

غربالگری بیوانفورماتیکی مهارکننده(های) پروتئاز NS3/4A ویروس هپاتیت سی از دو گیاه دارویی *Syzygium aromaticum* و *Cornus officinalis*

زهرا شاکران: دانشجوی دکتری نانوبیوتکنولوژی، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران.
*مختار نصرتی: دانشجوی دکتری نانوبیوتکنولوژی، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران (*نویسنده مسئول).
mokhtar.nosrati1393@gmail.com
زینب شاکران: دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۶/۹/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۲/۱۶

چکیده

زمینه و هدف: عفونت ناشی از ویروس هپاتیت سی یکی از معضلات مهم پیش روی سلامت عمومی و یکی از عوامل اصلی مرگ و میر در جهان است. بنابراین اخیراً پژوهش‌های زیادی با هدف معرفی ترکیبات جدید و موثر ضد هپاتیت سی بویژه ترکیبات گیاهی انجام شده است. هدف از پژوهش حاضر غربالگری بیوانفورماتیکی مهارکننده(های) پروتئاز ویروس هپاتیت سی از دو گیاه دارویی *Syzygium aromaticum* و *Cornus officinalis* می‌باشد.

روش کار: ابتدا ساختار سه بعدی پروتئاز ویروس هپاتیت سی و ترکیبات غالب گیاهان مذکور به ترتیب از پایگاه داده‌های پروتئین و Pubchem دریافت شد. سپس خصوصیات فیزیوشیمیایی ترکیبات گیاهی و پتانسیل سمیت سلولی و جهش‌زایی آن‌ها با استفاده از نرم افزارهای Swiss ADME و Toxtree پیش‌بینی شد. در نهایت ترکیبات گیاهی و پروتئاز هپاتیت سی در بررسی داکینگ مولکولی با استفاده از نرم افزار iGemdock 2.1 مورد مطالعه قرار گرفتند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که ترکیبات مورد بررسی فاقد پتانسیل جهش‌زایی و سمیت سلولی هستند. نتایج بدست آمده حاکی از برهمکنش‌های قوی و مناسب ترکیبات مورد مطالعه با آنزیم NS3/4A خصوصاً در ناحیه‌ی مسئول فعالیت پروتئازی است. افزون بر این مشخص شد که ۱۰۲۶- Rhamnetin, Isoquercitrin, Hyperoside, Trigalloylglucose, Ursolic acid و Methyl salicylate برهمکنش‌های قوی‌تری را با اسید آمینه‌های کلیدی جایگاه فعال آنزیم ایجاد می‌کنند.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج حاصل شده می‌توان نتیجه گرفت که ترکیبات گیاهی مورد بررسی می‌توانند به عنوان نامزد‌های مناسبی جهت بررسی‌های برون و درون تنی به منظور دستیابی به ترکیبات ضد هپاتیت سی مورد ارزیابی قرار گیرند.

کلیدواژه‌ها: پروتئاز NS3/4A، ویروس هپاتیت سی، بیوانفورماتیک، ترکیبات گیاهی

مقدمه

ویروس هپاتیت سی بر روی نواحی غیر ساختاری این پروتئین طویل شامل نواحی NS3/NS4A، NS4A/4B، NS4B/5A و NS5A/5B اثر گذاشته که این عمل وابسته به فعالیت سرین پروتئاز NS3 (Cpro-2) است. پروتئین NS4 نیز به‌عنوان کوفاکتور پروتئاز NS3 عمل می‌نماید. شکسته شدن پلی پروتئین مذکور توسط فعالیت پروتئازی NS3، در تکثیر ویروس و تکمیل چرخه عفونی آن از اهمیت بالایی برخوردار است (۵).

پروتئین NS3 یک پروتئین هترودایمر از اعضای خانواده‌ی کموتریپسین سرین پروتئاز با عملکرد چندگانه بوده و فعالیت سرین پروتئازی آن در ناحیه‌ی یک سوم انتهای آمینی می‌باشد. ناحیه‌ی

ویروس هپاتیت سی در سال ۱۹۸۹ توسط چو و همکاران شناسایی شد و بر اساس مطالعات صورت گرفته بیش از یکصد و هفتاد میلیون نفر در سرتاسر جهان به این ویروس آلوده هستند (۱ و ۲). ویروس هپاتیت سی غالباً موجب هپاتیت مزمن، سیروز کبدی و در موارد شدیدتر موجب سرطان کبد می‌شود (۳). ژنوم این ویروس دارای قالب خواندن باز (ORF) منحصربه‌فردی است که موجب تولید پلی پروتئین منفرد طولی می‌شود. این پروتئین تحت تأثیر پروتئازهای سلول میزبان و نیز پروتئازهای کد شده توسط ویروس، به قطعات کوتاه‌تری تبدیل می‌شود (۴). پروتئازهای

هیپاتیت سی مورد بررسی قرار گرفته است (۱۱) و (۱۴).

بررسی اثربخشی ترکیبات دارویی و اثرات جانبی آن‌ها اعم از سمیت ژنتیکی و سلولی و نیز خصوصیات فیزیکیوشیمیایی با استفاده از روش‌های مرسوم نیازمند تجهیزات پیشرفته و صرف وقت و هزینه‌های زیادی می‌باشد. لذا روش‌های موازی و مکمل به‌ویژه روش‌های محاسباتی که با ضریب اطمینان بالا اثربخشی ترکیبات دارویی و نیز سمیت احتمالی آن‌ها را پیش‌بینی می‌کنند طی سال‌های اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته اند (۱۵).

بر این اساس ابزارهای بیوانفورماتیکی مختلفی با هدف پیش‌بینی خواص دارویی نظیر اثرات ضد میکروبی، سمیت سلولی و ژنتیکی طی سال‌های اخیر معرفی شده‌اند. استفاده از ابزارهای مذکور در کنار و یا قبل از کارآزمایی‌های آزمایشگاهی و بالینی علاوه بر کاهش هزینه‌ها و زمان پژوهش‌های مختلف احتمال بروز خطا را نیز کاهش می‌دهند (۱۶).

وجود طیف گسترده‌ای از ترکیبات شیمیایی در گیاهان ارزیابی اثربخشی آن‌ها در کاربردهای مختلف را با محدودیت مواجه کرده است. بنابراین استفاده از روش‌های بیوانفورماتیکی جهت ارزیابی ایمنی و نیز مکانیسم اثر آن‌ها رهیافتی مؤثر در راستای نیل به اهداف پژوهش‌های مختلف و نیز کاهش هزینه‌هاست (۱۵ و ۱۷).

با توجه به نرخ بالای عفونت‌زایی و اهمیت بالای هیپاتیت سی اخیراً پژوهش‌های بیوانفورماتیکی و آزمایشگاهی زیادی به‌منظور دستیابی به ترکیبات نوین جهت درمان یا کنترل این بیماری انجام شده است. در این راستا ماده‌یوی و همکاران در پژوهش خود به غربالگری ترکیبات مؤثر دارویی با قابلیت مهار تکثیر ویروس هیپاتیت سی پرداختند. نتیجه پژوهش آن‌ها نشان داد که کوئرستگتین به‌طور مؤثری می‌تواند آنزیم RNA پلیمرز وابسته به RNA ویروس مذکور را مهار کند (۱۸). در پژوهشی دیگر گالانی و همکاران نشان دادند که عصاره‌ی متانولی *Trichilia dregeana* و *Detarium microcarpum*

دو سوم انتهایی کربوکسیلی دارای فعالیت هلیکازی NTPase/RNA است (۶). پروتئین NS3/4A ویروس هیپاتیت سی قابلیت فرار از سیستم ایمنی را به واسطه‌ی مهار فعالیت عامل تنظیمی اینترفرون ۳ (IRF-3) دارا می‌باشد (۷) و (۸). مهارکنندگان پروتئاز NS3/4A موجب کنترل تکثیر و کنترل چرخه‌ی عفونی ویروس هیپاتیت سی می‌شوند. هدفگیری پروتئین NS3 از دو مسیر می‌تواند اثر مهارکنندگی بر روی ویروس هیپاتیت سی داشته باشد که شامل مهار همانندسازی ویروسی و نیز بازگرداندن کنترل ایمنی ذاتی سلول‌های کبدی برای مقابله با این ویروس است؛ بنابراین هدف‌گیری پروتئاز ویروس هیپاتیت سی بوسیله عوامل و ترکیبات ضد ویروسی می‌تواند رهیافتی برای مبارزه با پیشرفت این بیماری شود (۹).

تاکنون هیچ واکنشی به‌منظور پیشگیری از هیپاتیت سی تایید نشده است و داروهایی نیز که برای درمان این بیماری تجویز می‌شوند کارایی بالایی نداشته و یا همراه با اثرات جانبی بر سلول‌ها و بافت‌های بدن هستند. یکی از چالش‌های انتخاب مهارکننده‌های پروتئاز ویروس هیپاتیت سی عدم اثر جانبی مهارکننده بر سلول‌های سالم و نیز جلوگیری از بروز زود هنگام مقاومت‌های دارویی است. یکی از داروهای رایج جهت درمان هیپاتیت سی، ترکیب اینترفرون آلفای پگیله شده و ریبوایرین است که تنها برای برخی از بیماران مؤثر بوده و دارای اثرات جانبی فراوان است؛ بنابراین جهت درمان بیماری هیپاتیت سی نیاز به بهره‌گیری و طراحی سیستم‌های دارویی نوین، کارآمد، ارزان و ایمن است که بتواند به صورت اختصاصی بر روی عوامل مولکولی درگیر در مسیر تکثیر ویروس عمل نمایند. هدفگیری و مهار پروتئاز NS3/4A بوسیله عوامل و ترکیبات طبیعی می‌تواند در بهبود و درمان هیپاتیت سی مؤثر باشد (۱۰). ترکیبات دارویی با منشاء گیاهی علاوه بر ایمن بودن به دلیل در دسترس بودن، تنوع در ساختارها و ارزان بودن از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند. در یافته‌های مختلفی نیز تأثیر عوامل و ترکیبات گیاهی بر روی پروتئازهای ویروس

شیوه ی توصیفی - تحلیلی انجام گرفته است. در گام نخست مجموعه ای از ترکیبات گیاهی مربوط به دو گونه (*C. officinalis* و *S. aromaticum*) که اثربخشی آن‌ها در درمان و جلوگیری از پیشرفت بیماری هپاتیت سی طی بررسی های آزمایشگاهی تایید شده بود به عنوان لیگاند انتخاب شدند (جدول ۱). ساختار سه بعدی لیگاندهای مذکور از پایگاه داده‌های ترکیبات شیمیایی به آدرس (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) دریافت شد. ساختار سه بعدی آنزیم NS3/4A ویروس هپاتیت سی نیز از پایگاه داده های پروتئین به آدرس (<http://www.rcsb.org>) با شماره دسترسی 4NWL دریافت شد.

بهینه سازی ساختار و انرژی: به منظور بررسی بهمکنش لیگاند و گیرنده در پایدارترین حالت از لحاظ انرژی و ساختار، پیش از بررسی نهایی، ساختار سه بعدی تمامی لیگاندها و مولکول گیرنده از لحاظ انرژی و ساختار با استفاده از بخش بهینه سازی نرم افزار Chimera5 بهینه سازی شدند.

پیش‌بینی سمیت و خصوصیات فیزیکیوشیمیایی لیگاندهای مورد بررسی: دارا بودن خصوصیات فیزیکیوشیمیایی مطلوب و عدم سمیت در کنار اثربخشی دارویی از جمله شاخص های مهم جهت ارزیابی یک مولکول به عنوان نامزد دارویی است. لذا در پژوهش حاضر خصوصیات فیزیکیوشیمیایی شامل حلالیت در آب، میزان قطبیدگی (TPSA)، پخش (logD)، نفوذ (logD)، و قابلیت مهار ۵ سیتوکروم مهم شامل: CYP1A2، CYP2C19، CYP2C3A4، CYP3A4 با استفاده از سرور SwissADME (آدرس <http://www.swissadme.ch>) پیش‌بینی شد. سرور مذکور در واقع یک نرم افزار آنلاین بوده که با دریافت اطلاعات مولکول شیمیایی در قالب فایل mol یا SMILE امکان پیش‌بینی خصوصیات فیزیکیوشیمیایی و سمیت سلولی را فراهم می‌آورد. علاوه بر این پتانسیل جهش زایی ترکیبات مورد بررسی توسط نرم افزار Toxtree2.6 پیش‌بینی شد. این نرم افزار با دارا بودن کتابخانه از گروه های عاملی و ترکیبات شیمیایی جهش زا ترکیب مورد بررسی

capitata قابلیت ضد ویروسی چشمگیری علیه ویروس هپاتیت سی از خود نشان می‌دهند (۱۹). نتیجه ی پژوهش جاکوب و همکاران نیز نشان داد که عصاره ی آبی خار مریم قابلیت ضد ویروسی چشمگیری علیه ویروس هپاتیت سی دارد (۲۰). مپراسرت و همکاران در مطالعه‌ای بیوانفورماتیکی به غربالگری مهارکننده‌های مؤثر آنزیم پروتئاز ویروس هپاتیت سی پرداختند. نتیجه مطالعه آن‌ها نشان داد که برخی ترکیبات موجود در پایگاه داده‌های مواد شیمیایی (ZINC) می‌توانند گزینه‌های مناسبی برای درمان هپاتیت سی باشند (۲۱). لیو و همکاران نیز در مطالعه خود به بررسی قابلیت ضد هپاتیت سی فلاوونوئیدها پرداخته و با استفاده از داکینگ مولکولی نشان دادند که لتولین و قابلیت ضد ویروسی چشمگیری دارند (۲۲). باستو و همکاران نیز به غربالگری بیوانفورماتیکی مهارکننده‌های مؤثر تکثیر ویروس هپاتیت سی پرداخته و نشان دادند که مشتقات مختلف پیرولون قابلیت ضد ویروسی چشمگیری علیه ویروس مذکور دارند (۲۳).

زغال اخته با نام علمی *Cornus officinalis* از جمله گیاهان خوراکی با خواص متعدد دارویی است که طی بررسی انجام شده توسط وانگ و همکاران مشخص شد که این گیاه دارای خواص ضد ویروسی چشمگیری علیه ویروس هپاتیت سی است (۲۴). افزون بر این در پژوهشی مشابه در مورد خواص ضد ویروسی گیاه میخک با نام علمی *Syzygium aromaticum* نیز مشخص شد که اسانس این گیاه دارای اثرات ضد ویروسی چشمگیری علیه ویروس هپاتیت سی می‌باشد (۱۱). بر این اساس در پژوهش حاضر، اثربخشی ترکیبات فیتوشیمیایی مختلف دو گونه گیاهی *C. officinalis* و *S. aromaticum* که در پژوهش‌های آزمایشگاهی اثرات ضد ویروسی آن‌ها تایید شده در مهار آنزیم پروتئاز ویروس هپاتیت سی با استفاده از روش داکینگ مولکولی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته است.

روش کار

جمع آوری داده‌های اولیه: پژوهش حاضر به

جدول ۱- ترکیبات گیاهی مورد بررسی جهت غربالگری مهارکننده های آنزیم NS3/4A و ویروس هپاتیت سی

فرمول مولکولی	کد دسترسی در Pubchem	نام ترکیب	گونه گیاهی
C30H48O3	۱۰۴۹۴	oleanolic acid	<i>Cornus officinalis</i>
C30H48O3	۶۴۹۴۵	ursolic acid	
C27H24O18	۴۴۰۳۰۸	1,2,6-Trigalloylglucose	
C15H10O6	۵۲۸۰۸۶۳	kaempferol	
C16H12O6	۵۲۸۱۶۶۶	Kaempferide	
C15H10O7	۵۲۸۰۳۴۳	quercetin	
C21H20O12	۵۲۸۰۸۰۴	Isoquercitrin	
C21H20O12	۵۲۸۱۶۴۳	Hyperoside	
C17H26O10	۸۷۶۹۱	Loganin	
C12H14O3	۷۱۳۶	Acetylugenol	<i>Syzygium aromaticum</i>
C15H24	۵۲۸۱۵۱۵	beta-caryophyllene	
C8H8O3	۱۱۸۳	vanillin	
C30H48O4	۷۳۶۵۹	crategolic acid	
C8H8O3	۴۱۳۳	methyl salicylate	
C11H10O4	۱۰۱۸۹	Eugenin	
C15H10O6	۵۲۸۰۸۶۳	kaempferol	
C16H12O7	۵۲۸۱۶۹۱	Rhamnetin	
C12H12O4	۳۰۸۳۵۸۱	Eugenitin	
C30H48O3	۱۰۴۹۴	oleanolic acid	
C29H48O	۵۲۸۰۷۹۴	stigmasterol	
C28H48O	۱۷۳۱۸۳	campesterol	
C27H45N5O5	۱۰۳۲۴۴۶۷	Boceprevir	کنترل مثبت

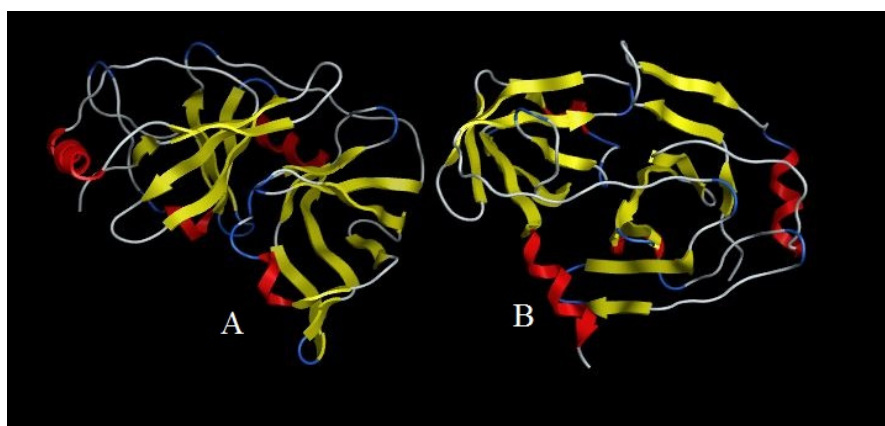
یافته‌ها

بررسی ساختار سه بعدی آنزیم NS3/4A: ساختار سه بعدی پروتئاز NS3/4A و ویروس هپاتیت سی از پایگاه داده‌های مربوط به پروتئین ها، RCSB، به آدرس (<https://www.rcsb.org>) با شماره دسترسی 4NWL بدست آمد. ساختار پروتئین مذکور با فرمت (PDB) در تصویر ۱ نشان داده شده است. آنزیم مذکور متشکل از ۲۱۹ اسید آمینه است که در دو زنجیره‌ی A و B ساماندهی شده است.

پیش‌بینی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و پتانسیل سمیت ترکیبات مورد بررسی: نتایج حاصل از پیش‌بینی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و پتانسیل سمیت ترکیبات گیاهی مورد بررسی در جدول ۲ نشان داده شده است. طبق نتایج حاصل شده، هیچ کدام از لیگاندهای مورد بررسی پتانسیل جهش‌زایی و سمیت سلولی ندارند. همچنین مشخص شد که ترکیبات حاصل از گیاه *S. aromaticum* از لحاظ تئوری جذب گوارشی بالاتری دارند. نتایج

را از لحاظ ساختار بررسی کرده و بر اساس وجود یا عدم وجود گروه‌های جهش‌زا ماده‌ی مورد آزمون را در یکی از دو گروه بی‌خطر و جهش‌زا طبقه‌بندی می‌کند.

داکینگ مولکولی: به منظور ارزیابی قابلیت ترکیبات گیاهی مورد بررسی در مهار آنزیم NS3/4A و ویروس هپاتیت سی از روش داکینگ مولکولی با استفاده از نرم افزار iGemdock 2.1 استفاده شد. پارامترهای استفاده شده جهت انجام داکینگ مولکولی در این نرم افزار برای تمامی ترکیبات مورد بررسی ثابت و به صورت نوع داکینگ استاندارد، تعداد دفعات برهمکنش ۷۰، قطر ناحیه برهمکنش ۲۰۰ آنگستروم و بررسی برهمکنش‌های الکتریکی، هیدروژنی (با آستانه‌ی انرژی ۲/۵- کیلوژول بر مول)، و اندروالسی (با انرژی آستانه‌ی ۴- کیلوژول بر مول) بود.



تصویر ۱- ساختار سه بعدی آنزیم NS3/4A ویروس هپاتیت سی

جدول ۲- نتایج حاصل از پیش بینی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و پتانسیل سمیت سلولی و ژنتیکی در ترکیبات گیاهی مورد بررسی

Name	logP	logD	TPSA	logS	جذب گوارشی	CYP1A2 inhibitor مهار سینتوکروم	CYP2C19 inhibitor مهار سینتوکروم	CYP2C9 inhibitor مهار سینتوکروم	CYP3A4 inhibitor مهار سینتوکروم	پتانسیل چشم زایی
1,2,6- Trigalloylglucose	-۰/۳۶	-۰/۵۸۸	۳۱۰/۶۶	-۳/۶۵	کم	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر
hyperoside	-۰/۳۶	-۰/۷۶۷	۲۱۰/۵۱	-۳/۰۴	کم	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر
Isoquercitrin	-۰/۳۶	-۰/۷۶۷	۲۱۰/۵۱	-۳/۰۴	کم	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر
Kaempferide	۲/۲۲	۲/۲۲۲	۱۰۰/۱۳	-۳/۵۱	زیاد	بلی	خیر	خیر	بلی	خیر
kaempferol	۱/۹۰	۱/۸۶۴	۱۱۱/۱۳	-۳/۳۱	زیاد	بلی	خیر	خیر	بلی	خیر
loganin	-۱/۳۹	-۱/۵۴۸	۱۵۵/۱۴	-۱/۰۵	کم	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر
oleanolic acid	۷/۴۹	۵/۰۹۹	۵۷/۵۳	-۷/۳۲	کم	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر
quercetin	۱/۵۴	۱/۵۲۹	۱۳۱/۳۶	-۳/۱۶	زیاد	بلی	خیر	خیر	بلی	خیر
ursolic acid	۷/۳۴	۴/۸۹۲	۵۷/۵۳	-۷/۲۳	کم	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر
acetyl eugenol	۲/۳۰	۲/۶۱۱	۳۵/۵۳	-۲/۵۳	زیاد	بلی	خیر	خیر	خیر	خیر
beta- caryophyllene	۴/۳۸	۵/۷۶۱	-۰/۰۰	-۳/۸۷	کم	خیر	بلی	بلی	خیر	خیر
campesterol	۸/۸۰	۹/۱۸۲	۲۰/۲۳	-۷/۵۴	کم	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر
crategolic acid	۶/۵۱	۳/۹۵۱	۷۷/۷۶	-۶/۸۱	زیاد	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر
eugenitin	۲/۴۵	۲/۰۸۶	۵۹/۶۷	-۳/۱۵	زیاد	بلی	خیر	خیر	خیر	خیر
flavonoids	۲/۵۸	۱/۷۹۳	۵۹/۶۷	-۳/۱۷	زیاد	بلی	خیر	خیر	خیر	خیر
eugenin	۱/۹۰	۱/۸۴۸	۱۱۱/۱۳	-۳/۳۱	زیاد	بلی	خیر	خیر	بلی	خیر
kaempferol	۱/۹۰	۱/۸۴۸	۱۱۱/۱۳	-۳/۳۱	زیاد	بلی	خیر	خیر	بلی	خیر
methyl salicylate	۲/۵۵	۲/۱۳۱	۴۶/۵۳	-۲/۶۶	زیاد	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر
oleanolic acid	۷/۴۹	۵/۰۹۹	۵۷/۵۳	-۷/۳۲	کم	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر
rhamnetin	۱/۸۷	۱/۸۶۸	۱۲۰/۳۶	-۳/۳۶	زیاد	بلی	خیر	خیر	بلی	خیر
stigmasterol	۸/۵۶	۹/۱۷۳	۲۰/۲۳	-۷/۴۶	کم	خیر	خیر	بلی	خیر	خیر
vanillin	۱/۲۱	۱/۲۰۶	۴۶/۵۳	-۱/۸۲	زیاد	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر

در گیاه *C. officinalis* می‌باشد ترکیب مذکور یکی از شناخته شده ترین اریدوئید گلیکوزیدهاست. علاوه بر این نتایج نشان داد که بیشترین و کمترین میزان قابلیت نفوذ در بین لیگاندهای مورد بررسی به ترتیب مربوط به ترکیب campesterol و loganin می‌باشد. بررسی پخش و توزیع ترکیبات نیز حاکی از بیشترین و کمترین درجه توزیع برای campesterol و loganin

بدست آمده از پیش‌بینی حلالیت لیگاندها در آب نیز بیانگر حلالیت بالاتر ترکیبات گیاه *S. aromaticum* می‌باشد، که در این بین campesterol بیشترین میزان حلالیت در آب را دارا می‌باشد. این ترکیب دارای ساختاری شبیه به کلاسترول بوده و در غالب میوه‌ها، دانه‌ها و مغزها در مقادیر مختلفی وجود دارد. در مقابل کمترین میزان حلالیت مربوط به ترکیب loganin موجود

جدول ۳- پیش بینی برهمکنش بین لیگاندهای فیتوشیمیایی و پروتئاز NS3/4A ویروس هپاتیت سی با روش داکینگ مولکولی

نام ترکیب	انرژی برهمکنش (کیلوژول بر مول)	اسیدآمینوهای درگیر در برهمکنش
1,2,6-Trigalloylglucose hyperoside	-۱۲۴/۶	ARG118 – SER1 – GLY2 – ASP3 – THR4 – ALA5 – TYR105 – ALA111 – SER102 – ARG118 – ASP3 – TYR105 – VAL113 – VAL113
Isoquercitrin	-۱۱۲/۳	ARG118 – ARG118 – ASP121 – ASP121 – SER128 – ARG118 – ARG119 – GLY120 – ASP121 – ASP121 – TYR105 – PRO115
Kaempferide	-۱۰۱/۳	SER102 – SER125 – TYR105 – CYS145 – PRO146 – ARG117 – ARG118 – ARG119 – TYR105 – VAL113 – VAL125
kaempferol	-۹۲/۸	HIS57 – LEU135 – GLY137 – SER138 – SER139 – ALA157 – HIS57 – ASP81 – PHE154 – ARG155 – ALA156 – ALA157
loganin	-۹۷/۳	THR42 – HIS57 – GLY137 – SER138 – SER139 – ALA157 – THR42 – PHE43 – HIS57 – LYS136 – GLY137 – SER139 – PHE154
oleanolic acid	-۸۷/۷	THR42 – LEU135 – GLY137 – SER138 – SER139 – GLN41 – HIS57 – LYS136 – LYS136 – GLY137 – GLN53
quercetin	-۸۰/۹	ARG118 – GLY120 – ARG118 – ARG118 – ARG119 – GLY120 – TYR105 – VAL113 – VAL125
ursolic acid	-۹۳	HIS57 – LEU135 – GLY137 – SER138 – SER139 – ARG155 – ALA157 – PHE154 – ARG155 – ALA156 – ALA157
acetyl eugenol	-۷۸/۶	LYS136 – GLY137 – SER138 – SER139 – HIS57 – LYS136 – GLY137 – SER139 – ALA156 – ALA157
beta-caryophyllene campesterol	-۷۰/۶۴	LYS68 – GLN89 – SER66 – PRO67 – PRO88 – GLN89
crategolic acid	-۵۹/۵	GLY41 – PHE43 – HIS57 – LYS 136 – GLY137
eugenitin	-۸۶/۳	ARG130 – ASP3 – THR4 – ASP112 – ASP112 – VAL113 – VAL113 – VAL125 – ILE126
flavonoids eugenin	-۸۲/۷	ARG117 – ARG117 – SER101 – ARG117 – PRO146 – PRO146 – ALA147
kaempferol	-۹۳/۳	HIS57 – HIS 57 – LEU135 – GLY137 – SER138 – SER139 – SER139
methyl salicylate	-۸۰/۸	LYS136 – LYS136 – SER138 – SER139
oleanolic acid	-۹۷/۳	ARG11 – GLY12 – THR42 – VAL5 – GLU13 – SER37 – THR42 – VAL7 – VAL7
rhamnetin	-۹۷/۳	THR42 – HIS57 – GLY137 – SER138 – SER139 – ALA157 – THR42 – PHE43 – HIS57 – LYS136 – GLY137 – SER139 – PHE154
stigmasterol	-۷۶/۳	HIS57 – LEU135 – GLY137 – SER138 – SER139 – SER139 – HIS57 – LYS136 – LYS136 – SER139
vanillin	-۸۰/۹	ARG118 – GLY120 – ARG118 – ARG118 – ARG119 – GLY120 – TYR105 – VAL113 – VAL125
Boceprevir	-۱۰۰/۳	SER20 – GLN21 – THR38 – GLU13 – CYS 16 – GLN17 – GLN17 – SER37 – THR38 – ALA39 – VAL7
	-۷۸/۸	GLY31 – SER1 – SER1 – GLY2 – ASP3 – ASP3 – THR4 – TYR6 – GLU30
	-۷۱/۴	SER1 – GLY2 – SER1 – TYR6 – GLU30
	-۱۰۹/۱۸۹	ALA5 – ALA111 – ASP112 – ALA5 – TYR105 – ASP112 – ASP112 – VAL113 – VAL113 – VAL125 – VAL125

گیاهی و آنزیم می‌باشند. علاوه بر این بررسی مقایسه ای نتایج نشان داد که ترکیبات حاصل از گیاه *C. officinalis* دارای برهمکنش قوی تری با پروتئاز NS3/4A هستند. محکم ترین برهمکنش مربوط به ترکیب 1,2,6-Trigalloylglucose می‌باشد که انرژی آن معادل با ۱۲۴/۶- کیلوژول بر مول است. ضعیف ترین میزان برهمکنش نیز مربوط به ترکیب beta-caryophyllene موجود در گیاه *S. aromaticum* با انرژی معادل ۵۹/۵- کیلوژول بر مول می‌باشد. آمینواسیدهایی که در موقعیت های ۱-۵، ۴۲-۵۷، ۱۰۰-۱۱۳، ۱۱۸-۱۲۱، ۱۳۵-۱۴۶ و ۱۵۴-۱۵۷ حضور دارند،

می‌باشد. با توجه به ساختار شیمیایی ترکیبات مذکور و شبه کلاسترولی بودن campesterol نفوذ و پخش بالای این ترکیب را می‌توان در ارتباط با ساختار آن دانست.

داکینگ مولکولی: نتایج حاصل داکینگ مولکولی بین ترکیبات گیاهی و پروتئاز ویروس هپاتیت سی در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که، غالب ترکیبات مورد بررسی، برهمکنش مناسبی با آنزیم NS3/4A دارند. بررسی برهمکنش‌های صورت گرفته بین ترکیب گیاهی و آنزیم مذکور نشان داد که پیوندهای واندروالسی و هیدروژی برهمکنش‌های غالب مابین ترکیبات

ساختارهای نوین دارویی برای مقابله با گستره بزرگی از مولکول های هدف مورد استفاده قرار گیرند. همچنین، هزینه تولید و توسعه ی این ترکیبات بسیار پایین تر از داروهای مرسوم بوده و اثر بخشی بالا و اثرات جانبی اندک نیز از دیگر ویژگی های منحصر به فرد آن ها است (۲۶). بنابراین طی سال های اخیر بهره گیری از متابولیت ها و ترکیبات حاصل از گیاهان دارویی جهت مهار و درمان بیماری های ویروسی، بویژه ویروس هپاتیت سی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. به این منظور، پژوهش های بسیاری به منظور دستیابی به ترکیبات متنوع گیاهی با قابلیت هدف گیری مولکول ها اختصاصی بویژه آنزیم های ویروسی انجام گرفته و نتایج مؤثر و امیدوارکننده ای را نیز به همراه داشته است. در این راستا در مطالعه ای که توسط رومرو و همکاران انجام شد، تأثیر ترکیب زیستی آرتمیزینین و مشتقات آن از جمله آرتزانات بر روی پروتئین های سطحی ویروس هپاتیت بی مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که این ترکیبات در غلظت خاصی تأثیر مهارکنندگی قوی بر روی تولید این ویروس دارد در حالی که هیچگونه اثری را بر روی سلول های بافت کبدی نشان نمی دهد (۲۷). در پژوهشی دیگر که توسط شاین و همکاران انجام شد، ترکیبات فلاونوئیدی مستخرج از گیاه *Phyllanthus amarus* فعالیت مهار کنندگی و درمان هپاتیت ب را از خود نشان دادند (۲۸). در همین خصوص در مطالعه ای مشابه که توسط راوی کومار و همکاران (۲۰۱۱) انجام شد، تأثیر عصاره همین گونه ی گیاهی بر روی پروتئاز NS3 ویروس هپاتیت سی مورد ارزیابی قرار گرفت و مشخص شد که عصاره ریشه این گیاه تأثیر چشمگیری در مهار این آنزیم دارد (۱۳). در پژوهشی که توسط جاود و همکاران صورت گرفت، عصاره متانولی و کلروفومی بذور گیاه *Solanum nigrum* موجب مهار پروتئاز NS3 ویروس هپاتیت سی شد (۲۹). لین و همکاران نیز در پژوهشی مشابه نشان دادند که ترکیبات اپی کتکین فنولی مرتبط با گیاه چای سبز در مهار همانندسازی ویروس هپاتیت سی مؤثر هستند (۱۴). در پژوهشی دیگر،

بیشترین نقش را در برهمکنش مابین ترکیبات گیاهی و آنزیم NS3/4A ایفا می کنند. بررسی اسید آمینه های درگیر در برهمکنش ها نیز حاکی از نقش کلیدی باقی مانده های HIS57، SER138، SER139 و GLY137 است بطوری که باقی مانده های مذکور در برهمکنش های صورت گرفته با غالب ترکیبات مورد بررسی حضور داشتند.

بحث و نتیجه گیری

در سال های اخیر بررسی فعالیت ضدویروسی ترکیبات فیتوشیمیایی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. در پژوهش حاضر، اثربخشی ترکیبات حاصل از دو گونه گیاه دارویی *C. officinalis* و *S. aromaticum* در مهار پروتئاز ویروس هپاتیت سی با استفاده از داکینگ مولکولی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که این ترکیبات می توانند به طور مؤثری آنزیم مذکور را مهار نمایند.

تاکنون هیچ واکنشی برای ویروس هپاتیت سی تایید نشده است و داروهایی نیز که برای درمان این بیماری تجویز می شوند معمولاً بازدهی همراه با تاخیر دارند به گونه ای که ترکیب دارویی اینترفرون آلفای پگیله شده تأثیر درمانی خود را پس از ۲۴-۴۸ هفته نشان می دهد و علاوه بر این دارای اثرات جانبی فراوانی مانند ایجاد علائم شبیه به آنفولانزا، کم خونی و همولیز می باشد (۲۱). بنابراین طی سال های اخیر، مطالعات فراوانی با توجه به شیوع گسترده بیماری هپاتیت سی و آمار بالای مرگ و میر در اثر ابتلا به سرطان کبد مرتبط با این ویروس صورت گرفته است. با این وجود به دلیل هزینه بالا، کارایی اندک و اثرات جانبی فراوان داروهای موجود، نیاز به پژوهش های بیشتر جهت ارائه ی راهکارهای اختصاصی و مؤثر در درمان این بیماری وجود دارد (۲۵). در این بین ترکیبات فعال زیستی مشتق از گیاهان دارویی با داشتن اثرات دارویی چندگانه و مکمل، می توانند علاوه بر تأثیر بر روی همانندسازی ویروس، سنتز آنزیم های ویروسی را نیز محدود نمایند. بنابراین ترکیبات فیتوشیمیایی فعال می توانند به عنوان

ویروس هپاتیت ب برقرار نمایند و از این طریق موجب مهار آن شوند (۳۲).

بر همین اساس بررسی‌های بیوانفورماتیکی متعددی در زمینه ی پیش‌بینی برهمکنش‌های مؤثر بین ترکیبات فیتوشیمیایی گیاهی و ساختارهای مولکولی موجود در ویروس هپاتیت سی بویژه پروتئاز این ویروس صورت گرفته است. در پژوهشی که توسط نایکا و همکاران انجام گرفت، تأثیر برهمکنش ترکیبات موجود در دو گونه ی گیاهی *Clematis gouriana* و *Naravelia zeylanica* بر ویروس هپاتیت سی به روش داکینگ مولکولی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داده که Ursolic acid و Berberine بیشترین تأثیر را بر روی مهار این آنزیم دارند. نتایج مطالعه مذکور نشان داد که برهمکنش ترکیبات بکار برده شده با اسید آمینه های هیستیدین ۵۷، سرین ۱۳۸، سرین ۱۳۹ و گلیسین ۱۳۷ پروتئاز ویروس هپاتیت سی بوده که در پژوهش حاضر نیز نقش فعالی در برهمکنش پروتئاز با ترکیبات گیاهی داشتند (۲۶). در مطالعه ای دیگر، اثربخشی ترکیب Andrographolide که نوعی دی ترپن برگرفته از گیاه *Andrographis paniculata* است، در مهار پروتئاز NS3-4A ویروس هپاتیت سی از طریق داکینگ مولکولی و شبیه سازی داینامیک پیش‌بینی شد، نتایج این پژوهش نشان داد که این ترکیب در مقایسه با Asunaprevir امتیاز داکینگ بهتری را در برهمکنش دارد و شبیه سازی داینامیک مولکولی نیز حاکی از اتصالات محکم این ترکیب با پروتئین هدف بود. همچنین مشخص شد که نواحی درگیر در برهمکنش با پروتئاز مذکور کاملاً منطبق بر نتایج بدست آمده در این پژوهش است و باقی مانده های اصلی درگیر در آن شامل هیستیدین ۵۷، سرین ۱۳۸، سرین ۱۳۹ و گلیسین ۱۳۷ نیز به وضوح قابل مشاهده هستند (۳۳). در پژوهش‌های دیگری نیز تأثیر برهمکنش مولکول‌های کوچک زیستی در مهار پروتئاز NS3-4A ویروس هپاتیت سی به روش‌های داکینگ مولکولی و شبیه سازی داینامیک مورد بررسی قرار گرفته است و ترکیباتی

تأثیر عصاره های آبی و متانولی یازده گیاه بر روی ویروس هپاتیت سی مورد بررسی قرار گرفت. این گیاهان طی فرآیند غربالگری از بین سی و چهار گونه گیاهی به دلیل دارا بودن اثرات مهاری بر روی این ویروس انتخاب شده بودند. سپس طی مراحل غربالگری ثانویه مشخص شد که سه گونه گیاهی *Quercus infectoria*، *Piper cubeba* و *Syzygium aromaticum* دارای بیشترین تأثیر بر روی مهار ویروس هپاتیت سی با میزان مهارکنندگی بالای ۹۰٪ در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر از عصاره ی تام این گیاهان بودند (۱۱).

تعدد ترکیبات زیستی و طبیعی موجود در گیاهان دارویی ارزیابی اثربخشی آن‌ها را با محدودیت مواجه ساخته است. بر این اساس طی سال‌های اخیر استفاده از ابزارهای بیوانفورماتیکی به منظور غربالگری مواد موثره گیاهی، پیش‌بینی مکانیسم اثر و سمیت احتمالی آن‌ها به عنوان رهیافتی مؤثر و جدید مطرح شده است. به این منظور اخیراً پژوهش‌های متعددی با هدف پیش‌بینی تأثیر ترکیبات فیتوشیمیایی بر عفونت‌ها باکتریایی، ویروسی و انواع سرطان‌ها انجام شده است. در مطالعه ای که توسط آپارنا و همکاران انجام گرفت برهمکنش و تأثیر ترکیبات طبیعی گیاهی بر روی مهار پمپ‌های خروجی مربوط به گونه های باکتریایی اشريشیاکلی و سودوموناس آئروجینوزا با روش‌های بیوانفورماتیک مورد بررسی قرار گرفت (۳۰). در پژوهشی که توسط نصرتی و همکاران صورت گرفت، تأثیر ترکیبات فیتوشیمیایی موجود در گونه ی گیاهی جاشیر بر روی آنزیم DNA ژیراز و پروتئین متصل شونده به پنی سیلین باکتریایی با روش‌های محاسباتی مورد بررسی قرار گرفت و نشان داد که این ترکیبات می‌توانند به گونه ی مؤثری موجب مهار آنزیم‌ها و پروتئین‌های مذکور می‌شوند (۳۱). در مطالعه ای مشابه مشخص شد که سه ترکیبات Terflavin A و Chebulinic Acid، Terchebin حاصل از دو گونه ی گیاهی *Terminalis* و *Caesalpinia sappan* می‌توانند برهمکنش محکم و مؤثری با آنزیم DNA پلیمرز

گرفته است. نتایج حاصل، نشان دهنده این است که اکثر ترکیبات گیاهی مورد بررسی دارای برهمکنش مطلوب با جایگاه فعال آنزیم مذکور بوده اند. همچنین مشخص شد که چهار ترکیب 1,2,6-Trigalloylglucose، hyperoside، Isoquercitrin و rhamnetin با ایجاد برهمکنش قوی در ناحیه مربوط به جایگاه فعال، می توانند موجب مهار فعالیت آنزیم پروتئاز NS3-4A شوند. همچنین ترکیبات acid و methyl salicylate به دلیل برهمکنش با اسیدآمینو های مؤثر در جایگاه فعال به همراه ویژگی های فیزیوشیمیایی مطلوب، نقش مؤثری در مهار این آنزیم داشته و می توانند به عنوان نامزدهای مناسبی جهت اجرای تحقیقات بیش تر آزمایشگاهی مورد توجه قرار گیرند.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله نویسندگان مقاله از اساتید گروه بیوتکنولوژی دانشکده علوم و فناوری های نوین دانشگاه اصفهان به دلیل راهنمایی های ارزشمند در انجام این پژوهش تشکر و قدر دانی می نمایند.

منابع

1. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA Clone Derived from a Blood-Borne Non-A, Non-B Viral Hepatitis Genome. *Science*; 1989. 244: 359.
2. Memon MI, Memon MA. Hepatitis C: an epidemiological review. *J Viral Hepat*; 2002. 9: 84-100.
3. Saito I, Miyamura T, Ohbayashi A, Harada H, Katayama T, Kikuchi S, et al. Hepatitis C virus infection is associated with the development of hepatocellular carcinoma. *Proceedings of the National Academy of Sciences*; 1990. 87: 6547-9.
4. Failla C, Tomei L, De Francesco RA. Both NS3 and NS4A are required for proteolytic processing of hepatitis C virus nonstructural proteins. *J Virol*; 1994. 68: 3753-60.
5. Bartenschlager R. Molecular targets in inhibition of hepatitis C virus replication. *Antiviral Chemist Chemotherap*; 1997. 8: 281-301.
6. Halfon P, Locarnini S. Hepatitis C virus resistance to protease inhibitors. *J Hepatol*; 2011. 55: 192-206.
7. Johnson CL, Gale Jr M. CARD games between virus and host get a new player. *Trends Immunol*;

که موثرترین برهمکنش را داشته اند، انتخاب و معرفی شده اند (۳۴ و ۳۵).

بر اساس مطالعه ای که توسط واردینی و همکاران انجام شد، جایگاه فعال پروتئاز ویروس هپاتیت سی شامل اسیدآمینو های گلوتامین ۴۱، فنیل آلانین ۴۳، هیستیدین ۵۷، گلیسین ۵۸، آسپارتیک اسید ۸۱، آرژنین ۱۰۹، لیزین ۱۳۶، گلیسین ۱۳۷، سرین ۱۳۸، سرین ۱۳۹، گلیسین ۱۴۰، گلیسین ۱۴۱، فنیل آلانین ۱۵۴، آرژنین ۱۵۵، آلانین ۱۵۶، آلانین ۱۵۷، آسپارتیک اسید ۱۶۸، متیونین ۴۸۵، والین ۵۲۴، آسپارتیک اسید ۵۲۶ و هیستیدین ۵۲۸ می باشد (۳۵).

همچنین مشخص شده است که آمینو اسیدهای ناحیه ۱-۱۸۰ این آنزیم مرتبط با فعالیت پروتئازی آن بوده در صورتی که آمینواسید های ناحیه ۱۸۱-۶۳۱ در ارتباط با فعالیت هلیکازی این آنزیم عمل می کنند (۳۴). اکثر اسیدآمینو های مذکور

در این پژوهش نیز در برهمکنش بین آنزیم و ترکیبات گیاهی درگیر بوده اند. با توجه به این که غالب برهمکنش های صورت گرفته در ناحیه اسید آمینو ای ۵۰ تا ۱۶۰ که مرتبط با بخش پروتئازی این پروتئین است اتفاق افتاده بنابراین ترکیبات 1,2,6-Trigalloylglucose، hyperoside،

Isoquercitrin و rhamnetin به دلیل امکان برقراری برهمکنش های محکم با این ناحیه از پروتئین می توانند به عنوان نامزدهای مناسبی جهت بررسی های بیشتر در نظر گرفته شوند. علاوه بر این، ترکیبات ursolic acid و methyl salicylate نیز به دلیل برهمکنش با باقیمانده های مهم موجود در جایگاه فعال نظیر هیستیدین ۵۷، سرین ۱۳۸، سرین ۱۳۹ و گلیسین ۱۳۷ و همچنین ویژگی های فیزیوشیمیایی مطلوب مانند حلالیت در آب، قابلیت نفوذ و پراکندگی بالا می توانند جهت کارآزمایی های درون و برون تنی مورد استفاده قرار گیرند.

در پژوهش حاضر، اثربخشی ترکیبات فیتوشیمیایی مختلف دو گونه گیاهی *C. officinalis* و *S. aromaticum* در مهار آنزیم پروتئاز NS3-4A ویروس هپاتیت سی با استفاده از روش داکینگ مولکولی مورد تجزیه و تحلیل قرار

- Complement Med; 2004. 10(6):1019-26.
21. Meeprasert A, Rungrotmongkol T, Suan Li M, Hannongbua S. In silico screening for potent inhibitors against the NS3/4A protease of hepatitis C virus. *Curr Pharmaceu Design*; 2014. 20(21):3465-77.
 22. Liu MM, Zhou L, He PL, Zhang YN, Zhou JY, Shen Q, et al. Discovery of flavonoid derivatives as anti-HCV agents via pharmacophore search combining molecular docking strategy. *Eur J Med Chemist*; 2012. 52:33-43.
 23. Bassetto M, Leyssen P, Neyts J, Yerukhimovich MM, Frick DN, Brancale A. Shape-based virtual screening, synthesis and evaluation of novel pyrrolone derivatives as antiviral agents against HCV. *Bioorgan Med Chemist Letter*; 2017. 27(4):936-40.
 24. Yue W, Zhengquan L, Lirong C, Xiaojie X. Antiviral compounds and one new iridoid glycoside from *Cornus officinalis*. *Progress Nat Sci*; 2006. 16(2):142-6.
 25. Halfon P, Locarnini S. Hepatitis C virus resistance to protease inhibitors. *J Hepatol*; 2011. 55: 192-206.
 26. Naika HR, Lingaraju K, Chandramohan V, Krishna V. Evaluation of Phytoconstituents and Molecular Docking Against NS3 Protease of Hepatitis C Virus. *J Pharmaceu Sci Pharmacol*; 2015. 2: 96-103.
 27. Romero MR, Efferth T, Serrano MA, Castaño B, Macias RI, Briz O, et al. Effect of artemisinin/artesunate as inhibitors of hepatitis B virus production in an "in vitro" replicative system. *Antiviral Res*; 2005. 68: 75-83.
 28. Shin MS, Kang EH, Lee YI. A flavonoid from medicinal plants blocks hepatitis B virus-e antigen secretion in HBV-infected hepatocytes. *Antiviral Res*; 2005. 67: 163-8.
 29. Javed T, Ashfaq UA, Riaz S, Rehman S, Riazuddin S. In-vitro antiviral activity of *Solanum nigrum* against Hepatitis C Virus. *Virol J*; 2011. 8: 26.
 30. Aparna V, Dineshkumar K, Mohanalakshmi N, Velmurugan D, Hopper W. Identification of natural compound inhibitors for multidrug efflux pumps of *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* using in silico high-throughput virtual screening and in vitro validation. *PLoS One*; 2014. 9: 101840.
 31. Nosrati M, Behbahani M. In vitro and in silico antibacterial activity of prangos ferulacea (L.) lindl and prangos uloptera dc, and their mutagenicity in the ames test. *J Microbiol Biotechnol Food Sci*; 2016. 6: 930.
 32. Nosrati M, Shakeran Z, Shakeran Z. In Silico Screening Hepatitis B Virus DNA polymerase Inhibitors from Medicinal Plants. *Amuj*; 2017. 20: 89-102. (Persian)
 33. Chandramohan V, Kaphle A, Chekuri M, 2006. 27: 1-4.
 8. Li K, Foy E, Ferreon JC, Nakamura M, Ferreon AC, Ikeda M, et al. Immune evasion by hepatitis C virus NS3/4A protease-mediated cleavage of the Toll-like receptor 3 adaptor protein TRIF. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*; 2005; 102: 2992-7.
 9. An NS. Protease inhibitor with antiviral effects in humans infected with hepatitis C virus Lamarre. *Nature*; 2003. 426: 186-9.
 10. Yu X, Sainz B, Petukhov PA, Uprichard SL. Identification of hepatitis C virus inhibitors targeting different aspects of infection using a cell-based assay. *Antimicrob Ag Chemotherap*; 2012. 56: 6109-20.
 11. Hussein G, Miyashiro H, Nakamura N, Hattori M, Kakiuchi N, Shimotohno K. Inhibitory effects of Sudanese medicinal plant extracts on hepatitis C virus (HCV) protease. *Phytherap Res*; 2000. 14: 510-6.
 12. Mathewa S, Fatimab K, Qadric I. Challenge Hepatitis C with Herbs as Drugs. *J Tradi Med Clin Natur*; 2016. 5: 184.
 13. Ravikumar YS, Ray U, Nandhitha M, Perween A, Naika HR, Khanna N, et al. Inhibition of hepatitis C virus replication by herbal extract: *Phyllanthus amarus* as potent natural source. *Virus Res*; 2011. 158: 89-97.
 14. Lin YT, Wu YH, Tseng CK, Lin CK, Chen WC, Hsu YC, et al. Green tea phenolic epicatechins inhibit hepatitis C virus replication via cyclooxygenase-2 and attenuate virus-induced inflammation. *PloS one*; 2013. 8: 54466.
 15. Harvey AL. Natural products in drug discovery. *Drug Discover Today*; 2008. 13 :894-901.
 16. Vinukonda VP, Palakeerti SK, Christ B. In silico studies of *Justicia adhatoda*, *Ocimum sanctum* plant compounds as mycobacterium tuberculosis FTSZ inhibitors. *Int J Bioass*; 2012. 1: 22-5.
 17. Chen X, Ung CY, Chen Y. Can an in silico drug-target search method be used to probe potential mechanisms of medicinal plant ingredients? *Natural Prod Rep*; 2003. 20: 432-44.
 18. Madhvi A, Hingane S, Srivastav R, Joshi N, Subramani C, Muthumohan R, et al. A screen for novel hepatitis C virus RdRp inhibitor identifies a broad-spectrum antiviral compound. *Sci Rep*. 2017. 7(1):5816.
 19. Galani BR, Sahuc ME, Njyou FN, Deloison G, Mkounga P, Feudjou WF, et al. Plant extracts from Cameroonian medicinal plants strongly inhibit hepatitis C virus infection in vitro. *Front Microbiol*; 2015. 6:488.
 20. Jacob JR, Korba BE, You JE, Tennant BC, Kim YH. Korean medicinal plant extracts exhibit antiviral potency against viral hepatitis. *J Alterna*

Gangarudraiah S, Bychapur Siddaiah G. Evaluating andrographolide as a potent inhibitor of NS3-4A protease and its drug-resistant mutants using in silico approaches. *Advance Virol*; 2015. 2015.

34. Wadood A, Riaz M, Uddin R. In silico identification and evaluation of leads for the simultaneous inhibition of protease and helicase activities of HCV NS3/4A protease using complex based pharmacophore mapping and virtual screening. *PloS one*; 2014. 9: 89109.

35. Vardhini SR. In silico evaluation for the potential naturally available drugs for breast cancer. *J Recept Sig Transduct Res*; 2014. 34: 174-9.

Archive of SID

In silico screening of hepatitis C virus NS3/4A protease inhibitor(s) from *Cornus officinalis* and *Syzygium aromaticum*

Zahra Shakeran, PhD Student of Nano Biotechnology, Department of Biotechnology, Faculty of Advanced Sciences and Technologies, University of Isfahan, Isfahan, Iran.

***Mokhtar Nosrati**, PhD Student of Nano Biotechnology, Department of Biotechnology, Faculty of Advanced Sciences and Technologies, University of Isfahan, Isfahan, Iran (*Corresponding Author).
mokhtar.nosrati1393@gmail.com

Zainab Shakeran, MSc Student of Biochemistry, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran.

Abstract

Background: The hepatitis C virus (HCV) infection is a major global health problem and one of the common causes of mortality worldwide. Therefore, currently many studies have been focused on introducing novel and effective anti HCV agents especially plant materials. Therefore, the study was aimed to screening novel HCV protease inhibitor(s) from two medicinal plants including *Cornus officinalis* and *Syzygium aromaticum* using bioinformatics tools.

Methods: For this purpose, first three dimension structures of HCV protease and dominant compounds of the plants were retrieval from Protein Data Bank (PDB) and Pubchem database respectively. In the next step, physicochemical properties and probable mutagenic and cytotoxicity effects of the phytochemicals were predicted using Swiss ADME and Toxtree software respectively. And finally, these molecules were subjected to molecular docking studies using iGemdock 2.1 software.

Results: The results indicated that any of the phytochemical compounds have cytotoxicity and mutagenic properties. Results also showed that most studied compounds had strong and appropriate interaction with the NS3/4A enzyme especially in the protease region. Furthermore, the results indicated that six compounds including 1,2,6-Trigalloylglucose, Hyperoside, Isoquercitrin, Rhamnetin, Ursolic acid and Methyl salicylate have more strong interactions to key amino acids in the active site of the enzyme .

Conclusion: Based on the results it can be concluded that the mentioned compounds can be good candidates for in vitro and in vivo studies as novel anti-HCV agents.

Keywords: NS3/4A protease, *Hepatitis C virus*, In silico, Phytochemical compounds