (Ritonavir) به ترتیب با انرژی‌های معادل  $92/82$ ،  $98/14$  و  $98/19$  کیلوژول دارای اثر مهار قوی‌تر روی دومین RBD پروتئین S می‌باشد.

(Ribavirin) در جدول شماره ۴ به صورت تزریق وریدی استفاده شوند اما دیگر ترکیبات بررسی شده در جدول با داشتن نفوذپذیری مناسب و جذب گوارشی بالا، قابلیت مصرف خوراکی دارند.

**داکینگ مولکولی:** نتایج بدست آمده از داکینگ مولکولی میان ترکیبات گیاهی با پروتئاز  $M^{pro}$  و دومین‌های ACE2 و RBD پروتئین S در جدول ۶ و ۷ و شکل‌های ۳ و ۲ آورده شده است. بر اساس جدول ۶، از میان ۲۲ ترکیب فنولی کاندید شده، اثر مهار ترکیب‌های آپی ژنین (Apigenin)، رزماریک اسید (Rosmarinic acid)، EGCG، آنتوسیانین (Anthocyanin)، کوئرستین (Quercetin)، کلروژنیک اسید (Chlorogenic acid)، پروسیانیدین (Procyanidin B2) B2، سیلیبینین (Silibinin)، پروآنتوسیانیدین (Proanthocyanidin) به ترتیب با انرژی‌های  $103/58$ ،  $102/28$ ،  $103/58$ ،  $103/69$ ،  $107/11$ ،  $110/17$ ،  $110/47$ ،  $114/73$ ،  $122/83$ ،  $128/71$  کیلوژول نسبت به داروهای استاندارد بکار رفته مانند هیدروکسی کلروکین (Hydroxychloroquine)، اوسلتامیویر (Oseltamivir)، پردنیزولون (Prednisolone)، کلروکین (chloroquine)، فاپیروویر (Favipiravir)، آزیترومایسین (Azithramycine)، رم‌دیسیویر (Remdesivir) و ریباویرین (Ribavirin) به ترتیب با انرژی‌های  $64/75$ ،  $68/28$ ،  $78/29$ ،  $78/57$ ،  $78/93$ ،  $88/43$ ،  $96/38$  و  $97/38$  کیلوژول روی پروتئاز  $M^{pro}$  قوی‌تر است. در ادامه مشخص گردید از میان ترکیبات فنولی آپی ژنین (Apigenin)، رزماریک اسید (Rosmarinic acid)، EGCG، آنتوسیانین (Anthocyanin)، کوئرستین (Quercetin) به ترتیب با انرژی‌های  $103/69$ ،  $103/58$ ،  $102/28$ ،  $107/11$ ،  $110/17$  کیلوژول، اثری مشابه داروهای استاندارد لوپیناویر (lopinavir) و ریتوناویر (Ritonavir) با انرژی‌های  $102/57$  و  $109/72$  کیلوژول در مهار

در مقایسه اثر مهارتی ترکیبات فنولی روی هر دو پروتئین مورد بررسی ویروس، اثر بازدارندگی قوی تر آنها روی دومین RBD پروتئین S با میانگین انرژی مهارتی ۹۱/۱۵- کیلوژول بیشتر از پروتئاز M<sup>Pro</sup> با میانگین انرژی مهارتی ۸۲/۰۹- و دومین ACE2 پروتئین S با میانگین انرژی مهارتی ۸۱/۳۶- کیلوژول مشاهده شد بنابر این می توان گفت اثر مهارتی ترکیبات فنولی روی پروتئین S بیشتر از پروتئاز M<sup>Pro</sup> می باشد.

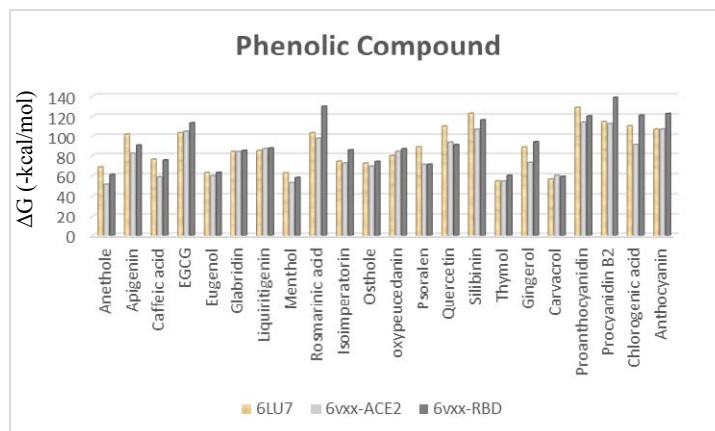
جدول ۶- پیش بینی برهمکنش بین لیگاندهای فنولی، پروتئاز M<sup>Pro</sup> و دومین های RBD و ACE2 پروتئین S و ویروس SARS-CoV-2 با روش داکینگ مولکولی با استفاده از نرم افزار iGEMDOCKv2.1

ردیف	ترکیبات فنولی	کد دسترسی در Pubchem	میزان انرژی (E) برای اتصال به پروتئین 6LU7	میزان انرژی (E) برای اتصال به ACE2 6vxx	میزان انرژی (E) برای اتصال به 6vxx-RBD
۱	Anethole	۶۳۷۵۶۳	-۶۸/۷۸	-۵۱/۶۶	-۶۱/۲۶
۲	Apigenin	۵۲۸۰۴۴۳	-۱۰۲/۲۸	-۸۲/۳۵	-۹۰/۳۷
۳	Caffeic acid	۶۸۹۰۴۳	-۷۶/۴۷	-۵۸/۹۵	-۷۵/۶۵
۴	EGCG	۶۵۰۶۴	-۱۰۳/۶۹	-۱۰۴/۹۲	-۱۱۳/۳۸
۵	Eugenol	۳۳۱۴	-۶۳/۳۳	-۶۰/۰۹	-۶۳/۳۴
۶	Glabridin	۱۲۴۰۵۲	-۸۴/۱۸	-۸۳/۸۸	-۸۵/۰۶
۷	Liquiritigenin	۱۱۴۸۲۹	-۸۴/۹۸	-۸۶/۸۷	-۸۷/۴۶
۸	Menthol	۱۲۵۴	-۶۲/۸۵	-۵۳/۱۶	-۵۸/۲۷
۹	Rosmarinic acid	۵۲۸۱۷۹۲	-۱۰۳/۵۸	-۹۷/۰۹	-۱۲۸/۷۶
۱۰	Isoimperatorin	۶۸۰۸۱	-۷۴/۴۸	-۷۲/۶۵	-۸۵/۶۰
۱۱	Osthole	۱۰۲۲۸	-۷۲/۵۷	-۶۹/۴۷	-۷۴/۱۹
۱۲	oxypeucedanin hydrate	۱۷۵۳۶	-۸۰/۰۱	-۸۴/۲۶	-۸۶/۷۸
۱۳	Psoralen	۶۱۹۹	-۸۸/۷	-۷۱/۳۷	-۷۱/۳۵
۱۴	Quercetin	۵۲۸۰۳۴۳	-۱۱۰/۱۷	-۹۳/۳۰	-۹۰/۸۶
۱۵	Silibinin	۳۱۵۵۳	-۱۲۲/۸۳	-۱۰۷	-۱۱۶/۲۴
۱۶	Thymol	۶۹۸۹	-۵۴/۹۲	-۵۴/۶۸	-۶۰/۴۵
۱۷	Gingerol	۴۴۲۷۹۳	-۸۸/۵۴	-۷۳/۱۵	-۹۳/۷۰
۱۸	Carvacrol	۱۰۳۶۴	-۵۶/۷۹	-۶۰/۵۷	-۵۹/۳۸
۱۹	Proanthocyanidin	۱۰۸۰۶۵	-۱۲۸/۷۱	-۱۱۴/۰۴	-۱۲۰/۱۸
۲۰	Procyanidin B2	۱۲۲۷۳۸	-۱۱۴/۷۳	-۱۱۲/۵۰	-۱۳۸/۵۹
۲۱	Chlorogenic acid	۱۷۹۴۴۲۷	-۱۱۰/۴۷	-۹۰/۸۹	-۱۲۰/۹۸
۲۲	Anthocyanin	۱۳۱۷۵۱۶۸۲	-۱۰۷/۱۱	-۱۰۷/۱۰	-۱۲۲/۶۰

بر اساس جدول شماره ۷، از میان ۸ ترکیب ترپنوئیدی کاندید شده، اثر بازدارندگی ترکیب های سیکوساپونین B2 (Saikosaponin B2)، گلیسرزیک اسید (glycyrrhizic acid)، ویتافرین A (Withaferin A)، ویتانولید (Withanolide) و پولیفیلین I (Polyphyllin I) به ترتیب بر انرژی های معادل ۹۷/۰۵-، ۹۷/۷۲-، ۹۸/۳۵-، ۱۰۱/۰۷- و ۱۰۷/۴۹- کیلوژول نسبت به داروهای استاندارد هیدروکسی کلروکین (Hydroxychloroquine)، اوسلتامیویر (Oseltamivir)، پردنیزولون (Prednisolone)، کلروکین (chloroquine)، فایوپیرواویر (Favipiravir)،

بر اساس جدول شماره ۷، از میان ۸ ترکیب ترپنوئیدی کاندید شده، اثر بازدارندگی ترکیب های سیکوساپونین B2 (Saikosaponin B2)، گلیسرزیک اسید (glycyrrhizic acid)، ویتافرین A (Withaferin A)، ویتانولید (Withanolide) و پولیفیلین I (Polyphyllin I) به ترتیب

آزیترومایسین (Azithramycine) ، رمدیسویور (Remdesivir) ، ریباویرین (Ribavirin) و لوپیناویر (lopinavir) به ترتیب با انرژی‌های معادل  $-۶۴/۷۵$  ،  $-۶۸/۲۸$  ،  $-۷۸/۲۹$  ،  $-۷۸/۵۷$  ،  $-۷۸/۹۳$  ،  $-۸۸/۴۳$  ،  $-۹۶/۳۸$  ،  $-۹۷/۳۸$  و  $-۱۰۲/۵۲$  کیلوژول روی پروتئاز  $M^{pro}$  قوی‌تر می‌باشد.



شکل ۲- مقایسه مقدار اتصال انرژی ( $\Delta G$  (-kcal / mol) پروتئین S و  $M^{pro}$  با چند نامزد ترکیبات فنولی مهارکننده با روش داکینگ مولکولی با استفاده از نرم افزار iGEMDOCKv2.1

جدول ۷- پیش بینی برهمکنش بین لیگاندهای ترپنوئیدی و پروتئاز  $M^{pro}$  و دومین‌های ACE2 و RBD پروتئین S و ویروس

SARS-CoV-2 با روش داکینگ مولکولی با استفاده از نرم افزار iGEMDOCKv2.1

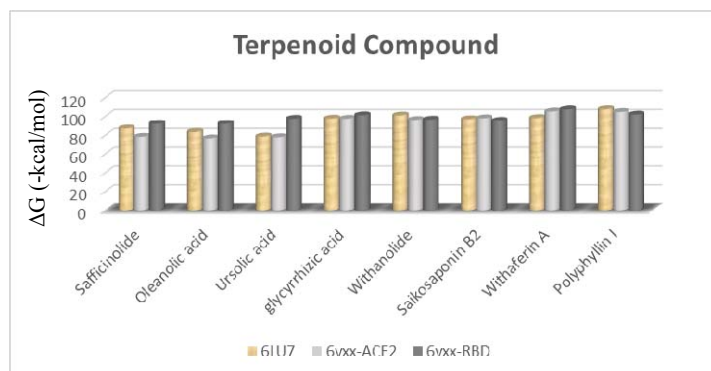
ردیف	ترکیبات ترپنوئیدی	کد دسترسی در Pubchem	میزان انرژی (E) برای اتصال به پروتئین 6LU7	میزان انرژی (E) برای اتصال به 6vxx-ACE2	میزان انرژی (E) برای اتصال به 6vxx-RBD
۱	Safficinolide	۸۵۱۵۲۶۹۹	-۸۷/۲۲	-۷۸/۵۳	-۹۲/۱۷
۲	Oleanolic acid	۱۰۴۹۴	-۸۳/۶۵	-۷۶/۸۳	-۹۲/۰۷
۳	Ursolic acid	۶۴۹۴۵	-۷۸/۹۱	-۷۸/۰۳	-۹۷/۴۸
۴	glycyrrhizic acid	۱۴۹۸۲	-۹۷/۷۲	-۹۷/۵۱	-۱۰۱/۲۲
۵	Withanolide	۵۳۴۷۷۷۶۵	-۱۰۱/۰۷	-۹۶/۲۲	-۹۶/۵۷
۶	Saikosaponin B2	۲۱۶۳۷۶۴۲	-۹۷/۰۵	-۹۷/۹۹	-۹۵/۳۲
۷	Withaferin A	۲۶۵۲۳۷	-۹۸/۳۵	-۱۰۵/۲۲	-۱۰۷/۳۴
۸	Polyphyllin I	۱۱۰۱۸۳۲۹	-۱۰۷/۴۹	-۱۰۴/۷۵	-۱۰۲

(Hydroxychloroquine)، اوسلتامیویر (Oseltamivir) ، پردنیزولون (Prednisolone) ، کلروکین (chloroquine) ، فاپیپراویر (Favipiravir) ، آزیترومایسین (Azithramycine) ، رمدیسویور (Remdesivir) ، ریباویرین (Ribavirin) و لوپیناویر (lopinavir) به ترتیب با انرژی‌های معادل  $-۶۴/۷۵$  ،  $-۶۸/۲۸$  ،  $-۷۸/۲۹$  ،  $-۷۸/۵۷$  ،  $-۷۸/۹۳$  ،  $-۸۸/۴۳$  ،  $-۹۶/۳۸$  ،  $-۹۷/۳۸$  و

در میان ترکیبات کاندید شده ترپنوئیدی، ترکیبهای گلیسرینیک اسید (glycyrrhizic acid) ، سیکوساپونین B2 (Saikosaponin B2)، پولیفیلین I (Polyphyllin I) و ویتافرین A (Withaferin A) به ترتیب با انرژی‌های معادل  $-۹۷/۵۱$  ،  $-۹۷/۹۹$  ،  $-۱۰۴/۷۵$  و  $-۱۰۵/۲۲$  کیلوژول قوی‌ترین اثر بازدارندگی را روی دومین ACE2 پروتئین S ویروس نسبت به داروهای استاندارد هیدروکسی کلروکین

بازدارندگی قوی تر آنها روی دومین RBD پروتئین S با میانگین انرژی مهاری  $-98/02$  کیلوژول بیشتر از پروتئاز  $M^{pro}$  با میانگین انرژی مهاری  $-93/95$  و دومین ACE2 پروتئین S با میانگین انرژی مهاری  $-91/88$  کیلوژول مشاهده شد بنابر این می‌توان گفت اثر مهاری ترکیبات فنولی روی پروتئین S بیشتر از پروتئاز  $M^{pro}$  می‌باشد.

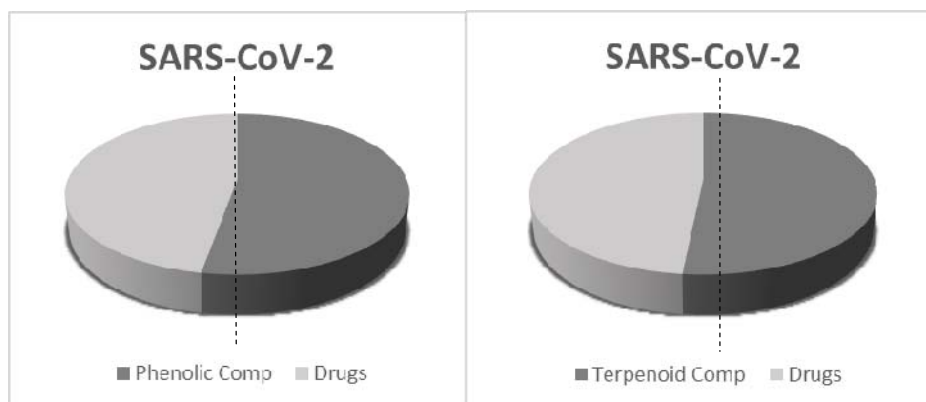
$-102/52$  کیلوژول و همین ترکیبات ذکر شده ترپنوئیدی با انرژی های معادل  $-101/22$  ،  $-95/32$  ،  $-102$  و  $-107/34$  کیلوژول قوی ترین اثر بازدارندگی را روی دومین RBD پروتئین S و ویروس نسبت به داروهای استاندارد ذکر شده دارند. در مقایسه اثر مهاری ترکیبات ترپنوئیدی روی هر دو پروتئین مورد بررسی ویروس، اثر



شکل ۳- مقایسه مقدار اتصال انرژی  $\Delta G$  (-kcal / mol) پروتئین S و  $M^{pro}$  با چند ترکیب ترپنوئیدی مهارکننده، با روش داکینگ مولکولی با استفاده از نرم افزار iGEMDOCKv2.1

بهتری نسبت به ترکیبات ترپنوئیدی از خود نشان می‌دهند و اثر بازدارندگی تعدادی از ترکیبات فنولی بسیار نزدیک به داروهای استاندارد بکار رفته در آزمایش‌های بالینی است.

طبق شکل شماره ۴، از نظر مقایسه میان ترکیبات فنولی و ترپنوئیدی در مواجهه با ویروس و مهار آن، نسبت به داروهای استاندارد به کار رفته، ترکیبات فنولی عملکرد



شکل ۴- مقایسه ترکیبات ترپنوئیدی و فنولی مهارکننده ویروس SARS-CoV-2 نسبت به داروهای استاندارد بکار رفته با روش داکینگ مولکولی با استفاده از نرم افزار iGEMDOCKv2.1

### بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به پاندمی کرونا ویروس در جهان و تلاش دانشمندان برای کشف دارو و واکسنی موثر بر علیه بیماری

در نهایت، نتایج نشان داد که هر دو ترکیب فنولی و ترپنوئیدی در مقایسه با داروهای استاندارد به کار رفته، قدرت مهار مناسبی برای پروتئاز  $M^{pro}$  و پروتئین S مذکور دارد.

در پژوهش حاضر، اثربخشی ترکیبات فعال گیاهان دارویی مانند ترکیبات فنولی و ترپنوئیدی که خصوصیت ضد ویروسی آنها قبلاً در مقالات مختلف تایید شده است (۳)، ۶، ۸، ۱۸، ۱۹، ۲۰) در مهار پروتئاز اصلی ( $M^{pro}/3CLpro$ ) و گلیکوپروتئین سطحی (پروتئین S) ویروس با استفاده از داکینگ مولکولی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که این ترکیبات میتوانند به طور موثری از ورود ویروس به سلول و یا از تکثیر و همانندسازی آن بعد از ورود به سلول جلوگیری نمایند (۲۷). ترکیبات فنلی که نسبت به ترپنوئیدها حلالیت بیشتری در آب دارند شامل گروه کثیری از متابولیت‌های ثانویه هستند که بسیاری از ترکیبات حلقوی مثل ترکیبات فنلی، فلاون‌ها، فلاونوئیدها، تانن‌ها، لیگنین‌ها و حتی اسیدهای آمینه حلقوی مانند تربیتوفان، تیروزین و پرولین را شامل می‌شوند. به طور کلی فنل‌ها مجموعه‌ای از پلیمرهای محلول (تاننها) و منومرها (اسیدهای فنلی و فلاونوئیدها) هستند (۱).

ترکیبات فعال زیستی مشتق از گیاهان دارویی با داشتن اثرات دارویی چندگانه و مکمل می‌توانند علاوه بر تاثیر روی همانندسازی ویروس، روی پروتئین‌های ساختاری ویروس نیز اثر بگذارند. بنابر این ترکیبات فیتوشیمیایی فعال می‌توانند به عنوان ساختارهای نوین دارویی برای مقابله با گستره بزرگی از مولکولهای هدف مورد استفاده قرار گیرند. از طرفی هزینه تولید و توسعه این ترکیبات بسیار پایین تر از داروهای مرسوم بوده و اثر بخشی بالا و عوارض جانبی اندک از دیگر ویژگی‌های منحصر به فرد آنهاست (۲۷).

در این مطالعه، ارزیابی تشابه دارویی موثر در مهار ویروس با مهار کننده‌های گیاهی از نظر خصوصیات فیزیکی شیمیایی، توسط قانون لیپینسکی با استفاده از ابزار آنالین SWISSADME ارزیابی شد. این ارزیابی به عنوان یک پایه و اساس، کمک می‌کند تا میزان موفقیت یا عدم موفقیت یک ترکیب دارویی یا بیولوژیکی خاص را به

کوئید ۱۹، هم چنان هیچ واکسن یا دارویی برای آن تایید نشده است. از این رو دانشمندان در حوزه‌های مختلف علوم پایه، پزشکی، ژنتیک، بیوتکنولوژی و شیمی و داروسازی در حال بررسی بر روی مواد موثر دارویی جهت مهار این ویروس کشنده می‌باشند. اخیراً پس از اعلام سازمان بهداشت جهانی در خصوص پاندمی بودن بیماری، متخصصین در جهان ژنوم ویروس را توالی‌یابی نموده و تحقیقات ژنتیکی بر روی ژنوم این ویروس آغاز شد (۳۹). از آنجا که پروتئین S در سطح ویروس، بطور مؤثر با ACE2 در سطوح سلول‌های انسانی اتصال برقرار می‌کند انتقال ویروس SARS-Cov-2 به راحتی انجام می‌پذیرد. از طرفی پروتئاز  $M^{pro}$  نیز برای پردازش پلی پروتئین‌هایی که از RNA ویروس ترجمه میشوند ضروری است و مهار فعالیت این آنزیم مانع از تکثیر ویروس می‌شود. بنابر این پروتئاز  $M^{pro}$  و پروتئین S اهداف ایده آلی برای طراحان دارو علیه این ویروس هستند. علیرغم تلاش‌های جهانی برای دست آوردن واکسن یا دارویی ویژه برای درمان بیماری کوئید ۱۹، تاکنون از میان داروهای ضد ویروسی قدیمی داروی Remdesivir امیدوار کننده ترین داروی شیمیایی COVID-19 اعلام شده است که البته با عوارض جانبی بسیاری نیز همراه است، اگرچه FDA استفاده از کلروکین و هیدروکسی کلروکین را نیز تصویب کرده است (۴۳).

کشف اثرات درمانی یک ترکیب شیمیایی، تازه آغاز راهی است که ممکن است تحقیق، توسعه و اجرای آن سالیان سال به طول بیانجامد. در حقیقت زمان بر بودن، پر هزینه بودن و عدم دسترسی آسان به مواد اولیه دارویی جهت سنتز و داشتن عوارض جانبی متعدد داروهای شیمیایی از معایب داروهای شیمیایی می‌باشد. یکی از راهکارهای نوین درمانی، غیر از طراحی و سنتز شیمیایی داروها، جستجوی مواد موثره دارویی در بین ترکیبات طبیعی به منظور دست‌یابی به داروهای با کمترین اثرات جانبی و صرف هزینه و زمان کوتاهتر است.

پایین باشد ممکن است طی آزمایش‌های بالینی بخوبی عمل نکند. (۲۱). Pei-Win Cheng و همکاران در پژوهشی نشان دادند ترکیب سیکوساپونین B2 (Saikosaponin B2) از مشتقات ترپنوییدی دارای اثر بازدارندگی مناسب در اتصال و نفوذ ویروس می‌باشد. این نتایج نشان داد که سیکوساپونین B2 (Saikosaponin B2) دارای فعالیت ضد ویروسی قوی است و نحوه عملکرد آن احتمالاً شامل مداخله در مراحل اولیه تکثیر ویروس، از جمله جذب و نفوذ ویروس است. Trina Tallei و همکاران اثر EGCG را در مهار پروتئین S و پروتئاز M<sup>pro</sup> در مهار مناسب ویروس نشان دادند (۳۶). در پژوهشی Yong-Ming Yan تاثیر کلروژنیک اسید (Chlorogenic acid)، گلیسرزیک اسید (glycyrrhizic acid)، سیکوساپونین B2 (Saikosaponin B2)، پولی‌فیلین I (Polyphyllin I)، رزماریک اسید (Rosmarinic acid) را بر اساس داکینگ مولکولی و کارآزمایی بالینی در مهار خوب ویروس از طریق تاثیر روی گیرنده ACE2 و پروتئاز اصلی ویروس نشان دادند (۴۱). Peterson با داکینگ مولکولی تاثیر مثبت سیلیبنین (Silibinin)، EGCG را بخوبی بر روی پروتئاز M<sup>pro</sup> نشان داده است (۲۲). در تحقیقی مشابه Jo و همکاران اتصال مستحکم EGCG را در اتصال به پروتئاز اصلی ویروس و مهار آن نشان داد (۱۴). بر اساس مطالعات آزمایشگاهی نشان داده شد ترکیبات گلیسرزیک اسید (glycyrrhizic acid)، گلیسرزین (glycyrrhizin) و گلابریدین (glabridin) در عصاره شیرین بیان حاوی اثرات ضد HIV، HCV، H5N1، HSV و اثر مهار روی کروناویروس دارد (۴۰). در تحقیق Hayashi و همکاران خاصیت ضد ویروسی آنتوسیانین بر روی آنفولانزای A و B نشان داده شد (۱۱). بر اساس مطالعات Khwaza و همکاران، خاصیت ضد ویروسی اولئالونیک اسید (Oleanolic acid) که از مواد موثر گیاه رزماری است روی ویروس هرپس، هپاتیت B و C، آنفولانزا و HIV اثبات شد (۱۵). اثر ضد ویروسی

عنوان یک دارو با احتمال زیاد پیش‌بینی کرد (۳). با در نظر گرفتن خصوصیات فیزیکوشیمیایی ترکیبات فنولی و ترپنوییدی بررسی شده در جدول شماره ۵ می‌توان حلالیت، نفوذپذیری و جذب گوارشی مواد را جهت پتانسیل دارویی آنها پیش‌بینی کرد. بر اساس نتایج مشاهده شده در این تحقیق که با هدف پیش‌بینی مهار پروتئین S و پروتئاز M<sup>pro</sup> توسط ترکیبات فعال گیاهی انجام شد. نتایج نشان داد که اثر بازدارندگی ترکیبات گیاهی از برخی داروهای استاندارد بکار گرفته شده مانند کلرکین، هیدروکسی کلرکین، فاپییراویر، پردنیزولون، اسلتامیویر، ریباویرین، رمیدیسویر و آزیترومایسین و ریتوناویر دارند (جدول ۳ و ۶). از میان ترکیبات کاندید شده برای مهار پروتئاز M<sup>pro</sup>/3CLpro و پروتئین S ترکیباتی مانند پروسیانیدین B2 (Procyanidin B2)، کلروژنیک اسید (Chlorogenic acid)، سیلیبنین (Silibinin)، پروآنتوسیانیدین (Proanthocyanidin)، کوئرستین (Quercetin)، رزماریک اسید (Rosmarinic acid)، EGCG، آنتوسیانین (Anthocyanin)، گلیسرزیک اسید (glycyrrhizic acid)، سیکوساپونین B2 (Saikosaponin B2)، ویتافرین A (Withaferin A)، پولی‌فیلین I (Polyphyllin I) با استفاده از داکینگ مولکولی نشان دادند که می‌توانند کاندید بالقوه‌ای برای برهمکنش مستحکم با جایگاه فعال آنزیم و پروتئین سطحی ویروس باشند (جدول ۶ و ۷). با بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی ترکیبات گیاهی کاندید شده در جدول شماره ۵، برخی ترکیبات مانند کوئرستین (Quercetin)، سافی سینولید (Saffinolid)، ویتانولید (Withanolide)، کافئیک اسید (Caffeic acid)، آپی ژنین (Apigenin)، لیکوئریتین (Liquiritigenin) در صورت مصرف خوراکی برای انسان جذب گوارشی خوبی نشان می‌دهند. بررسی جذب گوارشی و میزان حلالیت ترکیبات برای طراحی یک دارو از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است زیرا اگر فراهمی زیستی خوراکی (oral bioavailability) در خصوص یک ترکیب

داشتن انرژی اتصال قویتر، حلالیت، نفوذپذیری و جذب گوارشی اندک بهترین آنالوگ گیاهی ضد ویروس و کاندید مناسب برای مهار پروتئین  $M^{pro}$  و S و ویروس بصورت تزریق وریدی می‌باشند البته ویتافرین A (Withaferin A) دارای حلالیت و نفوذپذیری مناسبی بوده و می‌تواند با داشتن جذب گوارشی بالا بصورت خوراکی استفاده شود. همچنین از میان ترکیبات فنولی بررسی شده، ۷ ترکیب EGCG، رزماریک اسید (Rosmarinic acid)، سیلیبینین (Silibinin)، کلروژنیک اسید (Chlorogenic acid)، پروآنتوسیانیدین (Proanthocyanidin)، پروسیانیدین B2 (Procyanidin B2) و آنتوسیانین (Anthocyanin) به ترتیب در گیاهانی مانند چای سبز، رزماری، خارمریم، پیچ امین الدوله، گل نسترن، انگور و بلوبری با داشتن انرژی اتصال قوی در مقایسه با ترکیبات دارویی مرجع مانند کلرکین، هیدروکسی کلرکین، فاویپیراویر و ریباویرین، آزیترومایسین و رمیدیسویر، با نفوذپذیری و حلالیت متوسط و جذب گوارشی پایین، کاندیدهای فیتوشیمیایی بسیار مناسبی برای مهار گلیکوپروتئین S و پروتئاز اصلی ویروس ( $M^{pro}$ ) بصورت تزریق وریدی می‌باشند. در مجموع، با توجه به میزان بیماری‌زایی شدید ویروس SARS-CoV-2 و عدم دسترسی به آزمایشگاه‌های مجهز سطح ۴ Biosafety در کشور، بنظر می‌رسد آزمایش‌های مبتنی بر بررسی‌های بیوانفورماتیکی و پیش‌بینی ترکیبات زیست‌فعال گیاهی با پتانسیل بالای فعالیت ضد ویروسی می‌تواند نقطه شروعی برای کاندید نمودن بالقوه ترکیبات فعال زیستی (لیگاند) به عنوان دارویی جدید باشد. نتایج حاصل از این پژوهش به عنوان یک غربالگری مقدماتی برای کاندید نمودن ترکیبات نامزد بالقوه دارویی و انجام آزمایش‌های *in vitro* و *in vivo* در مدل‌های حیوانی و انسانی می‌تواند بسیار کمک‌کننده باشد.

ترکیب اوژنول (eugenol) در گیاه میخک بر روی HSV و هپاتیت C در تحقیق Batiha و همکاران گزارش شد (۴). ترکیب کافئیک اسید (caffeic acid) در گیاهانی مانند سیر، رزماری، ریحان یا پونه کوهی دارای خاصیت ضد HIV می‌باشد (۵). بر اساس تحقیقات Bekut و همکاران خاصیت ضد ویروسی سافی سینولید (Safficinolide) بر روی VSV که از گروه ویروس‌های زنبوبوتیک می‌باشند نشان داده شد. بر اساس تحقیقات Polyak و همکاران ترکیب سیلیبینین (Silibinin) در گیاه خار مریم دارای خاصیت ضد ویروس هپاتیت C می‌باشد (۵). همچنین بر اساس تحقیقات دادخواه و همکاران، سیلیبینین که جز اصلی سیلیمارین می‌باشد با تعدیل پارامترهای دخیل در استرس اکسیداتیو از جمله گلوکاتایون، پراکسیداسیون لیپیدها و آنزیم میلوپراکسیداز، از آسیب اکسیداتیو بافتی به خصوص کبد و ریه در بیماری عفونی سپسیس جلوگیری می‌کنند (۲).

به دلیل تعداد زیاد ترکیبات طبیعی موجود در گیاهان دارویی، ارزیابی و اثربخشی آنها با محدودیت‌های بسیاری مواجه شده است. برای شناسایی سریعتر داروی مناسب برای کووید ۱۹، استفاده از ابزارهای بیوانفورماتیکی جهت بررسی و غربالگری مواد موثره گیاهی، پیش‌بینی مکانیسم اثر و سمیت احتمالی آنها به عنوان یک راهکار موثر و جدید می‌تواند بسیار حائز اهمیت باشد.

بر اساس نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر می‌توان نتیجه گرفت که از میان ترکیبات ترپنوئیدی، ۴ ترکیب فیتوشیمیایی گلیسرزیک اسید (glycyrrhizic acid)، سیکوساپونین B2 (Saikosaponin B2)، پولیفیلین I (Polyphyllin I) و ویتافرین A (Withaferin A) در مقایسه با ترکیبات دارویی مرجع و مورد تایید FDA مانند کلرکین، هیدروکسی کلرکین، فاویپیراویر و ریباویرین، با

## منابع

- ۱- بیضایی، س، صفی پورافشار، سعید نعمت پور، ف. ۱۳۹۴. تولید ترکیبات فنلی درکشت ریشه‌های مویین گیاه ترنجبه (*Raphanus sativus L*) مجله پژوهش‌های سلولی و مولکولی (مجله زیست‌شناسی ایران). ۲۸ (۳): ۳۳۵-۳۲۷.
- ۲- دادخواه، ا، فاطمی، ف، محمدی ملایری، م، رسولی، آ، کاروین آشتیانی، م. ۱۳۹۷. تاثیر اسانس نعنا بر روی استرس اکسیداتیو و بیان ژن COX-2 در پیشگیری از سپسیس. مجله پژوهش‌های سلولی و مولکولی (مجله زیست‌شناسی ایران). ۳۱ (۴): ۴۸۴-۴۹۹.
- 3-Balkrishna, A. Pokhrel, S. Singh, J. Varshney, A. 2020. Withanone from *Withania somnifera* May Inhibit Novel Coronavirus (COVID-19) Entry by Disrupting Interactions between Viral S-Protein Receptor Binding Domain and Host ACE2 Receptor. *virology*: 1-26.
- 4-Benet, LZ. Hosey, CM. Ursu, O. Oprea, TI. 2016. The Rule of 5 and drug ability. *Advanced Drug Delivery Reviews*. BDDCS: 101: 89-98.
- 5-Batiha, GES. Alkazmi, LM. Wasef, LG. Beshbishy, AM. Nadwa, EH. Rashwan, EK. 2020. Traditional Uses, Bioactive Chemical Constituents, and Pharmacological and Toxicological Activities of *Glycyrrhiza glabra L*. (Fabaceae). *Biomolecules*: 10 (3) 352.
- 6-Bekuta, M. Brki, S. Kladara, N. Dragovi, G. Gavari, N. Bozina, B. 2018. Potential of selected Lamiaceae plants in anti(retro)viral therapy. *Pharmacological Research*: 133 : 301-314.
- 7-Cheng, PW. Ng, LT. Chiang, LC. Lin, CC. 2006. Antiviral effects of saikosaponins on human coronavirus 229E in vitro. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*: 33: 612-616.
- 8-Costa, L. Vilas Boas, P. Campos, ML. Berlanda, RLA. Neves, NC. Franco, OL. 2019. Antiviral peptides as promising therapeutic drugs. *Cellular and Molecular Life Sciences*: 76:3525-3542.
- 9-Ding, Y. Cao, Z. Cao, L. Ding, G. Wang, Z. Xiao, W. 2017. Antiviral activity of chlorogenic acid against influenza A (H1N1/ H3N2) virus and its inhibition of neuraminidase. *Scientific Reports*: 7:45723.
- 10-Earlia, N. Suhendra, R. Amin, M. Prakoeswa, CRS. Idroes, R. 2019. GC/MS analysis of fatty acids on *Pliek U* oil and its pharmacological study by molecular docking to filaggrin as drug candidate in atopic dermatitis treatment. *The Scientific World Journal*: Article ID 8605743,7 pp.
- 11-Estevam, EC. Griffin, S. Nasim, J. Zieliński, D. Aszyk, J. Osowicka, M. Jacob, C. 2015. Inspired by nature: The use of plant-derived substrate/enzyme combinations to generate antimicrobial activity in situ. *Natural Product Communications*: 10: 1733-1738.
- 12-Hayashi, K. Mori, M. Matsutani, Y. Suzutan, T. Ogasawara, M. Yoshida, I. Hosokawa, Keizo. Tsukui, A. Azuma, M. 2003. Anti Influenza Virus Activity of a Red-Fleshed Potato Anthocyanin. *Food Science and Technology Research*: 9(3):242-244.
- 13-Huang, C. Wang, Y. Li, X. Ren, L. Zhao, J. Hu, Y. Zhang, L. Fan, G. Xu, J. Gu, X. Cheng, Z. Yu, T. Xia, J. Wei, Y. Wu, W. Xie, X. Yin, W. Li, H. Liu, M. Xiao, Y. Gao, H. Guo, L. Xie, J. Wang, G. et al. 2020. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*: 395(10223):497-506.
- 14-Jacob, JR. Korba, BE. You, JE. Tennant, BC. Kim, YH. 2004. Korean medicinal plant extracts exhibit antiviral potency against viral hepatitis. *Alterna Complement Med*: 10(6):1019-26.
- 15-Jo, S. Kim, S. Shin, DH. Kim, MS. 2020. Inhibition of SARS-CoV 3CL protease by flavonoids. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*: 35(1): 145-151.
- 16-Khwaza, V. Oyedeji, O. Aderibigbe, BA. 2018. Antiviral Activities of Oleanolic Acid and Its Analogues. *Molecules*: 23,2300.
- 17-Khaerunnisa, S. Kurniawan, H. Awaluddin, R. Suhartati, S. Soetjipto, S. 2020. Potential Inhibitor of COVID-19 Main Protease (Mpro) From Several Medicinal Plant Compounds by Molecular Docking Study. *Preprints*: 2020030226:1-14.
- 18-Liu, X. Wang, XJ. 2020. Potential inhibitors for 2019-nCoV coronavirus M protease from clinically approved medicines. *J Genet Genomics*: 47(2): 119-121.
- 19-Lin, WY. Yu, YJ. Jinn, TR. 2019. Evaluation of the virucidal effects of rosmarinic acid against enterovirus 71 infection via in vitro and in vivo study. *Virology Journal*: 16:94.



- 20-Liu, CH. Jassey, A. Hsuand, HY. Lin, LT. 2019. Antiviral Activities of Silymarin and Derivatives. *Molecules*: 24, 1552.
- 21-Lee, WP. Lan, KL. Liao, SX. Huang, YH. Hou, MC. Lan, KH. 2019. Antiviral effect of saikosaponin B2 in combination with daclatasvir on NS5A resistance-associated substitutions of hepatitis C virus. *Chinese Medical Association*: 82(5): 368-374.
- 22-Lin, L. Wong, H. 2017. Predicting Oral Drug Absorption: Mini review on physiologically-based pharmacokinetic models. *Pharmaceutics*: 9(4): 41.
- 23-Leif, EP. 2020. COVID-19 and Flavonoids: In Silico Molecular Dynamics Docking to the Active Catalytic Site of SARS-CoV and SARS-CoV-2 Main Protease. DOI: 10.13140/RG.2.2.22294. 50246.
- 24-Benet, LZ. Hosey, CM. Ursu, O. Oprea, TI. 2017. BDDCS, the Rule of 5 and Drugability. *Adv Drug Deliv Rev*.1; 101: 89–98.
- 25-Mustafa, S. Balkhy, H. Gabere, M. 2019. Peptide-Protein Interaction Studies of Antimicrobial Peptides Targeting Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus Spike Protein: An In Silico Approach. *Advances in Bioinformatics*. Article ID 6815105, 16 pages.
- 26-Nuraskin, CA. Marlina, M. Idroes, RM. Soraya, C. jufri, D. 2020. Identification of secondary metabolite of laban leaf extract (*Vitex pinnata* L.) from geothermal areas and nongeothermal of agam mountains in Aceh Besar, Aceh province, Indonesia. *Rasayan Journal of Chemistry*: 13(1): 18–23.
- 27-Nuraskin, CA. Idroes, RM. Soraya, C. jufri, D. 2019. Activities inhibition methanol extract laban leaf (*Vitex pinnata*) on growth of bacteria *S. mutans* Atcc 31987. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*: 523(1).
- 28-Naika, HR. Lingaraju, K. Chandramohan, V. Krishna, V. 2015. Evaluation of Phytoconstituents and Molecular Docking Against NS3 Protease of Hepatitis C Virus. *J Pharmaceu Sci Pharmacol*: 2: 96-103.
- 29-Ou, X. Liu, Y. Lei, X. Li, P. Mi, D. Ren, L. Guo, L. Guo, R. Chen, T. Hu, J. Xiang, Z. Mu, Z. Chen, X. Chen, J. Hu, K. Jin, Q. Wang, J & Qian Z. 2020. Characterization of spike glycoprotein of SARS-CoV-2 on virus entry and its immune cross-reactivity with SARS-CoV. *Nature communications*: 11:1620.
- 30-Pratiwi, SUT. Lagendijk, EL. deWeert, S. Idroes, R. Hertiani, T. Hondel, CV. 2015. Effect of *Cinnamomum burmannii* Nees ex Bl. and *Massoia aromatica* Becc. essential oils on planktonic growth and biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* in vitro. *International Journal of Applied Research in Natural Products*: 8(2): 1–13.
- 31-Qamar, MT. Alqahtani, SM. Alamri, MA. Chen, LL. 2020. Structural basis of SARS-CoV-2 3CLpro and anti-COVID-19 drug discovery from medicinal plants. *Journal of Pharmaceutical Analysis*.
- 32-Qian, Z. Ou, X. Góes, LG. Osborne, C. Castano, A. Holmes, KV. Dominguez, SR. 2015. Identification of the receptor-binding domain of the spike glycoprotein of human betacoronavirus HKU1. *Journal of Virology*: 89(17):8816-8827.
- 33-Ren, L. Wang, YM. Wu, ZQ. Xiang, ZC. Guo, L. Xu, T. Jiang, YZ. Xiong, Y. Li, YJ. Li, XW. Li, H. Fan, GH. Gu, XY. Xiao, Y. Hong, GH. Xu, JY. Yang, F. Wang, XM. Wu, C. Chen, L. Liu, YW. Liu, B. Yang, J. Wang, XR. Dong, J. Li, L. et al. 2020. Identification of a novel coronavirus causing severe pneumonia in human: a descriptive study. *Chin Med J (Engl)*: 133(9):1015-1024.
- 34-Song, W. Gui, M. Wang, X. Xiang, Y. 2018. Cryo-EM structure of the SARS coronavirus spike glycoprotein in complex with its host cell receptor ACE2. *PLOS Pathogens*: 14(8), e1007236.
- 35-Shakeran, Z. Nosrati, M. Shakeran, Z. 2018. In silico screening of hepatitis C virus NS3/4A protease inhibitor(s) from *Cornus officinalis* and *Syzygium aromaticum*. *Razi Journal of Medical Sciences*: 25(167).
- 36-Tallei, TE. Tumilaar, SG. Niode, NJ. Wali, F. Kepel, BJ. Idroes, R. Effend, Y. 2019. The potential of five therapeutic medicinal herbs for dental treatment : A review. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*: 523(1), 12009.
- 37-Tallei, TE. Tumilaar, SG. Niode, NJ. Wali, F. Kepel, BJ. Idroes, Ri. Effendi, Y. 2020. Potential of Plant Bioactive Compounds as SARS-CoV-2 Main Protease (Mpro) and Spike (S) Glycoprotein Inhibitors: A Molecular Docking Study. Preprints, 2020040102.
- 38-Wrapp, D. Wang, N. Corbett, KS. Goldsmith, JA. Hsieh, CL. Abiona, O. Graham, BS. McLellan JS. 2020. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science*: 367: 1260–1263.

- 39-Wang, N. Shi, X. Jiang, L. Zhang, S. Wang, D. Tong, P. Guo, D. Fu, L. Cui, Y. Arledge, K.C. Chen, Y.H. Zhang, L. Wang, X. 2013. Structure of MERS-CoV spike receptor-binding domain complexed with human receptor DPP4. *Cell Res*: 23, 986–993.
- 40-Wu, C. Liu, Y. Yang, Y. Zhang, P. Zhong, W. Wang, Y. Wang, Q. Xu, Y. Li, X. Zheng, M. Chen, L. Li, H. 2020. Analysis of Therapeutic Targets for SARS-CoV-2 and Discovery of Potential Drugs by Computational Methods. *Acta Pharmaceutica Sinica B*.
- 41-Wang, L. Yang, R. Yuan, B. Liun, Y. Liu, C. 2015. The antiviral and antimicrobial activities of licorice, a widely-used Chinese herb. *Acta Pharmaceutica Sinica B*: 5(4):310–315.
- 42-Yan, Y. Shen, X. Cao, Y. Zhang, J. Wang, Y. Cheng, Y. 2020. Discovery of Anti-2019-nCoV Agents from 38 Chinese Patent Drugs toward Respiratory Diseases via Docking Screening. Preprints, 2020020254.
- 43-Zhang, L. Lin, D. Sun, X. Curth, U. Drosten, C. Sauerhering, L. Rox, K. Hilgenfeld, R. 2020. Crystal structure of SARS-CoV-2 main protease provides a basis for design of improved alpha-ketoamide inhibitors. *Science*: 368: 409–412.
- 44-<https://www.gilead.com/purpose/advancing-global-health/covid-19>

## Investigate the inhibitory effects of plant secondary metabolites Compared with standard drugs on Mpro protease and spike glycoprotein SARS-CoV-2 by Molecular Docking

Poy D.<sup>1</sup>, Tohidfar M.<sup>1</sup> and Nasrollahzadeh M.D.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dept. of Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, I.R. of Iran

<sup>2</sup> Dept. of Medicinal Chemistry, Pharmacy Faculty, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, I.R. of Iran

### Abstract

The Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection is one of the common factors of mortality worldwide in the 21st century. A lot of research is being done in the world with the aim of introducing new and effective SARS-COV-2 antiviral compounds, especially herbal compounds. The purpose of this study to screening main protease (Mpro) inhibitors and spike glycoprotein from among plant phenolic and terpenoid compounds using bioinformatics tools. Three dimension and chemical structures of virus proteins and plant phenolic and terpenoid compounds were retrieval from Protein Data Bank and Pubchem database respectively. Finally, plant compounds on the main protease (Mpro) and virus S virus, molecular docking was investigated using iGemdock 2.1 software and then, In the next step, physicochemical properties of the candidate plant compounds for permeability, solubility and gastrointestinal absorption were predicted using SwissADME software. 4 terpenoid compounds, glycyrrhizic acid, Saikosaponin B2, Polyphyllin I and Withaferin A and 7 phenolic compounds, EGCG, Rosmarinic acid, Silibinin, Chlorogenic acid,

Proanthocyanidin, Procyanidin B2, Anthocyanin with Strong binding energy compared to reference medicinal compounds such as Azithromycin and Remdesivir are good candidate for inhibiting spike Glycoprotein and the main protease of the virus (Mpro). According to results both phenolic and terpenoid compounds compared to standard chemical drugs had good inhibitory effects for Mpro proteinase and Spike glycoprotein virus and can be good candidates for in vitro and in vivo studies.

**Key words:** SARS-COV-2, Mpro proteinase, Spike glycoprotein, Phytochemical compounds, Molecular Docking