



مکانیسم مولکولی مهار اتصال ویروس SARS-COV-2 به گیرنده میزبان توسط فلاونوئیدهای

ضدویروسی باواچینین، کرولیفول و لوتولین

سیدعلی هاشمی^{۱*}، سیده زهرا بطحائی^۲

۱- گروه علوم آزمایشگاهی- دانشکده پرستاری و مامایی- دانشگاه آزاد اسلامی واحد چالوس- چالوس- ایران.

۲- گروه بیوشیمی بالینی- دانشکده علوم پزشکی- دانشگاه تربیت مدرس- تهران- ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۶/۱۰، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۹/۰۸

چکیده

مقدمه: شیوع وسیع ویروس SARS-COV-2 در سرتاسر جهان منجر به پاندمی COVID-19 شده است. درک مکانیسم برهمکنش ویروس با گیرنده‌های میزبان کمک شایانی به توسعه داروها و استراتژی‌های درمانی مناسب می‌کند.

مواد و روش‌ها: در مطالعه حاضر، با استفاده از یک پروتکل استاندارد مرور سیستماتیک، مطالعات تجربی گزارش‌کننده اثرات ضدویروسی ترکیبات گیاهی علیه ویروس‌های خانواده کرونا در پایگاه‌های اطلاعاتی PubMed و Google Scholar جستجو شد. مقالات اصیل دارای معیارهای ورود به مطالعه انتخاب شد و جهت شناسایی ترکیبات گیاهی مورد بررسی قرار گرفت. سپس، برهمکنش این مواد با دومین اتصال به گیرنده (RBD) پروتئین اسپایک ویروس SARS-COV-2، با استفاده از تجزیه و تحلیل داکینگ مولکولی مورد بررسی قرار گرفت. سه ماده مؤثره که دارای مساعدترین قدرت پیوند با RBD بودند، انتخاب شدند و مکانیسم مولکولی برهمکنش آنها، با نرم‌افزارهای MOE، Pymol و Ligplot تجزیه و تحلیل شد.

نتایج: سه ماده مؤثره گیاهی باواچینین، کرولیفول و به ترتیب با مقادیر ΔG برابر با $-4/8$ ، $-1/8$ و $-7/6$ دارای بالاترین برهمکنش با RBD و مهار اتصال ویروس- میزبان در بین ۲۴ ماده مورد بررسی بودند. اتصال این لیگاند‌های گیاهی به RBD به واسطه موتیف اتصال‌ی گیرنده (RBM) و مشارکت تعدادی از آمینواسیدهای این موتیف به‌خصوص ریشه‌های Leu455، Gln493 و Asn501 صورت می‌گیرد.

نتیجه‌گیری: با در نظر داشتن اثرات ضدویروسی تجربی و برهمکنش مساعد باواچینین، کرولیفول و لوتولین با پروتئین اسپایک SARS-COV-2 مطالعه حاضر این مواد گیاهی را جهت انجام کارآزمایی‌های بالینی در بیماری COVID-19 پیشنهاد می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: سارس-کو-۲، تجزیه و تحلیل داکینگ مولکولی، آنتیویرال‌ها، پروتئین اسپایک، ترکیبات گیاهی.

*نویسنده مسئول: چالوس، خیابان ۱۷ شهرپور- دانشگاه آزاد اسلامی واحد چالوس- گروه علوم آزمایشگاهی، تلفن: ۰۲۱۶۶۸۵۷۴۷۰، نمابر: ۸۲۸۸۴۵۵۵

Email: Seyedali.hashemi@modares.ac.ir, sahashemi986@gmail.com

ارجاع: هاشمی سیدعلی، بطحائی سیده‌زهرا. مکانیسم مولکولی مهار اتصال ویروس SARS-COV-2 به گیرنده میزبان توسط فلاونوئیدهای ضدویروسی باواچینین، کرولیفول و لوتولین. مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی ۱۳۹۹؛ ۱۵(۳): ۱۹-۳۰.

مقدمه

ظهور ناگهانی و شیوع سریع ویروس جدید کرونا موسوم به SARS-CoV-2 در اوایل سال ۲۰۲۰ میلادی منجر به تحمیل آسیب‌های جدی بر سلامت و اقتصاد جهانی شده است (۳-۱). تنها در دو ماه ابتدایی شیوع این ویروس، میزان ابتلا، مرگومیر و آسیب‌های اقتصادی از مقادیر ثبت شده برای اپیدمی ناشی از ویروس‌های کرونا طی سال‌های ۲۰۰۳-۲۰۰۲ فراتر رفت (۴ و ۵). بررسی ژنوم SARS-CoV-2 حاکی از شباهت زیاد آن با کرونا ویروس‌های ایجادکننده سندرم حاد تنفسی (SARS-CoV) و کرونا ویروس‌های ایجادکننده سندرم تنفسی خاورمیانه‌ای (MERS-CoV) است که منشأ پاندمی‌های با مقیاس وسیع در دو دهه گذشته بوده‌اند (۶). تمامی این ویروس‌ها متعلق به جنس بتاکرونا ویروس‌ها بوده و از انواع RNA ویروس‌ها هستند (۶ و ۷). ویروس SARS-CoV-2 همانند SARS-CoV و MERS-CoV قادر به انتقال از انسان به انسان بوده و منجر به تب، بیماری شدید تنفسی و انواع ناشناخته بیماری‌های پنومونی می‌شود (۸ و ۹).

اتصال کرونا ویروس‌ها با گیرنده‌های اختصاصی در سطح سلول‌های میزبان یکی از مهمترین عوامل تعیین‌کننده میزان شیوع، آسیب‌شناسی و دامنه تنوع میزبان برای ویروس است (۱۰ و ۱۱). به‌علاوه، این گیرنده به‌عنوان یکی از مهمترین اهداف جهت توسعه داروهای ضدویروسی و واکسن‌ها حائز اهمیت است (۱۲ و ۱۳). بر اساس اطلاعات موجود، یکی از پروتئین‌های سطحی ویروسی موسوم به پروتئین تاجی (اسپایک)، ورود ویروس به درون سلول‌های میزبان انسان را وساطت می‌کند. این پروتئین دارای یک دومن اتصال-گیرنده (RBD) است که به‌صورت اختصاصی قادر به تشخیص آنزیم میدل-آنژیوتانسین ۲ (ACE2) به‌عنوان گیرنده ویروس کرونا شبه-سارس است (۱۴ و ۱۵). آنزیم ACE2، از انواع پروتئین‌های غشایی تیپ ۱ است که در اندام‌هایی نظیر ریه، قلب، کلیه‌ها و روده دارای بیان پروتئین بالایی است (۱۶). بر مبنای اطلاعات موجود، اندام‌ها و بافت‌های که دارای بیان بالا ACE2 هستند هدف عفونت با ویروس SARS-CoV-2 قرار می‌گیرند. افزایش بیان این پروتئین غشا منجر به تسریع ابتلا و گسترش شیوع ویروس‌های SARS-CoV می‌شود و از طرف دیگر مهار این پروتئین از ورود ویروس به درون سلول‌های هدف جلوگیری می‌کند (۱۶).

کشف داروهای جدید برای درمان COVID-19 از اهمیت بالایی برخوردار است. تاکنون استراتژی‌های متفاوتی جهت توسعه داروهای مؤثر برای درمان و جلوگیری از پیشرفت بیماری در مبتلایان به COVID-19 در سرتاسر جهان اتخاذ شده است (۲۰-۱۷). این

استراتژی‌های اغلب بر مبنای شباهت‌های ژنومی SARS-CoV-2 با SARS-CoV و MERS-CoV استوار شده است (۲۱). همچنین، استفاده از داروهای ضدویروسی که در درمان پاندمی‌های ناشی از انواع پیشین کرونا ویروس‌ها در دو دهه اخیر استفاده شده است، مبنای برخی از مطالعات و درمان‌های بالینی قرار گرفته است (۱۹ و ۲۱). پروتئین‌های ساختاری مختلفی در پوشش ویروس SARS-CoV-2 از جمله پروتئین اسپایک با استفاده از تکنیک‌های ساختار شناسی نظیر کریستالوگرافی اشعه ایکس مورد شناسایی قرار گرفته است (۲۲). دسترسی به چنین ساختارهایی، شناخت عمیق‌تری از برهمکنش مولکولی بین انواع ترکیبات مؤثر دارویی-ویروس را با استفاده از روش‌های نوین بیوانفورماتیک مولکولی فراهم آورده و مبنای مناسبی جهت بررسی پتانسیل درمانی این ترکیبات را علیه COVID-19 است. ترکیبات گیاهی از جمله مهمترین گروه از مواد طبیعی هستند که از طرفی به‌دلیل بروز خواص متنوع درمانی و از طرف دیگر عدم ایجاد مسمومیت در انسان در توسعه داروها علیه بسیاری از بیماری‌ها مورد استفاده قرار گرفته‌اند. مطالعات پیشین نشان می‌دهند، تعدادی از مواد مستخرج از گیاهان دارویی دارای خواص چشم‌گیر ضدویروسی علیه انواع متنوع ویروس‌ها از جمله کرونا ویروس‌ها هستند (۲۵-۲۳). اگرچه، جستجو در میان مواد طبیعی گیاهی برای کشف اثرات ضدویروسی علیه SARS-CoV-2، اخیر در برخی از مطالعات بیوانفورماتیک مورد هدف قرار گرفته است (۲۸-۲۶)، با اینحال در هیچ یک از این مطالعات اثرات ضدویروسی گزارش شده از نتایج آزمایش‌های تجربی مبنای انتخاب مواد فوق نبوده است. در مطالعه حاضر، با مروری جامع بر منابع علمی مرتبط، مواد گیاهی با خواص ضدویروسی علیه ویروس‌های خانواده کرونا مورد شناسایی قرار گرفت، سپس جهت بررسی پتانسیل ضدویروسی علیه SARS-CoV-2، جزئیات برهمکنش مولکولی این مواد با دومین RBD پروتئین سطحی اسپایک مورد تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیک قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مرور سیستماتیک بر اساس دستورالعمل توصیه‌ای موسوم به "آیتم‌های گزارشی ترجیحی برای مقالات مروری و متاآنالیزها (PRISMA)" انجام شد. مرور سیستماتیک منابع الکترونیک شامل PubMed و Google Scholar، جهت یافتن مقالات اصیل حاوی گزارش اثرات ضدویروسی ترکیبات گیاهی علیه خانواده ویروس کرونا، بدون محدودیت سال انتشار مقالات در تاریخ ۱۰ تیر ۱۳۹۹ انجام شد. ابتدا، واژگان مرتبط با مقالات هدف با استفاده از عملگرهای بولین و بر اساس جدول ۱ در پایگاه‌های الکترونیک جستجو شد. همچنین، مقالات بیشتر با جستجو فهرست منابع مقالات مروری به لیست

مکانیسم مولکولی برهمکنش و محل‌های اتصال لیگاندها، شامل انواع مختلف ترکیبات گیاهی با خواص ضدویروسی علیه خانواده کرونا با دومین RBD پروتئین اسپایک SARS-COV-2، با استفاده از پروتکل گزارش شده در مطالعات قبلی برای انجام داکینگ مولکولی، بررسی شد. به این منظور، ابتدا لیگاندها به روش ذیل آماده‌سازی شد: فایل PDB لیگاندها (ترکیبات گیاهی) وارد ADT شد. هیدروژن‌های قطبی اضافه شد و بار گاستریک محاسبه شد. ریشه‌های غیر منعطف، پیوندهای قابل چرخش و درخت‌واره تورژن تعیین شد. جهت آماده‌سازی ساختار کریستال پروتئین برای داکینگ مولکولی، ابتدا فایل PDB دومین RBD پروتئین اسپایک SARS-COV-2 از ساختار کریستالوگرافی شده کمپلکس RBD - ACEII (PDB ID: 6vw1) با استفاده از نرم‌افزار پایمول جداسازی شد و سپس در قالب PDB ذخیره‌سازی شد. سپس فایل PDB فوق وارد ابزار ADT شد. مولکول‌های آب از کریستال حذف شد، هیدروژن‌های قطبی اضافه شد و بار کولمن محاسبه شد. سپس، ساختارهای پروتئین و لیگاندهای آماده‌سازی شده در قالب PDBQT ذخیره شد. جعبه‌گرید با ابعاد ۱۰۰ × ۱۰۰ × ۱۰۰ نقطه و فضای گرید ۰/۳۷۵ Å تعیین شد و در فرآیند داکینگ تمامی لیگاندها مشترکا استفاده شد. فرمان اجرای داکینگ با استفاده از نرم‌افزار Command Prompt، تحت شدت ۱۰۰ صادر شد و داکینگ مولکولی تحت نرم‌افزار اتوداک وینا انجام شد. پس از انجام محاسبات، ۱۰ الی ۲۰ کانفورمر برهمکنش لیگاند-پروتئین برای هر یک از لیگاندها توسط نرم‌افزار پیشنهاد و بر اساس میزان انرژی پیوند (kcal/mol) رده‌بندی شد. سپس، کانفورمرهایی که دارای مناسب‌ترین برهمکنش با پروتئین بودند، جهت مصورسازی برهمکنش و محل اتصال لیگاند، تعیین ریشه‌های آمینو اسید و نوع پیوندهای مشارکت‌کننده در برهمکنش پروتئین-لیگاند، با استفاده از نرم‌افزار MOE مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. به‌علاوه، جهت تعیین موقعیت فضایی اتصال لیگاندها نسبت به قلمرو برهمکنش RBD و ACEII، کمپلکس کانفورمرهای مختلف RBD - ACEII تهیه شده و با کمپلکس RBD - ACEII همپوشانی فضایی و مقایسه شد.

مطالعات اضافه گردید. پس از حذف یافته‌های تکراری، چکیده‌ها و عناوین مطالعات جهت یافتن مقالات مرتبط بررسی شد و مقالات مروری، کنفرانسی، متاآنالیز و آنالیز بیوانفورماتیک حذف شد. سپس، مطالعه متون مقالات جهت یافتن موارد دارای معیارهای ورود به مطالعه انجام شد و مقالات فاقد معیارهای ورود به مطالعه و همچنین مقالات دارای معیارهای خروج از مطالعه حذف شد. پس از مطالعه مقالات انتخاب شده، ترکیبات گیاهی که دارای اثرات ضدویروسی علیه ویروس‌های خانواده کرونا بودند شناسایی شد و جهت تجزیه و تحلیل‌های بیوانفورماتیک مورد استفاده قرار گرفت. معیارهای ورود به مطالعه حاضر شامل استفاده از ترکیبات گیاهی تخلیص شده، بررسی اثرات ضدویروسی با استفاده از آزمایشات تجربی و مطالعه اثرات بر ویروس‌های خانواده کرونا بود. معیارهای خروج از مطالعه شامل استفاده از عصاره گیاهی به جای مواد مؤثره تخلیص شده، عدم استفاده از ارزیابی‌های آزمایشگاهی مناسب جهت بررسی اثرات ضدویروسی و عدم استفاده از ویروس‌های خانواده کرونا در مطالعه بود.

بانک اطلاعات پروتئین (PDB)، به نشانی الکترونیک <https://www.rcsb.org/> جهت استخراج ساختار کریستال اشعه ایکس دومین اتصال گیرنده (RBD) پروتئین اسپایک SARS-COV-2 (PDB ID: 6vw1)، مورد استفاده قرار گرفت. ساختار سه بعدی ترکیبات گیاهی استفاده شده در مطالعه حاضر در قالب الکترونیک SDF از پایگاه ساختارهای شیمیایی PubChem به نشانی الکترونیک <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> تهیه شد و سپس با استفاده از نرم‌افزار پایمول (نسخه ۱-۳-۲) در قالب الکترونیک PDB ذخیره‌سازی شد.

نرم‌افزار اتوداک وینا (نسخه ۱-۲-۱) (۲۹) جهت انجام تجزیه و تحلیل داکینگ مولکولی استفاده شد. ابزار اتوداک (ADT) جهت آماده‌سازی ساختار لیگاندها و پروتئین برای انجام داکینگ مولکولی مورد استفاده قرار گرفت. نرم‌افزار موسوم به محیط عمل مولکولی (MOE) (نسخه ۱۰-۲۰۱۵) جهت مصورسازی برهمکنش لیگاندها با پروتئین در دیاگرام‌های ریون و فضا-پرکن و همچنین تعیین ریشه‌های آمینو اسید برهمکنش‌کننده با لیگاندها و نوع نیروهای برهمکنش‌کننده استفاده شد.

جدول ۱- روش جستجو منابع اطلاعاتی جهت یافتن ترکیبات گیاهی با خواص ضدویروسی علیه ویروس‌های خانواده کرونا

منابع اطلاعاتی	واژگان جستجو	جستجو
Scholar	SARS OR COVID-19 OR "SARS-Cov- 2" OR "2019-nCoV" OR "2019 novel coronavirus" OR "Severe acute respiratory syndrome-coronavirus-2" OR "Coronavirus disease 2019" AND "antiviral"	۱
Scholar	antiviral plant OR herb "compound "	۲
Scholar	antiviral plant OR herb "agent"	۳
Scholar	antiviral plant OR herb -extracts -extract	۴

PubMed	SARS OR COVID-19 OR "SARS-Cov- 2" OR "2019-nCoV" OR "2019 novel coronavirus" OR "Severe acute respiratory syndrome-coronavirus-2" OR "Coronavirus disease 2019" AND "antiviral"	In title: 5
PubMed	antiviral plant OR herb -extracts -extract	In title: 6

نتایج

شکل ۱ یافته‌های مرور سیستماتیک انجام شده در مطالعه حاضر در ارتباط با اثرات ضدویروسی ترکیبات گیاهی بر علیه ویروس‌های خانواده کرونا را نشان می‌دهد. بر اساس این شکل، جستجو مقالات در دو پایگاه داده PubMed و Google Scholar (۵۸۱ یافته) و بررسی فهرست منابع مقالات یافت شده (۲۳ یافته) در مجموع به یافتن ۶۰۴ مطالعه منجر شد. پس از حذف یافته‌های تکراری (۶۷ یافته)، عناوین و خلاصه مقالات ۵۳۷ مطالعه از نظر قالب مطالعه مورد بررسی قرار گرفت. از این میان ۲۶۴ یافته شامل مقالات مروری، کنفرانسی، کامنت و تجزیه و تحلیل‌های بیوانفورماتیک کنار گذاشته شد. سپس، معیارهای ورود به مطالعه حاضر با بررسی متن کامل مقالات اصیل (۲۷۳ یافته) مورد بررسی قرار گرفت. در این بررسی ۲۵۶ مطالعه به علت عدم دارا بودن معیارهای ورود به مطالعه و یا داشتن معیارهای خروج از مطالعه از فرآیند مطالعه حذف شدند و نهایتاً ۱۷ مطالعه واجد معیارهای ورود به مطالعه انتخاب شد و جهت شناسایی ترکیبات گیاهی مورد استفاده قرار گرفت.

جدول ۲ حاوی اطلاعات استخراج شده از ۱۷ مقاله اصیل انتخاب شده در مطالعه حاضر است. تعداد ۲۴ ماده مؤثره گیاهی با خواص ضدویروسی علیه ویروس‌های مختلف خانواده کرونا در مقالات فوق شناسایی شد. در این جدول اطلاعات مرتبط با نام ماده مؤثره، گونه گیاهی حاوی ماده مؤثره، نوع ویروس هدف و همچنین، تکنیک بررسی آزمایشگاهی برای سنجش اثرات ضدویروسی ماده مؤثره گیاهی بر ویروس هدف ذکر شده است.

شکل ۳ نتایج داکینگ مولکولی دومین RBD پروتئین اسپایک SAR-COV-2 با ۳ ماده مؤثره گیاهی مختلف را نشان می‌دهد. این مواد شامل؛ باواچینین، کرویلیفول و لوتولین است (شکل ۲).

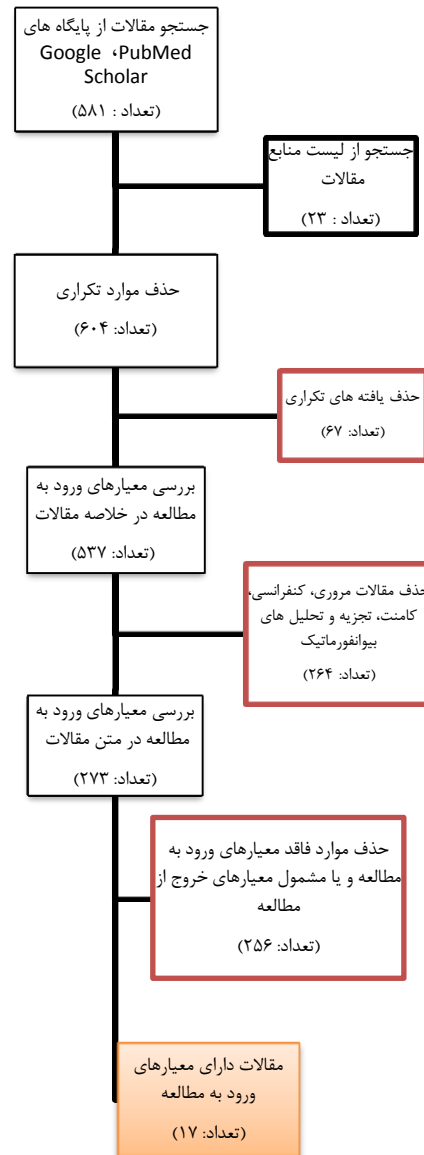
بر اساس داده‌های انرژی اتصال (ΔG)، این سه ماده بین ۲۴ ماده مؤثره گیاهی مورد بررسی، دارای قوی‌ترین برهمکنش با دومین RBD پروتئین اسپایک SAR-COV-2 هستند. میزان ΔG کمپلکس‌های RBD با باواچینین، کرویلیفول و لوتولین به ترتیب برابر با $-۸/۴$ ، $-۸/۱$ و $-۷/۶$ است. تعداد کانفورمرهای ارایه شده که دارای انرژی پیوند مساعد (>۲ kcal/mol) برای هر سه ترکیب گیاهی فوق برابر با ۲۰ بود.

اشکال الف، د و ز) نمایش روبان بر همکنش بین لیگندهای مختلف و پروتئین را نشان می‌دهند. در این اشکال مولکول‌های لیگاند به صورت خطوط قرمز و پروتئین به صورت روبان سبز نمایش داده شده است. همپوشانی کمپلکس‌های ترکیبات گیاهی - RBD با کمپلکس RBD - ACEII جهت درک موقعیت فضایی اتصال ترکیبات گیاهی به RBD، در اشکال ب، ه و ح) نمایش داده شده است. در این اشکال لیگاندها و ACEII به صورت اشکال فضا پرکن به ترتیب به رنگ‌های قرمز و آبی نشان داده شده است. اشکال ج، و و ط) نمایشگر ریشه‌های آمینو اسید و نیروهای پیوند مشارکت‌کننده در برهمکنش RBD و لیگاندهای است. نمایش لیگاندها در این اشکال با الگوی خطی و به رنگ سیاه و یا قرمز است. آمینواسیدها به شکل دایره‌هایی حاوی سمبل سه حرفی دیده می‌شود. آمینو اسیدهای قطبی و غیرقطبی به ترتیب دارای رنگ‌های صورتی و سبز هستند. حلقه‌های قرمز و آبی پیرامون آمینواسیدهای قطبی نشان‌دهنده به ترتیب انواع اسیدی و بازی آمینواسیدهای قطبی است. جهت‌گیری آمینواسیدها و لیگاندها به فضای خارج از محیط برهمکنش لیگاند-پروتئین به ترتیب به صورت سایه آبی و بنفش نشان داده شده است. خطوط نقطه چین سیاه نشان‌دهنده برهمکنش لیگاند با حلال است. نقطه چین‌های سبز نشان‌دهنده برهمکنش زنجیره‌های جانبی آمینو اسید با لیگاند است. حلقه‌های آروماتیک سبز بر روی خطوط نقطه چین نشان‌دهنده پیوند قطبی-قطبی بین حلقه آروماتیک زنجیره جانبی اسید آمینه و لیگاند است.

شکل ۳- الف) نشان می‌دهد، اتصال باواچینین با RBD به واسطه برهمکنش با قسمتی از لوپ مرتبط با موتیف -اتصال- (گیرنده RBM) صورت می‌گیرد. بر اساس شکل ۲- ب)، RBM دارای نقش مرکزی در برهمکنش RBD و ACEII است و اتصال باواچینین به RBM منجر به ایجاد ممانعت فضایی برای اتصال RBM و ACEII است. شکل ۲- ج) نشان می‌دهد که اتصال باواچینین با RBM در جایگاهی متشکل از ۹ آمینو اسید قطبی و ۲ آمینواسید غیرقطبی صورت می‌گیرد. آمینواسیدهای قطبی پیرامون لیگاند شامل؛ Lys417، Glu406، Arg403، Tyr453، Tyr505، Asn501، Tyr495، Ser494 و Gly496 و آمینواسیدهای غیرقطبی شامل؛ Phe497 و Leu455 است. به علاوه، نوع پیوندهای شیمیایی بین ریشه‌های اسیدهای آمینه مشارکت‌کننده در پیوند با لیگاندهای گیاهی شامل انواع هیدروژنی و واندروالس در شکل ۴ نمایش داده شده است. در این اشکال باواچینین الف)، کرویلیفول ب) و لوتولین ج)، به صورت اشکال خطی بنفش

با اتم‌های اکسیژن در حلقه هتروسیکلیک دوم و اتم خارج از حلقه به پایداری برهمکنش باواچینین کمک می‌کنند. همچنین، پنج آمینواسید، Tyr495، Tyr453، Glu406، Lys417 و Leu455 دارای برهمکنش‌های واندروالس با باواچینین هستند.

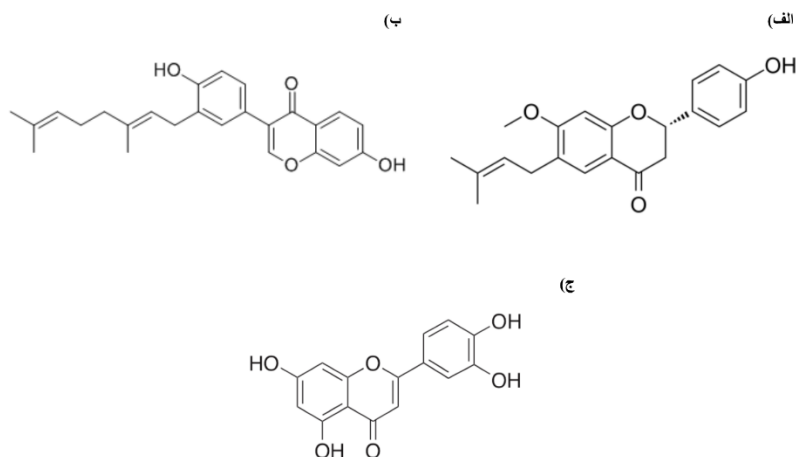
نمایش داده شده است. ریشه‌های دارای پیوند هیدروژنی به صورت اشکال خطی زرد و پیوند هیدروژنی به صورت خط چین‌های سیاه دیده می‌شود. ریشه‌های اسید آمینه مشارکت‌کننده در پیوندهای واندروالس به صورت سمبل سه حرفی و پیوندهای واندروالس به صورت نیم دایره‌های قرمز نشان داده شده است. بر اساس شکل ۴- الف)، سه اسید آمینه Asp501، Gly496 و Arg403 با ایجاد پیوند هیدروژنی



شکل ۱- پروتکل و یافته‌های حاصل از مرور سیستماتیک پایگاه‌های اطلاعاتی در ارتباط با ترکیبات گیاهی دارای خواص ضدویروسی علیه ویروس‌های خانواده کرونا

جدول ۲- ترکیبات گیاهی دارای اثرات ضدویروسی بر ویروس‌های خانواده کرونا

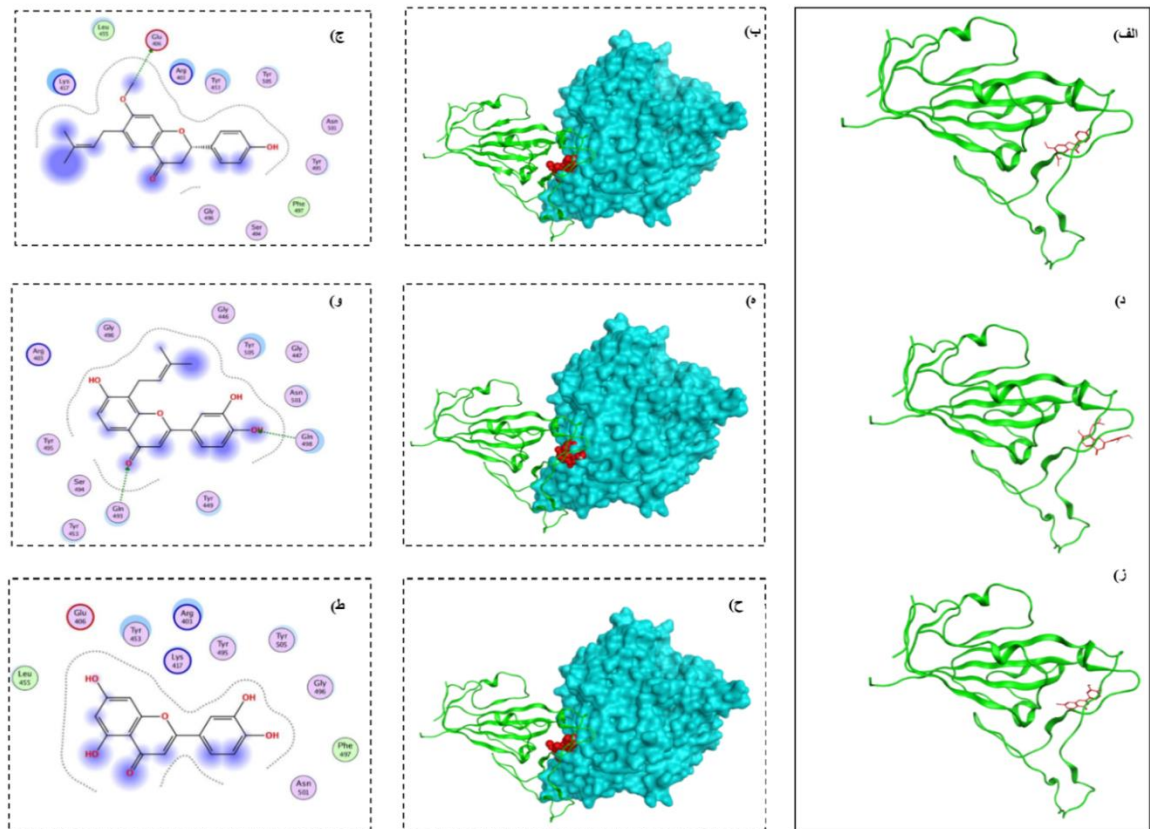
منبع	تکنیک بررسی	گونه گیاهی	ویروس هدف	ماده مؤثره گیاهی
(۳۰)	Viral replication	Aesculus hippocastanum	SARS-CoV	Aesine
(۳۱)	In vitro enzyme activity	Proralea Corylifolia L.	SARS-CoV	Bavachinin
(۲۴)	In vitro enzyme activity	Broussonetia papyrifera	CoV cysteine proteases	Brousochalcone A
(۳۱)	In vitro enzyme activity	Psoralea corylifolia	SARS-CoV	Corylifol
(۳۲)	Vero E6 cell viability assay	Curcuma longa L.	SARS-CoV	Curcumin
(۳۲)	Vero E6 cell viability assay	Curcuma longa L.	SARS-CoV	Demethoxycurcumin
(۳۳)	Viral replication	Ecklonia cava	Porcine epidemic diarrhea CoV	Dieckol
(۳۴)	Virus- host interaction	Rheum officinale Baill., Polygonum multiflorumThunb.	SARS-CoV	Ementin
(۳۵)	Nucleocapsid protein synthesis	Camellia sinensis	SARS-COV	Epicatechingallate
(۲۴)	In vitro enzyme activity	Broussonetia papyrifera	CoV cysteine proteases	Kazinol A
(۳۶)	cell viability assay	Reseda luteola	SARS-CoV	Luteolin
(۳۷)	In vitro Cell viability assay	Lycoris radiata	HCoV-OC43, MERS-CoV	Lycorine
(۳۸)	Viral replication	Aglaia perviridis	SARS-CoV	Myricetin
(۳۱)	In vitro enzyme activity	Psoralea corylifolia	SARS-CoV	Psoralidin
(۳۰)	Viral replication	Lonicera japonica	SARS-CoV	Reserpine
(۳۸)	Viral replication	Aglaia perviridis	SARS-CoV	Scutellarein
(۳۹)	mRNA translation	Aglaia foveolata Pannell	HCoV-229E	Silvestrol
(۴۰)	Viral Enzyme activity	Paulownia tomentosa	SARS-CoV	Tomentin
(۴۱)	Apoptosis and cytopathic effect in ST cells	Tylophora indica	Enteropathogenic (TGEV) coronavirus	Tylophorine
(۲۳)	Cell free and cell-dependent cleavage activity	Vitis vinifera	MERS-CoV	Resveratrol
(۴۲)	Viral cleavage activity	Isatis indigotica	SARS-CoV	Sinigrin
(۴۲)	Viral cleavage activity	Isatis indigotica	SARS-CoV	Hesperetin
(۴۳)	Viral replication	Camellia japonica	PEDV-Coronavirus	Oleanane
(۴۴)	Viral replication	Glycyrrhiza glabra	SARS-CoV	Glycyrrhizin



شکل ۲- ترکیبات گیاهی منتخب. (الف) باواچینین، (ب) کرویلیفول و (ج) لوتولین

جدول ۳- انرژی پیوند و اسیدهای آمینه مشارکت کننده در اتصال لیگاندها با دومین پروتئین تاجی SARS-COV-2

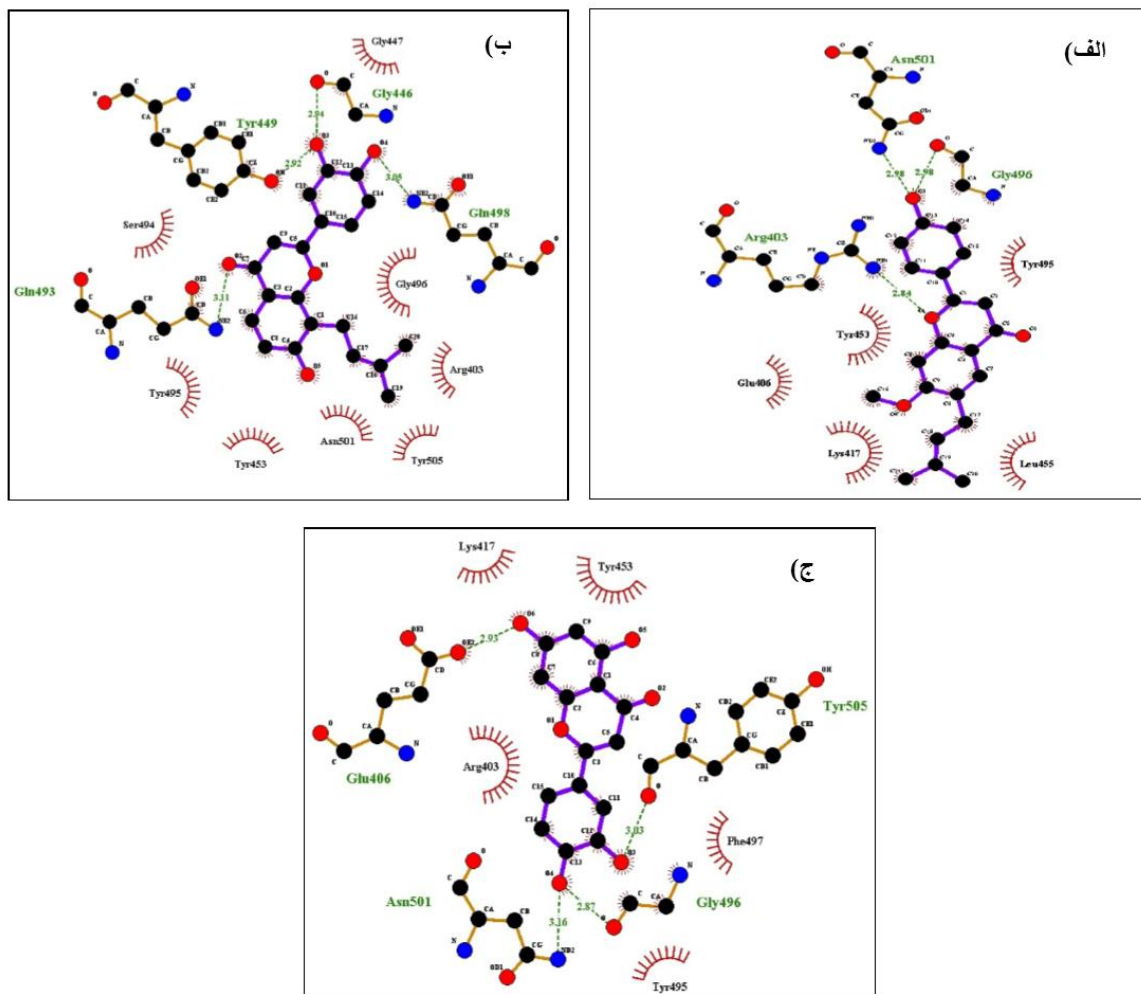
ΔG (kcal/mol)	اسیدهای آمینه مشارکت کننده در برهمکنش های هیدروفوب	اسیدهای آمینه مشارکت کننده در پیوند هیدروژنی	لیگاند
-۸/۴	Tyr495, Tyr453, Lys417, Glu406, Leu455,	Asp501, Gly496, Arg403	باواچنین
-۸/۱	Tyr495, Tyr453, Arg403, Gly447, Gly496, Tyr505, Asp501, Ser494	Gln493, Tyr449, Gly446, Gln498	کرویلیفول
-۷/۶	Tyr495, Tyr453, Arg403, Lys417, Phe497	Asp501, Gly496, Glu406, Tyr505	لوتولین



شکل ۳- نتایج داکینگ مولکولی ترکیبات گیاهی منتخب با دومین اتصال گیرنده (RBD) پروتئین اسپایک SARS-COV-2

و آبی پیرامون آمینواسیدهای قطبی نشان دهنده به ترتیب انواع اسیدی و بازی آمینواسیدهای قطبی است. جهت گیری آمینواسیدها و لیگاندها به فضای خارج از محیط برهمکنش لیگاند- پروتئین به ترتیب به صورت سایه آبی و بنفش نشان داده شده است. خطوط نقطه چین سیاه نشان دهنده برهمکنش لیگاند با حلال است. نقطه چین های سبز نشان دهنده برهمکنش زنجیره های جانبی آمینو اسید با لیگاند است. حلقه های آروماتیک سبز بر روی خطوط نقطه چین نشانه پیوند قطبی- قطبی بین حلقه آروماتیک زنجیره جانبی اسید آمینه و لیگاند است.

در شکل ۳ محل اتصال باواچنین، کرویلیفول و لوتولین در مدل نمایش روبانی (به ترتیب در قسمت های الف، د) و (ز)، در نمایش همپوشانی فضا- پرکن با ACEII (به ترتیب در قسمت های د، ه) و (واو) و دیاگرام دو بعدی ریشه های اسید آمینه مشارکت کننده در برهمکنش لیگاند- پروتئین (به ترتیب در قسمت های ز، ح) و (ط) نشان داده شده است. دومین RBD، لیگاند گیاهی و ACEII به ترتیب به صورت روبان سبز، ساختار خطی یا فضا-پرکن قرمز و ساختار فضا-پرکن آبی نشان داده شده است. آمینو اسیدها به شکل دایره هایی حاوی سمبل سه حرفی دیده می شود. آمینو اسیدهای قطبی و غیر قطبی به ترتیب دارای رنگ های صورتی و سبز هستند. حلقه های قرمز



شکل ۴- دیاگرام لیگ پلات نوع پیوندهای شیمیایی بین ریشه‌های اسیدهای آمینه مشارکت‌کننده در پیوند با لیگاندهای گیاهی

است. بر اساس این شکل، بخشی از پایداری مولکول لیگاند در ساختمان پروتئین به‌واسطه برهمکنش با حلال آبی صورت می‌گیرد. شکل ۴-ب، نشان می‌دهد که پایداری کرویلیفول در ساختمان RBD به واسطه سه پیوند هیدروژنی بین اتم‌های اکسیژن حلقه اول با اسیدهای آمینه Gly446, Gln498 و Tyr449 و همچنین یک پیوند هیدروژنی بین اکسیژن خارج-حلقه نفتولی و نیتروژن گروه آمیدو Gln493 صورت می‌گیرد. به‌علاوه، ۸ آمینو اسید باقی مانده در محیط پیرامون لیگاند با برقراری پیوندهای واندروالس و غیرقطبی در استحکام کمپلکس لیگاند- پروتئین نقش بازی می‌کنند.

بر اساس شکل ۳-ز) اتصال لوتولین به RBD دارای شباهت زیادی با باواچینین است؛ به‌طوری که استقرار لیگاند با کمک قسمت‌هایی از لوپ داخلی و آلفاهلیکس موتیف RBM صورت می‌گیرد. مصورسازی فضا- پرکن لیگاند در شکل ۳-ح) نیز نشان

در شکل ۴ باواچینین (الف)، کرویلیفول (ب) و لوتولین (ج): اشکال خطی بنفش، ریشه‌های دارای پیوند هیدروژنی؛ اشکال خطی زرد، پیوندهای هیدروژنی؛ خط‌چین‌های سبز دیده می‌شود. ریشه‌های اسید آمینه مشارکت‌کننده در پیوندهای واندروالس: سمبل سه حرفی سیاه، پیوندهای واندروالس: نیم دایره‌های قرمز.

شکل ۳-د) نشان می‌دهد اتصال کرویلیفول به RBD، در جایگاهی نزدیک به جایگاه اتصال باواچینین، و با مشارکت دو لوپ از موتیف RBM صورت می‌گیرد. این اتصال بر اساس شکل ۳.ه) منجر به مانع فضایی چشم‌گیر جهت برهمکنش RBD و ACE2 می‌شود. نمایش برهمکنش ریشه‌های اسید آمینه تشکیل دهنده محیط پیرامون کرویلیفول حاکی از حضور ۱۲ آمینواسید قطبی است که شامل: Tyr495, Asn501, Tyr505, Tyr453, Arg403, Gln493, Tyr449 و Ser494, Gly446, Gly447, Gly496 و

ریشه‌ها حضور سه ریشه Leu455، Gln493 و Asn501 حائز اهمیت است. در همین راستا، مطالعات پیشین کریستالوگرافی پروتئین اسپایک ویروس (SARS-COV 15 و SARS-COV ۴۵ و ۱۴) SARS-COV-2 (۴۶) نشان می‌دهد، هر دو ویروس گیرنده مشابه ACEII را در انسان مورد شناسایی قرار می‌دهند. در مقایسه با SARS-COV RBD، نواحی اتصالال گیرنده در SARS-COV-2 RBD، دارای کانفورماسیون متراکم‌تری است؛ به‌علاوه، تغییر چندین ریشه آمینواسید مهم RBD در ویروس SARS-COV-2 باعث مستحکم‌تر شدن اتصال دو هات اسپات اتصال-ویروس ACEII با موتیف RBM در محل رویارویی اسپات اتصال RBD-ACEII شده است (۴۶). از جمله مهمترین ریشه‌های تغییر یافته در ویروس SARS-COV-2 نسبت به نوع هومولوگ SARS-COV شامل Leu455، Gln493 و Asn501 است. جایگزینی Leu455 با Tyr442، منجر به پوشش کمتر Lys31 در ACEII شده و در نتیجه با القای تغییر ساختاری در هات اسپات ۳۱ به دلیل شکستن پل نمکی Lys31- Glu35 می‌شود. شکست پل نمکی فوق با تشکیل پیوند هیدروژنی بین این دو ریشه اسید آمینه از ACEII با ریشه Gln493 از RBM در SARS-COV-2 می‌شود. همچنین، به علت ایجاد پیوند هیدروژنی بین ریشه جانبی Asn501 و زنجیره اصلی RBM در محل رویارویی RBM-SARS-CoV-2، این ریشه در RBD مستحکم شده و تمایلی به برهمکنش با هات اسپات ۳۵۳ گیرنده نشان نمی‌دهد؛ تغییرات فوق با افزایش برهمکنش بین ACEII و RBD همراه است. به‌علاوه، شواهد بیوشیمیایی به‌دست آمده از آزمایشات ایجاد موتاسیون در ریشه‌های Gln493 (گلوتامین به اسپارژین و گلوتامین به تیروزین) و Asn501 (اسپارژین به ترئونین) در SARS-COV-2 RBD حاکی از کاهش تمایل اتصالال ویروس به گیرنده بود (۴۶).

باواچینین یک فلاوونوئید موجود در دانه‌های گیاه *Proralea Corylifolia L* است. این گیاه به‌صورت سنتی برای درمان کمر درد، بیماری‌های دیورتیک، التهابی و پوستی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۴۷). $38/4 \pm 2/4$ نتایج مطالعه کیم و همکاران نشان داد، باواچینین اثر مهاری قوی بر فعالیت آنزیم پروتئاز شبه-پاپائین ویروس SARS-COV دارد به‌طوری که مهار ۵۰ درصدی فعالیت آنزیم (IC50) در غلظت $4/2 \pm 4/38 \mu\text{M}$ از باواچینین رخ می‌دهد (۳۱). همچنین، نتایج مطالعه پیشین، اثرات مفید نانوذرات حاوی باواچینین در درمان آسم در یک مدل حیوانی را نشان داد (۴۸). نتایج برخی مطالعات نشان می‌دهد که اثرات ضدآسم مشاهده شده برای باواچینین به‌واسطه اثرات ضدالتهابی این ماده به‌خصوص در مهار تولید سلول‌های T کمکی ایجادکننده پاسخ التهابی (Th2) است (۴۹ و ۵۰). کربلیفول، یکی دیگر از فلاوونوئیدهای موجود در دانه‌های گیاه *Proralea Corylifolia L*

می‌دهد، ممانعت فضایی ناشی از لوتولین برای اتصال RBD و ACEII مشابه باواچینین است به‌طوری که باعث جلوگیری از اتصال RBD به نواحی از ACEII به نام هات اسپات می‌شود. نمایش شماتیک ریشه‌های اسیدهای آمینه فضا-دربگیرنده لوتولین در ساختار پروتئین RBD حاکی از حضور ۷ آمینو اسید قطبی شامل یک ریشه اسیدی (Glu406)، دو ریشه بازی (Arg403 و Lys417) و چهار ریشه قطبی غیرباردار (Tyr453، Tyr495، Tyr505، Gly496 و Asn405) است. دو آمینو اسید غیر قطبی شامل Phe497 و Leu455 است. به‌علاوه، داده‌های شکل ۴-ج، نشان می‌دهد اتصال لوتولین به پروتئین به‌واسطه ایجاد پیوند هیدروژنی بین دو اتم اکسیژن اورتو حلقه اول با Tyr505، Gly496 و Asn501 و همچنین پیوند هیدروژنی بین گروه کربوکسیل Glu406 و اتم اکسیژن حلقه سوم لیگاند صورت می‌گیرد. به‌علاوه، Lys417، Tyr453، Arg403، Phe497 و Tyr495 با ایجاد برهمکنش‌های واندروالس به پایداری کمپلکس لوتولین-RBD کمک می‌کنند.

جدول ۳ انرژی پیوند و اسیدهای آمینه مشترک در اتصال لیگاندهای مختلف با دومین RBD پروتئین اسپایک SARS-COV-2 را نشان می‌دهد. نمایش اسیدهای آمینه در استایل‌های برجسته و ایتالیک، به‌ترتیب به معنی اسیدهای آمینه مشابه و غیرمشابه مشارکت‌کننده در اتصال لیگاندها با RBD است. بر اساس این جدول، اسیدهای آمینه Tyr495، Tyr453، Lys417 و Arg403 با مشارکت در ایجاد پیوندهای واندروالس در اتصال هر سه لیگاند گیاهی با RBD مشارکت دارند. همچنین، دو اسید آمینه Asp501 و Gly496 با مشارکت در تشکیل پیوندهای هیدروژنی در اتصال باواچینین و لوتولین مشارکت می‌کنند.

نمایش اسیدهای آمینه در استایل‌های برجسته و ایتالیک، به‌ترتیب به معنی اسیدهای آمینه مشابه و غیرمشابه مشارکت‌کننده در اتصال لیگاندها با RBD است.

بحث

یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد، سه ماده مؤثره گیاهی باواچینین، کربلیفول و لوتولین، اولاً با انرژی پیوند مساعد قادر به اتصال به دومین اتصال به گیرنده پروتئین اسپایک SARS-COV-2 هستند و ثانیاً جایگاه اتصال این مواد در موتیف اتصال به گیرنده RBD قرار دارد و لذا قادر به ایجاد ممانعت فضایی در اتصال پروتئین اسپایک به گیرنده ACEII هستند.

نتایج تجزیه و تحلیل‌های بیوانفورماتیکی مطالعه حاضر نشان داد که ریشه‌های اسید آمینه متعددی در موتیف RBM با ترکیبات گیاهی مطالعه شده در تحقیق حاضر برهمکنش ایجاد می‌کنند. از میان این

- England Journal of Medicine 2003;348:1986-94. doi: 10.1056/NEJMoa030685
5. Qiu W, Chu C, Mao A, Wu J. The impacts on health, society, and economy of SARS and H7N9 outbreaks in China: a case comparison study. Journal of environmental and public health 2018;2018. doi: 10.1155/2018/2710185
 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;579:270-3. doi: 10.1038/s41586-020-2012-7
 7. Wu F, Zhao S, Yu B, Chen Y-M, Wang W, Song Z-G, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. Nature 2020; 579:265-9. doi: 10.1038/s41586-020-2008-3
 8. Chan JF-W, Yuan S, Kok K-H, To KK-W, Chu H, Yang J, et al. A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. The Lancet 2020;395:514-23. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30154-9
 9. Li Q, Guan X, Wu P, Wang X, Zhou L, Tong Y, et al. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia. New England Journal of Medicine 2020. doi:10.1056/NEJMoa2001316
 10. Li F. Receptor recognition mechanisms of coronaviruses: a decade of structural studies. Journal of virology 2015;89:1954-64. doi: 10.1128/JVI.02615-14
 11. Li W, Wong S-K, Li F, Kuhn JH, Huang I-C, Choe H, et al. Animal origins of the severe acute respiratory syndrome coronavirus: insight from ACE2-S-protein interactions. Journal of virology 2006;80:4211-9. doi: 10.1128/JVI.80.9.4211-4219.2006
 12. Du L, He Y, Zhou Y, Liu S, Zheng B-J, Jiang S. The spike protein of SARS-CoV—a target for vaccine and therapeutic development. Nature Reviews Microbiology 2009;7:226-36. doi: 10.1038/nrmicro2090
 13. Du L, Yang Y, Zhou Y, Lu L, Li F, Jiang S. MERS-CoV spike protein: a key target for antivirals. Expert opinion on therapeutic targets 2017;21:131-43. doi: 10.1080/14728222.2017.1271415
 14. Li F, Shang J, Ye G, Shi K, Wan Y, Luo C, et al. Structural basis for receptor recognition by the novel coronavirus from Wuhan. 2020. doi: 10.21203/rs.2.24749/v1
 15. Li W, Moore MJ, Vasilieva N, Sui J, Wong SK, Berne MA, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. Nature 2003;426:450-4.
 16. Zou X, Chen K, Zou J, Han P, Hao J, Han Z. Single-cell RNA-seq data analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to 2019-nCoV infection. Frontiers of medicine 2020;1-8. doi: 10.1007/s11684-020-0754-0
 17. Dong L, Hu S, Gao J. Discovering drugs to treat coronavirus disease 2019 (COVID-19). Drug discoveries & therapeutics 2020;14:58-60. doi: 10.5582/ddt.2020.01012
 18. Kalil AC. Treating COVID-19—off-label drug use, compassionate use, and randomized clinical trials during pandemics. Jama. 8-323:1897;2020. doi: 10.1001/jama.2020.4742
 19. Li G, De Clercq E. Therapeutic options for the 2019 novel coronavirus (2019-nCoV). Nature Publishing Group; 2020.
 20. Sanders JM, Monogue ML, Jodlowski TZ, Cutrell JB. Pharmacologic treatments for coronavirus disease 2019 (COVID-19): a review. Jama 2020;323:1824-36. doi: 10.1001/jama.2020.6019
 21. Liu W, Morse JS, Lalonde T, Xu S. Learning from the past: possible urgent prevention and treatment options for severe acute respiratory infections caused by 2019-nCoV. Chembiochem 2020. doi: 10.1002/cbic.202000047
 22. Ju B, Zhang Q, Ge J, Wang R, Sun J, Ge X, et al. Human neutralizing antibodies elicited by SARS-CoV-2 infection. Nature 2020;584:115-9. doi: 10.1038/s41586-020-2380-z

است. این ماده نیز همانند باواجینین، فعالیت مهارکنندگی علیه آنزیم پروتئاز شبه-پاپاین ویروس SARS-COV است. IC50 مهارى کرلیفول برای این آنزیم برابر با $2/3 \pm 3/32 \mu\text{M}$ گزارش شده است (۳۱). لوتولین یک فلاوونوئید طبیعی است که از گونه Reseda luteola استخراج می‌شود (۵۱). این ماده مؤثره گیاهی دارای اثرات متعدد بیولوژیک نظیر تنظیم‌کننده سیستم ایمنی، اثرات ضدالتهابی، اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضدسرطانی و ضدویروسی است (۵۲). یی و همکاران نشان دادند لوتلین قادر به مهار ویروس HIV-luc/SARS به واسطه مهار اتصال پروتئین S2-گیرنده سلولی است. همچنین، نتایج بررسی بقا سلولی نشان داد، لوتولین قادر به مهار وابسته به دوز عفونت‌زایی ویروس SAR-COV است. مقدار دوز مؤثر ۵۰ درصد (EC50) برای لوتولین برابر با $6/10 \mu\text{M}$ بود (۴۴).

حاصل مطالعه حاضر، معرفی سه ماده مؤثره گیاهی باواجینین، کرلیفول و لوتولین است که به ترتیب دارای بالاترین پتانسیل برهمکنش با پروتئین اسپایک سطح ویروس SARS-COV-2 و مهار اتصال ویروس-میزبان هستند. از طرفی مبنای انتخاب مواد مؤثره جهت بررسی تجزیه و تحلیل‌های بیوانفورماتیک در مطالعه حاضر، وجود گزارشات حاصل از مطالعات تجربی مبنی بر اثرات ضدویروسی این مواد علیه ویروس‌های خانواده کرونا است و از طرف دیگر، شباهت‌های ژنومی فراوانی بین ویروس‌های خانواده کرونا گزارش شده است. بنابراین، به نظر می‌رسد که این مواد طبیعی دارای پتانسیل فارماکولوژیک مناسبی جهت توسعه داروهای جدید علیه ویروس‌های SARS-COV-2 داشته باشد. بررسی اثرات درمانی این ترکیبات گیاهی در کارآزمایی‌های بالینی و مطالعات تجربی پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

این پروژه توسط گرانت شماره IG-39807 هسته پژوهشی "پژوهش‌های علمی کاربردی فراورده‌های طبیعی..." دانشگاه تربیت مدرس حمایت شده است.

References

1. Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. The Lancet 2020;395:507-13. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30211-0
2. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. The lancet 2020;395:497-506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5
3. Nicola M, Alsaifi Z, Sohrabi C, Kerwan A, Al-Jabir A, Iosifidis C, et al. The socio-economic implications of the coronavirus pandemic (COVID-19): A review. International journal of surgery (London, England) 2020;78:185. doi: 10.1016/j.jisu.2020.04.018
4. Lee N, Hui D, Wu A, Chan P, Cameron P, Joynt GM, et al. A major outbreak of severe acute respiratory syndrome in Hong Kong. New

23. Lin C-W, Tsai F-J, Tsai C-H, Lai C-C, Wan L, Ho T-Y, et al. Anti-SARS coronavirus 3C-like protease effects of *Isatis indigotica* root and plant-derived phenolic compounds. *Antiviral research* 2005;68:36-42. doi: 10.1016/j.antiviral.2005.07.002
24. Park J-Y, Yuk HJ, Ryu HW, Lim SH, Kim KS, Park KH, et al. Evaluation of polyphenols from *Broussonetia papyrifera* as coronavirus protease inhibitors. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry* 2017;32:504-12. doi: 10.1080/14756366.2016.1265519
25. Ryu YB, Jeong HJ, Kim JH, Kim YM, Park J-Y, Kim D, et al. Biflavonoids from *Torreya nucifera* displaying SARS-CoV 3CLpro inhibition. *Bioorganic & medicinal chemistry* 2010;18:7940-7. doi: 10.1016/j.bmc.2010.09.035
26. Khaerunnisa S, Kurniawan H, Awaluddin R, Suhartati S, Soetjipto S. Potential inhibitor of COVID-19 main protease (Mpro) from several medicinal plant compounds by molecular docking study. *Prepr* doi:10.20944/preprints202003.0226.v1
27. Sharma A, Tiwari V, Sowdhamini R. Computational search for potential COVID-19 drugs from FDA-approved drugs and small molecules of natural origin identifies several anti-virals and plant products. *Journal of biosciences* 2020;45:1-18. doi: 10.26434/chemrxiv.12091356.v1
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. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* 2020:1-16. doi: 10.1080/07391102.2020.1796810
29. Trott O, Olson AJ. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of computational chemistry* 2010;31:455-61. doi: 10.1002/jcc.21334
30. Wu C-Y, Jan J-T, Ma S-H, Kuo C-J, Juan H-F, Cheng Y-SE, et al. Small molecules targeting severe acute respiratory syndrome human coronavirus. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2004;101:10012-7. doi: 10.1073/pnas.0403596101
31. Kim DW, Seo KH, Curtis-Long MJ, Oh KY, Oh JW, Cho JK, et al. Phenolic phytochemical displaying SARS-CoV papain-like protease inhibition from the seeds of *Psoralea corylifolia*. *J Enzyme Inhib Med Chem* 2014;29:59-63. doi: 10.3109/14756366.2012.753591
32. Wen C-C, Kuo Y-H, Jan J-T, Liang P-H, Wang S-Y, Liu H-G, et al. Specific plant terpenoids and lignoids possess potent antiviral activities against severe acute respiratory syndrome coronavirus. *Journal of medicinal chemistry* 2007;50:4087-95. doi: 10.1021/jm070295s
33. Kwon H-J, Ryu YB, Kim Y-M, Song N, Kim CY, Rho M-C, et al. In vitro antiviral activity of phlorotannins isolated from *Ecklonia cava* against porcine epidemic diarrhea coronavirus infection and hemagglutination. *Bioorganic & medicinal chemistry* 2013;21:4706-13. doi: 10.1016/j.bmc.2013.04.085
34. Ho T-Y, Wu S-L, Chen J-C, Li C-C, Hsiang C-Y. Emodin blocks the SARS coronavirus spike protein and angiotensin-converting enzyme 2 interaction. *Antiviral research* 2007;74:92-101. doi: 10.1016/j.antiviral.2006.04.014
35. Roh C. A facile inhibitor screening of SARS coronavirus N protein using nanoparticle-based RNA oligonucleotide. *International journal of nanomedicine* 20.7:2173;12. doi: 10.2147/IJN.S31379
36. Zhang M, Du T, Long F, Yang X, Sun Y, Duan M, et al. Platycodin D suppresses type 2 porcine reproductive and respiratory syndrome virus in primary and established cell lines. *Viruses* 2018;10:657. doi:10.3390/v10110657
37. Shen L, Niu J, Wang C, Huang B, Wang W, Zhu N, et al. High-throughput screening and identification of potent broad-spectrum inhibitors of coronaviruses. *Journal of virology* 2019;93. doi: 10.1128/JVI.00023-19
38. Yu M-S, Lee J, Lee JM, Kim Y, Chin Y-W, Jee J-G, et al. Identification of myricetin and scutellarein as novel chemical inhibitors of the SARS coronavirus helicase, nsP13. *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 2012;22:4049-54. doi: 10.1016/j.bmcl.2012.04.081
39. Müller C, Schulte FW, Lange-Grünweller K, Obermann W, Madhugiri R, Pleschka S, et al. Broad-spectrum antiviral activity of the eIF4A inhibitor silvestrol against corona-and picornaviruses. *Antiviral research* 2018;150:123-9. doi: 10.1016/j.antiviral.2017.12.010
40. Cho JK, Curtis-Long MJ, Lee KH, Kim DW, Ryu HW, Yuk HJ, et al. Geranylated flavonoids displaying SARS-CoV papain-like protease inhibition from the fruits of *Paulownia tomentosa*. *Bioorganic & medicinal chemistry* 2013;21:3051-7. doi: 10.1016/j.bmc.2013.03.027
41. Yang C-W, Lee Y-Z, Kang I-J, Barnard DL, Jan J-T, Lin D, et al. Identification of phenanthroindolizines and phenanthroquinolizidines as novel potent anti-coronaviral agents for porcine enteropathogenic coronavirus transmissible gastroenteritis virus and human severe acute respiratory syndrome coronavirus. *Antiviral research* 2010;88:160-8. doi: 0.1016/j.antiviral.2010.08.009
42. Ahmed I, Aslam A, Mustafa G, Masood S, Ali MA, Nawaz M. Anti-avian influenza virus H9N2 activity of aqueous extracts of *Zingiber officinalis* (Ginger) and *Allium sativum* (Garlic) in chick embryos. *Pak J Pharm Sci* 2017;30:1341-4.
43. Ulasli M, Gurses SA, Bayraktar R, Yumrutas O, Oztuzcu S, Igci M, et al. The effects of *Nigella sativa* (Ns), *Anthemis hyalina* (Ah) and *Citrus sinensis* (Cs) extracts on the replication of coronavirus and the expression of TRP genes family. *Molecular biology reports* 2014;41:1703-11. doi: 10.1007/s11033-014-3019-7
44. Yi L, Li Z, Yuan K, Qu X, Chen J, Wang G, et al. Small molecules blocking the entry of severe acute respiratory syndrome coronavirus into host cells. *Journal of virology* 2004;78:11334-9. doi: 10.1128/JVI.78.20.11334-11339.2004
45. Li F, Li W, Farzan M, Harrison SC. Structure of SARS coronavirus spike receptor-binding domain complexed with receptor. *Science* 2005;309:1864-8. doi: 10.1126/science.1116480
46. Shang J, Ye G, Shi K, Wan Y, Luo C, Aihara H, et al. Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2. *Nature* 2020;581:221-4. doi: 10.1038/s41586-020-2179-y
47. Pae H-O, Cho H, Oh G-S, Kim N-Y, Song E-K, Kim Y-C, et al. Bakuchiol from *Psoralea corylifolia* inhibits the expression of inducible nitric oxide synthase gene via the inactivation of nuclear transcription factor- κ B in RAW 264.7 macrophages. *International immunopharmacology* 2001;1:1849-55. doi: 10.1016/S1567-5769(01)00110-2
48. Wang K, Feng Y, Li S, Li W, Chen X, Yi R, et al. Oral delivery of bavachinin-loaded PEG-PLGA nanoparticles for asthma treatment in a murine model. *Journal of biomedical nanotechnology* 2018;14:1806-15. doi: 10.1166/jbn.2018.2618
49. Chen X, Shen Y, Liang Q, Flavell R, Hong Z, Yin Z, et al. Effect of Bavachinin and its derivatives on T cell differentiation. *International Immunopharmacology* 2014;19:399-404. doi: doi.org/10.1016/j.intimp.2014.01.022
50. Chen X, Wen T, Wei J, Wu Z, Wang P, Hong Z, et al. Treatment of allergic inflammation and hyperresponsiveness by a simple compound, Bavachinin, isolated from Chinese herbs. *Cellular & molecular immunology* 2013;10:497-505. doi: 10.1038/cmi.2013.27
51. Cristea D, Bareau I, Vilarem G. Identification and quantitative HPLC analysis of the main flavonoids present in weld (*Reseda luteola* L.). *Dyes and Pigments* 2003;57:267-72. doi: 10.1016/S0143-7208(03)00007-X
52. Yan H, Ma L, Wang H, Wu S, Huang H, Gu Z, et al. Luteolin decreases the yield of influenza A virus in vitro by interfering with the coat protein I complex expression. *Journal of natural medicines* 2019;73:487-96. doi: 10.1007/s11418-019-01287-7



Molecular Mechanism of Inhibition of SARS-COV-2 Binding to Host Receptor by Antiviral Flavonoids; Bavachinin, Corylifoln and Luteolin

S. Ali Hashemi (M.Sc.)^{1,2*}, S. Zahra Bathaie (Ph.D.)²

1- Dept. of Laboratory Sciences, Chalus Branch, Islamic Azad University, Chalous, Iran.

2- Dept. of Clinical Biochemistry, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

Received: 31 August 2020, Accepted: 28 November 2020

Abstract:

Introduction: The worldwide SARS-COV-2 outbreak caused COVID-19 pandemic. Understanding the mechanism of host receptor recognition by virus is inevitably helpful for developing appropriate drugs and treatment strategies.

Methods: In the present study, applying a standard systematic review protocol, we surveyed the literature using Google Scholar and PubMed for experimental reports on the plant derived compounds effective against coronavirus family members. Original articles meeting the inclusion criteria for the present study were selected and underwent more scrutiny for introducing plant compounds for further analysis. The interaction of the compounds with receptor binding domain (RBD) of SARS-COV-2 spike protein was analyzed using molecular docking analysis. Top three compounds with the best binding affinity to RBD were selected and their mechanisms of interaction were investigated using Pymol, MOE, and Ligplot softwares.

Results: Three herbal compounds, bavachinin, corylifol, and luteolin with ΔG values of -8.4, -8.1, and -7.6, respectively, showed the best interaction with RBD and inhibition of virus-host binding among 24 compounds analyzed. The binding of these ligands to RBD was mediated through receptor binding motif (RBM) and a group of amino acids including Leu455, Gln493, and Asn501.

Conclusion: Considering the experimental antiviral effects as well as favorable interaction with SARS-COV-2 spike protein, bavachinin, corylifol, and luteolin are suggested for use in clinical trial investigations of COVID-19.

Keywords: SARS-CoV-2, Molecular docking analysis, Antivirals, Spike protein, Phytochemicals.

Conflict of Interest: No

*Corresponding author: S. A. Hashemi, Email: Seyedali.hashemi@modares.ac.ir

Citation: Hashemi SA, Bathaie SZ. Molecular mechanism of inhibition of SARS-COV-2 binding to host receptor by antiviral flavonoids; bavachinin, corylifoln and luteolin. Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences 2020;15(3):19-30.