

مقایسه وابستگی اتصال ترکیبات سیاه‌دانه و شیرین‌بیان با رمدسیویر بر Mpro سارس کرونا و وروس ۲ با استفاده از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی هدایت‌شده

دانشجوی دکتری، گروه مهندسی مکانیک و هوافضا، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار، ایران،
m.90abidi@yahoo.com

محدثه عبیدی

کارشناسی ارشد، گروه مهندسی مکانیک و هوافضا، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار، ایران،
sara.heyat.h@gmail.com

سارا هیئت حسینیان

دانشیار، گروه مهندسی مکانیک و هوافضا، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار، ایران،
r.sohailifard@hsu.ac.ir

رضا سهیلی فرد

دانشیار، گروه مهندسی مکانیک و هوافضا، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار، ایران،
r.h.ghasemy@gmail.com

رضا حسن‌زاده قاسمی*

چکیده

سارس کرونا و وروس ۲ منجر به بیماری کووید-۱۹ به‌عنوان یک بیماری همه‌گیر توسط سازمان جهانی بهداشت (WHO) گزارش شده است. در این و وروس یکی از پروتئازهای سیستمین ضروری که پروتئاز اصلی نامیده می‌شود، هدف دارویی مناسبی برای بسیاری از مهارکننده‌های گیاهی و شیمیایی است. بررسی وابستگی اتصال مهارکننده‌ها به پروتئاز اصلی سارس کرونا و وروس ۲ یکی از عوامل تأثیرگذار در کارایی آن‌هاست. در این مقاله وابستگی اتصال داروهای گیاهی از جمله نیجلیدین از گیاه سیاه‌دانه و لیکوریتیزین از گیاه شیرین‌بیان بر پروتئاز اصلی از سارس کرونا و وروس ۲ با استفاده از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی هدایت‌شده مورد بررسی قرار گرفته و با داروی شیمیایی رمدسیویر مقایسه شده است. نتایج نشان دادند که در بین لیگاندهای گیاهی، نیجلیدین بیشترین نیروی جدادگی را به خود اختصاص می‌دهد. این امر در حالی است که رمدسیویر به‌عنوان یک مهارکننده شیمیایی دارای بیشترین نیروی جدادگی در مقایسه با مهارکننده‌های گیاهی است. همچنین انرژی الکترواستاتیک و واندروالس برای مجموعه رمدسیویر و پروتئاز اصلی نسبت به سایر مهارکننده‌های گیاهی مقدار منفی‌تری را نشان می‌دهد. بنابراین باوجود امتیاز اتصال بالای ترکیبات سیاه‌دانه و شیرین‌بیان، رمدسیویر تحت عنوان یک ترکیب شیمیایی وابستگی اتصال بیش‌تری را نشان می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: سیاه‌دانه، شیرین‌بیان، پروتئاز اصلی، سارس کرونا و وروس ۲، مهارکننده، شبیه‌سازی دینامیک مولکولی هدایت‌شده.

The comparison of binding affinity of Black seed and Licorice compounds with Remdesivir to Mpro of Sars-CoV-2 using steered molecular dynamics simulation

M. Abidi

Department of Mechanical Engineering, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Iran

S. Heyat Hoseinian

Department of Mechanical Engineering, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Iran

R. Soheilifard

Department of Mechanical Engineering, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Iran

R. Hassanzadeh Ghasemi

Department of Mechanical Engineering, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Iran

Abstract

SARS-CoV-2 which caused to Covid-19 was reported as an epidemic by the World Health Organization (WHO). In this virus, one of the essential cysteine proteases, which is called the main protease, can be used as a drug target for many herbal and chemical inhibitors. One of the factors in the effectiveness of drugs inhibitory is the binding affinity of them to main protease. In this paper, the comparison of the binding affinity of herbal compounds (Nigelidine, from black seed and Liquiritigenin from licorice plant) with Remdesivir on the main protease from SARS-CoV-2 has been investigated using steered molecular dynamics simulation. The results showed that Nigelidine has the highest rupture force among herbal ligands. Despite of the fact that Remdesivir has the highest rupture force compared to herbal inhibitors. Also, the electrostatic and van der Waals energy for Remdesivir and main protease shows a more negative value than other herbal inhibitors. Therefore, despite of the high dock score of the compounds of black seed and licorice, Remdesivir as a chemical compound shows more binding affinity.

Keywords: Black seed, Licorice, Main protease, SARS-CoV-2, Inhibitor, Steered Molecular Dynamic.

نیدوویرال^۲ قرار می‌گیرند. خانواده کرونا و وروس به چهار دسته طبقه‌بندی می‌شوند: آلفا^۱ (α-CoV)، بتا^۳ (β-CoV)، گاما^۴ (γ-CoV) و

۱- مقدمه

کرونا و وروس‌ها^۱ خانواده‌ای از و وروس‌ها هستند که در راسته‌ی

² Nidovirals

³ Alphacoronavirus

⁴ Betacoronavirus

⁵ Gamma coronavirus

¹ Coronavirus

دلتا^۱ (δ-CoV) [۱]. تعیین توالی ژنومی نشان می‌دهد که کرونا ویروس عامل بیماری کووید-۱۹^۲ یک بتا کروناویروس است. ساختار مکان ژنی متصل شونده به گیرنده بسیار شبیه این ساختار در سارس^۳ می‌باشد و این ویروس‌ها از گیرنده آنژیوتانسین^۴ (ACE2) برای ورود به سلول میزبان استفاده می‌کنند [۲]. تاکنون راه‌های درمان متفاوتی برای مهار بیماری کووید-۱۹ مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند. داروهای ضدویروس یکی از مواردی است که در مطالعات بالینی تأثیر بسزایی در کنترل بیماری کووید-۱۹ داشته‌اند. از جمله این داروها می‌توان به رمدسیویر^۵ و فلوپیرواویر^۶ با تأیید سازمان غذا و داروی آمریکا اشاره کرد که نتایج مثبتی را در پی داشته‌اند. داروهای مقابله با ویروس ایدز نظیر لویپناویر^۷ ریتوناویر^۸ نیز برای درمان و جلوگیری از پیشروی کرونا ویروس مفید بوده و تاکنون بسیاری از بیماران از طریق استفاده از این داروها نجات یافته‌اند. همچنین استفاده از داروهای گیاهی یکی از روش‌های مؤثر برای درمان این بیماری گزارش شده است. استفاده از گیاهان دارویی برای درمان بیماری‌ها قرن‌ها سابقه دارد و هم‌اکنون نیز در بسیاری از کشورهای پیشرفته و در حال پیشرفت به‌عنوان یک‌راه اصلی درمان به‌شمار می‌آید [۳]. گیاهان دارویی در طب سنتی برای درمان انواع بیماری‌ها از جمله بیماری‌های عفونی به‌کار می‌روند. با توجه به ایجاد مشکلات درمان عفونت‌های ویروسی با داروهای شیمیایی موجود به علت پیدایش مقاومت دارویی در ویروس‌ها، همواره نیاز مبرم به داروهای ضدویروسی نوین احساس می‌شود [۴]. در این راستا داروهای سنتی چینی، با خاصیت ضدویروسی می‌توانند علائم بیماری کووید-۱۹ را تسکین داده و به سبب تأخیر انداختن یا کاهش پیشرفت بیماری شوند. همچنین می‌توانند در کاهش عوارض جانبی داروهای غربی، به‌ویژه در بهبود عملکرد ریوی نقش مؤثری ایفا کنند [۱]. با وجود این هر یک از داروهای گیاهی چینی و داروهای غربی تأیید شده مزایای خاص خود را در درمان بیماری کووید-۱۹ دارند [۵].

با توجه به ماهیت سارس کرونا ویروس^۹ که عامل بروز بیماری کووید-۱۹ است، برخی از قسمت‌های آن از اهمیت بیشتری برخوردار بوده و همواره تحت عنوان اهداف دارویی مدنظر محققین قرار گرفته‌اند. از جمله ساختارهای مهم در فرآیند تکثیر ویروس می‌توان به پروتئاز اصلی^{۱۰} (Mpro)، پروتئاز شبه پایابین^{۱۱} (PLpro) و ACE2 اشاره کرد. Mpro و PLpro به‌عنوان دو پروتئاز ویروسی سارس کرونا ویروس^۲ معرفی شده‌اند و نقش مهمی در تکثیر ویروسی و بلوغ آنزیم RNA پلیمرز وابسته به RNA (RdRp)^{۱۲} ایفا می‌کنند. پروتئازها به آنزیم‌هایی گفته می‌شود که باعث هیدرولیز^{۱۳} پروتئین‌ها شده و همواره به‌عنوان یکی از مهم اهداف دارویی در نظر گرفته می‌شوند. Mpro به

دلیل توانایی آن در تهیه پلی پروتئین که محصول ترجمه شده RNA سارس کرونا ویروس^۲ است، یکی از اهداف دارویی بسیار جذاب در میان دیگر آنزیم‌ها به‌شمار می‌رود [۸-۶]. تاکنون تأثیر بسیاری از مهارکننده‌های ویروسی روی پروتئازهای سارس کرونا ویروس^۲ مورد بررسی قرار گرفته است و این بررسی‌ها در مسیر یافتن مهارکننده‌های اختصاصی برای این ویروس همچنان ادامه دارد [۱۲-۹]. یکی از روش‌های محاسباتی متداول جهت بررسی سارس کرونا ویروس^۲، استفاده از روش دینامیک مولکولی است. دینامیک مولکولی یکی از متداول‌ترین روش‌های عددی برای مدل‌سازی رفتار مواد در مقیاس نانو می‌باشد. در این روش دستگاهی شامل N ذره درون جعبه‌ای فرضی به نام جعبه شبیه‌سازی در نظر گرفته شده و دسته معادلات حرکت دیفرانسیل آن‌ها به روش عددی حل می‌شود [۱۴، ۱۳].

طراحی داروهای جدید و انجام آزمایش‌های مرتبط با ایمنی و سمیت در مدت‌زمان کوتاه عملاً امکان‌پذیر نیست. از طرفی، درمان ضدویروسی با داروهای گیاهی چینی دارای قدمت طولانی بوده و مطالعات پیشین حاکی از اثربخشی بالقوه داروهای گیاهی چینی جهت جلوگیری از انتقال سارس هستند [۴]. در این راستا هوانگ و همکاران [۵] داروهای گیاهی بالقوه چینی را در درمان بیماری کووید-۱۹ باهدف قرار دادن پروتئین‌هایی مانند پروتئین تاجی^{۱۴}، ACE2، Mpro، PLpro و RdRp مورد ارزیابی قرار دادند. آن‌ها با تمرکز بر اتصال مولکولی شش ترکیب آندروگرافولید^{۱۵} (A)، بایکالین^{۱۶} (B)، کوئرستین^{۱۷} (C)، گلیسیریزین^{۱۸} (D)، الکل پاچولی^{۱۹} (E) و لوتئولین^{۲۰} (F) را به‌عنوان مهارکننده‌های مؤثر پیش‌بینی کردند. از جمله گیاهان دارویی دیگری که در چین برای مهار پروتئازها استفاده می‌شود می‌توان به روتین اشاره کرد. روتین یک رنگدانه گیاهی است که در برخی میوه‌ها و سبزی‌ها یافت می‌شود. هوانگ و همکاران [۱۵] با استفاده از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی و سپس دینامیک مولکولی هدایت‌شده، مکانیسم مهارکنندگی روتین را مورد مطالعه قرار دادند. نتایج حاکی از اثربخشی روتین در مهار پروتئاز اصلی به سبب آب‌گریزی زیاد این ترکیب بود. روایبه و همکاران [۱۶]، با غربال‌گری داکینگ و به دنبال آن شبیه‌سازی دینامیک مولکولی توانستند اثر مهارکنندگی رامنتین^{۲۱} و اسید الاجیک^{۲۲} را بر پروتئاز اصلی آشکار سازند. رامنتین یک فلاونول موجود در میخک و اسید الاجیک یک پلی‌فنول موجود در میوه‌هایی مثل انگور، گردو و توت‌فرنگی است. همچنین از جمله مطالعاتی که در خصوص بررسی تأثیر داروهای گیاهی روی پروتئاز اصلی صورت گرفته می‌توان به مطالعات داکینگ انجام‌شده روی ترکیبات گیاه سیاه‌دانه توسط سلیم و همکارانش [۱۷] اشاره کرد. سیاه‌دانه گیاه شفابخش بسیار مشهوری است که در آفریقای شمالی یافت می‌شود. این گیاه بومی مناطق آسیایی غربی است و در

¹ Delta coronavirus

² COVID-19

³ SARS

⁴ Angiotensin-converting (ACE)

⁵ Remdesivir

⁶ Favipiravir

⁷ Lopinavir

⁸ Ritonavir

⁹ SARS-CoV-2

¹⁰ Main protease

¹¹ Papain like protease

¹² RNA dependent RNA polymerase enzyme

¹³ Hydrolyze

¹⁴ Spike protein

¹⁵ Andrographolide

¹⁶ Baicalin

¹⁷ Quercetin

¹⁸ Glycyrrhizin

¹⁹ Patchouli alcohol

²⁰ Luteolin

²¹ Rhamentin

²² Ellagic Acid

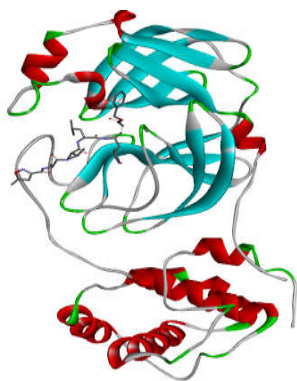
اثر دما بر نیروی جداسازی و کار کشیدگی مجموعه رمدسیور و RdRp توسط عبیدی و همکاران اشاره کرد [۲۲].

با توجه به اثبات اثربخشی مهارکننده‌های گیاهی نظیر اجزای گیاه سیاه‌دانه و شیرین‌بیان، در مهار Mpro، سارس کرونا ویروس ۲، این سؤال مطرح می‌شود که آیا این دسته از مهارکننده‌های گیاهی در دسترس و ارزان، می‌توانند اثربخشی مهارکننده‌های شیمیایی مانند رمدسیور را داشته باشند یا خیر؟ هدف از انجام این مطالعه مقایسه وابستگی اتصال مهارکننده‌های گیاهی به دست‌آمده از گیاه سیاه‌دانه و شیرین‌بیان با رمدسیور با استفاده از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی هدایت‌شده است. بدین منظور نیجلیدین از گیاه سیاه‌دانه و لیکوریتیژنین از گیاه شیرین‌بیان به‌عنوان لیگندهای گیاهی و رمدسیور به‌عنوان مهارکننده شیمیایی، از نظر نیروی جداسازی و میزان اثری‌های واندروالس و الکترواستاتیک در مهار کردن پروتئاز اصلی مورد ارزیابی قرار گرفتند. پیش‌تر نیز محققان نشان دادند در میان سایر ترکیبات سیاه‌دانه و شیرین‌بیان نیجلیدین و لیکوریتیژنین به ترتیب دارای بیشترین و کمترین امتیاز اتصال به Mpro بوده‌اند [۶، ۱۷].

۲- مبانی و روش‌ها

ساختارهای سه‌بعدی مهارکننده‌ها (رمدسیور، نیجلیدین و لیکوریتیژنین) و پروتئاز اصلی به ترتیب از PubChem با کدهای 121304016، 136828302 و 114829 و بانک داده پروتئین (PDB) با کد 6LU7 به دست آمدند (شکل ۱ الف و ب). به‌منظور اضافه کردن اتم‌های هیدروژن از نرم‌افزار Avogadro استفاده شده است. کلیه لیگندها توسط نرم‌افزار AutoDock Vina نسخه 1.5.6 در محل فعال پروتئاز اصلی قرار گرفتند. برای این منظور ابتدا ساختار PDB لیگندهای شیمیایی و گیاهی و Mpro به‌عنوان ورودی به نرم‌افزار داده شد. سپس جعبه‌ای مشبک به شکل مکعب مستطیلی به ابعاد ۳۶×۴۰×۳۶ و مرکز ۲۱/۰۵۹×۲۰/۱۶۴×۷۲/۴۱۲- آنگستروم برای تمامی شبیه‌سازی‌ها در نظر گرفته شد. به‌منظور اطمینان از محل اتصال صحیح هر یک از لیگندها به جایگاه فعال پروتئاز اصلی، مقایسه‌ای با محل اتصال لیگاند N3 موجود در فایل PDB صورت گرفت. با توجه به این امر موقعیت لیگندها کاملاً مطابق با موقعیت لیگاند N3 در محل فعال پروتئاز اصلی بود. نتایج غربال‌گری داکینگ برای سه لیگاند مختلف در جدول ۱ آمده است.

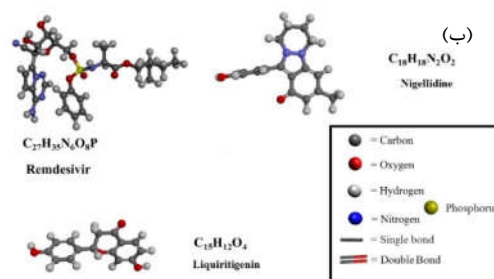
(الف)



کشور ما نیز به‌وفور یافت می‌شود. طی این بررسی که هر دو ساختار ویروس‌های سارس کرونا ویروس و سارس کرونا ویروس ۲ در آن مورد مطالعه قرار گرفتند، دو جز نیجلیدین^۱ و آلفا هیدرین^۲، به‌عنوان بهترین گزینه‌های درمانی برای سارس کرونا ویروس ۲ معرفی شدند. علاوه بر این، مطالعه اتصال مولکولی قوش و همکارانش [۱۸] نشان داده است که سه پلی‌فنول موجود در چای سبز (epigallocatechin gallate, epicatechingallate, gallic acid) می‌توانند با یک یا هر دو آمینواسید کاتالیک His41 و Cys145 در تعاملات قوی باشند. سرواستاوا و همکاران [۶] داکینگ مولکولی اجزای فعال شیرین‌بیان مثل اسید گلیسریریزیک^۳، لیکوریتیژنین^۴ و گلابریدین^۵ در مقابل پروتئاز اصلی را مطالعه کرده و اتصال قوی آن‌ها را با برخی از آمینواسیدهای محل فعال پروتئاز اصلی نشان دادند. خان و همکاران [۱۹] از ابزار داکینگ مولکولی برای بهینه‌سازی وابستگی اتصال اجزای گیاه سیاه‌دانه با پروتئاز اصلی استفاده کردند. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، آلفاهیدرین، استیگماسترول گلوکزید^۶، نیجلیدین، سولفیت^۷، نیجلیدین، گلوکزید استرول^۸، نیجلیدین- سولفیت^۹ و بتا سیتوسترول^{۱۰} به‌عنوان بهترین مهارکننده‌ها معرفی شدند. پیش‌تر نیز احمد [۲۰] و همکارانش اجزای گیاه سیاه‌دانه را با استفاده از داکینگ مولکولی و مطالعات^{۱۱} MM-PBSA علیه بیماری کووید-۱۹ مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاکی از پتانسیل اتصال بالا دیتیموکینون در محل اتصال سارس کرونا ویروس ۲ و ACE2 است.

در بین مهارکننده‌های شیمیایی برای سارس کرونا ویروس ۲، همواره از رمدسیور به‌عنوان یک مهارکننده مؤثر یاد شده است. رمدسیور یک ماده ضدویروسی در برابر انواع مختلف ویروس ابولا و هپاتیت C است. آزمایش‌ها نشان دادند در تعدادی از بیماران مورد بررسی، رمدسیور با ایجاد تداخل در عملکرد RdRp، قادر به مهار سارس کرونا ویروس و مرس کرونا ویروس^{۱۲} می‌باشد. همچنین پژوهشگران نشان دادند رمدسیور می‌تواند Mpro سارس کرونا ویروس ۲ را نیز تحت تأثیر قرار داده و عملکرد آن را مختل کند. در این راستا نگوین و همکاران [۲۱] نشان دادند که اتصال رمدسیور به پروتئاز اصلی و RdRp در سارس کرونا ویروس ۲ از طریق مکانیسم‌های مولکولی متفاوتی اتفاق می‌افتد. ایشان با استفاده از نمونه‌برداری آمبرلا^{۱۳} و شبیه‌سازی دینامیک مولکولی هدایت‌شده نشان دادند که برهمکنش واندروالس نقش اصلی را در مجموعه Mpro و رمدسیور ایفا می‌کند. این در حالی است که برهمکنش الکترواستاتیکی نقش اصلی را برای مجموعه RdRp و رمدسیور به عهده داشته است. در ادامه پژوهش‌های مرتبط با مهارکنندگی رمدسیور می‌توان به بررسی

¹ Nigellidine
² Alpha- hydrine
³ Glycyrrhizic acid
⁴ Liquiritigenin
⁵ Glabridin
⁶ Stigmasterol glucoside
⁷ Nigellidine-4-O-sulfite
⁸ sterol-3-β-D glucoside
⁹ Dithymoquinone
¹⁰ β-sitosterol
¹¹ Molecular mechanics/Poisson-Boltzmann surface area
¹² MERS-CoV
¹³ Umbrella sampling



شکل ۱- الف) ساختار سه بعدی Mpro سارس کرونا ویروس ۲ در اتصال با لیگاند N3. ب) ساختار سه بعدی لیگاندهای گیاهی و شیمیایی

جدول ۱- رتبه بندی نتایج اتصال برای لیگاندهای شیمیایی و گیاهی

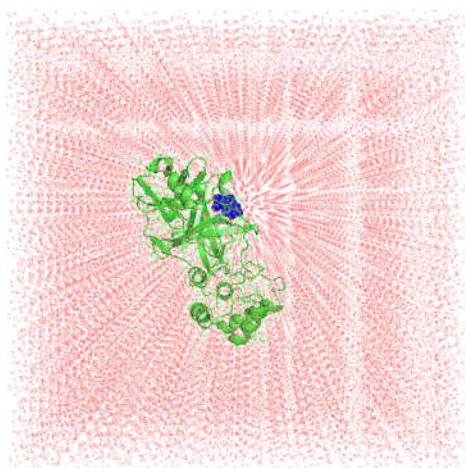
لیگاند	وابستگی اتصال (kcal/mol)
رمدسیویر	-۸/۱
نیچلیدین	-۷/۸
لیکوریترین	-۷/۷

می‌دهد. با توجه به شکل ۳، تونل مسیر کشش لیگاند با تقریب نسبتاً بالایی در راستای محور Z قرار دارد.

همان‌طور که محققان نشان دادند، ثابت فنر و سرعت کشش در نیروی حاصل از کشش به شدت تأثیرگذار هستند [۲۳، ۲۴]. لیکن با توجه به این امر که هدف از پژوهش حاضر بررسی کیفی میزان نیروهاست، مقادیر لحاظ شده بر اساس بررسی‌های مرتبط گذشته لحاظ گردید. ثابت فنر برابر با $k = 600 \text{ kJ}/(\text{mol nm}^2)$ مطابق مقدار معمول در میکروسکوپ‌های نیروی اتمی در آزمایشگاه انتخاب شد. با توجه به این امر نیروی مورد نیاز جهت جدا شدن لیگاند از پروتئین از رابطه زیر قابل محاسبه است:

$$F = k(vt - z) \quad (1)$$

که در آن z جابجایی مرکز جرم لیگاند از موقعیت اولیه، v سرعت کشیدگی لیگاند و t مدت زمان شبیه‌سازی است. کلیه سیستم‌ها با سرعت برابر $0.005 \text{ nm}/\text{ps}$ [۲۱] و برای مدت ۳۵۰ پیکوثانیه تحت کشیدگی قرار گرفتند. برای اطمینان از نتایج به دست آمده، پنج شبیه‌سازی از شرایط اولیه متفاوت پس از مرحله شبیه‌سازی دینامیک مولکولی تعادلی برای هر لیگاند به صورت جداگانه تولید شده و میانگین آن‌ها به عنوان نتیجه نهایی گزارش شد.



شکل ۲- مجموعه رمدسیویر و Mpro. رمدسیویر به صورت کرولی و آبی رنگ و مولکول‌های آب با رنگ قرمز مشخص شده‌اند.



شکل ۳- نمایش مناسب‌ترین تونل جدا سازی لیگاند از Mpro با استفاده از نرم‌افزار COVER نسخه 2.0 Beta. کره‌های آبی متصل به هم جهت تونل جدا سازی را نشان می‌دهند. با توجه به دستگاه مختصات نمایش داده شده این تونل با تقریب نزدیکی در راستای محور Z می‌باشد.

به منظور انجام شبیه‌سازی دینامیک مولکولی ابتدا با استفاده از نرم‌افزار PYMOL پروتئین طوری چرخانده شد که محل فعال برای کشیدن در راستای محور Z قرار گیرد. پس از آن مجموعه پروتئین-لیگاند درون یک جعبه مکعب مستطیل شکل به ابعاد $12 \times 9.5 \times 9.5$ و مرکزیت $5 \times 5 \times 4.75$ نانومتر شامل ۵۵۱۲۰ مولکول آب و در دمای ۳۱۰ کلوین و فشار ثابت ۱ اتمسفر قرار گرفت. برای انجام کلیه شبیه‌سازی‌ها از نرم‌افزار Gromacs نسخه 2018.1 با میدان نیرویی charmm36 و مدل SPC/E برای مولکول‌های آب استفاده شد. جهت خنثی‌سازی کلیه سیستم‌ها یون‌های Na^+ یا Cl^- توسط دستور Genion اضافه شد. شکل ۲ شماتیکی از مجموعه Mpro و رمدسیویر در محیط سیال جعبه شبیه‌سازی شده را نشان می‌دهد. سپس انرژی سیستم به منظور حذف کرنش‌های اضافی با استفاده از الگوریتم **Steepest decent** کمینه شد. تعاملات الکترواستاتیک با استفاده از روش PME^1 و نیروهای واندروالس با شعاع قطع $1/2$ نانومتر به کار گرفته شد. گام زمانی برای کلیه شبیه‌سازی‌ها ۲ فمتوثانیه بوده است. از الگوریتم LINCS برای مقید کردن تمام پیوندها استفاده شده است. در گام بعدی هر ۴ سیستم به ترتیب با ترموستات دما و فشار **V-rescale** و **Ferrinelli-Rahman** و مقید کردن کل مجموعه پروتئین-لیگاند برای مدت ۲۰۰ پیکوثانیه با دو روش **NVT** و **NVE** متعادل شدند. پس از آن متعادل‌سازی سیستم‌ها به مدت ۱ نانو ثانیه ران تعادلی صورت گرفت. در شبیه‌سازی دینامیک مولکولی هدایت شده نیرو به مرکز جرم لیگاندها و در راستای محور Z وارد شد.

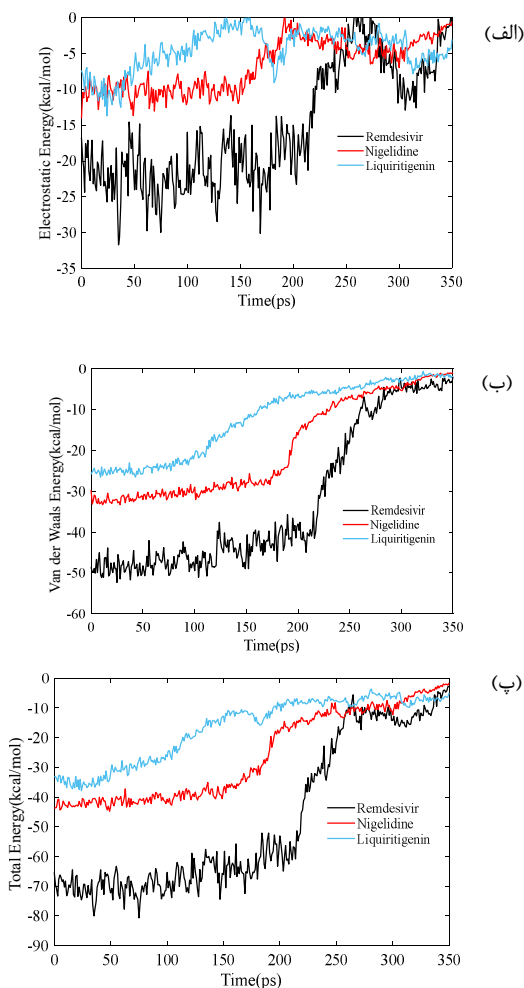
انتخاب جهت کشش، با استفاده از نرم‌افزار CAVER نسخه 2.0 Beta صحت‌سنجی شد. شکل ۳، تصویری از مناسب‌ترین تونل کشش لیگاند از Mpro با توجه به آمینواسیدهای موجود در محل فعال Mpro را نشان

¹Particle Mesh Ewald

۳- نتایج

هدف از انجام این شبیه‌سازی مقایسه وابستگی اتصال دو مهارکننده گیاهی نیجلیدین از گیاه سیاه‌دانه و لیکوریتیزین از گیاه شیرین‌بیان با مهارکننده شیمیایی رمدسیویر جهت مهار Mpro سارس کرونا ویروس ۲ می‌باشد. بدین منظور با استفاده از روش کشیدگی سریع لیگاند^۱ (FLP)، سه مهارکننده نیجلیدین، لیکوریتیزین و رمدسیویر را از Mpro جدا کرده و نیروهای جادشگی و انرژی‌های واندروالس و الکترواستاتیک برای جدایش مجموعه پروتئین- لیگاند مورد بررسی قرار گرفت.

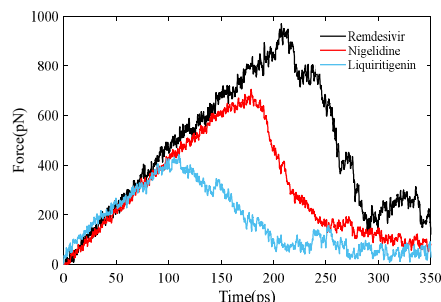
نمودار نیرو برحسب زمان سه لیگاند رمدسیویر، نیجلیدین و لیکوریتیزین در شکل ۴ گزارش شده است. همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، رمدسیویر نیازمند نیرو و مدت‌زمان بیشتری برای جادشگی از Mpro سارس کرونا ویروس ۲ در مقایسه با مهارکننده‌های گیاهی نیجلیدین و لیکوریتیزین است. لازم به ذکر است که مقادیر نیرو و زمان جادشگی رمدسیویر از Mpro در این مطالعه در تطابق کامل با پژوهش نگون و همکاران [۲۱] بوده است. همچنین در بین دو مهارکننده گیاهی نیز، نیجلیدین از گیاه سیاه‌دانه وابستگی اتصال بیشتری را با پروتئاز اصلی نسبت به لیکوریتیزین نشان می‌دهد. این امر در حالی است که سلیم و همکاران [۱۷] با استفاده از داکینگ مولکولی نشان دادند نیجلیدین در میان سایر ترکیبات به‌دست‌آمده از گیاه سیاه‌دانه دارای بیش‌ترین امتیاز اتصال به Mpro بوده است. از طرفی سریوستا و همکاران [۶] لیکوریتیزین را به‌عنوان ضعیف‌ترین ترکیب گیاه شیرین‌بیان در اتصال به Mpro معرفی کرده‌اند.



شکل ۵- نمودار انرژی الف) الکترواستاتیک، ب) واندروالس و پ) کل برحسب زمان برای جداسازی رمدسیویر، نیجلیدین و لیکوریتیزین از Mpro

۴- نتیجه‌گیری

کووید-۱۹ بیماری عفونی و واگیرداری است که توسط سارس کرونا ویروس ۲ ایجاد می‌شود. یکی از اهداف دارویی در این ویروس پروتئازهای ویروسی هستند. با مهار کردن این پروتئازها توسط داروهای ضدویروسی می‌توان از گسترش بیماری جلوگیری و تا حدودی آن را درمان کرد. تاکنون مهار کردن Mpro به‌عنوان پروتئاز اصلی سارس



شکل ۴- نمودار نیرو-زمان کشیدن نیجلیدین، لیکوریتیزین و رمدسیویر از پروتئاز اصلی.

شکل ۵، نمودارهای انرژی الکترواستاتیک، واندروالس و کل (الکترواستاتیک+واندروالس) بین سه مهارکننده رمدسیویر، نیجلیدین و لیکوریتیزین را نشان می‌دهد. با توجه به نمودارهای نشان داده‌شده در شکل ۵، انرژی رمدسیویر در هر سه نمودار الکترواستاتیک، واندروالس و کل مقدار منفی‌تری را در مقایسه با مهارکننده‌های گیاهی نشان می‌دهد. همچنین دو مهارکننده گیاهی نیجلیدین و لیکوریتیزین مقادیر انرژی تقریباً یکسانی در تعاملات الکترواستاتیک داشته‌اند. این امر در حالی است که در انرژی‌های واندروالس و کل،

¹ Fast Pulling Ligand

CoV2, *Mater. Today Proc.*, pp. 2999–3007, 2020.

[7] Nelson, Cox, Principles of Biochemistry Lehninger, *Chinese Journal of Integrative Medicine*, Vol. 17, pp. 631-634, 2011.

[8] Stoermer M., Homology Models of Coronavirus 2019-nCoV 3CLpro Protease, *Biol. Med. Chem.*, pp. 1–11, 2020.

[9] Pal S., Chowdhury T., Paria K., Manna S., Parveen S., Singh M., Sharma P., Islam S.S., Abu Imam Saadi S.M., Mandal S.M., Brief survey on phytochemicals to prevent COVID-19, *Indian Chem. Soc.*, Vol. 99, 2022.

[10] S. Bharadwaj, E.I. Azhar, M.A. Kamal, L.H. Bajrai, A. Dubey, K. Jha, U. Yadava, S.G. Kang, V.D. Dwivedi, SARS-CoV-2 Mpro inhibitors: identification of anti-SARS-CoV-2 Mpro compounds from FDA approved drugs, *Biomol. Struct. Dyn.* Vol. 40, pp. 2769–2784, 2022.

[11] Pant S., Singh M., Ravichandiran V., U.S.N. Murty, H.K. Srivastava, Peptide-like and small-molecule inhibitors against Covid-19, *J. Biomol. Struct. Dyn.* pp. 1–10, 2020.

[12] Ancy I., Sivanandam M., Kumaradhas P., Possibility of HIV-1 protease inhibitors-clinical trial drugs as repurposed drugs for SARS-CoV-2 main protease: a molecular docking, molecular dynamics and binding free energy simulation study, *Biomol. Struct. Dyn.* pp. 1–8, 2020.

[۱۳] ص. صادق زاده، م. حبیب نژاد کورایم، مدل سازی و کنترل تغییر شکل سوزن نانوربات AFM در عملیات نانومینیولیشن خودکار، مهندسی مکانیک دانشگاه تبریز، ش. ۱، ص. ۱۶۹-۱۷۸، ۱۳۹۶.

[۱۴] ر. هنرخواه، ی. بخشان، م. رحمتی، ج. خورشیدی، بررسی جریان و خواص ترموفیزیکی نانوسپال ها در نانوکanal با استفاده از شبیه سازی دینامیک مولکولی، مهندسی مکانیک دانشگاه تبریز، ش. ۳، ص. ۳۶۵-۳۷۴، ۱۳۹۸.

[15] Huynh T., Wang H., Cornell W., Luan B., In Silico Exploration of Repurposing and Optimizing Traditional Chinese Medicine Rutin for Possibly Inhibiting SARS-CoV-2's Main Protease, *Biol. Med. Chem.*, pp. 1–20, 2020.

[16] Rowaiye A.B., Onuh O.A., Sunday R.M., Structure-based Virtual Screening and Molecular Dynamic Simulation Studies of the Natural Inhibitors of SARS-CoV-2 Main Protease, *J. Ongoing*, 2020.

[17] Salim B., Noureddine M., Identification of Compounds from Nigella Sativa as New Potential Inhibitors of 2019 Novel Coronavirus (Covid-19): Molecular Docking Study., *ChemRxiv*. Vol. 19, pp. 1–12, 2020.

[18] Ghosh R., Chakraborty A., Biswas A., Chowdhuri S., Evaluation of green tea polyphenols as novel corona virus (SARS CoV-2) main protease (Mpro) inhibitors–an in silico docking and molecular dynamics simulation study, *Biomol. Struct. Dyn.* Vol. 39, pp.4362–4374, 2021.

[19] Khan S., Siddiqui F., Jain S., Sonwane G., Discovery of Potential Inhibitors of SARS-CoV-2 (COVID-19) Main Protease (Mpro) from Nigella Sativa (Black Seed) by Molecular Docking Study, *Coronaviruses*, Vol. 2 pp. 384–402, 2020.

[20] Ahmad S., Abbasi H., Shahid S., Gul S., Abbasi S., Molecular docking, simulation and MM-PBSA studies of nigella sativa compounds: a computational quest to identify potential natural antiviral for COVID-19 treatment, *J. Biomol. Struct. Dyn.* Vol. 39, pp. 4225–4233, 2021.

[21] Nguyen H., Thai N., Truong D., Li M., Remdesivir Strongly Binds to Both RNA-Dependent RNA Polymerase and Main Protease of SARS-CoV-2: Evidence from Molecular Simulations., *Phys. Chem. B*,

کرونا ویروس ۲ با استفاده از شمار زیادی از داروهای شیمیایی و گیاهی مورد ارزیابی قرار گرفته است. در میان داروهای شیمیایی رمدسیویر قدرت مهارکنندگی بالایی را از خود نشان داده است. همچنین ترکیبات گیاهان سیاه دانه و شیرین بیان نیز توانسته اند تا حد مطلوبی سبب مهار شوند. هدف از انجام پژوهش فوق مقایسه نیجلیدین و لیکوریتیژنین به ترتیب از گیاهان سیاه دانه و شیرین بیان با رمدسیویر در وابستگی اتصال آن ها به Mpro و در نتیجه بررسی قدرت مهارکنندگی آن ها با استفاده از نیروی جداسازی و انرژی های الکترواستاتیک، واندروالس و کل بوده است. با توجه به نتایج به دست آمده از شبیه سازی های دینامیک مولکولی هدایت شده، رمدسیویر تحت عنوان یک مهارکننده شیمیایی بیشترین مقدار نیروی جداسازی را در مقایسه با سایر مهارکننده های گیاهی به خود اختصاص داده است. در میان مهارکننده های گیاهی نیز نیجلیدین از گیاه سیاه دانه نیاز به نیروی بیشتری برای جداسازی داشته و فرآیند جداسازی آن در زمان طولانی تری رخ می دهد. لیکوریتیژنین از گیاه شیرین بیان دارای کم ترین نیروی جداسازی بوده و در کوتاه ترین زمان از Mpro جدا می شود. نمودارهای انرژی های الکترواستاتیک، واندروالس و کل نیز به خوبی نتایج حاصل از نیروهای جداسازی را توجیه کردند. بدین صورت که هر سه انرژی در رمدسیویر در مقایسه با سایر مهارکننده های گیاهی مقدار منفی تری را نشان می دهد. همچنین نیجلیدین در مقایسه با لیکوریتیژنین دارای انرژی منفی تری است. علی رغم اینکه ترکیبات گیاهی وابستگی اتصال کمتری نسبت به ترکیبات شیمیایی دارند، عوارض جانبی کمتر این لیگاندها از یک سو و قیمت پایین و فراوانی و در دسترس بودن آن ها از سوی دیگر می تواند آن ها را به عنوان گزینه مناسبی برای مهار Mpro سارس کرونا ویروس ۲ معرفی کند.

۵- مراجع

[1] Chan J., Lau S., To K., Cheng V., Woo P., Yuen K., Middle East Respiratory syndrome coronavirus: Another zoonotic betacoronavirus causing SARS-like disease, *Clin. Microbiol. Rev.*, Vol. 28, pp. 465–522, 2015.

[2] Tang X., Wu C., Li X., Song Y., Yao X., Wu X., Duan D., Zhang H., Wang Y., Qian Z., Cui J., On the origin and continuing evolution of SARS-CoV-2 National Science Review *Oxford Academic, Natl. Sci. Rev.* 2020.

[3] Sindambiwe J., Calomme M., Cos P., Totté J., Pieters L., Vlietinck A., Vanden Berghe D., Screening of seven selected Rwandan medicinal plants for antimicrobial and antiviral activities, *Ethnopharmacol.*, Vol. 65 pp. 71–77, 1999.

[۴] ج. منوری، ر. همکار، ز. نوروز بابایی، ل. ادیبی، م. نوروزی، ع. ضیائی، بررسی اثرات ضدویروسی بیستوپنج گونه از تیره های مختلف گیاهان دارویی ایران، *مجله میکروبیوشناسی پزشکی ایران*، د. ۱، ش. ۲، ص. ۴۹-۵۹، ۱۳۸۶.

[5] Huang F., Li Y., Leung E.L.H., Liu X., Liu K., Wang Q., Lan Y., Li X., Yu H., Cui L., Luo H., Luo L., A review of therapeutic agents and Chinese herbal medicines against SARS-COV-2 (COVID-19), *Pharmacol. Res.*, Vol. 158, 2020.

[6] Srivastava V., Yadav A., Sarkar P., Molecular docking and ADMET study of bioactive compounds of Glycyrrhiza glabra against main protease of SARS-

2020.

- [۲۲] م. عبیدی، ر. سهیلی فرد، ر. حسن‌زاده قاسمی، بررسی اثر دما بر وابستگی اتصال رمدسیوپر به آنزیم RdRp ویروس سارس-کووید-۲ با استفاده از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی هدایت‌شده، *مجله کنترل، ش. ۵، ص. ۳۹-۴۷*، ۱۳۹۹.
- [23] Maymand V., Bavi O., Karami A., Probing the mechanical properties of ORF3a protein , a transmembrane channel of SARS-CoV-2 virus : Molecular dynamics study, *Chem. Phys. Vol. 569*, pp. 111859, 2023.
- [24] Bavi N., Bavi O., Vossoughi M., Naghdabadi R., Hill A., Martinac B., Nanomechanical properties of MscL α helices: A steered molecular dynamics study, *Channels. Vol. 11*, pp. 209–223, 2017.