

УДК 616.98:578.834.1]:615.322.07:57.87
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-1-103-108>

Флавоноиды как потенциальные ингибиторы коронавируса SARS-CoV-2: исследование *in silico*

Тальдаев А.Х., Терехов Р.П., Селиванова И.А.

Первый Московский государственный медицинский университет (МГМУ) им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет)
Россия, 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, 8/2

РЕЗЮМЕ

Введение. Вирус SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome CoronaVirus 2) обладает одним из крупнейших геномов, который кодирует 16 неструктурных белков (NSP: Non-Structural Protein), необходимых для репликации и преодоления защитных механизмов организма-хозяина. Флавоноиды представляют интерес в качестве объектов исследования при разработке препаратов для комплексной терапии COVID-19 (Corona Virus Disease 2019). Представители этой группы характеризуются широким спектром биологической активности и высоким профилем безопасности.

Цель работы – провести виртуальный скрининг флавоноидов на возможность ингибирования жизненно важных белков коронавируса SARS-CoV-2.

Материалы и методы. Структуры белков SARS-CoV-2: ADP-связывающего домена NSP3, основной протеазы NSP5, РНК-зависимой-РНК-полимеразы NSP12, эндорибонуклеазы NSP15 получены из Protein Data Bank (PDB). Структуры 163 флавоноидов различных групп, взяты из базы данных ZINC. Процессинг моделей белков осуществляли в программе AutoDockTools, а лигандов – в Raccoon | AutoDock VS. Виртуальный скрининг и ре-докинг проводили в AutoDock Vina.

Результаты. В ходе валидации установлено совпадение конформации нативных лигандов в исходной структуре и при ре-докинге, что позволяет судить о применимости методики виртуального скрининга. Флавоноиды взаимодействовали с ключевыми аминокислотными остатками во всех исследованных белках. Наилучшую энергию аффинитета продемонстрировали 3,7-дигидроксифлавоны и 6S-кокцинеон Б, обладающий мультимодальным эффектом.

Заключение. Полученные результаты могут быть использованы в разработке фитопрепаратов для комплексной терапии COVID-19.

Ключевые слова: SARS-CoV-2, COVID-19, флавоноиды, молекулярный докинг, виртуальный скрининг, кокцинеон Б

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Исследование поддержано «Проектом повышения конкурентоспособности ведущих российских университетов среди ведущих мировых научно-образовательных центров».

Для цитирования: Тальдаев А.Х., Терехов Р.П., Селиванова И.А. Флавоноиды как потенциальные ингибиторы коронавируса SARS-CoV-2: исследование *in silico*. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(1):103–108. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-1-103-108>.

✉ Тальдаев Амир Халилович, t-amir@bk.ru

Flavonoids as potential inhibitors of SARS-CoV-2 infection: *in silico* study

Taldaev A.Kh., Terekhov R.P., Selivanova I.A.

Sechenov First Moscow State Medical University
8/2 Trubetskaya Str., Moscow, 119991, Russian Federation

ABSTRACT

Background. SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) has one of the largest genomes. It encodes 16 non-structural proteins that are necessary for replicating and overcoming host defense mechanisms. Flavonoids are of interest as research objects in developing drugs for comprehensive COVID-19 therapy. This group of compounds is characterized by a wide range of biological activity and a high safety profile.

Aim. To perform virtual screening of flavonoids for possible inhibition of proteins of the SARS-CoV-2 infection.

Materials and methods. Structural proteins of SARS-CoV-2 infection, such as ADP-binding domain NSP3, main protease NSP5, RNA-dependent RNA-polymerase NSP12, and endoribonuclease NSP15, were obtained from Protein Data Bank (PDB). Flavonoid structures were obtained from the ZINC database. Protein models were processed using AutoDockTools software, and ligands were processed in Raccoon | AutoDock VS. Virtual screening and re-docking were performed in AutoDock Vina.

Results. Validation showed agreement between native and re-docked conformations, indicating the applicability of the virtual screening method. Flavonoids interacted with the key amino acid residues in all the studied proteins. The highest binding energy was demonstrated by 3,7-dihydroxyflavone and 6S-coccineone B, the latter having a multimodal effect.

Conclusion. The results of the study may be used for the development of phytomedicines for comprehensive therapy for COVID-19.

Keywords: SARS-CoV-2, COVID-19, flavonoids, molecular docking, virtual screening, coccineone B

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The study was supported by the “Project for Raising the Competitiveness of the Leading Russian Universities among the World’s Top Research and Education Centers”.

For citation: Taldaev A.Kh., Terekhov R.P., Selivanova I.A. Flavonoids as potential inhibitors of SARS-CoV-2 infection: *in silico* study. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(1):103–108. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-1-103-108>.

ВВЕДЕНИЕ

Коронавирус SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Corona Virus 2) относится к роду *Betacoronavirus*, входящему в семейство *Coronaviridae*. Это оболочечные одноцепочечные (+) РНК-содержащие вирусы. Их геном, включающий около 30 тыс. нуклеотидов, является одним из крупнейших среди всего домена, что позволяет ожидать у него наличие широкого диапазона биологических мишеней [1]. Геном кодирует два перекрывающихся полипротеина, содержащих 16 неструктурных белков (NSP: Non-Structural Protein). Некоторые из них участвуют в репликации и жизненном цикле вируса, другие необходимы для преодоления защитных механизмов организма-хозяина [2].

В разработке новых лекарственных препаратов для терапии COVID-19 (Corona Virus Disease 2019) особый интерес представляют соединения флавоноидной природы. Они обладают антирадикальным [3], противовирусным [4], капилляропротекторным [5], противовоспалительным действием [5, 6].

Цель исследования: провести виртуальный скрининг флавоноидов на возможность ингибирования жизненно важных белков коронавируса SARS-CoV-2.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для поиска противовирусных препаратов нами выбраны четыре биологические мишени SARS-CoV-2 с разрешением не хуже 2,5 Å, которые пред-

ставлены в Protein Data Bank (PDB) (дата обращения 25.04.2020): ADP-связывающий домен NSP3 (PDB ID: 6W6Y), основная протеаза NSP5 (PDB ID: 6LU7), РНК-зависимая-РНК-полимераза NSP12 (PDB ID: 7BV2), эндорибонуклеаза NSP15 (PDB ID: 6VWW). Параметры белков представлены в табл. 1. Процессинг структур белков для виртуального скрининга выполнен в AutoDockTools Version 1.5.6 (The Scripps Research Institute, США) [7], в ходе которого были удалены молекулы воды и лигандов, добавлены недостающие атомы водорода и частичные атомные заряды по методу Гастейгера.

В качестве центров для построения GRID-карт с размерами $25 \times 25 \times 25 \text{ \AA}$ были выбраны координаты нативных лигандов (см. табл. 1). Центр активного сайта эндорибонуклеазы NSP15 был определен согласно литературным данным [8].

Структуры 163 флавоноидов были взяты из базы ZINC. Подготовка к исследованию лигандов осуществлена добавлением парциальных зарядов в программном обеспечении Raccoon | AutoDock VS version 1.0 (The Scripps Research Institute, США) [9]. Аналогично проведен процессинг нативных лигандов для валидационного ре-докинга.

Таблица 1

Белки SARS-CoV-2, включенные в исследование			
Биологическая мишень	Разрешение полученного белка, \AA	Нативный лиганд	Центр GRID-карты, \AA
ADP-связывающий домен NSP3	1,45	AMP	X: 10,567 Y: -8,238 Z: 17,980
Основная протеаза NSP5	2,16	Ингибитор N3	X: -12,149 Y: 14,097 Z: 69,719
РНК-зависимая-РНК-полимераза NSP12	2,50	Метаболит ремдесвира	X: 90,089 Y: 93,714 Z: 102,212
Эндорибонуклеаза NSP15	2,20	–	X: -52,239 Y: 30,584 Z: 31,357

Ре-докинг нативных лигандов и виртуальный скрининг всех соединений проведен в программе AutoDock Vina 1.1.2 (The Scripps Research Institute, США) [10], использующей Ламарковский генетический алгоритм (LGA). Результаты молекулярного моделирования были визуализированы в Discovery Studio Visualizer v19.1.0.18287 (BIOVIA, США). Для описания распределения результатов виртуального скрининга были выбраны значения энергий аффинитета флавоноидов, связывающихся лучше, чем 10, 50 и 90% соединений в выборке.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Положения лигандов при ре-докинге практически повторяли геометрию в исходных структурах белков, что позволяет судить о применимости методики исследования. Результаты виртуального скрининга соединений были ранжированы согласно значению скоринговой функции программы AutoDock Vina 1.1.2 в виде энергии связывания. Полученные данные сравнивали с энергией аффинитета нативных лигандов. Порогом активности являлась величина скоринга – 7,1 ккал/моль, как показатель обратимости белок-лигандного взаимодействия.

В целом наименьший аффинитет у исследуемых флавоноидов отмечен для эндорибонуклеазы NSP15: успешный докинг состоялся для 20 соединений. РНК-зависимая-РНК-полимераза NSP12, напротив, связалась со всеми 163 виртуальными структурами. Промежуточные позиции по аффинитету заняли ADP-связывающий домен NSP3 и основная протеаза NSP5: 111 и 108 флавоноидов соответственно. Внутри выборок лигандов, успешно встроившихся в активные центры биологических мишеней, медианы энергий аффинитета составили –7,4; –7,4; –8,9 и –7,3 ккал/моль для ADP-связывающего домена NSP3, основной протеазы NSP5, РНК-зависимой-РНК-полимеразы NSP12 и эндорибонуклеазы NSP15 соответственно (табл. 2).

Таблица 2

Число, характеризующее выборку	Распределение аффинитета флавоноидов к биологическим мишеням			
	Энергия связывания, ккал/моль			
	ADP-связывающий домен NSP3	Основная протеаза NSP5	РНК-зависимая-РНК-полимераза NSP12	Эндорибонуклеаза NSP15
X_{10}^*	–7,1	–7,1	–7,4	–7,1
X_{50}^*	–7,4	–7,4	–8,9	–7,3
X_{90}^*	–7,8	–7,9	–10,2	–7,6

* X_{10}^* , X_{50}^* , X_{90}^* – энергия связывания флавоноидов, где 10, 50 и 90 – доля (%) соединений, с меньшей по модулю энергией связывания.

Результаты виртуального скрининга для соединений-лидеров представлены в табл. 3. Было показано, что флавоноиды образуют нековалентные связи с теми же аминокислотными остатками, что и нативные лиганды. Например, в случае эндорибонуклеазы NSP15 участвовали следующие аминокислотные

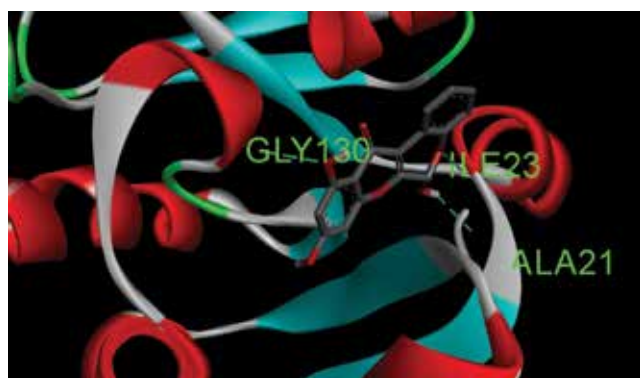
остатки: His 235, His 250, Lys 290, Ser 294, Thr 341, Tyr 343.

Наилучшие значения скоринга были получены для 6S-кокцинеона Б и 3,7-дигидроксифлавона. Результаты докинга с соединениями-лидерами представлены на рисунке.

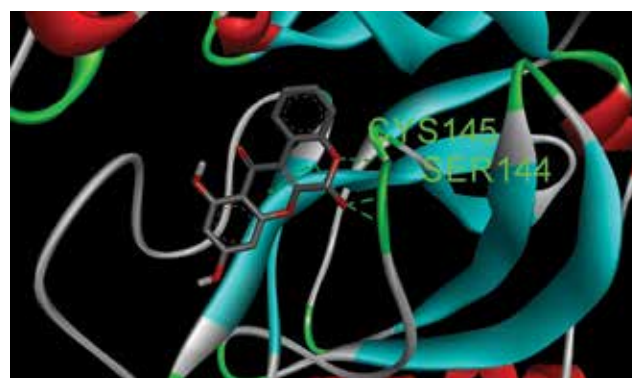
Таблица 3

Результаты ре-докинга нативных лигандов и докинга трех соединений-лидеров в активные сайты белков SARS-CoV-2		
Название лиганда	Скоринг (энергия связывания), ккал/моль	Взаимодействие лиганда с белком
<i>ADP-связывающий домен NSP3</i>		
AMP	-8,7	Н-связи: Ala 21, Asp 22, Ile 23, Val 49, Ile 131. Гидрофобные: Ala 38, Gly 48, Ala 50, Ala 52, Pro 125, Leu 126, Gly 130, Phe 132, Ala 154, Val 155, Phe 156, Leu 160. π -стэкинг: Ile 23, Val 49
6S-кокцинеон Б	-8,3	Н-связи: Ala 21, Gly 130. Гидрофобные: Asp 22, Ile 23, Gly 48, Pro 125, Leu 126, Pro 136, Ala 154, Phe 156, Leu 160, Leu 164. π -стэкинг: Val 49, Ala 52, Ala 129, Val 155
6R-кокцинеон Б	-8,0	Н-связи: Gly 130. Гидрофобные: Ala 21, Asp 22, Ile 23, Pro 125, Pro 136, Ala 154, Asp 157. π -стэкинг: Gly 48, Val 49, Ala 52, Leu 126, Ala 129, Val 155, Phe 156, Leu 160
7,8-дигидроксифлавоны	-8,0	Н-связи: Ile 23, Gly 48. Гидрофобные: Ala 21, Asp 22, Gly 130, Pro 136, Ala 154, Phe 156, Leu 160. π -стэкинг: Val 49, Ala 52, Leu 126, Ala 129, Val 155
<i>Основная протеаза NSP5</i>		
Ингибитор N3	-8,4	Н-связи: Phe 140, Asn 142, Gly 143, His 163, His 164, Glu 166, Gln 189, Thr 190. Гидрофобные: Thr 24, Thr 25, Thr 26, Met 49, Tyr 54, Ser 144, Cys 145, Met 165, His 172, Asp 187. π -стэкинг: His 41, Leu 141, Pro 168, Ala 191. Ковалентное: Cys 145
6S-кокцинеон Б	-8,5	Н-связи: Ser 144, Cys 145. Гидрофобные: Thr 25, Thr 26, His 41, Phe 140, Leu 141, Asn 142, Gly 143, His 163, His 164, Met 165, Glu 166. π -стэкинг: Leu 27, Cys 145
Скутеллареин	-8,1	Н-связи: Leu 141, Ser 144, Cys 145, Glu 166. Гидрофобные: His 141, Met 49, Phe 140, Asn 142, His 163, His 172, Arg 188, Gln 189, Thr 190. π -стэкинг: Met 165
2-(1,3-бензодиоксол-5-ил)-6-гидрокси-4H-хромен-4-он	-8,1	Н-связи: His 41, Phe 141, His 163, Asp 187. Гидрофобные: Pro 52, Tyr 54, Leu 141, Ser 144, His 164, Met 165, Glu 166, His 172, Arg 188, Gln 189. π -стэкинг: Cys 145, Met 49, His 41
<i>РНК-зависимая-РНК-полимераза NSP12</i>		
Метаболит ремдесивира	-8,3	Н-связи: U(T) 10, U(P) 20, Asp 760. Гидрофобные: Lys 545, Val 557, Cys 622, Asp 623, Ser 682, Thr 687, Ala 688, Ser 757, Ser 759. π -стэкинг: A(11) 11, U20. Ковалентное: U(P) 20. Кулоновские: Mg 101, Mg 1004
3,7-дигидроксифлавоны	-10,4	Н-связи: U(T) 12, U(P) 20, Gly 590. Гидрофобные: A(T) 11, A(P) 19, Val 588, Thr 591, Ser 592, Trp 598, Met 601, Ala 688, Gln 815. π -стэкинг: Ile 589, Lys 593, Leu 758, Cys 813
2-(2,5-диметоксифенил)-3-гидроксихромен-4-он	-10,3	Н-связи: Gly 590, Thr 591. Гидрофобные: U(T) 12, A(T) 14, A(P) 19, U(P) 20, Ser 592, Phe 594, Trp 598, Met 601, Phe 812, Gln 815. π -стэкинг: A(T) 13, Ile 589, Lys 593, Leu 758, Cys 813
Пинобанксин 3-O-пропаноат	-10,3	Н-связи: U(P) 20, Gly 590. Гидрофобные: U(T) 12, A(T) 14, U(P) 18, A(P) 19, Thr 591, Ser 592, Phe 594, Trp 598, Gln 815. π -стэкинг: A(T) 13, Ile 589, Lys 593, Leu 758, Cys 813
<i>Эндорибонуклеаза NSP15</i>		
6S-кокцинеон Б	-7,9	Н-связи: His 250, Val 292, Tyr 343. Гидрофобные: Lys 290, Tyr 343. π -стэкинг: His 235, Gly 248, Cys 293, Thr 341, Leu 346
6R-кокцинеон Б	-7,6	Н-связи: Val 292, Tyr 343. Гидрофобные: His 235, Gly 247, His 250, Cys 293, Thr 341, Leu 346. π -стэкинг: Lys 296, Tyr 343
Каликозин	-7,6	Н-связи: His 235, Lys 290, Ser 294, Tyr 343. Гидрофобные: Gly 248, His 250, Cys 293, Trp 333, Glu 340, Leu 346. π -стэкинг: Trp 333, Thr 341, Tyr 343

Примечание. Значения скоринга, полученные в результате трехкратной повторности, были идентичны. Курсивом выделен нативный лиганд.



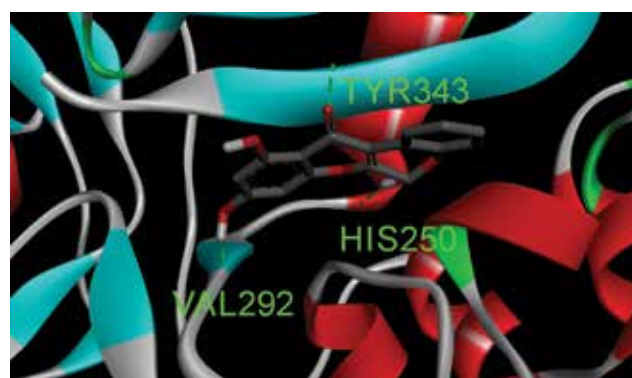
a



b



c



d

Рисунок. Докинг: *a* – 6*S*-кокцинеона Б в ADP-связывающий домен NSP3; *b* – 6*S*-кокцинеона Б в основную протеазу NSP5; *c* – 3,7-дигидроксифлавона в РНК-зависимую-РНК-полимеразу NSP12; *d* – 6*S*-кокцинеона Б в эндорибонуклеазу NSP15. Водородные связи показаны зелеными пунктирными линиями

Интересно отметить, что пространственное строение лиганда влияет на качественные и количественные характеристики докинга. Так, для 2*R*,3*R*-дигидрокверцетина установлено лучшее связывание с основной протеазой NSP5 по сравнению с его другими стереоизомерами.

ОБСУЖДЕНИЕ

Медианы значений энергий связывания флавоноидов с ADP-связывающим доменом NSP3, основной протеазой NSP5 и эндорибонуклеазой NSP15 имеют близкие значения, что может быть объяснено принадлежностью этих белков к классу гидролаз. Напротив, медиана величины аффинитета с РНК-зависимой-РНК-полимеразой NSP12, относящейся к классу трансфераз, выше, чем у трех вышеприведенных белков (см. табл. 2).

Взаимодействие данных соединений с ADP-связывающим доменом NSP3 предположительно может блокировать способность коронавируса скрываться от иммунных механизмов организма-хозяина [11]. Ингибирование основной протеазы NSP5 и РНК-зависимой-РНК-полимеразы NSP12 может повлечь остановку сборки новых вирионов.

Взаимодействие флавоноидов с уридилат-специфичным сайтом эндорибоуклеазы NSP15 предположительно блокирует белковую интерференцию с врожденным иммунным ответом организма-хозяина [12]. COVID-19 поражает легкие, сопровождается воспалительными процессами [13]. Учитывая широкий спектр фармакологической активности флавоноидов, которые зарекомендовали себя как эффективные капилляропротекторы [5] и противовоспалительные агенты [6], и их мультитаргетное противовирусное действие, эти природные соединения могут найти применение в терапии данного заболевания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенного исследования было установлено, что флавоноиды могут обладать вирулицидным действием на SARS-CoV-2. Один из них, 6*S*-кокцинеон Б, способен проявлять высокую активность сразу против нескольких биологических мишеней коронавируса SARS-CoV-2. Полученные результаты могут быть использованы для создания препаратов на основе растительного сырья для комплексной терапии COVID-19.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Cui J., Li F., Shi Z.L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat. Rev. Microbiol.* 2019;17(3):181–192. DOI: 10.1038/s41579-018-0118-9.
2. Zhou P., Yang X.L., Wang X.G., Hu B., Zhang L., Zhang W. et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature.* 2020;579(7798):270–273. DOI: 10.1038/s41586-020-2012-7.
3. Ilyasov I.R., Beloborodov V.L., Selivanova I.A. Three ABTS^{•+} radical cation-based approaches for the evaluation of antioxidant activity: fast- and slow-reacting antioxidant behavior. *Chemical Papers.* 2018;72:1917–1925. DOI: 10.1007/s11696-018-0415-9.
4. Raj U., Varadwaj P.K. Flavonoids as multi-target inhibitors for proteins associated with ebola virus: in silico discovery using virtual screening and molecular docking studies. *Interdiscip. Sci.* 2016;8(2):132–141. DOI: 10.1007/s12539-015-0109-8.
5. Плотников М.Б., Тюкавкина Н.А., Плотникова Т.М. Лекарственные препараты на основе диквертина. Томск: Издательство Томского университета, 2005:228.
6. Терехов Р.П., Селиванова И.А. Молекулярное моделирование взаимодействия дигидрокверцетина и его метаболитов с циклооксигеназой-2. *Бюллетень сибирской медицины.* 2019;18(3):101–106. DOI: 10.20538/1682-0363-2019-3-101–106.
7. Morris G.M., Huey R., Lindstrom W., Sanner M.F., Belew R.K., Goodsell D.S. et al. AutoDock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility. *J. Comp. Chem.* 2009;30(16):2785–2791. DOI: 10.1002/jcc.21256.
8. Kim Y., Jedrzejczak R., Maltseva N.I., Wilamowski M., Endres M., Godzik A. et al. Crystal structure of Nsp15 endoribonuclease NendoU from SARS-CoV-2. *Protein Sci.* 2020;29(7):1596–1605. DOI:10.1002/pro.3873.
9. Forli S., Huey R., Pique M.E., Sanner M.F., Goodsell D.S., Olson A.J. Computational protein–ligand docking and virtual drug screening with the AutoDock suite. *Nat. Protoc.* 2016;11:905–919. DOI: 10.1038/nprot.2016.051.
10. Trott O., Olson A.J. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J. Comp. Chem.* 2010;31(2):455–461. DOI: 10.1002/jcc.21334.
11. Forni D., Cagliani R., Mozzi A., Pozzoli U., Al-Daghri N., Clerici M. et al. Extensive positive selection drives the evolution of nonstructural proteins in lineage C *Betacoronaviruses*. *J. Virol.* 2016;90(7):3627–3639. DOI: 10.1128/JVI.02988-15.
12. Deng X., Hackbart M., Mettelman R.C., O'Brien A., Mielech A.M., Yi G. et al. Coronavirus nonstructural protein 15 mediates evasion of dsRNA sensors and limits apoptosis in macrophages. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2017;114(21):4251–4260. DOI: 10.1073/pnas.1618310114.
13. Jin Y., Yang H., Ji W., Wu W., Chen S., Zhang W. et al. Virology, epidemiology, pathogenesis, and control of COVID-19. *Viruses.* 2020;12(4):372. DOI: 10.3390/v12040372.

Информация об авторах

Тальдаев Амир Халилович – студент, Институт фармации им. А.П. Нелюбина, Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет), г. Москва, t-amir@bk.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2593-1963>

Терехов Роман Петрович – аспирант, преподаватель, кафедра химии, Институт фармации им. А.П. Нелюбина, Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет), г. Москва, r.p.terekhov@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9206-8632>

Селиванова Ирина Анатольевна – д-р фарм. наук, профессор, кафедра химии, Институт фармации им. А.П. Нелюбина, Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет), г. Москва, irinaselivanova@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2244-445X>

✉ **Тальдаев Амир Халилович**, t-amir@bk.ru

Поступила в редакцию 26.07.2020;
одобрена после рецензирования 10.03.2021;
принята к публикации 25.05.2021