



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 مکانیسم‌های مولکولی در مهار عملکرد پروتئین‌های Spike, Protease اصلی و Papain like protease در کرونا

ویروس با استفاده از شبیه‌سازی و داکینگ

سیمین بهمن‌پور، دکتر نوشا ضیاء جهرمی*

گروه زیست‌شناسی، 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 به‌عنوان یک همه‌گیری جهانی معرفی کرد. با توجه به این‌که تاکنون مکانیسم‌های مهاری آن به خوبی مشخص نشده است در این مقاله برآن شدیم تا به بررسی مکانیسم‌های مولکولی در مهار عملکرد پروتئین‌های Spike, Protease اصلی و Papain like protease در کروناویروس بپردازیم.

مواد و روش‌ها: در پژوهش حاضر کلیه محاسبات توسط نرم‌افزار (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 مدل‌های داکینگ تعداد ۲۰۰ اجرا گذاشته شد. در نهایت برهم‌کنش اتصال پروتئین و ترکیب‌های مهارکننده و اتصال‌های هیدروژنی و هیدروفوبی توسط نرم‌افزار Poseview و DIMPLOT محاسبه شد.

یافته‌ها: بررسی برهم‌کنش‌ها حاکی از آن بود که اسیدآمینوهای His163، His164، Gln189، Glu166، Cys145 و Phe140 به‌واسطه پیوندهای هیدروژنی نقش کلیدی در برهم‌کنش مهارکننده GC-376 با پروتئین Mpro دارند. همچنین بررسی انرژی اتصال ترکیب مهارکننده به پروتئین نشان می‌دهد 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 به‌واسطه پیوندهای هیدروژنی نقش کلیدی در برهم‌کنش مهارکننده GRL0617 با پروتئین PLpro دارند و انرژی اتصال ترکیب مهارکننده به پروتئین PLpro برابر با ۹/۶۹- بود. در نهایت بررسی برهم‌کنش‌های پروتئین Spike و پپتید LCB1 با استفاده از نرم‌افزارهای Cluspro و DIMPLOT نشان داد که برهم‌کنش‌های متعدد هیدروفوبی و قطبی بین اسیدآمینوهای مختلف این دو ترکیب وجود دارد که از جمله مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به برهم‌کنش اسیدآمینو Tyr489 در پروتئین Spike با اسیدآمینوهای Leu6 و Gln7 در پپتید مهار کننده اشاره کرد.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که ترکیب‌های مهارکننده ارائه شده در این مقاله می‌توانند به خوبی به‌واسطه برهم‌کنش‌های قطبی و هیدروفوبی موجب مهار پروتئین‌های حیاتی مهم در کروناویروس گردند.

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

مقدمه

نویسنده مسئول:

گروه زیست‌شناسی، 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 جمعیت-هایی 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 ایده-آل 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 مکانیسم‌های مولکولی در مهار عملکرد پروتئین‌های کروناویروس به خوبی مشخص نشده است در این مقاله برآن شدیم تا به بررسی مکانیسم‌های مهاری پروتئین‌های 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. هم‌چنین در هر یک از مدل‌های 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 برهم‌کنش اتصال پروتئین و ترکیب‌های مهارکننده و اتصال-های هیدروژنی و هیدروفوبی توسط نرم‌افزار Poseview و DIMPLOT محاسبه شد.

آماده‌سازی ساختار پروتئین‌ها

برای آماده‌سازی ساختار پروتئین Mpro، ساختار با کد دسترسی 6WTT (۲۰) از پایگاه اطلاعاتی پروتئین PDB (www.pdb.org) دریافت شد. هم‌چنین ساختار پروتئین Spike با کد 7JZL (۲۱) و ساختار پروتئین PLpro نیز با کد 7CMD (۲۲) از پایگاه اطلاعاتی پروتئین گرفته شد. ساختار مهارکننده برای این پروتئین‌ها از مقالات (۲۰-۲۲) استفاده گردید.

محاسبه بارهای جزئی و حالت‌های چرخش برای مهارکننده

در تحقیق حاضر برای محاسبه بارهای جزئی و حالت‌های چرخش مهارکننده از نرم‌افزار 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 ۶۰×۶۰×۶۰ با فاصله ۰/۳۷۵ 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 (بارجزئی برای مولکول مهارکننده محاسبه شد، هیدروژن‌های 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 حالت‌های مختلف اتصال مهارکننده به پروتئین محاسبه شد.

نرم‌افزار Cluspro2.0 (۲۰۱۷)

در این تحقیق برای بررسی پروتئین spike و پپتید مهاری LCB1 به دلیل محدودیت نرم‌افزار AutoDock برای محاسبه برهم‌کنش پروتئین‌ها و پپتیدها از نرم‌افزار Cluspro استفاده شد. Cluspro ابزاری است که به طور گسترده برای برهم‌کنش پروتئین-پروتئین مورد استفاده قرار می‌گیرد که فایل ورودی مورد نیاز آن نیز با قالب PDB است. هم‌چنین دارای تعدادی گزینه‌های پیشرفته است که برای تسریع و اصلاح در روند داکینگ می‌توان از آن‌ها استفاده نمود. این نرم-افزار مرحله محاسباتی را به این صورت انجام می‌دهد:

- مجموعه داکینگ جسم سخت با نمونه‌گیری میلیاردها ترکیب
- خوشه‌بندی مبتنی بر انحراف معیار ریشه (RMSD) از هزار ساختار با کم‌ترین انرژی تولید شده برای یافتن بزرگ‌ترین خوشه‌ها که متحمل-ترین مدل‌ها از ترکیب را نشان می‌دهد

یافته‌ها

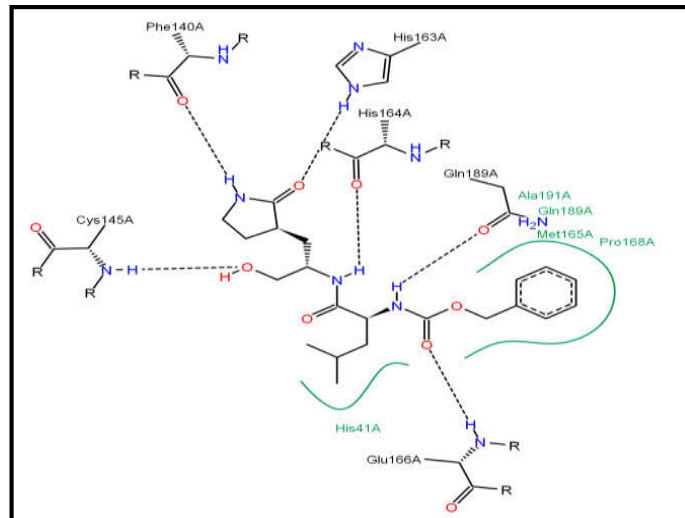
نتایج داکینگ کمپلکس Mpro

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). لازم‌به‌ذکر 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.

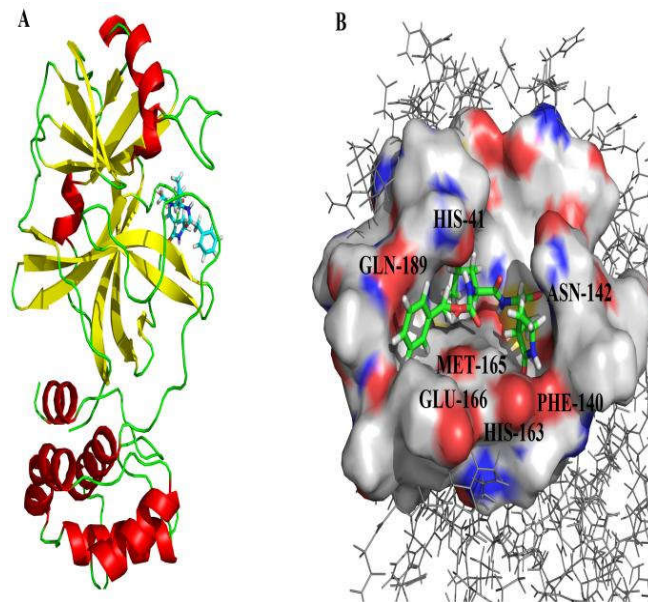
۳) پاکسازی ساختارهای انتخاب شده با استفاده از حداقل انرژی در پایان نتایج به‌صورت چند پارامتر انرژی به‌طور پیش‌فرض در ۱۰ مدل برای هر داکینگ ارائه می‌شود و دسته‌ای که بیش‌ترین تعداد جمعیتی و کم‌ترین مقدار انرژی را به خود اختصاص داده و بالاترین امتیاز را دارد می‌تواند محتمل‌ترین ترکیب باشد (۲۳).

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

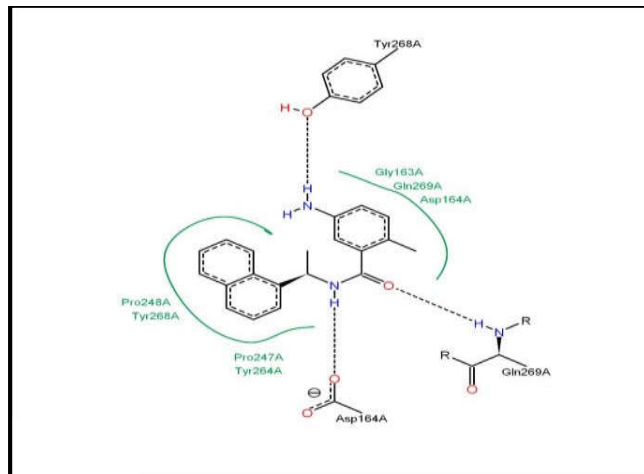
جدول ۱: انرژی‌های به دست آمده از پروتئین و مهارکننده GC-376 بر حسب کیلوکالری بر مول

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

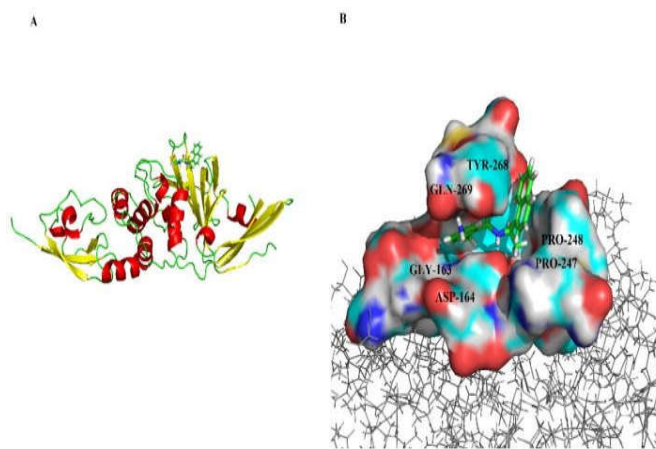
Tyr268 و Asp164 با ایجاد برهم کنش‌های غیرقطبی با حلقه آروماتیک مهارکننده به اتصال محکم‌تر آن به جایگاه فعال آنزیم کمک می‌کنند (شکل ۳). لازم به ذکر است که ساختار سه بعدی کمپلکس PLpro و مهارکننده به همراه جهت‌گیری فضایی مهارکننده در درون جایگاه فعال پروتئین در شکل ۴ نشان داده شده است.

نتایج داکینگ کمپلکس PLpro

بررسی برهم کنش‌ها حاکی از آن بود که اسیدآمین‌های 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 DIMPLOT 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 $-9/69$ 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

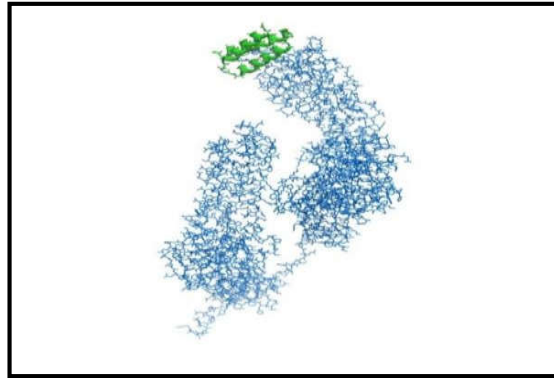
هیدروفوبی و قطبی بین اسیدآمین‌های مختلف این دو ترکیب وجود دارد که از جمله مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به برهم‌کنش اسیدآمین Tyr489 در پروتئین Spike با اسیدآمین‌های Gln7 و Leu6

نتایج حاصل از پروتئین Spike

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

در پپتید مهار کننده اشاره کرد. همچنین در Tyr505 و Asn501 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

کروناویروس 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 کروناویروس بررسی شد و نتایج نشان داد که اسید آمینه های His163، His164، Gln189، 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 DIMPLOT 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 کروناویروس 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 بین‌المللی ناشران مجلات پزشکی را دارا بودند.

تعارض منافع

بدین‌وسیله نویسندگان تصریح می‌کنند که هیچ‌گونه تضاد منافی در خصوص پژوهش حاضر وجود ندارد.

Asp164 نقش مهمی را در اتصال داروها به این پروتئین دارند (۲۶). هم‌چنین در سال ۲۰۲۰ Jin و همکاران به بررسی مهارکننده‌های پروتئین کروناویروس پرداختند و اظهار داشتند که اسیدآمین‌های Gln189، Glu166 و Cys145 نقش مهمی در اتصال مهارکننده به پروتئین دارند (۲۷). در سال ۲۰۲۰ Ma و همکاران به بررسی مهارکننده‌های Mpro پرداختند. این دانشمندان اظهار داشتند که Mpro می‌تواند نقطه شروع امیدوار کننده‌ای برای توسعه و پیشرفت داروهای کروناویروس داشته باشد (۲۰). در سال ۲۰۲۰ Ortega و همکاران Mpro را به‌عنوان یک هدف مولکولی در بیماری کروناویروس مورد بررسی قرار دادند و دریافتند که مهارکننده‌های Mpro به‌عنوان یک رویکرد جدید برای درمان کروناویروس می‌تواند مورد بررسی بیش‌تر قرار گیرد (۲۸). هم‌چنین در سال ۲۰۲۰ Alamiri و همکاران به بررسی مهارکننده‌های PLPro با استفاده از روش‌های محاسباتی پرداختند. در این بررسی سه ترکیب برای SARS-CoV-2 بررسی که شد که نتایج حاکی از اتصال‌های قوی اسیدآمین Gln189 در پروتئین PLPro با ترکیب‌ها بود (۲۹). در سال ۲۰۰۵ Guillen و همکاران اظهار داشتند که پروتئین اسپایک می‌تواند به‌عنوان یکی از اصلی‌ترین پروتئین‌های مهاری برای کروناویروس‌ها باشد (۳۰).

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که ترکیب‌های مهارکننده ارائه شده در این مقاله می‌توانند به‌خوبی به‌واسطه برهم‌کنش‌های قطبی و هیدروفوبی موجب مهار پروتئین‌های حیاتی مهم در کروناویروس گردند.

ملاحظه‌های اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش اصول اخلاقی در نگارش مقاله، طبق دستورالعمل کمیته اخلاق کشوری و آیین‌نامه 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.

