

Efficacy Evaluation of Quercetin and Its Analogues on the Main Protease Enzyme of the COVID-19 Using Molecular Docking Studies

Tooba Abdizadeh^{1*} 

¹ Clinical Biochemistry Research Center, Basic Health Sciences Institute, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

Article Info

Article type:

Research article

Article History:

Received: 09 April 2022

Revised: 11 May 2022

Accepted: 16 May 2022

Published Online: 11 October 2022

* Correspondence to:

Tooba Abdizadeh

Clinical Biochemistry Research Center, Basic Health Sciences Institute, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

Email:

abdizadeh.t@skums.ac.ir

ABSTRACT

Introduction: COVID-19 is an acute respiratory infectious disease caused by the SARS-CoV-2 virus. There is an urgent need to discover antiviral drugs for better performance against new strains of coronaviruses (CoVs) due to the rapid spread of the disease despite scientific advances in vaccine development. This study aimed to evaluate the efficacy of quercetin and its analogues on the COVID-19 Mpro enzyme.

Material & Methods: In this descriptive-analytical study, the three-dimensional structures of quercetin analogues (20 compounds), standard drugs (ritonavir and lopinavir), and the COVID-19 Mpro enzyme were obtained from PubChem and PDB databases for bioinformatics study, respectively. Molecular docking studies of the compounds on the Mpro were performed using MOE-2014 software. Afterward, the physicochemical properties and biological activity of the compounds were predicted using Swiss ADME, PASS, and Swiss Target Prediction software.

(Ethic code: IR.SKUMS.REC.1399.117)

Findings: The findings of the present study showed that the most important bonds involved in drug-receptor binding are hydrogen, hydrophobic, and π - π interaction bonds. The best docking results were obtained for Baicalein, Genistein, Naringenin, and Quercetin compounds with strong binding energy (-12.83 to -13.54 kcal/mol), compared to ritonavir and lopinavir. These compounds have a greater tendency to bind to the catalytic amino acids His41 and Cys145 and other key amino acids of the active site of the COVID-19 Mpro enzyme.

Discussion & Conclusion: Based on the results of bioinformatics studies, quercetin analogues had more effective inhibition than standard chemical drugs due to their suitable placement in the active site of the main protease enzyme of COVID-19 and can be good candidates for *in vitro* and *in vivo* studies.

Keywords: Bioinformatics studies, Flavonoid, Physicochemical properties, SARS-CoV-2 virus

➤ How to cite this paper

Abdizadeh T. Efficacy Evaluation of Quercetin and Its Analogues on the Main Protease Enzyme of the COVID-19 Using Molecular Docking Studies. Journal of Ilam University of Medical Sciences. 2022;30(4): 66-85.

بررسی اثر بخشی کوئرتستین و آنالوگ هایش بر آنزیم پروتئاز اصلی کووید-۱۹ با استفاده از مطالعات داکینگ مولکولی

طوبی عبدی زاده^{۱*} ^۱ مرکز تحقیقات بیوشیمی بالینی، پژوهشکده علوم پایه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۲۰

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۱/۰۲/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۲/۲۶

تاریخ انتشار: ۱۴۰۱/۰۷/۱۹

نویسنده مسئول:

طوبی عبدی زاده

مرکز تحقیقات بیوشیمی بالینی،
پژوهشکده علوم پایه سلامت،
دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد،
شهرکرد، ایران.

Email:
abdizadeh.t@skums.ac.ir

مقدمه: کووید-۱۹ بیماری عفونی تنفسی حاد است که توسط ویروس SARS-CoV-2 ایجاد می شود و با توجه به شیوع سریع بیماری و علی رغم پیشرفت علمی انجام شده در توسعه واکسن، نیاز فوری به کشف داروهای ضد ویروسی برای عملکرد بهتر در برابر سویه های جدید کرونا ویروس ها وجود دارد. در این تحقیق اثر بخشی کوئرتستین و آنالوگ هایش بر آنزیم پروتئاز اصلی کووید-۱۹ ارزیابی شد.

مواد و روش ها: در این پژوهش توصیفی-تحلیلی، برای بررسی بیوانفورماتیکی، ساختار سه بعدی آنالوگ های کوئرتستین (۲۰ ترکیب)، داروهای استاندارد (ریتوناویر و لوپیناویر) و آنزیم پروتئاز اصلی کووید-۱۹ به ترتیب از پایگاه داده های PubChem و PDB دریافت گردید. مطالعات داکینگ مولکولی ترکیبات روی پروتئاز اصلی با استفاده از نرم افزار MOE, 2014 انجام شد؛ سپس خصوصیات فیزیکوشیمیایی و فعالیت بیولوژی ترکیبات با استفاده از نرم افزارهای Swiss ADME, PASS, Swiss Target Prediction پیش بینی گردید.

یافته ها: یافته های مطالعه حاضر نشان داد که مهم ترین پیوند های درگیر در اتصال دارو با گیرنده، پیوند هیدروژنی، برهمکنش های هیدروفوب و π - π هستند. بهترین نتایج داکینگ مربوط به ترکیبات Naringenin, Genistein, Baicalein, Quercetin با داشتن انرژی اتصال قوی (۱۲/۸۳- تا ۱۳/۵۴- کیلوکالری بر مول)، در مقایسه با داروهای ریتوناویر و لوپیناویر است. این ترکیبات برای اتصال با آمینواسیدهای کاتالیتیکی His41 و Cys145 و دیگر آمینواسیدهای کلیدی جایگاه فعال آنزیم پروتئاز اصلی تمایل بیشتری دارند.

بحث و نتیجه گیری: بر اساس نتایج به دست آمده از مطالعات بیوانفورماتیکی، آنالوگ های کوئرتستین به سبب قرارگیری مناسب در جایگاه فعال آنزیم پروتئاز اصلی کووید-۱۹، مهار مؤثرتری را نسبت به داروهای شیمیایی استاندارد ایجاد می کنند و می توانند کاندید های مناسبی برای بررسی های *in vivo* و *in vitro* باشند.

واژه های کلیدی: فلاونوئید، مطالعات بیوانفورماتیک، ویروس SARS-CoV-2، خصوصیات فیزیکوشیمیایی

➤ **استناد:** عبدی زاده، طوبی. بررسی اثر بخشی کوئرتستین و آنالوگ هایش بر آنزیم پروتئاز اصلی کووید-۱۹ با استفاده از مطالعات داکینگ مولکولی. مجله

علمی دانشگاه علوم پزشکی ایلام، آبان ۱۴۰۱؛ ۳۰(۴): ۸۵-۶۶.

بیماری همه گیر کروناویروس ۲۰۱۹ (COVID-19/ Coronavirus disease 2019) ناشی از سندرم حاد تنفسی کروناویروس ۲ (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 /SARS-CoV-2)، به علت ظهور سویه های ویروسی جدید و مقاوم و ماهیت بسیار مسری آن، همچنان یک بحران جدی بهداشتی در سراسر جهان است (۱). علائم بیماری ناشی از کووید-۱۹ عبارتند از: تب، تنگی نفس، سرفه خشک، خستگی مفرط و لنفوپنی، استفراغ و اسهال و در موارد شدیدتر بیماری، سندرم حاد تنفسی و حتی مرگ است (۲)؛ همچنین COVID-19 باعث علائم قلبی عروقی مانند آریتمی، نارسایی قلبی، سندرم حاد کرونری، میوکاردیت و شوک قلبی می شود (۳). کروناویروس ها عضو بزرگی از خانواده ویروس کروناویریدیای RNA (Coronaviridae) دار تک رشته ای و عضو دو زیرمجموعه لتویرینا (Letovirinae) و اورتوکروناویرینا (Orthocoronavirinae) هستند که شامل گروه آلفا لتوویروس از زیرمجموعه لتویرینا و چهار گروه آلفا، بتا، گاما و دلتا کروناویروس از زیرمجموعه اورتوکروناویرینا هستند (۴). آلفا و بتا کروناویروس ها قادر به آلوده کردن پستاندارانند و بیماری های انسانی و حیوانی ایجاد می کنند، درحالی که گاما و دلتا کروناویروس ها تمایل دارند پرندگان را آلوده نمایند (۵، ۶). از میان گونه های مختلف خانواده کروناویروس، تاکنون هفت نوع کروناویروس انسانی شناسایی شده است که دو سویه 229E (V) و NL-63 (۸) از نوع آلفا کروناویروس و پنج نوع دیگر آن متعلق به بتا کروناویروس هستند که مهم ترین آنها کروناویروس سندرم حاد تنفسی (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus /SARS-CoV) و سندرم تنفسی خاورمیانه (Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus) است و باعث بیماری شدید و درنهایت مرگ می شوند (۱۰)، (۹). SARS-CoV-2 یک ویروس RNA دار

تک رشته ای مانند سویه های گزارش شده پیشین از قبیل SARS-CoV و MERS-CoV از خانواده بتا کروناویروس است (۱۱).

بررسی ها نشان داده اند که کروناویروس جدید (ویروس کووید-۱۹) که پس از SARS-CoV در سال ۲۰۰۲ (۱۲) و MERS-CoV در سال ۲۰۱۲ (۱۳)، سومین همه گیر بسیار بیماری زا در مقیاس بزرگ است، در سطح نوکلئوتیدی، حدود ۷۹ درصد با ویروس SARS-CoV و حدود ۷۲ درصد با ویروس MERS RNA دارد (۷). ویروس SARS-CoV-2 یک ویروس RNA دار حاوی چهار پروتئین ساختاری به نام های پروتئین سنبه (Spike)، پروتئین پاکت (Envelope)، پروتئین غشایی (Membrane) و پروتئین نوکلئوکپسید (Nucleocapsid) و شانزده پروتئین غیرساختاری است که مسئول تکثیر کروناویروس هستند (۱۴). پروتئین هایی که نقش اساسی در عملکرد ویروس دارند، شامل پروتئین Spike و پروتئاز اصلی (Main protease/ Mpro یا Chymotrypsine-like protease-3 یا RNA dependent RNA polymerase (RdRp) پروتئاز شبه پاپاین (Papain-like protease /pLpro) هستند (۱۵). پروتئاز اصلی و پروتئاز شبه پاپاین از پروتئازهای ویروسی مهم در شکاف پلی پروتئین های ویروسی به شمار می روند و این پروتئین ها از خانواده پروتئازهای سیستمی هستند (۱۶). پروتئاز اصلی کووید-۱۹ از نظر ساختاری، یک همودیمر فعال است که حاوی دو منومر A و B و از پروتئین های غیرساختاری است. مونومر این پروتئین سه دمین دارد: دمین I (آمینواسیدهای ۱۰۱-۸)، دمین II (آمینواسیدهای ۱۸۴-۱۰۲) و دمین III (آمینواسیدهای ۳۰۶-۲۰۱) و یک حلقه طولانی (آمینواسیدهای ۲۰۰-۱۸۵) که دمین های II و III را به هم متصل می کند و محل اتصال سوبسترا در این پروتئین در شکاف میان دمین های I و II قرار دارد. این پروتئین پروتئاز اصلی گروه کانالیتیکی

پلی‌فنولی مانند فلاونوئیدها، خواص متعدد دارویی از قبیل ضداکسیدان، ضدباکتری، ضدسرطان، ضدالتهاب، ضدویروس و حفاظت‌کننده دستگاه ایمنی دارند و توجه فراوانی را به خود جلب کرده‌اند (۲۶، ۲۵، ۴). فلاونوئیدها معمولاً در بسیاری از گیاهان و سبزی‌ها یافت می‌شوند و قابلیت اختلال در اتصال ویروس SARS-CoV-2 به گیرنده سلول میزبان را دارند و از شدت علائم کووید-۱۹ می‌کاهند و پاسخ ایمنی را تعدیل می‌کنند (۲۷). نتایج تحقیقات نشان داد که ترکیبات فلاونوئیدی مانند کوثرستین و کامفرول و همچنین مشتقات گلوکورونید و سولفات‌های این فلاونوئیدها، به‌طور مؤثر پروتئین RdRp را مهار می‌نمایند. سینگ و همکارانش با استفاده از داکینگ مولکولی نشان دادند که ترکیبات پلی‌فنولی Theaflavin (TF1)، Epigallocatechin (EGCG)، Theaflavin-3-monogallate (TF2a)، Theaflavin-3-3'-(TF3)، a flavin-3'-momogallate digallate، هیسپریدین، کوثرستاجتین و میریستین با RdRp اتصال محکمی برقرار می‌کنند (۲۸). در مطالعه ای، ترکیبات فلاونوئیدی فیسیتین، کوثرستین، ایزوهمنتین و کامفرول تمایل اتصال بیشتری با پروتئین Spike نشان دادند (۲۹) و مطالعه دیگری نشان داد که میریستین می‌تواند با ACE2 (Angiotensin-converting enzyme 2) تأثیر متقابل داشته باشد و باعث ایجاد تغییرات ساختاری شود و از ورود ویروس جلوگیری کند (۳۰). فلاونوئیدهای آستراگالین، کامپرو و کوثرستین به‌طور مداوم با پروتئاز اصلی و pLpro تأثیر متقابل دارند. این مولکول‌ها نسبت به داروی رم‌دیسویر، اتصال قوی‌تری به این دو آنزیم نشان می‌دهند (۳۱، ۳۲).

بنابراین، در این مطالعه سعی شده است که میزان فعالیت مهارکنندگی ترکیب کوثرستین و آنالوگ‌هایش بر آنزیم پروتئاز اصلی کووید-۱۹، با استفاده از داکینگ مولکولی ارزیابی شود و اثربخشی هرکدام از این ترکیبات در محیط *in Silico* به‌منظور پیدا کردن یک

Cys145 و His41 دارد که در جایگاه فعال پروتئین نقش اساسی ایفا می‌کند و باعث آزاد شدن پلی‌پپتیدها از RNA ترجمه‌شده می‌شود (۱۷).

محققان سویه‌های مختلفی از SARS-CoV-2 را با جهش‌های مضاعف در برخی کشورها شناسایی کرده‌اند (۱۸). این سویه‌ها می‌توانند به‌سرعت منتقل شوند و باعث عفونت مجدد در جوامع انسانی شوند (۲۰). علی‌رغم توسعه برنامه‌های واکسن، نیاز جدی به شناسایی و طراحی واکسن‌ها و عوامل ضدویروسی جدید علیه SARS-CoV-2 وجود دارد (۱۹)؛ بنابراین، یافتن عوامل طبیعی امیدوارکننده برای پروتئاز اصلی می‌تواند تهاجم و/یا مانع تکثیر ویروس در سلول میزبان و کاهش عفونت‌پذیری آن شود و از آنجاکه این ویروس بدون همولوگ انسانی است، مهارکننده‌های آن سمیت کمتری برای انسان دارند (۲۰).

کشف آثار درمانی یک ترکیب شیمیایی، تازه آغاز راهی است که ممکن است تحقیق، توسعه و اجرای آن سالیان بسیاری به طول بینجامد. در حقیقت زمان‌بر بودن، پرهزینه بودن و دسترسی آسان نداشتن به مواد اولیه دارویی برای سنتز و داشتن عوارض جانبی متعدد داروهای شیمیایی از معایب داروهای شیمیایی است. یکی از راهکارهای جدید درمانی، غیر از طراحی و سنتز شیمیایی داروها، جستجوی مواد مؤثر دارویی در میان ترکیبات طبیعی به‌منظور دستیابی به داروهای با کمترین آثار جانبی و صرف هزینه و زمان کوتاه‌تر است. امروزه روش‌های *in Silico* به‌عنوان یکی از کم‌هزینه‌ترین و سریع‌ترین راهکارها برای رسیدن به ترکیب الگو و یا داروی مؤثر استفاده می‌شوند (۲۱، ۲۲).

گیاهان دارویی به دلیل منشأ طبیعی، عوارض جانبی کمتری نسبت به مواد شیمیایی دارند و دارای خواص گوناگونی از قبیل خواص ضدقارچی، ضدالتهابی، ضدویروسی، ضداکسیدانی، ضدتنج و ضدتب هستند (۲۳، ۲۴). در میان ترکیبات متنوع گیاهی، ترکیبات

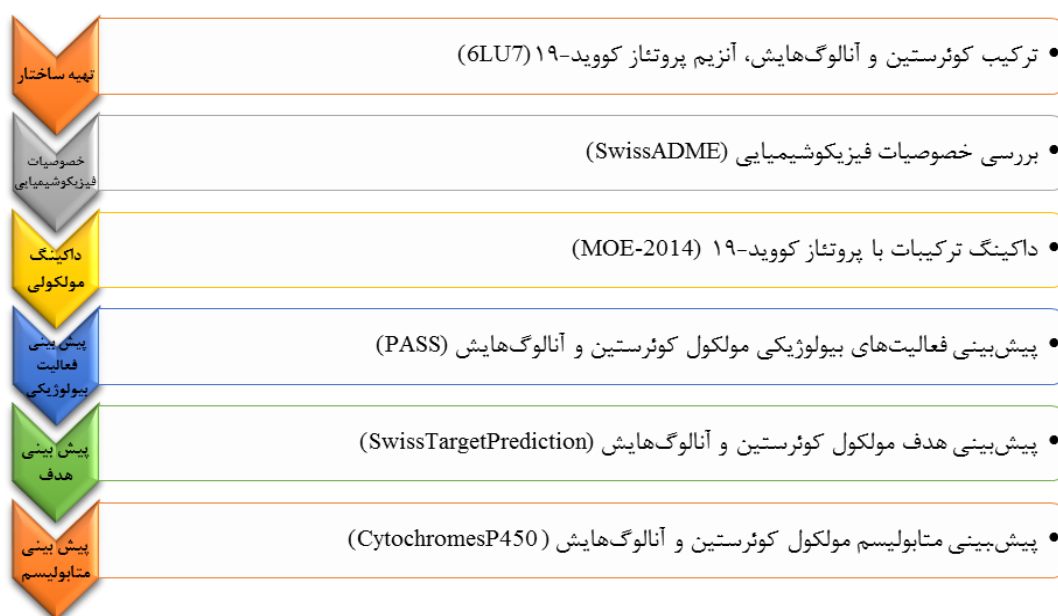
ترکیب مؤثر در درمان کووید-۱۹ بررسی گردد. با هدف بررسی و شناسایی دقیق سازوکار اتصال آنالوگ‌های کوئرستین با اسکلت ساختاری فلاونوئیدی به جایگاه فعال آنزیم، روش داکینگ مولکولی اجرا و نتایج به دست آمده از آن تجزیه و تحلیل و در نهایت، پیش‌بینی خطر سمیت و فعالیت بیولوژیک ترکیبات توسط مرورگر Swiss Target Prediction و PASS، SwissADME ارزیابی گردید. برای انجام روش داکینگ مولکولی از نرم‌افزار (MOE.2014) Molecular Operating Environment استفاده شده است.

مواد و روش‌ها

هدف اصلی این مطالعه ارزیابی کوئرستین و آنالوگ‌هایش، به عنوان مهارکننده های آنزیم پروتئاز اصلی ویروس SARS-CoV-2، برای شناسایی دارویی مؤثر در درمان کووید-۱۹ بود. پروتئاز اصلی به علت نقش مهم آن در تکثیر ویروس انتخاب گردید و خواص فیزیکوشیمیایی کوئرستین و آنالوگ‌هایش تجزیه و تحلیل شد و داکینگ مولکولی همه ترکیبات کوئرستینی با آنزیم پروتئاز اصلی صورت گرفت و ترکیبات با اثر

مهارتی بهتر که میل اتصال قوی تری برای پروتئاز اصلی نشان دادند، برای تحقیقات بیشتر توسط SwissTargetprediction، PASS و متابولیسم انتخاب شدند و ارزیابی گردیدند. این مطالعه به صورت *in silico* برای شناسایی ترکیبات ضدویروسی بالقوه برای کووید-۱۹ انجام شد (شکل شماره ۱).

آماده‌سازی پروتئین و لیگاند‌ها: این پژوهش به شیوه توصیفی-تحلیلی انجام شد. ابتدا از میان ترکیبات مؤثر گیاهان دارویی، ترکیب کوئرستین و آنالوگ‌هایش (۲۰ ترکیب) انتخاب گردیدند که خاصیت ضدویروسی داشتند. برای مقایسه عملکرد ترکیبات کوئرستینی یادشده و دست‌یابی به نتایج قابل اطمینان برهمکنش مولکولی، دو داروی ضدویروس ریتوناویر و لوپیناویر به عنوان استاندارد و مهارکننده N3 در پروتئاز اصلی مطالعه شدند. ساختار سه‌بعدی ترکیبات و داروها از پایگاه PubChem آدرس (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) دریافت گردیدند و ساختارها توسط Hyperchem.7 در میدان نیروی مکانیک مولکولی (MM+/ Molecular Mechanics) و روش نیمه تجربی AM1 و الگوریتم Polak-ribiere از نظر انرژی بهینه شدند.



شکل شماره ۱. نمای شماتیکی از رویکرد محاسباتی استفاده شده برای شناسایی آنالوگ‌های کوئرستین به عنوان مهارکننده برای آنزیم پروتئاز اصلی کووید-۱۹

خوراکی یا تریق وریدی یا جذب پوستی نقش دارند، با استفاده از پایگاه های SwissADME بر اساس قانون لپینسکی، Swiss Target Prediction، PASS-Way2Drug و RS-Web Predictor 1.0 پیش‌بینی شد. سرورهای یادشده نرم‌افزارهای آنلاین هستند که با دریافت اطلاعات مولکول شیمیایی در قالب فایل Structure Data File (SDF) یا Simplified molecular-input line-entry system (Smile) امکان پیش‌بینی خصوصیات فیزیکوشیمیایی را فراهم می‌آورند (۳۷-۳۵).

داکینگ مولکولی: به منظور ارزیابی ترکیب کوثرستین و آنالوگ‌هایش و داروهای استاندارد (ریتوناویر و لوپیناویر) و مهارکننده N3 در مهار آنزیم پروتئاز اصلی کووید-۱۹، از روش داکینگ مولکولی با استفاده از نرم‌افزار MOE.2014 استفاده گردید. در MOE، تمایل اتصال گیرنده-لیگاند با همه هندسه های اتصال ممکن، بر اساس یک مقدار عددی به نام S-score اولویت‌بندی می‌شوند. MOE می‌تواند پیوندهای هیدروژنی، برهمکنش های آب‌گریز، گوگرد-LP، کاتیون π - π و قرار گرفتن کمپلکس در معرض حلال را شناسایی کند؛ بنابراین در این کار، برهمکنش‌های میان ترکیبات و پروتئین گیرنده بر اساس این S-score پیش‌بینی می‌شوند. در طول فرایند شبیه‌سازی داکینگ مولکولی، پروتئین پروتئاز اصلی به‌عنوان یک ساختار صلب در نظر گرفته شد، درحالی‌که لیگاندها کاملاً انعطاف‌پذیر بودند. با استفاده از ماژول مکان‌یاب کاشته‌شده در MOE، محل فعال پروتئین پروتئاز اصلی تعیین گردید و محل فعال با دست‌کم یک اتم در فاصله ۴/۵ Å در لیگاند در ساختار کریستالی پروتئاز اصلی تعریف شد. داکینگ مولکولی با استفاده از الگوریتم مکان‌یابی تطبیق مثلث در ترکیب با تابع امتیازدهی London dG برای اختصاص انرژی‌های اتصال آزاد نظری مجتمع‌های پروتئین-لیگاند و میدان نیرو به‌عنوان روش پالایش صورت گرفت. بررسی های کمی از حیث انرژی پیوندی توسط بهترین کنفورماسیون ترکیبات با

ساختار سه‌بعدی آنزیم پروتئاز اصلی کووید-۱۹ با شماره دسترسی 6LU7 از پایگاه داده های پروتئین (PDB/ Protein Data Bank) دریافت گردید. در طول فرایند آماده‌سازی پروتئین، با استفاده از نرم‌افزار MOE.2014 (۳۳) مولکول‌های آب و لیگاند اصلی آن حذف شدند، درحالی‌که هیدروژن های قطبی و بارهای گسستگی (بارهای الکتریکی اتم که به‌صورت تجربی محاسبه می‌گردد) به پروتئین اضافه و هیدروژن های غیر یونیزه در اتم کربن مجاور ادغام شدند. ساختار پروتئین توسط الگوریتم کمینه‌سازی انرژی MOE با استفاده از میدان نیروی MMFF94X، با روش گرادینان مزدوج به حداقل رسید؛ سپس ساختار پروتئین برای مطالعات داکینگ مولکولی ذخیره گردید.

بررسی ترکیبات با قانون لپینسکی (Lipinski): برای ارزیابی اینکه یک ترکیب می‌تواند خواص دارویی داشته باشد و برای پیش‌بینی میزان جذب، برای همه ترکیبات، قانون لپینسکی در نظر گرفته می‌شود. قانون لپینسکی (Lipinski's "rule of five") پیش‌بینی می‌کند که جذب یا نفوذ مناسب در مواردی اتفاق می‌افتد که ترکیب مد نظر ویژگی‌هایی مانند وزن مولکولی کمتر از ۵۰۰ دالتون، فاکتور چربی‌دوستی (cLogP) کمتر از ۵، تعداد اتم‌های پذیرنده هیدروژن کمتر از ۱۰ و تعداد اتم‌های دهنده هیدروژن کمتر از ۵ داشته باشد؛ بنابراین، ترکیبی که این ویژگی‌های را دارد و از قانون لپینسکی برخوردار باشد، جذب بیشتر و اثربخشی بیشتری دارد (۳۴). بر اساس این، برای بررسی ترکیبات از لحاظ این قانون از پایگاه SwissADME استفاده شد.

پیش‌بینی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و بیولوژیک ترکیبات بررسی‌شده: به‌طور کلی، داشتن خصوصیات فیزیکوشیمیایی مطلوب در کنار اثربخشی دارویی از شاخص های مهم برای ارزیابی یک مولکول به‌عنوان یک کاندید دارویی مناسب است؛ بنابراین در این مطالعه، خصوصیات فیزیکوشیمیایی شامل حلالیت در آب، مساحت قسمت های قطبی مولکول (Topological Polar Surface Area (TPSA) و قابلیت مهار سیتوکرومی که در طراحی پیش‌دارو به‌صورت

انرژی های اتصال (S-score kcal/mol) ارزیابی گردیدند و بررسی های کیفی از حیث برهمکنش میان لیگاندها و پروتئین شامل برهمکنش های هیدروژنی، هیدروفوبی و π - π با آمینواسیدهای موجود در پاکت اتصال پروتئین، توسط ماژول LigX در نرم افزارهای MOE و UCSF Chimera آنالیز شد. خاطر نشان می شود که در کنار محیط های *in vivo* و *in vitro*، محیط *in silico* به عنوان یک محیط کارآمد برای تجزیه و تحلیل جزئیات فرایندهای پیچیده زیستی محسوب می شود.

یافته ها

خصوصیات فیزیکوشیمیایی و مؤلفه های فارماکوکیتیک: بر اساس قانون لیپینسکی و تعریف قانون ۵تایی، 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 گردد. Logp میزان لیپوفیلیسیته ماده را نشان می دهد که می بایست بین ۱ الی ۵ باشد؛ پس هر اندازه میزان آن از ۵ بزرگ تر باشد، میزان چربی دوستی ماده بیشتر و جذب گوارشی آن کمتر خواهد بود.

توانایی تشکیل پیوند هیدروژنی مؤلفه دیگری برای نفوذپذیری دارو است که برای جذب ایدئال تعداد دهندگان پیوند هیدروژنی و پذیرندگان پیوند هیدروژنی باید به ترتیب کمتر از ۵ و ۱۰ باشد. نتایج به دست آمده از قانون لیپینسکی با توجه به پایگاه SwissADME در جدول شماره ۱ آورده شده است. بر اساس این نتایج، همه آنالوگ های کوئرستین (به جز Cynaroside، Myricitrin و Rutin) از قانون لیپینسکی پیروی می کنند.

جدول شماره ۱. مؤلفه های لیپینسکی داروهای استاندارد و آنالوگ های کوئرستین

نام ترکیب	وزن مولکولی	پذیرندگان پیوند هیدروژنی	دهندگان پیوند هیدروژنی	Logp	Lipinski
Apigenin	۲۷۰/۲۴	۵	۳	۳/۰۲	بله
Baicalin	۲۷۰/۲۴	۵	۳	۳/۱۶	بله
Chrysin	۲۵۴/۲۴	۴	۲	۳/۵۲	بله
daidzein	۲۵۴/۲۴	۴	۲	۲/۴۷	بله
Dihydromyricetin	۳۲۰/۲۵	۸	۶	۰/۵۹	بله
Fisetin	۲۸۶/۲۴	۶	۴	۱/۹۷	بله
Formononetin	۲۸۶/۲۴	۴	۱	۲/۸۰	بله
Genistein	۲۷۰/۲۴	۵	۳	۲/۶۷	بله
Hesperetin	۳۰۲/۲۸	۶	۳	۲/۶۰	بله
Kaempferol	۲۸۶/۲۴	۶	۴	۱/۹۰	بله
Liquiritigenin	۲۵۶/۲۵	۴	۲	۲/۳۰	بله
Luteolin	۲۸۶/۲۴	۶	۴	۲/۵۳	بله
Cynaroside	۴۴۸/۳۸	۱۱	۷	۱/۴۶	خیر
Myricetin	۳۱۸/۲۴	۸	۶	۱/۱۸	بله
Myricitrin	۴۶۴/۳۸	۱۲	۸	۰/۵۱	خیر
Naringenin	۲۷۲/۲۵	۵	۳	۲/۵۲	بله
Puerarin	۴۱۶/۳۸	۹	۶	۰/۰۱	بله
Quercetin	۳۰۲/۲۴	۷	۵	۱/۵۴	بله
Rutin	۶۱۰/۵۲	۱۶	۱۰	-۰/۳۳	خیر
Tangeretin	۳۷۲/۳۷	۷	۰	۳/۰۴	بله
Ritonavir	۷۲۰/۹۴	۷	۴	۶/۰۵	خیر
Lopinavir	۶۲۸/۸۰	۵	۴	۵/۹۲	خیر

همچنین آنالوگ‌های کوثرستین از لحاظ خصوصیات فیزیکوشیمیایی دیگر و مؤلفه‌های فارماکوکینتیک ارزیابی شدند (جدول شماره ۲). Logs میزان حلالیت ماده را نشان می‌دهد که میزان بالای صفر آن نشان‌دهنده حلالیت بالا و میزان کمتر از ۱۰- نشان‌دهنده نامحلول بودن ماده مدنظر است. عامل مهم دیگری که نقش مستقیمی در نفوذپذیری ترکیبات زیست فعال دارد، مساحت های قطبی مولکول (TPSA) است. بر اساس مطالعات انجام شده، نفوذپذیری ترکیبات با افزایش جرم ماده و کاهش (PSA) Polar Surface Area بیشتر

می‌شود. ترکیباتی که PSA بزرگ‌تر از ۱۴۰ Å دارند، نفوذپذیری مناسب ندارند. سیتوکروم‌ها از آنزیم‌های مهم در بدن هستند که به‌طور عمده در کبد و روده یافت می‌شوند و مولکول‌های آلی خارجی مانند سموم یا داروها را اکسید می‌کنند تا بتوانند از بدن خارج شوند؛ بنابراین، بررسی این سیتوکروم‌ها در جذب و اثربخشی دارو بسیار مؤثر است و چنانچه ترکیب کاندید شده، مهارکننده این سیتوکروم‌ها نباشد، می‌توان عنوان کرد که دارو قابلیت جذب گوارشی مناسبی دارد و به‌صورت خوراکی قابل مصرف است.

جدول شماره ۲. بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی داروهای استاندارد و آنالوگ‌های کوثرستین مطالعه شده

نام ترکیب	LogS	TPSA	جذب گوارشی	BBB permeant	مهارکننده سیتوکروم CYP1A2	مهارکننده سیتوکروم CYP2C19	مهارکننده سیتوکروم CYP2C9	مهارکننده سیتوکروم CYP2D6	مهارکننده سیتوکروم CYP3A4	Leadlikeness
Apigenin	-۳/۹۴	۹۰/۹۰	بالا	خیر	بله	خیر	خیر	بله	بله	بله
Baicalein	-۴/۰۳	۹۰/۹۰	بالا	خیر	بله	خیر	خیر	بله	بله	بله
Chrysin	-۴/۱۹	۷۰/۶۷	بالا	بله	بله	خیر	خیر	بله	بله	خیر
daidzein	-۳/۵۳	۷۰/۶۷	بالا	بله	بله	خیر	خیر	بله	بله	بله
Dihydromyricetin	-۲/۵۲	۱۴۷/۶۸	کم	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	بله
Fisetin	-۳/۳۵	۱۱۱/۱۳	بالا	خیر	بله	خیر	خیر	بله	بله	بله
Formononetin	-۳/۷۳	۵۹/۶۷	بالا	بله	بله	خیر	خیر	بله	بله	بله
Genistein	-۳/۷۲	۹۰/۹۰	بالا	خیر	بله	خیر	خیر	بله	بله	بله
Hesperetin	-۳/۶۲	۹۶/۲۲	بالا	خیر	بله	خیر	خیر	خیر	بله	بله
Kaempferol	-۳/۳۱	۱۱۱/۱۳	بالا	خیر	بله	خیر	خیر	بله	بله	بله
Liquiritigenin	-۳/۲۸	۶۶/۷۶	بالا	بله	بله	خیر	خیر	خیر	خیر	بله
Luteolin	-۳/۷۱	۱۱۱/۱۳	بالا	خیر	بله	خیر	خیر	بله	بله	بله
Cynaroside	-۳/۶۵	۱۹۰/۲۸	کم	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر
Myricetin	-۳/۰۱	۱۵۱/۵۹	کم	خیر	بله	خیر	خیر	خیر	بله	بله
Myricitrin	-۳/۲۰	۲۱۰/۵۱	کم	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر
Naringenin	-۳/۴۹	۸۶/۹۹	بالا	خیر	بله	خیر	خیر	خیر	بله	بله
Puerarin	-۳/۶۲	۱۶۰/۸۲	کم	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر
Quercetin	-۳/۱۶	۱۳۱/۳۶	بالا	خیر	بله	خیر	خیر	بله	بله	بله
Rutin	-۳/۳۰	۲۶۹/۴۳	کم	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر
Tangeretin	-۴/۱۱	۷۶/۳۶	بالا	بله	خیر	خیر	بله	خیر	بله	خیر
Ritonavir	-۶/۹۹	۲۰۲/۲۶	کم	خیر	خیر	خیر	خیر	بله	خیر	خیر
Lopinavir	-۴/۶۴	۱۲۰	بالا	خیر	خیر	بله	خیر	بله	خیر	خیر

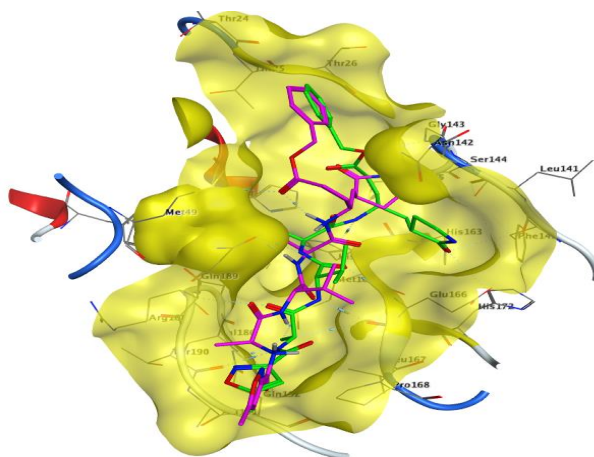
درنهایت، برای اثربخشی یک دارو به صورت خوراکی، تزریق وریدی یا جذب پوستی باید برآیندی از عامل‌های یادشده را در نظر گرفت. بر اساس جدول شماره ۲، داروی ریتوناویر محلولیت نسبی، نفوذپذیری نامناسب و جذب گوارشی پایین دارد و باید به صورت تزریق وریدی استفاده شود؛ اما داروی لوپیناویر نفوذپذیری مناسب و جذب گوارشی بالا و قابلیت مصرف خوراکی دارد؛ همچنین مشاهده شد که از میان کوئرستین و آنالوگ‌هایش، Dihydromyricetin، Myricitrin، Myricetin، Cynaroside و Puerarin، Rutin با داشتن حلالیت نسبی، نفوذپذیری نامناسب و جذب گوارشی اندک، قابلیت مصرف خوراکی ندارند و می‌بایست مانند داروی ریتوناویر، 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: در ابتدا به منظور اعتبارسنجی عملیات داکینگ، لیگاند N3 از جایگاه فعال آنزیم پروتئاز اصلی (6LU7) برداشته شد و پس از انجام داکینگ مقایسه گردید. دستورالعمل داکینگ با داکینگ مجدد لیگاند N3 در ساختار پروتئاز اصلی تأیید شد. در شکل شماره ۲ می‌توان مشاهده کرد که مولکول N3 به موقعیت‌های مشابه پروتئاز اصلی، در مقایسه با شکل کریستالوگرافی اصلی خود، متصل شده است و ساختار

داک شده پس از قرار دادن آن روی کمپلکس اصلی متبلور شده (Root-Mean-Square-Deviation (RMSD)، ۱/۶۷Å داشت که نشان دهنده اعتبار روش است. در اینجا، آمینواسیدهایی که در مجاورت ۶/۵ Å از مهارکننده N3 نشان داده شده اند، به عنوان باقی مانده های اتصال اصلی در نظر گرفته می شوند؛ همچنین آمینواسیدهایی مانند Leu27، His41، Met49، Phe140، Leu141، Asn142، Gly143، Ser144، Cys145، His163، His164، Met165، Glu166 و Gln189 در پاکت کاتالیتی پروتئاز اصلی قرار دارند (شکل شماره ۲).

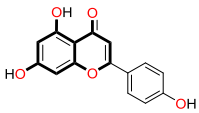
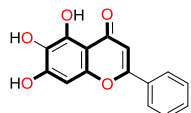
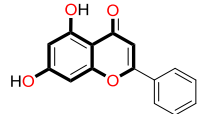
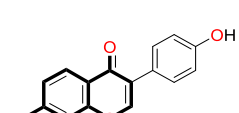
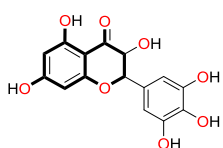
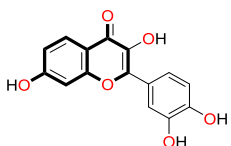
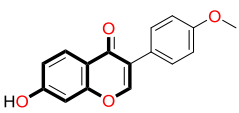
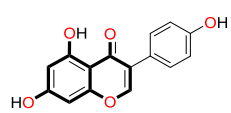
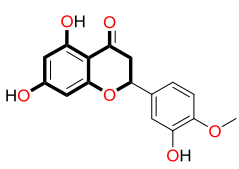
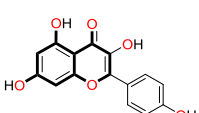
پس از اعتبارسنجی داکینگ، ساختار سه بعدی آنالوگ‌های کوئرستین و داروهای استاندارد در جایگاه فعال آنزیم پروتئاز اصلی داک شدند. نتایج به دست آمده از داکینگ مولکولی میان آنزیم پروتئاز اصلی با هر کدام از آنالوگ‌های کوئرستین و داروهای استاندارد در جدول شماره ۳ آمده است.

همان‌طور که مشاهده می‌شود، بیشتر آنالوگ‌های کوئرستین، با توجه به انرژی حاصل از برهمکنش لیگاند-گیرنده، اتصال مناسبی با آنزیم یادشده دارند و در جدول مهم‌ترین آمینواسیدهای درگیر در جایگاه فعال آنزیم و همه برهمکنش‌های لیگاندها شامل پیوندهای هیدروژنی، برهمکنش هیدروفوبی و π - π ذکر شده است.



شکل شماره ۲. اعتبارسنجی مجدد برای N3. مهارکننده کریستالوگرافی (سبز) و مهارکننده مجدد داک شده N3 (ارغوانی) در جایگاه اتصال 6LU7

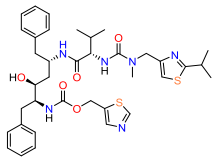
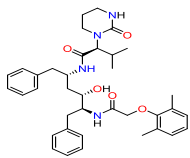
جدول شماره ۳. انرژی اتصال و برهمکنش‌های موجود میان ترکیبات مطالعه‌شده و آمینواسیدهای جایگاه فعال آنزیم پروتئاز اصلی کووید-۱۹

ساختار	نام ترکیب	انرژی اتصال (کیلوکالری بر مول)	پیوند هیدروژنی	برهمکنش‌های هیدروفوب	برهمکنش $\pi-\pi$
	Apigenin	-۱۲/۶۶	Cys145, Ser144, His164, Leu141	Met165, His163, Arg188, Glu166, Phe140, Met49, Asp187, Asn142, Thr25, gly143	His41
	Baicalein	-۱۳/۲۴	Leu141, Ser144, Phe140, Glu166, Cys145,	Met49, Asn142, Gln189, Met165, His164, his163, his172	His41
	Chrysin	-۱۱/۶۳	Ser144, His163, Cys145	Leu141, Met49, Asn142, Phe140, Met165, His164, His163, Glu166	His41
	Daidzein	-۱۲/۴۳	Gly143, Cys145	Met49, Asn142, Gln189, Met165, His164, His163, His172, Leu141, Phe140, Glu166, Arg188, Ser144, Thr190	His41
	Dihydromyricetin	-۱۰/۷۲	Glu166, Gln189, His163, Leu141	Cys145, Met49, Asn142, Gln189, Met165, His164, His163, His172, Leu141, Phe140, Glu166, Arg188, Ser144, Thr190	His41
	Fisetin	-۱۲/۵۱	Cys145, Ser144	Met49, Asn142, Gln189, Met165, His164, His163, His172, Leu141, Phe140, Glu166, Arg188, Thr190	His41
	Formononetin	-۱۲/۵۴	Cys145, Leu141, Gly143	Ser144, Met49, Asn142, Gln189, Met165, His164, His163, His172, Leu141, Phe140, Glu166, Arg188, Thr190, Gln192	-
	Genistein	-۱۲/۹۲	Gly143, Ser144, Cys145, His163	Leu141, Phe140, Asn142, His164, Arg188, Leu27, Tyr54, Met49	His41
	Hesperetin	-۱۲/۷۰	Cys145, Leu141, Ser144, His163, Phe140	Asn142, Met165, His164, Glu166, Gly143, Gln189, Met49, Leu27, Thr26	His41
	Kaempferol	-۱۱/۹۷	Cys145, Leu141, Ser144, His163	Asn142, Phe140, Met165, His164, Glu166, Gly143, Gln189, Met49, Thr26	-

ادامه جدول شماره ۳.

His41	Asn142, Phe140, Met165, His164, His163, Leu141, Glu166, Gly143, Gln189, Met49	Cys145, Ser144	-۱۰/۳۵	Liquiritigenin	
-	Asn142, Cys145, Met165, His164, His163, Leu141, Glu166, Gly143, Gln189, Met49, Leu27, Thr25, His172	Phe140, His163, Ser144, is41	-۱۲/۴۱	Luteolin	
His41	Asn142, Met165, His164, Leu141, Gly143, Gln189, Met49, His164, His163	Cys145, Phe140, Ser144, Glu166	-۱۱/۷۹	Cynaroside	
His41	Asn142, Phe140, Cys145, Met165, His164, Leu141, Gly143, Glu166, Gln189, Met49, His164, His163	Gly143, His163	-۱۱/۰۶	Myricetin	
His41	Phe140, Cys145, Met165, His164, Glu166, Gln189, Met49, Arg188, Asp187	Asn142, Ser144, Leu141, Gly143	-۱۰/۴۲	Myricitrin	
His41	Phe140, Thr26, Thr25, Leu141, Asn142, His172, His163, Met49, Met165, Gln189	Gly143, Ser144, Cys145, Arg188	-۱۲/۸۳	Naringenin	
His41	, ۱۶۵, Met ۱۴۳ Gly, His163, ۱۶۴ His, ۱۴۲, Asn ۱۶۶ Glu, ۱۸۹, Gln ۴۹ Met Thr54, Phe140	Cys145, Leu141, Ser144, Asp187	-۱۰/۷۱	Puerarin	
-	Met49, His164, Met165, Asn142	His41, Leu141, Gly143, Ser144, Cys145, Gln189	-۱۳/۵۴	Quercetin	
-	, ۱۴۳, Gly ۴۱ His, ۱۶۴, His ۱۶۵ Met, ۴۹, Met ۱۴۲ Asn, Leu141, Met165, Leu141, Gln192, Phe140	, Thr190, ۱۶۶ Glu, Ser144, Cys145, His163, Gln189	-۱۰/۳۶	Rutin	
His41	, ۱۶۵ Cys145, Met, ۱۴۲, Asn ۱۶۴ His, Met165, ۴۹ Met, Leu141, Asp187, Gln192, Phe140, Arg188, Gln189,	, Gly143 ۱۶۶ Glu	-۱۱/۶۰	Tangeretin	

ادامه جدول شماره ۳.

-	His ۱۴۵, Cys ۴۱, Met ۱۳۳, Glu ۱۶۶, Met ۱۴۲, Asn ۴۹, Thr ۱۸۹, Thr ۲۵, Thr ۲۵, Thr ۲۴, Ser ۴۶	۲۵, Thr ۱۶۶ Glu	-۶/۸۴	Ritonavir	
His 41	His 41, Cys 145, Gly 143, Met 165, His 164, Glu 166, Asn 142, Leu 141, Phe 140, Met 49, Gln 189, Asp 187	Gln 189	-۱۰/۸۹	Lopinavir	

Quercetin را شناسایی کردند که در پایگاه داده PASS ذخیره شده‌اند. جدول شماره ۴ نتایج پیش‌بینی چهارده فعالیت بیولوژیکی را برای آنالوگ‌های کوئرستینی انتخاب‌شده نشان می‌دهد.

گفتنی است نتایج تحقیق حاضر نشان‌دهنده کاربرد عمده طرح PASS برای پیش‌بینی فعالیت‌های بیولوژیکی Naringenin، Genistein، Baicalein و Quercetin بر اساس ساختار فلاونوئیدی ترکیبات مربوطه است که با ضریب پیش‌بینی متوسط برابر با ۰/۸۰ (Pa) در محدوده ۰/۴۵۸ تا ۰/۹۷۳ است، هنگامی که (Pa > Pi) برای این ترکیبات نشان داده شده است.

بررسی خصوصیات بیولوژی ترکیب کوئرستین و آنالوگ‌هایش: مطالعات طراحی دارو PASS را به عنوان یک ابزار محبوب استفاده‌شده در تقریباً هر صنعت دارویی، با توجه به تجزیه و تحلیل رابطه ساختار-فعالیت در نظر گرفته‌اند و امتیاز پیش‌بینی فعالیت‌های بیولوژیکی را بر اساس نسبت احتمال فعال بودن (Pa) Prediction of activity و احتمال غیرفعال بودن (Pi) Probable (inactivity) می‌دهد. Pa بالاتر به این معنی است که فعالیت بیولوژیکی احتمال بیشتری برای یک ترکیب دارد. علاوه بر این، محققان طیف‌های فعالیت بیولوژیکی ترکیبات Naringenin، Genistein، Baicalein و

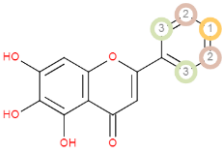
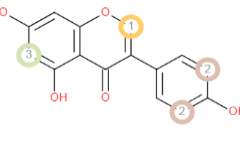
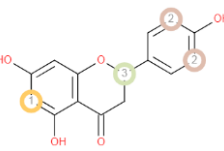
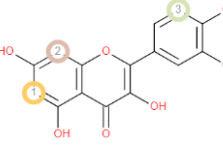
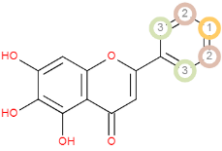
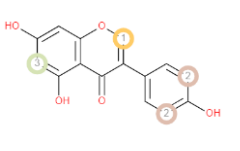
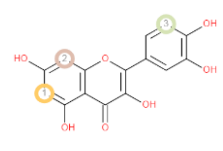
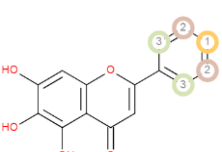
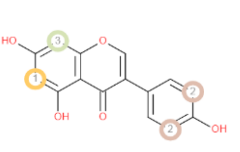
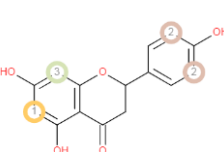
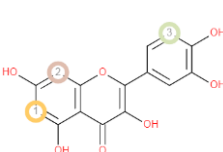
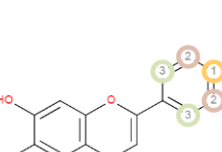
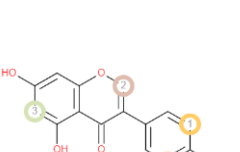
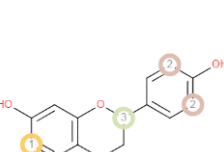
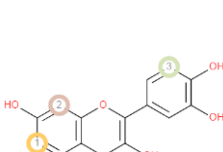
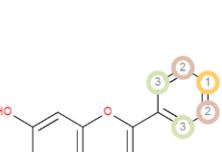
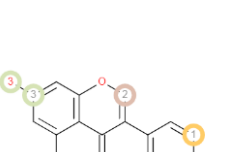
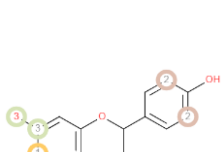
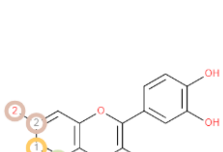
جدول شماره ۴. نتایج پیش‌بینی PASS از فعالیت‌های بیولوژیکی ترکیبات Quercetin و Naringenin، Genistein، Baicalein

ردیف	فعالیت بیولوژیک	Baicalein				Genistein				Hesperetin				Quercetin			
		Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi
۱	Membrane integrity agonist	۰/۹۴۵	۰/۰۰۴	۰/۹۱۳	۰/۰۰۸	۰/۹۶۴	۰/۰۰۳	۰/۹۷۳	۰/۰۰۲	۰/۹۴۵	۰/۰۰۳	۰/۹۱۱	۰/۰۰۲	۰/۹۵۷	۰/۰۰۲	۰/۹۴۵	۰/۰۰۳
۲	HMOX1 expression enhancer	۰/۸۳۲	۰/۰۰۳	۰/۷۶۳	۰/۰۰۴	۰/۹۵۶	۰/۰۰۲	۰/۹۵۷	۰/۰۰۲	۰/۸۳۲	۰/۰۰۳	۰/۹۱۱	۰/۰۰۲	۰/۹۵۷	۰/۰۰۲	۰/۹۴۵	۰/۰۰۳
۳	HIF1A expression inhibitor	۰/۹۴۲	۰/۰۰۴	۰/۹۳۹	۰/۰۰۴	۰/۹۱۱	۰/۰۰۵	۰/۹۶۹	۰/۰۰۲	۰/۹۴۲	۰/۰۰۴	۰/۹۱۱	۰/۰۰۲	۰/۹۵۷	۰/۰۰۲	۰/۹۴۵	۰/۰۰۳
۴	Histidine kinase inhibitor	۰/۸۳۲	۰/۰۰۳	۰/۷۴۴	۰/۰۰۶	۰/۸۹۲	۰/۰۰۲	۰/۸۹۵	۰/۰۰۲	۰/۸۳۲	۰/۰۰۳	۰/۸۹۲	۰/۰۰۲	۰/۸۹۵	۰/۰۰۲	۰/۸۳۲	۰/۰۰۳
۵	Aldehyde oxidase inhibitor	۰/۸۷۱	۰/۰۰۵	۰/۴۶۹	۰/۰۵۵	۰/۸۶۶	۰/۰۰۵	۰/۸۹۴	۰/۰۰۴	۰/۸۷۱	۰/۰۰۵	۰/۸۶۶	۰/۰۰۵	۰/۸۹۴	۰/۰۰۴	۰/۸۷۱	۰/۰۰۵
۶	Antimutagenic	۰/۸۸۸	۰/۰۰۲	۰/۸۷۴	۰/۰۰۳	۰/۸۵۷	۰/۰۰۳	۰/۹۴۰	۰/۰۰۱	۰/۸۸۸	۰/۰۰۲	۰/۸۵۷	۰/۰۰۳	۰/۹۴۰	۰/۰۰۱	۰/۸۸۸	۰/۰۰۲
۷	Mucomembranous protector	۰/۷۲۶	۰/۰۴۵	۰/۶۵۸	۰/۰۷۶	۰/۸۴۴	۰/۰۱۰	۰/۷۵۱	۰/۰۳۴	۰/۷۲۶	۰/۰۴۵	۰/۸۴۴	۰/۰۱۰	۰/۷۵۱	۰/۰۳۴	۰/۷۲۶	۰/۰۴۵
۸	TP53 expression enhancer	۰/۸۹۵	۰/۰۰۵	۰/۸۲۴	۰/۰۰۹	۰/۸۲۲	۰/۰۰۹	۰/۸۴۴	۰/۰۰۸	۰/۸۹۵	۰/۰۰۵	۰/۸۲۲	۰/۰۰۹	۰/۸۴۴	۰/۰۰۸	۰/۸۹۵	۰/۰۰۵
۹	Chemopreventive	۰/۵۸۲	۰/۰۱۱	۰/۶۰۹	۰/۰۱۰	۰/۷۲۴	۰/۰۰۶	۰/۷۱۷	۰/۰۰۶	۰/۵۸۲	۰/۰۱۱	۰/۷۲۴	۰/۰۰۶	۰/۷۱۷	۰/۰۰۶	۰/۵۸۲	۰/۰۱۱
۱۰	Sugar-phosphatase inhibitor	۰/۷۰۶	۰/۰۳۲	۰/۵۶۶	۰/۰۱۱	۰/۵۸۶	۰/۰۵۸	۰/۵۶۶	۰/۰۶۴	۰/۷۰۶	۰/۰۳۲	۰/۵۸۶	۰/۰۵۸	۰/۵۶۶	۰/۰۶۴	۰/۷۰۶	۰/۰۳۲
۱۱	Membrane integrity agonist	۰/۹۴۵	۰/۰۰۴	۰/۹۱۳	۰/۰۰۸	۰/۹۶۴	۰/۰۰۳	۰/۹۷۳	۰/۰۰۲	۰/۹۴۵	۰/۰۰۴	۰/۹۱۱	۰/۰۰۲	۰/۹۵۷	۰/۰۰۲	۰/۹۴۵	۰/۰۰۳
۱۲	Antiinflammatory	۰/۶۷۴	۰/۰۱۹	۰/۶۲۶	۰/۰۲۷	۰/۶۶۰	۰/۰۲۱	۰/۶۸۹	۰/۰۱۷	۰/۶۷۴	۰/۰۱۹	۰/۶۶۰	۰/۰۲۱	۰/۶۸۹	۰/۰۱۷	۰/۶۷۴	۰/۰۱۹
۱۳	Free radical scavenger	۰/۶۹۶	۰/۰۰۴	۰/۴۵۸	۰/۰۱۳	۰/۷۹	۰/۰۰۳	۰/۸۱۱	۰/۰۰۳	۰/۶۹۶	۰/۰۰۴	۰/۷۹	۰/۰۰۳	۰/۸۱۱	۰/۰۰۳	۰/۶۹۶	۰/۰۰۴
۱۴	Hepatoprotectant	۰/۶۱۱	۰/۰۱۱	۰/۶۸۰	۰/۰۰۸	۰/۷۲۱	۰/۰۰۶	۰/۷۰۶	۰/۰۰۷	۰/۶۱۱	۰/۰۱۱	۰/۷۲۱	۰/۰۰۶	۰/۷۰۶	۰/۰۰۷	۰/۶۱۱	۰/۰۱۱

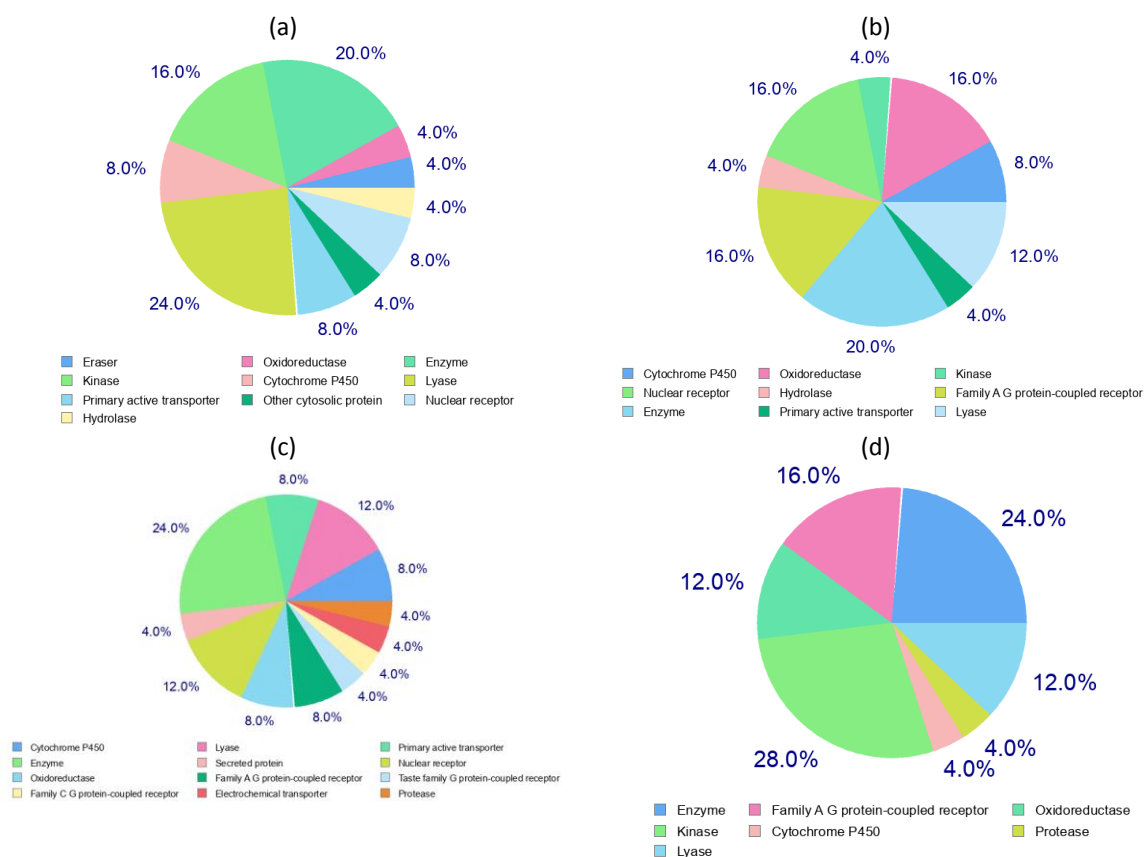
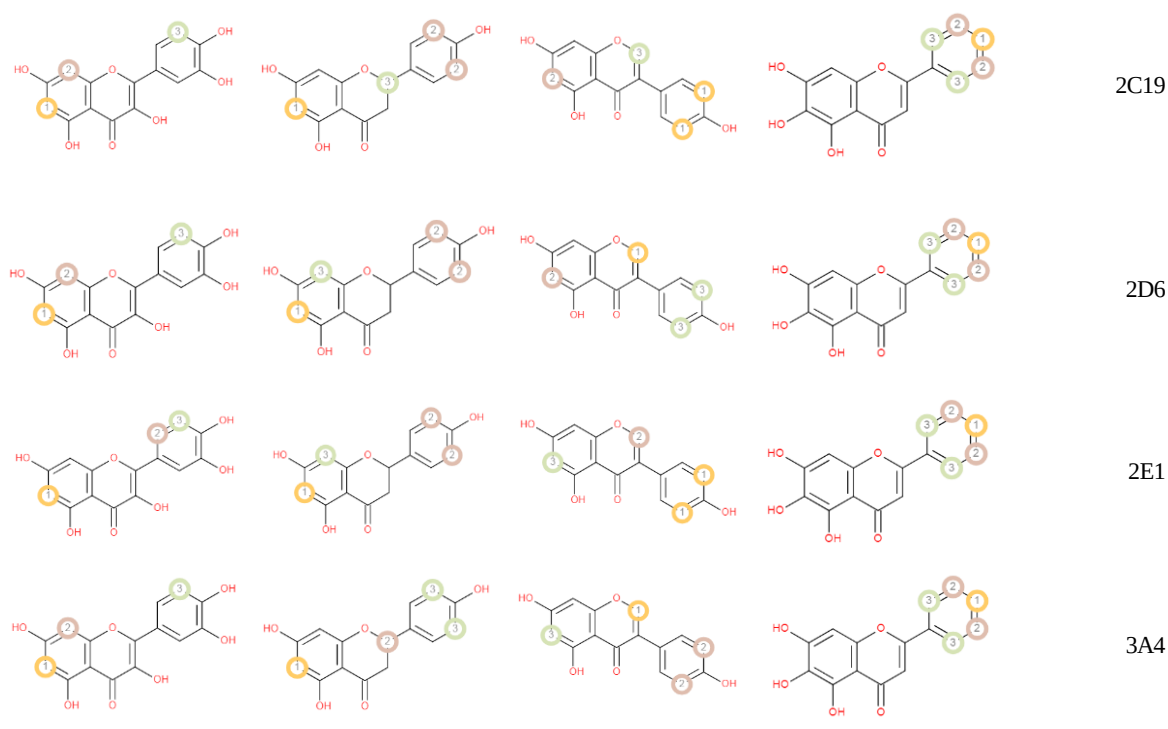
سیتوکروم P450 عامل کلیدی برای متابولیسم مواد خارجی مانند داروها است. شناسایی مکان‌های متابولیک در مولکول‌های داروماند، توانایی دفع آن‌ها از بدن را مشخص می‌کند. مکان‌های احتمالی متابولیسم Naringenin، Genistein، Baicalein و Quercetin از طریق سیتوکروم‌های 1A2، 2B6، 2A6، 2C8، 2D6، 2C19، 2E1 و 3A4 توسط ابزار RS-Web Predictor ارزیابی شد. مکان‌های احتمالی روی ترکیبات شیمیایی که در آن متابولیسم توسط ایزوفرم‌های آنزیم‌های CYP450 اتفاق می‌افتد، با دایره‌هایی روی

ساختار شیمیایی چهار لیگاند مشخص می‌شوند. طبق پیش‌بینی مکان‌های احتمالی متابولیسم (جدول شماره ۵)، Baicalein ۵ مکان برای همه سیتوکروم‌های P450 دارد. ترکیبات Genistein و Naringenin ۵ مکان برای سیتوکروم P450 2C9 و ۴ مکان متابولیسم برای سیتوکروم‌های 2E1، 1A2، 2C8، 2A6، 2B6، 2D6، 2C19، 3A4 و P450 دارند. پیش‌بینی‌های متابولیسم برای Quercetin، ۳ مکان سیتوکروم P450 را برای 1A2، 2A6، 2B6، 2C8، 2D6، 2C19، 3A4 و 2E1 و ۴ مکان را برای 2C9 نشان داد.

جدول شماره ۵. فهرست مکان‌های P450 مطالعه پیش‌بینی متابولیسم مولکول‌های Baicalein، Genistein، Naringenin و Quercetin

خواص شباهت به دارو	Baicalein	Genistein	Naringenin	Quercetin
1A2				
2A6				
2B6				
2C8				
2C9				

ادامه جدول شماره ۵.



شکل شماره ۳. ۲۵ هدف پیش‌بینی شده برای ترکیبات (a) Baicalein، (b) Genistein، (c) Naringenin و (d) Quercetin

پیش بینی هدف: مطالعات هدف مولکولی برای یافتن عوارض جانبی فنوتیپی یا واکنش متقابل بالقوه ناشی از عمل *Baicalein*، *Genistein*، *Naringenin* و *Quercetin* روی پروتئین ها، به عنوان بهترین آنالوگ های کوثرستینی مهم هستند. شکل شماره ۳، درصد زیست فعالی آنالوگ های با اثر مهاري بهتر را با توجه به اهداف پروتئینی انتخاب شده نشان می دهد. تجزیه و تحلیل نمودارهای دایره ای نشان داد که کینازها، آنزیم ها، پروتئازها، اکسیدوردوکتازها، گیرنده های جفت شده با پروتئین خانواده A، سیتوکروم P450، هیدرولاز و لیاها اهداف اصلی پیش بینی شده برای همه ترکیبات پیشنهادی بودند؛ همچنین نمودار دایره ای *Baicalein*، ۴ درصد پروتئین سیتوزولی و ۸ درصد گیرنده هسته ای و ناقل فعال اولیه را پیش بینی کرد. برای *Genistein*، نمودار دایره ای ۱۶ درصد گیرنده هسته ای و ۴ درصد ناقل فعال اولیه را نشان داد و برای *Naringenin*، نمودار دایره ای ۱۲ درصد گیرنده هسته ای و ۸ درصد ناقل فعال اولیه و ۴ درصد پروتئین ترشحي و ناقل الکتروشیمی را پیش بینی کرد. مکان های احتمالی هدف که ممکن است آنالوگ های کوثرستین انتخاب شده به آنها متصل شوند، کیناز، اکسیدوردوکتاز، آنزیم ها و لیاها هستند که واکنش دارویی را بر این اساس تحریک می کنند؛ همچنین این تجزیه و تحلیل توضیحی برای استفاده از *Quercetin*، *Genistein*، *Baicalein* و *Naringenin* به عنوان مهارکننده های اصلی پروتئاز SARS-CoV-2 ارائه می کند.

بحث و نتیجه گیری

با توجه به همه گیری کروناویروس در جهان و تلاش برای کشف دارو و واکسن مؤثری علیه بیماری کووید-۱۹، همچنان لازم است که درمان های جدیدی برای مقابله با عفونت ناشی از کروناویروس شناسایی گردد. در این مطالعه، سازوکار مهاري آنالوگ های کوثرستین روی آنزیم پروتئاز اصلی کووید-۱۹ بررسی شد و نتایج داکینگ نشان داد که پروتئاز اصلی نقش اساسی در تکثیر

و رونویسی کروناویروس دارد و به عنوان یک هدف درمانی بالقوه در نظر گرفته می شود؛ زیرا مهار آن می تواند از پیشروی ویروس جلوگیری کند.

پس از اعتبارسنجی دستورالعمل داکینگ، بررسی نتایج داکینگ آنالوگ های کوثرستین نشان داد که همه آنالوگ ها فضای مشابه با لیگاند N3 درون جایگاه فعال پروتئاز اصلی را اشغال می کنند. بر اساس نتایج جدول شماره ۳ و شکل شماره ۲، دو معیار مهم در تعیین بهترین حالت داک شده، بیشترین (منفی ترین) انرژی اتصال آزاد تخمین زده شده و همچنین بیشترین برهمکنش های مناسب با آمینواسیدهای اصلی جایگاه فعال پروتئاز اصلی هستند. نتایج حاصل از بررسی داروهای استاندارد به کاررفته به عنوان کنترل مثبت در جدول شماره ۳، بیانگر برهمکنش ریتوناویر و لوپیناویر به ترتیب با انرژی مهاري ۹/۲۰- و ۱۰/۶۸- کیلوکالری بر مول، با جایگاه فعال آنزیم پروتئاز اصلی بود. داروی ریتوناویر با آمینواسیدهای Thr25 و Glu166 پیوند هیدروژنی و با آمینواسیدهای Met49، His41، Met165 و Cys145 برهمکنش هیدروفوبی برقرار کرده است (شکل شماره 4a). داروی لوپیناویر که در جایگاه فعال پروتئاز اصلی قرار گرفته است، با آمینواسید Gln189 پیوند هیدروژنی و با آمینواسید His41 برهمکنش π - π دارد و با آمینواسیدهای Phe140، Leu141، Met49، His164 و Gly143 برهمکنش هیدروفوبی برقرار کرده است (شکل شماره 4b).

بر اساس جدول شماره ۲، از میان ۲۰ آنالوگ کوثرستین، اثر مهاري ترکیبات *Baicalein*، *Genistein*، *Naringenin* و *Quercetin* به ترتیب با انرژی های مهاري ۱۳/۲۴-، ۱۲/۹۲-، ۱۲/۸۳- و ۱۳/۵۴- کیلوکالری بر مول، نسبت به داروهای استاندارد به کاررفته روی پروتئاز اصلی قوی تر است؛ همچنین دیگر آنالوگ های کوثرستین با انرژی های مهاري ۱۰/۳۵- تا ۱۲/۷۰- کیلوکالری بر مول، اثر مهاري بهتری نسبت به داروهای استاندارد دارند؛ بنابراین می توان گفت، اثر مهاري آنالوگ های کوثرستین روی پروتئاز اصلی، نسبت به

فلاونوئید با آمینواسیدهای Gly143، Ser144، Cys145 و His163 است. ترکیب Genistein نیز مشابه Baicalein، برهمکنش $\pi-\pi$ از طریق اتصال میان حلقه فنول ترکیب و حلقه ایمیدازول آمینواسید His41 دارد (شکل شماره 4d). یکی از تفاوت های مهم این دو ترکیب در استخلاف های حلقه فلاونوئید است. در Genistein، حلقه فنول در موقعیت ۳ و در Baicalein، حلقه فنیل در موقعیت ۲ حلقه فلاونوئید قرار گرفته است؛ بنابراین، حلقه فنول در موقعیت ۳ در Genistein روی جهت گیری فضایی ترکیب در جایگاه اتصال آنزیم مؤثر است و احتمالاً به ضرر دستگاه است و این امر می تواند یکی از علل کاهش انرژی اتصال و کاهش اثر ضدویروس این ترکیب نسبت به Baicalein شود.

برای ترکیب Naringenin، نتایج داکینگ نشان داد که برهمکنش های عمده این ترکیب مشابه Baicalein و Genistein، از نوع برهمکنش های هیدروفوب و پیوند هیدروژنی هستند. Naringenin توانایی تشکیل ۴ پیوند هیدروژنی توسط استخلاف های هیدروکسیل کربن های ۵ و ۷ و گروه کربونیل کربن ۴ حلقه فلاونوئید با آمینواسیدهای Gly143، Ser144، Cys145 و Arg188 را دارد (شکل شماره 4e)؛ همچنین Naringenin از طریق اتصال میان حلقه فنول کربن ۳ حلقه فلاونوئید با حلقه ایمیدازول آمینواسید His41، برهمکنش $\pi-\pi$ برقرار کرده است. این ترکیب به علت وجود حلقه فنول و حلقه آلفاتیک در ساختار خود، در مقایسه با Baicalein، اثر ضدویروس ضعیف تری را نشان می دهد و ساختار غیرقابل انعطاف پذیر دارد؛ بنابراین، با وجود برهمکنش های مشابه با آمینواسیدهای جایگاه فعال، اما انرژی اتصال ضعیف تری نشان می دهد که احتمالاً کانفورمر نامناسب در فضای سه بعدی جایگاه فعال، باعث تضعیف برهمکنش ها شده است. مقدار لیپوفیلیسیته Naringenin (Logp برابر ۲/۵۲) تقریباً برابر با لیپوفیلیسیته Genistein است؛ اما به سبب وجود حلقه آلفاتیک و ایجاد کانفورمر نامناسب در جایگاه فعال انرژی، اتصال ضعیف تری را نشان می دهد. نتایج داکینگ

داروهای استاندارد بیشتر است.

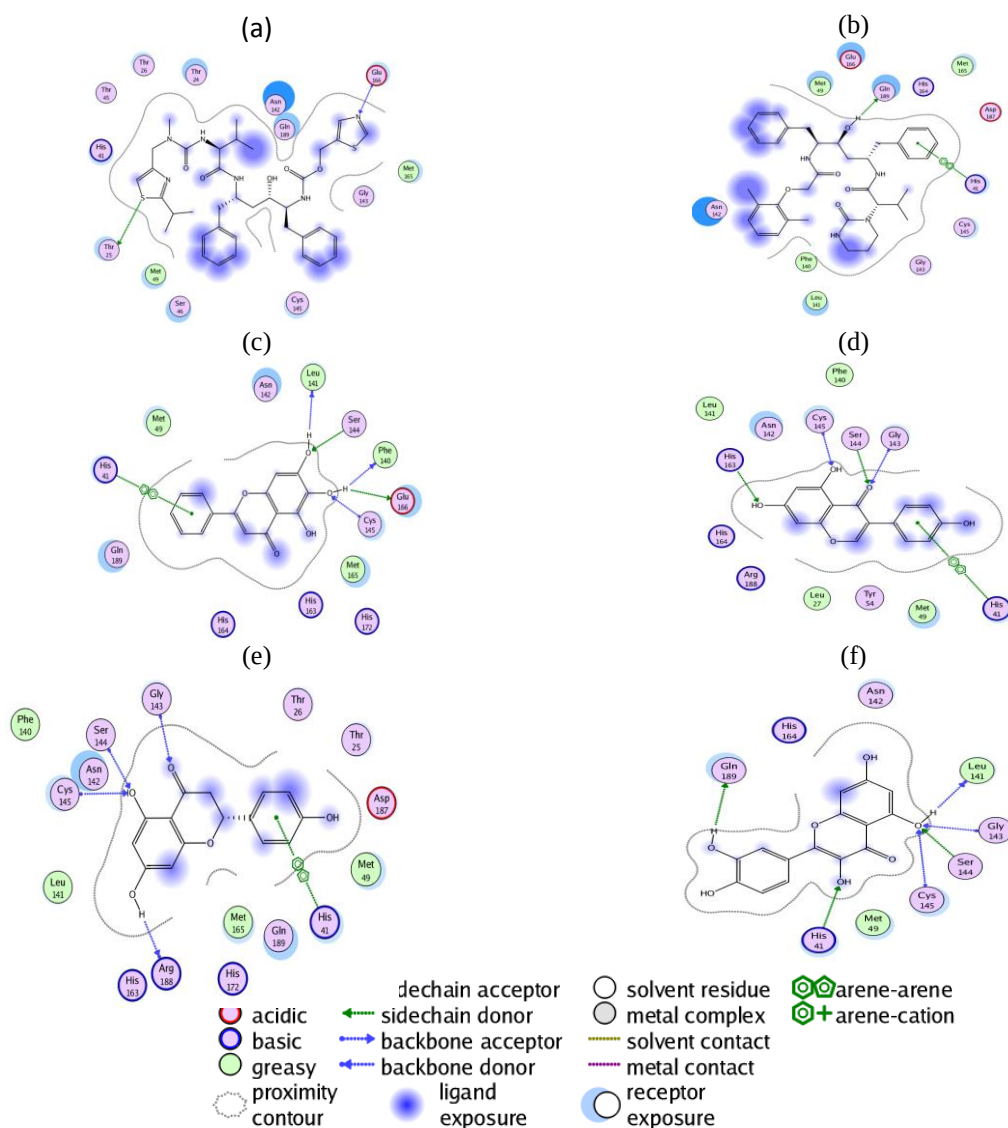
مطالعات داکینگ مولکولی نشان داد که در میان آنالوگ های کوثرستین، ترکیب Baicalein به آنزیم پروتئاز اصلی با پیوند هیدروژنی و برهمکنش های هیدروفوبی متصل می گردد. استخلاف های هیدروکسیل در کربن های موقعیت ۶ و ۷ حلقه فلاونوئید با آمینواسیدهای Phe140، Leu141، Ser144، Cys145 و Glu166 پیوند هیدروژنی تشکیل می دهند و این گروه های هیدروکسیل باعث افزایش میزان حلالیت این ترکیب می شوند و در صورت مصرف خوراکی برای انسان، جذب گوارشی مناسبی نشان می دهند. علاوه بر این، ترکیب Baicalein قادر به ایجاد برهمکنش $\pi-\pi$ است که این اتصال میان حلقه فنیل متصل به موقعیت ۲ حلقه فلاونوئید و حلقه ایمیدازول آمینواسید His41 ایجاد می گردد (شکل شماره 4c). گفتنی است که این حلقه فنیل باعث افزایش لیپوفیلیسیته ترکیب می شود و لیپوفیلیسیته ترکیب Baicalein (Logp برابر ۳/۱۶) می تواند روی برهمکنش های هیدروفوبی با پروتئاز اصلی تأثیر داشته باشد؛ همچنین حلقه فلاونوئیدی و فنیل ترکیب Baicalein با آمینواسیدهای Met49، Met165، His163، His164، His172 و Gln189 برهمکنش های هیدروفوبی تشکیل می دهد.

ترکیب Genistein به سبب داشتن بخش های هیدروفیل (استخلاف هیدروکسیل) و هیدروفوب (حلقه آروماتیک)، توانایی تشکیل پیوندهای هیدروژنی و برهمکنش های هیدروفوبی با آمینواسیدهای جایگاه فعال آنزیم را دارد و یک ترکیب تقریباً هیدروفیل با Logp برابر ۲/۶۷ است. مقدار لیپوفیلیسیته این ترکیب کمتر از لیپوفیلیسیته Baicalein است؛ بنابراین، میزان حلالیت این ترکیب بیشتر است و جذب گوارشی بهتری را نشان می دهد. این ترکیب قادر به تشکیل پیوند هیدروژنی توسط استخلاف های هیدروکسیل کربن های ۵ و ۷ و گروه کربونیل کربن ۴ حلقه فلاونوئید و استخلاف هیدروکسیل گروه فنول در موقعیت کربن ۳ حلقه

مولکولی و اثر ضدویروس کووید-۱۹ ترکیب Quercetin همبستگی خوبی با یکدیگر دارند و هر دو مقادیر مناسبی را نشان می دهند. این ترکیب در مقایسه با سایر آنالوگ های کوئرستینی و داروهای استاندارد، اثر ضدویروس و انرژی اتصال قوی تری را نشان می دهد. احتمالاً علت آن مربوط به هیدروفیلیسیته بالا (Logp برابر ۱/۵۴) و افزایش پیوندهای هیدروژنی این ترکیب از طریق استخلاف های هیدروکسیل با آمینو اسیدهای His41، Leu141، Gly143، Ser144، Cys145 و Gln189 است که باعث جهت گیری فضایی مناسب تر این ترکیب در جایگاه

فعال آنزیم می شود؛ همچنین این ترکیب کاندید شده با آمینو اسیدهای Met49، Met165، His172، His164 و Asp187 برهمکنش های هیدروفوبی برقرار می کند (شکل شماره 4f).

در بررسی نتایج به دست آمده مشخص شد، در مجموع، این ترکیبات کاندید شده فعالیت بیولوژیک، خواص فیزیکوشیمیایی و فعالیت مهاري خوب تا قوی را روی آنزیم پروتئاز اصلی کووید-۱۹ نشان می دهند که نتایج داکینگ هم این فعالیت ها را تأیید می کند. علاوه بر این، بررسی برهمکنش های داکینگ بیانگر آن است که



شکل شماره ۴. نمایش برهمکنش های مجموعه لیگاند پروتئین به صورت دوییدی. a. ریتوناویر؛ b. لویناویر؛ c. Baicalein؛ d. Genistein؛ e. Quercetin؛ f. Naringenin

برای کروناویروس بررسی شدند که نتایج بیانگر اتصال های قوی آمینواسیدهای His41 و Cys145 پروتئاز اصلی از طریق پیوند هیدروژنی و برهمکنش های هیدروفوب با ترکیبات بود (۳۱). در تحقیقی مشابه، عمرانی و همکاران (۲۰۲۱) اتصال مستحکم ترکیبات طبیعی با پروتئاز اصلی ویروس و مهار آن را نشان دادند (۴۲).

نتایج این مطالعه مشخص کرد که از میان آنالوگ‌های کوثرستین، ترکیبات Baicalein، Genistein، Naringenin و Quercetin به علت ویژگی‌های فارماکوکینتیکی مناسب و سمی نبودن، خواص بیولوژیک مطلوب و امتیاز داکینگ منفی و اتصالات قوی با آنزیم می‌توانند باعث مهار پروتئاز اصلی کووید-۱۹ شوند. هرچند انتظار می‌رود که با بررسی بیشتر و مطالعه دقیق‌تر این ترکیبات در شرایط *in vitro* و *in vivo* بتوان از این ترکیبات طبیعی به‌عنوان مهارکننده های بالقوه در مهار آنزیم پروتئاز اصلی و درمان کووید-۱۹ استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی با کد مصوب ۳۳۶۴ و کد اخلاق IR.SKUMS.REC.1399.117 از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد است. بدین‌وسیله از آن معاونت محترم و مرکز تحقیقات بیوشیمی بالینی، پژوهشکده علوم پایه سلامت دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد نهایت قدردانی به‌عمل می‌آید.

تعارض منافع

طبق نظر نویسندگان هیچ گونه تضاد منافی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

کد اخلاق: IR.SKUMS.REC.1399.117

References

1. Halim SA, Waqas M, Khan A, Al-Harrasi A. In silico prediction of novel inhibitors of SARS-

آمینواسیدهای Met49، Phe140، Ser144، Gly143، Met165، Leu141، Gln189 و به‌ویژه آمینواسیدهای کاتالیتیکی His41 و Cys145، نقش مهمی در برهمکنش آنالوگ‌های کوثرستین با آنزیم پروتئاز اصلی دارند.

در سال ۲۰۲۰، آرورا و همکاران اثر ۲۱ ترکیب فلاونوئید با استفاده از داکینگ مولکولی و بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی در مهار آنزیم پروتئاز اصلی را نشان دادند. نتایج نشان داد که ترکیب Rutin با بالاترین انرژی اتصال (۸/۷۰- کیلوکالری بر مول) با آمینواسیدهای سایت کاتالیزوری از قبیل Cys145، His41، Glu166، Met49، His163 و Leu141 برهمکنش‌های مؤثری دارد (۳۸). در تحقیق اوویس و همکاران (۲۰۲۰)، خاصیت ضدویروسی فلاونوئیدهای گیاه *Salvadora persica* روی آنزیم پروتئاز اصلی کووید-۱۹ با استفاده از داکینگ مولکولی بررسی شده است. نتایج مطالعه نشان داد که آمینواسیدهای Met165، Cys145، His41، Asn142، Gly143 و Leu141 نقش مهمی را در اتصال فلاونوئیدها به این پروتئین دارند (۳۹)؛ همچنین در سال ۲۰۲۰، چراک و همکاران به بررسی ترکیبات فلاونوئیدی گلیکوزیده شده به‌عنوان مهارکننده‌های پروتئاز اصلی پرداختند و اظهار داشتند که ترکیب Quercetin-3-O-rhamnoside با بالاترین انرژی اتصال (۹/۷۰- کیلوکالری بر مول) را دارد و با آمینواسیدهای کلیدی Leu141، Phe140، Thr26 و Gly143 پیوند هیدروژنی برقرار کرده است (۴۰). در سال ۲۰۲۱، داس و همکاران به بررسی مهارکننده‌های پروتئاز اصلی پرداختند و نتایج مطالعه آنان نشان داد که پروتئاز اصلی با آمینواسیدهای کاتالیتیکی His41 و Cys145 می‌تواند نقش امیدوارکننده‌ای برای طراحی، توسعه و پیشرفت داروهای کروناویروس داشته باشد (۴۱). علاوه بر این، در سال ۲۰۲۱، رهمان و همکاران به بررسی ترکیبات طبیعی روی پروتئاز اصلی با استفاده از روش های محاسباتی پرداختند. در این مطالعه، تعداد فراوانی از ترکیبات طبیعی

CoV-2 main protease through structure-based virtual screening and molecular dynamic

- simulation. *Pharmaceuticals* 2021;14:896. doi.org/10.3390/ph14090896
2. Kase Y, Okano H. Neurological pathogenesis of SARS-CoV-2 (COVID-19): from virological features to clinical symptoms. *Inflamm Regen* 2021;41:1-7. doi.org/10.1186/s41232-021-00165-8
 3. Rahbar-Karbasdehi E, Rahbar-Karbasdehi F. Clinical challenges of stress cardiomyopathy during coronavirus 2019 epidemic. *Cell Mol Biomed Rep* 2021;1: 88-90. doi.org/10.55705/cmbr.2021.145790.1018
 4. Fazelinasab B. Biological Evaluation Of Coronaviruses And The Study Of Molecular Docking, Linalool, And Thymol As Orf1ab Protein Inhibitors And The Role Of Sars-Cov-2 Virus In Bioterrorism. *J Ilam Uni Med Sci* 2021; 28:77-96. doi.org/10.29252/sjimu.28.6.77
 5. Guo Y-R, Cao Q-D, Hong Z-S, Tan Y-Y, Chen S-D, Jin H-J, et al. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak—an update on the status. *Mil Med Res* 2020;7:1-10. doi.org/10.1186/s40779-020-00240-0
 6. Zhou P, Yang X-L, Wang X-G, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* 2020;579:270-73. doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7
 7. Arbour N, Day R, Newcombe J, Talbot PJ. Neuroinvasion by human respiratory coronaviruses. *J Virol* 2000;74:8913-21. doi.org/10.1128/JVI.74.19.8913-8921.2000
 8. Van Der Hoek L, Pyrc K, Jebbink MF, Vermeulen-Oost W, Berkhout RJ, Wolthers KC, et al. Identification of a new human coronavirus. *Nat Med* 2004;10:368-73. doi.org/10.1038/nm1024
 9. Yang D, Leibowitz JL. The structure and functions of coronavirus genomic 3' and 5' ends. *Virus Res* 2015;206:120-33. doi.org/10.1016/j.virusres.2015.02.025
 10. Drosten C, Günther S, Preiser W, Van Der Werf S, Brodt H-R, Becker S, et al. Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med* 2003; 348:1967-76. doi.org/10.1056/NEJMoa030747
 11. Cui J, Li F, Shi Z-L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol* 2019;17:181-92. doi.org/10.1038/s41579-018-0118-9
 12. Zaki AM, Van Boheemen S, Bestebroer TM, Osterhaus AD, Fouchier RA. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *N Engl J Med* 2012;367:1814-20. doi.org/10.1056/NEJMoa1211721
 13. Yadav R, Chaudhary JK, Jain N, Chaudhary PK, Khanra S, Dhamija P, et al. Role of structural and non-structural proteins and therapeutic targets of SARS-CoV-2 for COVID-19. *Cells* 2021;10:821. doi.org/10.3390/cells10040821
 14. Chen W, Wang Z, Wang Y, Li Y. Natural bioactive molecules as potential agents against SARS-CoV-2. *Front Pharmacol* 2021;12. doi.org/10.3389/fphar.2021.702472
 15. Kumar A, Choudhir G, Shukla SK, Sharma M, Tyagi P, Bhushan A, et al. Identification of phytochemical inhibitors against main protease of COVID-19 using molecular modeling approaches. *J Biomol Struct Dyn* 2021;39:3760-70. doi.org/10.1080/07391102.2020.1772112
 16. Hussein R, Elkhair H. Molecular docking identification for the efficacy of some zinc complexes with chloroquine and hydroxy-chloroquine against main protease of COVID-19. *J Mol Struct* 2021;1231:129979. doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.129979
 17. Gyebe GA, Elfiky AA, Ogunyemi OM, Ibrahim IM, Adegunloye AP, Adebayo JO, et al. Structure-based virtual screening suggests inhibitors of 3-chymotrypsin-like protease of SARS-CoV-2 from *Vernonia amygdalina* and *Occinum gratissimum*. *Comput Biol Med* 2021;136:104671. doi.org/10.1016/j.compbio.2021.104671
 18. Fontanet A, Autran B, Lina B, Kieny MP, Karim SSA, Sridhar D. SARS-CoV-2 variants and ending the COVID-19 pandemic. *The Lancet* 2021;397:952-54. doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00370-6
 19. Volkan E. COVID-19: Structural considerations for virus pathogenesis, therapeutic strategies and vaccine design in the Novel SARS-CoV-2 Variants Era. *Mol Biotechnol* 2021;63:885-97. doi.org/10.1007/s12033-021-00353-4
 20. Dai W, Zhang B, Jiang X-M, Su H, Li J, Zhao Y, et al. Structure-based design of antiviral drug candidates targeting the SARS-CoV-2 main protease. *Science* 2020;368:1331-5. doi.org/10.1126/science.abb4489
 21. Zandi H, Harismah K. Computer-based tools for structural characterizations and activity specifications of natural products: a quick review. *Lab-in-Silico* 2021;2:50-54. doi.org/10.22034/labinsilico21021050
 22. Romano JD, Tatonetti NP. Informatics and computational methods in natural product drug discovery: a review and perspectives. *Front Genet* 2019;10:368. doi.org/10.3389/fgene.2019.00368
 23. Orhan IE, Senol Deniz FS. Natural products as potential leads against coronaviruses: could they be encouraging structural models against SARS-CoV-2? *Nat prod bioprospect* 2020;10:171-86. doi.org/10.1007/s13659-020-00250-4
 24. Pohl F, Kong Thoo Lin P. The potential use of plant natural products and plant extracts with antioxidant properties for the prevention/treatment of neurodegenerative diseases: in vitro, in vivo and clinical trials. *Molecules* 2018;23:3283. doi.org/10.3390/molecules23123283
 25. Jo S, Kim S, Shin DH, Kim M-S. Inhibition of SARS-CoV 3CL protease by flavonoids. *J Enzyme Inhib Med Chem* 2020;35:145-51. doi.org/10.1080/14756366.2019.1690480
 26. Rupasinghe H. Special Issue "flavonoids and their disease prevention and treatment potential": Recent advances and future perspectives. *Molecules* 2020;25:4746. doi.org/10.3390/molecules25204746
 27. Alzaabi MM, Hamdy R, Ashmawy NS, Hamoda AM, Alkhayat F, Khademi NN, et al. Flavonoids are promising safe therapy against COVID-19. *Phytochem Rev* 2021;1-22. doi.org/10.1007/s11101-021-09759-z
 28. Singh S, Sk MF, Sonawane A, Kar P, Sadhukhan S. Plant-derived natural polyphenols as potential

- antiviral drugs against SARS-CoV-2 via RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) inhibition: an in-silico analysis. *J Biomol Struct Dyn* 2021;39:6249-64. doi.org/10.1080/07391102.2020.1796810
29. Tallei TE, Tumilaar SG, Niode NJ, Kepel BJ, Idroes R, Effendi Y, et al. Potential of plant bioactive compounds as SARS-CoV-2 main protease (Mpro) and spike (S) glycoprotein inhibitors: a molecular docking study. *Scientifica* 2020;2020. doi.org/10.1155/2020/6307457. eCollection 2020
 30. Priyandoko D, Widowati W, Subangkit M, Jasaputra D, Wargasetia T, Sholihah I, et al. Molecular docking study of the potential relevance of the natural compounds isoflavone and myricetin to COVID-19. *Int J Bioautomation* 2021;25:271. doi.org/10.7546/ijba.2021.25.3.000796
 31. Rehman MT, AlAjmi MF, Hussain A. Natural compounds as inhibitors of SARS-CoV-2 main protease (3CLpro): A molecular docking and simulation approach to combat COVID-19. *Curr Pharm Des* 2021;27:3577-89. doi.org/10.2174/1381612826999201116195851
 32. Mouffouk C, Mouffouk S, Mouffouk S, Hambaba L, Haba H. Flavonols as potential antiviral drugs targeting SARS-CoV-2 proteases (3CLpro and PLpro), spike protein, RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) and angiotensin-converting enzyme II receptor (ACE2). *Eur J Pharmacol* 2021;891:173759. doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173759
 33. Alrasheid AA, Babiker MY, Awad TA. Evaluation of certain medicinal plants compounds as new potential inhibitors of novel corona virus (COVID-19) using molecular docking analysis. *In Silico Pharmacol* 2021;9:1-7. doi.org/10.1007/s40203-020-00073-8
 34. Lipinski CA. Drug-like properties and the causes of poor solubility and poor permeability. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2000; 44: 235-49. doi.org/10.1016/s1056-8719(00)00107-6
 35. Egan WJ, Merz KM, Baldwin JJ. Prediction of drug absorption using multivariate statistics. *J Med Chem* 2000;43:3867-77. doi.org/10.1021/jm000292e
 36. Goel RK, Singh D, Lagunin A, Poroikov V. PASS-assisted exploration of new therapeutic potential of natural products. *Med Chem Res* 2011;20:1509-14. doi.org/10.1007/s00044-010-9398-y
 37. Muegge I, Heald SL, Brittelli D. Simple selection criteria for drug-like chemical matter. *J Med Chem* 2001;44:1841-46. doi.org/10.1021/jm015507e
 38. Arora S, Lohiya G, Moharir K, Shah S, Yende S. Identification of potential flavonoid inhibitors of the SARS-CoV-2 main protease 6YNQ: a molecular docking study. *Digital Chin Med* 2020;3:239-48. doi.org/10.1016/j.dcm.2020.12.003
 39. Owis AI, El-Hawary MS, El Amir D, Aly OM, Abdelmohsen UR, Kamel MS. Molecular docking reveals the potential of *Salvadora persica* flavonoids to inhibit COVID-19 virus main protease. *RSC Adv* 2020;10:19570-75. doi.org/10.1039/D0RA03582C
 40. Cherrak SA, Merzouk H, Mokhtari-Soulmane N. Potential bioactive glycosylated flavonoids as SARS-CoV-2 main protease inhibitors: A molecular docking and simulation studies. *PLoS One* 2020;15:e0240653. doi.org/10.1371/journal.pone.0240653
 41. Das S, Sarmah S, Lyndem S, Singha Roy A. An investigation into the identification of potential inhibitors of SARS-CoV-2 main protease using molecular docking study. *J Biomol Struct Dyn* 2021;39:3347-57. doi.org/10.1080/07391102.2020.1763201
 42. Omrani M, Bayati M, Mehrbod P, Bardazard KA, Nejad-Ebrahimi S. Natural products as inhibitors of COVID-19 main protease—A virtual screening by molecular docking. *Pharm Sci* 2021;27(Covid-19):S135-48. doi.org/10.34172/PS.2021.1