



Scan online to view this article

Investigation of Molecular Mechanisms in Inhibiting the Function of Spike, Main Protease and Papain Like Protease in Coronavirus Using Simulation and Docking

Simin Bahman Poor, Noosha Zia Jahromi*

Department of Biology, Faculty of Science, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

Abstract

Aim and Backgrounds: Coronavirus is the causative agent of COVID-19 infectious pneumonia, which was introduced by the World Health Organization in 2020 as a global epidemic. Due to the fact that its inhibitory mechanisms have not been well understood so far, in this article we decided to investigate the inhibitory mechanisms of Spike, Main Protease and Papain-like protease proteins in the coronavirus.

Materials and Methods: In the present study, all calculations were performed by AutoDock 4.2 (2013), AutoDockTools 4.2 (2013) and Cluspro2.0 (2017). Lamarck's genetic algorithm was used to search for protein levels, and 200 were performed in each of the docking models. Finally, the interaction of protein binding and inhibitor compounds and hydrogen and hydrophobic binding was calculated by Poseview and DIMPLOT software.

Results: The interaction study showed that the amino acids His163, His164, Gln189, Glu166, Cys145 and Phe140 play a key role in the inhibitory interaction of GC-376 with Mpro protein due to hydrogen bonds. Also, the study of the binding energy of the inhibitor compound to the protein shows that this compound is attached to the inhibitor with a binding energy of -6.36 kcal / mol. The docking results of PLpro complex showed that the amino acids Tyr268, Gln269, and Asp164 play a key role in the interaction of GRL0617 inhibitor with PLpro protein due to hydrogen bonds and the binding energy of the inhibitor compound to PLpro protein was -9.69. Finally, the study of the interactions of Spike protein and LCB1 peptide using Cluspro and DIMPLOT software showed that there are several hydrophobic and polar interactions between different amino acids of these two compounds, the most important of which can be He noted the interaction of the amino acid Tyr489 in the Spike protein with the amino acids Leu6 and Gln7 in the inhibitory peptide.

Conclusion: The results of this study showed that the inhibitory compounds presented in this article can well inhibit vital proteins important in coronavirus due to polar and hydrophobic interactions.

Keywords: Coronavirus, the main Protease protein, Spike protein, Papain like protease protein.

Corresponding author:

Department of Biology, Faculty of Science, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran Email: Nooshazia.59@gmail.com



برای مشاهده این مقاله به صورت
آنلاین اسکن کنید

بررسی مکانیسم های مولکولی در مهار عملکرد پروتئین های Spike, Protease اصلی و Papain like protease در کرونا

ویروس با استفاده از شبیه سازی و داکینگ

سیمین بهمن پور، دکتر نوشا ضیاء جهرمی*

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

چکیده

سابقه و هدف: کروناویروس عامل بیماری پنومونی عفونی COVID-19 است که در سال ۲۰۲۰ سازمان بهداشت جهانی آن را به عنوان یک همه گیری جهانی معرفی کرد. با توجه به این که تاکنون مکانیسم های مهاری آن به خوبی مشخص نشده است در این مقاله برآن شدیم تا به بررسی مکانیسم های مولکولی در مهار عملکرد پروتئین های Spike, Protease اصلی و Papain like protease در کروناویروس بپردازیم.

مواد و روش ها: در پژوهش حاضر کلیه محاسبات توسط نرم افزار (۲۰۱۳) AutoDock 4.2، (۲۰۱۳) Cluspro2.0 و (۲۰۱۷) AutoDockTools 4.2 انجام شد. الگوریتم ژنتیک لامارک برای جستجوی سطح پروتئین مورد استفاده قرار گرفت و در هر یک از مدل های داکینگ تعداد ۲۰۰ اجرا گذاشته شد. در نهایت برهم کنش اتصال پروتئین و ترکیب های مهارکننده و اتصال های هیدروژنی و هیدروفوبی توسط نرم افزار Poseview و DIMPLOT محاسبه شد.

یافته ها: بررسی برهم کنش ها حاکی از آن بود که اسیدآمینوهای His163، His164، Gln189، Glu166، Cys145 و Phe140 به واسطه پیوندهای هیدروژنی نقش کلیدی در برهم کنش مهارکننده GC-376 با پروتئین Mpro دارند. همچنین بررسی انرژی اتصال ترکیب مهارکننده به پروتئین نشان می دهد که این ترکیب با انرژی اتصال ۶/۳۶- کیلوکالری بر مول به مهارکننده متصل شده است. نتایج داکینگ کمپلکس PLpro حاکی از آن بود که اسیدآمینوهای Tyr268، Gln269 و Asp164 به واسطه پیوندهای هیدروژنی نقش کلیدی در برهم کنش مهارکننده GRL0617 با پروتئین PLpro دارند و انرژی اتصال ترکیب مهارکننده به پروتئین PLpro برابر با ۹/۶۹- بود. در نهایت بررسی برهم کنش های پروتئین Spike و پپتید LCB1 با استفاده از نرم افزارهای Cluspro و DIMPLOT نشان داد که برهم کنش های متعدد هیدروفوبی و قطبی بین اسیدآمینوهای مختلف این دو ترکیب وجود دارد که از جمله مهم ترین آن ها می توان به برهم کنش اسیدآمینو Tyr489 در پروتئین Spike با اسیدآمینوهای Leu6 و Gln7 در پپتید مهار کننده اشاره کرد.

نتیجه گیری: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که ترکیب های مهارکننده ارائه شده در این مقاله می توانند به خوبی به واسطه برهم کنش های قطبی و هیدروفوبی موجب مهار پروتئین های حیاتی مهم در کروناویروس گردند.

واژه های کلیدی: کرونا ویروس، پروتئاز اصلی، پروتئین Spike، پروتئین Papain like protease.

مقدمه

نویسنده مسئول:

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی،

پست الکترونیکی: Nooshazia.59@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۷/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۰/۱۲

دنیا دوره کمون‌های مختلفی را بیان کردند به-طوری که سازمان بهداشت جهانی عددی بین ۲ تا ۱۰ روز، کمیسیون بهداشت جهانی عددی بین ۱۰ تا ۱۴ روز و مرکز کنترل و پیشگیری آمریکا عددی بین ۲ تا ۱۴ روز را برای این دوره مشخص

منجر به سندرم دیسترس حاد تنفسی شود. ۲۰ تا ۳۰ درصد بیماران نیاز به درمان بیمارستانی داشته و حدود ۵۰ درصد از افراد پس از ابتلا علامتی نشان نمی‌دهند. پیوستگی قابل توجه میان کروناویروس و این گیرنده نشان می‌دهد جمعیت‌هایی که بیان آنزیم مبدل آنژیوتانسین ۲ در آن‌ها بالاتر است در برابر این ویروس آسیب‌پذیرتر هستند (۹). پروتئین اسپایک از دو زیرواحد S1 و S2 تشکیل شده است. زیرواحد S1 گیرنده سلولی را از طریق دامنه اتصال دهنده گیرنده آن متصل می‌کند و به دنبال آن تغییرهای کنفورماسیونی در زیر واحد S2 به پپتید فیوژن اجازه می‌دهد تا درون غشای سلول هدف قرار داده شود (۱۰-۱۲). آنزیم ضروری در چرخه زندگی ویروس‌های RNA، PLpro (Papain like protease) است و کروناویروس را در بر می‌گیرد. PLpro یک پروتئاز سیستمین چند منظوره است که با هیدرولیز پیوندهای پپتید و ایزوپپتید در بسترهای ویروسی و سلولی منجر به تکثیر ویروس می‌شود. در ویروس‌های مختلف کرونا ویروس از جمله SARS، MERS و HCV، PLpro وجود دارد (۱۳-۱۵). پروتئازها به ویژه Mpro (Main Protease)، نقشی حیاتی در چرخه زندگی ویروس‌های کرونا دارند. Mpro سه دامنه شامل I، II و III است. Mpro یک همودایمر است که حاوی دو پروتومر است و در میان ویروس‌های کرونا محافظت می‌شود و چندین ویژگی مشترک بین لایه‌های Mpro در ویروس‌های مختلف کرونا وجود دارد. این پروتئاز هم‌چنین نقش مهمی که در مسیر پروتئولیتیک ایفا می‌کند و آن را به جذاب‌ترین هدف دارویی برای طراحی داروهای ضد CoV تبدیل می‌کند و از آنجا که Mpro فاقد همولوگ انسانی است یک هدف ضدویروسی ایده‌آل است به‌شمار می‌آید (۱۶-۱۸).

کروناویروس به‌عنوان عامل ایجاد کننده مشکلات تنفسی در انسان و جانوران خانگی شناخته شده است. بر طبق اولین مطالعه‌های انجام شده بر روی بیماران مبتلا به کروناویروس دوره کمون این ویروس به‌طور میانگین بین ۴ تا ۷ روز اعلام شد (۱). در ادامه سازمان‌های بهداشتی مختلف در کردند (۲). این ویروس یک ویروس پوشش‌دار با ژنومی از نوع ریبونوکلیک‌اسید است که طول آن حدود ۲۹/۸ کیلو باز است (۳). این ویروس واجد زوائد پروتئینی روی غشاء بوده و متشکل از پلی-پروتئین‌ها، نوکلئوپروتئین‌ها و پروتئین‌های غشایی از قبیل پلی‌مرازها، پروتئازها، هلیکس‌ها و پروتئین‌های کمکی دیگر است (۴). عفونت با کروناویروس جدید در مرحله اول با علائم غیراختصاصی و کلی نظیر احساس کسالت، خستگی و بدون درد، تب و سرفه خشک همراه است. بیماران کمی قبل از تب ممکن است در ابتدا علائمی مانند تهوع و اسهال داشته باشند. به-طور کلی شدت بیماری به ۴ گروه خفیف، متوسط، شدید و وخیم تقسیم می‌شود (۵).

تشخیص کروناویروس متکی به یافته‌های رادیولوژیکی و آزمایشگاهی است. بررسی‌های رادیولوژیکی اهمیت فوق‌العاده در اوایل تشخیص بیماری و مدیریت بیماری دارند. مشخصه برجسته تصاویر رادیولوژیکی در بیمارانی که به پنومونی شدید کروناویروسی مبتلا شده‌اند شامل نمای شیشه مات و تراکم ریه است که می‌تواند هر دو ریه را درگیر کند (۶-۸).

در انتهای بخش ۳ ژنوم کروناویروس چهار پروتئین ساختمانی وجود دارد که شامل پروتئین اسپایک (spike)، پروتئین پوششی، پروتئین غشایی، پروتئین نوکلئوکپسید است. هم‌چنین در انتهای این بخش هشت پروتئین فرعی وجود دارد که شامل p6, 3a, 7a, 3b, 7b, 8b, 9b و orf14 است. پروتئین اسپایک یک گلیکوپروتئین ترانس ممبر نوع یک است که ویروس هنگام ورود به بدن انسان با اتصال به گیرنده‌های آنزیم مبدل آنژیوتانسین ۲ وارد سلول‌های هدف در مجرای تنفسی فوقانی شده و می‌تواند در ۴ درصد موارد

با توجه به این که تاکنون مکانیسم های مولکولی در مهار عملکرد پروتئین های کروناویروس به خوبی مشخص نشده است در این مقاله برآن شدیم تا به بررسی مکانیسم های مهاری پروتئین های Spike، Protease اصلی و Papain like protease در کروناویروس بپردازیم.

روش کار

روش داکینگ

کلیه محاسبات داکینگ در این پروژه توسط نرم افزار AutoDock 4.2 و AutoDockTools 4.2 انجام شد. الگوریتم ژنتیک لامارک برای جستجوی سطح پروتئین و انجام داکینگ مورد استفاده قرار گرفت. هم چنین در هر یک از مدل های داکینگ تعداد ۲۰۰ اجرا گذاشته شد که در آن فاکتور جمعیت اولیه در جستجو بر پایه الگوریتم ژنتیک برابر ۱۵۰ بود و در مجموع ۲۷ هزار ساختار برای محاسبات ساخته شد (۱۹). در نهایت برهم کنش اتصال پروتئین و ترکیب های مهارکننده و اتصال های هیدروژنی و هیدروفوبی توسط نرم افزار Poseview و DIMPLOT محاسبه شد.

آماده سازی ساختار پروتئین ها

برای آماده سازی ساختار پروتئین Mpro، ساختار با کد دسترسی 6WTT (۲۰) از پایگاه اطلاعاتی پروتئین PDB (www.pdb.org) دریافت شد. هم چنین ساختار پروتئین Spike با کد 7JZL (۲۱) و ساختار پروتئین PLpro نیز با کد 7CMD (۲۲) از پایگاه اطلاعاتی پروتئین گفته شد. ساختار مهارکننده برای این پروتئین ها از مقالات (۲۰-۲۲) استفاده گردید.

محاسبه بارهای جزئی و حالت های چرخش برای مهارکننده

در تحقیق حاضر برای محاسبه بارهای جزئی و حالت های چرخش مهارکننده از نرم افزار AutoDockTools 4.2 (۲۰۱۳) استفاده شد. در این راستا برای محاسبه بارهای جزئی پروتئین و مهارکننده روش بار Gasteiger مورد استفاده قرار گرفت.

محاسبه شبکه انرژی در اطراف پروتئین

در تحقیق حاضر برای محاسبه شبکه انرژی در اطراف پروتئین اندازه شبکه به صورتی تعیین شد که جایگاه فعال پروتئین در داخل آن قرار بگیرد. در این راستا شبکه دارای ابعاد $60 \times 60 \times 60$ با فاصله 0.375 آنگستروم برای هر دو نقطه در اطراف پروتئین طراحی شده و با استفاده از نرم افزار Autogrid 4.2 (۲۰۱۳) انرژی پتانسیل سطحی درون این شبکه محاسبه شد.

تعیین الگوریتم جستجوی سطح پروتئین و انجام داکینگ نهایی

برای تعیین الگوریتم جستجوی سطح پروتئین و انجام داکینگ نهایی سایر پارامترهای مورد نیاز (بارجزی برای مولکول مهارکننده محاسبه شد، هیدروژن های غیر یونیزه ادغام گردید و بعد از مشخص کردن مرکز ثقل مولکول تمامی باندهای قابل چرخش تعیین گردید) برای انجام داکینگ تعریف شده و از الگوریتم ژنتیک برای جستجوی سطح پروتئین استفاده شد. در نهایت انرژی اتصال برای حالت های مختلف اتصال مهارکننده به پروتئین محاسبه شد.

نرم افزار Cluspro2.0 (۲۰۱۷)

در این تحقیق برای بررسی پروتئین spike و پپتید مهاری LCB1 به دلیل محدودیت نرم افزار AutoDock برای محاسبه برهم کنش پروتئین ها و پپتیدها از نرم افزار Cluspro استفاده شد. Cluspro ابزاری است که به طور گسترده برای برهم کنش پروتئین-پروتئین مورد استفاده قرار می گیرد که فایل ورودی مورد نیاز آن نیز با قالب PDB است. هم چنین دارای تعدادی گزینه های پیشرفته است که برای تسریع و اصلاح در روند داکینگ می توان از آن ها استفاده نمود. این نرم افزار مرحله محاسباتی را به این صورت انجام می دهد:

- ۱) مجموعه داکینگ جسم سخت با نمونه گیری میلیاردها ترکیب
- ۲) خوشه بندی مبتنی بر انحراف معیار ریشه (RMSD) از هزار ساختار با کم ترین انرژی تولید شده برای یافتن بزرگ ترین خوشه ها که متحمل ترین مدل ها از ترکیب را نشان می دهد

یافته‌ها

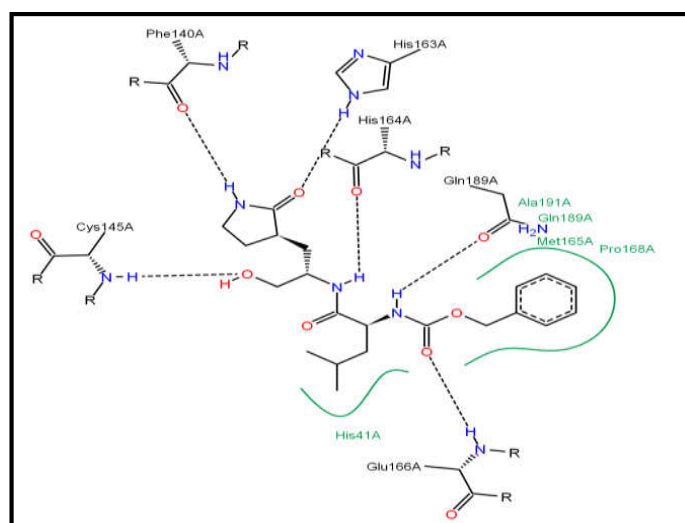
نتایج داکینگ کمپلکس Mpro

بررسی برهم‌کنش‌ها حاکی از آن بود که اسیدآمین‌های His163، His164، Gln189، Glu166، Cys145 و Phe140 به‌واسطه پیوندهای هیدروژنی نقش کلیدی در برهم‌کنش مهارکننده GC-376 با پروتئین Mpro دارند (شکل ۱). از سوی دیگر Ala191، Gln189، Met165 و Pro168 با برهم‌کنش‌های غیرقطبی با حلقه آروماتیک مهارکننده به اتصال محکم‌تر آن به جایگاه فعال آنزیم کمک می‌کنند (شکل ۱). لازم‌به ذکر است که ساختار سه بعدی کمپلکس Mpro و مهارکننده به‌همراه جهت‌گیری فضایی مهارکننده در درون جایگاه فعال پروتئین در شکل ۲ نشان داده شده است.

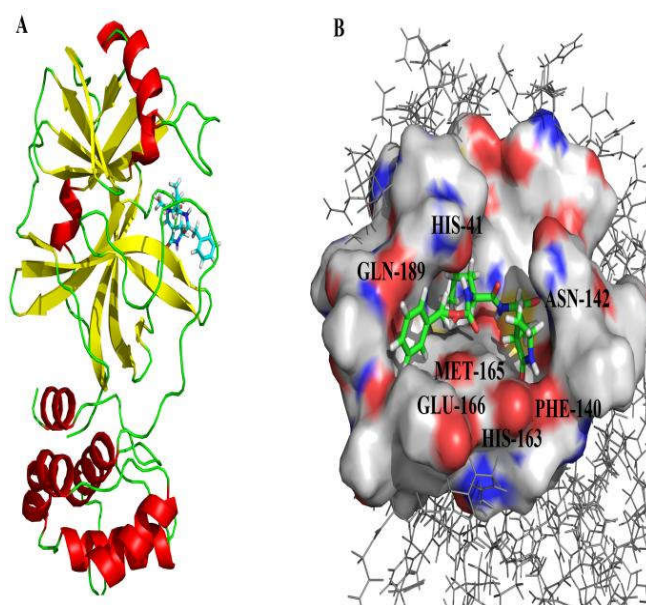
۳) پاکسازی ساختارهای انتخاب شده با استفاده از حداقل انرژی در پایان نتایج به‌صورت چند پارامتر انرژی به‌طور پیش‌فرض در ۱۰ مدل برای هر داکینگ ارائه می‌شود و دسته‌ای که بیش‌ترین تعداد جمعیتی و کم‌ترین مقدار انرژی را به خود اختصاص داده و بالاترین امتیاز را دارد می‌تواند محتمل‌ترین ترکیب باشد (۲۳).

نمای اتصال پروتئین و ترکیب‌های مهارکننده

برهم‌کنش اتصال پروتئین و ترکیب‌های مهارکننده و اتصال‌های هیدروژنی و هیدروفوبی توسط نرم‌افزار Poseview (۲۴) و DIMPLOT 3.1.5 (با استفاده از مدول DIMPLOT نرم‌افزار LigPlot) (۲۰۱۴) انجام شد که تصویر دو بعدی از پیوندهای هیدروژن را به‌صورت خطوط منقطع بین برهم‌کنش‌ها نشان می‌دهد. همچنین فعل و انفعال‌های آگریز به‌عنوان خطوط ممتد بین اسیدهای آمینه مربوطه و مهارکننده نشان داده می‌شود.



شکل ۱: نمای شماتیک برهم‌کنش هیدروژنی و هیدروفوبی کمپلکس Mpro و مهارکننده GC-376 (۲۴)



شکل ۲: ساختار سه بعدی کمپلکس Mpro و مهارکننده به همراه جهت گیری فضایی مهارکننده در درون جایگاه فعال پروتئین. (a) نمای نواری پروتئین و (b) نمای فضا پرکن (تصاویر به کمک نرم افزار DIMPLOT و Poseview رسم شده است)

برهم کنش‌های اسیدآمینه‌ای و انرژی‌های اتصال نشان می‌دهد که سهم اعظم برهم کنش‌های مهارکننده و پروتئین مربوط به برهم کنش‌های قطبی حاصل از پیوندهای هیدروژنی است.

بررسی انرژی اتصال ترکیب مهارکننده به پروتئین نشان می‌دهد که این ترکیب با انرژی اتصال $-6/36$ به مهارکننده متصل شده است که سهم‌های مختلف انرژی اتصال ترکیب در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج حاصل از بررسی

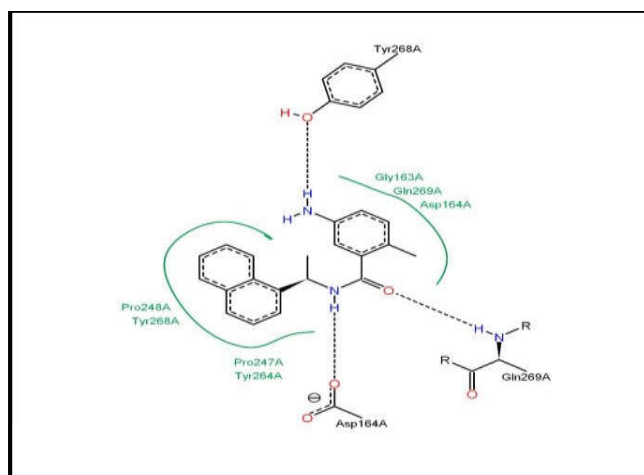
جدول ۱: انرژی‌های به دست آمده از پروتئین و مهارکننده GC-376 بر حسب کیلوکالری بر مول

Run	Torsional Energy	Unbond Energy	Internal Energy	انرژی اتصال	ساختار
۹۷	۳/۸۸	-۲/۱۶	-۱۰/۲۴	-۶/۳۶	کمپلکس Mpro

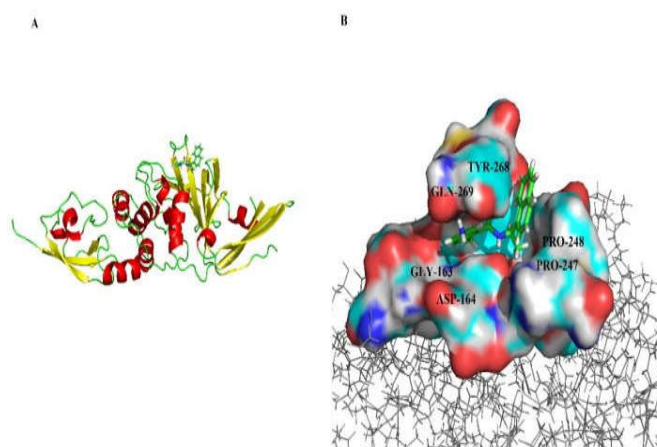
Tyr268 و Asp164 با ایجاد برهم کنش‌های غیرقطبی با حلقه آروماتیک مهارکننده به اتصال محکم‌تر آن به جایگاه فعال آنزیم کمک می‌کنند (شکل ۳). لازم به ذکر است که ساختار سه بعدی کمپلکس PLpro و مهارکننده به همراه جهت‌گیری فضایی مهارکننده در درون جایگاه فعال پروتئین در شکل ۴ نشان داده شده است.

نتایج داکینگ کمپلکس PLpro

بررسی برهم کنش‌ها حاکی از آن بود که اسیدآمینه‌های Tyr268، Gln269، و Asp164 به واسطه پیوندهای هیدروژنی نقش کلیدی در برهم کنش مهار کننده GRL0617 با پروتئین PLpro دارند (شکل ۳). از سوی دیگر Gly163، Pro247، Tyr264، Pro248، و Gln269



شکل ۳: نمای شماتیک برهم‌کنش هیدروژونی و هیدروفوبی کمپلکس PLpro و مهارکننده GRL0617 با استفاده از نرم‌افزار Poseview.



شکل ۴: ساختار سه بعدی کمپلکس PLpro و مهارکننده GRL0617 به همراه جهت‌گیری فضایی مهارکننده در درون جایگاه فعال پروتئین. (a) نمای نواری پروتئین و (b) نمای فضا پرکن (تصاویر به کمک نرم‌افزار DIMPLLOT و Poseview رسم شده است)

حاصل از بررسی برهم‌کنش‌های اسیدآمینهای و انرژی‌های اتصال نشان می‌دهد که سهم اعظم برهم‌کنش‌های مهارکننده و پروتئین PLpro مربوط به برهم‌کنش‌های قطبی حاصل از پیوندهای هیدروژنی است.

بررسی انرژی اتصال ترکیب مهارکننده به پروتئین PLpro نشان می‌دهد که این ترکیب با انرژی اتصال -۹/۶۹ به مهارکننده GRL0617 متصل شده است که سهم‌های مختلف انرژی اتصال ترکیب در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج

جدول ۲: انرژی‌های به‌دست آمده از پروتئین و مهارکننده GRL0617 بر حسب کیلو کالری بر مول

Run	Torsional Energy	Unbond Energy	Internal Energy	انرژی اتصال	ساختار
۱۸۰	۱/۱۹	-۰/۹۰	-۱۰/۸۸	-۹/۶۹	کمپلکس PLpro

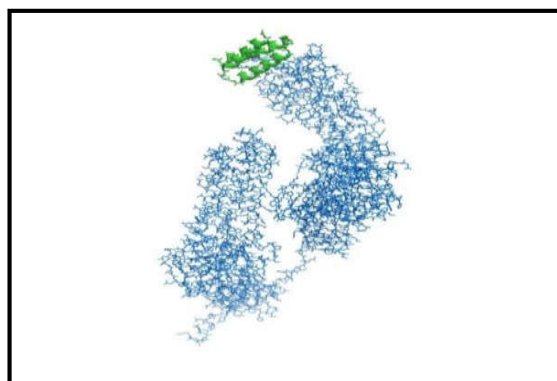
هیدروفوبی و قطبی بین اسیدآمین‌های مختلف این دو ترکیب وجود دارد که از جمله مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به برهم‌کنش اسیدآمین Tyr489 در پروتئین Spike با اسیدآمین‌های Leu6 و Gln7

نتایج حاصل از پروتئین Spike

در نهایت بررسی برهم‌کنش‌های پروتئین Spike و ترکیب LCB1 با استفاده از نرم‌افزارهای Cluspro و DIMPLLOT نشان داد که برهم‌کنش‌های متعدد

در پپتید مهار کننده اشاره کرد. همچنین Asn501 و Tyr505 در پروتئین به ترتیب با Met26 و Glu23 در پپتید برهم کنش های قوی ایجاد کرده و در نهایت Leu455 و Tyr453 برهم-

کنش مستقیمی با Ser29 داشتند. در شکل ۵ برهم کنش پروتئین Spike و پپتید LCB1 نشان داده شده است.



شکل ۵: در این شکل مهار کننده پپتید LCB1 به صورت آلفا هلیکس با رنگ سبز و ساختار Spike با رنگ آبی نشان داده شده است.

بحث

کرونا ویروس دارای ماده ژنتیکی منحصر به فردی است که می توان به میزان بالای نو ترکیبی ژنتیکی این ویروس اشاره کرد که هرچند سال یکبار منجر به پدیدار شدن سویه های جدید و ناشناخته می شود. دلیل این مقدار بالای نو ترکیبی را می توان به طول بسیار بلند ماده ژنتیکی این ویروس در مقایسه با سایر ویروس ها، تکثیر پیچیده و میزان بالای خطای آنزیم همانند ساز این ویروس و در نهایت، به دامنه میزبانی وسیع این ویروس ها در انسان ها و حیوانات مختلف نسبت داد. از این رو بین ماده ژنتیکی و هوش ویروسی با عقل و هوش انسانی نبردی بسیار سختی برقرار شده است و لازم است تا مکانیسم های مهاری آن به خوبی شناسایی و بررسی گردند. بنابراین در این مطالعه مکانیسم های مهاری پروتئین های Spike، Protease اصلی و Papain like protease در کرونا ویروس بررسی شد و نتایج نشان داد که اسید آمینه های His163، His164، Glu189، Glu166، Cys145 و Phe140 به واسطه پیوندهای هیدروژنی نقش کلیدی در برهم کنش مهار کننده GC-376 با پروتئین Mpro دارند. همچنین بررسی انرژی اتصال ترکیب مهار کننده به پروتئین نشان می دهد که این ترکیب با انرژی اتصال ۶/۳۶- به مهار کننده متصل شده است.

نتایج داکینگ کمپلکس PLpro حاکی از آن بود که اسید آمینه های Tyr268، Gln269، و Asp164 به واسطه پیوندهای هیدروژنی نقش کلیدی در برهم کنش مهار کننده با پروتئین PLpro دارند و انرژی اتصال ترکیب مهار کننده GRL0617 به پروتئین PLpro برابر با ۹/۶۹- بود. در نهایت بررسی برهم کنش های پروتئین Spike و پپتید LCB1 با استفاده از نرم افزارهای Cluspro و DIMPLLOT نشان داد که برهم کنش های متعدد هیدروفوبی و قطبی بین اسید آمینه های مختلف این دو ترکیب وجود دارد که از جمله مهم ترین آن ها می توان به برهم کنش اسید آمینه Tyr489 در پروتئین Spike با اسید آمینه های Leu6 و Gln7 در پپتید مهار کننده اشاره کرد. در راستای ارزیابی نتایج حاصل از این مطالعه بررسی کاملی بر روی مقاله های علمی انجام گرفت که در ادامه به معرفی تعدادی از مهم ترین آن ها می پردازیم. در سال ۲۰۲۰ Dai و همکاران به بررسی داروهای مهاری بر رو پروتئین Mpro پرداختند و نتایج آن ها نشان داد که اسید آمینه های His163، His164 و Phe140 نقش مهمی در برهم کنش مهار کننده های طراحی شده با پروتئین Mpro دارند. (۲۵). در سال ۲۰۲۰ Rut و همکاران به بررسی مهار کننده های PLpro در کرونا ویروس پرداختند و نتایج نشان داد که اسید آمینه های Gln269 و

حامی مالی

این مقاله حامی مالی نداشته است.

مشارکت نویسندگان

تمامی نویسندگان معیارهای استاندارد نویسندگی براساس پیشنهادات کمیته بین المللی ناشران مجلات پزشکی را دارا بودند.

تعارض منافع

بدین وسیله نویسندگان تصریح می کنند که هیچ گونه تضاد منافی در خصوص پژوهش حاضر وجود ندارد.

Asp164 نقش مهمی را در اتصال داروها به این پروتئین دارند (۲۶). هم چنین در سال ۲۰۲۰ Jin و همکاران به بررسی مهارکننده های پروتئین کروناویروس پرداختند و اظهار داشتند که اسیدآمینوهای Gln189، Glu166 و Cys145 نقش مهمی در اتصال مهارکننده به پروتئین دارند (۲۷). در سال ۲۰۲۰ Ma و همکاران به بررسی مهارکننده های Mpro پرداختند. این دانشمندان اظهار داشتند که Mpro می تواند نقطه شروع امیدوار کننده ای برای توسعه و پیشرفت داروهای کروناویروس داشته باشد (۲۰). در سال ۲۰۲۰ Ortega و همکاران Mpro را به عنوان یک هدف مولکولی در بیماری کروناویروس مورد بررسی قرار دادند و دریافتند که مهارکننده های Mpro به عنوان یک رویکرد جدید برای درمان کروناویروس می تواند مورد بررسی بیش تر قرار گیرد (۲۸). هم چنین در سال ۲۰۲۰ Alamiri و همکاران به بررسی مهارکننده های PLPro با استفاده از روش های محاسباتی پرداختند. در این بررسی سه ترکیب برای SARS-CoV-2 بررسی که شد که نتایج حاکی از اتصال های قوی اسیدآمینو Gln189 در پروتئین PLPro با ترکیب ها بود (۲۹). در سال ۲۰۰۵ Guillen و همکاران اظهار داشتند که پروتئین اسپایک می تواند به عنوان یکی از اصلی ترین پروتئین های مهاری برای کروناویروس ها باشد (۳۰).

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که ترکیب های مهارکننده ارائه شده در این مقاله می توانند به خوبی به واسطه برهم کنش های قطبی و هیدروفوبی موجب مهار پروتئین های حیاتی مهم در کروناویروس گردند.

ملاحظه های اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش اصول اخلاقی در نگارش مقاله، طبق دستورالعمل کمیته اخلاق کشوری و آیین نامه کپی رعایت شده است.

1. 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.
2. Tavakoli A, Vahdat K, Keshavarz M. Novel coronavirus disease 2019 (COVID-19): an emerging infectious disease in the 21st century. *ISMJ*. 2020;22(6):432-50.
3. Novel CPERE. The epidemiological characteristics of an outbreak of 2019 novel coronavirus diseases (COVID-19) in China. *Zhonghua liu xing bing xue za zhi= Zhonghua liuxingbingxue zazhi*. 2020;41(2):145.
4. Carlos WG, Dela Cruz CS, Cao B, Pasnick S, Jamil S. Novel Wuhan (2019-nCoV) Coronavirus. *Am J Respir Crit Care Med*. 2020:P7-P8.
5. Guan W-j, Ni Z-y, Hu Y, Liang W-h, Ou C-q, He J-x, et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *New England journal of medicine*. 2020;382(18):1708-20.
6. Chu DK, Pan Y, Cheng SM, Hui KP, Krishnan P, Liu Y, et al. Molecular diagnosis of a novel coronavirus (2019-nCoV) causing an outbreak of pneumonia. *Clinical chemistry*. 2020;66(4):549-55.
7. Loeffelholz MJ, Tang Y-W. Laboratory diagnosis of emerging human coronavirus infections—the state of the art. *Emerging microbes & infections*. 2020;9(1):747-56.
8. Goo J, Jeong Y, Park Y-S, Yang E, Jung D-I, Rho S, et al. Characterization of novel monoclonal antibodies against MERS-coronavirus spike protein. *Virus Research*. 2020;278:197863.
9. Peng X, Xu X, Li Y, Cheng L, Zhou X, Ren B. Transmission routes of 2019-nCoV and controls in dental practice. *International Journal of Oral Science*. 2020;12(1):1-6.
10. Coutard B, Valle C, de Lamballerie X, Canard B, Seidah N, Decroly E. The spike glycoprotein of the new coronavirus 2019-nCoV contains a furin-like cleavage site absent in CoV of the same clade. *Antiviral research*. 2020;176:104742.
11. McCallum M, Walls AC, Bowen JE, Corti D, Veisler D. Structure-guided covalent stabilization of coronavirus spike glycoprotein trimers in the closed conformation. *Nature Structural & Molecular Biology*. 2020:1-8.
12. Tian X, Li C, Huang A, Xia S, Lu S, Shi Z, et al. Potent binding of 2019 novel coronavirus spike protein by a SARS coronavirus-specific human monoclonal antibody. *Emerging microbes & infections*. 2020;9(1):382-5.
13. Elfiky A, Ibrahim NS. Anti-SARS and anti-HCV drugs repurposing against the Papain-like protease of the newly emerged coronavirus (2019-nCoV). 2020.
14. Harcourt BH, Jukneliene D, Kanjanahaluethai A, Bechill J, Severson KM, Smith CM, et al. Identification of severe acute respiratory syndrome coronavirus replicase products and characterization of papain-like protease activity. *Journal of virology*. 2004;78(24):13600-12.
15. Hilgenfeld R. From SARS to MERS: crystallographic studies on coronaviral proteases enable antiviral drug design. *The FEBS journal*. 2014;281(18):4085-96.

16. Zhao Q, Li S, Xue F, Zou Y, Chen C, Bartlam M, et al. Structure of the main protease from a global infectious human coronavirus, HCoV-HKU1. *Journal of virology*. 2008;82(17):8647-55.
17. Aanouz I, Belhassan A, El-Khatabi K, Lakhlifi T, El-Ldrissi M, Bouachrine M. Moroccan Medicinal plants as inhibitors against SARS-CoV-2 main protease: Computational investigations. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 2020:1-9.
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. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 2020:1-13.
19. Morris G, Goodsell D, Pique M, Lindstrom W, Huey R, Forli S, et al. AutoDock 4.2 with AutoDockTools. 2009.
20. Ma C, Sacco MD, Hurst B, Townsend JA, Hu Y, Szeto T, et al. Boceprevir, GC-376, and calpain inhibitors II, XII inhibit SARS-CoV-2 viral replication by targeting the viral main protease. *bioRxiv*. 2020.
21. Cao L, Goreshnik I, Coventry B, Case JB, Miller L, Kozodoy L, et al. De novo design of picomolar SARS-CoV-2 miniprotein inhibitors. *Science*. 2020.
22. Gao X, Qin B, Chen P, Zhu K, Hou P, Wojdyla JA, et al. Crystal structure of SARS-CoV-2 papain-like protease. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2020.
23. Kozakov D, Hall DR, Xia B, Porter KA, Padhorny D, Yueh C, et al. The ClusPro web server for protein–protein docking. *Nature protocols*. 2017;12(2):255.
24. Stierand K, Rarey M. PoseView--molecular interaction patterns at a glance. *Journal of cheminformatics*. 2010;2(1):1-.
25. 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(6497):1331-5.
26. Rut W, Lv Z, Zmudzinski M, Patchett S, Nayak D, Snipas SJ, et al. Activity profiling and structures of inhibitor-bound SARS-CoV-2-PLpro protease provides a framework for anti-COVID-19 drug design. *bioRxiv*. 2020.
27. Jin Z, Du X, Xu Y, Deng Y, Liu M, Zhao Y, et al. Structure of M pro from SARS-CoV-2 and discovery of its inhibitors. *Nature*. 2020:1-5.
28. Ortega JT, Serrano ML, Pujol FH, Rangel HR. Unrevealing sequence and structural features of novel coronavirus using in silico approaches: The main protease as molecular target. *EXCLI journal*. 2020;19:400.
29. Alamri MA, ul Qamar MT, Mirza MU, Alqahtani SM, Froeyen M, Chen L-L. Discovery of human coronaviruses pan-papain-like protease inhibitors using computational approaches. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2020.
30. Guillén J, Pérez-Berná AJ, Moreno MR, Villalaín J. Identification of the membrane-active regions of the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike membrane glycoprotein using a 16/18-mer peptide scan: implications for the viral fusion mechanism. *Journal of virology*. 2005;79(3):1743-52.

