



UDC 543.9

INVESTIGATION OF ESSENTIAL OILS COMPONENTS AS POTENTIAL DISINFECTANTS INHIBITORS OF SARS-COV-2 SPIKE GLYCOPROTEIN

Olga O. Ovchynnykova*, Kostyantyn M. Sukhyy

Ukrainian State University of Chemical Technology, 8 Gagarina Ave., Dnipro, 49005, Ukraine

Received 29 June 2024; accepted 19 January 2023; available online 25 April 2024

Abstract

SARS-CoV-2, deadly virus first reported in 2019 rapidly spread around the globe causing COVID-19. To control the proliferation of the virus governments took measures such as disinfections of public places, mask mandates and social distancing. As a result of a mass disinfection of public places, large amounts of various disinfectants were continuously released into the waste waters causing significant impact on the environment. This large-scale pollution of ground waters, and a possible environmental crisis, led the scientific community towards developing alternative, eco-friendly, and biodegradable products for disinfection. Due to the relatively large mutation rate of SARS-CoV-2 virus, it became crucial to become proactive with the utilization of research approaches, hence, the theoretical investigation appeared to be the best course of action. Thus, in this work, we combined two aims: first, creating the benchmark for building efficient homology models of spike glycoproteins receptor-binding domain from different SARS-CoV-2 variants; and the second aim, being a practical application, scanning a database of natural compounds as potential disinfectant products.

Keywords: COVID-19; SARS-CoV-2; homology modeling; molecular docking; natural compounds; disinfectants.

ДОСЛІДЖЕННЯ КОМПОНЕНТІВ ЕФІРНИХ ОЛІЙ ЯК ПОТЕНЦІЙНИХ ДЕЗІНФІКУЮЧИХ ЗАСОБІВ ІНГІБІТОРІВ СПАЙК ГЛІКОПРОТЕЇНУ SARS-COV-2

Ольга О. Овчинникова, Костянтин М. Сухий

ДВНЗ «Український державний хіміко-технологічний університет», просп. Гагаріна, 8, Дніпро, 49005, Україна

Анотація

У цій роботі ми поєднали дві мети: створення шаблону для побудови гомологічних моделей рецептор-зв'язуючого домену спайк глікопротеїнів різних варіантів SARS-CoV-2 та його практичне застосування для сканування природних сполук як потенційних дезінфікуючих засобів. Дев'ять варіантів SARS-CoV-2: Дикий тип, Альфа, Бета, Гамма, Дельта, Епсилон, Лямбда, Мю та Оміврон – стали об'єктами цього дослідження. Розглянуто природу взаємодії між білком ACE2 та рецептор-зв'язуючим доменом з метою виявлення критичних для зв'язування амінокислот. В якості прикладу ряд активних інгредієнтів, які часто зустрічаються в традиційних китайських лікарських засобах, були оцінені за допомогою обчислень на предмет їхньої інгібуючої активності. Результати, отримані в цьому дослідженні, свідчать про те, що випробуваний метод гомологічного моделювання може бути успішно використаний за недоступності 3D-структур. Розроблений підхід може бути використаний для моделювання мутантів, кристалічна структура яких ще не відома, та сканування більш широкій бібліотеки сполук проти інших мутованих вірусних білків.

Ключові слова: COVID-19; SARS-CoV-2; гомологічне моделювання; молекулярна динаміка; природні сполуки; дезінфікуючі засоби.

*Corresponding author: e-mail: olga.ov.flex@gmail.com

© 2024 Oles Honchar Dnipro National University;

doi: 10.15421/jchemtech.v32i1.283321

Вступ

Коронавірусна інфекція (COVID-19), спричинена важким гострим респіраторним синдромом коронавірусу (SARS-CoV-2), стала головним ворогом людства, оскільки з 2019 року вірус стрімко поширюється по всьому світу, спричиняючи високий рівень захворюваності та смертності, та провокуючи глобальну економічну кризу. Протягом останніх років основний інтерес дослідницької спільноти змістився в бік розробки вакцин і ліків. На цьому етапі багато терапевтичних засобів було протестовано та рекомендовано для лікування COVID-19 [1–3]. Станом на грудень 2021 року єдиним препаратом, дозволеним Управлінням з контролю за продуктами і ліками США (FDA), був пероральний противірусний препарат Paxlovid [4]. Станом на лютий 2022 року випущено кілька засобів імунізації, включаючи вакцини з дефектними реплікаційними вірусними векторами, інактивовані патогенні вакцини, вакцини з білковою субодиницею, вірусоподібні вакцини та нові мРНК-вакцини [5]. Незважаючи на успіхи у розробці вакцин, продовжують виникати численні занепокоєння щодо побічних ефектів після вакцинації [6; 7]. Більше того, задокументовані дослідження не містять доказів того, що вже розроблені терапевтичні засоби залишатимуться ефективними проти кожного існуючого та нового варіанту SARS-CoV-2 [8; 9].

Щоб запобігти поширенню вірусу, уряди в усьому світі запровадили заходи з обмеження мобільності, а також заходи з охорони здоров'я та соціальні заходи, включаючи гігієну рук, соціальне дистанціювання, обов'язкове носіння масок для обличчя та правила дезінфекції в громадських місцях. Нажаль, запровадження правил дезінфекції призвело до стрімкого вивільнення зазначених дезінфікуючих засобів у системи водовідведення [10–13]. Це викликає занепокоєння через потенційні проблеми для довкілля та здоров'я, які може спричинити неконтрольоване вивільнення дезінфікуючих засобів [11–13]. Тому великий інтерес представляє вдосконалення існуючих протоколів дезінфекції та розробка нових екологічно чистих, нетоксичних і біологічно розкладних дезінфікуючих засобів [14].

Наприклад, природні інгібітори спайкового глікопротеїну SARS-CoV-2, на кшталт дезінфікуючих засобів традиційної китайської

медицини (ТКМ), які блокують проникнення вірусу в клітину-господаря, можуть використовуватися як противірусні засоби для дезінфекції повітря та поверхонь [15]. Зв'язування рецептора ангіотензинперетворюючого ферменту 2 (ACE2) людини з RBD (рецептор-зв'язуючий домен) спайкового білка SARS-CoV-2 вважається основною ознакою інфекційності та поширення вірусу [16]. Оскільки цей процес полегшується взаємодією RBD та ACE2 [17; 18], природні дезінфектанти повинні бути спрямовані на RBD. Приклади активних інгредієнтів, які часто зустрічаються в ТКМ, включають різні флавоноли та флаваноли [19; 20]. Загалом ТКМ широко використовуються в Китаї для невідкладного лікування: понад 85 % пацієнтів, інфікованих SARS-CoV-2 в Китаї, отримали ту чи іншу форму лікування ТКМ [21; 22]. Відсутність достатньої кількості досліджень як *in vitro*, так і *in vivo* перешкоджає вдосконаленню та раціональному використанню природних сполук з ТКМ як ефективних лікувальних засобів, оскільки ця робота є лише відправною точкою для подальших, більш широких досліджень.

Для вирішення цієї проблеми ми пропонуємо використовувати підходи *in silico* для проведення експериментальних випробувань природних дезінфікуючих засобів з ТКМ, оскільки обчислювальні методи є набагато дешевшими, менш трудомісткими і менш тривалими, ніж експериментальні випробування [23; 24]. На сьогоднішній день комп'ютерному дизайну ліків від COVID-19 присвячено рекордну кількість наукових статей. На початку пандемії центральною проблемою, що стояла на шляху точного відкриття ліків, був вибір надійних 3D-структур білків-мішеней [25]. Як наслідок, численні дослідницькі групи отримали лише низькоякісні розрахунки, які не можуть слугувати практичним керівництвом для експериментальних досліджень. Слід визнати, що чим швидше можна отримати доступ до 3D-структур патогенних білків, тим швидше відбувається процес ідентифікації потенційних інгібіторів. Більше того, багато рукописів повідомляють лише про розрахунки докінгу низької точності, хоча існують помітні винятки, що демонструють складні сучасні обчислення, такі як точна молекулярна механіка та методи молекулярної динаміки [26].

У цій роботі представлено алгоритм комп'ютерного моделювання, призначений для виявлення взаємодії природних дезінфікуючих інгібіторів між спайковим глікопротеїном SARS-CoV-2 і білком господаря ACE2. Ми мали на меті створити та валідувати вісім гомологічних моделей RBD для різних варіантів SARS-CoV-2 і далі дослідити інгібуючий потенціал 48 природних дезінфектантів, які зазвичай використовуються в ТКМ.

Матеріали та методи

Для всіх симуляцій у цій роботі використовувався програмний пакет Schrodinger [27]. Структури дикого типу SARS-CoV та SARS-CoV-2, Альфа (B.1.1.7), Бета (B.1.351), Гамма (P.1), Дельта (B.1.617.2), Епсілон (B.1.427/B.1.429) та Омікрон (B.1.1.529) спайкових глікопротеїнів (S) RBD були отримані з Банку даних білків (ідентифікатори PDB: 2AJF, 6M0J, 7EDJ, 7LYK, 7M8K (7NXC), 7W9I, 7N8H та 7T9L, відповідно). Кожен цільовий білок готували за допомогою майстра підготовки білків Protein Preparation Wizard [28], реалізованого в Schrodinger. Порядок зв'язків було визначено, всі атоми Гідрогену було додано після видалення вихідних Гідрогенів. Протонаційні стани були згенеровані за допомогою Ерік [29] для pH 7.0 ± 2.0, мережа водневих зв'язків була оптимізована, а обмежена мінімізація всіх атомів була проведена за допомогою силових полів OPLS3e [30].

Гомологічне моделювання. Як свідчать дані літератури [31], амінокислоти, які відповідають за зв'язування RBD з ACE2, містять Tyr449, Tyr453, Leu455, Phe456, Phe486, Asn487, Tyr489, Gln493, Gly496, Gln498, Thr500, Asn501, Gly502, Tyr505. У

розглянутих варіантах мутації в RBD відбувалися в амінокислотних залишках: Gly339, Arg346, Ser371, Ser373, Ser375, Lys417, Asn440, Gly446, Leu452, Ser477, Thr478, Glu484, Phe490, Gln493, Gly496, Gln498, Asn501 і Tyr505, і лише п'ять з них безпосередньо зв'язувалися з клітиною-господарем.

Ланцюг E, що містить RBD, було виділено з RBD Дикого типу, зв'язаного з ACE2 (PDB ID: 6M0J), а потім використано як шаблон для моделювання гомології Альфа (B.1.1.7), Бета (B.1.351), Гамма (P.1), Дельта (B.1.617.2), Епсілон (B.1.427/B.1.429), Лямбда (C.37), Мю (B.1.621) та Омікрон (B.1.1.529) варіантів RBDs. Гомологічні моделі були створені за допомогою модуля Schrodinger.

Моделювання гомології. Прогнозування вторинної структури було здійснено за допомогою методу вирівнювання ClustalW [32]. Всі зразки гомології були далі змодельовані за допомогою симуляції молекулярної динаміки впродовж 200 нс, Метод кластеризації траєкторій Desmond використовували з кістяком у вигляді матриці RMSD для виділення структур, найбільш часто повторюваних на траєкторії. Більшість заповнених кластерів було використано для подальших розрахунків.

Підготовка лігандів. Загалом було використано 48 активних інгредієнтів ТКМ [21]. Перелік компонентів та тип ТКМ, в якому вони знаходяться, можна знайти в Таблиці. Структури були отримані з бази даних PubChem [33] та підготовлені за допомогою LigPrep. Іонізаційні стани генерували за допомогою Ерік за pH 7.0 ± 2.0, а структури потім мінімізували за допомогою силового поля OPLS3e.

Table

Compounds and TCM type

Таблиця

Сполуки та тип ТКМ					
#	Compound	TCM type*	#	Compound	TCM type
1	(-)-taxifolin	QPD	25	Glycyrrhizic acid	QPD, MSD, CP, GC
2	(+)-Epicatchin	QPD	26	Hederagenin	HPD
3	(2S)-dihydrobaicalein	QPD	27	Herbacetin	MSD
4	3-O-Methylviolanonone	QPD	28	Hesperidin	QPD, MSD
5	7-Methoxy-2-methyl isoflavone	DYY	29	Inflacoumarin A	MSD
6	Amygdalin	QPD, MSD	30	Isolicoflavonol	RDS
7	arenobufagin	LC	31	Isotrifoliol	MSD
8	Astragalus polysaccharide	HPD	32	Kaempferol	MSD, CP, DYY
9	Baicalin	QPD, MSD	33	Kanzonol F	MSD
10	bufotalin	LC	34	Licoisoflavone B	RDS
11	Cianidanol	QPD	35	Luteolin	RDS
12	cinobufotalin	LC	36	Mairin	HPD

13	cyclo(L-Tyr-l-Phe)	QPD	37	naringenin	DYY, QPD
14	Dammaradienyl acetate	HPD	38	Narirutin	QPD, MSD
15	Delphinidin	MSD	39	Neohesperidin	QPD, MSD
16	desacetylcinobufotalin	LC	40	Oxysanguinarine	HPD and TP
17	Ephedrine	QPD, MSD	41	Quercetin	MSD, RDS, CP, DYY
18	Eriodyctiol (flavanone)	QPD	42	Resivite	MSD
19	Estrone	MSD	43	Semilicoisoflavone-B	RDS
20	Fisetin	RDS	44	Sitosterol	MSD
21	Formononetin	MSD, DYY	45	SR-01000767148	QPD
22	Gamabufotalin	LC	46	Stigmasterol	MSD, HPD
23	Glyasperin F	RDS	47	telocinobufagin	LC
24	Glycyrrhetic Acid	GC	48	ZINC13130930	QPD

*TCM (Traditional Chinese Medicine, QPD (Qingfei Paidu Decoction, DYY (Da Yuan yin), MSD (Maxing Shigan Decoction), LC (Liushen Capsule), HPD and TP (Hubei Province Diagnosis and Treatment Protocol for COVID-19), RDS (Respiratory Detox Shot), GC (Gan cao), CP (96,606 classic prescriptions).

Молекулярний докінг і молекулярна механіка. Для RBD усіх варіантів координатна сітка для молекулярного докінгу була центрована на $x: -35.0$, $y: 32.0$, $z: 0$, довжиною 36 \AA , а значення коефіцієнта масштабування було встановлено рівним 1. Для рецепторів ACE2 сітка була центрована на $x: -35.0$, $y: 32.0$, $z: 10$, з довжиною 36 \AA . Розрахунки докінгу з підвищеною точністю (XP) були виконані за допомогою програми Glide [34]. Силове поле OPLS3e використовували з гнучкими лігандами та негнучкими білковими структурами. Масштабуючий коефіцієнт було встановлено на 1. Мінімізація після докінгу з умовами корекції деформації проводили для кожного окремого розрахунку. Найкращі результати кожної симуляції XP були використані для розрахунку молекулярної механіки/узагальненої площі поверхні Борна (MM-GBSA), реалізованої в модулі Prime. За допомогою моделі сольватації VSGB та силового поля OPLS3e амінокислоти були гнучкими на відстані 12.0 \AA для всіх досліджуваних лігандів. Білок-лігандні комплекси були ранжовані на основі їх вільної енергії зв'язування.

Молекулярно-динамічне моделювання. Молекулярно-динамічне моделювання проводили за допомогою модуля Desmond [35]. Структури розміщували в орторомбічних боксах мінімізованого розміру та сольватували молекулами води з одноточковим зарядом. Всі системи були піддані стандартному восьмиступінчастому режиму релаксації Desmond, який виконували перед фактичним запуском. Для всіх розрахунків використовували силову поле OPLS3e. З кроком запису 25 пс гомологічні моделі RBD були змодельовані протягом 200 нс, для всіх інших комплексів було виконано симуляцію протягом 100 нс. Метод

кластеризації траєкторій було використано, як описано в підрозділі «Моделювання гомології», щоб отримати найбільш заповнені траєкторії для подальших розрахунків. Для оцінки середньоквадратичних відхилень (RMSD), середньоквадратичних флуктуацій (RMSF) та ліганд-білкових взаємодій використовували діаграму симуляційної взаємодії та аналіз симуляційних послідовностей.

Результати та їх обговорення

Для бенчмаркінгу було відібрано 48 діючих речовин деяких ТКМ (Таблиця) та відскановано відносно ACE2 та S-протеїну RBD варіантів SARS-CoV та SARS-CoV-2. Позиції лігандів з найвищими показниками, отримані за допомогою молекулярного докінгу, були оброблені методом MM-GBSA, що дозволяє оцінити енергію вільного зв'язування. Молекулярний докінг з ACE2 проводили виключно для порівняння. Для більшості лігандів афінність зв'язування до ACE2 була значно нижчою, ніж до вірусного S-протеїну, що вказує на відносну селективність лігандів. Окрім того, для вірусних RBD спостерігалася подібна картина ефективності. Однак ліганди 1, 18, 20, і 36 продемонстрували високу афінність до одного RBD і мали низьку афінність до всіх інших RBD. Найефективнішими блокаторами, як свідчить усереднена енергія вільного зв'язування, виявилися ліганди 28 (гесперидин), 38 (нарирутин) та 39 (неогесперидин), які мають енергію вільного зв'язування $-60,25$, $-58,02$ та $-58,64$ ккал/моль відповідно.

Далі білок-лігандні комплекси різних RBD з гесперидином, неогесперидином і нарирутином були використані для проведення моделювання молекулярної динаміки за 100 нс для подальшої оцінки

стабільності зв'язування. Рис. 1 ілюструє графіки RMSD та RMSF білків та лігандів, отримані в результаті моделювання МД 100 нс для комплексів RBD-гесперидин. Білки всіх варіантів були стабілізовані з коливаннями RMSD, що не перевищували 1.5 Å. Єдиним винятком був комплекс з Гамма RBD, де спостерігалось відхилення трохи менше 2 Å.

Середньоквадратичне коливання в межах RBD було досить низьким, з найвищими піками для варіантів SARS-CoV-2 нижче 3.6 Å. Приєднання лігандів до білка виявило надзвичайно високе відхилення RMSD для комплексу гесперидину з RBD Гамма-варіанта, що вказує на те, що ліганд був значно віддалений від початкового положення.

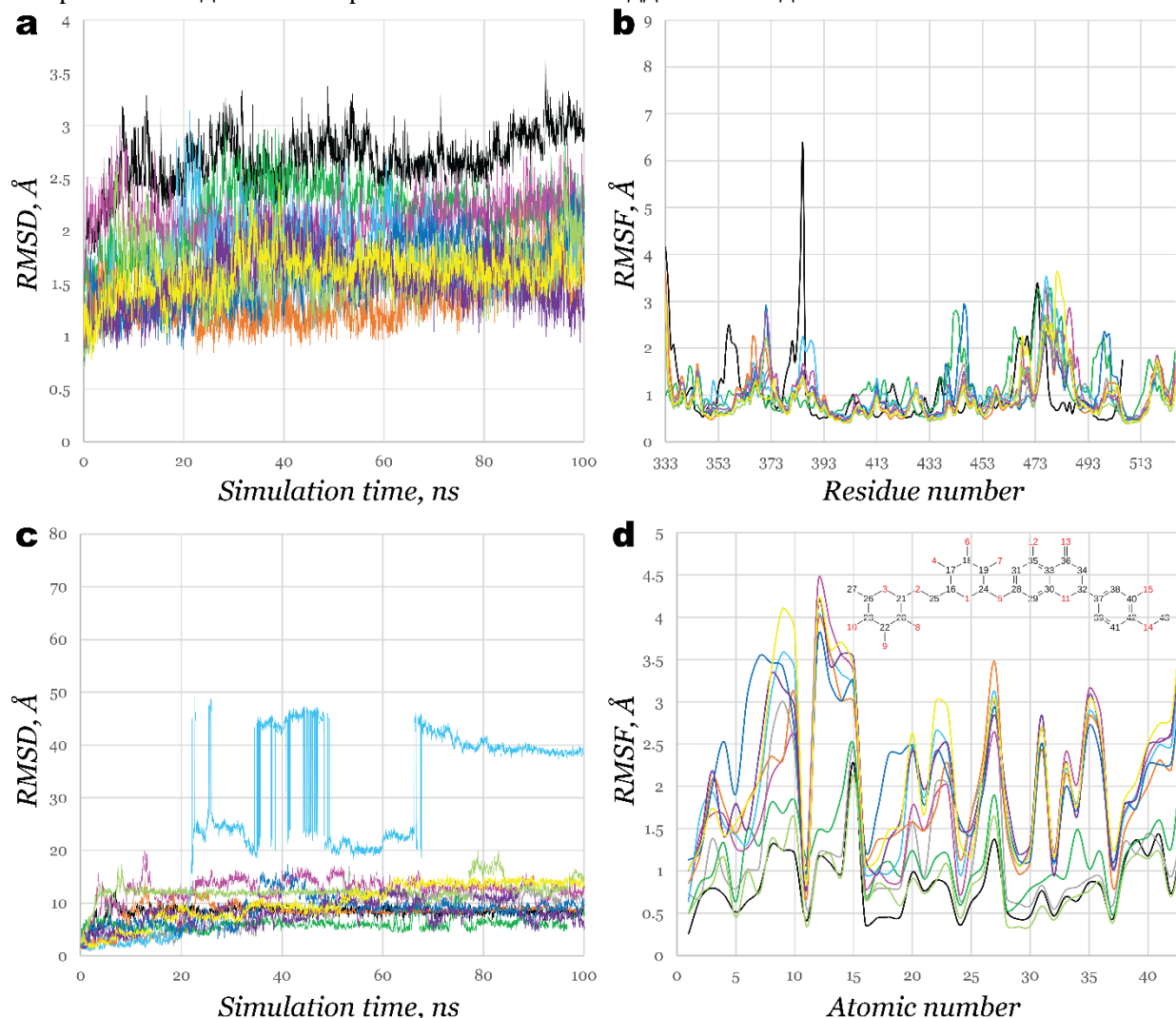


Fig. 1. Results of 100 ns MD simulation for RBD-28 (hesperidin) complexes: a) – RMSD of protein's C b) – RMSF of protein structures; c) – RMSD of ligand fit on protein; d) – RMSF of ligand's structures.

Рис. 1. Результати моделювання МД 100 нс для RBD-28 (гесперидин) комплексів: a) – RMSD білка C b) – RMSF протеїнових структур; c) – RMSD розташування ліганду відносно білка; d) – RMSF структур лігандів.

Ліганд, зв'язаний з Бета- і Мю- RBDs також показав високі відхилення, близько 12 Å. Спостерігалась ступінчаста зміна положення ліганду відносно Оміврон RBD, і стабілізувалось лише після 60 нс моделювання. Загалом гесперидин найсильніше фіксувався всередині ділянок зв'язування RBD варіантів SARS-CoV, Дикого типу, Лямбда та Альфа SARS-CoV-2, що підтверджується графіками RMSF для нього (Рис. 1d). Таку саму схему зв'язування можна спостерігати у випадку RBD Дикого типу,

Альфа-, Дельта- та Еpsilon RBD, поєднаних з гесперидином.

Враховуючи важливість E484 у зв'язуванні ліганду, можна припустити, що мутація цієї негативно зарядженої амінокислоти в позитивно заряджений лізин повинна призвести до зниження афінності зв'язування. Дійсно, у всіх варіантах з мутацією E484K (Бета, Гамма, Мю) не спостерігалось жодних контактів гесперидину з білком. У випадку Оміврона (з мутацією E484A) лише тижневе

стекування з Y489 стабілізувало ліганд всередині ділянки зв'язування RBD.

Нарирутин (38) показав слабшу спорідненість до варіантів SARS-CoV та SARS-CoV-2 (Рис. 2). Як показано на Рис. 2а, RMSD протеїну стабілізувався, не перевищуючи 2 Å. Однак RMSD положення ліганда відносно протеїна виявило суттєві зміни в положенні ліганда для більшості комплексів. RMSF лігандів показало значні коливання для більшості комплексів, окрім Гамма-комплексу. Як і гесперидин, нарирутин утворював найстабільніші комплекси з Альфа, Дельта та Епсилон RBD, стабілізуючись за рахунок Н-зв'язку з E484. Однак в Альфа та Епсилон RBDs взаємодія з E484 залишалася сильнішою протягом усього часу моделювання.

Подібно до гесперидину (28), нарирутин (38) утворював відносно слабкі комплекси з Бета, Мю та Омикроном. Водночас ділянка

зв'язування RBD Гамма-варіанту була сильно стабілізована 7 Н-зв'язками та водневим містком.

Комплекси RBD-38 продемонстрували подібний характер зв'язування, як і комплекси RBD-28 для Дикого типу, Альфа, Дельта та Епсилон. Гідроксильна група фенілового кільця фіксувалася Н-зв'язком з F490 (35 % часу моделювання), а обидві гідроксильні групи глюкозного кільця віддавали протони до глутамінової кислоти (85–92 % часу моделювання). RBD Гамма-варіанту містить мутацію E484K, що унеможливило виконання функції акцептора Н-зв'язків. Таким чином, замість E484 цю роль виконував E406. Три інші амінокислоти виступали донорами Н-зв'язків для ліганда, підтримуючи контакти протягом 32–94 % часу моделювання. Протягом часу моделювання нарирутин найміцніше утримувався всередині Гамма і Дельта RBD.

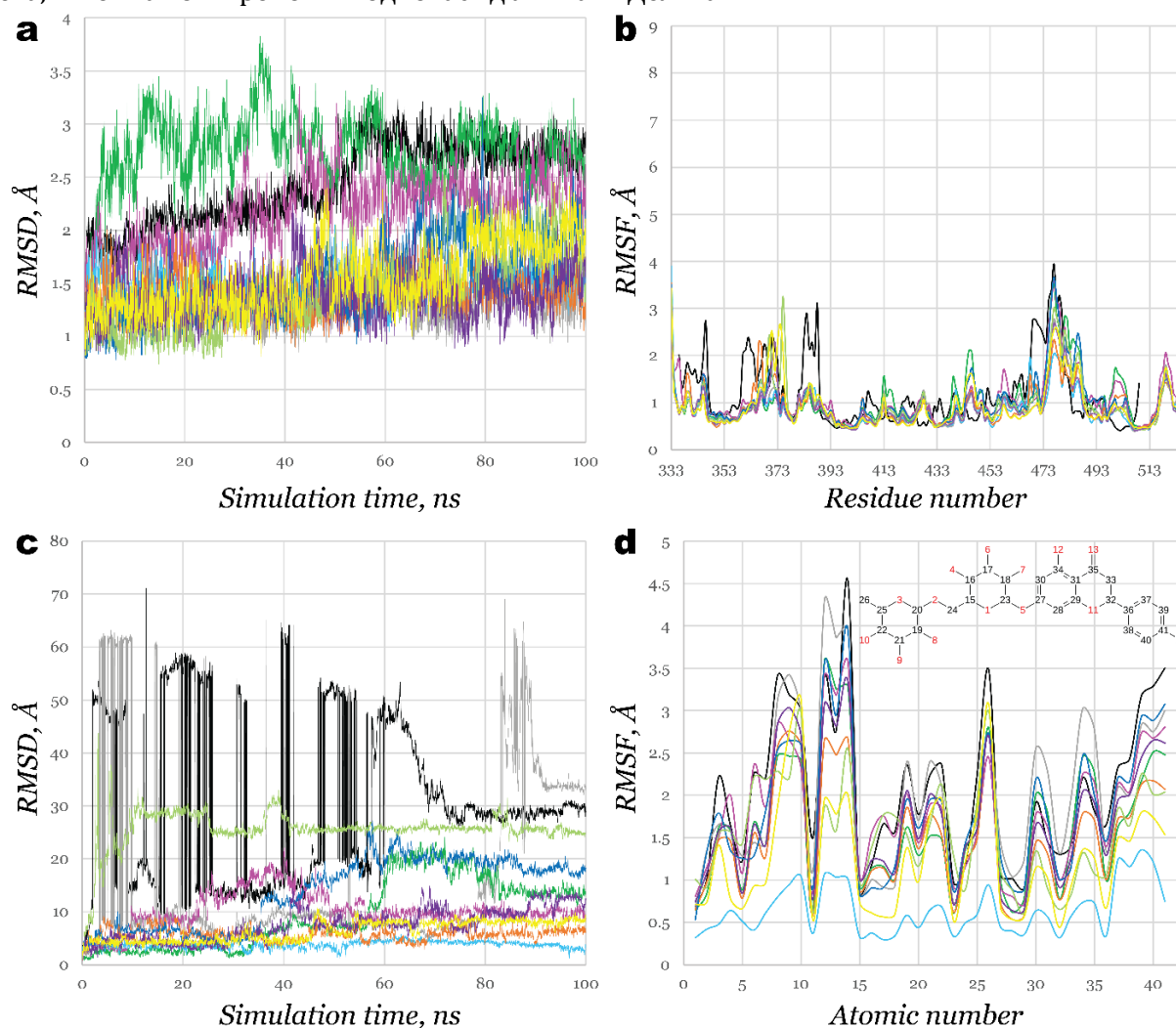


Fig. 2. Results of 100 ns MD simulation for RBD-38 complexes: a) – RMSD of protein's C; b) – RMSF of protein structures; c) – RMSD of ligand fit on protein; d) – RMSF of ligand's structures.

Рис. 2. Результати моделювання 100 нс МД для комплексів RBD-38: a) – RMSD протеїну C; b) – RMSF протеїнових структур; c) – RMSD розміщення ліганда відносно білка; d) – RMSF структур лігандів.

Неогесперидин (39) виявився найпотужнішим інгібітором серед розглянутих у цій роботі. Він зв'язував більшість досліджених тут RBD (Рис. 3). Коливання RMSD білків не перевищували 1.5 Å, з відхиленнями лише трохи нижче 2 Å для варіанту Гамма. Суттєво більші відхилення за RMSD лігандів спостерігалися лише для комплексів з варіантами Дикого типу, Бета та Мю. Неогесперидин не

взаємодіяв з RBD цих варіантів протягом більшої частини часу моделювання. Як і попередні два ліганди, він мав лише одну слабку взаємодію з RBD Оміврона. Однак неогесперидин зв'язується з Лямбда RBD значно сильніше, ніж гесперидин і нарирутин. Для комплексів Гамма, Дельта та Епсилон Н-зв'язки з E484 (E406 у варіанті Гамма) зберігалися протягом 92 % часу моделювання.

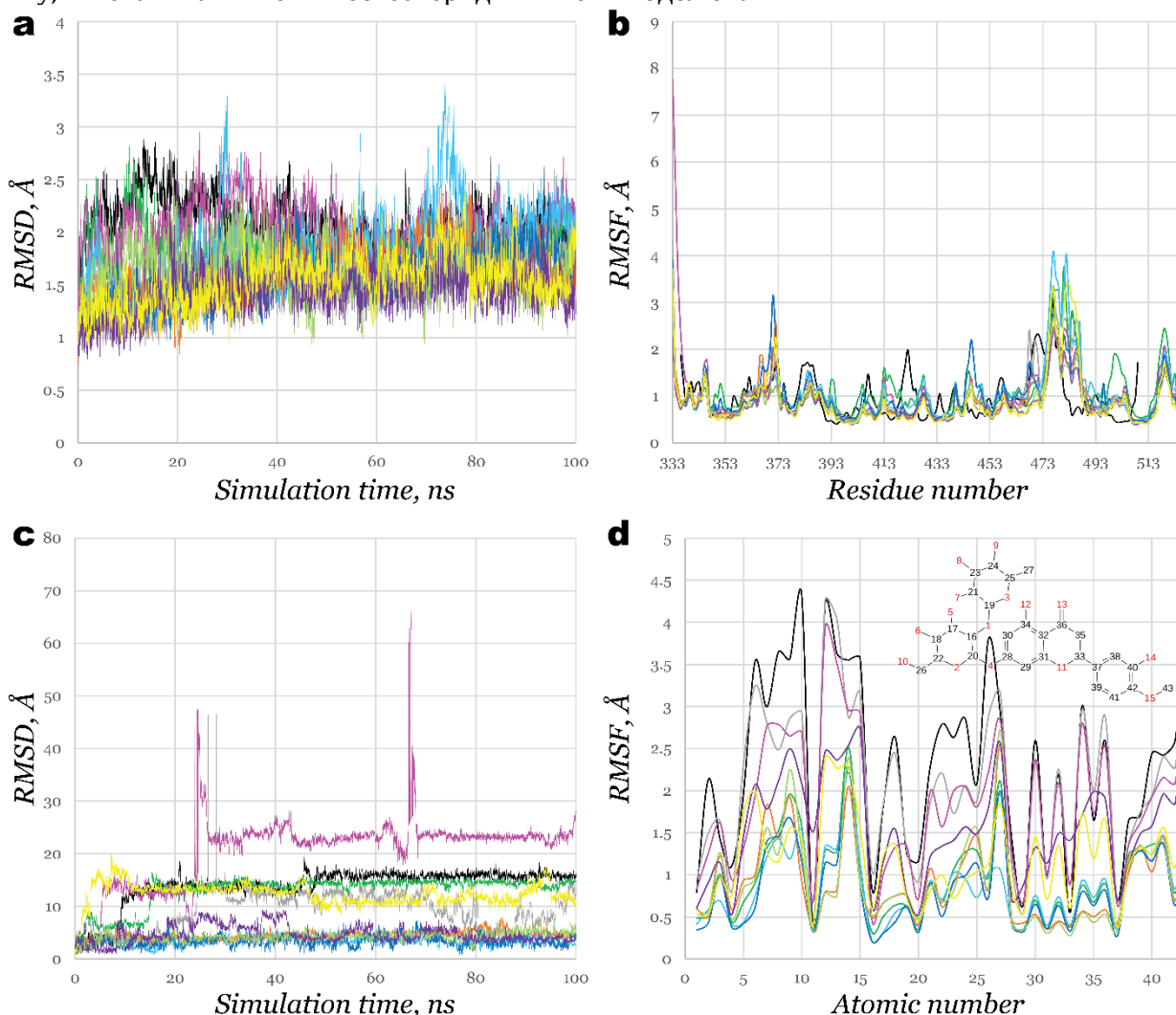


Fig. 3. Results of 100 ns MD simulation for RBD-39 complexes: a) – RMSD of protein's C; b) – RMSF of protein structure; c) – RMSD of ligand fit on protein; d) – RMSF of ligand's structures

Рис. 3. Результати моделювання 100 нс МД для комплексів RBD-39: a) – RMSD протеїна C; b) – RMSF протеїнових структур; c) – RMSD розміщення ліганду відносно білка; d) – RMSF структур лігандів.

Просканувавши невеликий набір біологічно активних сполук, які можна знайти в деяких традиційних китайських лікарських засобах, ми змогли знайти потенційні інгібітори спайк глікопротеїну RBD SARS-CoV-2 зі схожою ефективністю. Знайдені сполуки показали високу афінність до варіанту Дельта. Всі три ліганди є компонентами цитрусових ефірних олій.

Висновки

У цій роботі ми розробили гомологічні моделі RBD спайкових глікопротеїнів восьми варіантів SARS-CoV-2 як мішеней зв'язування для створення бази потенційних інгібіторів. Порівняння гомологічних моделей з існуючими структурами PDB показало якість розроблених моделей та обчислювальних методів, використаних для їх створення. Таким чином, це дає можливість прискорити

дослідження *in silico*, спрямовані на виявлення нових варіантів вірусу, щойно послідовність вірусних білків стане доступною. Аналіз комплексів RBD з рецептором ангіотензинперетворюючого ферменту 2 показав, що амінокислоти Q493 та N487 є важливими для його асоціації, незважаючи на більшість мутацій. Ця інформація наштовхнула нас на гіпотезу, що інгібування поблизу цих ділянок може бути корисним, якщо впливати не на один варіант, а на всі одразу.

Далі було проведено скринінг набору біологічно активних сполук проти RBD варіантів SARS-CoV та SARS-CoV-2. Три проаналізовані ліганди, а саме гесперидин, нарірутин та неогесперидин, продемонстрували найбільшу здатність до зв'язування. Молекулярно динамічне моделювання продемонструвало стабільну білок-лігандну взаємодію цих сполук з RBD декількох варіантів (переважно Дельта та

Епсилон). З високою ймовірністю взаємодії в певній ділянці RBD (між амінокислотами Q493 і N487), ці ліганди можуть запобігти взаємодії з RBD SARS-CoV-2. Цікаво, що всі три сполуки можна знайти в ефірних оліях цитрусових, і вони відносно безпечні для людини та навколишнього середовища.

Для майбутніх досліджень необхідно просканувати більшу бібліотеку природних сполук на відповідність RBD варіантів SARS-CoV-2 за допомогою запропонованого підходу. Враховуючи високоякісні результати моделювання гомології, запропонований підхід може бути використаний для побудови нових моделей для нових варіантів, таких як Омикрон. Крім того, природні сполуки, особливо ефірні олії, які демонструють високу ефективність проти численних штамів вірусів, можуть бути використані як дезінфікуючі засоби для зменшення поширення вірусів в аерозолях або для дезінфекції поверхонь.

References

- [1] Cascella, M.; Rajnik, M.; Aleem, A.; Dulebohn, S.; di Napoli, R. (2022). Features, Evaluation, and Treatment of Coronavirus (COVID-19). *StatPearls: Treasure Island, FL, USA*.
- [2] Gao, J.; Tian, Z.; Yang, X. (2020) Breakthrough: Chloroquine Phosphate Has Shown Apparent Efficacy in Treatment of COVID-19 Associated Pneumonia in Clinical Studies. *BioScience Trends*, 14 (1), 72–73. <https://doi.org/10.5582/bst.2020.01047>
- [3] Gottlieb, R. L.; Vaca, C. E.; Paredes, R.; Mera, J.; Webb, B.J.; Perez, G.; Oguchi, G.; Ryan, P.; Nielsen, B. U.; Brown, M.; Hidalgo, A.; Sachdeva, Y.; Mittal, S.; Osiyemi, O.; Skarbinski, J.; Juneja, K.; Hyland, R. H.; Osinusi, A.; Chen, S.; Camus, G.; Abdelghany, M.; Davies, S.; Behenna-Renton, N.; Duff, F.; Marty, F. M.; Katz, M. J.; Ginde, A. A.; Brown, S. M.; Schiffer, J. T.; Hill, J.A. (2022). Early Remdesivir to Prevent Progression to Severe Covid-19 in Outpatients. *New England Journal of Medicine*, 386 (4), 305–315. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2116846>
- [4] Coronavirus (COVID-19) Update: FDA Authorizes First Oral Antiviral for Treatment of COVID-19 <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/coronavirus-COVID-19-update-fda-authorizes-first-oral-antiviral-treatment-COVID-19>
- [5] Kyriakidis, N. C.; López-Cortés, A.; González, E. V.; Grimaldos, A. B.; Prado, E. O. (2021). SARS-CoV-2 Vaccines Strategies: A Comprehensive Review of Phase 3 Candidates. *npj Vaccines*, 6(1), 28. <https://doi.org/10.1038/s41541-021-00292-w>
- [6] Finsterer, J. (2022). Neurological Side Effects of SARS-CoV-2 Vaccinations. *Acta Neurologica Scandinavica*, 145(1), 5–9. <https://doi.org/10.1111/ane.13550>
- [7] Ishay, Y.; Kenig, A.; Tsemach-Toren, T.; Amer, R.; Rubin, L.; Hershkovitz, Y.; Kharouf, F. (2021). Autoimmune Phenomena Following SARS-CoV-2 Vaccination. *International Immunopharmacology*, 99, 107970. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2021.107970>
- [8] Nasreen, S.; He, S.; Chung, H.; Brown, K. A.; Gubbay, J. B.; Buchan, S. A.; Wilson, S. E.; Sundaram, M. E.; Fell, D. B.; Chen, B. (2021). Effectiveness of COVID-19 Vaccines against Variants of Concern, Canada. *Medrxiv*.
- [9] Baraniuk, C. (2021). Covid-19: How Effective Are Vaccines against the Delta Variant? *BMJ*, 374, n1960. <https://doi.org/10.1136/bmj.n1960>
- [10] Subpiramaniam, S. (2021). Outdoor Disinfectant Sprays for the Prevention of COVID-19: Are They Safe for the Environment? *Science of the Total Environment*, 759, 144289.
- [11] Sharafi, S. M.; Ebrahimpour, K.; Nafez, A. (2021) Environmental Disinfection against COVID-19 in Different Areas of Health Care Facilities: A Review. *Reviews on environmental health*, 36 (2), 193–198.
- [12] Wang, J.; Yang, W.; Pan, L.; Ji, J. S.; Shen, J.; Zhao, K.; Ying, B.; Wang, X.; Zhang, L.; Wang, L. (2020). Prevention and Control of COVID-19 in Nursing Homes, Orphanages, and Prisons. *Environmental Pollution*, 266, 115161.
- [13] Bhat, S. A.; Sher, F.; Kumar, R.; Karahmet, E.; Haq, S. A. U.; Zafar, A.; Lima, E. C. (2021). Environmental and Health Impacts of Spraying COVID-19 Disinfectants with Associated Challenges. *Environmental Science and Pollution Research*, 1–10.
- [14] Daverey, A.; Dutta, K. (2021). COVID-19: Eco-Friendly Hand Hygiene for Human and Environmental Safety. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9 (2), 104754. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104754>
- [15] Panyod, S.; Ho, C.-T.; Sheen, L.-Y. (2020). Dietary Therapy and Herbal Medicine for COVID-19 Prevention: A Review and Perspective. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 10(4), 420–427. <https://doi.org/10.1016/j.jtcm.2020.05.004>
- [16] Walls, A.C., Park Y.-J., Tortorici, M.A., Wall, A., McGuire, A.T., Velesler, D. (2020). Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. *Cell*, 181, 281–92.
- [17] Perlman, S.; Netland, J. (2009). Coronaviruses Post-SARS: Update on Replication and Pathogenesis. *Nature reviews microbiology*, 7(6), 439–450.

- [18] Li, F. (2016). Structure, Function, and Evolution of Coronavirus Spike Proteins. *Annual review of virology*, 3, 237–261.
- [19] Ling, C. (2020). Traditional Chinese Medicine Is a Resource for Drug Discovery against 2019 Novel Coronavirus (SARS-CoV-2). *Journal of Integrative Medicine*, 18(2), 87–88. <https://doi.org/10.1016/j.joim.2020.02.004>
- [20] Yang, Y.; Islam, M. S.; Wang, J.; Li, Y.; Chen, X. (2020). Traditional Chinese Medicine in the Treatment of Patients Infected with 2019-New Coronavirus (SARS-CoV-2): A Review and Perspective. *International Journal of Biological Sciences*, 16 (10), 1708–1717. <https://doi.org/10.7150/ijbs.45538>
- [21] An, X.; Zhang, Y.; Duan, L.; Jin, D.; Zhao, S.; Zhou, R.; Duan, Y.; Lian, F.; Tong, X., (2021). The direct evidence and mechanism of traditional Chinese medicine treatment of COVID-19. *Biomed. Pharmacother.* 137, 111267. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111267>
- [22] Shadrack, D. M.; Deogratias, G.; Kiruri, L. W.; Swai, H. S.; Vianney, J.-M.; Nyandoro, S. S. (2021). Ensemble-Based Screening of Natural Products and FDA-Approved Drugs Identified Potent Inhibitors of SARS-CoV-2 That Work with Two Distinct Mechanisms. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 105, 107871. <https://doi.org/10.1016/j.jmgm.2021.107871>
- [23] Terstappen, G.; Reggiani, C. A. (2001). In Silico Research in Drug Discovery. *Trends in Pharmacological Sciences*, 22 (1), 23–26. [https://doi.org/10.1016/S0165-6147\(00\)01584-4](https://doi.org/10.1016/S0165-6147(00)01584-4)
- [24] Ekins, S.; Mestres, J.; Testa, B. (2007). In Silico Pharmacology for Drug Discovery: Methods for Virtual Ligand Screening and Profiling. *British Journal of Pharmacology*, 152 (1), 9–20. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707305>
- [25] Kapusta, K.; Kar, S.; Collins, J. T.; Franklin, L. M.; Kolodziejczyk, W.; Leszczynski, J.; Hill, G. A. (2020). Protein Reliability Analysis and Virtual Screening of Natural Inhibitors for SARS-CoV-2 Main Protease (Mpro) through Docking, Molecular Mechanic & Dynamic, and ADMET Profiling. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 1–18.
- [26] Ali, A.; Vijayan, R. (2020). Dynamics of the ACE2–SARS-CoV-2/SARS-CoV Spike Protein Interface Reveal Unique Mechanisms. *Scientific Reports*, 10(1), 14214. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71188-3>
- [27] Schrödinger Release 2020-3 (2021). Schrödinger LLC: New York, NY, USA.
- [28] Sastry, G. M.; Adzhigirey, M.; Day, T.; Annabhimoju, R.; Sherman, W. (2013). Protein and Ligand Preparation: Parameters, Protocols, and Influence on Virtual Screening Enrichments. *Journal of computer-aided molecular design*, 27(3), 221–234.
- [29] Shelley, J. C.; Cholleti, A.; Frye, L. L.; Greenwood, J. R.; Timlin, M. R.; Uchimaya, M. (2007). Epik: A Software Program for PK a Prediction and Protonation State Generation for Drug-like Molecules. *Journal of computer-aided molecular design*, 21(12), 681–691.
- [30] Roos, K.; Wu, C.; Damm, W.; Reboul, M.; Stevenson, J. M.; Lu, C.; Dahlgren, M. K.; Mondal, S.; Chen, W.; Wang, L. (2019). OPLS3e: Extending Force Field Coverage for Drug-like Small Molecules. *Journal of chemical theory and computation*, 15(3), 1863–1874.
- [31] Barton, M.I.; MacGowan, S.A.; Kutuzov, M.A.; Dushek, O.; Barton, G.J.; van der Merwe, P.A. (2021). Effects of Common Mutations in the SARS-CoV-2 Spike RBD and Its Ligand, the Human ACE2 Receptor on Binding Affinity and Kinetics. *Elife*, 10, e70658.
- [32] Thompson, J. D.; Gibson, Toby. J.; Higgins, D. G. (2003). Multiple Sequence Alignment Using ClustalW and ClustalX. *Current Protocols in Bioinformatics*, 00 (1). <https://doi.org/10.1002/0471250953.bi0203s00>
- [33] National Center for Biotechnology Information <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
- [34] Friesner, R. A.; Murphy, R. B.; Repasky, M. P.; Frye, L. L.; Greenwood, J. R.; Halgren, T. A.; Sanschagrin, P. C.; Mainz, D. T. (2006). Extra Precision Glide: Docking and Scoring Incorporating a Model of Hydrophobic Enclosure for Protein–Ligand Complexes. *Journal of medicinal chemistry*, 49(21), 6177–6196.
- [35] Bowers, K. J.; Chow, D. E.; Xu, H.; Dror, R. O.; Eastwood, M. P.; Gregersen, B. A.; Klepeis, J. L.; Kolossvary, I.; Moraes, M. A.; Sacerdoti, F. D. (2006). Scalable Algorithms for Molecular Dynamics Simulations on Commodity Clusters. In *SC'06: Proceedings of the 2006 ACM/IEEE Conference on Supercomputing*.