



JAMS

مجله دانشگاه علوم پزشکی اراک

دوره بیست و یک، شماره پنج، مهر و آبان ۱۳۹۷

journal homepage: <http://jams.arakmu.ac.ir>



مجله دانشگاه علوم پزشکی اراک

مقاله پژوهشی

غربال‌گری بیوانفورماتیکی مهارکننده‌های دو پروتئین E1 و E2 ویروس پاپیلومای انسانی از دو گیاه

دارویی *Ficus religiosa* و *Phyllanthus emblica*

کمیل امینی^۱، کامران منصوری^{۲*}

۱. مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: عفونت ناشی از ویروس پاپیلومای انسانی یکی از بیماری‌های شایع، خطرناک و مرتبط با ایجاد سرطان در زنان است. بنابراین معرفی ترکیبات نوین دارویی علیه ویروس مذکور طی سال‌های اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته است. هدف این پژوهش، غربال‌گری بیوانفورماتیکی مهارکننده‌های بالقوه‌ی پروتئین‌های E1 و E2 سروتایپ‌های ۱۶، ۱۸، ۳۱، ۳۳ و ۴۵ ویروس مذکور از گیاهان دارویی بود.

مواد و روش‌ها: این پژوهش به روش توصیفی-تحلیلی انجام شد. ابتدا ساختار سه بعدی ترکیبات گیاهی از پایگاه داده‌های PubChem دریافت شده و پتانسیل سمیت سلولی و جهش‌زایی آن‌ها تعیین شد. توالی آمینواسیدی پروتئین‌های E1 و E2 از پایگاه داده‌های پروتئین (Uniprot) دریافت گردیده و نواحی حفاظت شده و متغیر آن‌ها با روش هم‌ردیفی چندگانه تعیین شد. ساختار سه بعدی پروتئین‌های مذکور با روش مدل‌سازی هم‌سانی تعیین شده و قابلیت برهمکنش ترکیبات گیاهی با پروتئین‌های مذکور با استفاده از روش داکینگ مولکولی توسط نرم‌افزار Autodock نسخه ۴.۲.۶ بررسی شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که اورسولیک اسید فاقد پتانسیل سمیت سلولی و جهش‌زایی بوده و خصوصیات فیزیکوشیمیایی مطلوبی دارد. علاوه بر این، مشخص شد که ترکیب مذکور قابلیت برهمکنش با پروتئین‌های E1 و E2 از تمامی سروتایپ‌های مورد مطالعه را دارد. بررسی نواحی برهمکنش اورسولیک اسید با پروتئین‌های مذکور نیز حاکی از درگیر شدن اسیدآمینوهای حفاظت شده در بین سروتایپ‌های مورد بررسی است.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش، اورسولیک اسید می‌تواند به عنوان گزینه‌ی مناسبی جهت بررسی‌های بیش‌تر برون و درون تنی خواص ضد ویروس پاپیلومای انسان تلقی شود.

اطلاعات مقاله

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۱/۱۵

تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۴/۰۶

تاریخ انتشار: ۹۷/۰۸/۱۵

واژگان کلیدی

اورسولیک اسید
غربال‌گری بیوانفورماتیکی
گیاهان دارویی
ویروس پاپیلومای انسانی

*نویسنده مسئول:

کامران منصوری

آدرس پستی: ایران، کرمانشاه، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی.

تلفن: +98 918 336 5450

نمابر: +98 83 3427 6471

E-mail:

kamranmansouri@gmail.com

۱. مقدمه

ویروس پاپیلومای انسان، ویروسی کوچک (۵۲ تا ۵۵ نانومتر)، بدون پوشش با ماده‌ی ژنتیکی DNA دو رشته‌ای حلقوی از خانواده‌ی پاپیلوما ویریده بوده که سلول‌های اپیتلیالی (کراتینوسیت) را آلوده می‌کند (۱). طی سال‌های اخیر، ارتباط مستقیم آلودگی با ویروس پاپیلومای انسانی و سرطان بدخیم دهانه‌ی رحم تایید شده است. اغلب سروتایپ‌های خطرناک مرتبط با ایجاد سرطان در جنس آلفاپاپیلوما ویروس قرار داشته که از این سروتایپ‌های خطرناک می‌توان به انواع ۱۶، ۱۸، ۳۳، ۳۵، ۳۹، ۴۵، ۵۱، ۵۲، ۵۶، ۵۸، ۵۹ و ۶۸ اشاره نمود. این در حالی است که در ۹۹ درصد موارد سرطان دهانه رحم، ارتباط مستقیم سروتایپ‌های ۱۶، ۱۸، ۳۱، ۳۳ و ۴۵ با رخداد سرطان به‌خوبی مشاهده شده است (۲، ۳). سرطان دهانه‌ی رحم یکی از سرطان‌های رایج در زنان بوده و بر اساس تخمین‌ها سالانه ۵۲۸ هزار مورد جدید از ابتلا به این نوع سرطان گزارش می‌شود. علاوه بر این، تخمین زده شده که سالانه ۱۴ میلیون مورد جدید از ابتلا به ویروس پاپیلومای انسانی تنها در ایالات متحده آمریکا رخ می‌دهد (۴، ۵). بنابراین به دلیل خطر بالای احتمال بروز سرطان ناشی از عفونت پاپیلومای انسانی طی سال‌های اخیر، پژوهش‌های زیادی به منظور دستیابی به روش‌های نوین پیشگیری، تشخیص و درمان این عفونت ویروسی انجام شده است. علیرغم پیشرفت‌های مناسب صورت گرفته در زمینه‌ی تشخیص به‌ویژه روش‌های مولکولی و نیز طراحی واکسن علیه برخی سویه‌های خطرناک، تاکنون داروی اختصاصی و تایید شده‌ای برای درمان عفونت ناشی از ویروس پاپیلومای انسان معرفی نشده است (۶).

به علت تنوع بالای ژنتیکی ویروس مذکور و قابلیت مقاوم شدن به ترکیبات دارویی مختلف، تاکنون اجزای مختلف ویروس از جمله پروتئین‌های ساختاری و عملکردی به عنوان اهداف طراحی دارو معرفی شده‌اند که از این بین پروتئین‌های E1 و E2 به علت نقش مهمی که در تکثیر ماده‌ی وراثتی ویروس و ایجاد ذرات جدید ویروسی دارند بسیار مورد توجه

قرار گرفته‌اند. اگرچه تلاش‌هایی با هدف دستیابی به ترکیبات دارویی مهار کننده‌ی این پروتئین‌ها به‌ویژه E1 انجام شده، اما نتیجه این پژوهش‌ها به علت عدم اختصاصیت کافی ترکیبات معرفی شده رضایت بخش نبوده است (۷، ۸).

پروتئین E2 دارای قابلیت اتصال به DNA بوده و در توالی ویژه‌ای حوالی ناحیه شروع رونویسی ژنوم ویروس به DNA ویروس متصل شده و همراه با پروتئین E1 که دارای فعالیت هلیکازی و ATP آزی است کمپلکسی را تشکیل می‌دهد که دارای نقش کلیدی و حیاتی در تکثیر ویروس است. بنابراین مهار فعالیت هرکدام از این پروتئین‌ها و یا مهار همزمان آن‌ها می‌تواند منجر به عدم تکثیر ویروس و جلوگیری از گسترش عفونت و نیز پیشگیری از بروز سرطان ناشی از این ویروس شود (۹).

به علت اثرات جانبی و هزینه‌ی بالای ترکیبات شیمیایی سنتزی، گیاهان دارویی به واسطه‌ی در دسترس بودن، ارزان بودن، ماهیت طبیعی و نیز در برداشتن طیف وسیعی از ترکیبات با اثرات دارویی منبع بسیار مناسبی برای جداسازی و معرفی ترکیبات نوین دارویی می‌باشند. بر همین اساس طی سال‌های اخیر ترکیبات گیاهی زیادی با اثرات ضد ویروسی (۱۰)، ضد باکتریایی (۱۱) و ضد سرطانی (۱۲) معرفی شده‌اند. بنابراین گیاهان دارویی به‌ویژه گیاهانی که قابلیت ضدویروسی آن‌ها در بررسی‌های آزمایشگاهی مورد تایید قرار گرفته و جنبه‌های مختلف سم شناسی آن‌ها به‌صورت تجربی مورد مطالعه قرار گرفته و در فارماکوپه‌ی کشورهای مختلف ثبت شده‌اند می‌توانند گزینه‌های بسیار مناسبی برای غربالگری ترکیبات ضدویروس پاپیلومای انسان تلقی شوند.

باتوجه به هزینه‌ی بال او وقت‌گیر بودن روش‌های آزمایشگاهی تعیین خواص ضد ویروسی و نیز عدم دسترسی به امکانات مورد نیاز آزمایشگاهی برای تمامی پژوهشگران، اخیراً روش‌های بیوانفورماتیکی به منظور غربالگری ترکیبات جدید دارویی به‌ویژه ترکیباتی با اثرات ضدویروسی بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. روش‌های بیوانفورماتیکی امکان پیش‌بینی ساختار، جایگاه فعال، پیش‌بینی خصوصیات فیزیکوشیمیایی،

۲. ملاحظات اخلاقی

این مطالعه با کد KUMS.REC.1394.63 به تأیید کمیته اخلاق معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه رسیده است.

۳. مواد و روش‌ها

دریافت اطلاعات ساختاری مربوط به ترکیبات گیاهی پژوهش حاضر به شیوه‌ی توصیفی-تحلیلی انجام شد. در ابتدا اطلاعات ساختاری مربوط به ترکیبات غالب موجود در دو گیاه *P.emblica* و *F.religiosa* که اثربخشی آن‌ها در عفونت‌های ناشی از ویروس پاپیلومای انسانی طی بررسی‌های آزمایشگاهی تأیید شده است از پایگاه داده‌های مواد شیمیایی به آدرس <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> با فرمت SDF دریافت شد.

دریافت توالی آمینو اسیدی، هم‌ردیفی چندگانه، مدل‌سازی همسانی

به علت نرخ بالای جهش در ماده‌ی ژنتیکی ویروس پاپیلومای انسانی توالی آمینواسیدی پروتئین‌های E1 و E2 در سروتایپ‌های مختلف ویروس مذکور متفاوت بوده و این امر موجب محدودیت طراحی داروهای موثر علیه اکثر سروتایپ‌ها شده است. بنابراین در این بررسی ابتدا توالی آمینو اسیدی دو پروتئین مذکور از ۵ سروتایپ با خطر بالا شامل ۱۶، ۱۸، ۳۱، ۳۳ و ۴۵ از پایگاه داده‌های Uniprot به آدرس <https://www.uniprot.org> به شرح جدول ۱ دریافت شد. به منظور مشاهده نواحی حفاظت شده و متغیر توالی‌های آمینواسیدی دریافت‌شده از روش هم‌ردیفی چندگانه با استفاده از سرور Clastal Omega به آدرس <https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo> استفاده شد. در نهایت، ساختار سه بعدی پروتئین‌های مذکور با استفاده از روش مدل‌سازی همسانی توسط سرور Swissmodel به آدرس <https://swissmodel.expasy.org> انجام شد. کیفیت مدل‌های پیش‌بینی شده با استفاده از شاخص QMEAN موجود در سرور Swissmodel مورد

پیش‌بینی سمیت، برهمکنش‌های محتمل بین مولکول‌ها و نیز امکان شبیه‌سازی محیط‌های پیچیده را فراهم آورده و به پژوهشگران امکان بررسی جنبه‌های مختلف یک ترکیب شیمیایی برای مطرح شدن به عنوان یک ماده‌ی دارویی را می‌دهد (۱۳).

با توجه به نقش کلیدی دو پروتئین E1 و E2 در چرخه تکثیر ویروس پاپیلومای انسانی، معرفی مهارکننده‌های موثر پروتئین‌های مذکور می‌تواند نویدبخش یک راهکار درمانی نوین علیه عفونت ناشی از این ویروس باشد. همان‌طور که اشاره شد، تعیین اثربخشی ترکیبات دارویی با روش‌های آزمایشگاهی زمان‌بر و پرهزینه است. علاوه بر این احتمال رخداد خطا حین آزمایش و نیز خطر بروز بیماری در پژوهشگران خصوصاً در مورد بیماری‌های بدون دارو و واکسن مشخص از محدودیت‌های اصلی پیش‌رو در توسعه داروهای جدید علیه بیماری‌های خطرناک از جمله عفونت ناشی از ویروس پاپیلومای انسانی است. بنابراین روش‌های بیوانفورماتیکی با دقت بالا می‌توانند به عنوان روش‌های مکمل به منظور طراحی و غربال‌گری داروهای نوین مورد استفاده قرار گیرند (۱۴).

بر این اساس، در پژوهش حاضر یک بررسی بیوانفورماتیکی به منظور غربال‌گری ترکیبات گیاهی با قابلیت مهار دو پروتئین مهم E1 و E2 در چرخه تکثیر ویروس پاپیلومای انسانی انجام شده است. بدین منظور ترکیبات گیاهی موجود در دو گیاه دارویی آمله (با نام علمی *Phyllanthus emblica*) و انجیر معابد (با نام علمی *Ficus religiosa*) که قابلیت ضدویروسی آن‌ها علیه ویروس پاپیلومای انسانی تأیید شده است طی یک غربال‌گری سه مرحله‌ای شامل غربال‌گری بر اساس سمیت ژنتیکی و سلولی، خصوصیات فیزیکوشیمیایی و برهمکنش موثر با پروتئین‌های E1 و E2 از پنج سروتایپ مختلف شامل ۱۶، ۱۸، ۳۱، ۳۳ و ۴۵ به منظور معرفی ترکیبات موثر مهار کننده‌ی تکثیر ویروس پاپیلومای انسانی مورد ارزیابی قرار می‌گیرد.

بررسی قرار گرفت. این شاخص عددی بین ۶- و ۲+ بوده و هرچه به اعداد مثبت نزدیک تر باشد کیفیت مدل بیش تر است.

جدول ۱. شماره دسترسی پروتئین های E1 و E2 مربوط به سروتایپ های ۱۶، ۱۸، ۳۱، ۳۳ و ۴۵ و بروس پپیلومای انسان در پایگاه داده های Uniprot

| شماره دسترسی | | | | | نام پروتئین |
|--------------|------------|------------|------------|------------|-------------|
| سروتایپ ۴۵ | سروتایپ ۳۳ | سروتایپ ۳۱ | سروتایپ ۱۸ | سروتایپ ۱۶ | |
| P36728 | F8S3T6 | P17382 | A9XFD6 | O00529 | E1 |
| A9XFM5 | F8S457 | F8S3A3 | Q80B71 | J3SRX8 | E2 |

گیاهی مورد بررسی نیز با استفاده از نرم افزار تخصصی Toxtree نسخه ۱۲.۶.۲ پیش بینی شد. نرم افزار استفاده شده در برگزیده کتابخانه ای از ترکیبات سمی است که به صورت تجربی قابلیت سمیت سلولی و ژنتیکی آن ها تعیین شده است. بر اساس میزان شباهت ترکیب مورد مطالعه و نیز در برداشتن گروه های عاملی مسئول بروز جهش زایی نرم افزار ترکیب را دارا یا فاقد پتانسل جهش زایی معرفی می کند.

غربال گری بر اساس خصوصیات فیزیکوشیمیایی در این مرحله ترکیباتی که فاقد سمیت سلولی و پتانسیل جهش زایی بودند از لحاظ خصوصیات فیزیکوشیمیایی از جمله حلالیت در آب (Log S)، میزان جذب گوارشی، ضریب توزیع (LogD) و قطبیدگی (TPSA) با استفاده از نرم افزار MedChem Designer مورد ارزیابی قرار گرفته و ترکیباتی که ویژگی های مطلوب تری داشتند جهت بررسی نهایی انتخاب شدند.

داکینگ مولکولی به منظور بررسی نهایی قابلیت ترکیبات گیاهی غربال شده در مهار دو پروتئین E1 و E2 متعلق به سروتایپ های مورد بررسی از روش داکینگ مولکولی با استفاده از نرم افزار تخصصی Autodock نسخه ۶.۲.۴ استفاده شد. این نرم افزار امکان مطالعه دقیق برهمکنش های رخ داده بین ترکیبات گیاهی مورد بررسی و پروتئین های هدف را فراهم کرده و اسید آمینه های کلیدی و نیز گروه های عاملی درگیر در برهمکنش نیز قابل تشخیص خواهند بود. پارامترهای مورد استفاده در این بررسی غیر از تعداد دفعات برهمکنش (۱۰۰ مرتبه) به صورت پارامترهای تنظیم شده ای اولیه نرم افزار استفاده

بهبینه سازی ترکیبات گیاهی و پروتئین ها به منظور کاهش خطا، حذف برهمکنش های ناخواسته و دستیابی به نتایج دقیق کلیه ترکیبات گیاهی و پروتئین های مورد بررسی قبل از بررسی نهایی آماده سازی شدند. به این منظور تمامی ترکیبات گیاهی (لیگاندها) از لحاظ ساختاری و نیز انرژی با استفاده از نرم افزار Chimera نسخه ۱۲.۱۰ بهینه سازی شده و ساختار سه بعدی آن ها در فرمت pdb ذخیره شد. نرم افزار مذکور پس از افزودن اتم های هیدروژن با استفاده از سریع ترین گام فرود ۱۰۰، گام فرود ۲ آنگستروم، گرادیان همجوشی ۱۰ و اندازه گرادیان همجوشی ۰/۰۲ آنگستروم ساختار اولیه را در پایدارترین حالت خود قرار می دهد. ساختار اولیه پروتئین های مورد بررسی نیز با حذف اتم های غیرباندی، هیدروژن های غیر قطبی و پایدارسازی از لحاظ انرژی و ساختار با استفاده از نرم افزار مذکور بهینه سازی شدند.

غربال گری بر اساس سمیت سلولی و پتانسیل جهش زایی عدم سمیت سلولی و پتانسیل جهش زایی از جمله شروط اصلی برای مطرح شدن یک ترکیب به عنوان دارو می باشند. بنابراین در اولین مرحله غربال گری ترکیبات گیاهی مورد بررسی از لحاظ سمیت سلولی و نیز پتانسیل جهش زایی مورد ارزیابی قرار گرفته و ترکیباتی که فاقد هرگونه سمیت بودند به منظور بررسی بیش تر انتخاب شدند. بدین منظور، قابلیت ترکیبات گیاهی در مهار سیتوکروم های ضروری سلول شامل CYP1A2، CYP2C9، CYP2C19، CYP2D6 و CYP3A4 با استفاده از سرور اختصاصی SwissADME به آدرس <http://www.swissadme.ch/index.php> مورد بررسی قرار گرفت. علاوه بر این، پتانسیل جهش زایی ترکیبات

شدند. نوع بررسی صورت گرفته در این پژوهش بین ترکیبات گیاهی و پروتئین‌های مورد مطالعه به صورت صلب بود.

۴. یافته‌ها

دریافت اطلاعات ساختاری مربوط به ترکیبات گیاهی

لیست ترکیبات گیاهی مورد بررسی، شماره دسترسی و فرمول مولکولی آن‌ها در جدول ۲ ذکر شده است. نام و مشخصات ترکیبات مذکور با استفاده از مطالعات فیتوشیمیایی گزارش شده قبلی در مقالات استخراج شده و اطلاعات تکمیلی و ساختار سه بعدی آن‌ها از پایگاه داده‌های مواد شیمیایی دریافت گردید.

جدول ۲. ترکیبات غالب موجود در *P.emblic* و *F.religios* گزارش شده در مطالعات فیتوشیمیایی

| نام گیاه | نام ترکیب شیمیایی | شماره دسترسی | فرمول مولکولی |
|-------------------|--------------------------------|---|--|
| <i>P.emblic</i> | 1-Triacontanol | ۶۸۹۷۲ | C ₃₀ H ₆₂ O |
| | 1-Triacontanoic acid | ۱۰۴۷۱ | C ₃₀ H ₆₀ O ₂ |
| | Beta-Amyrin | ۷۳۱۴۵ | C ₃₀ H ₅₀ O |
| | Betulonic acid | ۱۲۲۸۴۴ | C ₃₀ H ₄₆ O ₃ |
| | Daucosterol | ۵۷۴۲۵۹۰ | C ₃₅ H ₆₀ O ₆ |
| | Lupeol acetate | ۹۲۱۵۷ | C ₃₂ H ₅₂ O ₂ |
| | Gallic acid | ۳۷۰ | C ₇ H ₆ O ₅ |
| | Betulinic acid | ۶۴۹۷۱ | C ₃₀ H ₄₈ O ₃ |
| | Ursolic acid | ۶۴۹۴۵ | C ₃₀ H ₄₈ O ₃ |
| | Oleanic acid | ۱۰۴۹۴ | C ₃₀ H ₄₈ O ₃ |
| | Quercetin | ۵۲۸۰۳۴۳ | C ₁₅ H ₁₀ O ₇ |
| Rutin | ۵۲۸۰۸۰۵ | C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆ | |
| <i>F.religios</i> | Eugenol | ۳۳۱۴ | C ₁₀ H ₁₂ O ₂ |
| | Itaconic anhydride | ۷۵۱۱۰ | C ₅ H ₄ O ₃ |
| | Muscione | ۱۰۹۴۷ | C ₁₆ H ₃₀ O |
| | Coumaran | ۱۰۳۲۹ | C ₈ H ₈ O |
| | Allyl caproate | ۳۱۲۶۶ | C ₉ H ₁₆ O ₂ |
| | Salicylaldehyde | ۶۹۹۸ | C ₇ H ₆ O ₂ |
| | 2-Phenylethyl alcohol | ۶۰۵۴ | C ₈ H ₁₀ O |
| | <i>epi</i> - α -Cadinol | ۱۲۳۰۲۲۲۲ | C ₁₅ H ₂₆ O |
| | Beta-Eudesmol | ۹۱۴۵۷ | C ₁₅ H ₂₆ O |
| | Phytol | ۵۲۸۰۴۳۵ | C ₂₀ H ₄₀ O |

همردیفی چندگانه و مدل‌سازی همسانی نتایج حاصل از بررسی همردیفی چندگانه دو پروتئین E1 و E2 در تصاویر ۱ و ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که تغییرات نسبتاً زیادی بین سروتایپ‌های مورد بررسی از لحاظ توالی آمینو اسیدی دو پروتئین E1 و E2 وجود دارد. اما با این وجود نواحی ثابت و حفاظت‌شده‌ای در توالی پروتئین‌های مذکور وجود دارد که می‌توانند هدف مولکول‌های دارویی به منظور طراحی دارو قرار گیرند. به‌طور کلی، میزان حفاظت‌شدگی پروتئین E1 بیش‌تر بوده اما ناحیه‌ی ۲۴-۵۲

بیش‌ترین میزان تغییرات را در بر می‌گیرد. در مقابل، پروتئین E2 حفاظت‌شدگی کمی داشته و ناحیه‌ی ۳۰۰-۲۲۰ بیش‌ترین تغییرات را در بین سروتایپ‌های مختلف دارد. ساختار سه‌بعدی پروتئین‌های مذکور نیز با استفاده از روش مدل‌سازی همسانی پیش‌بینی شده و به فرمت pdb جهت بررسی‌های بیش‌تر ذخیره شدند. نتایج این بخش نشان داد که ساختارهای پیش‌بینی‌شده کیفیت مناسبی از لحاظ نظم ساختاری و همخوانی با الگوی مورد استفاده دارند (جدول ۳).

```

sp|P36728|VE1_HPV45      QAEQETAQALFHAQEVQNDQVQLHLLKRRKFAGGSKENSPLGEQLSVDTDLSPRLQEIISLN
tr|A9XFD6|A9XFD6_HPV18  QAELETAQALFHAQEVHNDQVQLHVLKRRKFAGGSKENSPLGERLEVDTELSRLQEIISLN
tr|F8S3T6|F8S3T6_HPV33  QADTEAARALFNIQEGEDDNLNVCALKRKFAACSSQSA---EDVVDRAANPCRTSINKN
sp|P17382|VE1_HPV31     QAEAE TAQALFHAQEAEEHAEAVQVLRKRYVGSPLSDT---SSCVDDNISPRLKAICIE
tr|O00529|O00529_HPV16  QAETETAHALFTAQEAQKHRDAVQVLRKRYLGSPLSDT---SGCVDDNISPRLKAICIE
**:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*
sp|P36728|VE1_HPV45      SGHKKAKRRLFTISDSGYGCSVEAAETQVTVNTNAENGGSVHSTQ-----
tr|A9XFD6|A9XFD6_HPV18  SGQKKAKRRLFTISDSGYGCSVEEATQIQVTTN--GEHGGVCSGGSTEADIDNGGTGEGNN
tr|F8S3T6|F8S3T6_HPV33  KECTYRKRKIDELSDSGYGNTEVETQQMVOQVESQ--NGDTNLNDL-----ESSGVGDD
sp|P17382|VE1_HPV31     NNSKTAKRRLFELPDSGYGNTEVETQQMVOVEEQ--TTL-SCNG-----SDG-
tr|O00529|O00529_HPV16  KQSRRAAKRRLFESEDSGYGNTEVETQQMLOVEGRH--ETETPCSQY-----SGSGGGG
**:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*
sp|P36728|VE1_HPV45      --SSGGDSSDNAEND--PHCSITELKELLQASNKKAAMLAVFKDIYGLSFTDLVRNFKS
tr|A9XFD6|A9XFD6_HPV18  SSVVDTSDNSNIENVH--PQCTIAQLKDLLKVNKQGAAMLAVFKDYGSLFTDLVRNFKS
tr|F8S3T6|F8S3T6_HPV33  SEVSC-----TNVDSCENVTLQEISNVLHSSNTKANILYKFKAEYGISFMELVRRPKS
sp|P17382|VE1_HPV31     ---THSERENETPRNLIQVLRKTSNGKAAMLGKFKELYGVSFMELVRRPKS
tr|O00529|O00529_HPV16  SQYSSGGSGGEGVSRHTICQTPLTNLIQVLRKTSNAKAAMLAKFKELYGVSFMELVRRPKS
**:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*

```

تصویر ۱. همردیفی چندگانه بین توالی آمینو اسیدی پروتئین E1 از سروتایپ‌های (۱۶، ۱۸، ۳۱، ۳۳ و ۴۵) ویروس پاپیلومای انسان (به علت بزرگ بودن پروتئین نواحی متغیر نشان داده شده است).

```

tr|Q80B71|Q80B71_HPV18  --MQTPKETLSERLSALQDKIIDHYENDSKDIDSQIQYWLIRWENAIFFAAREHGIQTL
tr|A9XFMS|A9XFMS_HPV45  MKMQTPKESLSERLSALQDKIIDHYENDSKDINSQISYWLIRLENALIFTAREHGITKL
tr|F8S457|F8S457_HPV33  -----MEEISARNLNAVQKILDLYEADKTLPSQIEHMKLIRMECALFYTAKMGFSLH
tr|J3SRX8|J3SRX8_HPV16  -----METLQRLNVCQDKILETHYENDSTDLRDHIDYWKQRLECAIYYKAREMGFKHI
tr|F8S3A3|F8S3A3_HPV31  -----METLSQRLNVCQDKILETHYENDSKRLCDHIDYWKHIRLECVLMYKAREMGHISI
**:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*
tr|Q80B71|Q80B71_HPV18  NHQVVPAYNISKSKAKHKAIEQLMALQGLAQSAYKTEDWTLQDTCHEELWNTPEPTHCFFKGG
tr|A9XFMS|A9XFMS_HPV45  NHQVVPPIINISKSKAKHKAIEQLMALKGLAQSAYKNEEHWTLQDTCHEELWNTPEPTHCFFKGG
tr|F8S457|F8S457_HPV33  CHQVVPVLLASKTKAFQVIEQLMALETLSKQYSASQWTLQDTSLEWVLCAPPKCFKCKQG
tr|J3SRX8|J3SRX8_HPV16  NHQVVPVTLAVSKNKALQAIELQTLLETIYNSQYSNEKWTLDQVLEWVLTAPTGCICKKHG
tr|F8S3A3|F8S3A3_HPV31  NHQVVPVLSVSKAKALQAIELQMLLETLNNTIYKNEDEWMTQDTSLEWVLTAPTGCICKKHG
**:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*
tr|Q80B71|Q80B71_HPV18  QTVQVYFDGNKDNCMITYVAWDSVYYMTDAGTNDKATCVSHRGLYYVKEGYNTFYIEFKS
tr|A9XFMS|A9XFMS_HPV45  KTVHVVYFDGNKDNCMNYVWDSIYYMTETGINKTAAQVSVYGVVYIKDGDITVYVQFKS
tr|F8S457|F8S457_HPV33  ETVTVQYDNDKNTMDYTNMGEIYIIEED-TCTMVTGEVDYIGMYVHNCCKVYFKYFKE
tr|J3SRX8|J3SRX8_HPV16  YTVVEVQFDGDIICNTMNYTMMKHIYICEDT-SVTVVGEVQVYGYIYVHEGIIQTYVQFKD
tr|F8S3A3|F8S3A3_HPV31  YTVVEVQFDGDVHNTMNYTMMKFIYLCIDG-QCTVVEGQVNCGIYVYVHEGIIYVFNFT
**:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*
tr|Q80B71|Q80B71_HPV18  ECEKYGNTGTWEVHFVGNVVIDCNDSMCSTSDOTVSAQTLVQLQH---TPSPYSSTVSVG
tr|A9XFMS|A9XFMS_HPV45  ECEKYGNSNTWEVQYGGNVVIDCNDSMCSTSDOTVSAQTVRQLQH---ACTSTPKTASVG
tr|F8S457|F8S457_HPV33  DAAKYSKTQMEVHGGQVIVCPTSISSN--Q-ISTTETAD-----IQ
tr|J3SRX8|J3SRX8_HPV16  DAEKYSKKNWVHAGGQVILCPTSVFSS--DEVSSAEITRQLH--ANHSAATHKAVALG
tr|F8S3A3|F8S3A3_HPV31  EAKKYGTGKKEVHAGGQVIVFPEVSS--DEISFAGIVTKLPTANNTTSSNKTCALG
**:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*
tr|Q80B71|Q80B71_HPV18  TAKTYGQ-TSAATRPHGCGLA-----EKQHCQVNPVLLG--AATPTGNNKRRKLCSSG
tr|A9XFMS|A9XFMS_HPV45  TPKPHIQ-TPATKRPRQCGLT-----EQHHG-LVNTHVHNSLCCSSSTNNKRRKVCSSG
tr|F8S457|F8S457_HPV33  TDNDNRPPQAAAKRRRSADTTDTGQPLTKLFCADP-A-LDNRTARTATNCTNKRQRTVCS
tr|J3SRX8|J3SRX8_HPV16  ----TKETQTTIQRPSEPDTGNPCHTNKLLHRDSVD-SAPI--LTAVNSSHKGRINCS
tr|F8S3A3|F8S3A3_HPV31  TSEGVRRATTSKRPRTEPEHRNTHHPNKLRLRGSVD-SVNCVGISAAACTNQTTRAVSCP
**:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*
tr|Q80B71|Q80B71_HPV18  NTPPIIHLKGDNRSLKCLRYRLRKHSDHYRDISSTHHTGAG-NEKTGILTIVYHSETQR
tr|A9XFMS|A9XFMS_HPV45  NTPPIIHLKGDNRSLKCLRYRLRKYADHYSEISSTHHTGCK--NEKTGILTIVYHSEVQR
tr|F8S457|F8S457_HPV33  NVAPIVHLKGDNSLKCLRYRLKPKHLYSCMSSTHHTSDNKRMSKNGIVTFTFSTEQQQ
tr|J3SRX8|J3SRX8_HPV16  NTPPIVHLKGDANLKLCLRYRFKHKCKLYTAVSSTHHTGHNKHKSAIVTTLTYDSECQR
tr|F8S3A3|F8S3A3_HPV31  ATTPPIIHLKGDANILKCLRYRLSKYQLYEQVSSSTHHTCTDGHKKNIAIVTTLTYISTSR
**:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*
tr|Q80B71|Q80B71_HPV18  TKFLNTVAIPDSVQILVGYMTM
tr|A9XFMS|A9XFMS_HPV45  NTFLDVVTIPNSVQISVGYMTM
tr|F8S457|F8S457_HPV33  QMFLGTVKIPPTVQISTGFMTL
tr|J3SRX8|J3SRX8_HPV16  EQFLSQVKIPKTIIVSTGFMSI
tr|F8S3A3|F8S3A3_HPV31  DDFLNTVKIPNTVSVSTGYMTI
**:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*

```

تصویر ۲. همردیفی چندگانه بین توالی آمینو اسیدی پروتئین E2 از سروتایپ‌های (۱۶، ۱۸، ۳۱، ۳۳ و ۴۵) ویروس پاپیلومای انسان

جدول ۳. نتایج بررسی کیفیت ساختاری مدل سه بعدی پروتئین‌های E1 و E2 از سروتایپ‌های مختلف ویروس پاپیلومای انسانی

| شاخص QMEAN | | | | | نام پروتئین |
|------------|------------|------------|------------|------------|-------------|
| سروتایپ ۴۵ | سروتایپ ۳۳ | سروتایپ ۳۱ | سروتایپ ۱۸ | سروتایپ ۱۶ | |
| -۱/۳۳ | -۰/۸۹ | -۰/۱۲ | ۰/۲۸ | -۰/۳۴ | E1 |
| ۰/۴۸ | ۰/۵۹ | -۱/۱۱ | -۰/۹۸ | ۰/۲۷ | E2 |

غریب‌گیری بر اساس سمیت سلولی و پتانسیل جهش‌زایی نتایج حاصل از این بخش نشان داد که از بین ترکیبات مورد مطالعه ۹ ترکیب به دلیل دارا بودن پتانسیل سمیت سلولی و جهش‌زایی نتایج حاصل از بررسی پتانسیل سمیت سلولی و جهش‌زایی ترکیبات گیاهی مورد بررسی در جدول ۴ ارائه شده است.

بنابراین ۱۰ ترکیبی که فاقد پتانسیل جهش‌زایی و سمیت سلولی بودند جهت بررسی بیش‌تر انتخاب شدند. بررسی مقایسه‌ای ترکیبات گیاهی نشان داد که به‌طور کلی ترکیبات

حاصل از *F. religios* پتانسیل سمیت بیش‌تری نسبت به ترکیبات حاصل از *P. emblic* دارند.

جدول ۴. نتایج مربوط به بررسی پتانسیل سمیت سلولی و جهش‌زایی ترکیبات گیاهی مورد مطالعه

| ترکیب | مهار CYP1A2 | مهار CYP2C19 | مهار CYP2C9 | مهار CYP2D6 | مهار CYP3A4 | جهش‌زایی |
|-----------------------|-------------|--------------|-------------|-------------|-------------|----------|
| 1-Triacontanol | خیر | خیر | خیر | خیر | خیر | خیر |
| 1-Triacontanoic acid | خیر | خیر | خیر | خیر | خیر | خیر |
| Beta-Amyrin | خیر | خیر | خیر | خیر | خیر | خیر |
| Betulonic acid | خیر | خیر | بلی | خیر | خیر | بلی |
| Daucosterol | خیر | خیر | خیر | خیر | خیر | خیر |
| Lupeol acetate | خیر | خیر | خیر | خیر | خیر | خیر |
| Gallic acid | خیر | خیر | خیر | خیر | بلی | بلی |
| Betulinic acid | خیر | خیر | بلی | خیر | بلی | خیر |
| Ursolic acid | خیر | خیر | خیر | خیر | خیر | خیر |
| Oleanic acid | خیر | خیر | خیر | خیر | خیر | خیر |
| Quercetin | خیر | خیر | خیر | خیر | خیر | خیر |
| Rutin | خیر | خیر | خیر | خیر | خیر | خیر |
| Eugenol | بلی | خیر | خیر | خیر | خیر | خیر |
| Itaconic anhydride | خیر | خیر | خیر | خیر | خیر | بلی |
| Muscone | خیر | خیر | بلی | خیر | خیر | بلی |
| Coumaran | بلی | خیر | خیر | خیر | خیر | بلی |
| Allyl caproate | خیر | خیر | خیر | خیر | خیر | خیر |
| Salicylaldehyde | خیر | خیر | خیر | خیر | خیر | خیر |
| 2-Phenylethyl alcohol | بلی | خیر | خیر | خیر | خیر | بلی |
| <i>epi-α</i> -Cadinol | خیر | بلی | بلی | خیر | بلی | خیر |
| Beta-Eudesmol | خیر | خیر | بلی | خیر | بلی | بلی |
| Phytol | خیر | خیر | بلی | خیر | خیر | بلی |

غربال‌گری بر اساس خصوصیات فیزیکوشیمیایی نتایج حاصل از بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی ترکیبات گیاهی فاقد پتانسیل سمیت سلولی و جهش‌زایی در جدول ۵ ذکر شده است. نتایج نشان داد که از ۱۰ ترکیب غربال‌شده در مرحله‌ی قبل، ۴ ترکیب *Allyl caproate*، *Quercetin*، *Ursolic acid* و

Salicylaldehyde دارای خصوصیات فیزیکوشیمیایی مطلوبی بوده، بنابراین ترکیبات مذکور جهت بررسی نهایی انتخاب شدند. بررسی منشأ ترکیبات گیاهی غربال‌شده نیز نشان داد که ۲ ترکیب از هر دو گیاه مورد بررسی دارای ویژگی‌های مطلوب جهت بررسی نهایی می‌باشند.

جدول ۵. نتایج حاصل از بررسی خصوصیات فیزیکی شیمیایی ترکیبات گیاهی فاقد پتانسل سمیت سلولی و جهش‌زایی

| ترکیب | جذب گوارشی | حلالیت در آب | ضریب توزیع | قطبیدگی |
|----------------------|------------|--------------|------------|---------|
| 1-Triacontanol | پایین | ضعیف | ۱۲ | ۲۰/۳۳۰ |
| 1-Triacontanoic acid | پایین | نامحلول | ۹/۳۵۷ | ۳۷/۳۰۰ |
| Beta-Amyrin | پایین | ضعیف | ۹/۶۶۶ | ۲۰/۲۳۰ |
| Daucosterol | پایین | ضعیف | ۶/۷۸۳ | ۹۹/۳۸۰ |
| Ursolic acid | بالا | بالا | ۱/۰۹ | ۳۷/۳۰۰ |
| Oleanic acid | پایین | ضعیف | ۵/۰۹۹ | ۵۷/۵۳۰ |
| Quercetin | بالا | متوسط | ۴/۰۴۳ | ۲۱۰/۵۱۰ |
| Rutin | پایین | بالا | ۳/۰۹ | ۲۶۹/۴۳۰ |
| Allyl caproate | بالا | بالا | ۲/۸۰۹ | ۲۶/۳۰۰ |
| Salicylaldehyde | بالا | بالا | ۱/۵۶۷ | ۳۷/۳۰۰ |

می‌کند. علاوه بر این نتایج نشان داد که ترکیب مذکور برهمکنش‌های قوی‌تری را با پروتئین‌های E1 و E2 از سروتایپ‌های ۴۵ و ۱۸ ایجاد می‌کند (تصویر ۳). جزئیات و اسیدآمین‌های درگیر در برهمکنش ترکیب مذکور با پروتئین‌های مورد مطالعه در جدول ۷ ذکر شده است. بررسی اسیدآمین‌های درگیر در برهمکنش نیز نشان داد که غالب برهمکنش‌های ترکیب مذکور با اسید آمین‌های نواحی ۳۶۰-۳۰۰ در مورد پروتئین E1 و ۹۰-۱۱۵ در خصوص پروتئین E2 می‌باشد.

داکینگ مولکولی

نتایج حاصل از داکینگ مولکولی بین پروتئین‌های E1 و E2 از سروتایپ‌های مختلف ویروس پاپیلوما‌ی انسان و ۴ ترکیب غربال شده ی نهایی شامل Quercetin، Ursolic acid، Allyl caproate و Salicylaldehyde در جدول ۶ آورده شده است. نتایج نشان داد که ترکیبات غربال شده برهمکنش‌های قوی را با پروتئین‌های مورد بررسی ایجاد می‌کنند. در این بین Ursolic acid با هر دو پروتئین مورد بررسی از تمامی سروتایپ‌ها برهمکنش‌های قوی ایجاد

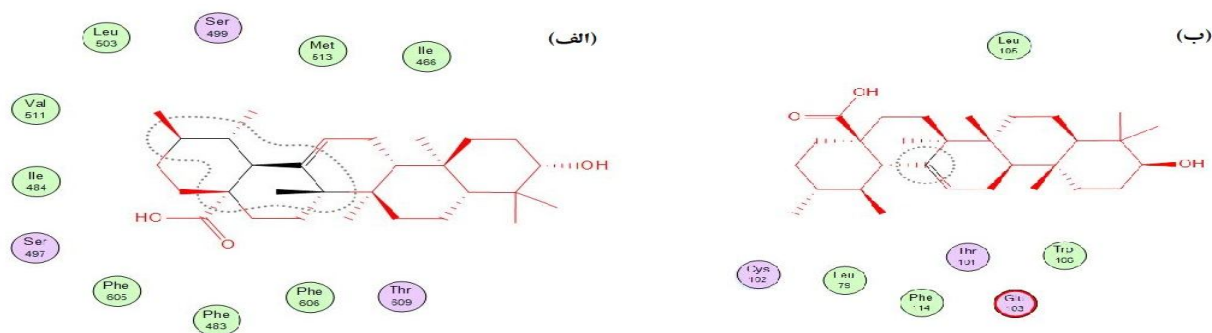
جدول ۶. انرژی اتصال ترکیبات غربال شده ی نهایی با پروتئین‌های E1 و E2 سروتایپ‌های مختلف ویروس پاپیلوما‌ی انسان (اعداد بر حسب کیلوژول برمول)

| ترکیب | E1 | | | | | E2 | | | | |
|-----------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | ۱۶ | ۱۸ | ۳۱ | ۳۳ | ۴۵ | ۱۶ | ۱۸ | ۳۱ | ۳۳ | ۴۵ |
| Quercetin | -۴/۳ | -۳/۲ | -۱/۲ | -۵/۴ | -۲/۶ | -۴/۵ | -۶/۴ | -۵/۳ | -۴/۲ | -۳/۳ |
| Ursolic acid | -۷/۱ | -۶/۹ | -۸/۳ | -۵/۶ | -۹/۷ | -۴/۶ | -۸/۵ | -۷/۲ | -۶/۳ | -۵/۹ |
| Allyl caproate | -۳/۲ | -۲/۲ | -۶/۵ | -۴/۳ | -۲/۳ | -۳/۳ | -۳/۱ | -۲/۱ | -۴/۱ | -۲/۹ |
| Salicylaldehyde | -۴/۳ | -۲/۳ | -۴/۱ | -۳/۶ | -۵/۷ | -۲/۳ | -۲/۴ | -۲/۵ | -۳/۸ | -۴/۳ |

جدول ۷. اسید آمین‌های درگیر در برهمکنش Ursolic acid و پروتئین‌های E1 و E2

اسید آمین‌های درگیر در برهمکنش

| سروتایپ | پروتئین E1 | پروتئین E2 |
|---------|--|---|
| ۱۶ | Tyr170, Pro302, Ile307, Glu308, Ser314, Phe354 | Cys11, Ala69, Trp92, D96, L103 |
| ۱۸ | Phe49, Glu64, Val307, His354, Gln353 | Leu105, Trp106, Thr101, Glu103, Cys102, Leu79, Phe114 |
| ۳۱ | Thr7, Ser118, Ala360, Met349, Asp347 | Gln5, Leu62, Tyr100, Leu110, His113 |
| ۳۳ | Met12, Thr63, Glu301, Cys310, Phe347, Met352 | Ile15, Val72, Gln92, Ser98, Lys111 |
| ۴۵ | Phe483, Ile484, Ser499, Leu503, Met513, Phe605, Phe606 | Val64, Glu97, Trp108, Cys115 |



تصویر ۳. نحوه برهمکنش اورسولیک اسید با اسید آمینه‌های ناحیه ی برهمکنش پروتئین‌های الف (E1 و ب) E2 از سروتایپ‌های ۴۵ و ۱۸.

۵. بحث

خصوصیات فیزیکوشیمیایی، تعیین جایگاه فعال پروتئین‌ها، ساختار سه بعدی ماکرومولکول‌ها، برهمکنش بین مولکول‌ها و ارزیابی خصوصیات دارویی را فراهم نموده‌اند. روش‌های بیوانفورماتیکی به دلیل در دسترس بودن، دقت بالا و سریع بودن روش‌های مناسبی جهت غربال‌گری ترکیبات دارویی به‌ویژه ترکیبات ضد ویروسی می‌باشند (۱۴).

در پژوهش حاضر از یک روش بیوانفورماتیکی ویژه به منظور غربال‌گری ترکیبات موثره گیاهی از دو گیاه دارویی پروتئین *P. emblic* و *F. religios* به منظور معرفی مهارکننده‌های بالقوه ی پروتئین‌های E1 و E2 ویروس پاپیلومای انسانی استفاده شد. طی سال‌های اخیر، غربال‌گری بیوانفورماتیکی به عنوان رهیافتی نوین در طراحی و غربال‌گری دارو برای بیماری‌های مختلف استفاده شده است.

در این خصوص نتیجه بررسی نصرتی و همکاران با استفاده از روش داکینگ مولکولی نشان داد که تری ترپنوئیدها با منشا گیاهی و قارچی می‌توانند کاندیدهای مناسبی جهت مهار آنزیم پروتئاز HIV-1 و معرفی ترکیبات جدید دارویی ضد HIV باشند (۱۶). در پژوهشی مشابه مشخص شد که ترکیبات گیاهی موجود در دو گیاه *Terminalis chebula* و *Caesalpinia sappan* می‌توانند برهمکنش‌های قوی را با آنزیم DNA پلیمرز ویروس هپاتیت ب انسان ایجاد کنند (۱۷). بیلر و همکاران نیز با انجام یک مطالعه بیوانفورماتیکی از بین ۲۲۶۳ ترکیب گیاهی، به ۴۳ ترکیب با قابلیت‌های دارویی و توان مهار پروتئاز ویروس زیکا دست یافتند (۱۸). در همین خصوص طی یک پژوهش بیوانفورماتیکی از

شیوع گسترده، وجود سروتایپ‌های مختلف و نیز عدم دسترسی به داروی موثر و اختصاصی علیه ویروس پاپیلومای انسانی مبارزه با عفونت ناشی از این ویروس را به چالشی جهانی تبدیل نموده است. از سوی دیگر، ارتباط تایید شده‌ی ویروس مذکور به ویژه سروتایپ‌های ۱۶، ۱۸، ۳۱، ۳۳ و ۴۵ با سرطان دهانه رحم موجب شده تا طی سال‌های اخیر پژوهش‌های گسترده‌ای با هدف پیشگیری، تشخیص و درمان عفونت ناشی از ویروس پاپیلومای انسانی انجام شود. در این بین، فقدان داروی موثر تاییدشده و لزوم معرفی داروهای جدید برای کنترل یا درمان قطعی عفونت مذکور موجب شده تا پژوهش‌های زیادی با هدف معرفی ترکیبات نوین دارویی صورت گیرد.

گیاهان دارویی به علت در دسترس بودن، ارزان بودن، ماهیت طبیعی، اثرات جانبی کم‌تر و نیز دارا بودن طیف وسیعی از ترکیبات شیمیایی منبع بسیار مناسبی برای معرفی ترکیبات جدید دارویی محسوب می‌شوند (۱۵).

اگرچه تاکنون پژوهش‌های آزمایشگاهی متعددی برای معرفی ترکیبات نوین ضد ویروسی به‌ویژه ضد ویروس پاپیلومای انسانی انجام شده، اما محدودیت‌هایی نظیر زمان‌بر بودن، هزینه بالا، احتمال رخداد خطای انسانی و نیز نیاز به تجهیزات پیچیده، توسعه و معرفی داروهای ضد ویروسی را با چالش مواجه نموده است. بنابراین طی سال‌های اخیر، روش‌های محاسباتی طراحی و غربال‌گری دارو با اقبال گسترده‌ای مواجه شده‌اند. روش‌های مذکور امکان پیش‌بینی سمیت سلولی، جهش‌زایی،

بین ۱۸ میلیون ترکیب شیمیایی ۵ ترکیب به عنوان مهار کننده‌های احتمالی آنزیم پروتئاز ویروس عامل تب دنگی معرفی شدند (۱۹).

کومار و همکاران طی یک غربالگری بیوانفورماتیکی به بررسی قابلیت مهار پروتئین E6 ویروس پاپیلومای انسان پرداخته و در نهایت از میان ۵۰۰۰ ترکیب ۲ ترکیب شبه دارویی را به عنوان مهارکننده‌های بالقوه‌ی پروتئین مذکور معرفی کردند (۲۰). در پژوهشی مشابه قابلیت برخی ترکیبات گیاهی در مهار ۲ آنکو پروتئین مهم ویروس پاپیلومای انسان با استفاده از روش‌های داکینگ مولکولی مورد ارزیابی قرار گرفته و مشخص شد که withaferin A می‌تواند برهمکنش‌های مستحکمی را با پروتئین‌های مذکور ایجاد کند (۲۱).

در اکثر روش‌های بیوانفورماتیکی مراحل طراحی یا غربالگری داروی جدید شامل ایجاد کتابخانه‌ی اولیه مواد شیمیایی، آماده‌سازی لیگاندها و گیرنده موردنظر، بررسی میزان تمایل لیگاندها به پروتئین، پیش‌بینی نواحی درگیر در برهمکنش و پایداری کمپلکس‌های تشکیل شده است (۲۲). در این پژوهش علاوه بر مراحل کلیدی مذکور یک غربالگری ابتدایی نیز انجام شد. در این مرحله ترکیبات گیاهی مورد مطالعه از نظر خصوصیات فیزیکوشیمیایی شامل میزان حلالیت، سمیت سلولی، پتانسیل جهش‌زایی، میزان نفوذ و قطبیت مورد ارزیابی قرار گرفتند. وجود این مرحله در فرآیند غربالگری موجب شد تا در نهایت ترکیب معرفی شده در کنار انرژی اتصال بالا به پروتئین‌های مورد مطالعه خصوصیات فیزیکوشیمیایی مطلوبی داشته و این امر موجب کوتاه‌تر شدن فرآیند طراحی دارو خواهد شد. روش استفاده شده در پژوهش حاضر در مطالعات مشابهی برای غربالگری دارو برای هپاتیت ب (۲۳)، آنفلوآنزا (۲۴)، ایدز (۲۵)، سندروم حاد دستگاه تنفس (۲۶) و عفونت‌های قارچی (۲۷) انجام شده و نتایج آن نویدبخش بوده است.

غربالگری نهایی انجام‌شده نشان داد که Ursolic acid موجود در P.emblic فاقد هرگونه پتانسیل سمیت سلولی و جهش‌زایی بوده و نیز دارای خصوصیات فیزیکوشیمیایی

مطلوب می‌باشد. بررسی برهمکنش ترکیب مذکور با پروتئین‌های E1 و E2 از سروتاپ‌های پرخطر ویروس پاپیلومای انسانی نشان داد که ترکیب مذکور قابلیت ایجاد برهمکنش‌های قوی با پروتئین‌های مذکور را در تمامی سروتاپ‌های مورد بررسی دارد. علاوه بر این مشخص شد که غالب اسید آمینه‌های درگیر در برهمکنش با ترکیب مذکور در نواحی بیش‌تر حفاظت‌شده قرار دارند که می‌تواند دلیلی بر اثربخشی وسیع الطیف احتمالی ترکیب مذکور باشد. بررسی گزارش‌های قبلی در خصوص اثرات مطلوب درمانی ترکیب غربال‌شده کاملاً منطبق بر نتایج پیش‌بینی صورت گرفته در این پژوهش بوده، به‌طوری که اثرات ضدویروسی این ترکیب در پژوهش‌های مختلف تایید شده است. در همین خصوص، پژوهش انجام شده توسط نصرتی و همکاران نشان داد که مکانیسم احتمالی اثر ضدویروسی Ursolic acid علیه HIV-1 مورد بررسی قرار گرفته و مشخص شد که ترکیب مذکور با مهار آنزیم پروتئاز این ویروس موجب بروز اثرات ضد ویروسی می‌شود (۱۶). در پژوهشی دیگر، شیانگ و همکاران نشان دادند که Ursolic acid دارای اثرات ضدویروسی چشمگیری علیه HSV-1 می‌باشد (۲۸). نتیجه‌ی به‌دست آمده در پژوهش کازاکاوا و همکاران نیز تایید کننده‌ی نتایج پژوهش حاضر است. در پژوهش مذکور اثرات ضدویروسی مشتقات مختلف Ursolic acid علیه سروتاپ ۱۱ ویروس پاپیلومای انسانی مورد ارزیابی قرار گرفته و نتایج به‌دست آمده تایید کننده‌ی اثربخشی مطلوب مشتقات مورد بررسی بوده است (۲۹). اثربخشی ترکیب مذکور در بررسی انجام شده توسط ژائو و همکاران نیز تایید شده و قابلیت مهار تکثیر Guinea Pig Cytomegalovirus توسط ترکیب مذکور تایید شده است (۳۰).

بنابراین با توجه به خصوصیات فیزیکوشیمیایی مطلوب و اثربخشی مطلوب در مهار پروتئین‌های کلیدی تکثیر ویروس پاپیلومای انسانی Ursolic acid می‌تواند به عنوان یک کاندید دارویی مناسب جهت بررسی‌های بیش‌تر برون‌تنی و درون‌تنی تلقی شود.

۶. نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش می‌توان نتیجه گرفت که روش‌های بیوانفورماتیکی راهکارهای مناسبی جهت طراحی و غربال‌گری داروهای نوین به‌ویژه برای بیماری‌هایی با منشا ویروسی است.

علاوه بر این، با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان اورتوسولیک اسید را به عنوان گزینه‌ای مناسب جهت بررسی‌های بیش‌تر آزمایشگاهی و درون‌تنی جهت درمان عفونت ناشی از ویروس پاپیلومای انسانی معرفی نمود.

۷. تقدیر و تشکر

بدین‌وسیله نویسندگان از حمایت‌های ملی و معنوی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه و نیز از پرسنل محترم مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی کرمانشاه کمال تشکر و سپاس‌گزاری را دارند.

۸. سهم نویسندگان

تمامی نویسندگان معیارهای استاندارد نویسندگی بر اساس پیشنهادات کمیته بین‌المللی ناشران مجلات پزشکی را دارا بودند.

۹. تضاد منافع

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

References

1. Morshed, K., et al., Human Papillomavirus (HPV)–Structure, epidemiology and pathogenesis. *Otolaryngologia Polska*. 2014; 68(5): 213-219.
2. Muñoz, N., et al., Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med*. 2003; 2003(348): 518-527.
3. Munoz, N., et al., HPV in the etiology of human cancer. *Vaccine*. 2006; 24: S1-S10.
4. Ferlay, J., et al., Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *International journal of cancer*. 2010; 127(12): 2893-2917.
5. Dunne, E.F., et al., Prevalence of HPV infection among females in the United States. *Jama*. 2007; 297(8): 813-819.
6. Toots, M., et al., Identification of several high-risk HPV inhibitors and drug targets with a novel high-throughput screening assay. *PLoS pathogens*. 2017; 13(2): e1006168.
7. Faucher, A.-M., et al., Discovery of small-molecule inhibitors of the ATPase activity of human papillomavirus E1 helicase. *Journal of medicinal chemistry*. 2004; 47(1): 18-21.
8. White, P.W., et al., Biphenylsulfonacetic acid inhibitors of the human papillomavirus type 6 E1 helicase inhibit ATP hydrolysis by an allosteric mechanism involving tyrosine 486. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2005; 49(12): 4834-4842.
9. Frattini, M.G. and L.A. Laimins, The role of the E1 and E2 proteins in the replication of human papillomavirus type 31b. *Virology*. 1994; 204(2): 799-804.
10. Martin, K.W. and E. Ernst, Antiviral agents from plants and herbs: a systematic review. *Focus on Alternative and Complementary Therapies*. 2003; 8(1): 152-152.
11. Bibi, Y., et al., Antibacterial activity of some selected medicinal plants of Pakistan. *BMC complementary and alternative medicine*. 2011; 11(1): 52.
12. Madhuri, S. and G. Pandey, Some anticancer medicinal plants of foreign origin. *Current science*. 2009; 779-783.
13. Nosrati, M. and M. Behbahani, In Vitro and in Silico Evaluation of Antibacterial Effect of Methanolic Extracts of Prangos Ferulacea on Single and Biofilm Structure of Streptococcus Mutans. *SSU_Journals*. 2016; 23(11): 1049-1062.
14. Yu, W. and A.D. MacKerell, Computer-Aided Drug Design Methods, in *Antibiotics*. 2017; Springer. 85-106.
15. Balunas, M.J. and A.D. Kinghorn, Drug discovery from medicinal plants. *Life sciences*. 2005; 78(5): 431-441.
16. Nosrati, M. and M. Behbahani, Molecular Docking Study of HIV-1 Protease with Triterpenoides Compounds from Plants and Mushroom. *Arak Uni Med Sci J*. 2015; 18(3): 67-79.
17. Nosrati M, Shakeran Z, Shakeran Z. In Silico Screening Hepatitis B Virus DNA Polymerase Inhibitors from Medicinal Plants. *Majallah-i dānishgāh-i ulūm-i pizishkī-i Arāk*. 2017; 20(5):89-102.
18. Byler, K.G., I.V. Ogungbe, and W.N. Setzer, In-silico screening for anti-Zika virus phytochemicals. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*. 2016; 69: 78-91.
19. Mirza, S.B., et al., Virtual screening of eighteen million compounds against dengue virus: Combined molecular docking and molecular dynamics simulations study. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*. 2016; 66: 99-107.
20. Kumar, S., et al., Virtual screening for potential inhibitors of high-risk human papillomavirus 16 E6 protein. *Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences*. 2015; 7(2): 136-142.
21. Griffiths PD, Boeckh M. Antiviral therapy for human cytomegalovirus. In: Arvin A, Campadelli-Fiume G, Mocarski E, et al., editors. *Human Herpesviruses: Biology, Therapy, and Immunoprophylaxis*. Cambridge: Cambridge University Press; 2007. Chapter 66, 1-21.
22. Kapetanovic, I., Computer-aided drug discovery and development (CADD): in silico-chemico-biological approach. *Chemico-biological interactions*. 2008; 171(2): 165-176.
23. Nosrati, M., Z. Shakeran, and Z. Shakeran, Frangulosid as a novel hepatitis B virus DNA polymerase inhibitor: a virtual screening study. *In Silico Pharmacology*. 2018; 6(1): 10.
24. Tambunan, U.S.F., et al., Computational design of drug candidates for influenza A virus subtype H1N1 by inhibiting the viral neuraminidase-1 enzyme. *Acta Pharmaceutica*. 2014; 64(2): 157-172.

25. Santos, L.H., R.S. Ferreira, and E.R. Caffarena, Computational drug design strategies applied to the modelling of human immunodeficiency virus-1 reverse transcriptase inhibitors. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2015; 110(7): 847-864.
26. Virupakshaiah, D., et al. Computer Aided Docking Studies on Antiviral Drugs for SARS. in *Proceedings of world academy of science, engineering and technology*. 2007; 24: 307-6884.
27. Rasheed, U., et al., ADME/T Prediction, Molecular Docking, and Biological Screening of 1, 2, 4-Triazoles as Potential Antifungal Agents. *Journal of Applied Bioinformatics & Computational Biology*. 2018; 2018.
28. Chiang, L.C., et al., Antiviral activities of extracts and selected pure constituents of *Ocimum basilicum*. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 2005; 32(10): 811-816.
29. Kazakova, O.B., et al., Betulin and ursolic acid synthetic derivatives as inhibitors of Papilloma virus. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. 2010; 20(14): 4088-4090.
30. Zhao, J., et al., Anti-viral effects of urosolic acid on guinea pig cytomegalovirus in vitro. *Journal of Huazhong University of Science and Technology [Medical Sciences]*. 2012; 32(6): 883-887.

Archive of SID

ORIGINAL RESEARCH

Bioinformatic Screening of Human Papillomavirus (HPV) E1 and E2 Inhibitor(S) from *Phyllanthus Emblica* and *Ficus Religiosa*

Komeil Amini¹, Kamran Mansouri²

1. Medical Biology Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.

ARTICLE INFORMATION

Article history

Received: 04 April 2018

Accepted: 27 June 2018

Published online: 06 November 2018

Keywords

Bioinformatic screening

Human papillomavirus

Medicinal plant

Ursolic acid

* Corresponding Author:

Kamran Mansouri; Medical Biology Research Center, School of Medicine, Sorkheh LigeH Blvd, Kermanshah, Iran. P.O. Box 1568, Sorkheh LigeH, Kermanshah, Iran.

Tel: +98 918 336 5450

Fax: +98 83 3427 6471

Email: kmansouri@kums.ac.ir

ABSTRACT

Background and Aim: Human papillomavirus (HPV) infection is a prevalent, life-threatening disease and cause of cancer among women. Therefore, in recent years, developing novel anti-HPV agents is highly regarded. The study was planned to bioinformatic screening for E1 and E2 potential inhibitors of HPV serotypes including 16,18,31,33 and 45 types from medicinal plants.

Materials and Methods: This is a descriptive-analytic study. In the first step, three-dimension structure of phytochemicals were retrieved from PubChem database and then the cell cytotoxicity and mutagenesis potential of them were evaluated. In the next step, the amino acid sequences of two key proteins of mentioned types of HPV including E1 and E2 were obtained from Uniprot database. Furthermore, the conserved and variable regions of the protein sequences were predicted using multiple sequence alignment method. Finally, the three-dimension structure of mentioned proteins was determined by homology modeling method and potential interactions of the phytochemicals with the proteins were investigated using molecular docking method through Autodock 4.2.6 software.

Findings: The results demonstrated that ursolic acid has no cytotoxicity and mutagenesis potential with appropriate physicochemical properties. Results also showed that mentioned compound had strong interaction with both E1 and E2 of all studied serotypes. Furthermore, the evaluation of ursolic acid and E1 and E2 interactions showed that amino acid is involved in conserved regions of mentioned serotypes.

Conclusion: Based on the obtained results of present study ursolic acid could be good candidate for more in vitro and in vivo studies of its anti HPV activity.

© Copyright (2018) Arak University of Medical Sciences

Cite this article as: Amini K., Mansouri K. Bioinformatic Screening of Human Papillomavirus (HPV) E1 and E2 Inhibitor(S) from *Phyllanthus Emblica* and *Ficus Religiosa*. J Arak Uni Med Sci. 2018; 21(5): 7-20